

## B15

*Bidens pilosa* は活性型 MMP-2 への変換を促進する

○島村 奈緒美<sup>1</sup>, 安藤 まどか<sup>1</sup>, 小林 孝志<sup>2</sup>, 草野 源次郎<sup>3</sup>, 輪千 浩史<sup>1</sup>, 瀬山 義幸<sup>1</sup>

(星薬科大学<sup>1</sup>, 千葉大学・医<sup>2</sup>, 大阪薬科大学<sup>3</sup>)

【目的】宮古島産 *Bidens pilosa* (BP) (武蔵野免疫提供) は、我々の研究室において抗炎症作用、創傷治癒作用、抗酸化作用などが確認されている。これらの作用については一般的に MMP、TIMP による調節が推測されるので、その検討を行った。【対象および方法】ヒト繊維肉腫細胞 HT1080 を 6well plate に  $1 \times 10^5$  cell/well で播種し、10% FBS 含有の DMEM (high glucose) でほぼコンフルエントまで培養後、無血清 DMEM に交換し、30 分後に BP 熱水抽出物を 0.01, 0.1, 1mg/mL の各濃度で処理した。培養上清中の MMP の発現と活性をゼラチンザイモグラフィ、ウェスタンブロット法により解析した。また、10cm dish にて同様に BP を処理した細胞から全 RNA を抽出し、ノーザンハイブリダイゼーションにより mRNA レベルでの MMP-2 とその阻害因子である TIMP-2、活性化因子である膜型 MMP (MT1-MMP) の発現について解析した。【結果】BP は、濃度依存的に MMP-2 mRNA の発現を減少し、pro MMP-2 から active MMP-2 への変換を促進した。また、BP は、TIMP-2 と MT1-MMP の発現を mRNA レベルにおいて濃度依存的に増加した。【結論】BP は、TIMP-2 と MT1-MMP の発現増加を介して、pro MMP-2 から active MMP-2 への変換を促進する可能性が示唆された。BP は相対的な MMP-2 活性化促進作用により、基底膜分解、血管新生を介し、創傷治癒を促進すると考えられる。

*Bidens pilosa* promotes the conversion to active form of MMP-2.

Naomi Shimamura<sup>1</sup>, Madoka Ando<sup>1</sup>, Takashi Kobayashi<sup>2</sup>, Genjiro Kusano<sup>3</sup>, Hiroshi Wachi<sup>1</sup>, Yoshiyuki Seyama<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>Dept. of Clinical Chemistry, Hoshi University School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, <sup>2</sup>Dept. of Dermatology, Chiba University School of Medicine, <sup>3</sup>Osaka University of Pharmaceutical Sciences)

## B16

TIMP-1 の濃度依存性細胞増殖活性には異なるシグナル伝達系が関与している

○近藤千裕<sup>1</sup>, 下條長宏<sup>1</sup>, 山下京子<sup>1</sup>, Ian M Clark<sup>2</sup>, Dylan R Edwards<sup>2</sup>, 早川太郎<sup>1</sup>

(愛知学院大学歯学部生化学講座<sup>1</sup>, イーストアングリア大<sup>2</sup>)

【目的】TIMP-1 の多機能性の一つである細胞増殖活性に細胞環境の TIMP-1 濃度が係っていること、および、高濃度と低濃度で異なるシグナル伝達系が働いていることを明らかにした。

【材料と方法】野生型 HT1080(WT)、ベクターのみを組み込んだ HT1080(CGEMEV)および Timp-1 遺伝子を組み込み、TIMP-1 を過剰発現させた HT1080(CGEMT1)を使用した。DNA 量は Heinegardner 法、TIMP-1 量は EIA、各シグナル伝達系の検出は Western blot で行った。

【結果】培養した CGEMEV と CGEMT1 の TIMP-1 発現と増殖を追跡したところ、その細胞増殖は TIMP-1 濃度依存性であった。抗 TIMP-1 抗体の添加、TIMP-1 含有培地から非含有培地への移行実験等により、その増殖が自ら産生した TIMP-1 によるオートクリン機構によることが明らかとなった。さらに WT に 25、50、100 および 250 ng/ml の hrTIMP-1 を添加した場合、25~50 ng/ml にかけて MEK3/6 および p38MAPK の強い発現がみられたが、250 ng/ml では発現が見られなかった。これに対し、25、50 および 150 ng/ml の hrTIMP-1 を添加した場合、何れの濃度においても MEM のみに比べ、Erk1/2 の顕著な発現が見られたが、濃度による発現の差は見られなかった。

【結論】TIMP-1 による細胞増殖活性は濃度依存性に調節されており、それはオートクリン機構によることが明らかになった。また、高濃度 TIMP-1 存在下では、古典的増殖シグナル伝達系である Erk1/2 は発現しているが、MEK3/6 および p38MAPK の発現が抑制されており、これが高濃度 TIMP-1 の存在が HT1080 の増殖を抑制する要因の一つであると考えられる。

Concentration-Dependent Regulation of Cell-Growth Promoting Activity of TIMP-1 Is Regulated by Differential Signal Induction.

Chihiro Kondo<sup>1</sup>, Nagahiro Shimojo<sup>1</sup>, Kyoko Yamashita<sup>1</sup>, Ian M Clark<sup>2</sup>, Dylan R Edwards<sup>2</sup>, Taro Hayakawa<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Dept. of Biochemistry, Sch. of Dent., Aichi-Gakuin University,

<sup>2</sup>University of East Anglia)