

# 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)

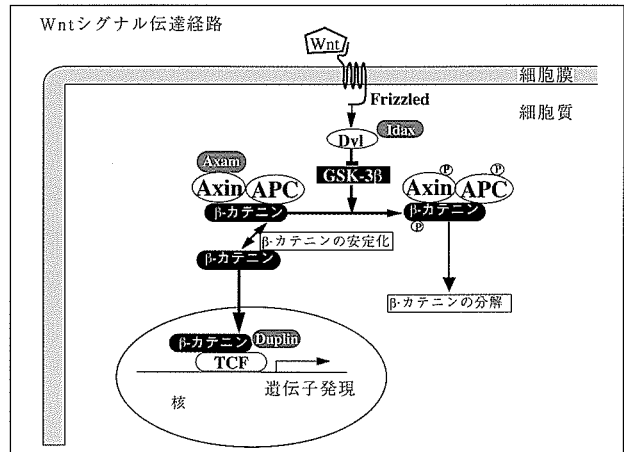
## 1. 研究のねらい

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 Dvl、GSK-3 $\beta$ 、Axin へと伝達され、 $\beta$ -カテニンのリン酸化と分解を抑制する。その結果、 $\beta$ -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 $\beta$  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. 研究成果と考察

### (1) APC/Axin 複合体による $\beta$ -カテニンの分解機構

$\beta$ -カテニンは、リン酸化酵素 GSK-3 $\beta$  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  $\beta$ -カテニンと結合し、Axin は、APC、GSK-3 $\beta$ 、 $\beta$ -カテニンに結合するので、 $\beta$ -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 $\beta$  による  $\beta$ -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  $\beta$ -カテニンの両者に結合できない Axin 変異体は、Wnt 依存性の  $\beta$ -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 $\beta$  による  $\beta$ -カテニンのリン酸化の亢進の結果、 $\beta$ -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、 $\beta$ -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  $\beta$ -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、 $\beta$ -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、 $\beta$ -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、Dvl 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。したがって、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、 $\beta$ -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 $\beta$ -カテニン結合タンパク質Duplin (Duplex inhibitor) は、 $\beta$ -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 $\beta$ -カテニンによる二次体軸の形成を抑制した。

### 3. 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  $\beta$ -dependent phosphorylation of  $\beta$ -catenin and downregulates  $\beta$ -catenin. *J. Biol. Chem.* *275*, 34399-34406.
3. Kadoya, T., Kishida, S., Fukui, A., Hinoi, T., Michiue, T., Asashima, M., and Kikuchi, A. (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  $\beta$ -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  $\beta$ -catenin binding protein inhibits  $\beta$ -catenin-dependent Tcf activation and axis formation. *J. Biol. Chem.* *275*, 32871-32878.

### 4. 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 $\beta$ -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)