

# がん微小環境研究プログラム

## 細胞機能統御研究分野

### <研究スタッフ>

教 授            佐藤 博  
准教授          滝野 隆久  
技能補佐員    山岸 小百合  
大学院生（博士課程） 李 子晨  
大学院生（博士課程） 田中 望  
大学院生（博士課程） 佐藤 友美  
大学院生（博士課程） 吉本 泰祐(口腔外科)

### 【 研 究 概 要 】

当研究室でクローニングされた膜型マトリックスメタロプロテアーゼ-1 (MT1-MMP) は, がん微小環境の構築・再構築に中心的な役割を果たすのみならず, 近年は細胞内・外の多様な分子と相互作用することによりがんの浸潤・転移・運動・増殖など様々ながん悪性化形質に関与することが明らかとなり益々注目されている。我々はこれまでに MT1-MMP の基質および制御因子を検索するための発現クローニング法を開発し, 新規基質ならびに制御因子を同定してきた。さらに同定された分子と構造的, 生理・病的に関連する分子からも新規基質を見出し, MT1-MMP が様々な局面においてがんの悪性化に関与することを報告してきた。細胞外マトリックス(extracellular matrix, ECM) 成分の中でコラーゲンと共に重要な分子がファイブロネクチンである。ファイブロネクチンは創傷治癒や胚発生のような過程に重要であることはよく知られている。細胞性ファイブロネクチンは ECM として集積して不溶性の網目を形成し組織・器官を形成している。我々はこれまでに MT1-MMP がファイブロネクチン重合を制御することにより細胞運動・増殖をコントロールすることを報告した。MT1-MMP および関連分子を標的とした制御法の開発を目指している。

### <2013 年の研究成果, 進捗状況と今後の計画>

#### MT1-MMP による N-カドヘリン接着の制御:

細胞—ECM 間接着と細胞—細胞間接着は, 相互干渉しながら細胞接着のネットワークを構築し, 増殖・運動・極性形成などの細胞機能を制御している。MT1-MMP は ECM 分解能とともにクローディン, カドヘリンなどの細胞間接着因子の分解能も有している。これまでに MT1-MMP はファイブロネクチンの重合・集積を抑制することから

MT1-MMP の阻害・ノックダウンなどによりファイブロネクチンの重合・集積が起こることを報告した。今回、重合したファイibroネクチンはN-カドヘリンの安定化を増強し、その結果として細胞運動のみならず増殖をも抑制することを見出した。また、解析の過程において MT1-MMP は Src の活性化を亢進し、Src の基質であるパキシリンのリン酸化レベルを上昇させることを見出した。Src 阻害剤や siRNA による Src ノックダウンはN-カドヘリンレベルを亢進したことから、MT1-MMP による N-カドヘリンの安定化には Src を介した別経路も存在することが示唆された。

#### 膜型セリンプロテアーゼ阻害因子 HAI-1 による MET の誘導：

これまでに MT1-MMP の新規基質として膜型セリンプロテアーゼ阻害因子 HGF Activator Inhibitor-1 (HAI-1) を同定した。上皮系がん細胞では MT1-MMP が HAI-1 を切断することにより、膜型セリンプロテアーゼであるマトリプターゼが活性化され、MT1-MMP とマトリプターゼの協調作用が浸潤性増殖には必須であることを報告した。上皮系がん細胞ではマトリプターゼをノックダウンすることにより MET (mesenchymal-epithelial transition) が起こることが報告されている。一方、マトリプターゼを発現しない間葉系細胞 HT1080 細胞に MT1-MMP に切断されない変異型 HAI-1 を発現させることにより MET 様の形態変化を起こすことを見出した。間葉系細胞で発現しその形態維持に関わるセリンプロテアーゼの同定、および MET 誘導のメカニズムを検討中である。

#### MT1-MMP による KIM-1 切断の意義：

免疫グロブリンファミリーの Kidney Injury Molecule-1 (KIM-1)はホスファチジルセリン受容体としてアポトシス細胞の貪食に関わっていることが知られている。我々は MT1-MMP の新規基質とし KIM-1 を同定すると共に、KIM-1 の新規機能としてコラーゲンなどへの細胞接着を負に制御することを報告した（日本生化学会 JB 論文賞 2013 受賞）。がん細胞に発現する KIM-1 の機能、MT1-MMP による切断の生理的意義をさらに検討中である。

## 【 研 究 業 績 】

### < 発表論文 >

#### 原著論文

(研究室主体)

1. Takino T, Guo L, Domoto T, Sato H.  
MT1-MMP prevents growth inhibition by three dimensional fibronectin matrix.  
Biochem Biophys Res Commun. 436, 503-508, 2013.

(共同研究)

1. Yoshikawa A, Nakada M, Watanabe T, Hayashi Y, Sabit H, Kato Y, Suzuki S, Ooi A, Sato H, Hamada JI. Progressive adult primary glioblastoma in the medulla oblongata with an unmethylated MGMT promoter and without an IDH mutation: A case report Brain Tumor Pathol. 30, 175-179, 2013.
2. Kitano A, Shimasaki T, Chikano Y, Nakada M, Hirose M, Higashi T, Ishigaki Y, Endo Y, Takino T, Sato H, Sai Y, Miyamoto K, Motoo Y, Kawakami K, Minamoto T. Aberrant glycogen synthase kinase 3 $\beta$  is involved in pancreatic cancer cell invasion and resistance to therapy. PLoS One, 8, 2013.
3. Nakada M, Nambu E, Furuyama N, Yoshida Y, Takino T, Hayashi Y, Sato H, Sai Y, Tsuji T, Miyamoto KI, Hirao A, Hamada JI. Integrin  $\alpha 3$  is overexpressed in glioma stem-like cells and promotes invasion. Br J Cancer. 108, 2516-2024, 2013.
4. Abe H, Mochizuki S, Ohara K, Ueno M, Ochiai H, Kitagawa Y, Hino O, Sato H, Okada Y. Src plays a key role in ADAM28 expression in v-src-transformed epithelial cells and human carcinoma cells. Am J Pathol. 185, 1667-1678, 2013.
5. Sabit H, Nakada M, Furuta T, Watanabe T, Hayashi Y, Sato H, Kato Y, Hamada JI. Characterizing invading glioma cells based on IDH1-R132H and Ki-67 immunofluorescence. Brain Tumor Pathol ( in press)

### < 学会発表 >

1. 滝野 隆久, 堂本 貴寛, 佐藤 博  
「MT1-MMP による細胞接着ネットワークの制御」

第 21 回日本がん転移学会総会（平成 25 年 7 月 11 日 松本）

2. 望月早苗，阿部任，尾原健太郎，落合大樹，北川雄光，樋野興夫，佐藤博，岡田保典 「Src は ADAM28 の発現に重要な役割を果たす」第 72 回日本癌学会学術総会（平成 25 年 10 月 4 日 横浜）
3. 滝野 隆久，堂本 貴寛，佐藤 博  
「MT1-MMP による N-カドヘリン接着制御」  
第 72 回日本癌学会学術総会（平成 25 年 10 月 3 日 横浜）
4. 宇都 義浩，遠藤良夫，佐藤博  
「Akt/Protein Kinase B を標的とした抗転移性低酸素サイトトキシン TX-2137 の開発」第 72 回日本癌学会学術総会（平成 25 年 10 月 5 日 横浜）

#### <外部資金>

1. 基盤研究（C）（代表）佐藤 博  
「膜型マトリックスメタロプロテアーゼによるセリンプロテアーゼ活性化機構の解析」 1,300 千円
2. 基盤研究（C）（代表）滝野 隆久  
「細胞外マトリックス分解と細胞 運動の極性形成維持機構」 1,200 千円
3. 日本生化学会 JB 論文賞 郭 魯決，滝野隆久，遠藤良夫，堂本貴寛，佐藤博  
「Shedding of kidney injury molecule-1 by membrane-type 1 matrix metalloproteinase.」  
100 千円

#### <共同研究>

1. 望月 早月（慶應義塾大学医学部病理）  
「メタロプロテアーゼ ADAM28 を環的としたヒト型活性阻害抗体の開発」
2. 東 昌市（横浜市立大学生命ナノシステム科学研究科）  
「標的 MMPs の活性を特異的に制御する機能分子の開発」
3. 宇都 義浩（徳島大学大学院ソシオテクノサイエンス研究部）・遠藤 義男  
「ヒトがん細胞を用いた MMP-9 阻害性抗転移剤の開発」
4. 天満 敬 （京都大学大学院薬学研究科）  
「生体がん組織における MT トロポ P のインピボ機能解析のための核医学分子プローブ開発」