

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	NRKの分子進化と胎盤における機能の解明
Title(English)	Placental Mammals Acquired Functional Sequences in NRK for Regulating Cell Proliferation and Apoptosis in Placenta
著者(和文)	BENILestari
Author(English)	Beni Lestari
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12339号, 授与年月日:2023年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:加藤 明,岩崎 博史,田中 幹子,中戸川 仁,藤田 尚信
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12339号, Conferred date:2023/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

## 論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	Beni Lestari	
論文審査 審査員		氏名	職名	氏名	職名
	主査	加藤 明	准教授	藤田 尚信	准教授
	審査員	岩崎 博史	教授		
		田中 幹子	教授		
中戸川 仁		准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「Placental Mammals Acquired Functional Sequences in NRK for Regulating Cell Proliferation and Apoptosis in Placenta」と題し、有胎盤類の胎盤形成を制御する Nik-related kinase (NRK) について解析した論文であり、六章より構成されている。

第一章「General Introduction」では背景と目的を説明している。有胎盤類の胎盤は進化的に新しく、その獲得には胎盤形成を制御する多くの遺伝子の分子進化が関連している。マウスの胎盤は妊娠期間 (19.5 日間) のうち 12.5 日目には組織として成熟し、その後は重量がプラトーに達する。NRK は妊娠 12.5 日目以降に胎盤に発現して胎盤の過形成を防ぐ役割を果たし、分子機構としては AKT シグナルを抑制して細胞増殖を抑制する機能やアポトーシスを促進する機能をもつが、*Nrk* 遺伝子の分子進化や、NRK が胎盤過形成を防ぐ詳細な分子機構は依然として不明であると論じ、これらの課題を明らかにすることが本研究の目的であると述べている。

第二章「Materials and Methods」では、本研究で用いた材料や方法を説明している。

第三章「Evolutionary History of the *Nrk* Gene」では、*Nrk* 遺伝子の分子進化について解析している。まず、*Nrk* 遺伝子は脊椎動物に広く存在し、シンテニー解析から有胎盤類の祖先で近傍遺伝子が再編成されたことを示している。また組織発現解析から、有胎盤類の *Nrk* 遺伝子は胎盤に限定的に発現していることを示唆している。さらに、アミノ酸配列の系統解析から、有胎盤類の祖先で NRK に極めて速い分子進化がおこり、中央領域や C 末端の CNH ドメインを含む領域で多くのアミノ酸の挿入/置換が生じたことを見出している。他の解析結果とあわせ、*Nrk* 遺伝子のユニークな分子進化を示している。

第四章「The Anti-proliferative Effects of NRK」では、NRK が細胞増殖を抑制する分子機構について解析している。HEK293 細胞にマウス NRK (mNRK) を発現すると AKT シグナルは減少するが、NRK と同じ GCK IV ファミリーの他のメンバー (NIK、TNIK、MINK1) やニワトリ NRK (cNRK) の発現では減少しなかったことを示している。先行研究により、mNRK に結合するタンパク質としてカゼインキナーゼ-2 (CK2) が同定されていた。CK2 は、ホスファチジルイノシトール 3,4,5-三リン酸 (PIP<sub>3</sub>) 脱リン酸化酵素である PTEN をリン酸化して不活性化し、それによって PIP<sub>3</sub> 下流の AKT シグナルを増加させることが既に知られていた。本研究では、mNRK の分子中央に含まれるアミノ酸番号 565-868 の領域が CK2 に結合してこれを不活性化することを見出し、この領域を CK2-inhibitory region (CIR) と命名している。また、mNRK の CNH ドメインは細胞膜局在化能をもち、

mNRK による AKT シグナルの減少に必要であること、mNRK を発現した細胞では PTEN のリン酸化が減少し、*Nrk* ノックアウトマウスの胎盤では PTEN のリン酸化が増加したことを示している。一方、他の GCK IV ファミリーメンバーや cNRK は CIR 相同配列をもたず、CK2 結合能もなく、CNH ドメインは有するが細胞膜局在化能が欠如していることを見出している。他の結果とあわせ、mNRK は細胞膜に局在して CK2 を阻害し、CK2 依存的な PTEN のリン酸化を減少させることにより AKT シグナルを抑制するという分子機構を示している。

第五章「The Pro-apoptotic Effects of NRK」では、NRK がアポトーシスを促進する分子機構について解析している。先行研究により、アポトーシス誘導時に mNRK がカスパーゼによって切断され、その C 末端断片がアポトーシスを促進することが示されていた。本研究では、この断片に含まれる CNH ドメインが細胞死を促進する働きをもつことを見出している。また、CNH ドメイン内の細胞膜局在を担う部位として、有胎盤類の NRK にのみ保存されている塩基性アミノ酸クラスターを同定している。mNRK の CNH ドメインはホスファチジルセリンに結合することができ、塩基性アミノ酸クラスターはリン脂質結合能とアポトーシス促進作用の両方に必要であることを示し、さらに、CNH ドメインと相互作用するタンパク質のプロテオーム解析を行い、細胞膜に局在する細胞死制御因子をいくつか同定している。他の結果とあわせ、細胞死誘導時にできる NRK の C 末端断片は CNH ドメインを介して細胞膜に局在化しつづけ、何らかの細胞死制御因子と相互作用することにより細胞死を促進するという分子機構を示している。

第六章「General Discussion and Conclusion」では総合討論を行なっている。有胎盤類の進化初期に *Nrk* 遺伝子は急速に分子進化し、胎盤の発達を制御するという新たな機能をもつようになったこと、また特に、CIR とリン脂質結合性 CNH ドメインという 2 つの機能配列を獲得したことで、NRK は AKT シグナルを阻害し、アポトーシスを促進できるようになったことを論じている。胎盤で特異的に発現する遺伝子は多いが、遺伝子の co-option (転用) が明確に示された例は *Nrk* 遺伝子が初めてであることを論じ、この NRK の新機能によって妊娠後期の胎盤過形成が防がれ、母体の栄養分が胎仔に優先的に分配されて胎仔が十分に成長できるようになっている可能性があるとして述べている。最後に、胎盤異常や妊娠合併症の診断・治療の分子標的として NRK やその下流経路を利用する可能性についても論じている。

以上を要するに、本論文は有胎盤類が胎盤形成を制御するために NRK に新たな機能配列を獲得したことを明らかにしたものであり、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。