

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 飯田 雅人

本論文は、Polo-like kinase (Plk)の機能解析を中心として、Plkに作用する薬剤開発に関する研究を行ったものであり、5章からなる。

第1章では、Plk family について、及び Plk に作用する薬剤開発について概説している。概説した Plk family の中で G2/M 期における重要な細胞周期制御因子として知られている Plk1 についての知見を詳細に述べ、Plk1 とがんとの関連を示唆する知見から、Plk1 の抗がん剤ターゲットとしての可能性について論じている。また、従来の抗がん剤について述べ、既存の薬剤に対して新たに Plk1 阻害剤を開発することの意義について論じている。さらに、他の Plk の一つとして、Plk3 についての知見を述べ、本研究において Plk3 の機能解析をすることの重要性について論じている。

第2章では、Plk1 の阻害剤開発を目的とする実験系の構築を行っている。酵素阻害剤の研究開発の初期の段階において必要な、組み換え蛋白質の活性を阻害する阻害剤の評価系を構築し、構築した系が高い S/N 比を維持したスクリーニングに耐え得ることを示している。また、細胞内において標的酵素の活性を阻害する阻害剤の評価系を構築し、構築した系がメカニズムベースで阻害剤の細胞障害活性を評価できるものであることを示している。さらに、Plk1 の新規の基質として  $\beta$ -カテニンを見出し、 $\beta$ -カテニンが細胞内で Plk1 によってリン酸化されることを明らかにしている。この新たに得られた知見から Plk1 の  $\beta$ -カテニンのリン酸化を介したがんとの関連性について論じている。そして、キナーゼの細胞内基質の同定は、キナーゼ阻害剤の開発及び、キナーゼの機能解析において重要な課題であり、本研究の新たな同定方法は、前記課題について解決方法を提起するものであることを示している。

第3章では、標的酵素阻害剤は副作用の軽減からできる限り標的酵素選択的である必要があるため、他の Plk として Plk3 のスクリーニング系を構築し、構築した系が高い S/N 比を維持したスクリーニングに耐え得ることを示している。当該スクリーニング系を構築する過程で、Plk3 と Plk1 の基質認識性の違いについて明らかにし、Plk3 の細胞内機能は Plk1 の細胞内機能とは異なることを示している。また、Plk3 の基質認識性が他のキナーゼの基質認識性と類似することを明らかにし、Plk3 の基質同定方法において、新たな解決方法を提起している。さらに、Plk3 の新規の基質としてトポイソメラーゼ II $\alpha$ を見出し、トポイソメラーゼ II $\alpha$  が細胞内で Plk3 によってリン酸化されることを明らかにしている。この新たに得られた知見から Plk3 のトポイソメラーゼ II $\alpha$  のリン酸化を介したチェックポイントとの関連性及び未知であった Plk3 の細胞内機能について論じている。

第4章では、Plk3 の機能解析を目的として Plk3 の過剰発現による形態変化及び形態変化がもたらす細胞増殖の抑制についての解析を行っている。従来報告されていた Plk3 の過

剰発現によって誘導されるアポトーシスについて詳細に検討し、Plk3 がもたらす細胞死における新たなメカニズムについて明らかにし、シグナル伝達において Plk3 が属する経路について論じている。Plk3 の過剰発現により f-アクチンの脱重合が起きることが報告されている一方で、この現象は Ras の経路を活性化させることによっても起きることが知られているため、Plk3 と活性型 H-RasV12 との共発現を行い、Plk3 単独で過剰発現した場合に比べて浮遊する細胞の数が相乗的に増えることを見出した。さらに NIH3T3 細胞に H-RasV12 を導入し形質転換させた細胞株を作製し Plk3 の過剰発現を行ったところ、細胞増殖が顕著に抑制されることを見出し、Plk3 が Ras シグナル依存性がん細胞にもたらす形態変化を介した細胞増殖抑制能について議論している。

第 5 章では、研究の全体を総括し、今後の展望について述べている。本研究において Plk1 と Plk3 それぞれにおいて明らかにした基質から Plk1 と Plk3 それぞれの細胞内機能及びがんとの関わりについて議論している。さらに Plk1 と Plk3 の基質認識機構の違いについて明らかにし、Plk1 と Plk3 それぞれの細胞内機能の違いについて論じている。細胞内機能について明らかになっていない Plk3 においては、本研究において明らかにした知見から、Plk3 に作用する薬剤開発についての意義及び今後研究を進めていく上での問題点とその解決方法について議論している。

以上、本論文は、抗がん剤の標的分子として有用な Plk1 阻害剤を開発する上で鍵となる細胞内基質及び細胞内リン酸化検出系についての情報を与えたものであり、また機能が未知である Plk3 の基質認識機構、細胞内基質及び過剰発現についての解析により Plk3 の細胞内機能についての情報を与えたものである。さらに、これらの結果は、両分子を標的とした薬剤開発に有益な情報を与えるものであって、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって、審査委員一同は、本論文が博士（農学）の学位論文として価値あるものと認めた。