

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 Behnoush Khaledian

論文題目

Inhibition of heat shock protein 90 destabilizes receptor tyrosine kinase ROR1 in lung adenocarcinoma

(肺腺癌において heat shock protein 90 阻害は受容体型チロシンキナーゼ ROR1 を不安定化する)

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

清井 仁 

名古屋大学教授

指導教授

岡 幸 

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

これまでの我々の研究から、肺腺がんのリネジ特異的がん遺伝子 NKX2-1/TTF-1 の転写標的である ROR1 が、肺腺がん細胞のカベオラ様構造の維持に深く関与し、様々な受容体チロシンキナーゼからの生存シグナルを維持することが明らかになってきた。本研究では、FluoPPI システムを用いた、2500 を超える天然化合物のハイスループットスクリーニングにより、ROR1 とカベオラ構成分子 cavin-1 の結合を阻害する化合物の探索を行った。その結果、Hsp90 の阻害剤として知られる Geldanamycin (GA) が ROR1 と cavin-1 の結合を強く阻害することを見出した。我々は、ROR1 がそのキナーゼドメイン領域において Hsp90 $\alpha$  と結合すること、GA 処理によって ROR1 と Hsp90 $\alpha$  の結合が阻害されると ROR1 タンパク質がユビキチン/プロテアソーム経路により分解されること、またその結果として、肺腺がん細胞の増殖が抑制されることを明らかにした。本研究の結果から、Hsp90 は ROR1 の発現を維持することで肺腺がんの生存に寄与しており、Hsp90 阻害が ROR1 陽性肺腺がんの有用な治療法になりうると考えられた。本研究に対し、以下の点を議論した。

1. Grp94 はミトコンドリアに、Hsp90 $\alpha$  及び Hsp90 $\beta$  は細胞質に局在する。Hsp90 $\alpha$  と Hsp90 $\beta$  の機能は非常によく似ているが、 $\alpha$  の発現は熱処理等の刺激により誘導されるのに対し、 $\beta$  は恒常的に発現している。また、Hsp90 $\alpha$  と Hsp90 $\beta$  は、クライアントタンパクに対する結合性がそれぞれ異なることも報告されている。
2. Hsp90 は正常細胞にも発現しているが、Hsp90 はがん細胞では阻害剤に高親和性の活性化型で存在し、正常細胞では低親和性の非活性化型で存在するため、正常細胞よりもがん細胞において、高い殺細胞効果が期待できる。
3. EGFR、MET、および IGF-1R などの受容体型チロシンキナーゼは、Hsp90 のクライアントタンパクとして知られる。本研究でも、GA 処理によりこれら受容体型チロシンキナーゼのタンパク質量が減少したが、効果がみとめられる GA 濃度は、細胞株毎に大きく異なっていた。その一方で、ROR1 タンパク質は、全ての肺腺がん細胞株において、他の RTK よりも一様に低濃度の GA で減少した。これまでに我々が行った研究から、ROR1 は様々な RTK のシグナルを維持していることが明らかとなっており、ROR1 陽性肺腺がん細胞株では、GA 処理による ROR1 発現低下によって、他の RTK シグナル経路をも抑制し、高い肺腺がん細胞の増殖抑制効果が得られると考えている。
4. 全長の ROR1 は細胞膜に単量体タンパク質として局在する。本研究では、ROR1 の膜局在ドメインを欠失させた細胞内ドメインの N 末端側に human Azami Green(hAG) 蛍光タグを付加することで 4 量体を作成し、FluoPPI システムに供した。
5. 本研究の結果と一致して、最近、ROR1 のキナーゼドメイン領域に存在する 536-540 (HPNIV) 配列の A 置換体では、Hsp90 の結合が阻害されることが報告された。

以上により、本研究は博士（医学）の学位を授与するの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	Behnoush Khaledian
試験担当者	主査	近藤 豊	副査 <sub>1</sub>	夜斐寛寿
	副査 <sub>2</sub>	清井 仁	指導教授	田中 尚
(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"> <li>1. Hsp90の3つのアイソフォーム (Grp94、Hsp90<math>\alpha</math> 及びHsp90<math>\beta</math>) の違いは何か</li> <li>2. 正常細胞でも広く発現しているHsp90をがんの治療標的とすることについて</li> <li>3. Hsp90阻害によるROR1分解とがん細胞の増殖阻害の関連について</li> <li>4. FluoPPIシステムにおけるROR1の複合体形成について</li> <li>5. Hsp90 阻害剤による分解に必要な ROR1 配列上のモチーフについて</li> </ol> <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、先端がん診断学 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>				