

氏名	なかぎりしほ 中桐志保
学位(専攻分野)	博士(生命科学)
学位記番号	生博第70号
学位授与の日付	平成18年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	生命科学研究所高次生命科学専攻
学位論文題目	viral FLIP E8はWntシグナルを β -catenin安定化の下流で増強し、それによって細胞増殖を制御する
論文調査委員	(主査) 教授 米原 伸 教授 石川冬木 教授 上村 匡

論文内容の要旨

viral FLIP (v-FLIP) は、アポトーシス開始因子である caspase-8の活性化を阻害することで、Fasをはじめとするデスレセプターを介したアポトーシス誘導シグナルを強力に遮断する。ウマヘルペスウイルスにコードされた v-FLIP E8を胸腺特異的に発現するトランスジェニックマウス (Tg) が申請者の所属する研究室で作製され、その Tg では胸腺が萎縮するという表現型を示し、その表現型は未熟 T 細胞の発生初期ステージにおける分化抑制に起因することが判明していた。また、Wnt シグナル変異マウスが E8 Tg と同様の表現型を示すことが報告されており、E8 と Wnt シグナルに何らかの関連性があると申請者は推測し、E8 の Wnt シグナルに対する効果を Wnt シグナルの最下流に位置する転写因子 TCF/LEF の支配下に発現するレポータールシフェラーゼアッセイを用いて検討した。その結果、E8 は可溶性 Wnt3a 誘導シグナルを劇的に増強することが広範囲な細胞株において再現性よく認められた。また、Wnt3a 刺激の標的遺伝子転写産物である内在性 cyclin D1 の発現レベルも、Wnt3a 誘導シグナル存在下における E8 の一過性発現によって顕著に亢進された。また、TCF のドミナントナガティブ変異分子や β -catenin の阻害分子 ICAT の共発現実験から、 β -catenin と TCF の結合によって誘導される Wnt/ β -catenin (canonical) シグナルに E8 の作用することが明らかとなった。また、E8 の発現によって β -catenin の蓄積誘導は認められず、可溶性 Wnt3a の代わりに恒常安定型 β -catenin の高発現によって導入された TCF 依存性転写活性も E8 が増強し、E8 は β -catenin 安定化の下流で機能することが示された。加えて、 β -catenin の蓄積を誘導して Wnt シグナルの活性化を導くことが報告された cellular-FLIP_L (c-FLIP_L) と E8 の Wnt シグナルに対する作用機構が異なっていることも明らかとなった。c-FLIP_L は特殊な細胞において β -catenin のユビキチン化を阻害することで Wnt 刺激がなくても β -catenin の蓄積による Wnt シグナルの活性化を導くことができるが、E8 は広範囲な細胞で Wnt シグナルが導入された時にはじめてそのシグナルを増強することが示された。それに加え、Wnt3a 誘導シグナルが E8 によって増強されると、トランスフォームしていない細胞株 (3T3 やマウス胎児由来繊維芽細胞) において細胞増殖抑制を誘導するという新しい知見が見出された。一方、トランスフォームした細胞株では同様の影響は認められなかった。以上より、E8 はデスレセプター誘導アポトーシスの抑制に関わるだけでなく、Wnt シグナルを増強することで細胞増殖の制御にも関与することが示された。

論文審査の結果の要旨

ウマヘルペスウイルスにコードされた viral FLIP (v-FLIP) E8 は、Fas を代表とするデスレセプターを介するアポトーシス誘導を強力に遮断する分子であることが知られていた。この v-FLIP E8 が固体発生や細胞がん化に深く関わりとされる Wnt シグナルを顕著に増強するという驚くべき活性を多岐に渡る細胞種において示すことが、申請者によって初めて見いだされたことは評価されるべきである。さらに、TCF と β -catenin の相互作用阻害分子の共発現実験から、E8 は β -catenin と TCF の結合依存的な Wnt/ β -catenin シグナルに作用することが明らかとなった。また、E8 は β -catenin 安定化

の下流に作用することが示され、 β -catenin の蓄積を誘導して Wnt シグナルの活性化を導く cellular-FLIP_L (c-FLIP_L) とは作用点が異なることが示された。Wnt シグナルの増強機構は、 β -catenin の安定化を増強する分子機構が中心的に解析されてきており、本研究で明らかになった Wnt 増強の作用点 (β -catenin 安定化の下流) は Wnt シグナルを制御する新しい分子機構の解明につながっていく可能性があり、興味深い。また、Wnt3a 誘導シグナルを v-FLIP E8 によって増強することにより、トランスフォームしていない繊維芽細胞株において細胞増殖の抑制が誘導されることも申請者によって見いだされた。一方、トランスフォームした細胞株では逆に細胞増殖の亢進が認められたり、細胞増殖の影響は認められないことも見いだされた。Wnt 刺激が、細胞増殖の抑制を誘導する知見は全くといって報告されておらず、新しい知見であり高く評価できる。また、細胞種が異なれば相反する増殖応答を誘導するという現象は興味深く、今後の発展が期待される。本研究は E8 がアポトーシスの抑制に関わるだけでなく、Wnt シグナルを劇的に増強し、さらにはこの Wnt シグナル増強を介して細胞増殖の制御にも関与するという E8 の新たな機能が見出された。申請者によるこのような E8 の驚くべき新たな機能が発見されたことにより、Wnt シグナルを制御する新たな分子機構の解明につながる研究分野の開拓がなされたという点においても本研究は意義ある研究であり、本論文を博士 (生命科学) の学位論文としての価値あるものと認めた。また、平成18年1月24日に論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。