

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	神 田 啓 太 郎
論文題目	Nardilysin and ADAM proteases promote gastric cancer cell growth by activating intrinsic cytokine signaling via enhanced ectodomain shedding of TNF-α (NRDc ならびに ADAM プロテアーゼは、TNF-α のシェディング増強を介して内因性サイトカインシグナルを活性化することにより胃癌細胞の増殖を促進する)		
(論文内容の要旨)			
胃癌は、胃粘膜の慢性炎症を背景として発生し、日本において悪性新生物の臓器別死亡原因の2位を占めるが、手術不能な進行胃癌の予後は依然として不良である。胃癌の形成や増大には、種々の増殖因子やサイトカインの関与が報告され、EGFR 受容体シグナルを標的とする治療薬が現在臨床応用されている。多くの増殖因子やサイトカインは、膜貫通型の前駆体が膜近傍部において、ADAM や MMP を代表とする蛋白質分解酵素により不可逆的に切断(シェディング)され、活性化される。 Nardilysin (以下 NRDc) は、M16 ファミリーに属する 140 kDa のメタロエンドペプチダーゼであり、ADAM17 及び ADAM10 の活性化を介して HB-EGF、TNF-α などのシェディングを促進し活性化する。臨床検体の検討では、胃癌患者血清中の NRDc の濃度は対照群と比較し上昇しており、進行胃癌でより高い傾向を示した。また胃癌組織の免疫染色で、NRDc は非癌部と比較して癌上皮細胞において高発現を認めた。次に NRDc が胃癌細胞の増殖に及ぼす影響を解析した。複数の胃癌細胞株において、RNAi を用いた NRDc ノックダウンにより細胞増殖は有意に低下した。マイクロアレイ解析において、NRDc ノックダウン細胞では種々のサイトカインの発現低下を認めたため、NRDc と NF-κB 及び IL-6/STAT3 シグナルの関連につき解析を行った。まず NRDc のノックダウンにより ADAM17 のシェディング活性の低下を認めた。更に NRDc ノックダウン細胞では、TNF-α 前駆体の発現低下は認めなかったが、遊離型 TNF-α の分泌低下を認めた。したがって、NRDc が TNF-α のシェディングを活性化していることが示唆された。実際、NRDc ノックダウン細胞ではNF-κB のコンセンサス配列への結合能及び標的遺伝子である IL-6 の発現の低下が認められた。逆に NRDc ノックダウン細胞を組替え型 TNF-α 蛋白質で刺激すると増殖が回復し、NF-κB の転写活性ならびに IL-6 分泌の増加が認められた。したがって胃癌細胞の増殖には、NRDc により促進される内因性 TNF-α の分泌により NF-κB が活性化されることが重要であることが示唆された。更に NRDc ノックダウンにより STAT3 のコンセンサス配列への結合能も低下し、一方 NRDc ノックダウン細胞を IL-6 で刺激すると増殖が回復した。以上より、NRDc が IL-6 の分泌を促進することが STAT3 の活性化及び細胞増殖に重要であると考えられた。更に NF-κB 及び STAT3 の下流に位置する遺伝子の発現の変化を RT-PCR で解析したところ、NRDc ノックダウンにより c-Myc、Cyclin D1、Bcl-2 の発現が低下していたが、ADAM17 及び ADAM10 のノックダウン或いは TNF-α 及び IL-6 の中和抗体添加によっても同様の結果が得られた。xenograft モデルに於いても、NRDc をノックダウンした細胞株ではマウス皮下での腫瘍形成が有意に抑制された。			

以上より TNF-α/NF-κB 及び IL-6/STAT3 から構成されるオートクライン・ループが胃癌細胞の増殖を促進しており、NRDc は ADAM の活性化を介して TNF-α のシェディングを促進することによって、この活性化を維持していると考えられた。本研究により、NRDc の胃癌増殖における役割が明らかとなり、NRDc 及び ADAM プロテアーゼにより活性化される TNF-α/NF-κB 及び IL-6/STAT3 シグナルは、胃癌において新たな治療標的となり得ることが示唆された。

(論文審査の結果の要旨)

本研究は胃癌の細胞増殖における NRDc ならびに ADAM プロテアーゼの役割を検討したものである。NRDc は様々な膜結合タンパク質の shedding を ADAM プロテアーゼ活性の増強を介して促進することが知られている。ADAM プロテアーゼは多種の癌において高発現しているため、これまでに多数の ADAM プロテアーゼ阻害剤の治験が行われてきた。しかし、ADAM プロテアーゼの機能解析が不十分であったことや、副作用が高頻度に認められたことから、臨床応用が困難な状況にあった。そこで申請者は NRDc に注目し、まず臨床検体の解析を行い NRDc が ADAM 同様に多種の癌で上昇していることを示した。胃癌細胞株においても NRDc が ADAM17(TACE)の活性を増強し細胞増殖を促進することを示した。また NRDc による内因性の TNF-α の分泌増加が NF-κB 及び IL-6/STAT3 シグナルの活性化を促進していた。これらのことから NRDc は胃癌の進展に重要な役割を果たしていることが示された。また ADAM プロテアーゼ活性の制御のメカニズムを解析することにより ADAM プロテアーゼ阻害剤の改良にも可能性を示した。

以上の研究は NRDc の胃癌増殖における役割の解明に貢献し NRDc が胃癌における新たな治療標的になり得ることを示唆し、今後の胃癌の治療成績向上に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成24年4月2日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日以降