

別紙 1 - 1

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 磯村 久徳

論 文 題 目

Conditional *Ror1* knockout reveals crucial involvement in lung adenocarcinoma development and identifies novel HIF-1 α regulator

(*Ror1* のコンディショナルノックアウトマウスは、肺腺がんの発生における *Ror1* の重要性を明らかとし、新たな HIF-1 α の制御因子を同定する)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

近藤 豊 

名古屋大学教授

委員

衣斐 寛 倫 

名古屋大学教授

委員

山本 健 治 

名古屋大学教授

指導教授

鈴木 洋 稔 

論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

今回、Ror1 コンディショナルノックアウトマウスを作成し、変異 EGFR トランスジェニックマウスと交配した肺腺がんモデルを樹立し、Ror1 の肺腺がんの発生と増殖における役割を個体レベルで明らかとした。病理学的な解析の結果、Ror1 のノックアウトによって腫瘍組織における肺胞構造の破壊が抑制されることを見出した。また、gene set enrichment analysis (GSEA)解析を用いて、Ror1 のノックアウトによって肺腺がん腫瘍組織で影響を受けている遺伝子群を探索したところ、低酸素応答遺伝子群の顕著な低下が検出された。さらに、ヒト肺腺がん細胞株を用いた実験において ROR1 が低酸素応答において中心的な役割を果たす転写因子の HIF-1 α の発現をキナーゼ活性依存的に制御していることを明らかにした。これらの結果は、ROR1 の肺腺がんの治療標的としての有用性を一層強く示唆するものである。

本研究に対し、以下の点を議論した。

1. Ror1 は胎生期において肺や指などで発現が高いという報告がある。また、Ror1 のノックアウトマウスは生後 24 時間以内に肺から出血して死亡することからも、肺の発生又は新生児期の生理活性に重要な役割を担っていると考えられる。一方、ヒトとマウスの双方において成体の組織では発現が低いという報告がある。今回、8 週齢より Ror1 をノックアウトし、30 週齢にて主要組織の形態を確認したが、病的所見は確認されなかった。また、この間、体重減少もなく生存期間にも異常を認めなかった。これらの結果は、成体における Ror1 は生存に関与するような機能を担っていないものと考えられる。
2. 今回使用した変異 EGFR トランスジェニックマウスの肺では変異 EGFR が非常に高発現しているため、EGFR の過剰発現したがんでは ROR1 は Akt や p38 の制御にあまり寄与しない可能性が考えられる。結果は記載していないが、EGFR が高発現しているヒト肺がん細胞株で ROR1 をノックダウンしても p38 や Akt のリン酸化に大きな変動が見られないことを確認している。現在こちらの細胞での分子機序の検討を行っている。
3. ROR1 による HIF-1 α の発現制御は、主要な制御機構である ubiquitin-proteasome 経路ではない事を明らかとし、また、mRNA の制御でもないことを明らかとしている。HIF-1 α のそのほかの発現制御機構として、S6K の活性化や HuR 等の RNA 結合タンパクによる翻訳制御が報告されている。その為、ROR1 が HIF-1 α の翻訳を制御しているという仮説を立てて現在検討中である。実験方法としては、HIF-1 α の 5'UTR 及び 3'UTR を luciferase の上流と下流に挿入したベクターを作成後、luciferase assay を行う予定である。また、同時に polysome fraction assay でも検討予定である。

以上の理由により、本研究は博士（医学）の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	磯村久徳
試験担当者	主査	近藤 豊	副査 ₁	衣斐寛裕
	副査 ₂	阿部 健治	指導教授	鈴木 洋
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 正常組織におけるRor1の機能について 2. In vitroで変化していたシグナルの変化がマウスモデルでは確認されなかった理由について 3. Ror1がHIF-1αを制御する分子機構について <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、分子腫瘍学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				