

要 約

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	宮 前 結 加
主 論 文 題 名				
ADAM28 is expressed by epithelial cells in human normal tissues and protects from C1q-induced cell death (ADAM28はヒト正常組織の上皮細胞で発現し、C1q誘導性細胞死から細胞を保護する)				
(内 容 の 要 旨)				
<p>ADAM28 (a disintegrin and metalloproteinase 28) は、ヒトリンパ球特異的に発現する分子として当初報告された。一方、ヒト乳癌や肺癌組織においては癌細胞特異的に高発現し、癌細胞の増殖・進展促進作用を有し、血中ADAM28レベルは肺癌患者の臨床病期や転移と正の相関を示すことから、ヒト型抗ADAM28抗体を用いた肺癌に対する新規分子標的治療薬開発研究が進行中である。本研究では、ヒト正常組織におけるADAM28の発現を調べるとともに細胞に対するADAM28の生物学的機能を解析した。剖検で得られたヒト正常組織におけるADAM28の発現を2種類の特異抗体を用いて免疫組織化学染色により検討した。その結果、ADAM28は精巣上体、気管支、胃などの各組織において上皮細胞で発現しており、脾臓やリンパ節においては一部の血管内皮細胞が陽性を示すもののリンパ球は陰性であった。これら組織におけるADAM28の上皮細胞における発現は、RT-PCR法とイムノブロット法により確かめられ、その発現レベルは肺癌組織より6倍以下の低レベルであることがELISA法で示された。ADAM28の細胞に対する機能を調べるために、酵母two-hybridシステムによりヒト肺組織cDNAライブラリーをスクリーニングし、ADAM28結合候補分子としてC1qを同定した。ADAM28とC1qの各リコンビナントタンパク質を用いてbinding assayと免疫沈降を行い、両分子の特異的結合が示された。また、表面プラズモン共鳴によりADAM28は$K_D = 3.07 \times 10^{-7}$ M値をもってC1qと結合することが明らかとなった。一方、C1qはADAM28では分解されなかった。次いで、正常気管支上皮細胞 (BEAS-2BとNHBE) を用いてC1qの作用を検討したところ、BEAS-2B細胞ではp38とcaspase-3の活性化を通してアポトーシスが誘導され、NHBE細胞ではLC3-IIの蓄積とオートファゴソームの増加によりオートファジーを伴った細胞死が出現した。C1q誘導性細胞死やそれに関わる細胞内シグナル分子の活性化は、C1qレセプター (gC1qR/p33とcC1qR/calreticulin) に対する抗体の前処理で抑制され、C1qの細胞障害作用はC1qレセプターを介することが明らかとなった。また、細胞への添加前にC1qをADAM28と複合体にした場合にはC1q誘導性細胞死は阻害され、ADAM28をsiRNAでノックダウンするとC1q誘導性細胞死の亢進が認められた。</p> <p>以上の結果から、ADAM28は精巣上体や気管支などの正常組織において上皮細胞で発現されることが実証され、ADAM28はC1qとの結合で気管支上皮細胞におけるC1q誘導性細胞死の回避を介して、気管支上皮細胞の生存維持に関与している可能性が示唆された。</p>				