

## 審査の結果の要旨

氏名 森岡 和仁

本研究は、骨肉腫に対する分子標的治療薬の開発に繋がる標的分子（分子標的因子）の同定を目的とし、cDNA マイクロアレイを用いて骨肉腫組織における遺伝子発現を網羅的に解析し、さらに同定した標的分子について治療への可能性を検討するために機能解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. まず、臨床検体より得られた RNA を用いて cDNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析を行い、骨肉腫組織における遺伝子発現情報を収集した。網羅的な解析の結果、骨肉腫組織において高頻度かつ特異的に高発現していた ROR2 を有望な治療の標的分子として同定した。

2. ROR2 の細胞増殖に対する影響について siRNA を用いて検討した。ROR2 の遺伝子発現を抑制することにより細胞増殖が抑制され、ROR2 が骨肉腫細胞の増殖を制御している可能性が示唆された。また、ROR2 が細胞の浸潤能に与える影響について Matrigel-invasion アッセイを用いて検討した。ROR2 を細胞に過剰発現させたところ、細胞浸潤能が亢進した。さらに、siRNA を用いて遺伝子発現を抑制したところ、細胞浸潤能が抑制された。以上の結果より、ROR2 が骨肉腫細胞の浸潤を制御していることが示された。

3. ROR2 の骨肉腫に特異的なリガンドを探索するため、結合が予測された WNT family について臨床検体における発現を半定量的 RT-PCR により検討した。その結果、骨肉腫特異的に発現が上昇し、さらに ROR2 と類似した発現パターンを示した WNT5B をリガンドの候補として解析に進めた。WNT5B と ROR2 の両者が協調的に作用する可能性が示唆されたため、免疫沈降法にて実際に両者が結合することを確認した。さらに、WNT5B が ROR2 の活性に与える影響について Matrigel-invasion アッセイを用いて検討した。ROR2 を過剰発現させた COS7 細胞および HEK293 細胞より作製した WNT5B の培養上清を用いて細胞の浸潤能を解析した。その結果、ROR2 単独よりも明らかな浸潤能の亢進が確認できた。以上の結果より、WNT5B は ROR2 の骨肉腫特異的なリガンドとして、結合を介し活性化に寄与する可能性が示唆された。

これらの結果より、ROR2 および機能性リガンドである WNT5B は骨肉腫治療の標的分子のみならず、バイオマーカーとしてその診断にも有用である可能性が示された。

以上、本論文は臨床検体を用いた新たな分子生物学的解析法により、治療薬の開発に繋がる有望な標的分子（分子標的因子）を同定した。

これは、骨肉腫の治療法を開発するための新たなアプローチのみならず、骨肉腫の発生のメカニズムの解明に繋がるアプローチとして医療の進歩に貢献するものと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。