Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-04

Critical role of the Ror-family of receptor tyrosine kinases in invasion and proliferation of malignant pleural mesothelioma cells

Saji, Takeshi

(Degree)
博士（医学）

(Date of Degree)
2021-03-25

(Resource Type)
doctoral thesis

(Report Number)
甲第8030号

(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1008030

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

（課程博士関係）

学 位 論 文 の 内 容 要 旨

Critical role of the Ror-family of receptor tyrosine kinases in invasion and proliferation of malignant pleural mesothelioma cells

悪性胸膜中皮腫の増殖と浸潤における Ror ファミリー受容体型チロシンキナーゼの役割

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

細胞生理学

（指導教員：南　康博　教授）

佐事　武

学位論文の内容要旨

アスベストは非常に利用価値の高い鉱物として以前いくつもの工業製品に利用されてきたが、悪性胸膜中皮腫(MPM: malignant pleural mesothelioma)発症の原因物質であることが判明し、現在では国内での使用・製造および輸入が禁止されている。しかし、MPM はアスベスト曝露から発症までに平均 20~40 年を要することから、近年、その発症患者は増加傾向にある。MPM は一般的に悪性度が高く、診断確定時には既に進行している場合が多いため、5 年生存率は 10%以下と極めて予後が悪い。また、MPM は組織型によって上皮型、二相型、肉腫型に分類され、特に肉腫型 MPM は最も悪性度が高く、診断も難しいことから、その適切な診断・治療法の開発が喫緊の課題である。近年の遺伝子解析から MPM では Hippo 経路に関わる *NF2*(*neurofibromatosis type 2*)や *LATS2*(*large tumor suppressor kinase 2*)の不活性化変異が高頻度で生じていることが明らかになっている。これらの不活性化は核内転写因子 YAP の異常な活性化を引き起こし、MPM 細胞の増殖、浸潤・転移に関与することが知られている。Ror ファミリー受容体型チロシンキナーゼ(Ror1、Ror2)は発生過程の組織・器官形成、および成体でのがんや炎症等の病態の進展において重要な役割を担っている。特にがんにおいては、Ror2 が骨肉腫細胞などの浸潤を促進することや、がん細胞の上皮-間葉転換(EMT)に伴う運動能・浸潤能の獲得に関与している。一方、Ror1 は肺がん細胞や乳がん細胞などの増殖を促進することが見出されている。しかし、MPM の発症や進展・増悪における Ror1、Ror2 の関与についてはほとんど明らかにされていない。

そこで、本研究ではまず MPM 臨床検体を用いて、免疫組織化学染色による Ror1 と Ror2 の発現解析を行った。その結果、解析に用いた 5 例の病理組織の全てにおいて、Ror1 と Ror2 が共に陽性な上皮型または肉腫型 MPM 細胞が検出された。また、組織型の異なる各種 MPM 細胞株(上皮型 H28、二相型 H2452、肉腫型 H2052)を用いてウェスタンブロット解析を行った結果、H2452 細胞と H2052 細胞において Ror1 と Ror2 の発現が認められ、H28 細胞では Ror1 のみが検出された。次に、これらの細胞の浸潤能を調べた結果、Ror2 の発現が最も高い H2052 細胞が、他の 2 つの細胞と比較して浸潤能が顕著に高いことを見出した。これらの解析結果を踏まえ、MPM 細胞の浸潤能における Ror1 と Ror2 の役割について検討した。Ror1 と Ror2 を発現している H2452 細胞と H2052 細胞において、Ror2 の発現を抑制することで浸潤能が有意に低下したが、Ror1 の発現抑制は浸潤能に影響を与えなかった。一方、Ror2 が検出されない H28 細胞においては、Ror1 の発現抑制によって浸潤能が有意に低下した。次に、これらの細胞の増殖能における Ror1 と Ror2 の役割について検討した結果、各 MPM 細胞の増殖能は Ror1 または Ror2 の発現抑制によって有意に低下することが明らかとなった。したがって、MPM 細胞において Ror2 は増殖と浸潤を、Ror1 は主に増殖を促進することが示された。また、Ror2 の発現が認められない H28 細胞においては Ror1 が浸潤の促進にも関与していることが示された。

次に、MPM 細胞において Ror1 と Ror2 がどのような細胞内シグナル伝達経路を介して増殖と浸潤を制御しているのかについて検討を行った。その結果、H28 細胞と H2452 細胞に

おいて、それぞれ Ror1 と Ror2 の発現を抑制することによって、Rho ファミリー低分子量 G タンパク質である Rac と Cdc42 の活性が減弱することが明らかとなった。また、これらの細胞において、Rac または Cdc42 の発現抑制は増殖と浸潤を顕著に阻害した。したがって、H28 細胞と H2452 細胞では、それぞれ Ror1 と Ror2 が Rac／Cdc42 の活性化を介して増殖と浸潤を促進していることが示唆された。一方で H2052 細胞においては、Ror1 と Ror2 の発現をそれぞれ抑制しても Rac、Cdc42 の活性は変化しなかった。H2052 細胞では、他の 2 つの細胞とは異なり *NF2* を含む Hippo 経路の遺伝子に不活性化変異が認められ、その結果、YAP が恒常的に活性化していることが報告されている。実際、H2052 細胞において YAP の発現抑制は増殖能と浸潤能を有意に低下させることを確認している。よって、H2052 細胞における増殖・浸潤能を促進する Ror シグナルと YAP との関連性について、今後さらなる解析が求められる。

以上の結果をまとめると、異なる組織型の MPM 臨床検体および細胞株を用いて発現解析を行い、Ror1、Ror2 が高発現していることを新たに見出した。MPM 細胞株において Ror2 の発現は細胞増殖、浸潤能に関連していることが明らかとなった。また、Ror1 の発現は細胞増殖能に影響を与えるが、Ror2 が発現していない細胞株においては浸潤能に関しても影響を与えることが明らかとなった。さらに Ror1、Ror2 を介する細胞内シグナルは Rac/Cdc42 の活性化を介して MPM 細胞の増殖・浸潤能を制御していることが示された。Ror1, Ror2 およびこれらを介する細胞内シグナル伝達分子は、MPM の病態の診断マーカー、あるいは治療標的となることが期待される。

(2302/2000-4000 文字)