

研究区分	一般共同研究	
研究課題	受容体型チロシンキナーゼ Ror1 と Met の相互作用を介した肺腺がん細胞の増殖シグナルの制御	
研究代表者	所属・職名・氏名	神戸大学大学院医学研究科・准教授・西田満
研究分担者	所属・職名・氏名	神戸大学大学院医学研究科・教授・南康博
受入担当教員	職名・氏名	教授・松本邦夫
【研究目的】	我々は、Ror1 が肺腺がん細胞の増殖を促進することや Ror1 と MET が結合することを見出している。本研究では、HGF-Met シグナルと Ror1 シグナルの相互作用による細胞増殖の制御機構と、そのゲフィチニブ耐性化における役割を明らかにすることを目的とする。また、肺腺がんの臨床検体を用いて HGF、Met、Ror1、Wnt5a (Ror1 のリガンド) の発現動態を解析し、がんの進展度やゲフィチニブ耐性との相関を明らかにする。さらに、Ror1 の細胞外領域の組換えタンパク質 (Ror1 おとり受容体) を作成し、肺腺がん細胞の増殖に対する影響を検討する。	
【研究内容・成果】	<p>我々は、EGFR 遺伝子に活性型変異を有するヒト肺腺がん細胞株 PC-9、HCC827 などにおいて Ror1 が過剰発現していることを見出している。これらの細胞において Ror1 の発現を siRNA によってノックダウンした結果、顕著な細胞増殖能の低下が認められた。しかしながら、EGFR の下流で細胞増殖を制御している Erk や Akt の活性は、Ror1 のノックダウンによって影響を受けなかったことから、Ror1 が Erk や Akt とは異なる経路で細胞増殖を制御していることが示唆された。</p> <p>Ror1 は Ror2 と同様に細胞に過剰発現させることによって細胞全体に糸状突起を誘導するが、その分子機構は不明な点が多く残されている。我々は糸状突起形成に重要な Rho ファミリー低分子量 G タンパク質 Cdc42 および Rif (Rho in filopodia)に着目し、Ror1、Ror2 による糸状突起形成におけるそれらの関与について検討を行った。その結果、Ror1、Ror2 の過剰発現によって誘導される糸状突起形成には、Cdc42 ではなく Rif が関与していることを見出した。また、Rif は Ror1 が過剰発現している PC-9 や HCC827 などの肺腺がん細胞や MDA-MB231 などのトリプルネガティブ乳がん細胞において高発現していることを見出した。PC-9 細胞において Rif をノックダウンした結果、Ror1 をノックダウンした場合と同様に、糸状突起数および細胞増殖能の低下が認められた。また、Rif ノックダウンによる Akt や Erk の活性変化は認められなかった。興味深いことに、Cdc42 は Ror1 による糸状突起形成には関わっていないが、Cdc42 のノックダウンによっても糸状突起数および細胞増殖能の低下が認められた。これらの結果は、Ror1 が Rif を介した糸状突起形成を誘導することによって細胞増殖を促進していることを示唆している。しかしながら、糸状突起が如何にして細胞増殖を促進するのかは明らかではなく、今後の解析が必要である。</p> <p>これまでに Ror2 おとり受容体が Wnt5a と結合し、Wnt5a-Ror2 シグナルによって起こる Dishevelled2 のリン酸化を阻害することを見出した。本研究では Ror1 おとり受容体が Ror1 の機能を阻害するかどうかを検討するため、Ror1 おとり受容体の大量発現・精製を行った。また、Biacore を用いて Wnt5a との結合を確認した。今後は Ror1 おとり受容体が肺腺がん細胞の増殖を抑制するのかといった解析を行う予定である。</p>	
【成果等】	<p>【主な論文発表】</p> <p>Doi, R., Endo, M., Yamakoshi, K., Yamanashi, Y., <u>Nishita, M.</u>, Fukada, S. I., and Minami, Y. Critical role of Frizzled1 in age-related alterations of Wnt/beta-catenin signal in myogenic cells during differentiation. Genes Cells, 19:287-296, 2014.</p> <p>Role of Wnt5a-Ror2 signaling in morphogenesis of the metanephric mesenchyme during ureteric budding. <u>Nishita, M.</u>, Joint Workshop between University Catholice Louvain and Kobe University on "Cell polarity and Cell adhesion". 2014</p> <p>Role of Wnt5a-Ror2 signaling in patterning the metanephric mesenchyme during ureteric budding. <u>Nishita, M.</u>, Qiao, S., Miyamoto, M., Okinaka, Y., Yamada, M., Hashimoto, R., Iijima, K., Otani, H., Hartmann, C., Nishinakamura, R., Minami, Y., Keystone Symposia on Developmental Pathways and Cancer: Wnt, Notch and Hedgehog(J7), 2014</p> <p>【その他特筆事項】</p> <p>なし</p>	