

氏名	たか はし のぶ ゆき 高 橋 信 之
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学位記番号	医 博 第 2301 号
学位授与の日付	平 成 13 年 1 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	医 学 研 究 科 分 子 医 学 専 攻
学位論文題目	Posttranscriptional regulation of α -Catenin expression is required for Wnt signalling in L cells. (L細胞における Wnt シグナルに必要な α カテニンの転写後調節に関する研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 武 藤 誠 教 授 本 庶 佑 教 授 月 田 承 一 郎

論 文 内 容 の 要 旨

カルシウムイオン依存性細胞接着分子であるカドヘリンは多細胞生物の形態形成などに重要な役割をはたしており、細胞質領域において様々な裏打ち蛋白質と複合体を形成している。そのカドヘリンと相互作用する裏打ち蛋白質の中で、 α カテニンはカドヘリンの機能を制御し、アクチン系細胞骨格とも相互作用する重要な構成蛋白質である。一方で、細胞内における過剰量の α カテニンの発現は、 β カテニンとの結合により、wnt情報伝達系に影響する。本論文では、 α カテニンの転写後調節の分子機構について検討した。5'非翻訳領域を欠損させた α カテニン cDNA を持つ発現ベクターを構築し、その発現ベクターをL細胞に導入後、安定発現株をクローニングした。その安定発現株は蛋白質レベルで内在性 α カテニンの約10倍の外来性 α カテニンの発現を示した。しかし mRNA レベルにおいては外来性 α カテニンの発現は内在性の発現に比べて80%程度しかなかった。一方、蛋白質合成阻害剤を用いた実験では、カドヘリンの発現していないL細胞において、内在性および外来性の α カテニン蛋白質のほとんどは約5時間で分解された。このことにより外来性の α カテニン蛋白質の高い発現レベルは、蛋白質の安定性が上昇した結果ではなく、高い効率で蛋白質合成が行われていることによると考えられる。また α カテニン mRNA の5'非翻訳領域は α カテニンの翻訳を抑えている可能性が示唆される。なお α カテニンは PEST 配列を含んでいるが、プロテオソーム阻害剤やカルパイン阻害剤により内在性 α カテニンの安定性は影響を受けなかった。

この外来性 α カテニンはカドヘリンを発現している EL 細胞において、細胞接着部位並びに細胞質中に存在し、細胞質中の過剰な外来性 α カテニンは Wnt3a による β カテニンの核への移行と TCF-4 依存的な標的遺伝子転写活性化を阻害する。以上の結果から、少なくともL細胞においては低い転写効率と未同定の蛋白質分解機構により、 α カテニンの細胞質中での蛋白質レベルが低く抑えられており、その低く抑えられた蛋白質レベルは Wnt シグナル経路に必要な状態であるということが示めされた。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

α カテニンは細胞接着分子カドヘリンと相互作用する裏打ち蛋白質である。本研究では、この α カテニンの転写後調節の分子機構について検討した。マウス線維芽細胞であるL細胞では、 α カテニンの mRNA は十分発現しているが、その蛋白質の発現レベルはきわめて低い。そこで、5'非翻訳領域を欠損させた α カテニン cDNA を持つ発現ベクターをL細胞に導入したところ、蛋白質レベルで内在性 α カテニンの約10倍量、mRNA レベルで約80%の外来性 α カテニンが発現した。この細胞において蛋白質合成を阻害したところ、内在性、外来性 α カテニンともに約5時間で分解された。このことから、5'非翻訳領域を欠損した mRNA からの外来性 α カテニン蛋白質の高い発現レベルは、蛋白質の安定性が上昇した結果ではなく、高い効率で蛋白質合成が行われていることによると考えられ、正常では α カテニン mRNA の5'非翻訳領域は α カテニンの翻訳を抑えていると考えられた。一方でこの安定して過剰発現されている外来性 α カテニンは、Wnt3a により安定化される細胞質中 β カテニンの核への移行と TCP-4 依存的な標的遺伝子転写活性化を阻害することが分かった。以上の結

果から、少なくともL細胞においては低い転写効率と未同定の蛋白質分解機構により、 α カテニンの細胞質中での蛋白質レベルが低く抑えられており、その低く抑えられた蛋白質レベルはWntシグナル経路に必要な状態であるということが示された。

以上の研究は細胞接着とシグナル伝達の基礎的な分子機構の解明に貢献し、基礎医学の進展に寄与するところが大きい。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。なお、本学位授与申請者は、平成12年12月11日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。