

## 論文審査の結果の要旨および担当者

--	--

氏 名 瀬 尾 忠 彦

論 文 題 目 ADAM による細胞間解離の分子機構に関する研究

### 論文審査担当者

主 査	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	薬学博士	澤 田 均
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	博士 (理学)	大 隅 圭 太
委 員	名古屋大学大学院理学研究科	教 授	博士 (医学)	木 下 専

## 論文審査の結果の要旨

ADAM (A Disintegrin and Metalloprotease) ファミリータンパク質は、がんの浸潤転移や喘息など様々な疾患に関わることが報告されているが、ヒト内在性 ADAM の基質となる標的分子や作用機序に関してはほとんど知られていない。

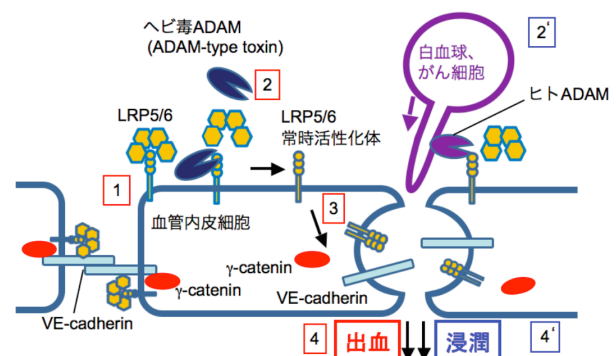
申請者は、ADAM ファミリータンパク質の中で、生理活性を有する活性型のヘビ毒 ADAM (Vascular Apoptosis-inducing Protein (VAP)) に着目し、その標的分子の探索を行った。また申請者は、ヘビ毒 ADAM が出血や血管内皮細胞間の接着破壊 (細胞間解離) を引き起こすという生理活性を示す点や、一次構造において高い相同性を示すことから、白血球やがんの浸潤に関与するヒト内在性 ADAM (ADAM8 等) との関連を考えた。言い換えれば、ヘビ毒 ADAM の標的分子の探索や作用機構の研究は、がんの細胞浸潤機構の解明につながる可能性を視野に入れて、研究を展開した。

本研究ではまず、ヘビ毒 ADAM による細胞応答の解析や出血を引き起こす標的分子の探索を行った。最初にヘビ毒 ADAM の VE-cadherin に及ぼす影響を検討したが、その分解活性は確認されなかった。その一方で、細胞接着領域から細胞質への局在変化を引き起こすことを見出した。また、 $\gamma$ -catenin も細胞接着領域から細胞質に局在性を変化させた (図参照)。このことは、ヘビ毒 ADAM が VE-cadherin を直接切断するのではなく、何らかの信号伝達経路を介して VE-cadherin と  $\gamma$ -catenin の局在性を変化させることを示唆している。  $\beta/\gamma$ -catenin の細胞質への局在変化を引き起こす経路として Wnt シグナルが知られている。Wnt シグナルの古典的経路では、通常 Wnt がその共受容体である LRP5 または LRP6 に結合する事により、  $\beta/\gamma$ -catenin の細胞質への局在変化を引き起こす。一方で、LRP5/6 はその細胞外ドメインの一部を欠失させた分子を発現させると、Wnt 非存在下でも Wnt シグナルが活性化され、  $\beta$ -catenin の細胞質への移行を引き起こすことが報告されている。そこで、LRP5/6 がヘビ毒 ADAM により特異的切断を受け、それにより Wnt シグナルの活性化が起こるのではないかと考え、検討を行った。その結果、LRP5/6 は Wnt シグナルを活性化しうる部位で、ヘビ毒 ADAM により切断を受けることが判明した。また、LRP6 のヘビ毒 ADAM による消化断片を質量分析計で解析することにより、切断部位も同定した。

次に、この切断が細胞間接着や出血に関与するか否かを調べる目的で、LRP6 の切断を阻害する抗体を作製して解析を行った。その結果、ヘビ毒 ADAM による細胞間解離と出血が、この抗体で抑制されることが判明した。このことは、ヘビ毒 ADAM による LRP6 の特異的切断が細胞間解離と出血を引き起こすことを示唆している。

もし、ヘビ毒 ADAM が LRP5/6 の活性化部位で切断することにより出血を引き起こすのであれば、切断部位に変異または欠失を有する LRP5/6 を持つ動物では、ヘビ毒 ADAM による出血が抑制されることが予想される。そこで、実際にヘビ毒により出血する動物と出血耐性を示す動物を取り上げ、LRP5/6 の切断部位配列と出血耐性との相関関係について調べた。その結果、出血耐性動物においては、LRP5 か LRP6 のいずれかに、ヘビ毒 ADAM による切断部位や、活性化に重要な LDLa ドメインに、変異が生じていることを見出した。出血耐性動物において、LRP5/6 の切断部位に変異が見られるという事実は、LRP5/6 の特異的切断が出血に重要であるという考えを支持している。次に、ヘビ毒 ADAM と同様に細胞間解離に関わる、浸潤関連ヒト内在性 ADAM (ADAM8 と ADAM12) を取り上げ、それらが LRP6 を切断するか否かを検討した。その結果、これらのヒト ADAM も、ヘビ毒 ADAM が切断する LRP6 切断部位と同一部位を切断することが明らかとなった。

本研究により、ヘビ毒 ADAM とヒト内在性 ADAM である ADAM8,12 が LRP5/6 を活性化部位で切断すること、そして、その特異的切断により血管内皮細胞の解離と出血を引き起こす可能性が高いことが示された。また本研究は、ヘビ毒 ADAM による出血のみならず、白血球やがん細胞の浸潤機構に関しても新しいモデルを提唱するものであり、非常に高く評価できる (図参照)。以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与される十分な資格があるものと認められる。



【図】 ADAM による細胞間解離と出血のモデル