

# 論文審査の結果の要旨

氏名 足達 俊吾

本編は新規  $\beta$ -catenin 結合因子 B9L の単離及び Wnt シグナル伝達経路における B9L の役割の解析結果について述べたものである。

Wnt シグナル伝達経路は、線虫からヒトにいたるまで広く保存されたシグナル伝達経路であり、発生、形態形成に重要な役割を果たしている。さらに、種々のヒト腫瘍で Wnt シグナル伝達経路構成因子である  $\beta$ -catenin の安定化さらに  $\beta$ -catenin/TCF を介した転写の異常な活性化が見つかっており Wnt シグナル伝達経路が癌化にも深く関与する事が明らかとなっている。

本論文には以下の 5 点について示されている。

## 1、 $\beta$ -catenin 結合因子として B9L 及び Bcl9 を同定

$\beta$ -catenin の機能による癌化の機構をさらに明らかにする事を目的として two-hybrid スクリーニング法を用いて新規の  $\beta$ -catenin 結合因子を検索し、B 細胞リンパ腫で活性化している癌遺伝子 Bcl9 と相同性のある新規遺伝子 B9L (Bcl9 like protein) を同定した。さらに B9L だけでなく Bcl9 も  $\beta$ -catenin に結合する事を見出した。

## 2、 $\beta$ -catenin/TCF を介した転写における B9L の役割

B9L の  $\beta$ -catenin/TCF を介した転写における機能を調べるために TCF 結合配列をエンハンサー領域に持つレポーターベクターを用いることにより、B9L が  $\beta$ -catenin に結合して  $\beta$ -catenin/TCF を介した転写を亢進する活性をもつことを明らかにした。さらに B9L の C 末端領域を欠損させた変異体 B9L $\Delta$ Cter は転写活性化能を持たず、全長の B9L に対してドミナントネガティブとして働く事を明らかとした。以上の事から、B9L C 末端には  $\beta$ -catenin の持つ転写活性化能を助ける未知の転写活性化補助機構が存在すると考えられる。

## 3、 $\beta$ -catenin/TCF が関わる現象における B9L の役割

B9L は *Xenopus* 初期胚に二次軸を誘導する活性をもつことを明らかにした。また、細胞癌化における B9L の役割を解析する事を目的として、安定型  $\beta$ -catenin によって軟寒天上でコロニー形成能を獲得する事が知られている

RK3E 細胞を用いた実験を行った。B9L が安定型  $\beta$ -catenin によるコロニー形成に与える影響について調べた結果、全長 B9L は  $\beta$ -catenin によるコロニー形成能を亢進させる働きがあり、C 末端領域を欠いた B9L の C 末端領域を欠損させたドミナントネガティブ変異体 B9L $\Delta$ Cter は  $\beta$ -catenin によるコロニー形成能を顕著に減弱させる働きを持つ事を明らかにした。この実験により B9L が  $\beta$ -catenin による細胞癌化に関与している事が明らかとした。

#### 4、B9L と Bcl9 の活性の違い

B9L と同源性を持つ Bcl9 は  $\beta$ -catenin 結合能はもっているが、転写活性化能、二次軸誘導能のいずれも示さなかった。これらの結果により、B9L 及び Bcl9 はアミノ酸配列上高度に保存された領域をもつが、両者の活性には違いが存在する事を示した。

#### 5、B9L 及び Bcl9 のショウジョウバエオルソログ *legless* との機能の相違

最近ショウジョウバエの *legless* という遺伝子が Bcl9 のショウジョウバエオルソログとして同定され、Wnt シグナル伝達経路に必須な因子である事が明らかになった。しかし、B9L 及び Bcl9 に高度に保存されている C 末端領域が、*legless* には保存されておらず、また機能上も C 末端領域が必要無いと言う事が示されている。これらの事実から C 末端領域に関わる機能は進化上、脊椎動物以降に新たに得られた機能であると考えられる。

以上、本論文は 新規  $\beta$ -catenin 結合因子 B9L を同定し、 $\beta$ -catenin を介した転写活性化及び細胞の癌化に重要な役割を果たす事を明らかとした。本研究は今後  $\beta$ -catenin/TCF の関わる生命現象の解明や発癌のメカニズムの解明において重要な基礎になると考えられる。よって、審査員一同は本論文が博士（理学）の学位論文として価値あるものと認めた。

なお、主論文は小川文昭、河府和義、繁健次郎、秋山徹との共同研究であるが、論文提出者が主体になり研究、解析を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。