

Title	病的組織リモデリングにおけるメタロプロテアーゼの病理学的研究
Sub Title	Pathological study on metalloproteinases in tissue remodeling under pathological conditions
Author	岡田, 保典(Okada, Yasunori) 望月, 早月(Mochizuki, Satsuki) 藤井, 豊(Fujii, Yutaka) 下田, 将之(Shimoda, Masayuki) 木村, 徳宏(Kimura, Tokuhiko)
Publisher	
Publication year	2015
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2014. )
JaLC DOI	
Abstract	<p>病的状態での組織リモデリングにおけるメタロプロテアーゼの作用を解析し、以下のデータを得た。 ①肺癌細胞の増殖・転移には癌細胞が産生するADAM28というメタロプロテアーゼが重要であり、将来的に治療標的分子になる可能性を示した。 ②癌間質線維芽細胞由来のメタロプロテアーゼ活性は癌細胞の増殖・浸潤・転移を支配していることを明らかにした。 ③急性大動脈解離という難治性疾患の発症には、好中球由来MMP-9が関わることを実証した。 ④高齢者運動障害の主要原因の一つである変形性関節症において、関節軟骨破壊性メタロプロテアーゼADAMTS4の活性調節機構とKIAA1199分子のヒアルロン酸分解作用を明らかにした。</p> <p>We have studied the roles of metalloproteinases in pathological tissue remodeling, and obtained the following data : 1) ADAM28 produced by lung carcinoma cells plays a key role in cancer cell proliferation and metastasis and this molecule seems to be a good drug target for the treatment of non-small cell lung cancers. 2) Activities of metalloproteinases derived from cancer-associated fibroblasts control cancer cell proliferation, invasion and metastasis. 3) Neutrophil-derived MMP-9 has an important role in the initiation of acute aortic dissection, which is an extremely intractable disease with poor prognosis. 4) The activity of ADAMTS4, which is a major metalloproteinase implicated for aggrecan degradation in human osteoarthritis (a major cause of locomotive syndrome), is inhibited by CCN1(Cyr61) and KIAA1199 is a key enzyme for hyaluronan depolymerization.</p>
Notes	研究種目 : 基盤研究(A) 研究期間 : 2012 ~ 2014 課題番号 : 24249022 研究分野 : 病理学
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_24249022seika">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_24249022seika</a>

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.

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 2 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2012～2014

課題番号：24249022

研究課題名(和文)病的組織リモデリングにおけるメタロプロテアーゼの病理学的研究

研究課題名(英文)Pathological study on metalloproteinases in tissue remodeling under pathological conditions

研究代表者

岡田 保典 (Okada, Yasunori)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：00115221

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 35,600,000円

研究成果の概要(和文)：病的状態での組織リモデリングにおけるメタロプロテアーゼの作用を解析し、以下のデータを得た。肺癌細胞の増殖・転移には癌細胞が産生するADAM28というメタロプロテアーゼが重要であり、将来的に治療標的分子になる可能性を示した。癌間質線維芽細胞由来のメタロプロテアーゼ活性は癌細胞の増殖・浸潤・転移を支配していることを明らかにした。急性大動脈解離という難治性疾患の発症には、好中球由来MMP-9が関わることを実証した。高齢者運動障害の主要原因の一つである変形性関節症において、関節軟骨破壊性メタロプロテアーゼADAMTS4の活性調節機構とKIAA1199分子のヒアルロン酸分解作用を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：We have studied the roles of metalloproteinases in pathological tissue remodeling, and obtained the following data: 1) ADAM28 produced by lung carcinoma cells plays a key role in cancer cell proliferation and metastasis and this molecule seems to be a good drug target for the treatment of non-small cell lung cancers. 2) Activities of metalloproteinases derived from cancer-associated fibroblasts control cancer cell proliferation, invasion and metastasis. 3) Neutrophil-derived MMP-9 has an important role in the initiation of acute aortic dissection, which is an extremely intractable disease with poor prognosis. 4) The activity of ADAMTS4, which is a major metalloproteinase implicated for aggrecan degradation in human osteoarthritis (a major cause of locomotive syndrome), is inhibited by CCN1(Cyr61) and KIAA1199 is a key enzyme for hyaluronan depolymerization.

研究分野：病理学

キーワード：MMP ADAM TIMP 組織リモデリング 悪性腫瘍 急性大動脈解離 変形性関節症 関節軟骨

### 1. 研究開始当初の背景

生体は細胞と細胞間物質から構築されており、細胞の多彩な機能は細胞膜表面や細胞間に局在する細胞外マトリックス (extracellular matrix=ECM) とそれに結合する生理活性物質 (増殖因子、サイトカイン、ケモカインなど) からなる組織内微小環境因子によって規定されており、病的状態においては、これらの劇的な変化による病的組織リモデリングが生じる。悪性腫瘍においては、がん細胞の増殖とともにマクロファージなどの炎症細胞浸潤、血管新生、線維芽細胞の増殖、線維化などが進行し、転移先臓器でも同様な所見が認められる。炎症性疾患においては、有血管性組織では悪性腫瘍と類似の組織リモデリング像を呈するのに対し、血管を欠く軟骨では軟骨細胞の増殖と異常な ECM 蓄積を中心とする無血管性組織特異的な組織リモデリングを来す。このような病的組織リモデリングの形成機序の理解や制御法開発には、組織内微小環境因子の産生・分解を分子レベルで検討することが必須である。

### 2. 研究の目的

本研究では、腫瘍性と非腫瘍性疾患、有血管性と無血管性組織の対立軸を持ちながら、病的組織リモデリングに関与するメタロプロテアーゼの MMP (matrix metalloproteinase) 分子と ADAM (a disintegrin and metalloproteinase) 分子 (分泌型 ADAMTS と膜型 ADAM に分類される) の作用に着目し、病的組織リモデリングの研究を格段に発展させることを目的とし、以下の 3 研究項目について解析した。

(研究 I) 悪性腫瘍組織リモデリングにおける MMP/ADAM の作用機構解析

(研究 II) 血管疾患での組織リモデリングにおける MMP/ADAM の作用機構解析

(研究 III) 関節軟骨疾患の組織リモデリングにおける MMP/ADAM の作用機構解析

### 3. 研究の方法

(1) ADAM28 の新規基質探索と転移モデルによる解析: ADAM28 の Cys<sup>410</sup>-Arg<sup>540</sup> を bait にして yeast two-hybrid system でヒト肺 cDNA library をスクリーニングし、von Willebrand factor (VWF) を結合候補分子として見出し、両分子の結合を binding assay で証明した。また、活性型 ADAM28 と VWF をインキュベートし、VWF の分解を電気泳動により解析し、切断部位を N 末端シークエンスにより決定した。ADAM28 を発現あるいは発現しない各種ヒトがん細胞株に VWF を添加して VWF のアポトーシス誘導活性を検証した。また、luciferase と Venus 遺伝子を含む ffLuc-cp156

ベクターを導入したヒト肺癌細胞株 (PC-9) と乳癌細胞株 (MDA-MB231) を NOD-SCID マウスに移植し、ADAM28 による VWF 分解と肺転移および自然転移発症との関連を In Vivo Imaging System で検討した。ADAM28 に対する siRNA や shRNA 導入による発現抑制や抗 ADAM28 中和抗体による実験で ADAM28 の特異的作用を検証した。

(2) 癌細胞における ADAM28 発現機構解析: MDCK (Madin-Darby canine kidney) 細胞にがん遺伝子 (v-src、LMP-1、ErbB2、Ha-Ras、c-Fos) 導入により形質転換した細胞株において、形態学的変化を検討するとともに、ADAM9、10、12、15、17、28 の発現を RT-PCR で調べ、ADAM28 タンパク質発現をイムノプロットと免疫組織染色で検討した。これらの形質転換細胞株のヌードマウスでの発育と ADAM28 発現を免疫組織学的に調べた。v-src により形質転換した細胞株では、Src や下流シグナルである MEK/ERK と PI3K/Akt/mTOR 経路をリン酸化とシグナルインヒビターを用いて検証した。また、各種ヒト癌細胞株 (PC-9、Calu-3、MDA-MB231、MCF-7、RMUGL、TOV21、Caki-2、769P、HCT15、LOVO、HepG2) を用いて、ADAM28 発現と Src のリン酸化やインヒビターでの発現抑制との関係を調べ、Src 下流シグナルインヒビター処理による ADAM28 発現を検討した。さらに、ヒト肺癌、乳癌、大腸癌、大腸腺腫、正常大腸粘膜での Src リン酸化と ADAM28 発現との相関を調べた。

(3) 分子標的薬治療後腎癌組織の解析と発現分子探索: 抗 VEGF 受容体キナーゼ薬治療薬 (スニチニブ) 治療および未治療後に摘出された転移性腎癌および原発癌組織に関して病理形態学的に比較・検討するとともに、癌幹細胞候補分子 (CD44、CD133 など)、基底膜や ES 細胞で発現する特殊な ECM 分子 (IV 型コラーゲン、ラミニン 10 など)、MMP 分子 (MMP-1、2、3、7、9、13、14 など)、ADAM 分子 (ADAM9、10、12、15、17、28 など)、サイトカイン (TNF- $\alpha$  など)、EMT マーカー (Snail、Slug、Twist、E-cadherin など) を免疫組織染色により検討した。また、腎細胞癌株 (786-O、ACHN) を用いて、TNF- $\alpha$  や低酸素処理して TNF- $\alpha$  発現や CD44 発現変化を調べた。

(4) TIMP (tissue inhibitor metalloproteinases) 遺伝子欠損マウス由来線維芽細胞と癌関連線維芽細胞 (cancer-associated fibroblasts=CAFs) の解析実験: TIMP-1、2、3、4 を全て欠損するマウスと野生型マウス皮膚より線維芽細胞を培養し、 $\alpha$ -SMA、SDF-1、HGF、TGF- $\beta$ 2 などの発現を調べるとともに、ヒト癌細胞株との共培養系における増殖能および NOD-SCID マウス皮下への移植による腫瘍形成能の変

化を検討した。また、混合移植後の癌細胞肺転移能の変化を TIMP 欠損線維芽細胞と野生型線維芽細胞との間で比較・検討した。さらに、ヒト肺癌組織より CAFs を単離・培養し、CAFs で発現する TIMP-1, 2, 3, 4 の発現レベルを real-time PCR にて検討した。また、TIMP 欠損線維芽細胞より exosomes を単離して、癌細胞への作用を調べ、Gene Ontology analysis により野生型 exosomes との違いを検証した。

(5) 急性大動脈解離(Acute Aortic Dissection =AAD)患者末梢血中の MMP と Angiotensin II(AngII)測定および AAD モデル作製と解析:AAD 患者血中での MMP-1,2,3,9, TIMP-1,2 および AngII のレベルを ELISA 法により測定し、大動脈人工血管移植術時に得られた AAD 大動脈組織について免疫染色により好中球と MMP-9 の局在を決定した。幼弱マウスにリジロオキシダーゼ阻害剤である  $\beta$ -aminopropionitrile monofumarate (BPAN) 投与後に AngII を持続投与することで AAD マウスモデルを開発した。本モデルにおける AAD を CT scan および組織学的に検討するとともに、大動脈局所での好中球浸潤、MMP-9、ゼラチン分解活性を調べた。また、本マウスに MMP インヒビターや抗好中球抗体投与や MMP-9 欠損マウスでの同様な処理による AAD 発症を検討した。さらに、本モデルにおいて大動脈に浸潤した炎症細胞での CXCL1, G-CSF, IL-6 などの発現を検討し、大動脈破裂機構を調べた。

(6) ADAM17 の軟骨での作用解析: Cre/loxP 法により軟骨組織特異的に ADAM17 遺伝子を欠損した ADAM17<sup>lox/lox</sup>/Col2a1-Cre マウスを開発し、全身骨格系の変化を肉眼的、組織学的およびレントゲンにより観察した。また、骨端板の組織における骨吸収に関わる分子 (RANKL, osteoprotegrin, MMP-13 など) の発現を real-time PCR にて測定した。

(7) ヒト変形性関節症(OA)関節軟骨での ADAMTS4 の活性調節因子探索: ヒト関節軟骨プロテオグリカン分解の中心的酵素である ADAMTS4(アグリカナーゼ 1) に His/FLAG タグを組み込んだ発現ベクターを軟骨肉腫細胞株に導入し、細胞膜分画と培養液を抗 His タグ抗体カラムと抗 FLAG 抗体カラムに掛け、ADAMTS4 結合タンパク質を溶出した。溶出したタンパク質の LC-MS/MS 法による検討で CCN1(Cyr61)を同定し、リコンビナント CCN1 を用いた binding アッセイにより結合能と ADAMTS4 の活性阻害を検討した。また、CCN1 の OA 関節軟骨組織での発現を real-time PCR、イムノプロット法および免疫組織染色により調べた。さらに、培養 OA 関節軟骨細胞を用いて種々のサイトカイン刺激下における CCN1 や ADAMTS4 発現とアグ

リカン分解活性を検討した。

(8) ヒアルロン酸分解関連分子の解析: ヒト皮膚線維芽細胞を種々のサイトカインなどで刺激したところ、ヒスタミンと TGF- $\beta$  処理でヒアルロン酸分解活性がそれぞれ亢進および低下することが判明した。これらの処理により変動する遺伝子をマイクロアレイ法により検索し、25 種類の遺伝子を見出し、siRNA によりノックダウンすることでヒアルロン酸分解活性に関わる分子として KIAA1199 を見出した。本分子を強制発現した細胞の溶解物を用いて種々の分子量のヒアルロン酸やプロテオグリカンとの結合能を binding assay で調べるとともに、線維芽細胞に本遺伝子を強制発現してヒアルロン酸分解活性を検討した。また、関節リウマチや変形性関節症の滑膜細胞と滑膜組織での KIAA1199 分子の発現を real-time PCR とイムノプロット法で検討し、線維芽細胞、正常皮膚組織および関節リウマチ滑膜組織での本分子の局在を免疫組織学的に検討した。

#### 4. 研究成果

各研究項目で得られた主な成果は以下の通りである。

(研究 1) 悪性腫瘍組織リモデリングにおける MMP/ADAM の作用機構解析:

ADAM28 は VWF を分解することを明らかにした。肺転移マウスモデルでは、癌細胞における ADAM28 発現抑制により肺転移は有意に低下し、血中 VWF 分解は対照群に比べて抑制され、癌細胞の多くは肺血管内でアポトーシスに陥っていた。自然転移モデルにおいても、癌細胞の局所での増殖と転移は ADAM28 発現抑制で低下することから、ADAM28 の癌細胞増殖・転移での重要性が実証された。本研究は J Natl Cancer Inst (2012) に発表され、血管壁および血管内という特殊な組織内微小環境で血液凝固と癌細胞転移との関連を初めて明らかにした研究であり、同誌の Editorials に取り上げられるとともに、国内においては日経新聞など数誌で報道された。正常組織では ADAM28 は精巢上皮など一部でしか発現せず、肺癌や乳癌組織では癌細胞にかなり特異的に発現することから、癌細胞での発現機構を解析した。その結果、癌遺伝子で形質転換した細胞株とヒト癌細胞株での検討により、Src の活性化により特異的に発現され、Src 下流の MEK/ERK と PI3K/Akt/mTOR の両経路を必要とすることを証明した。これらのデータをもとに、ADAM28 を標的とした肺癌分子標的治療を目指して、ヒト型抗 ADAM28 特異抗体を開発研究へと展開しており、現在 A-STEP の研究費を得て肺癌治療のための新規分子標的治療の可能性を検討中である。

転移性腎癌においては、分子標的薬スニチニブ治療が効果を示すことが近年注目されている。本研究ではスニチニブ治療後の腎癌

組織の解析により、残存癌細胞は ADAM17、TNF- $\alpha$ 、CD44 を高発現し、CD44 の発現は予後不良因子であることを示した。腎癌細胞株を用いた実験では、TNF- $\alpha$  は CD44 発現を亢進させるとともに上皮間葉転換や浸潤を促進することから、TNF- $\alpha$ /CD44 経路は、分子標的薬スニチニブに対する治療耐性に関わっていることが示唆された。

癌組織間質の CAFs は癌組織リモデリングに中心的な役割を担っている。MMP や ADAM の組織内インヒビターである TIMP -1,2,3,4 を全て欠損したマウスから線維芽細胞を分離して検討したところ、本 TIMP 欠損線維芽細胞は CAFs に類似した活性化線維芽細胞様形質を示し、腫瘍形成や肺転移を促進するとともに、TIMP 欠損線維芽細胞由来エクソソームが ADAM10 の作用により癌細胞の運動能促進や幹細胞性維持に関わることを見出した。また、ヒト肺癌由来 CAFs では TIMP-1,2,3,4 の発現が低下していることも明らかにした。本研究は癌組織リモデリングにおける CAFs の作用を実証したものであり、Nat Cell Biol (2014) に発表し、世界的に注目されている。

#### (研究 II) 血管疾患での組織リモデリングにおける MMP/ADAM の作用機構解析：

AAD は、急速に進行するきわめて予後不良な難治性疾患である。本研究では、AAD 患者血漿中において MMP-9 と AngII が有意に上昇しており、MMP-9 は大動脈に浸潤した好中球に由来することを突き止めた。BAPN を投与したマウスに Ang II 投与により全例で AAD を発症させることに初めて成功し、大動脈内膜への好中球浸潤と MMP-9 の発現・活性化を示した。AAD 発症率は、MMP 阻害薬投与、好中球中和抗体投与、MMP-9 ノックアウトマウスで有意に低下し、Ang II 刺激により内膜浸潤した好中球由来 MMP-9 が AAD を誘導することを証明した。本研究は血管壁の組織リモデリングにおける MMP-9 の作用を初めて実証した研究であり、Circulation (2012) に発表され、国内では日経新聞など数誌に取り上げられた。本 AAD マウスモデルにおいて、大動脈破裂機構をさらに検討した結果、解離した大動脈外膜で CXCL1 と G-CSF が産生され、これらケモカインが好中球浸潤を促進し、好中球由来の IL-6 が局所での炎症増悪により解離大動脈の破裂へと誘導することを明らかにした。

#### (研究 III) 関節軟骨疾患の組織リモデリングにおける MMP/ADAM の作用機構解析：

軟骨組織リモデリングにおける ADAM17 の作用を解析する目的で、ADAM17 遺伝子を軟骨細胞特異的にノックアウトして解析したところ、長管骨の短縮、骨端板での肥大軟骨層延長を認めた。軟骨細胞での EGFR リン酸化低下、osteoprotegerin 発現増加、RANKL と MMP-13 の発現低下が示され、ADAM17 による軟骨細胞での EGFR シグナルが、上記の遺伝子発現調節を介して骨端板発育に重要な

ことが証明された。

ヒト OA 関節軟骨において ADAMTS4 の結合分子を網羅的に解析し、CCN1 分子を同定した。CCN1 は TGF- $\beta$  で発現誘導され、同時に発現亢進した ADAMTS4 のアグリカン分解活性を阻害することで、変形性関節症関節軟骨細胞のクローニングで代表される軟骨リモデリングに関わることを初めて示した。

ヒアルロン酸と特異的に結合する分子 (KIAA1199) を見出し、本分子がヒアルロン酸分解に決定的役割を果たすことを種々の実験により初めて実証するとともに、関節リウマチ滑膜組織の滑膜線維芽細胞により高発現することを明らかにした。また、マウスにおいても本分子が存在し、ヒトと同様にヒアルロン酸分解に重要な役割を果たすことを明らかにした。本分子はこれまで多くの謎に包まれてきたヒアルロン酸分解機構に新たな情報を与えるとともに、変形性関節症関節軟骨破壊とリモデリングにおける作用が国内外で注目されており、我々の研究グループが継続的に現在研究を進めている。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 21 件)

Chijiwa M., Mochizuki S., Kimura T., Abe H., Tanaka Y., Fujii Y., Shimizu H., Enomoto H., Toyama Y. and Okada Y.: CCN1 (Cyr61) is overexpressed in human osteoarthritic cartilage and inhibits ADAMTS4 (aggrecanase-1) activity. Arthritis Rheum 2015, in press. doi: 10.1002/art.39078. (査読有)

Ishida M., Mikami S., Shinojima T., Kosaka T., Mizuno R., Kikuchi E., Miyajima A., Okada Y. and Oya M.: Activation of aryl hydrocarbon receptor promotes invasion of clear cell renal cell carcinoma and is associated with poor prognosis and cigarette smoke. Int J Cancer 2015, in press. doi: 10.1002/ijc.29398. (査読有)

Mikami S., Mizuno R., Kosaka T., Saya H., Oya M. and Okada Y.: Expression of TNF- $\alpha$  and CD44 is implicated in poor prognosis, cancer cell invasion, metastasis and resistance to the sunitinib treatment in clear cell renal cell carcinomas. Int J Cancer 136:1504-1514, 2015. doi: 10.1002/ijc.29137. (査読有)

Anzai A., Shimoda M., Endo J., Kohno T., Katsumata ., Matsuhashi T., Yamamoto T., Ito K., Yan X., Shirakawa K., Shimizu-Hirota R., Yamada Y., Ueha S., Shinmura K., Okada Y., Fukuda K. and Sano M.: Adventitial CXCL1/G-CSF expression in response to acute aortic dissection triggers local neutrophil recruitment and activation leading to aortic rupture. Circ Res 116:612-623, 2015. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.304918. (査読有)

Shimoda M., Principe S., Jackson H.W., Luga V., Fang H., Molyneux S.D., Shao Y.W., Aiken A.,

Waterhouse P.D., Karamboulas C., Hess F.M., Ohtsuka T., Okada Y., Ailles L., Ludwig A., Wrana J.L., Kislinger T. and Kohkha R.: Loss of the TIMP gene family is sufficient for the acquisition of the CAF-like cell state. *Nat Cell Biol* 16: 889-901, 2014. doi: 10.1038/ncb3021. ( 査読有 )

Saito K., Horiuchi K., Kimura T., Mizuno ., Yoda M., Morioka H., Akiyama H., Threadgill D., Okada Y., Toyama Y. and Sato K.: Conditional inactivation of TNF- $\alpha$ -converting enzyme in chondroblasts results in an elongated growth plate and shorter long bones. *PLoS One* 8(1): e54853, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0054853. ( 査読有 )

Yoda M., Kimura T., Tohmonda T., Morioka H., Matsumoto M., Okada Y., Toyama Y. and Horiuchi K.: Systemic overexpression of TNF- $\alpha$ -converting enzyme does not lead to enhanced shedding activity in vivo. *PLoS One* 8(1): e54412, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0054412. ( 査読有 )

Yoshida H., Nagaoka A., Kusaka-Kikushima A., Tobiishi M., Kawabata K., Sayo T., Sakai S., Sugiyama Y., Enomoto H., Okada Y. and Inoue S.: KIAA1199, a deafness gene of unknown function, is a new hyaluronan binding protein involved in hyaluronan depolymerization. *Proc Natl Acad Sci USA* 110:5612-5617, 2013. doi: 10.1073/pnas.1215432110. ( 査読有 )

Abe H., Mochizuki S., Ohara K., Ueno M., Ochiai H., Kitagawa Y., Hino O., Sato H. and Okada Y.: Src plays a role in ADAM28 expression in *v-src*-transformed epithelial cells and human carcinoma cells. *Am J Pathol* 183:1667-1678, 2013. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.07.011. ( 査読有 )

Morishita A., Zaidi M. R., Mitoro A., Sankarasharma D., Szabolcs M., Okada Y., D'Armiento J. and Chada K.: HMGA2 is a driver of tumor metastasis. *Cancer Res* 73:4289-4299, 2013. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-12-3848. ( 査読有 )

Yamashita S., Kudo A., Kawakami H. and Okada Y.: Mechanisms of angiogenic suppression in uteri exposed to diethylstilbestrol neonatally in the mouse. *Biol Reprod* 88: 116 (1-13), 2013. doi: 10.1095/biolreprod.112.106443. ( 査読有 )

Yoshimine S., Kikuchi E., Kosaka T., Mikami S., Miyajima A., Okada Y. and Oya M.: Prognostic significance of Bcl-xL expression and efficacy of Bcl-xL targeting therapy in urothelial carcinoma. *Br J Cancer* 108:2312-2320, 2013. doi: 10.1038/bjc.2013.216. ( 査読有 )

Kosaka T., Miyazaki Y., Miyajima A., Mikami S., Hayashi Y., Tanaka N., Nagata H., Kikuchi E., Nakagawa K., Okada Y., Sato Y. and Oya, M.: The prognostic significance of vasohibin-1 expression in patients with prostate cancer. *Br J Cancer* 108:2123-2129, 2013. doi:

10.1038/bjc.2013.169. ( 査読有 )

Yoshida H., Nagaoka A., Nakamura S., Okada Y. and Inoue S.: Murine homologue of the human KIAA1199 is implicated in hyaluronan binding and depolymerization. *FEBS Open Bio* 3:352-356, 2013. doi: 10.1016/j.fob.2013.08.003 ( 査読有 )

Nkyimbeng T., Ruppert C., Shiomi T., Dahal B.K., Lang G., Seeger W., Okada Y., D'Armiento J. and Günther A.: Pivotal role of matrix metalloproteinase 13 in extracellular matrix turnover in idiopathic pulmonary fibrosis. *PLoS One* 8 (9):e73279, 2013. doi: 10.1371/journal.pone.0073279. ( 査読有 )

Anzai A., Anzai T., Nagai S., Maekawa Y., Naito K., Kaneko H., Sugano Y., Takahashi T., Abe H., Mochizuki S., Sano M., Yoshikawa T., Okada Y., Koyasu S., Ogawa S. and Fukuda K.: Regulatory role of dendritic cells in post-infarction healing and left ventricular remodeling. *Circulation* 125: 1234-1245, 2012. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.052126. ( 査読有 )

Kohno T., Anzai T., Kaneko H., Sugano Y., Shimizu H., Shimoda M., Miyasho T., Okamoto M., Yokota H., Yamada S., Yoshikawa T., Okada Y., Yozu R., Ogawa S. and Fukuda K.: High-mobility group box 1 protein blockade suppresses development of abdominal aortic aneurysm. *J Cardiol* 59: 299-306, 2012. doi: 10.1016/j.jjcc.2012.01.007. ( 査読有 )

Mochizuki S., Soejima K., Shimoda M., Abe H., Sasaki A., Okano H.J., Okano H. and Okada Y.: Effect of ADAM28 on carcinoma cell metastasis by cleavage of von Willebrand factor. *J Natl Cancer Inst* 104: 906-922, 2012. doi: 10.1093/jnci/djs232. ( 査読有 )

Shirotake S., Miyajima A., Kosaka T., Tanaka N., Kikuchi E., Mikami S., Okada Y. and Oya M.: Regulation of monocyte-chemoattractant protein-1 through angiotensin II type 1 receptor in prostate cancer. *Am J Pathol* 180:1008-1016, 2012. doi: 10.1016/j.ajpath.2011.11.027. ( 査読有 )

Kurihara T., Shimizu-Hirota R., Shimoda M., Adachi T., Shimizu H., Weiss S. J., Itoh H., Hori S., Aikawa N. and Okada Y.: Neutrophil-derived matrix metalloproteinase 9 triggers acute aortic dissection. *Circulation* 126:3070-3080, 2012. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.097097. ( 査読有 )

②Jowett J.B.M., Okada Y., Leedman P.J., Curran J.E., Johnson M.P., Moses E.K., Goring H.H.H., Mochizuki S., Blangero J., Stone L., Allen H., Mitchell C. and Matthews V.B.: ADAM28 is elevated in humans with the metabolic syndrome and is a novel sheddase of human tumour necrosis factor- $\alpha$ . *Immunol Cell Biol* 90:966-973, 2012. doi: 10.1038/icb.2012.44. ( 査読有 )

〔学会発表〕(計 11 件)

岡田保典：OA 関節軟骨代謝研究の過去と未来。第 28 回日本軟骨代謝学会。ランチョンセミナー。2015 年 3 月 7 日。東京医科歯科大学。東京。

岡田保典：創傷治癒の病理学—二次性創傷治癒における MMP の役割—。第 16 回日本褥瘡学会。基調講演。2014 年 8 月 29 日。名古屋国際会議場。名古屋。

岡田保典：OA 関節軟骨の破壊と再生。第 6 回日本関節鏡・膝・スポーツ整形外科学会。ランチョンセミナー。2014 年 7 月 26 日。広島国際会議場。広島。

岡田保典：第 28 回日本整形外科学会基礎学術集会。関節軟骨の破壊と再生機序。ランチョンセミナー。2013 年 10 月 17 日。幕張メッセ。千葉県、幕張。

岡田保典：第 72 回日本癌学会総会。Promotion of cancer cell proliferation and metastasis by ADAM28 and possibility of ADAM28 target therapy. シンポジウム。2013 年 10 月 4 日。パシフィコ横浜。横浜。

Okada Y.: MMPs in diagnosis and pathogenesis of cardiovascular disease. Gordon Research Conference on Matrix Metalloproteinases. Invited speaker. May 23, 2013. Il Ciocco, Italy.

岡田保典：関節リウマチ関節破壊：現状とこれからの研究・治療への展望。第 57 回日本リウマチ学会。シンポジウム。2013 年 4 月 20 日。京都国際会議場。京都。

岡田保典：変形性関節症関節軟骨の破壊と再生におけるメタロプロテアーゼの役割。第 25 回日本軟骨代謝学会。モーニングセミナー。2013 年 3 月 2 日。名古屋国際会議場。名古屋。

岡田保典：メタロプロテアーゼによる組織内微小環境因子代謝と癌細胞の増殖・浸潤・転移。第 71 回日本癌学会総会。モーニングセミナー。2012 年 9 月 20 日。札幌ロイトンホテル。札幌。

岡田保典：メタロプロテアーゼ (MMP/ADAM) の機能関節疾患での役割。第 33 回日本炎症・再生医学会。ランチョンセミナー。2012 年 7 月 5 日。ホテル日航福岡。福岡。

岡田保典：組織破壊とリモデリングの病理学的研究：統括病理学の時代を迎えて。第 101 回日本病理学会春期総会。会長講演。2012 年 4 月 26 日。京王プラザホテル。東京。

〔図書〕(計 3 件)

Okada Y.: Proteinases and matrix degradation. In Kelley's Textbook of Rheumatology. Ed. by Firestein G. S., Budd R. C., Gabriel S. E., McInnes I. B. and O'Dell J. R. 10th Edition, Elsevier Saunders. Philadelphia. 2015, in press.

Mochizuki S. and Okada Y.: ADAM28. In: Handbook of Proteolytic Enzymes. Ed by Rawlings N.D. and Salvesen G.S. Elsevier Ltd, Oxford, UK. pp1136-1139, 2013.

Okada Y.: Proteinases and matrix degradation. In Kelley's Textbook of Rheumatology. Ed. by Firestein G. S., Budd R. C., Gabriel S. E., McInnes I. B. and O'Dell J. R. 9th Edition, Elsevier Saunders. Philadelphia. pp97-115, 2013.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 2 件)

名称：Human antibody against aggrecanase-type ADAMTS species for therapeutics of aggrecanase-related  
発明者：Akira Miyakoshi, Mikiko Nakamura, Kanehisa Kojoh, Satsuki Mochizuki, Yasunori Okada

権利者：ジーンフロンティア

種類：特許

番号：61891087

出願年月日：2013 年 10 月 15 日

国内外の別：国内

名称：Anti-ADAM28 antibodies for therapeutics for carcinomas

発明者：Akira Miyakoshi, Rena Matsumoto, Shizue Katoh, Yuki Hayami, Satsuki Mochizuki, Masayuki Shimoda, Yasunori Okada

権利者：ジーンフロンティア

種類：特許

番号：61724484

出願年月日：2012 年 11 月 19 日

国内外の別：国内

〔その他〕

慶應義塾大学医学部岡田研究室

<http://keio-okada-lab.jp/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

岡田 保典 (OKADA, Yasunori)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：00115221

(2)研究分担者

望月 早月 (MOCHIZUKI, Satsuki)

慶應義塾大学・医学部・専任講師

研究者番号：80365428

藤井 豊 (FUJII, Yutaka)

福井大学・医学部・教授

研究者番号：80211522

下田 将之 (SHIMODA, Masayuki)

慶應義塾大学・医学部・専任講師

研究者番号：70383734

木村 徳宏 (KIMURA, Tokuhiko)

慶應義塾大学・医学部・助教

研究者番号：40445200

(3)連携研究者

なし