

Wnt シグナルネットワークとその異常による病態

菊池章

ショウジョウバエの遺伝学に端を発した Wnt 研究は、腫瘍医学や発生生物学においても解析が進み、多様な研究領域に展開した。Wnt は生物種を越えて保存されており、動物の発生に必須な分泌タンパク質である。Wnt は細胞膜受容体に結合することにより、①β-カテニン経路、②平面内細胞極性経路 (PCP 経路)、③Ca²⁺経路の少なくとも3種類の細胞内シグナル経路を活性化し、細胞の増殖や分化、運動、極性を制御する。したがって、Wnt シグナル経路の異常が種々の疾患の原因となりうる。これまでに、詳細に解析されてきたがんに加えて、精神神経疾患や骨・軟骨疾患、糖尿病等においても Wnt シグナル経路の異常が指摘されている。また、Wnt シグナル経路の活性を調節することによる治療戦略も展開しつつある。

はじめに

Wnt は分子量約4万の分泌性糖タンパク質で、線虫やショウジョウバエから哺乳類に至るまで生物種を超えて保存され、初期発生や形態形成、器官形成、出生後の細胞の増殖・分化・運動などを制御する¹⁾。Wnt の名前はショウジョウバエの分節遺伝子 *Wingless* (*Wg*) とマウス乳がんウイルスが誘導する遺伝子 *int-1* が類似していることに由来する (*Wingless* + *int* = *Wnt*)。Wnt が細胞に作用することにより、活性化される細胞内シグナル伝達機構を Wnt シグナル経路と呼ぶが、本シグナル経路には①β-カテニンを介して遺伝子発現を制御する β-カテニン経路、②細胞平面極性 (planar cell polarity, PCP) (頂底極性に直行する平面内に形成された極性) を制御する PCP 経路、③Ca²⁺の細胞内動員を促進する Ca²⁺経路の少なくとも3種類が存在する²⁾ (図1)。Wnt シグナル経路の中で最もよく知られているのが β-カテニン経路である。β-カテニンはカドヘリン結合タンパク質として同定され、細胞接着に重要な働きをするが、Wnt シグナルのメディエーターとして遺伝子発

現を誘導し、その結果、β-カテニン経路は細胞の増殖や分化を制御する。

一方、Wnt シグナルには β-カテニンに依存しない細胞内シグナル伝達機構が少なくとも二経路存在する (β-カテニン非依存性経路)^{3,4)}。第一の経路である PCP 経路は、一層の上皮から成るショウジョウバエの翅原基における翅毛の配向を決定するシグナルとして見出された。PCP 経路は Wnt 受容体 Frizzled (*Fz*) と細胞内タンパク質 Dishevelled (*Dvl*) を介して、Rho ファミリーの低分子量 G タンパク質 (GTP 結合タンパク質) を活性化し、さらに Rho 依存性リン酸化酵素 (Rho kinase) や Jun リン酸化酵素 (Jun-N-terminal kinase, JNK) を活性化することにより、細胞の骨格や極性、運動、遺伝子発現を調節する。第二の経路である Ca²⁺経路は、Wnt が細胞内 Ca²⁺を動員し、カルモジュリン依存性タンパク質リン酸化酵素 (Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase, CaMK) とタンパク質リン酸化酵素 C (protein kinase C, PKC) を活性化する。本経路は β-カテニン経路に拮抗したり、細胞運動を促進すると考えられている。β-カテニン非依存性経路はショウジョウバエを用いた遺伝学的解析およびアフリカツメガエルやゼブラフィッシュを用いた発生生物学的解析から明らかになった経緯があり、哺乳類における本経路の分子機構の詳細と意義はまだ判然としない。

これまでにリガンドとしての Wnt はヒトとマウスで19種類同定されている¹⁾。Wnt ファミリーは、マウス乳腺上

広島大学大学院医歯薬学総合研究科・分子細胞情報学
(〒734-8551 広島市南区霞 1-2-3)

Wnt signaling; its abnormalities and diseases

Akira Kikuchi (Department of Biochemistry, School of Biomedical Sciences, Hiroshima University, 1-2-3, Kasumi, Minami-ku, Hiroshima 734-8551, Japan)

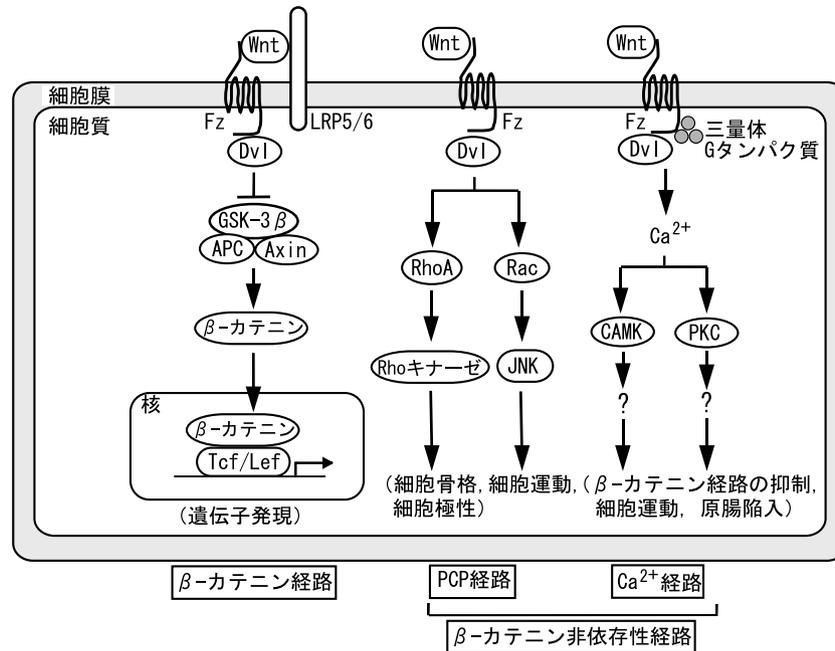


図1 Wntシグナル経路の多様性

Wntシグナルはβ-カテニン経路、PCP経路、Ca²⁺経路の三つの経路を活性化する。CaMK, Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase; Fz, Frizzled; GSK-3β; glycogen synthase kinase-3β; JNK, c-Jun N-terminal kinase; LRP5/6, low density lipoprotein receptor-related protein 5/6; PKC, protein kinase C; Tcf/Lef, T-cell factor/lymphoid enhancer factor.

皮細胞株 C57MG に対する形質転換能の強度をもとに分類され、Wnt1 や Wnt3a, Wnt7a 等は形質転換能の強い群に属し、Wnt5a や Wnt4, Wnt6, Wnt11 等は形質転換能の弱い群に分類される。一般に形質転換能の高い Wnt がβ-カテニン経路を活性化し、形質転換能の弱い Wnt はβ-カテニン非依存性経路を活性化すると考えられてきた。しかし、Wnt3a が Rho キナーゼを活性化したり、逆に Wnt5a がβ-カテニン経路を活性化することも明らかにされ、Wnt リガンドにより特異的な細胞内シグナル伝達機構が決定されない可能性も考えられている^{5,6)}。一方、Wnt 受容体には 7 回膜貫通型の Fz (Fz1~10 の 10 種類) に加えて、1 回膜貫通型の low density lipoprotein receptor-related protein5 (LRP5), LRP6, receptor tyrosine kinase-like orphan receptor 2 (Ror2), related tyrosine kinase orphan receptor (Ryk) が存在する^{2,7-9)}。少なくとも、β-カテニン経路の活性化には 1 種類の Fz と LRP5 または LRP6 が共役受容体として機能する。また、Wnt5a は Fz と Ror2 と 3 者複合体を形成することにより、β-カテニン非依存性経路を活性化する可能性が高い¹⁰⁾。現在は、Wnt と受容体の組み合わせに加えて第三の因子の存在や受容体のエンドサイトーシスが Wnt シグナル経路の特異的活性化の決定に重要な働きをすることが示唆されている¹¹⁻¹⁴⁾。

このように、Wnt は複数の細胞内シグナル伝達機構を活性化することにより、多彩な細胞応答を制御する。した

がって、本経路に異常が生じると、種々の疾患が引き起こされることが容易に想像される(図2)。事実、種々のヒトのがんや骨粗鬆症を伴う偽神経膠腫症候群において、β-カテニンや adenomatous polyposis coli (APC), LRP5 等のβ-カテニン経路を構成するタンパク質の遺伝子変異と疾患発症との関係が明らかになっている^{15,16)}。また、Wnt シグナルを制御することにより、病態の治療に結びつける試みも始まっている¹⁷⁾。これまでに、Wnt によるシグナル制御と細胞機能制御については多数の総説に記載されているので、本総説では Wnt シグナルの異常とそれに伴う病態に焦点を絞って概説したい。

I. Wnt シグナルとがん

1. β-カテニン経路の異常

正常状態では、Wnt 刺激によって細胞質内で蓄積したβ-カテニンは核内に移行した後、転写因子である T cell factor/Lymphocyte enhancing factor (Tcf/Lef) と結合し、*cyclin D1* や *c-Myc* 等の遺伝子の発現を促進する^{1,2)}。Wnt 刺激のない状態では、細胞質内のβ-カテニン量は低いレベルに保たれているが、これはβ-カテニンが APC, グリコーゲン合成酵素リン酸化酵素-3β (glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β) と共に Axin に結合し、この Axin 複合体中でカゼインキナーゼ 1α (casein kinase 1α, CK1α) と GSK-3β によるリン酸化とそれに伴うユビキチン化を受

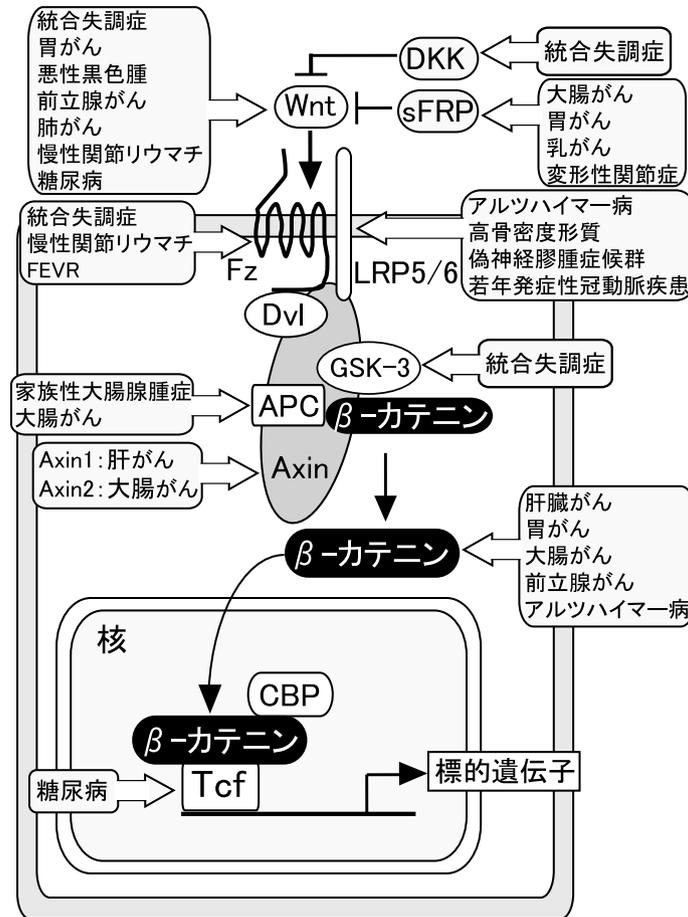


図2 Wntシグナル経路の異常とヒト疾患

Wntシグナル経路の構成分子の遺伝子異常やタンパク質の機能異常が報告されている主なヒト疾患を示している。

CBP, cyclic AMP responsive element binding protein (CREB) binding protein; sFRP, soluble Frizzled related protein.

け、最終的にはプロテアソームにより分解されるためである¹⁸⁻²⁰⁾。Wntとがんの関係で最初に報告されたのは、ウイルス性マウス乳がんにおいてがん遺伝子として同定された *Wnt1* である²¹⁾が、ヒト乳がんにおいて *Wnt1* 遺伝子の関与は示されていない。

β-カテニン分解複合体 (Axin 複合体) を構成するタンパク質の遺伝子は gate keeper gene と呼ばれ、種々のヒトがんで Axin 複合体のタンパク質の異常が報告されている²²⁾。特に、大腸がんでは β-カテニン経路の活性化が多段階発がんの初期に起こることが示されている。これらのがん細胞の共通の表現型は β-カテニンの細胞質や核への異常蓄積であり、*cyclin D1* や *c-Myc* などのがん関連遺伝子の過剰発現を介して異常細胞増殖を誘導すると考えられる。

肝臓がんや大腸がん、胃がん、前立腺がんなどにおいて、β-カテニンの遺伝子異常はエキソン3に集中している²²⁾。この領域には CK1α と GSK-3β によってリン酸化さ

れるアミノ酸およびユビキチンリガーゼ Fbw1 の認識配列が存在する。これらのアミノ酸の変異、またはエキソン3の完全あるいは部分欠損により β-カテニンは CK1α や GSK-3β によりリン酸化されなくなるか、あるいはユビキチン化を受けなくなり、変異 β-カテニンは細胞質や核内に蓄積する。

APC は家族性大腸腺腫症 (familial adenomatous polyposis coli, FAP) の原因遺伝子として同定された²²⁾。APC は約 2,800 アミノ酸からなるタンパク質であり、β-カテニンと直接結合して β-カテニンの分解を促進する²³⁾。FAP に加えて、APC 遺伝子異常は大腸がんでも約 80% の症例で見出されている。FAP や大腸がんにおける APC 遺伝子異常の大部分は終止コドンを作るために、C 端側半分が欠損する。この変異 APC は β-カテニンとの結合能は保たれているが、Axin とは結合できない。したがって、β-カテニンが効率よくリン酸化されないために、β-カテニンの分解能が低下し蓄積する^{24, 25)}。

ヒトでは *Axin1* と *Axin2* (ラット *Axil*, マウス *conductin*) の二つの *Axin* 遺伝子が存在し²⁶⁾, 肝臓がんで *Axin1* の, 大腸がんで *Axin2* の遺伝子異常が報告されている^{27,28)}. *Axin* の異常は APC や β -カテニン, GSK-3 β との複合体が形成できないために, β -カテニンのリン酸化やユビキチン化が抑制され, その結果 β -カテニンが蓄積すると考えられる.

2. β -カテニン非依存性経路の異常

β -カテニン非依存性経路を活性化する代表である Wnt5a は β -カテニン経路を抑制する作用があることから, 抗腫瘍作用を有すると考えられていた⁴⁾. 例えば, 甲状腺がんや大腸がんの細胞株で, Wnt5a は細胞増殖や細胞運動, 浸潤能を抑制する^{29,30)}. この結果に一致して, 固有筋層に深に深達するがリンパ節転移を伴わない Dukes B 型大腸がんでは, Wnt5a が高発現する. さらに, Wnt5a のヘテロノックアウトマウスを長期間飼育すると 24 ヶ月以内に約 20% のマウスで B リンパ腫または慢性骨髄性白血病が発症し, ヒト白血病で *Wnt5a* 遺伝子発現が抑制される症例が認められる³¹⁾.

これに対して, 悪性黒色腫では Wnt5a は細胞運動や浸潤能を促進し, 腫瘍の進展に関与する³²⁾. また, 非小細胞肺癌では Wnt5a の過剰発現と腫瘍増殖および間質における血管新生との間に正の相関が認められる³³⁾. このように, Wnt5a の発現が腫瘍の悪性化と相関する症例も見出され, がん遺伝子として機能する可能性も考えられるようになった. 胃がんにおいても Wnt5a は約 30% の症例で過剰発現しており, 悪性度の高い diffuse-scattered type (スキルス型) で Wnt5a 陽性症例が有意に多い³⁴⁾. 進行がんを対象にすると, Wnt5a 陽性例の術後 5 年生存率は陰性例に比べ有意に低い. また, Wnt5a は Rac を活性化すると共に, 細胞接着斑のターンオーバーを促進する. さらに, Wnt5a は ラミニン $\gamma 2$ の発現を促進する³⁵⁾. ラミニン $\gamma 2$ は, 基底膜を構成する ラミニン 5 のサブユニットであり, 正常上皮細胞と基質間の接着に重要な役割を果たすが, 胃がんや大腸がんの浸潤先進部では過剰発現し, がんの浸潤・転移にも関与することが示唆されている³⁶⁾. これらの結果から, Wnt5a のシグナルは胃がん細胞において細胞骨格系に直接的に作用すると共に, ラミニン $\gamma 2$ 等の遺伝子発現を介して細胞運動・浸潤を促進すると考えられる. さらに, Wnt5a は前立腺がん細胞の浸潤能も促進し, Wnt5a が発現している症例では術後の再発率が高い (山本, 論文投稿中). したがって, Wnt5a が発現したがん細胞は浸潤・転移能を獲得するために悪性化すると考えられ, Wnt5a はある種のがんにおいて診断マーカーや予後の判定指標, 治療の分子標的になる可能性がある.

II. Wnt シグナルと精神神経疾患

1. 統合失調症

大部分の Wnt とその受容体は中枢神経系の発生に関与しており, また成人脳でも多数発現していることから高次脳機能に Wnt シグナルが関与する可能性が示唆されている^{37,38)}. *Dvl1* ノックアウトマウスの社会行動性が欠如することからも, Wnt シグナルが脳機能の調整に関与すると考えられる³⁹⁾. 統合失調症の神経発生学的モデルでは, 脳の発達の重要な時期に起こる遺伝的要因と環境要因が中枢神経系の成長や積層に抑制的に作用し, 細胞構築上の欠損を与えるとされている⁴⁰⁾. Wnt シグナル構成分子の発現や局在が統合失調症患者の大脳皮質や海馬, 鉤状回において変動する. 統合失調症患者脳で Wnt1 と β -カテニンの発現が増強し⁴¹⁾, Wnt シグナルの抑制分子である Dickkopf3 (DKK3) の発現が減少している⁴²⁾. また, Wnt 受容体である Fz3 が統合失調症の推定上の原因遺伝子座を含む染色体 8q21 に存在し, Fz3 の一塩基遺伝子多型が統合失調症の罹患率に関連する⁴³⁾.

GSK-3 β の第一イントロンに存在する (CAA) (n) の繰り返しだが, ある種の統合失調症患者に多く認められ⁴⁴⁾, GSK-3 β の発現レベルの低下⁴⁵⁾や GSK-3 β のリン酸化レベルの上昇 (不活性化を意味する)⁴⁶⁾が統合失調症患者の前頭皮質で認められる. 統合失調症と双極性障害は異なる疾患であるが, いくつかの共通の感受性遺伝子が存在し, そのような領域は 3 番染色体の長腕の *GSK-3 β* 遺伝子座 (3q13.3) の近傍に位置する⁴⁷⁾. また, *GSK-3 β* のプロモーター領域の -50 T/C 一塩基遺伝子多型も統合失調症患者に認められるが, 双極性障害患者の発症年齢やリチウムによる長期間の治療応答とも関連する⁴⁸⁾. このように, Wnt シグナル経路の構成分子の異常が統合失調症と関連する可能性が示唆されているが, その異常が症状とどのような分子機構で関連するかを明らかにすることが大きな課題である.

GSK-3 はリチウムやバルプロン酸 (VPA) 等の気分安定剤や統合失調症様状態を引き起こす精神異常発現性薬剤⁴⁹⁾の標的分子であると考えられている. GSK-3 の活性を阻害することで β -カテニン経路を活性化することはよく知られており, 種々の低分子阻害剤が開発されているが, GSK-3 の活性が Wnt シグナルにより制御されるかは未だ結論に至っていない. さらに, GSK-3 は β -カテニン以外にも多彩な基質をリン酸化すると共に, 多くのシグナル経路によりその活性が調節されている. したがって, GSK-3 阻害剤による症状への影響や細胞生物学的知見の解釈には, Wnt シグナルと関連するか否かという意味において注意を要する.

2. アルツハイマー病

アルツハイマー病は記憶や判断力、理解力の低下が顕著に現れる進行性の神経変性疾患である⁵⁰。アルツハイマー病では神経細胞内に過剰リン酸化されたタウが蓄積されるが、タウをリン酸化する酵素として GSK-3 が同定されている⁵¹。GSK-3 はタウや他の微小管結合タンパク質の安定化に重要であり、GSK-3 の過剰活性を抑制することにより、タウのリン酸化や微小管の破壊、神経細胞死等を防ぐことができると考えられている。

アルツハイマー病のもう一つの特徴的な病理像として、神経細胞外におけるアミロイドβ-ペプチド (Aβ) の蓄積が知られている。家族性アルツハイマー病において、アミロイド前駆体 (APP) とその切断酵素として作用するプレセニリン (PS1 と PS2) の遺伝子変異が同定された。その変異により、42 個のアミノ酸からなる凝集能の高い病的 Aβ₁₋₄₂ が蓄積する⁵⁰。PS1 が GSK-3 および β-カテニンと複合体を形成し β-カテニンを分解するために、PS1 欠損マウスにおいて β-カテニンが蓄積する^{52,53}。また、PS1 の変異によって引き起こされた神経細胞分化の異常が、β-カテニンとサイクリック AMP 反応性エレメント結合タンパク質 (CREB) 結合タンパク質 (CBP) との結合を阻害することにより抑制されることから、β-カテニンの蓄積が神経機能障害に関与するのかもしれない⁵⁴。

逆に、PS1 の変異によって β-カテニンが減少して、神経変性が促進することも報告されている⁵⁵。これらの知見に一致して、リチウム等の GSK-3 阻害剤が APP の分解や Aβ の神経毒性を抑制する^{55,56}。ラット海馬神経細胞において、Aβ の蓄積によるタウのリン酸化の増強や β-カテニンの減少は Wnt3a により抑制され、神経細胞死を抑制する⁵⁷。さらに、Aβ は Wnt シグナルを抑制する分泌タンパク質である Dkk1 の発現を誘導する。このように、β-カテニン経路の活性化と不活性化のいずれがアルツハイマー病に関与するかは結論されていない。一方、培養細胞に Dvl1 を過剰発現させると β-カテニン非依存性経路 (PKC と JNK の活性化) を介して APP が産生されるので⁵⁸、アルツハイマー病の脳において β-カテニン非依存性経路にも異常が起こり、Aβ の沈着に影響するのかもしれない。

ApoE の対立遺伝子 ε4 (表現型: アポ E4) の頻度が家族性アルツハイマー病患者で高く、また ε4 の遺伝子数が増加するほどアルツハイマー病の発症年齢が低下し、発症率が増加する⁵⁹。家族性だけではなく、孤発性も含めアルツハイマー病患者全般においても ε4 の頻度が高い。ApoE は ApoE 受容体に結合し細胞外の脂質を細胞内へ運び込む際のリガンドとして機能している。一方、LRP1 は老化に伴って発現が減少するが、アルツハイマー病患者の脳では著明に減少している⁶⁰。アルツハイマー病の発症について、LRP を介する Aβ 除去能力の低下が関連する可能性が

考えられる。また、Wnt 受容体である LRP5/6 が ApoE と結合して、脂質代謝に関与することが示唆されており⁶¹、晩発型アルツハイマー病においても、LRP6 の遺伝子変異が存在する⁶²。ショウジョウバエでは、ApoE 様タンパク質は Wingless (Wnt ホモログ) の分泌や輸送を行う小胞に必須の分子である⁶³。したがって、ApoE は Wnt と LRP5/6 の複合体形成と β-カテニン経路の活性化に関与し、アルツハイマー病の発症に関連するのかもしれない。

III. Wnt シグナルと骨・軟骨疾患

Wnt シグナルが骨形成に重要であることはよく知られている⁶⁴ (図 3A)。すなわち、β-カテニン経路は間葉系幹細胞からの軟骨細胞と脂肪細胞への分化を抑制するが、骨芽細胞と骨細胞への分化を促進する。分化した骨細胞は Dkk1 やスクレロスチン等の Wnt シグナル経路の抑制因子を分泌して、骨芽細胞の分化と機能を抑制する。また、骨芽細胞からは receptor activator of NF-κB ligand (RANKL) (破骨細胞の活性化因子) のデコイ受容体であるオステオプロテグリン (osteoprotegerin, OPG) が産生され、破骨細胞の活性を阻害する結果、骨形成を促進する。

常染色体優性遺伝の高骨密度形質を示す家系で β-カテニン経路の活性化を誘導する LRP5 の細胞外領域のアミノ酸変異が認められる^{65,66}。マウスを用いた実験的解析から、LRP5 の活性化型変異が高骨密度の表現型を示した。また、Wnt シグナル経路の阻害タンパク質である soluble Fz-related protein 1 (sFRP1) を欠損させたマウスでは骨形成が増強する⁶⁷。逆に、常染色体劣性遺伝の骨粗鬆症を伴う偽神経腫腫症候群 (osteoporosis-pseudoglioma syndrome, OPPG) において、LRP5 の不活性化型変異が認められる⁶⁸。OPPG は骨密度低下と易骨折性に加えて、網膜血管形成不全を伴い、最終的に失明に至ることから、β-カテニン経路の活性化が骨形成と血管形成に関与することを示唆している。

変形性関節症は軟骨が変性する関節の疾患である。女性の変形性関節症において sFRP3 の一塩基遺伝子多型が認められる⁶⁹。本多型は、sFRP3 の Wnt シグナル抑制活性を減弱することから、変形性関節症では Wnt シグナルが増強していると考えられる。

慢性関節リウマチ (RA) は滑膜肥厚と炎症を伴った軟骨欠損と関節破壊に特徴づけられる疾患である。RA 患者の滑膜細胞には Wnt1 と Wnt5a、Fz5 が高発現している⁷⁰。Wnt5a を滑膜細胞に発現させると IL-6 や IL-8、IL-15 が産生され、また、抗 Wnt5a 抗体を RA 滑膜細胞に作用させると、RANKL の産生を減弱させる。さらに、Wnt1 は JNK の活性化を介してマトリックスメタロプロテアーゼ 3 前駆体 (pro-matrix metaroprotease3, pro-MMP3) の発現を誘導する⁷¹。したがって、RA では Wnt1 や Wnt5 が発現す

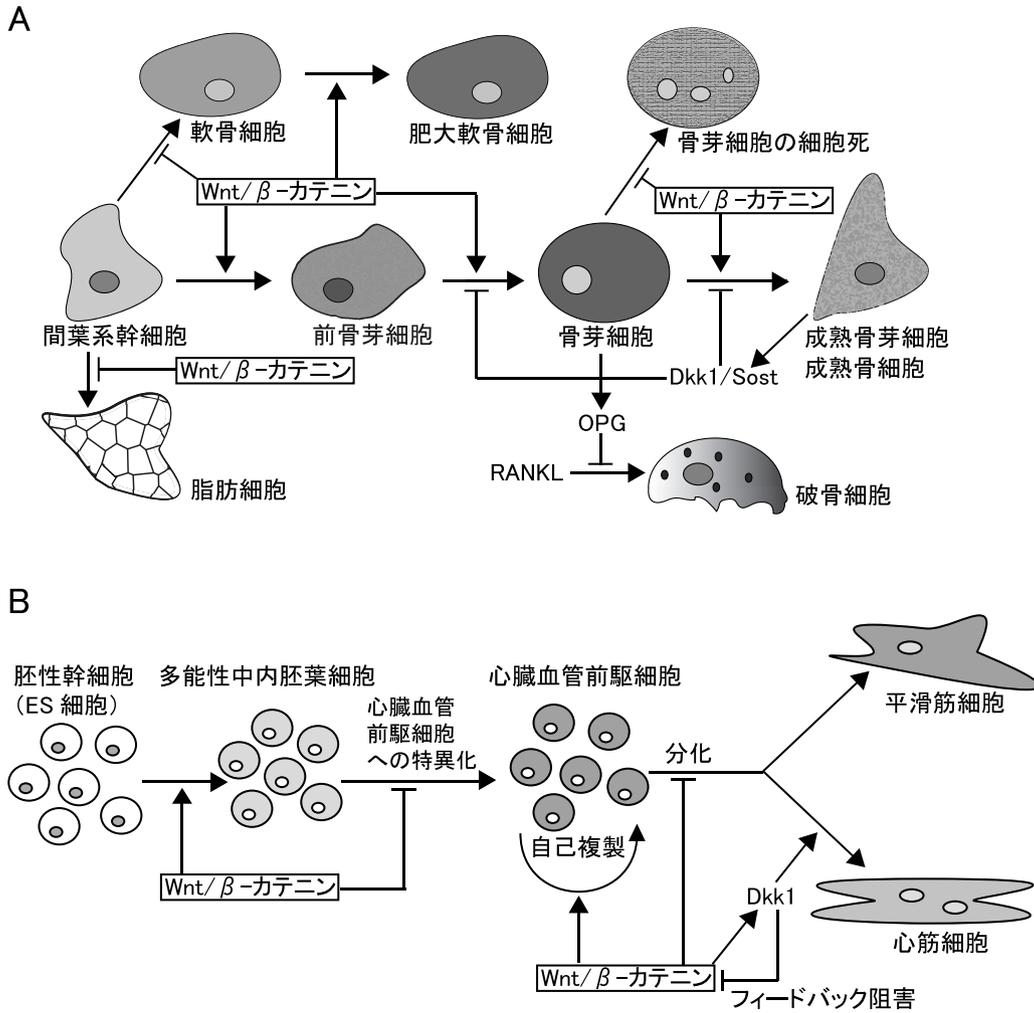


図3 Wntシグナル経路による細胞分化の制御
 (A) 骨細胞の分化 β-カテニン経路は間葉系幹細胞からの軟骨細胞と脂肪細胞への分化を抑制するが、骨芽細胞と骨細胞への分化を促進する。分化した骨細胞は Dkk1 やスクレロスチン等の Wnt シグナル経路の抑制因子を分泌して、骨芽細胞の分化と機能を抑制する。また、骨芽細胞からは RANKL のデコイ受容体であるオステオプロテグリンが産生され、破骨細胞の活性を阻害する結果、骨形成を促進する。 Dkk1, Dickkopf1; Sost, Sclerostin; OPG, osteoprotegerin; RANKL, receptor activator of NF-κB ligand.
 (B) 心筋細胞の分化 β-カテニン経路の活性化はマウス胚性幹細胞 (ES 細胞) から多能性中内胚葉を誘導するが、心臓血管前駆細胞への分化は抑制する。その後、心臓血管前駆細胞の自己複製を促進すると共に、心筋や平滑筋への分化を抑制する。

ると、自己分泌的または傍分泌的に滑膜細胞表面の Fz5 に作用して炎症性サイトカインや RANKL, MMP が産生されることが示唆される。これら一連の Wnt シグナルの活性化が、関節における白血球の浸潤と活性化並びに関節軟骨の破壊に関与すると考えられる。

IV. Wnt シグナルと心疾患

心臓発生において、β-カテニン経路は時期と部位特異的に調節されることが重要である⁷³⁾(図 3B)。例えば、β-カテニン経路の活性化はマウス胚性幹細胞 (ES 細胞) から心筋前駆細胞を誘導する⁷³⁾。また、Wnt3a は ES 細胞から

多能性中内胚葉細胞を誘導でき、本中内胚葉細胞は血管内皮細胞、心筋細胞、平滑筋細胞へ分化することができる⁷⁴⁾。さらに、Wnt3a は ES 細胞から心筋細胞への分化の過程で、前期においてはそれを促進し、後期においては抑制する⁷⁵⁾。一方、Wnt11 は β-カテニン非依存性経路の活性化 (JNK の活性化) を介して心筋分化を促進することが報告されている⁷⁶⁾。

病的な心筋肥大は高血圧や弁膜疾患、心筋梗塞等により発症し、その状態が維持されると、心筋のリモデリングが起こり、非代償期に至る⁷⁷⁾。ラット心筋肥大において Fz2 が過剰発現しており、左心室の容量と Fz2 の発現量に正の相

関があり、*Dkk3* の発現量には負の相関がある⁷⁸⁾。*Dvl1* ノックアウトマウスでは、大動脈狭窄による肥大反応が減弱し、このマウスでは β -カテニンが減少している⁷⁷⁾。さらに、肥大心筋では β -カテニンが増加し、 β -カテニンの過剰発現により、心筋細胞の肥大増殖が誘導され⁷⁹⁾、 β -カテニン欠損ヘテロ接合マウスにおいて、大動脈狭窄による心筋肥大が減少する⁸⁰⁾。したがって、実験モデル動物では β -カテニン経路の活性化が心筋肥大を促進する可能性がある。

心筋梗塞は冠動脈閉塞の結果、心筋虚血となり心筋が壊死した病態で、炎症反応と肉芽組織の形成が継続して起こり、梗塞層には筋線維芽細胞が豊富になる。この梗塞後の心筋リモデリングと Wnt シグナルが関係することが示唆されている。心筋梗塞後、筋線維芽細胞において Fz2 と Wnt10b は増加し、Wnt7b は減少する⁸¹⁾。また、心筋梗塞後の血管新生期の内皮細胞に、*Dvl1* が発現しその後 β -カテニンは細胞質に蓄積する⁸²⁾。さらに、sFRP1 を心筋で過剰発現するトランスジェニックマウスにおいて心筋梗塞を作成すると、野生型に比べて梗塞巣の領域が減少し、心機能が改善される。またこのトランスジェニックマウスでは、梗塞部位における膠原線維の集積が増加し、心筋梗塞後心破裂 (infarct rupture) の割合が野生型マウスに比べて減少する⁸³⁾。これらの結果は、Wnt シグナル経路の抑制が梗塞部位の治癒に重要であることを示唆している。しかし、*Dvl1* ノックアウトマウスでは、心筋梗塞後心破裂の発症する率が野生型に比して高いことも報告されており⁸⁴⁾、Wnt シグナル経路の抑制が梗塞部位の治癒を促進するか否かについては議論の余地がある。さらに、冠動脈疾患、高血圧、高脂血症、糖尿病、骨粗鬆症を若年期に発症する家系の患者では、LRP6 の EGF 様領域の一アミノ酸変異が認められ、この変異をもつ LRP6 変異体による Wnt シグナル活性化は野生型 LRP6 に比べて低下していたことから、 β -カテニン経路の抑制がこれらの疾患の発症に関与している可能性が示唆されている⁸⁵⁾。

V. Wnt シグナルと糖尿病

糖尿病は現在世界の成人人口の約 5~6% が抱えており、耐糖能の低下に伴い発症する。Wnt10b を過剰発現しているマウスでは、糖尿病状態になったとしても、インスリン感受性が増し耐糖能が改善する⁸⁶⁾。また、Wnt1 は高血糖状態において細胞保護的に作用して、この Wnt1 の産生はエリスロポエチンにより制御される⁸⁷⁾。さらに、Wnt3a または β -カテニンの発現が膵 β 細胞の増殖を促進する⁸⁸⁾。これらの結果から、Wnt シグナル (主として β -カテニン経路) の活性化は糖尿病状態を改善する可能性がある。

2 型糖尿病において、発症と強い相関のある染色体上の領域が同定され、それが、*TCF7L2* 遺伝子 (*TCF4* 遺伝子) であることが明らかにされた⁸⁹⁾。現在 *TCF7L2* の一

塩基遺伝子多型が 2 型糖尿病の発症に関与することが世界的規模のコホート研究で確認されている。これらは非翻訳領域に存在するので、膵島における *TCF7L2* 遺伝子の発現に影響すると考えられる。事実、発症リスクの高い一塩基遺伝子多型を有する 2 型糖尿病患者の膵島における *TCF7L2* mRNA の発現レベルは非糖尿病検体より高い⁹⁰⁾。このような症例では、*TCF7L2* mRNA の発現レベルが高くなるほど、グルカゴン依存性のインスリンの分泌が低下する。その分子機構として、Tcf4 を介する β -カテニン経路の活性化が glucagon-like peptide 1 (GLP1) の発現を誘導して、GLP1 が膵 β 細胞からのインスリン分泌を抑制する可能性が挙げられる⁹¹⁾。

また、*Wnt5b* 遺伝子に 2 型糖尿病と関連する一塩基遺伝子多型が認められる⁹²⁾。*Wnt5b* を培養細胞に発現させると脂肪分化が誘導され、*PPARG* (peroxisome proliferators-activated receptor γ) や *APM1* (adiponectin) 等の 2 型糖尿病発症への寄与が考えられている遺伝子が誘導される。*Wnt5b* は *Wnt5a* とアミノ酸レベルで約 80% の相同性があるが、その機能が同一か否かは不明である。*Wnt5a* は CaMK を介してヒストンメチルトランスフェラーゼを活性化し、その結果、PPAR γ の転写活性を抑制し、間葉系幹細胞から脂肪細胞への分化を阻害することが示されている⁹³⁾。このように、*Wnt5a* と *Wnt5b* の脂肪分化に対する作用は異なるかもしれないが、その異常が β -カテニン非依存性経路に影響し、2 型糖尿病発症に関与する可能性がある。

VI. Wnt シグナルと血管形成

血管形成は全ての臓器の形成に必須であると共に、組織の修復や腫瘍形成にも関与している。ノックアウトマウスの解析から、Wnt シグナル経路は胎児の血管形成に必須である⁹⁴⁾。例えば、Wnt2 は胎盤の、Wnt4 は精巣の、Fz5 は卵黄嚢の血管形成に関与する。一方、成体での血管内皮細胞の細胞質や核には β -カテニンの蓄積は認められないが、脳腫瘍や心筋梗塞等の病態に関連した血管新生において β -カテニンの安定化が認められる⁹⁵⁾。さらに、 β -カテニン経路の標的遺伝子として、血管内皮細胞増殖因子が同定され、Wnt シグナルが血管新生にも関与する可能性が示唆されている⁹⁶⁾。

常染色体優性遺伝の家族性滲出性硝子体網膜症 (FEVR) は、眼底所見が未熟児網膜症に類似し、網膜血管の走行異常が特徴であり、わが国では若年者の網膜はく離の原因の一つとされている。FEVR の多くの症例で、Fz4 と LRP5 の機能喪失型変異が見出されている^{97,98)}。Fz はオリゴマーを形成するが、変異 Fz4 の一つは野生型 Fz4 と結合すると、小胞体で貯留される結果、細胞膜表面に Fz4 が発現しない。この変異により、Wnt シグナルが抑制され、FEVR

が発症すると考えられている⁹⁹⁾。前述したように、網膜血管形成不全を伴う OPG に LRP5 機能喪失型変異が見出されているので、 β -カテニン経路の活性化が血管形成に重要な役割を果たすと考えられる。さらに、FEVR を解析する過程で、Fz4 の新規リガンドとして Norrin が見出され、Norrin 遺伝子の変異も FEVR と同様の症状を示すことが明らかになった¹⁰⁰⁾。

VII. Wnt シグナルと腎疾患

常染色体優性遺伝性多発性嚢胞腎 (autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD) は両側性の腎嚢胞に加えて、肝や膵等の他の臓器の嚢胞と血管異常に特徴づけられ、PKD 遺伝子の変異に伴う PKD の発現の増減が発症に関与している。 β -カテニン経路の標的遺伝子として、PKD が同定されたことから、Wnt シグナルが多発性嚢胞腎症に関与する可能性が示唆されている¹⁰¹⁾。マウス多発性嚢胞腎において Wnt4 の発現が亢進しており、また β -カテニンを過剰発現したマウスは多発性嚢胞腎となる。ノックアウトマウスの解析から、Wnt4 と Wnt11 が腎発生に重要であり、特に Wnt4 は間葉-上皮変換を誘導し、腎尿細管形成に必須である¹⁰²⁾。ラット急性腎不全モデルにおいては、虚血後数時間以内に尿細管に Wnt の発現が認められ、尿細管修復に関与すると考えられている¹⁰³⁾。

VIII. Wnt シグナルと創薬

上述したように、Wnt シグナル経路を構成する分子 (主として β -カテニン経路) の異常により引き起こされると考えられるヒト疾患が見出されている。Wnt シグナル経路の活性化状態を正常な状態に戻すことが治療の選択の一つとなるため、この効果を見込んで Wnt シグナル分子を標的とした薬剤を、特にがんに対して使用することへの期待が集まっている¹⁷⁾。

1. 非ステロイド性抗炎症剤 (NSAID)

アスピリンやインドメサシン等は従来から消炎、鎮痛、解熱剤として広く使用されてきた。大規模な疫学調査により、NSAID の常用者において発がんの頻度と悪性度が減少することが報告された¹⁰⁴⁾。多くの NSAID が有するシクロオキシゲナーゼ (COX) の阻害活性ががん細胞増殖抑制の主作用と考えられるが、この効果が特に FAP 患者のポリープ増殖抑制に顕著であったことから、その作用点として Wnt シグナル経路も考慮されるようになった。プロスタグランジンやサイクリック AMP 依存性リン酸化酵素を介して β -カテニンが安定化されることが明らかになり^{105,106)}、COX により β -カテニン経路が活性化されると考えられる。事実、NSAID (COX 阻害剤; sulindac sulphide) で 6 ヶ月治療した FAP 患者のポリープの核内 β -カテニン

量が減少することが示されている¹⁰⁷⁾。しかし、COX 阻害活性を有さない NSAID もがん細胞において Wnt シグナル経路を標的とするとも報告されており、新たな作用機構の存在が示唆されている。

2. 抗体療法

APC, β -カテニン, Axin に変異の認められないがんにおいても、しばしば β -カテニン経路が活性化されている。これらのがんでは、Wnt や Fz, Dvl の過剰発現や sFRP や Wnt inhibitory factor (WIF) 等の Wnt シグナル抑制因子のエピジェネティックな不活性化が認められる¹⁰⁸⁾。このようながんに対して、Wnt に対する抗体を用いる基礎研究が行われている。Wnt1 を過剰発現している頭頸部がんや非小細胞肺癌の細胞株は Wnt1 抗体により細胞増殖が抑制され、アポトーシスが誘導される^{109,110)}。また、Wnt2 抗体が非小細胞肺癌や悪性黒色腫のがん細胞のアポトーシスを誘導する。さらに、APC や β -カテニン, Axin に変異が存在する大腸がん細胞においても、Wnt1 抗体や sFRP により、がん細胞の β -カテニン経路の抑制やアポトーシスが生じる^{108,111)}。このように、Wnt 抗体や Wnt シグナル抑制因子が抗がん剤として有効に作用する可能性もあり、今後のマウスモデルを用いた *in vivo* 実験がさらに必要である。

3. 低分子化合物

ヒトがんにおいて、種々の分子の異常により β -カテニン経路が活性化されるが、最終的には核内で β -カテニン/Tcf 複合体が形成され、細胞増殖を促進する遺伝子が発現する。このような核内の転写活性調節複合体の阻害剤は、上流の分子異常の全てに有効であるために理想的な標的となる (表 1)。 β -カテニンと他の分子との結合部位の立体構造が明らかにされ、複合体特異的阻害剤の選択に有用な情報を提供している¹¹²⁾。しかし、 β -カテニンは E-カドヘリンや APC, Axin とともに結合し細胞接着にも関与しており、なおかつ、これらの分子との結合領域はかなり重複している¹¹³⁾。したがって、 β -カテニン/Tcf 複合体を選択的に阻害して、他の β -カテニン複合体に影響しない阻害剤を大規模なスクリーニングから見出す必要がある。このような条件を満たした天然化合物 (PKF115-584, PKF222-815, CGP 049090) が同定され、それらは構造上の類似性があり β -カテニン上の Tcf 結合部位の hot spot に結合する^{114,115)}。また、 β -カテニン/Tcf 複合体の結晶構造解析を基にした *in silico* スクリーニングにより、 β -カテニンと Tcf の結合を選択的に阻害する合成化合物 (PNU-74654) も見出されている¹¹⁵⁾。

β -カテニンは CBP や BCL9/pygopus 等のコアクチベーターとも結合し、Wnt 標的遺伝子の発現を促進する^{116,117)}。合成化合物である ICG-001 は CBP に結合することにより

表1 β -カテニン経路を抑制する低分子化合物

化合物名	由来	スクリーニング法	作用点
PKF115-584	天然化合物	ELISA を用いての β -カテニン/Tcf4 複合体形成抑制	β -カテニンと Tcf4 の結合阻害
PKF222-815	天然化合物	ELISA を用いての β -カテニン/Tcf4 複合体形成抑制	β -カテニンと Tcf4 の結合阻害
CGP049090	天然化合物	ELISA を用いての β -カテニン/Tcf4 複合体形成抑制	β -カテニンと Tcf4 の結合阻害
PNU-74654	合成化合物	構造情報解析	β -カテニンと Tcf4 の結合阻害
ICG-001	合成化合物	β -カテニン/Tcf4 複合体の転写活性化能の抑制	β -カテニンと CBP の結合阻害

β -カテニンと CBP との結合を阻害し、その結果 β -カテニン/Tcf 複合体による遺伝子発現を抑制する¹¹⁸⁾。しかも、*survivin* (抗アポトーシス遺伝子) 等の限定した遺伝子発現のみを抑制し、大腸がん細胞のヌードマウスでの増殖を抑制する¹¹⁸⁾。

IX. Wnt シグナルと幹細胞生物学

上述したように、Wnt シグナルは初期発生や臓器形成に重要な役割を果たすが、細胞レベルにおいて胚性幹細胞や組織特異的幹細胞の未分化能の維持と分化に関与することも明らかになっている。臓器再生は現代の医療にとって重要な位置づけにあり、発生や分化と共通の経過を辿ると考えられているが、その分子機構は未だ理解されていない。臓器再生を期待する再生医療の一つは、幹細胞や前駆細胞を *in vitro* で培養し、患者が必要とする特異的な細胞にまで分化させた後に移植を行う細胞治療である。骨髄移植は再生医療の一つとして白血病の治療に有効に行われているが、他の疾患に関する細胞治療は十分に確立していない。Wnt シグナル経路のみならず他のシグナル経路による幹細胞制御の理解が、再生治療への応用へ繋がると考えられる。

1. 胚性幹細胞 (ES 細胞)

Wnt シグナルが胚性幹細胞 (ES 細胞) の自己複製に関与する可能性が示唆されている。内胚葉、外胚葉、中胚葉の三つの胚葉に属する細胞に分化できる能力(分化多能性, pluripotency) を有しながら増殖を続けることが ES 細胞の自己複製の特徴である¹¹⁹⁾。ES 細胞をマウスの皮下に注射すると奇形腫ができる。この奇形腫は分化多能性を有した ES 細胞由来であり、外胚葉および中胚葉、内胚葉由来の種々のよく分化した組織から構成されている。しかし、APC 欠損マウスから作製した ES 細胞由来の奇形腫では、神経や骨、軟骨、毛髪を有した上皮への分化が抑制される¹²⁰⁾。また、*in vitro* で ES 細胞を leukemia inhibitory factor (LIF) 非存在下で培養すると 90% 以上が分化するが、APC 欠損マウスから作製した ES 細胞では分化の程度が抑制される。さらに、 β -カテニン自身の変異により β -カテニンが安定化するマウスの ES 細胞由来の奇形腫も、APC 欠損マウスの ES 細胞と同様に分化が抑制される。

ES 細胞では Tcf3 の発現レベルが高く、分化に伴い減少する¹²¹⁾。Nanog, Oct3/4, Sox2 は ES 細胞の自己複製に必須の転写因子であり、互いの発現を転写レベルで促進しながら、共通の標的遺伝子の発現を誘導する¹²²⁾。Tcf3 はこれらの転写因子の発現誘導を行うと共に、逆に、これらにより転写誘導もされる。さらに、Nanog, Oct3/4, Sox2 と共通の標的遺伝子のプロモーターに作用し、相乗的に ES 細胞の機能維持に必要な遺伝子発現を誘導する¹²³⁾。したがって、ES 細胞の自己複製の少なくとも一部に、 β -カテニン経路が関与すると考えられる。事実、GSK-3 の阻害薬 (BIO) や Wnt3a 存在下で培養した ES 細胞をマウスの皮下に注射すると、神経上皮や軟骨、毛髪を有する上皮を含む三胚葉からなる奇形腫が形成され、これは LIF や fibroblast growth factor (FGF) 存在下で培養した ES 細胞と同様であった¹²⁴⁾。

ヒトやマウスの体細胞に、Nanog, Oct3, Klf4, c-Myc の 4 種の転写因子を導入することにより、誘導多能性幹細胞 (iPS 細胞) が作製できるようになった¹²⁵⁾。c-Myc は β -カテニン/Tcf 複合体の標的遺伝子の一つであり、線維芽細胞に c-Myc を導入する代わりに Wnt3a を作用させると、iPS を作製できることが報告され、 β -カテニン経路がリプログラミングにも関与する可能性がある¹²⁶⁾。今後、支持細胞や血清を必要としない ES 細胞や iPS 細胞を樹立して、Wnt タンパク質を含めた成長因子や化合物による細胞の未分化維持と分化の制御を理解することが、将来の再生治療 (細胞治療) の確立に必須である。

2. 組織特異的幹細胞

骨髄や消化管上皮、皮膚、種々の腺組織、精巣上皮では細胞が増殖や分化、アポトーシスすることにより常に置き換わっている¹²⁷⁾。これらの組織では、niche と呼ばれる微細な環境において、少数の未分化な増殖細胞である組織特異的幹細胞が自己複製すると共に、より分化能、増殖能の高い細胞を産生し、それらの細胞がさらに分化を繰り返すことで組織を構築する。組織特異的幹細胞の自己複製にも Wnt シグナルが関与する可能性が示唆されている。

(1) 造血幹細胞

Tcf と Lef は元来リンパ球で見出された転写因子である

が、現在は β -カテニン経路の重要な構成分子である。Wnt3aを作用させたり、 β -カテニンを発現させると造血幹細胞は未分化な状態を維持したまま増殖し、さらにマウスに移植すると、骨髓球とT細胞、B細胞に分化する^{128,129}。ホメオボックス遺伝子である転写因子のHoxB4を恒常的に発現させた骨髓細胞は正常の幹細胞に近い多分化能と増殖能を備えていることから、造血幹細胞の自己複製に重要であると考えられている¹³⁰。これに一致して、 β -カテニンを発現させた造血幹細胞ではHoxB4の発現が上昇している。また、骨髓nicheに存在する骨芽細胞にDkk1を発現させたマウスから調製した造血幹細胞をマウスに移植しても、正常な血球分化が認められない¹³¹。これらの結果は、 β -カテニン経路の活性化が造血幹細胞の未分化能を維持したまま増殖することに関与することを示唆している。しかし、 β -カテニンを造血幹細胞特異的にノックアウトしたマウスにおいて血球分化に異常が無いことも報告されている^{132,133}。これらの結果の矛盾は、培養造血幹細胞とマウス個体を用いた実験の差異によるものかもしれない。 β -カテニン経路がnicheの細胞と協調しながら造血幹細胞の機能の制御に関与するか否かは今後明らかにされなければならない。

(2) 腸管上皮幹細胞

小腸上皮は分化細胞が存在する絨毛と増殖細胞の存在する陰窩に分けられる。マウスの陰窩の基底部にはパネート細胞が存在し、その周囲に腸管上皮幹細胞が存在するとされている¹²⁷。Tcf4ノックアウトマウスでは陰窩基底部に存在する幹細胞が消失して、この腸管上皮幹細胞は β -カテニン経路の活性化により未分化能を維持している¹³⁴。 β -カテニン/Tcf複合体の標的遺伝子であるLgr5(Gタンパク質共役型7回膜貫通受容体)が腸管上皮幹細胞のマーカーと考えられている¹³⁵。幹細胞から増殖した前駆細胞は小腸腔に向かって移動しながら、杯細胞や腸内分泌細胞、吸収細胞へと分化する。腸管上皮細胞において、Tcf4の標的遺伝子としてEphB2/3受容体が同定され、そのリガンドであるephrinBは β -カテニン経路の活性化によりその発現が抑制される¹³⁶。絨毛部の細胞ではephrinBの発現が、陰窩部の細胞ではEphB2/3受容体の発現が優勢であり、EphB2/3受容体ノックアウトマウスでは、陰窩での細胞の分化および移動の方向性に異常が認められる。したがって、腸管上皮発生においては β -カテニン経路がephrinBとEphB2受容体の発現を介して細胞の移動と分化、増殖を制御していると考えられる。

おわりに

本稿ではWntシグナルの異常と疾患との関連について、その解析の現状を述べた。がんや骨疾患の一部を除き、

Wntシグナルの異常が病態にどのように関わっているかは判然としない。特に、一塩基遺伝子多型で発見されたWntシグナル構成分子の遺伝子異常による細胞応答への影響を分子レベルで明らかにしていかなければならない。同時にその遺伝子異常が個体レベルでも表現型に影響を及ぼすかを確認することも重要である。そのためには、疾患ゲノム解析と分子細胞生物学的解析、モデル動物解析が情報を共有しながら研究を進める必要がある。しかし、次世代シーケンサーの登場により数時間で100億塩基の解読が可能になり、個人全ゲノム情報が低価格で入手できる日が現実のものとなる近い将来において、最も表現型の解析が進んでいる生物はヒトかもしれない。その意味において、ゲノム情報と(ヒト疾患)表現型情報を結びつけるシステムとしてWntシグナル経路を含む全シグナル経路を捉える視点が必須である。

本稿では触れなかったが、ヒトにおいて19種類存在するWntが“いつ”、“どこで”発現して“どの”細胞内シグナル経路を活性化するかについては、その理解はきわめて不十分である。この全貌を明らかにすることが生物そのものの理解に重要であり、この努力を続けることが疾患の病態の解明と創薬研究に大きく貢献すると考えられる。また、十分な成果が得られているとは言い難いが、種々の天然あるいは合成化合物から β -カテニン/Tcf複合体形成阻害剤が見出され、そのがん治療への応用が進められている。また、Wntに対する抗体療法も魅力的な戦略である。幹細胞の自己複製と分化の制御は21世紀の生命科学の大きな柱となる研究領域である。この分野にWntシグナルがどのように関わるかも興味深い。

ショウジョウバエの遺伝学的解析に始まったWnt研究は35年の時を経て、Wntシグナルは動物の発生に必須であり、ヒト疾患にも多大な影響を与えるシステムであると理解されるに至った。今後10年、20年の間のWnt研究領域における新たな知見の蓄積が、これまでとは異なる生命観を構築することを期待している。

謝辞

本稿の執筆にあたり、協力をいただきました広島大学大学院医歯薬学総合研究科分子細胞情報学教室の皆様へ感謝します。

文 献

- 1) Logan, C.Y. & Nusse, R. (2004) *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.*, 20, 781-810.
- 2) Kikuchi, A., Yamamoto, H., & Kishida, S. (2007) *Cell. Signal.*, 19, 659-671.
- 3) Veeman, M.T., Axelrod, J.D., & Moon, R.T. (2003) *Dev. Cell*, 5, 367-377.

- 4) Kikuchi, A. & Yamamoto, H. (2008) *Cancer Sci.*, **99**, 202–208.
- 5) Kishida, S., Yamamoto, H., & Kikuchi, A. (2004) *Mol. Cell Biol.*, **24**, 4487–4501.
- 6) Mikels, A.J. & Nusse, R. (2006) *PLoS Biol.*, **4**, 570–582.
- 7) He, X., Semenov, M., Tamai, K., & Zeng, X. (2004) *Development*, **131**, 1663–1677.
- 8) Wang, H.Y., Liu, T., & Malbon, C.C. (2006) *Cell. Signal.*, **18**, 934–941.
- 9) Green, J.L., Kuntz, S.G., & Sternberg, P.W. (2008) *Trends Cell Biol.*, **18**, 536–544.
- 10) Yamamoto, S., Nishimura, O., Misaki, K., Nishita, M., Minami, Y., Yonemura, S., Tarui, H., & Sasaki, H. (2008) *Dev. Cell*, **15**, 23–36.
- 11) Kikuchi, A., Yamamoto, H., & Sato, A. (2009) *Trends Cell Biol.*, **19**, 119–129.
- 12) van Amerongen, R., Mikels, A., & Nusse, R. (2008) *Sci. Signal*, **1**, re9.
- 13) Yamamoto, H., Komekado, H., & Kikuchi, A. (2006) *Dev. Cell*, **11**, 213–223.
- 14) Yamamoto, H., Sakane, H., Yamamoto, H., Michiue, T., & Kikuchi, A. (2008) *Dev. Cell*, **15**, 37–48.
- 15) Moon, R.T., Kohn, A.D., De Ferrari, G.V., & Kaykas, A. (2004) *Nat. Rev. Genet.*, **5**, 691–701.
- 16) Maiese, K., Li, F., Chong, Z.Z., & Shang, Y.C. (2008) *Pharmacol. Ther.*, **118**, 58–81.
- 17) Barker, N. & Clevers, H. (2006) *Nat. Rev. Drug Discov.*, **5**, 997–1014.
- 18) Ikeda, S., Kishida, S., Yamamoto, H., Murai, H., Koyama, S., & Kikuchi, A. (1998) *EMBO J.*, **17**, 1371–1384.
- 19) Kitagawa, M., Hatakeyama, S., Shirane, M., Matsumoto, M., Ishida, N., Hattori, K., Nakamichi, I., Kikuchi, A., Nakayama, K.-I., & Nakayama, K. (1999) *EMBO J.*, **18**, 2401–2410.
- 20) Liu, C., Li, Y., Semenov, M., Han, C., Baeg, G.-H., Tan, Y., Zhang, Z., Lin, X., & He, X. (2002) *Cell*, **108**, 837–847.
- 21) Nusse, R. & Varmus, H.E. (1982) *Cell*, **31**, 99–109.
- 22) Polakis, P. (2000) *Genes Dev.*, **14**, 1837–1851.
- 23) Su, Y., Fu, C., Ishikawa, S., Stella, A., Kojima, M., Shitoh, K., Schreiber, E.M., Day, B.W., & Liu, B. (2008) *Mol. Cell*, **32**, 652–661.
- 24) Kishida, S., Yamamoto, H., Ikeda, S., Kishida, M., Sakamoto, I., Koyama, S., & Kikuchi, A. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 10823–10826.
- 25) Hinoi, T., Yamamoto, H., Kishida, M., Takada, S., Kishida, S., & Kikuchi, A. (2000) *J. Biol. Chem.*, **275**, 34399–34406.
- 26) Yamamoto, H., Kishida, S., Uochi, T., Ikeda, S., Koyama, S., Asashima, M., & Kikuchi, A. (1998) *Mol. Cell Biol.*, **18**, 2867–2875.
- 27) Satoh, S., Daigo, Y., Furukawa, Y., Kato, T., Miwa, N., Nishiwaki, T., Kawasoe, T., Ishiguro, H., Fujita, M., Tokino, T., Sasaki, Y., Imaoka, S., Murata, M., Shimano, T., Yamaoka, Y., & Nakamura, Y. (2000) *Nat. Genet.*, **24**, 245–250.
- 28) Liu, W., Dong, X., Mai, M., Seelan, R.S., Taniguchi, K., Krishnadath, K.K., Halling, K.C., Cunningham, J.M., Qian, C., Christensen, E., Roche, P.C., Smith, D.I., & Thibodeau, S.N. (2000) *Nat. Genet.*, **26**, 146–147.
- 29) Kremenevskaja, N., von Wasielewski, R., Rao, A.S., Schofl, C., Andersson, T., & Brabant, G. (2005) *Oncogene*, **24**, 2144–2154.
- 30) Dejmek, J., Dejmek, A., Safholm, A., Sjolander, A., & Andersson, T. (2005) *Cancer Res.*, **65**, 9142–9146.
- 31) Liang, H., Chen, Q., Coles, A.H., Anderson, S.J., Pihan, G., Bradley, A., Gerstein, R., Jurecic, R., & Jones, S.N. (2003) *Cancer Cell*, **4**, 349–360.
- 32) Weeraratna, A.T., Jiang, Y., Hostetter, G., Rosenblatt, K., Duray, P., Bittner, M., & Trent, J.M. (2002) *Cancer Cell*, **1**, 279–288.
- 33) Huang, C.L., Liu, D., Nakano, J., Ishikawa, S., Kontani, K., Yokomise, H., & Ueno, M. (2005) *J. Clin. Oncol.*, **23**, 8765–8773.
- 34) Kurayoshi, M., Oue, N., Yamamoto, H., Kishida, M., Inoue, A., Asahara, T., Yasui, W., & Kikuchi, A. (2006) *Cancer Res.*, **66**, 10439–10448.
- 35) Yamamoto, H., Kitadai, Y., Yamamoto, H., Oue, N., Odan, H., Yasui, W., & Kikuchi, A. (2009) *Gastroenterology*, **137**, 242–252.
- 36) Miyazaki, K. (2006) *Cancer Sci.*, **97**, 91–98.
- 37) Wilson, S.W. & Houart, C. (2004) *Dev. Cell*, **6**, 167–181.
- 38) Ciani, L. & Salinas, P.C. (2005) *Nat. Rev. Neurosci.*, **6**, 351–362.
- 39) Lijam, N., Paylor, R., McDonald, M.P., Crawley, J.N., Deng, C.X., Herrup, K., Stevens, K.E., Maccaferri, G., McBain, C.J., Sussman, D.J., & Wynshaw-Boris, A. (1997) *Cell*, **90**, 895–905.
- 40) Rapoport, J.L., Addington, A.M., Frangou, S., & Psych, M.R. (2005) *Mol. Psychiatry*, **10**, 434–449.
- 41) Miyaoka, T., Seno, H., & Ishino, H. (1999) *Schizophr. Res.*, **38**, 1–6.
- 42) Ftouh, S., Akbar, M.T., Hirsch, S.R., & de Bellerocche, J.S. (2005) *J. Neurochem.*, **94**, 520–530.
- 43) Katsu, T., Ujike, H., Nakano, T., Tanaka, Y., Nomura, A., Nakata, K., Takaki, M., Sakai, A., Uchida, N., Imamura, T., & Kuroda, S. (2003) *Neurosci. Lett.*, **353**, 53–56.
- 44) Scassellati, C., Bonvicini, C., Perez, J., Bocchio-Chiavetto, L., Tura, G.B., Rossi, G., Racagni, G., & Gennarelli, M. (2004) *Neuropsychobiology*, **50**, 16–20.
- 45) Kozlovsky, N., Belmaker, R.H., & Agam, G. (2000) *Am. J. Psychiatry*, **157**, 831–833.
- 46) Kozlovsky, N., Belmaker, R.H., & Agam, G. (2002) *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **12**, 13–25.
- 47) Bailer, U., Leisch, F., Meszaros, K., Lenzinger, E., Willinger, U., Strobl, R., Heiden, A., Gebhardt, C., Doge, E., Fuchs, K., Sieghart, W., Kasper, S., Hornik, K., & Aschauer, H.N. (2002) *Biol. Psychiatry*, **52**, 40–52.
- 48) Benedetti, F., Serretti, A., Pontiggia, A., Bernasconi, A., Lorenzi, C., Colombo, C., & Smeraldi, E. (2005) *Neurosci. Lett.*, **376**, 51–55.
- 49) Svenningsson, P., Tzavara, E.T., Carruthers, R., Rachleff, I., Wattler, S., Nehls, M., McKinzie, D.L., Fienberg, A.A., Nomikos, G.G., & Greengard, P. (2003) *Science*, **302**, 1412–1415.
- 50) Hardy, J. & Selkoe, D.J. (2002) *Science*, **297**, 353–356.
- 51) Doble, B.W. & Woodgett, J.R. (2003) *J. Cell Sci.*, **116**, 1175–1186.
- 52) Soriano, S., Kang, D.E., Fu, M., Pestell, R., Chevallier, N., Zheng, H., & Koo, E.H. (2001) *J. Cell Biol.*, **152**, 785–794.
- 53) Kang, D.E., Soriano, S., Xia, X., Eberhart, C.G., De Strooper, B., Zheng, H., & Koo, E.H. (2002) *Cell*, **110**, 751–762.
- 54) Teo, J.L., Ma, H., Nguyen, C., Lam, C., & Kahn, M. (2005) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 12171–12176.
- 55) Zhang, Z., Hartmann, H., Do, V.M., Abramowski, D., Sturchler-Pierrat, C., Staufenbiel, M., Sommer, B., van de Wetering, M., Clevers, H., Saftig, P., De Strooper, B., He, X., & Yankner, B.A. (1998) *Nature*, **395**, 698–702.

- 56) De Ferrari, G.V., Chacon, M.A., Barria, M.I., Garrido, J.L., Godoy, J.A., Olivares, G., Reyes, A.E., Alvarez, A., Bronfman, M., & Inestrosa, N.C. (2003) *Mol. Psychiatry*, **8**, 195-208.
- 57) Alvarez, A.R., Godoy, J.A., Mullendorff, K., Olivares, G.H., Bronfman, M., & Inestrosa, N.C. (2004) *Exp. Cell Res.*, **297**, 186-196.
- 58) Mudher, A., Chapman, S., Richardson, J., Asuni, A., Gibb, G., Pollard, C., Killick, R., Iqbal, T., Raymond, L., Vardell, I., Sheppard, P., Makoff, A., Gower, E., Soden, P.E., Lewis, P., Murphy, M., Golde, T.E., Rupniak, H.T., Anderton, B.H., & Lovestone, S. (2001) *J. Neurosci.*, **21**, 4987-4995.
- 59) Corder, E.H., Saunders, A.M., Strittmatter, W.J., Schmechel, D.E., Gaskell, P.C., Small, G.W., Roses, A.D., Haines, J.L., & Pericak-Vance, M.A. (1993) *Science*, **261**, 921-923.
- 60) Kang, D.E., Pietrzik, C.U., Baum, L., Chevallier, N., Merriam, D.E., Kounnas, M.Z., Wagner, S.L., Troncoso, J.C., Kawas, C.H., Katzman, R., & Koo, E.H. (2000) *J. Clin. Invest.*, **106**, 1159-1166.
- 61) Magoori, K., Kang, M.J., Ito, M.R., Kakuuchi, H., Ioka, R.X., Kamataki, A., Kim, D.H., Asaba, H., Iwasaki, S., Takei, Y.A., Sasaki, M., Usui, S., Okazaki, M., Takahashi, S., Ono, M., Nose, M., Sakai, J., Fujino, T., & Yamamoto, T.T. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 11331-11336.
- 62) De Ferrari, G.V., Papassotiropoulos, A., Biechele, T., Wavrant De-Vrieze, F., Avila, M.E., Major, M.B., Myers, A., Saez, K., Henriquez, J.P., Zhao, A., Wollmer, M.A., Nitsch, R.M., Hock, C., Morris, C.M., Hardy, J., & Moon, R.T. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 9434-9439.
- 63) Panakova, D., Sprong, H., Marois, E., Thiele, C., & Eaton, S. (2005) *Nature*, **435**, 58-65.
- 64) Harada, S. & Rodan, G.A. (2003) *Nature*, **423**, 349-355.
- 65) Boyden, L.M., Mao, J., Belsky, J., Mitzner, L., Farhi, A., Mitnick, M.A., Wu, D., Insogna, K., & Lifton, R.P. (2002) *N. Engl. J. Med.*, **346**, 1513-1521.
- 66) Zhang, Y., Wang, Y., Li, X., Zhang, J., Mao, J., Li, Z., Zheng, J., Li, L., Harris, S., & Wu, D. (2004) *Mol. Cell Biol.*, **24**, 4677-4684.
- 67) Bodine, P.V., Zhao, W., Kharode, Y.P., Bex, F.J., Lambert, A.J., Goad, M.B., Gaur, T., Stein, G.S., Lian, J.B., & Komm, B.S. (2004) *Mol. Endocrinol.*, **18**, 1222-1237.
- 68) Gong, Y., Slee, R.B., Fukui, N., Rawadi, G., Roman-Roman, S., Reginato, A.M., Wang, H., Cundy, T., Glorieux, F.H., Lev, D., Zacharin, M., Oexle, K., Marcelino, J., Suwairi, W., Heeger, S., Sabatakos, G., Apte, S., Adkins, W.N., Allgrove, J., Arslan-Kirchner, M., Batch, J.A., Beighton, P., Black, G.C., Boles, R.G., Boon, L.M., Borrone, C., Brunner, H.G., Carle, G.F., Dallapiccola, B., De Paepe, A., Floege, B., Halfhide, M.L., Hall, B., Hennekam, R.C., Hirose, T., Jans, A., Juppner, H., Kim, C.A., Keppeler-Noreuil, K., Kohlschuetter, A., LaCombe, D., Lambert, M., Lemyre, E., Letteboer, T., Peltonen, L., Ramesar, R.S., Romanengo, M., Somer, H., Steichen-Gersdorf, E., Steinmann, B., Sullivan, B., Superti-Furga, A., Swoboda, W., van den Boogaard, M.J., Van Hul, W., Vikkula, M., Votruba, M., Zabel, B., Garcia, T., Baron, R., Olsen, B.R., & Warman, M.L. (2001) *Cell*, **107**, 513-523.
- 69) Loughlin, J., Dowling, B., Chapman, K., Marcelline, L., Mustafa, Z., Southam, L., Ferreira, A., Ciesielski, C., Carson, D.A., & Corr, M. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 9757-9762.
- 70) Sen, M., Lauterbach, K., El-Gabalawy, H., Firestein, G.S., Corr, M., & Carson, D.A. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 2791-2796.
- 71) Sen, M., Reifert, J., Lauterbach, K., Wolf, V., Rubin, J.S., Corr, M., & Carson, D.A. (2002) *Arthritis Rheum.*, **46**, 2867-2877.
- 72) Tzahor, E. (2007) *Dev. Cell*, **13**, 10-13.
- 73) Kwon, C., Arnold, J., Hsiao, E.C., Taketo, M.M., Conklin, B.R., & Srivastava, D. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 10894-10899.
- 74) Bakre, M.M., Hoi, A., Mong, J.C., Koh, Y.Y., Wong, K.Y., & Stanton, L.W. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 31703-31712.
- 75) Naito, A.T., Shiojima, I., Akazawa, H., Hidaka, K., Morisaki, T., Kikuchi, A., & Komuro, I. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 19812-19817.
- 76) Pandur, P., Lasche, M., Eisenberg, L.M., & Kuhl, M. (2002) *Nature*, **418**, 636-641.
- 77) van de Schans, V.A., Smits, J.F., & Blankesteyn, W.M. (2008) *Eur. J. Pharmacol.*, **585**, 338-345.
- 78) Cerutti, C., Kurdi, M., Bricca, G., Hodroj, W., Paultre, C., Randon, J., & Gustin, M.P. (2006) *Physiol. Genomics*, **27**, 295-308.
- 79) Haq, S., Michael, A., Andreucci, M., Bhattacharya, K., Dotto, P., Walters, B., Woodgett, J., Kilter, H., & Force, T. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 4610-4615.
- 80) Qu, J., Zhou, J., Yi, X.P., Dong, B., Zheng, H., Miller, L.M., Wang, X., Schneider, M.D., & Li, F. (2007) *J. Mol. Cell Cardiol.*, **43**, 319-326.
- 81) Blankesteyn, W.M., Essers-Janssen, Y.P., Verluyten, M.J., Daemen, M.J., & Smits, J.F. (1997) *Nat. Med.*, **3**, 541-544.
- 82) Blankesteyn, W.M., van Gijn, M.E., Essers-Janssen, Y.P., Daemen, M.J., & Smits, J.F. (2000) *Am. J. Pathol.*, **157**, 877-883.
- 83) Barandon, L., Couffinal, T., Ezan, J., Dufourcq, P., Costet, P., Alzieu, P., Leroux, L., Moreau, C., Dare, D., & Duplaa, C. (2003) *Circulation*, **108**, 2282-2289.
- 84) van Gijn, M.E., Daemen, M.J., Smits, J.F., & Blankesteyn, W.M. (2002) *Cardiovasc. Res.*, **55**, 16-24.
- 85) Mani, A., Radhakrishnan, J., Wang, H., Mani, M.A., Nelson-Williams, C., Carew, K.S., Mane, S., Najmabadi, H., Wu, D., & Lifton, R.P. (2007) *Science*, **315**, 1278-1282.
- 86) Wright, W.S., Longo, K.A., Dolinsky, V.W., Gerin, I., Kang, S., Bennett, C.N., Chiang, S.H., Prestwich, T.C., Gress, C., Burant, C.F., Susulic, V.S., & MacDougald, O.A. (2007) *Diabetes*, **56**, 295-303.
- 87) Chong, Z.Z., Shang, Y.C., & Maiese, K. (2007) *Curr. Neurovasc. Res.*, **4**, 194-204.
- 88) Rulifson, I.C., Karnik, S.K., Heiser, P.W., ten Berge, D., Chen, H., Gu, X., Taketo, M.M., Nusse, R., Hebrok, M., & Kim, S.K. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 6247-6252.
- 89) O'Rahilly, S. & Wareham, N.J. (2006) *N. Engl. J. Med.*, **355**, 306-308.
- 90) Lyssenko, V., Lupi, R., Marchetti, P., Del Guerra, S., Orholm-Melander, M., Almgren, P., Sjogren, M., Ling, C., Eriksson, K.F., Lethagen, A.L., Mancarella, R., Berglund, G., Tuomi, T., Nilsson, P., Del Prato, S., & Groop, L. (2007) *J. Clin. Invest.*, **117**, 2155-2163.
- 91) Yi, F., Brubaker, P.L., & Jin, T. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 1457-1464.
- 92) Kanazawa, A., Tsukada, S., Sekine, A., Tsunoda, T., Takahashi, A., Kashiwagi, A., Tanaka, Y., Babazono, T., Matsuda, M., Kaku, K., Iwamoto, Y., Kawamori, R., Kikkawa, R.,

- Nakamura, Y., & Maeda, S. (2004) *Am. J. Hum. Genet.*, **75**, 832-843.
- 93) Takada, I., Mihara, M., Suzawa, M., Ohtake, F., Kobayashi, S., Igarashi, M., Youn, M.Y., Takeyama, K., Nakamura, T., Mezaki, Y., Takezawa, S., Yogiashi, Y., Kitagawa, H., Yamada, G., Takada, S., Minami, Y., Shibuya, H., Matsumoto, K., & Kato, S. (2007) *Nat. Cell Biol.*, **9**, 1273-1285.
- 94) Masckauchan, T.N. & Kitajewski, J. (2006) *Physiology (Bethesda)*, **21**, 181-188.
- 95) Blankesteijn, W.M., van Gijn, M.E., Essers-Janssen, Y.P., Daemen, M.J., & Smits, J.F. (2000) *Am. J. Pathol.*, **157**, 877-883.
- 96) Easwaran, V., Lee, S.H., Inge, L., Guo, L., Goldbeck, C., Garrett, E., Wiesmann, M., Garcia, P.D., Fuller, J.H., Chan, V., Randazzo, F., Gundel, R., Warren, R.S., Escobedo, J., Aukerman, S.L., Taylor, R.N., & Fantl, W.J. (2003) *Cancer Res.*, **63**, 3145-3153.
- 97) Robitaille, J., MacDonald, M.L., Kaykas, A., Sheldahl, L.C., Zeisler, J., Dube, M.P., Zhang, L.H., Singaraja, R.R., Guernsey, D.L., Zheng, B., Siebert, L.F., Hoskin-Mott, A., Trese, M.T., Pimstone, S.N., Shastry, B.S., Moon, R.T., Hayden, M.R., Goldberg, Y.P., & Samuels, M.E. (2002) *Nat. Genet.*, **32**, 326-330.
- 98) Kondo, H., Hayashi, H., Oshima, K., Tahira, T., & Hayashi, K. (2003) *Br. J. Ophthalmol.*, **87**, 1291-1295.
- 99) Kaykas, A., Yang-Snyder, J., Heroux, M., Shah, K.V., Bouvier, M., & Moon, R.T. (2004) *Nat. Cell Biol.*, **6**, 52-58.
- 100) Xu, Q., Wang, Y., Dabdoub, A., Smallwood, P.M., Williams, J., Woods, C., Kelley, M.W., Jiang, L., Tasman, W., Zhang, K., & Nathans, J. (2004) *Cell*, **116**, 883-895.
- 101) Rodova, M., Islam, M.R., Maser, R.L., & Calvet, J.P. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 29577-29583.
- 102) Perantoni, A.O. (2003) *Semin. Cell Dev. Biol.*, **14**, 201-208.
- 103) Terada, Y., Tanaka, H., Okado, T., Shimamura, H., Inoshita, S., Kuwahara, M., & Sasaki, S. (2003) *J. Am. Soc. Nephrol.*, **14**, 1223-1233.
- 104) Giovannucci, E., Rimm, E.B., Stampfer, M.J., Colditz, G.A., Ascherio, A., & Willett, W.C. (1994) *Ann. Intern. Med.*, **121**, 241-246.
- 105) Castellone, M.D., Teramoto, H., Williams, B.O., Druce, K.M., & Gutkind, J.S. (2005) *Science*, **310**, 1504-1510.
- 106) Hino, S., Tanji, C., Nakayama, K.-I., & Kikuchi, A. (2005) *Mol. Cell Biol.*, **25**, 9063-9072.
- 107) Boon, E.M., Keller, J.J., Wormhoudt, T.A., Giardiello, F.M., Offerhaus, G.J., van der Neut, R., & Pals, S.T. (2004) *Br. J. Cancer*, **90**, 224-229.
- 108) Suzuki, H., Watkins, D.N., Jair, K.W., Schuebel, K.E., Markowitz, S.D., Dong Chen, W., Pretlow, T.P., Yang, B., Akiyama, Y., Van Engeland, M., Toyota, M., Tokino, T., Hinoda, Y., Imai, K., Herman, J.G., & Baylin, S.B. (2004) *Nat. Genet.*, **36**, 417-422.
- 109) Rhee, C.S., Sen, M., Lu, D., Wu, C., Leoni, L., Rubin, J., Corr, M., & Carson, D.A. (2002) *Oncogene*, **21**, 6598-6605.
- 110) He, B., You, L., Uematsu, K., Xu, Z., Lee, A.Y., Matsangou, M., McCormick, F., & Jablons, D.M. (2004) *Neoplasia*, **6**, 7-14.
- 111) He, B., Reguart, N., You, L., Mazieres, J., Xu, Z., Lee, A.Y., Mikami, I., McCormick, F., & Jablons, D.M. (2005) *Oncogene*, **24**, 3054-3058.
- 112) Graham, T.A., Weaver, C., Mao, F., Kimelman, D., & Xu, W. (2000) *Cell*, **103**, 885-896.
- 113) von Kries, J.P., Winbeck, G., Asbrand, C., Schwarz-Romond, T., Sochnikova, N., Dell'Oro, A., Behrens, J., & Birchmeier, W. (2000) *Nat. Struct. Biol.*, **7**, 800-807.
- 114) Lepourcelet, M., Chen, Y.N., France, D.S., Wang, H., Crews, P., Petersen, F., Bruseo, C., Wood, A.W., & Shivdasani, R.A. (2004) *Cancer Cell*, **5**, 91-102.
- 115) Trosset, J.Y., Dalvit, C., Knapp, S., Fasolini, M., Veronesi, M., Mantegani, S., Gianellini, L.M., Catana, C., Sundstrom, M., Stouten, P.F., & Moll, J.K. (2006) *Proteins*, **64**, 60-67.
- 116) Hecht, A., Vlemminckx, K., Stemmler, M.P., van Roy, F., & Kemler, R. (2000) *EMBO J.*, **19**, 1839-1850.
- 117) Kramps, T., Peter, O., Brunner, E., Nellen, D., Froesch, B., Chatterjee, S., Murone, M., Zullig, S., & Basler, K. (2002) *Cell*, **109**, 47-60.
- 118) Emami, K.H., Nguyen, C., Ma, H., Kim, D.H., Jeong, K.W., Eguchi, M., Moon, R.T., Teo, J.L., Kim, H.Y., Moon, S.H., Ha, J.R., & Kahn, M. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 12682-12687.
- 119) Evans, M.J. & Kaufman, M.H. (1981) *Nature*, **292**, 154-156.
- 120) Kielman, M.F., Rindapaa, M., Gaspar, C., van Poppel, N., Breukel, C., van Leeuwen, S., Taketo, M.M., Roberts, S., Smits, R., & Fodde, R. (2002) *Nat. Genet.*, **32**, 594-605.
- 121) Pereira, L., Yi, F., & Merrill, B.J. (2006) *Mol. Cell Biol.*, **26**, 7479-7491.
- 122) Boyer, L.A., Lee, T.I., Cole, M.F., Johnstone, S.E., Levine, S.S., Zucker, J.P., Guenther, M.G., Kumar, R.M., Murray, H.L., Jenner, R.G., Gifford, D.K., Melton, D.A., Jaenisch, R., & Young, R.A. (2005) *Cell*, **122**, 947-956.
- 123) Cole, M.F., Johnstone, S.E., Newman, J.J., Kagey, M.H., & Young, R.A. (2008) *Genes Dev.*, **22**, 746-755.
- 124) Sato, N., Meijer, L., Skaltsounis, L., Greengard, P., & Brivanlou, A.H. (2004) *Nat. Med.*, **10**, 55-63.
- 125) Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., & Yamanaka, S. (2007) *Cell*, **131**, 861-872.
- 126) Marson, A., Foreman, R., Chevalier, B., Bilodeau, S., Kahn, M., Young, R.A., & Jaenisch, R. (2008) *Cell Stem Cell*, **3**, 132-135.
- 127) Potten, C.S. & Loeffler, M. (1990) *Development*, **110**, 1001-1020.
- 128) Willert, K., Brown, J.D., Danenberg, E., Duncan, A.W., Weissman, I.L., Reya, T., Yates, J.R.I., & Nusse, R. (2003) *Nature*, **423**, 448-452.
- 129) Reya, T., Duncan, A.W., Ailles, L., Domen, J., Scherer, D.C., Willert, K., Hintz, L., Nusse, R., & Weissman, I.L. (2003) *Nature*, **423**, 409-414.
- 130) Antonchuk, J., Sauvageau, G., & Humphries, R.K. (2002) *Cell*, **109**, 39-45.
- 131) Fleming, H.E., Janzen, V., Lo Celso, C., Guo, J., Leahy, K.M., Kronenberg, H.M., & Scadden, D.T. (2008) *Cell Stem Cell*, **2**, 274-283.
- 132) Jeannot, G., Scheller, M., Scarpellino, L., Duboux, S., Gardiol, N., Back, J., Kuttler, F., Malanchi, I., Birchmeier, W., Leutz, A., Huelsken, J., & Held, W. (2008) *Blood*, **111**, 142-149.
- 133) Koch, U., Wilson, A., Cobas, M., Kemler, R., Macdonald, H.R., & Radtke, F. (2008) *Blood*, **111**, 160-164.
- 134) He, X.C., Zhang, J., Tong, W.G., Tawfik, O., Ross, J., Scoville, D.H., Tian, Q., Zeng, X., He, X., Wiedemann, L.M., Mishina, Y., & Li, L. (2004) *Nat. Genet.*, **36**, 1117-1121.
- 135) Barker, N., van Es, J.H., Kuipers, J., Kujala, P., van den Born, M., Cozijnsen, M., Haegebarth, A., Korving, J., Begthel, H., Peters, P.J., & Clevers, H. (2007) *Nature*, **449**, 1003-1007.
- 136) Battle, E., Henderson, J.T., Begthel, H., van den Born, M.M., Sancho, E., Huls, G., Meeldijk, J., Robertson, J., van de Wetering, M., Pawson, T., & Clevers, H. (2002) *Cell*, **111**, 251-263.