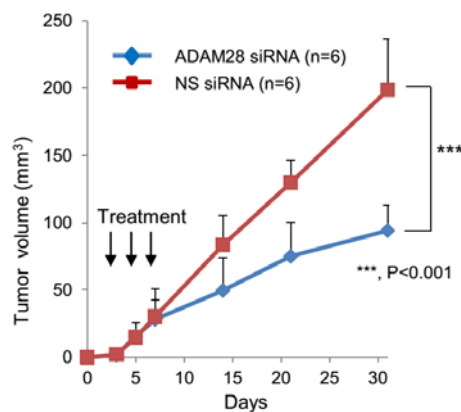


ウェブサイトでの画像指摘に関する報告 (再実験による検証)

論文画像不正の可能性が指摘されてきたのは、Cancer Research 66: 9913-9920, 2006 論文中の 2 点の図 (Figure 4C と Figure 5C) です。Figure 5C については、図の作成段階での画像の取り違いによるもので、その詳細について既に報告してきました。Figure 4C に関しては、オリジナルデータが残っていなかったため、再実験を行うこととし、今回そのデータを以下に報告いたします。

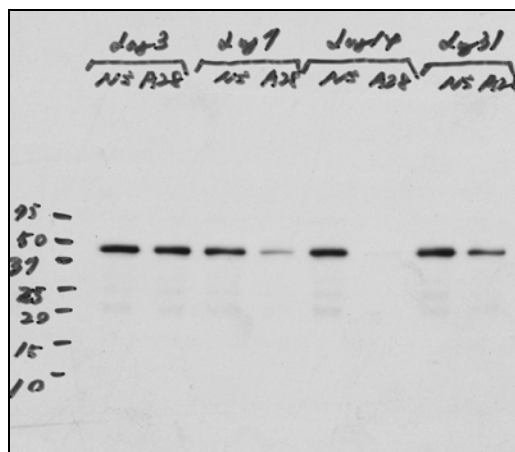
指摘では、論文 Figure 4C のレーン 1、2 とレーン 7、8 のバンドが類似しているとのことでした。保存されていた実験ノートおよび画像資料を探しましたが、残念ながらオリジナルデータが残っておらず、再実験を行うことによりデータの再現ができるかを検証しました。Figure 4 の実験は、ヌードマウス皮下に ADAM28 を高発現する MDA-MB231 乳癌細胞株を移植し、移植後 3、5、7 日に non-silencing (NS) siRNA と ADAM28 siRNA を腫瘍周囲組織に合計 3 回注射し、ADAM28 発現抑制による腫瘍増殖（腫瘍結節の体積）が抑制されることを示した実験です。Figure 4C の図は、ADAM28 siRNA 注射により腫瘍組織での ADAM28 タンパク質発現低下をイムノブロット法により経時的に観察した図です。

再実験においては、ヌードマウスの左右背部皮下に MDA-MB231 細胞株を移植し、移植後 3、5、7 日に NS siRNA と ADAM28 siRNA を腫瘍周囲組織へ注射し、移植後 31 日までの腫瘍体積をまず測定しました。図 1 のように、移植後 31 日の腫瘍の大きさは、NS siRNA 群に比較して ADAM28 siRNA 注射群においては約 40% となり、論文で報告したデータを再現することができました。

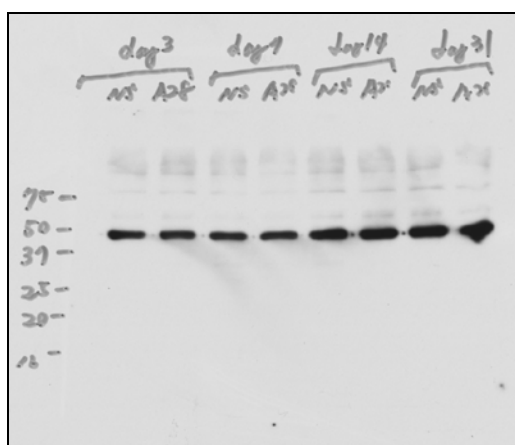


(図 1) 6 週齢ヌードマウス皮下移植腫瘍の増殖曲線。MDA-MB231 細胞株 (2×10^6 個/0.1 ml Hank's Balanced Salt Solution) を合計 6 匹のヌードマウスの左右背部皮下に移植後、マウスを無作為に 2 群 (各群 3 匹) に分け、移植後 3、5、7 日の時点でそれぞれの群に NS siRNA あるいは ADAM28 siRNA を腫瘍周囲組織へ注射し、移植後 31 日までの腫瘍 (それぞれの群で各 6 腫瘍結節) の高さ、長さ、幅を測定し、計算式により腫瘍体積を算定しました。

次いで、ADAM28 siRNA 注射による腫瘍組織での ADAM28 タンパク質の発現低下を調べるために、ヌードマウスの左右皮下組織に MDA-MB231 細胞株を移植し、NS siRNA あるいは ADAM28 siRNA を注射されたマウスを腫瘍細胞移植後 3、7、14、31 日の時点で屠殺し、採取した腫瘍組織よりホモジネートを作製し、その上清を電気泳動後にイムノブロット法で ADAM28 タンパク質発現を検討しました (図 2)。また、各レーンで用いた同一サンプルについて同量を別のゲルで電気泳動し、 β -actin をイムノブロット法で検出しました (図 3)。

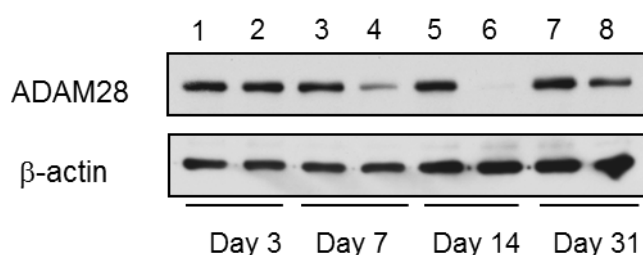


(図 2) ADAM28 のイムノブロット像。ヌードマウス (合計 16 匹) の左右背部皮下に MDA-MB231 細胞株 (2×10^6 個/0.1 ml Hank's Balanced Salt Solution) を移植し、これらマウスを無作為に 2 群 (各群 8 匹) に分け、移植後 3、5、7 日の時点でそれぞれの群に NS siRNA あるいは ADAM28 siRNA を腫瘍周囲組織へ注射しました。これらマウスを 3、7、14、31 日の時点で屠殺し、腫瘍組織よりホモジネートを作製し、その上清 (20 μ g/lane) を 12.5%ポロアクリルアミドゲル電気泳動し、polyvinylidene difluoride 膜に転写後、抗 ADAM28 抗体 (297-2F3) を用いてイムノブロットしました。



(図 3) β -actin のイムノブロット像。ADAM28 のイムノブロットに用いた同一サンプルについて、同量 (20 μ g/lane) を電気泳動後、抗 β -actin 抗体を用いてイムノブロットしました。

図 3 の β -actin のバンドの太さから、各レーンあたりに流されたタンパク量がほぼ同量であることが示され、図 2 のデータから、ADAM28 タンパク質発現は 7 日目で減少し、14 日目にはほぼ消失し、31 日目には回復するというデータが得られました。これらのデータは、論文で発表してきた所見に一致しており、実験結果を再現することができました。以上の所見をまとめることにより、下記のような図を完成することができます（図 4）。



（図 4）ヌードマウス移植腫瘍への NS siRNA および ADAM28 siRNA 注射後の ADAM28 タンパク質発現抑制の経時的変化。移植腫瘍周囲組織に NS siRNA あるいは ADAM28 siRNA を注射されたマウスを 3、7、14、31 日の時点で屠殺し、腫瘍組織を採取しました。これらの腫瘍組織ホモジネート上清（20 μ g/lane）を 12.5%ポロアクリルアミドゲル電気泳動し、polyvinylidene difluoride 膜に転写後、抗 ADAM28 抗体（297-2F3）を用いてイムノブロットしました。また、ADAM28 のイムノブロットに用いた同一サンプルにつき、同量を電気泳動し、 β -actin に対するイムノブロットを行いました。レーン 1、3、5、7 は NS siRNA、レーン 2、4、6、8 は ADAM28 siRNA 注射腫瘍組織。

岡田 保典 記