

氏 名	みず たに とも ひこ 水 谷 朋 彦
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2547 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 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 脳 統 御 医 科 学 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Conservation of the biochemical mechanisms of signal transduction among mammalian Notch family members (哺乳類 Notch family におけるシグナル伝達の生化学的機構の保存性)
論文調査委員	(主 査) 教 授 影 山 龍 一 郎 教 授 塩 田 浩 平 教 授 橋 本 信 夫

論 文 内 容 の 要 旨

Notch シグナルは神経分化、遺伝性虚血性疾患、癌化を始め様々な細胞系譜の分化抑制に関与するシグナル伝達系と考えられている。マウス Notch1 では、膜タンパクである Notch が Delta/Jagged などのリガンドとの結合によって、細胞内領域が presenilin 依存性 γ -secretase-like protease により切断され、核に移行することによってシグナル伝達が行われている。このシグナル伝達機構のマウス Notch family (Notch1-4) における保存性について解析、検討した。

細胞外領域を削除した Notch (ΔE) を線維芽細胞株に transient に transfect すると、Notch family すべてで切断が確認された。また、線維芽細胞株に dominant negative presenilin を導入した stable cell line では、その切断は強く阻害された。

Notch (ΔE) を transfect した線維芽細胞株より膜画分を精製し、37°C で incubation することにより切断を確認できる cell-free Notch cleavage assay を確立し、これを用いて Notch family すべての切断は presenilin 依存性であり、 γ -secretase 阻害剤 (MW167) によって阻害されることがわかった。

reporter assay を用いて Notch (ΔE) の切断により細胞内領域が核内に移行してシグナルを伝達していることが Notch family で保存されていることが示唆された。dominant negative presenilin の存在下では Notch (ΔE) のシグナル伝達が強く阻害されるが、Notch 細胞内領域のみの RAMIC のシグナル伝達は阻害されないことより、presenilin は Notch family の切断を介してシグナル伝達に関与していることが示唆された。

これらの結果よりマウス Notch family では、細胞内領域が presenilin 依存性の γ -secretase-like protease により切断され、核に移行することによってシグナル伝達が行われるという生化学的機構が保存されていることが示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Notch は神経分化、癌化など細胞分化に関与するシグナル伝達系である。Notch1 では、細胞内領域が presenilin 依存性 γ -secretase 様 protease により切断され、核移行し転写因子 (RBP-J) を介したシグナル伝達が行われる。マウス Notch family (Notch1-4) のシグナル伝達機構の保存について解析、検討された。

細胞外領域欠失型 Notch (ΔE) を線維芽細胞株に導入し、Notch family すべてで切断が確認された。機能欠失型 presenilin により、その切断は阻害された。膜画分を精製した細胞非存在下でも、Notch family の切断は presenilin 依存性 γ -secretase 様 protease によることが示された。

転写活性の測定より Notch family の RBP-J を介した転写活性も保存されており、presenilin は Notch の切断を介してシグナル伝達に関与していることが示された。

以上より Notch family は、presenilin 依存性の γ -secretase 様 protease により切断され、核移行によりシグナル伝達が行われる生化学的機構が保存されていることが示された。

以上の研究は Notch シグナル伝達様式の理解に貢献し、神経分化機構の解明に寄与するところが大きい。

従って、本論文は博士（医学）の学位論文として価値のあるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成15年1月28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。