

体軸形成におけるWnt シグナル伝達経路とAxin の役割

- Wnt シグナル伝達を制御する新規分子の同定 -

岸田 昭世

(広島大学医学部・生化学第一教室)

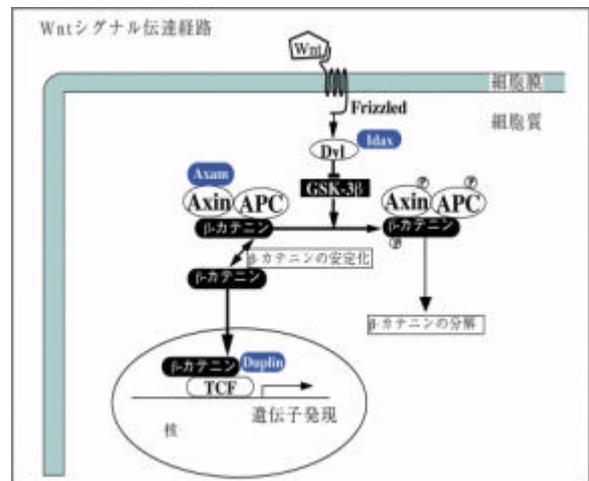
1 . 研究のねらい

Wnt (ウイント) は分泌性のタンパク質で、そのシグナルは受容体から細胞内のDM、GSK-3 、 Axin へと伝達され、 β -カテニンのリン酸化と分解を抑制する。その結果、 β -カテニン/転写因子TCF複合体の形成と、それに続く標的遺伝子の発現がおり、発生時の体軸や体節の形成、細胞の増殖や分化が制御される。本研究では、Axinがリン酸化酵素GSK-3 結合タンパク質であることに着目し、タンパク質のリン酸化や相互作用によって、Wntシグナルの伝達が制御される分子機構の解明と、この経路を制御する新規タンパク質の同定を目指した。

2 . 研究結果及び自己評価

(1)APC/Axin複合体による β -カテニンの分解機構

β -カテニンは、リン酸化酵素GSK-3 によってリン酸化されると、ユビキチン化を経て分解される。癌抑制遺伝子産物APC は β -カテニンと結合し、Axin は、APC、GSK-3 、 β -カテニンに結合するので、 β -カテニンのリン酸化と分解におけるAxin とAPC の結合の意義を検討した。APC、Axin 両者の共存下では、GSK-3 による β -カテニンのリン酸化が著明に亢進し、Axin 上のAPC 結合領域を添加すると亢進が認められなくなった。さらに、APC と β -カテニンの両者に結合できないAxin 変異体は、Wnt依存性の β -カテニンの蓄積や遺伝子発現を抑制する作用を示さなかったことから、APC/Axin 複合体中でのGSK-3 による β -カテニンのリン酸化の亢進の結果、 β -カテニンが分解することが示唆された。



(2) Wntシグナル伝達経路を制御する新規タンパク質の同定と機能の解析

DvlやAxin、 β -カテニンは、Wntシグナルを伝達する他の分子と複合体を形成して、シグナル伝達を巧妙に制御することが明らかとなったので、これらと結合する分子をさらに検索して、Wntシグナル伝達を制御する新たな仕組みを見出すことを目指した。その結果、以下の3種類の分子を見出した。

新規Dvl結合タンパク質Idax (Inhibition of the Dvl and Axin complex) は、Dvlと複合体を形成し、培養細胞におけるWnt依存性の β -カテニンの蓄積とTCF転写活性の亢進を抑制した。Idaxは、アフリカツメガエル初期胚でのWnt8やDvl依存性の二次体軸形成を抑制したが、 β -カテニン依存性の二次体軸形成を抑制しなかった。したがって、IdaxはDvl と結合することにより、 β -カテニンの上流でWntシグナルを抑制する制御因子として作用することが示唆された。

新規Axin結合タンパク質Axam (Axin associating molecule) は、DMのAxinに対する結合を阻害して安定なリン酸化型Axinを増加させた。アフリカツメガエル初期胚にAxamを導入すると頭部形成が抑制された。従って、AxamはAxin複合体に対するDvl の結合を抑制して、Axinを安定化することにより、 β -カテニンの分解を促進して、体軸形成を抑制することが示唆された。

新規 β -カテニン結合タンパク質Duplin (Duplexinhibitor) は、 β -カテニンと転写因子TCFの複合体形成を阻害し、Wnt-3a刺激依存性のTCF転写活性の亢進を抑制した。Duplinは、アフリカツメガエル初期胚の頭部の形成や、TCFの標的遺伝子siamois の発現を抑制し、Wnt8 や β -カテニンによる二次体軸の形成を抑制した。

自己評価

Wntシグナル伝達経路の解析に蛋白質間の相互作用に着目した解析法を導入することにより、こ

のシグナルが複数の蛋白質からなる複合体の上でリン酸化や競合阻害などの組み合わせで巧妙に調節されることを世界に先駆けて見出し、いくつかの新規分子を見出してその体軸形成やWntシグナル伝達経路における作用をJBC、MCBといった英文誌に報告できたことで、なんとかさきがけ研究に選ばれた研究者としての責任を果たせたのではないかと考えている。

3 . 領域総括の見解

Wntシグナル伝達系は、初期胚発生時の体軸形成を制御する。この系に属する既知因子について、アフリカツメガエルを用いてその機能を調べ、体軸形成に関わる多くの遺伝子発現を直接支配する -カテニンの安定化と崩壊の選択機構、またこれを支配する制御因子に付随する新規因子の検出を行ない、遅々としているが、本シグナル伝達系についての知見を着実に深めている。

4 . 主な論文

- 1 . Hino, S. -I., Kishida, S., Michiue, T., Fukui, A., Sakamoto, I., Takada, S., Asashima, M., and Kikuchi, A. (2001). Inhibition of Wnt signaling pathway by Idax, a novel Dvl-binding protein. *Mol. Cell. Biol.* 21, 330-342.
- 2 . Hinoi, T., Yamamoto, H., Kishida, M., Takada, S., Kishida, S., and Kikuchi, A. (2000). Complex formation of adenomatous polyposis coli gene product and Axin facilitates glycogen synthase kinase-3 -dependent phosphorylation of -catenin and down-regulates -catenin. *J. Biol. Chem.* 275, 34399-34406.
- 3 . Kadoya, T., Kishida, S., Fukui, A., Hinoi, T., Michiue, T., Asashima, M., and Kikuchi, (2000). Inhibition of Wnt signaling pathway by a novel Axin -binding protein. *J. Biol. Chem.* 275, 37030 - 37037.
- 4 . Kishida, S., Yamamoto, H., Hino, S. -I., Ikeda, S., Kishida, M., and Kikuchi, A. (1999). DIX domains of Dvl and Axin are necessary for protein interactions and their ability to regulate -catenin stability. *Mol. Cell. Biol.* 19, 4414 -4422.
- 5 . Sakamoto, I., Kishida, S., Fukui, A., Kishida, M., Yamamoto, H., Hino, S. -I., Michiue, T., Takada, S., Asashima, M., and Kikuchi, A. (2000). A novel -catenin binding protein inhibits -catenin -dependent Tcf activation and axis formation. *J. Biol. Chem.* 275, 32871 -32878.

5 . その他

受賞：2001年度日本癌学会奨励賞 「Wntシグナル伝達経路における -カテニンの分解制御機構とその異常による癌化の分子機構」（平成13年9月）