

審査の結果の要旨

氏名 鈴木 隆

がん浸潤における CD44 を介した MT1-MMP の機能制御メカニズムの解明と題する本論文は、膜型マトリックスメタロプロテアーゼの 1 種である MT1-MMP と細胞接着分子 CD44 の相互作用様式を解析した成果を述べたものである。本論文は全 4 章から構成されており、第 1 章に序論、第 2 章に実験材料および実験方法、第 3 章に結果と考察、第 4 章に総括と今後の展望が記述されている。

MT1-MMP は、がん細胞の浸潤先端に局在し、細胞外マトリックスや接着分子を切断することで、がんの浸潤を促進させることが知られている。これまでに、MT1-MMP は細胞膜上にて HPX を介して CD44 と複合体を形成し、浸潤先端への局在を達成することが報告されていた。一方、MT1-MMP は CD44 の細胞外領域を切断することで、細胞接着を解除し細胞の運動性を高める役割を果たすことも報告されていた。しかしながら、このように相反する MT1-MMP の機能がどのように達成されるかについては不明であった。そこで本論文では、がん浸潤において MT1-MMP の機能発現が CD44 によってどのように制御されるか解明することが目的とされている。

第 3 章では、まず、解析対象とする MT1-MMP のヘモペキシン様ドメイン (HPX) および CD44 のヒアルロン酸結合ドメイン (HABD) がリコンビナントタンパク質として発現・精製され、両者の相互作用様式が解析されている。等温滴定カロリメトリー法により、主にヒアルロン酸 (HA) 低親和性の O-state にある野生型 HABD と、HA 高親和性の PD-state に構造が固定された HABD 変異体に対する HPX 結合親和性が調べられており、野生型 HABD と比較して PD-state に固定された変異体では HPX 結合親和性が顕著に低下することが示されている。このことから、HPX は HA 低親和性の O-state にある HABD を強く認識することが示さ

れている。次に、溶液 NMR 法を用いて、安定同位体標識を施し調製した HABD に対し、非標識の HPX を滴定することで、HABD 上の HPX 結合面が調べられている。これにより、HPX の滴定に伴って顕著な化学シフト変化が観測された HABD 上の領域は、これまでに判明している HA 結合面と重複することが示されている。このことから、HABD 上の HPX 結合面は HA 結合面と共通し、HPX と HABD の相互作用は HA によって競合的に阻害されることが指摘されている。続いて、HPX と HABD の相互作用が、MT1-MMP による CD44 の切断に与える影響を調べるため、MT1-MMP と CD44 を共発現させた哺乳細胞を用いてアッセイが行われている。このアッセイにより、CD44 の構造が O-state に固定された変異体は、野生型よりも MT1-MMP による切断が低下することが示されている。このことから、O-state にある CD44 と MT1-MMP HPX が形成する高親和性の複合体は、MT1-MMP による CD44 の切断が抑制された配向であることが示されている。一方、CD44 の構造が PD-state に固定された変異体でも、MT1-MMP による切断が野生型よりも低下することが示されている。以上のことから、CD44 の切断には、CD44 が O-state と PD-state の 2 状態を形成することが重要であると結論づけられている。最後に、構造生物学的解析結果と細胞アッセイの結果を総合した考察が行われており、CD44 を介した MT1-MMP の浸潤先端への局在化と、MT1-MMP による CD44 の切断は、時空間的に制御されるとするモデルが提唱されている。

以上の成果は、がん浸潤において MT1-MMP の機能が CD44 を介して制御されるメカニズムを構造生物学的見地より明らかとしたものであり、これを行った学位申請者は博士(薬科学)の学位を得るにふさわしいと判断した。