

ID No.	223
研究課題名	MT1-MMP および MT1-MMP と相互作用する分子群によるがんの悪性形質獲得の分子機序の解明と臨床応用
研究代表者	鍋島 一樹 (福岡大学・教授)
研究組織 受入教員 研究分担者	越川 直彦 (東京大学医科学研究所・准教授) 宮本 新吾 (福岡大学・教授) 濱崎 慎 (福岡大学・講師) 吉里 俊幸 (福岡大学・准教授) 青木 光希子 (福岡大学・助教) 四元 房典 (福岡大学・講師) 鬼塚 美樹 (福岡大学・技師) 古賀 佳織 (福岡大学・助教) 宮田 康平 (福岡大学・大学院生) 南 星旭 (福岡大学・大学院生)
研究報告書	
<p>HB-EGF に関わるプロジェクトは 1) 理化学研究所長田抗生物質研究室の有するケミカルアレイを用いた新たな HB-EGF 阻害物質の探索・同定、2) HB-EGF の発現調節遺伝子の同定、3) MT1-MMP および HB-EGF を介した上皮間葉移行のヒト卵巣癌組織における実証について取り組む予定としていた。1) は現在も継続して検討・解析を行っているところである。2) は細胞株の培養環境の変化により HB-EGF の発現が変化するメカニズムを利用して、発現アレイにて HB-EGF が血管新生関連遺伝子 (VEGFA、ANGPTL-4) を制御していることを明らかにし、脂質代謝異常関連遺伝子 (CD36) のシグナルが HB-EGF の発現を制御していることが同定できた。特に、CD36 の卵巣癌における検討では、ピオグリタゾンを用いたモデルマウスでの抗腫瘍効果の検討を行った。高用量用いることで PPARγ の転写活性を抑制することができ、CD36 の発現を低下させる。これと既に臨床試験に用いられている HB-EGF 選択的阻害薬である CRM197 を併用することで、単剤と比較し高い抗腫瘍効果を得た。これらの結果から、CD36 と HB-EGF の両方のシグナルを抑制することが、より効果的に癌の増殖を抑制することができることを証明できた。その他にも、CGH アレイを用いたマウスの腫瘍増大により経時的にゲノム DNA が増幅する領域を検討したところ、転写後遺伝子発現調節が HB-EGF の発現に関与していることが示唆された。また、臨床試験患者の血液サンプルでの血中マイクロ RNA の解析からは 3 種類のマイクロ RNA (miR-92a, miR-1281, miR-486-5p) が HB-EGF の発現と関連することが示唆された。3) については HB-EGF のプロモーター解析により、HB-EGF の転写因子のスクリーニングを行ったところ、MT1-MMP の発現調節因子でもある SP1 が同定された。これにより、HB-EGF と MT1-MMP は共通の因子により発現が調節されていることがわかった。</p> <p>以上の検討から取得したデータを用いて、MP1-MMP と HB-EGF を中心としたシグナルを</p>	

ターゲットにした新たな治療戦略を確立するとともに、開発した治療の感受性を判定する為に、それらの詳細な分子メカニズムに解明を目指す。

本研究 Emmprin (basigin/CD147)プロジェクトに関しては、多機能性の原因になっていると考えられる、Emmprin と複合体を形成している分子の同定が主たる目的であった。今回、emmprin 発現細胞（類上皮肉腫細胞株 FU-EPS-1 細胞）に cross-linker (BS3)を作用させて emmprin 膜蛋白複合体を形成させ、Emmprin 抗体を用いて免疫沈降を行い、Western blotting にて確認した後、BS3 処理群でのみ抗 emmprin 抗体と反応するバンドを解析した。この際、腫瘍細胞と線維芽細胞を共培養した条件下と、腫瘍細胞単独を培養した条件下の 2 通りを行った。共培養では 75-100 kDa、100-140kDa、220kDa の 3 カ所のバンドの解析を行い、腫瘍細胞単独では 220kDa のバンドの解析を行った。BS3 処理群でのみ抗 emmprin 抗体と反応するバンドと、BS3 非処理サンプルの同部位を切り出し、質量分析器にて解析した（東大医科学研究所 越川直彦准教授、尾山大明博士の協力により施行）。BS3 処理/非処理それぞれの解析から得られた分子の中で、BS3 処理後の複合体サンプルでのみ得られた分子は、瘍細胞と線維芽細胞の共培養では、75-100 kDa のバンドで 130 分子、100-140kDa のバンドで 149 分子、220kDa のバンドで 234 分子であり、腫瘍細胞単独培養の 220kDa のバンドでは 35 分子であった。合計 4 回の解析を行ったなかで、emmprin は全てのサンプルに存在していた。分析上確からしさの低い分子や核内分子、実験上のコンタミネーションの可能性を否定できない分子を除外した上で、線維芽細胞との共培養と腫瘍細胞単独と比較し、腫瘍細胞単独の条件下でのみ検出された分子は 8 分子であった。これらの分子は、腫瘍細胞上で emmprin と複合体を形成することにより emmprin の機能発現に関与する分子として着目し、このなかで MMP 産生促進に関与する分子を絞り込んでいく方針である。また、維芽細胞と共培養した条件下で emmprin と複合体を形成し、3 回ともに共通にみられた分子を腫瘍細胞・線維芽細胞の相互作用にかかわる分子と考え、機能解析を進めている。