

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 5月18日現在

機関番号：13301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21390091

研究課題名（和文） 膜型マトリックスメタロプロテアーゼ1のがん悪性化形質に果たす役割の解析

研究課題名（英文） Study on role of membrane-type matrix metalloproteinase-1 in tumor malignancy

研究代表者

佐藤 博 (SATO HIROSHI)

金沢大学・がん進展制御研究所・教授

研究者番号：00115239

研究成果の概要（和文）：がんの浸潤・転移に重要な役割を果たす MT1-MMP の新規基質の探索を行い、その生理・病理的意義を解明した。その結果、膜タンパクの切断・シェディングに特にユニークな活性を見出した。例えば、MT1-MMP によるセリンプロテアーゼ阻害因子 Hepatocyte Growth Factor Activator Inhibitor-1 の切断はプロテアーゼ活性化カスケードを開始させ組織破壊を引き起こす。我々はその状態をプロテアーゼストームと名付けた。

研究成果の概要（英文）：We screened new substrates for MT1-MMP, which plays an important role in tumor invasion and metastasis, and analyzed pathophysiological significance of it. These studies demonstrated that cleavage and shedding of membrane proteins by MT1-MMP is quite unique. For example, cleavage of serine protease inhibitor Hepatocyte Growth Factor Activator Inhibitor-1 by MT1-MMP initiates protease activation cascade, which subsequently causes tissue destruction. We named it as protease storm.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	5,300,000	1,590,000	6,890,000
2010年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2011年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：分子腫瘍学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：MT1-MMP、がん転移、浸潤、細胞外マトリックス、プロテアーゼ、シェディング

## 1. 研究開始当初の背景

がんの浸潤・転移にはマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)が重要な役割を果たしている。とりわけ我々が同定した膜型 MMP-1(MT1-MMP)は転移のキーエンザイムとして注目されている。これまでに MT1-MMP の基質としていくつかのものが同定されていたが、MT1-MMP による細胞運動・浸潤・転移の制御機構を理解するにはま

だまだ不十分な状況であった。

我々はこれまでに MT1-MMP の新規基質および制御因子を同定するために発現クローニング法を独自に開発し、ユニークな基質を同定すると共に、その病理・生理的意義を明らかにしてきた。その結果、MT1-MMP の重要な機能のひとつは細胞膜表面の受容体などの膜タンパクの切断・シェディングであると着想するに至った。

## 2. 研究の目的

がんの悪性化形質のひとつは浸潤・転移である。MT1-MMP の基質・制御因子を探索し、同定された基質の MT1-MMP による切断、MT1-MMP 制御分子発現の意義と悪性化形質に及ぼす影響を解明する。

## 3. 研究の方法

(1) 我々が独自に開発した発現クローニング法を改良し、MT1-MMP の新規基質・制御分子の同定・解析を行う。

(2) 基質の中で特に膜タンパクに注目し、MT1-MMP による膜タンパクのシェディングの生理的意義を解明する。

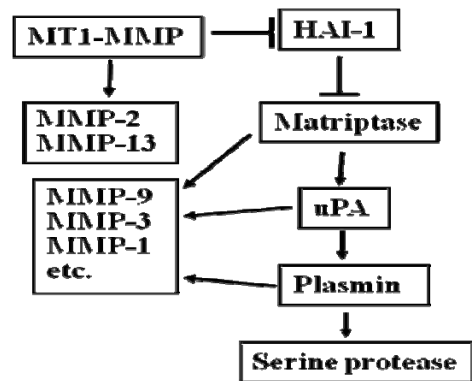
(3) MT1-MMP のもっとも一般的な基質である細胞外マトリックス成分の分解による細胞—細胞外マトリックスクロストークの制御機構を解析する。

## 4. 研究成果

(1) 発現クローニングにより MT1-MMP の制御分子として GI24 を同定した。GI24 は細胞膜表面の MT1-MMP を安定化することによりその活性を更新し、その結果としてがん細胞の浸潤能を亢進させることを明らかにした。

(2) MT1-MMP の新規基質として、膜型のセリンプロテアーゼ阻害分子 Hepatocyte Growth Factor Activator Inhibitor-1 (HAI-1) を同定した。HAI-1 は上皮細胞に発現しマトリプターゼを阻害している。がん組織などでは活性化された MT1-MMP が HAI-1 を切断・不活性化することによりマトリプターゼが活性化される。活性化されたマトリプターゼは urokinase-type plasminogen activator (uPA) を活性化し、最終的には図のようなプロテアーゼ活性化カスケードが始動し得ることを示した。様々なプロテアーゼが活性化されることで組織破壊が進行し、がんの浸潤・転移も亢進する。プロテアーゼ活性化カスケードが一気に動き、多くのプロテアーゼが活性化された状態を Protease Storm と表

現することを提案した。



(3) 我々は、がん細胞の ECM 上での 2 次元培養においては MT1-MMP による ECM 分解は Extracellular signal-Regulated Kinase (ERK) の活性化、Focal Adhesion Kinase (FAK) のリン酸化および細胞接着斑のターンオーバー、細胞極性形成を制御することにより細胞運動を促進することを報告した。ECM 成分の中でもファイブロネクチン (FN) は重要な分子であり、その重合・集積は ECM としての機能を発揮するのに必須である。今回、MT1-MMP は FN の重合・集積を制御していることを見出した。MT1-MMP の抑制は過剰な FN の重合・集積を引き起こし、細胞浸潤を抑制するが、線維化した FN は細胞生存シグナルを誘導するため細胞死を回避することを見出した。MT1-MMP を分子標的とした薬剤開発には考慮すべき重要な知見である。

以上の結果より MT1-MMP は浸潤・転移に重要な役割を果たすことが再認識された。今後は MT1-MMP に対して特異性の高い薬剤により抗がん、抗転移活性を高める方策を検討したい。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- ① Domoto T, Takino T, Guo L, Sato, H.  
Cleavage of hepatocyte growth factor activator inhibitor-1 by membrane-type MMP-1 activates matriptase. *Cancer Sci.*, 2012, 103, 448-454.  
査読あり  
DOI:10.1111/j.1349-7006.2011.02162.x.
- ② Takino T, Nagao R, Manabe R, Domoto T, Sekiguchi K, Sato H. Membrane-type 1 matrix metalloproteinase regulates fibronectin assembly to promote cell motility. *FEBS Let.*, 2011, 585, 3378-3384. 査読あり  
DOI:10.1016/j.febslet.2011.09.039
- ③ Sakr MA, Takino T, Domoto T, Nakano H, Wong RW, Sasaki M, Nakanuma Y, Sato H. GI24 enhances tumor invasiveness by regulating cell surface membrane-type 1 matrix metalloproteinase. *Cancer Sci.*, 101, 2368-2374, 2010. 査読あり  
DOI:10.1111/j.1349-7006.2010.01675.x
- ④ Takino T, Tsuge H, Ozawa T, Sato H. MT1-MMP promotes cell growth and ERK activation through c-Src and paxillin in three-dimensional collagen matrix. *Biochem Biophys Res Commun.*, 3964, 1042-1047, 2010. 査読あり  
DOI:10.1016/j.bbrc.2010.05.059,
- ⑤ Sato H, Takino T. Coordinate action of membrane-type matrix metalloproteinase-1 (MT1-MMP) and MMP-2 enhances pericellular proteolysis and invasion. *Cancer Sci.*, 2010, 101, 843-947. 査読あり  
DOI:10.1111/j.1349-7006.2010.01498.x
- ⑥ Onodera M, Zen Y, Harada K, Sato Y, Ikeda H, Itatsu K, Sato H, Ohta T, Asaka M, Nakanuma Y. Fascin is involved in tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ -dependent production of MMP9 in cholangiocarcinoma. *Lab. Inv.*, 89, 1261-1274, 2009. 査読あり

DOI:10.1038/labinvest.2009.89

[学会発表] (計 19 件)

- ① 近野祐里、中田光俊、滝野隆久、佐藤博  
(他 10 名) (Deregulated glycogen synthase kinase (GSK) 3 $\beta$  participates in invasion of glioblastoma) 第 70 回日本癌学会学術総会、2011 年 10 月 3 日 名古屋国際会議場 (愛知県)
- ② 堂本 貴寛、滝野 隆久、佐藤 博  
(MT1-MMP activates matriptase through the cleavage of its inhibitor HAI-1) 第 70 回日本癌学会学術総会、2011 年 10 月 4 日 名古屋国際会議場 (愛知県)
- ③ 滝野 隆久、堂本 貴寛、佐藤 博  
(MT1-MMP regulates fibronectin assembly) 第 70 回日本癌学会学術総会、2011 年 10 月 4 日 名古屋国際会議場 (愛知県)
- ④ 堂本 貴寛、滝野 隆久、佐藤 博  
(MT1-MMP による HAI-1 切断を介したセリンプロテアーゼ系の制御) 第 20 回日本がん転移学会総会 2011 年 6 月 30 日 アクトシティ浜松 (静岡県)
- ⑤ Guo Luyang、滝野 隆久、佐藤 博  
(MT1-MMP による免疫グロブリンファミリー膜タンパク KIM-1 の切断) 第 20 回日本がん転移学会総会、2011 年 6 月 30 日 アクトシティ浜松 (静岡県)
- ⑥ 滝野隆久、堂本 貴寛、佐藤 博  
(MT1-MMP によるフィブロネクチンの重合と集積抑制) 第 20 回日本がん転移学会総会、2011 年 6 月 30 日 アクトシティ浜松 (静岡県)
- ⑦ Luyang Guo, Takahiro Domoto, Takahisa Takino, Hiroshi Sato. (Cleavage of KIM-1 by MT1-MMP) 日本分子生物学会第 11 回春季シンポジウム 2011 年 5 月 25 日、石川県立音楽

堂（石川県）

⑧ 佐藤博、堂本貴寛、滝野隆久（Gi24 は MT1-MMP を介した MMP-2 活性化を促進することによりがん細胞浸潤を亢進する）第 69 回日本癌学会学術総会 2010 年 9 月 23 日、大阪国際会議場（大阪府）

⑨ 堂本貴寛、滝野隆久、佐藤博（MT1-MMP による HAI-1 の分解を介したセリンプロテアーゼ系の制御）第 69 回日本癌学会学術総会 2010 年 9 月 23 日、大阪国際会議場（大阪府）

⑩ 滝野隆久、堂本貴寛、佐藤博（MT1-MMP は 3 次元コラーゲン内で c-src と Paxillin を介して ERK 活性化と細胞増殖を亢進する）第 69 回日本癌学会学術総会 2010 年 9 月 23 日、大阪国際会議場（大阪府）

⑪ 佐藤博：（MT1-MMP による細胞機能統御）第 19 回日本がん転移学会総会 2010 年 6 月 16 日、金沢市文化ホール（石川県）

⑫ 長尾亮太、滝野隆久、佐藤博（MT1-MMP による細胞増殖誘導機構）（優秀演題賞）第 19 回日本がん転移学会総会 2010 年 6 月 16 日、金沢市文化ホール（石川県）

⑬ 堂本貴寛、滝野隆久、佐藤博「MT1-MMP によるセリンプロテアーゼ系の制御」第 19 回日本がん転移学会総会 2010 年 6 月 16 日、金沢市文化ホール（石川県）

⑭ Sato H. (Overview of Metastatic Research and Roles of MT1-MMP in Tumor Invasion and Metastasis) International Symposium to Commemorate the 50<sup>th</sup> Anniversary of Osaka Medical Center for Cancer & Cardiovascular Diseases. 2009 年 11 月 14 日、大阪国際交流センター（大阪府）

⑮ 滝野隆久、佐藤博（MT1-MMP による浸潤性増殖誘導）、第 82 回 日本生化学会大会、2009 年 10 月 23 日、神戸国際会議場（兵庫県）

⑯ 滝野隆久、佐藤博（MT1-MMP による浸潤性増殖誘導）、第 68 回 日本癌学会学術総会 2009 年 10 月 2 日、パシフィコ横浜（神奈川県）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.kanazawa-u.ac.jp/~ganken/department/cb/04.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

佐藤 博 (SATO HIROSHI)

金沢大学・がん進展制御研究所・教授

研究者番号：00115239

### (2) 研究分担者

滝野 隆久 (TAKINO TAKAHISA)

金沢大学・がん進展制御研究所・准教授

研究者番号：40322119

中田 光俊 (NAKADA MITSUTOSHI)

金沢大学・医学系・講師

研究者番号：20334774

### (3) 連携研究者

該当なし