別紙１－１

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※　甲　第　　号

氏　　名　岡野　誠

論　文　題　目　Mib1 は Snx18 を介した dynamin 2 の誘導を制御し Dll1 のエンドサイトーシスを促進して Notch シグナル活性化に寄与する

論文審査担当者

主　査　名古屋大学大学院理学研究科　教　授　　工学博士　　松本　邦弘
委　員　名古屋大学大学院理学研究科　教　授　　薬学博士　　黒岩　厚
委　員　名古屋大学大学院理学研究科　准教授　　博士（理学）　久本　直毅

別紙１－２

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Notch シグナル伝達は個体の発生や恒常性の維持に寄与する重要なシグナル伝達の一つである。Notch シグナル伝達の正の制御因子として Mind bomb1 (Mib1) が発見されており、その機能としてリガンドのユビキチン化し、エンドサイトーシスを促進することが明らかになっているが、Notch シグナル伝達活性化においてリガンドのユビキチン化がどのように制御され、さらに Mib1 がどのような因子と協調してリガンドのエンドサイトーシスを促進し Notch シグナル伝達を活性化するのか明らかでなかった。

そこで、申請者は Notch2 細胞外ドメインと human IgG, Fcγ断片の融合タンパク質に抗 human IgG, Fcγ 抗体を加え形成させた Notch2Fc 複合体を使用し詳細な分子メカニズムの解析を行った。その結果 Notch リガンドである Detla-like1 (Dll1)が Notch2Fc と結合すると Mib1 のユビキチンリガーゼ活性が上昇し Dll1 をユビキチン化することを明らかにした。また Dll1 と結合した Notch2Fc はエンドサイトーシスされ EEA1 陽性の初期エンドソームへと輸送されるが、Mib1 のノックダウンでは Notch2Fc は細胞膜に留まりエンドサイトーシスが阻害されていた。このことから Mib1 は Notch 細胞外ドメインと結合した Dll1 のエンドサイトーシスに必要であり、Notch 細胞内ドメインとの乖離を促して Notch 細胞内ドメインの切断及び Notch シグナル活性化に必要であることを明らかにした。次に申請者はエンドソームの細胞膜の切り離しを行う dynamin 2 が Mib1 によって制御されるか検討したところ、Notch2Fc と Dll1 の結合依存的に dynamin 2 が Dll1 へ局在化し、更にその局在化は Mib1 によって制御されていた。Sorting nexin18 (Snx18) は dynamin 2 と相互作用し局在化に寄与することから Notch シグナル伝達における Snx18 の機能を解析したところ、Snx18 は Notch 細胞外ドメインのエンドサイトーシスを制御し Notch シグナル活性化に寄与していた。更に Snx18 は Notch2Fc と結合した Dll1 への dynamin 2 の局在化に必要であり、Mib1 はそのユビキチンリガーゼ活性依存的に Snx18 と dynamin 2 の相互作用を増強させることを明らかにした。これらの結果から Mib1 はユビキチンリガーゼ活性依存的に Snx18 を介して dynamin 2 の Notch 細胞外ドメインが結合した Dll1 への局在化を制御しエンドサイトーシスを促進し、Notch シグナルを活性化していることを明らかになった。

このように本研究は、Snx18 が Notch シグナル伝達に寄与することを初めて明らかにし、Snx18 及び dynamin 2 と Mib1 が協調し Notch シグナル活性化を行うことを解明した点で新規性が高い。また、そのメカニズムとして Notch 細胞外ドメインの Dll1 との結合によって Mib1 のユビキチンリガーゼ活性が上昇し、さらに Mib1 のユビキチンリガーゼ活性依存的に Snx18 と dynamin 2 の相互作用が制御されていることを示したことも評価に値するものである。以上の理由により、申請者は博士(理学)の学位を授与されるに十分な資格があるものと認められる。