慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	ADAM28 Is Overexpressed in Human Breast Carcinomas : Implications for Carcinoma Cell Proliferation through Cleavage of Insulin-like Growth Factor B inding Protein-3
Sub Title	ヒト乳癌におけるADAM28の発現とIGFBP-3分解による乳癌細胞増殖への関与
Author	三井, 洋子
Publisher	慶應医学会
Publication year	2007
Jtitle	慶應医学 (Journal of the Keio Medical Society). Vol.84, No.3 (2007. 9) ,p.21-
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	号外
Genre	Journal Article
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=AN00069296-20070901-0021

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

ADAM28 Is Overexpressed in Human Breast Carcinomas: Implications for Carcinoma Cell Proliferation through Cleavage of Insulin-like Growth Factor Binding Protein-3

（ヒト乳癌におけるADAM28の発現とIGFBP-3分解による乳癌細胞増殖への関与）

三　井　　洋　子

内容の要旨

ADAMs（a disintegrin and metalloproteinases）は近年クローニングされたMMPs（matrix metalloproteinascs）近縁遺伝子ファミリーであり、細胞膜上での増殖因子やレセプターのshedding、インテグリンやシンデカンとの結合を介した細胞の接着・遊動・浸潤に関与する多機能分子として注目されている。本研究では、12種類のプロテアーゼ型ADAMsのうち膜型ADAM28mと分泌型ADAM28s遺伝子がヒト乳癌組織特異的に発現することをRT-PCRで示し、その発現レベルは非腫瘍性乳腺組織より有意に高値であることを定量PCRで明らかにした。*In situ* hybridizationと免疫組織染色により、ADAM28はヒト乳癌組織の癌細胞特異的に発現しており、イムノブロット法によりADAM28は42kDaの活性型分子として検出された。ADAM28 mRNA発現レベルとMIB-I positive cell indexは正の相関を示し、ADAM28の発現が癌細胞増殖に関与することが示唆された。ADAM28はIGFBP-3（insulin-like growth factor binding protein-3）を選択的に分解することでIGF-IIGFBP-3複合体からIGF-Iを遊離することが報告されている。そこで、ADAM28高発現乳癌細胞株（MDA-MB231）とADAM28非発現乳癌細胞株（MCF-7）を用いて、IGF-I刺激による細胞増殖、IGFBP-3の分解、IGF type I receptorとERK（extracellular signal-regulated kinasc）1/2の燐酸化に対するADAM阻害剤、抗ADAM28中和抗体およびADAM28 siRNAの作用を検討した結果、MDA-MB231細胞においてのみ抑制効果が認められた。また、ヒト乳癌組織でのIGFBP-3の分解はADAM28発現レベルと相関し、乳癌組織のADAM阻害剤や抗ADAM28抗体での処理により阻害された。さらに、MDA-MB231細胞をBALB/c-nu-nuマウス皮下に移植後、ADAM28 siRNAを腫瘍近傍に注入すると、non-silencing siRNA群と比較して腫瘍増殖が有意に抑制された。

以上のデータより、ADAM28は活性型として乳癌細胞特異的に高発現し、IGFBP-3分解亢進を介したIGF-I生理活性増強により乳癌細胞増殖に作用することが明らかとなり、ADAM28の発現や活性阻害が乳癌細胞の増殖抑制に働くことが示された。

論文審査の要旨

A disintegrin and metalloproteinases（ADAMs）は matrix metalloproteinases（MMPs）類似のメタロプロテアーゼであり、細胞膜上での膜蛋白のshedding、インテグリンなどとの結合による細胞の接着・遊動・浸潤に関与する多機能分子として近年注目されている。本研究では、ヒト乳癌組織において膜型および分泌型ADAM28が活性型酵素として乳癌細胞特異的に高発現することを明らかにした。また、ADAM28はinsulin-like growth factor binding protein-3（IGFBP-3）の分解を介してinsulin-like growth factor-I（IGF-I）の生理活性を増強することで乳癌細胞増殖に関与する事をin vitroおよびin vivoで初めて証明した。

審査においては、ADAM28の発現レベルと一般的な臨床病理学的因子との相関がなぜ得られなかったかについてまず質問された。これに対しては、本実験ではmRNAレベルとの相関をみており、酵素活性が十分反映されていない可能性があることに加え、他のADADMsやMMPs分子の発現やホルモンレセプターなどの機能が複合的に作用している可能性があると回答した。また、ヒト肺癌においては同様の手法でADAM28発現と腫瘍径およびリンパ節転移との間で有意差が得られていることから、症例数を増やして詳細なグループ間で解析をすると臨床病理学的因子との相関が得られる可能性があると説明した。次に、IGFBP-3分解能をもつ他のADAMsやMMPsが今回の実験系に関与している可能性がないかとの指摘を受けた。これに対しては、これらの分子は不活性型酵素として存在しており、抗ADAM28抗体とADAM28 siRNAによる発現抑制実験で確認を得たことから、その可能性は少ないと回答した。また、膜型と分泌型 ADAM28の識別と機能の違いについて質問された。両分子の識別はRT-PCRとreal time PCRで可能であるが、機能については現在のところ不明であり、今後の研究課題の一つと考えていると説明した。さらに、ADAM28発現と病理組織学的因子との相関について質問された。これに対しては、組織型や核異型度とは相関を認めないが、高度浸潤型（INFγ）癌が低浸潤型（INFα/β）癌より有意にADAM28発現量が高値であったと回答した。ADAM28 siRNAを用いた実験においてin vitroでの発現抑制が早期（２日）でおきるのに対してin vivoでは数日かかる理由が質問された。これに対しては、in vitroでの機械的導入とin vivoでの取り込みが異なる点と、腫瘍増殖抑制効果はIGF-Iシグナルを介するためin vivoではより時間がかかると推定されるためと説明した。

以上のように、本研究ではいくつかの未解決の問題を残しているものの、ヒト乳癌におけるADAM28の発現および機能について系統的に検討し、乳癌組織におけるADAM28の細胞増殖シグナルへの関与を解明した点で有意義な研究と評価された。

論文審査担当者　主査　病理学　岡田　保典
　　病理学　坂元　亨宇　　先端医科学　河上　　裕
　　産婦人科学　青木　大輔
学力確認担当者：池田　康夫
　　審査委員長：坂元　亨宇

試問日：平成19年4月25日