

論文審査の結果の要旨

氏名 雪田 聡

本論文では第1章において脱 SUMO 化酵素の1つである XSENP1 を、第2章では SUMO 分子の1つである XSUMO-1、および SUMO 化修飾を促進する酵素 XUBC9、XPIASy のツメガエル発生段階における機能を解析している。

SUMO (Small Ubiquitin-related MOdifier) 分子は sentrin、SMT3C とも呼ばれるユビキチン分子に類似した約100アミノ酸からなるタンパク質である。SUMO 化修飾経路は可逆的であり、SUMO 化されたタンパクから SUMO 分子を外す活性を持つ脱 SUMO 化酵素が複数同定されているが、基質特異性などについては未解明な部分が多い。そこで論文提出者は発生段階での SUMO 化修飾の役割の役割について研究を行った。

第1章では、Wnt/ β カテニンシグナル伝達系における脱 SUMO 化酵素の役割を調査した。ツメガエルの発生段階での Wnt シグナル伝達系における SUMO 化修飾の役割について解析したいと考え、脱 SUMO 化酵素である Axam/SENP2 による Wnt/ β カテニン経路の抑制に着目し、ツメガエルを用いて研究を行った。ツメガエル胚背側割球に *Axam/SENP2* mRNA を顕微注入すると背側前方構造の欠損、Wnt/ β カテニンシグナルの標的遺伝子の1つ *Siamois* の発現抑制が認められた。このことから、ツメガエル発生段階における Wnt/ β カテニンシグナルにおいても脱 SUMO 化酵素が関与し得ると考え、発生段階における脱 SUMO 化酵素の役割をさらに解析するため、ツメガエルの脱 SUMO 化酵素の機能解析を行った。ツメガエルにおける脱 SUMO 化酵素についての報告は無かったので、脱 SUMO 化酵素群で保存されている C 末端側領域に相同性の高いツメガエル EST 配列をもとにスクリーニングを行った。その結果、ツメガエルではじめて脱 SUMO 化酵素と予想される配列を同定し、*Xenopus SENP1 (XSENP1)* と名付けた。*XSENP1* mRNA は母性因子としてツメガエル卵に存在し、脱 SUMO 化活性を実際に有している事を確認した。さらに、*XSENP1* mRNA の顕微注入によって、ツメガエル胚は背側前方構造の欠損した表現型を示し、Wnt/ β カテニンシグナルの標的遺伝子の1つである *Xnr3* の発現を抑制することが分かった。さらに、Wnt/ β カテニンシグナルの促進性因子との共発現から、XSENP1 は β カテニンの下流かつ、標的遺伝子産物の1つである *Simaois* の上流で Wnt/ β カテニンシグナルを抑制することが示された。

第2章では、脱 SUMO 化酵素だけではなく SUMO 化修飾のツメガエル発生段階で

の役割も知りたいと考え、*Xenopus* SUMO-1 (XSUMO-1)分子および SUMO 化修飾において E2、E3 として機能する *Xenopus* UBC9 (XUBC9)、*Xenopus* PIASy (XPIASy) の過剰発現、および XSUMO-1 のモルフォリノオリゴ(XSUMO-1-MO)による機能阻害実験を行った。SUMO 化因子をツメガエル卵の背側動物極よりへ過剰発現すると、軸の伸長および神経管の形成に不全が認められた。この表現型はツメガエルにおいて Wnt/PCP(細胞内平面極性 : Planar cell polarity)経路に関与している因子を過剰発現及び機能阻害した場合に観察される表現型に類似している。ツメガエル後期胞胚から切り出したアニマルキャップをアクチビン処理すると、アニマルキャップは伸長する。この伸長は原腸陥入時の細胞運動を模倣していると考えられ、実際にドミナントネガティブ Wnt-11 や Fz などの過剰発現によって Wnt/PCP シグナルの伝達を乱した胚から切り出したアニマルキャップはアクチビン処理による伸長が阻害された。XSUMO-1-MO によって XSUMO-1 を機能阻害させた胚から切り出したアニマルキャップも同様にアクチビン処理による伸長が阻害されていた。さらに XSUMO-1 mRNA を過剰発現させることによって c-Jun の N 末側におけるリン酸化レベルの上昇が認められた。以上のことから、XSUMO-1 の過剰発現および機能阻害の結果から SUMO 化修飾の標的タンパク質は不明ではあるが、何らかの因子の SUMO 化修飾により Wnt/PCP シグナル伝達を正の方向に調節する事で原腸胚期の細胞運動の調節を行っている事を明らかにした。

なお、本論文の第 1 章は道上，福井，桜井，井原，山本（秀），菊地，浅島らとの共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったものである。第 2 章については論文提出者が全て主体的に行ったものである。それゆえ、本論文は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。