

ヒト肝癌細胞(HLE細胞)株由来メタロプロテアーゼ インヒビター(TIMP-2)の性質,ゼラチナーゼAとの相 互作用および不活性化

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/15318

学位授与番号	医博乙第1320号		
学位授与年月日	平成6年11月16日		
氏名	河村 公二		
学位論文題目	ヒト肝癌細胞（HLE細胞）株由来メタロプロテアーゼインヒビター（TIMP-2）の性質、ゼラチナーゼAとの相互作用および不活性化		
論文審査委員	主査	教授	富田 勝郎
	副査	教授	中西 功夫
		教授	岡田 保典

内容の要旨及び審査の結果の要旨

腫瘍の浸潤・転移や炎症における組織破壊に重要な役割を果たすマトリックスメタロプロテアーゼ（matrix metalloproteinases, MMP）の活性は、メタロプロテアーゼインヒビター（tissue inhibitor of metalloproteinases, TIMP）によって厳重に調節されている。本研究では3種類のTIMPのうちTIMP-2を精製し、活性型のMMP-1, 2, 3, 9（間質コラゲナーゼ、ゼラチナーゼA, ストロムライシン-1, ゼラチナーゼB）に対するインヒビター活性、MMP-2との相互作用、セリンプロテアーゼと活性酸素種による不活性化について調べ、TIMP-1の結果と検討した。TIMP-2はヒト肝癌細胞株培養液より4種類のカラムクロマトグラフィーによって精製した。精製したTIMP-2は、電気泳動上還元状態で分子量25,000であった。TIMP-2のインヒビター活性は熱・酸処理では極めて安定であったが、還元処理で失活した。活性型のMMP-1（分子量42,000）、MMP-2（分子量67,000）、MMP-3（分子量45,000）活性に対して、TIMP-1はTIMP-2より2.5倍から7.8倍強く阻害したが、MMP-9（分子量67,000）に対してはTIMP-2の方が1.2倍強い阻害活性を示した。潜在型MMP-2はTIMP-2とのみ複合体を形成し、その複合体もインヒビター活性を有していた。また、TIMP-2は潜在型MMP-2の活性化をTIMP-1より7.6倍強く阻害した。TIMP-2に対するモノクローナル抗体を用いた実験から、潜在型MMP-2とはカルボキシル末端ドメインで結合し、アミノ末端ドメインの3番目のループがMMP-2活性の阻害中心であると推定された。TIMP-2のインヒビター活性はトリプシン（50 μ g/ml）、 α -キモトリプシン（50 μ g/ml）、好中球エラスターゼ（50 μ g/ml）、カテプシンG（50 μ g/ml）処理で不活性化され、その分子は小さいフラグメントに分解された。一方、血漿カリクレイン（1, 10 μ g/ml）はTIMP-2のみを完全に分解・失活した。活性酸素種ではTIMP-2はHOCl（0.1mM）、 H_2O_2 （0.2~5mM）によって不活性化されたが、TIMP-1はHOCl（2mM）でのみ不活性化された。以上の結果は、TIMP-2が酸素活性の阻害と潜在型酵素の活性化阻害の両面からMMP-2活性調節に重要な役割を果たすこと、また病的状態ではTIMPによるMMPの活性調節は、病変部に浸潤した多核白血球や血清に由来するセリンプロテアーゼや活性酵素種によって修飾されることを示唆している。以上本研究はTIMP-2の生化学的性質を詳細に検討したものであり、組織破壊の病理・生化学に資することが大きいと評価される。