

研究区分	一般研究	
研究課題	メタロプロテアーゼ ADAM28 を標的としたヒト型活性阻害抗体の開発	
研究代表者	所属・職名・氏名	慶應義塾大学医学部・専任講師・望月早月
研究分担者	所属・職名・氏名	慶應義塾大学医学部・教授・岡田保典
受入担当教員	職名・氏名	教授・佐藤博
【研究目的】	本研究では、特異性の点で優れており関節リウマチや悪性腫瘍の治療で実績を有するヒト型抗体に着目し、Human combinatorial antibody library (HuCAL)より ADAM28 に対する完全ヒト型特異抗体のスクリーニングを行った。得られた抗体の中から ADAM28 の活性を特異的に阻害する抗体をスクリーニングし、ADAM28 への特異性と親和性の検討、マウスの尾静脈内注入による肺転移モデルと乳房皮下脂肪組織移植による自然転移モデルにおける増殖・転移抑制効果を検討し、ADAM28 を標的とする新規治療薬開発のための基礎研究を行った。	
【研究内容・成果】	ADAM28 (a disintegrin and metalloproteinase 28)はヒト非小細胞肺癌で癌細胞特異的に高発現し、癌細胞の増殖・転移に重要な役割を果たすことを明らかにするとともに、肺癌治療を目指して Human Combinatorial Antibody Library からヒト型抗 ADAM28 抗体(211-14)を開発した。211-14 抗体は、分泌型 ADAM28 に特異的なアミノ酸配列を認識し、ADAM28 の insulin-like growth factor binding protein-3 分解活性を 1:1 のモル比で阻害した。同抗体を用いた免疫細胞化学染色の結果、分泌型 ADAM28 は主として細胞膜上に局在し、ADAM28 の細胞膜上でのアンカリングシステムの存在が推定された。211-14 抗体は、ADAM28 高発現ヒト肺腺癌細胞株 (PC-9)の insulin-like growth factor-I 誘導性細胞増殖と運動・浸潤能を濃度依存的に抑制した。Luciferase と Venus 融合遺伝子を導入した PC-9 ^{fluc-cp156} を作製し、マウス尾静脈内注入による肺転移モデルで本抗体の作用を検討した。PC-9 ^{fluc-cp156} 細胞尾静脈内注入翌日から腹腔内へ 211-14 抗体を投与した結果、肺転移は有意に抑制され、生存率の著しい改善とともに 10 匹中 3 匹では腫瘍の完全消失がみられた。また、PC-9 ^{fluc-cp156} 細胞尾静脈内注入 3 週後に抗体治療を開始した実験では、全身転移の有意な遅延がみられ、平均生存期間が 11 週間延長した (コントロール IgG 投与群: 211-14 抗体投与群=17 週: 28 週)。ヒト型抗 ADAM28 抗体 211-14 は、ADAM28 活性阻害によりヒト肺癌細胞の増殖・転移を抑制し、ADAM28 分子標的治療薬剤として応用できる可能性が期待される。	
【成果等】	<p>【主な論文発表】</p> <p>1.*Hitoshi Abe, *Satsuki Mochizuki, Kentato Ohara, Mari Ueno, Hiroki Ochiai, Yuko Kitagawa, Okio Hino, Hiroshi Sato and Yasunori Okada: Src plays a key role in ADAM28 expression in v-src-transformed epithelial cells and human carcinoma cells. <i>Am. J. Pathol.</i> 183: 1667-1678 (2013). (*Hitoshi Abe and *Satsuki Mochizuki contributed equally)</p> <p>【学会発表】</p> <p>1. <u>Satsuki Mochizuki</u>, Hitoshi Abe, Masyuki Shimoda, Noriko Aramaki-Hattori, Yuka Miyamae, Akira Miyakoshi, Kanehisa Kojoh and Yasunori Okada: Selective inhibition of ADAM28 activity by human anti-ADAM28 antibodies suppresses cancer cell proliferation and metastasis. 9th Pan Pacific Connective Tissue Societies Symposium, Hong Kong, 2013 年 11 月 25 日</p> <p>2. <u>望月早月</u>、阿部仁、尾原健太郎、落合大樹、北川雄光、樋野興夫、佐藤博、岡田保典: Src は ADAM28 の発現に重要な役割を果たす 第 72 回日本癌学会学術総会、横浜、2013 年 10 月 4 日</p> <p>3. <u>望月早月</u>、岡田保典: ヒト ADAM28 活性阻害抗体の開発とそれによる癌細胞増殖・転移抑制作用 第 22 回日本がん転移学会学術集会・総会、松本、2013 年 7 月 11 日</p> <p>4. <u>望月早月</u>、下田将之、宮越陽、古城周久、岡田保典: ADAM28 による癌細胞転移機構とその制御 第 45 回日本結合組織学会学術大会、第 60 回マトリックス研究会大会合同学術大会、和歌山、2013 年 6 月 28 日</p> <p>5. <u>Satsuki Mochizuki</u> and Yasunori Okada.: Development of human anti-ADAM28 neutralizing antibodies that inhibit cancer cell growth and metastasis. Gordon Research Conference on Matrix Metalloprotenases, Lucca, Italy, 2013 年 5 月 23 日</p> <p>【その他特筆事項】なし</p>	