

## 論文審査の結果の要旨

論文提出者氏名： 檀 一平太

Ste20 group kinase は近年見いだされた、ヒトでは 28 種類からなる比較的大きな分子グループである。Ste20 group kinase は構造的に、PAK (p21-activated kinase) family 及び GCK (germinal center kinase) family という 2 つのファミリーに分けられる。PAK family は C 末端に kinase domain を有し、GCK family は N 末端に kinase domain を持つ。これらの kinase は主に MAP kinase シグナル伝達経路の上流活性化因子として、形態形成、アポトーシス、細胞骨格の制御等、様々な生命現象に重要な働きを持つと考えられている。本研究は、この比較的機能の分かっていない Ste20 group kinase について、ゲノムベースでの系統的分類を試み、未クローン化分子の探索、機能解析をおこない、統合的理解を得たという点で注目される。論文の内容は以下のようにまとめられる。

1990 年代半ば、Ste20 group kinase の最初の分子として、Ste20p が見いだされた。遺伝的解析の結果、Ste20p は発芽酵母のフェロモン-接合反応において、MAP3K である Ste11p の直上流で働くことが明らかになった。また、Ste20p は、kinase domain の構造も MAP3K とよく似ていることから、「Ste20p は MAP4K である」という認識が生まれた。その後の研究進展により、Ste20p は実際に、Ste11p をリン酸化して活性化するので、MAP4K と言ってもよいということが分かった。一方、ほぼ同時期に、哺乳類にも Ste20p とよく似た構造を持つ kinase、PAK 及び GCK が見いだされた。これらは、Ste20 型 kinase domain を持ち、MAPK 経路の上流で働く kinase であることから、やはり MAP4K であるだろうという認識が生まれた。かくして、PAK および GCK は惰性的に MAP4K と呼ばれるようになった。しかし、PAK 及び GCK による MAP3K の活性化、特に直接リン酸化について、さしたる根拠はないので、論文にはあまり MAP4K という名称は出てきていない。ところが、HUGO (HUMAN Genome Organization) が MAP4K という名称を分子分類の名称として正式に採用してしまったため、不正確な名称が実験的根拠なしに定着する恐れが生じた。

一方、ここ 3 年の間に、新規 Ste20 group kinase が次々にクローン化され、巨大な kinase group を構成していることが明らかになった。これに伴い、分野は混乱し、専門家の誰一人として、分子グループの全貌を理解していないという状況が生じた。このような状況から、Ste20 group kinase における分子同士の関係を明らかにし、分野全体を整備し直す必要性が生じた。

新規 Ste20 group kinase のクローン化が進む中、論文提出者もマウス脳神経系の生後発達に関与する分子として、MINK をクローン化した。この際、あまりにも分類が複雑であることを実感したため、ヒト、ショウジョウバエ、線虫ゲノムを網羅的に調査し、分子の類縁関係を整理し直した。この結果を元に、Ste20 group kinase の主要な研究者と共に、電子メール会議を開催した。この結果、「kinase domain の構造に基づいた、緩やかな分類法が現時点では最も適切である」という結論が得られた。これに基づき、次のような分類を確立した。

1. ヒト、ショウジョウバエ、線虫ゲノムにコードされる Ste20 group は kinase domain の構造から、PAK family, GCK family の 2 つに分類される。

2. PAK family は C 末端、GCK family は N 末端に kinase domain を持つという構造的特徴を有する。
3. PAK family はさらに、2 つの subfamily (PAK-I, II)、GCK family は 8 つの subfamily (GCK-I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII) に細分される。
4. 各々のサブファミリーにはショウジョウバエ、線虫ゲノムで各 1 種類の kinase に代表され、ヒトゲノムではこれに対応する 2 ないし 4 種類のオーソログが存在する。この観察は、この分類法の妥当性を支持する。
5. 各サブファミリーの分子は、kinase domain 以外の部位でも比較的ホモロジーが高く、この観察は、この分類法の妥当性を支持する。
6. GCK-VIII については、ホモロジーが比較的低いため、今後の研究展開に応じて、TAO family という名称も考慮する。

全ゲノムベース解析の途中、Ste20 group kinase における新規遺伝子も 5 種類発見した。そのうち、3 種類については、他グループに席を譲った。これらの分子については、最初にクローニングを行なった MINK と共に、以下のようにクローン化、機能解析を行なった。

MINK はマウス大脳の生後発達に関与する遺伝子の検索過程において見いだされた新規キナーゼである。MINK は哺乳類 NIK/HGK, TNIK, NRK/NESK, ショウジョウバエ Misshapen, 線虫 MIG15 と共に GCK-IV subfamily を形成している。MINK は 1300aa からなる分子で、N 末端に kinase domain, C 末端に CNH (Citron homology domain) を持ち、その間に比較的保存性の低い IMR (intermediate region) を有する。IMR には SH3 domain 結合モチーフと coiled-coil 領域が存在する。MINK は脳に最も多く発現し、またその発現は、生後、発達段階依存的に上昇していた。MINK は JNK 経路を活性化することがわかった。

MASK は哺乳類 SOK1/YSK1, Mst3, ショウジョウバエ CG5169, 線虫 T19A5.2 と共に、GCK-III subfamily を形成している。このサブファミリーは他の GCK と異なり、いかなる MAPK 経路も活性化しないという特徴を持ち、機能的な解析はほとんど進んでいない。MASK は kinase 活性を有するが、MAPK 経路は活性化しない。MASK の C 末端領域には coiled-coil 領域が存在し、この C 末端領域において、多量体化を起こしていることが分かった。さらに、MASK は大量発現によって、培養細胞系でアポトーシスを引き起こすことを見いだした。

PAK5 は哺乳類 PAK4, 6, ハエ MBT, 線虫 CePAK と共に、PAK-II subfamily を形成している。ショウジョウバエ MBT の欠損は脳の発達に重大な欠陥を起こすことが分かっている。PAK-II の間では、PAK4 は組織普遍的、PAK6 は生殖系で特異的に発現するのに対し、PAK5 は脳特異的に発現していた。したがって、これらの分子間で機能分担が行われている可能性が高い。PAK5 は C 末端の CRIB motif において、Rho family GTPase の Cdc42 と GTP 依存的に結合する。しかし、類縁の PAK-I subfamily 分子とは異なり、その活性調節には Cdc42 の結合は関与していない。PAK5 は JNK 経路を活性化する。

本研究によって、哺乳類 Ste20 group kinase の全構成分子のクローン化が完了した。論文提出者はこのうち 3 種類についてクローン化、機能解析を行っており、また、他のモデル生物での分子系統学的対応関係も明らかにした。この点で、論文提出者の貢献は極めて高いと考えられる。したがって、これらの内容について審査委員会で評価した結果、審査委員会全員一致して、論文提出者に博士（学術）の学位を授与するに相応しいものと認定する。