

審査の結果の要旨

氏名 榎本 悟士

がんや血管疾患は国民の死亡原因の上位を占め、その有効な治療法の開発は高齢化社会の到来に伴ってますます重要な課題となっている。今世紀にはいつてヒトゲノムが解読されてから、DNAアレイチップなどの網羅的解析技術が発達し、病態に関わる分子をターゲットとする薬の開発が中心となっている。がんの治療薬開発でもがん細胞表面のがん特異的ターゲット分子を認識する抗体分子が新薬として注目を浴びている。本研究は、肝がん細胞に特異的に発現する **ROBO1** について、機能を解析し新規治療法の開発につなげようとするものである。**ROBO1** はショウジョウバエの遺伝学的解析から脳神経細胞の発達に重要なガイダンス分子として発見されたが、その後東大先端研のグループにより、肝がん細胞に多くみられるがん表面マーカー分子として報告された。

本研究において、まず **ROBO1** 特異的抗体を用いて免疫組織学的解析により、**ROBO1** はがん細胞のみならず腫瘍血管内皮細胞に発現することが明らかにされた。悪性腫瘍はみずから血管を増生し組織構築を破壊し急速に増殖する。この血管新生のメカニズムは器官形成のもっとも重要な現象であるとともに、がんの治療標的となっている。これまで血管内皮増殖因子 (**VEGF**) およびその受容体をターゲットとした新規治療薬が開発されており、有効性が認められている。血管内皮細胞特異的な標的分子はこれまでほとんど報告がなく、本研究で得られた結果は、**ROBO1** が新規のターゲット候補分子であることを示唆している。

さらに、本研究では臍帯静脈内皮細胞を用いて、**ROBO1** を介したリガンド依存性の細胞遊走現象が起こることを示した。**ROBO1** リガンドの **SLIT** による作用は、神経細胞では遊走および反発の2通りが考えられている。血管内皮細胞では、**SLIT** による遊走作用が報告されているが、**ROBO1** との関連は明確ではなかった。これは、血管内皮細胞には **ROBO** ファミリーである **ROBO4** が存在することによる。本研究は、**siRNA** の手法を用いて、**ROBO4** は **SLIT** 依存的に遊走を阻害し、**ROBO1** が **SLIT** 依存的に遊走を刺激することを示した。また、

特異的抗体を用いた質量分析（MS）解析による、内在性タンパク質複合体の高感度同定技術を用いて、臍帯静脈内皮細胞から **ROBO1** 複合体を抽出し、遊走に関わる新規のシグナル伝達因子を複数同定した。同定された小分子Gタンパク質を制御する因子は細胞遊走の調節に重要な役割を果たしていると考えられる。

血管内皮細胞の遊走は血管の新生が起こる場所で重要な現象である。このことから、**ROBO1** が肝がんなど特定のがんだけでなく、広く一般的な血管の増殖を伴う疾患の治療に有効なターゲットとなることを示唆している。また、遊走現象を引き起こす分子メカニズムを明らかにすることは、関与する分子を標的とした複合的治療が可能であることを示した点で有益であると評価できる。また、細胞の遊走現象は神経系の構築や炎症、がんの転移など根源的な生命現象であり、その分子機構の解明に役立つ研究と位置付けることができる。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。