

がん悪性形質を制御する Nodal Point としての MT1-MMP の解析

Study of MT1-MMP in Cancer

清木 元治 (SEIKI MOTOHARU)

東京大学・医科学研究所・教授



研究の概要

がん細胞の表層はシグナル交換の場であり、そこで起こることを理解することはがん研究にとって重要である。細胞外でのタンパク質機能の修飾にはプロテアーゼが重要な役割を果たす。私たちが発見した膜型プロテアーゼ MT1-MMP はがん細胞の悪性形質を維持するために重要な役割を果たしており、本研究ではこの点を様々な観点から解明することを試みる。

研究分野：腫瘍学

科研費の分科・細目：腫瘍生物学

キーワード：がん細胞の特性、細胞接着、運動、浸潤、転移

1. 研究開始当初の背景

多くのがんは上皮系細胞の遺伝子変異に起因して発生する。悪性のがん細胞は転移して全身に広がるが、転移したがんを治療できる有効な手段はまだない。私たちが注目している膜型マトリックスメタロプロテアーゼ (MT1-MMP) は悪性のがん細胞に高発現し、がん細胞周辺のコラーゲンをはじめとする組織の構造を破壊して、がん細胞の浸潤および組織内移動を促進する。

2. 研究の目的

MT1-MMP は悪性のがん細胞に高発現し、がん細胞周辺のコラーゲンをはじめとする組織の構造を破壊して、がん細胞の浸潤および組織内移動を促進すると考えられてきた。しかし、それだけでなく、MT1-MMP は細胞表面の様々な機能タンパク質の部分切断による機能変換を引き起こし、がんの悪性化を促進する多機能性も持っている。本研究では MT1-MMP のがん悪性形質を制御する多機能性の実態を分子レベルで明らかにし、がんの診断・治療への応用の学術的な基盤を確立する。

3. 研究の方法

MT1-MMP の生物学的な機能は、基質となる細胞外タンパク質の切断、それに続く標的タンパク質の機能変化によって具現化する。

様々な細胞外タンパク質が基質となり得るが、なかでもがんの進展にとって鍵を握る基質の同定が重要である。私たちは、MT1-MMP が、がん細胞の膜上で会合しているタンパク質を網羅的に同定して、その中から、がんの進展にとって重要な基質を同定すること、それと同時に MT1-MMP と特定に基質相互作用を制御する因子を同定すること、MT1-MMP の機能と連動する細胞の制御因子を同定することにより、MT1-MMP によるがん悪性形質の制御様式を明らかにして、がんの診断や治療に役立てようとしています。

4. これまでの成果

(1) MT1-MMP の重要基質としては間質の主成分であるコラーゲンが有名である。しかし、MT1-MMP が直接細胞増殖に関わるシグナル分子を制御する例は知られていなかった。がん細胞の増殖シグナルは EGF 受容体を介することが多い。しかし、そのリガンドは必ずしも EGF だけではなく、HB-EGF が使われることも多い。代表例としては卵巣がんがある。HB-EGF の特徴として、増殖因子活性にヘパリンを必要とすることがある。私たちの研究で、MT1-MMP は HB-EGF の部分切断がヘパリン要求性を解除し、常に活性型の増殖因子へと変換することを明らかにした。活性型 HB-EGF に対する阻害剤開発などの道が開けた。

(2) MT1-MMP の細胞内ドメインと相互作用する新規なタンパク質として p27RF-Rho を同定した。P27RF-Rho は細胞内 vesicle に局在するが、一部は浸潤突起と呼ばれる細胞の構造体部分に MT1-MMP と共局在していた。浸潤突起は浸潤性のがん細胞が高頻度に形成する細胞突起であり、細胞外基質を分解するプロテアーゼ類を外側に集め、内部はアクチン重合の制御によって突起構造を作る。P27RF-Rho は RhoA や RhoC の活性を促進する機能を持ち、その結果として MT1-MMP 存在部位での浸潤突起形成を制御していた。高転移性のメラノーマ細胞では RhoA や RhoC の発現が亢進しているだけでなく、p27RF-Rho の発現も亢進しており、メラノーマ細胞の転移を促進する活性を持っていた。

(3) 低酸素状態に細胞が置かれると低酸素ストレスに応答するための転写因子 HIF-1 が活性化し、ストレスに対応するための様々な遺伝子の発現のスイッチが入る。一方で、悪性がん細胞では通常の酸素分圧下でもグルコース代謝が亢進している現象が知られており、Warburg effect として名高いばかりでなく、PET によるがん診断にも応用されている。いろいろながん化に関わる遺伝子がこの現象に影響を持つが、HIF-1 の恒常的活性化が起こる仕組みはわかっていなかった。もう一方で、マクロファージは恒常的に HIF-1 が活性化しており、ATP 産生を好氣的解糖系に依存する特殊な細胞である。私たちは MT1-MMP 欠損マクロファージで ATP 産生が低下する現象を見いだしたことにより、MT1-MMP の細胞内ドメインが HIF-1 の抑制因子である FIH-1 を不活化する経路を新たに見いだした。マクロファージのシステムは、浸潤性獲得に伴って MT1-MMP を発現するがん細胞株でも機能しており、調べた限りすべてにおいて、MT1-MMP 依存性の HIF-1 活性化が観察された。MT1-MMP による HIF-1 活性化は、がん細胞における細胞増殖に対する metabolism の面から重要性、エネルギー産生面でのミトコンドリア機能の低下の補足、細胞運動亢進、血管新生誘導因子 VEGF の産生などの点に寄与していると考えられる。

(4) 細胞接着装置と浸潤装置は互いに共通項を持つ。それぞれの構成タンパク質を網羅的プロテオミクスによって解析した。その中の一つである ZF21 は PI 3P 結合モチーフである FYVE ドメインを持つ機能未知のタンパク質であった。解析の結果、接着班に恒常的に存在するタンパク質であり、興味深いことに、接着班の形成には影響はないが、分解過程には必須の因子であることを明らかにした。此まで、接着班の形成過程は比較的明らかになってきたが、分解過程の制御因子の同

定はきわめて興味深い。ZF21 の発現はがん細胞の運動や浸潤・転移に必要であり、ZF21 の発現抑制は実験的転移を抑制した。接着班分解制御のモデルが提唱できた。

5. 今後の計画

MT1-MMP と相互作用をする interactome 解析をさらに続ける。その中で、細胞表層での基質分解が細胞機能変換に関与する新たな基質を同定するとともに、その過程の制御機構、がんの悪性化との関連を明らかにする。

MT1-MMP ががん細胞の低酸素ストレス応答にも接点を持つことがわかった。細胞のストレス応答と細胞外環境の改変との接点を新しい研究分野として開拓する。

これらの基礎研究で判明した治験をがんの臨床的な問題の解決に向けて実用化の可能性を探る。すでにいくつかの阻害剤開発、診断計の開発などを手がけている。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)
Hoshino, D., N. Koshikawa, and M. Seiki*, A p27(kip1)-binding protein, p27RF-Rho, promotes cancer metastasis via activation of RhoA and RhoC. *J Biol Chem*, 2011. **286**(4): p. 3139-48.

Sakamoto, T., D. Niiya, and M. Seiki*, Targeting the Warburg effect that arises in tumor cells expressing membrane type-1 matrix metalloproteinase. *J Biol Chem*, 2011. **286**(16): p. 14691-704.

Koshikawa, N., H. Mizushima, T. Minegishi, R. Iwamoto, E. Mekada, and M. Seiki*, Membrane type 1-matrix metalloproteinase cleaves off the NH2-terminal portion of heparin-binding epidermal growth factor and converts it into a heparin-independent growth factor. *Cancer Res*, 2010. **70**(14): p. 6093-103.

Nagano, M., D. Hoshino, T. Sakamoto, N. Kawasaki, N. Koshikawa, and M. Seiki*, ZF21 protein regulates cell adhesion and motility. *J Biol Chem*, 2010. **285**(27): p. 21013-22.

Sakamoto, T. and M. Seiki*, A membrane protease regulates energy production in macrophages by activating hypoxia-indu

ホームページ等

<http://www.motoharu-seiki.com/>