

I. 普遍的・根源的な細胞極性制御装置、「aPKC/PARシステム」という概念の確立

上述したように、近年の「細胞極性」研究の大きな発展は、まず、「線虫受精卵の極性異常変異体」を解析した研究に端を発する。「前後軸に沿った極性化に障害を示し、そのために”非対称分裂”ができずに正常に発生が進まない」変異線虫胚がKemphues博士のグループらによって同定され、*par*変異体と命名された（細胞内物質の非対称な分配、*partition*に障害を示すということから）。1990年代前半にはこうした変異を引き起こす遺伝子には、*par-1*から*par-6*までの6種類があることが報告される。そして1995年に、そのうちの*par-1*、および*par-3*の二種の遺伝子がクローニングされ、そのコードする新規タンパク質、PAR-1、PAR-3が同定された^{6),7)}。興味深いことに、PAR-1とPAR-3は極性化した受精卵において、それら自身が、後極側、前極側に各々排他的に局在することも示された。ただ、この段階ではこうした結果は線虫という”虫”の話にすぎず、*par*遺伝子産物群がこれほど生命にとって根源的な役割をしているなどとは誰も予想していなかった。しかし、これらのPARタンパク質が、線虫胚とは見かけ上全く異なる上皮細胞の極性形成にも不可欠な働きをしていることを示す論文がその2、3年後に立て続けに発表されたことによって局面が大きく変わった。そうした仕事の一つは、ショウジョウバエの初期胚を使って、上皮細胞の細胞間接着構造と極性形成機構について遺伝学的な研究を進めていたグループの手によるものであった⁸⁾。そこでは、それまでショウジョウバエで同定されていた上皮細胞極性化に必須な遺伝子、*bazooka*のコードするタンパク質がPAR-3のホモログ分子であることが報告された。また、ここでは、ショウジョウバエ胚発生において表皮細胞から葉裂して生まれる神経幹細胞が示す非対称分裂にもこのBazookaが必須であることも示された（図1B）。一方、細胞極性研究の局面を変えた二つ目の論文は、光栄なことに私の所属する研究室の大学院生、現在、発生・再生科学総合研究センターに所属する泉博士の手によるものであった⁹⁾。この論文を契機に、私たちの研究室はそれまで全く関連のなかった、細胞極性の研究の分野に深く関与するようになる。それまで、私たちの研究室では、セリン/スレオニン・タンパク質リン酸化酵素であるプロテインキナーゼC (PKC)の生理的機能の解明に努力していた。そして、泉博士はこのPKCの中でも最も変り種であったaPKC (atypical PKC: 因みに、この分子種の存在を始めて報告したのは、当研究室の助手の秋本博士である)の機能を探るためにその結合タン

パク質を検索し、そのひとつとして哺乳動物のPAR-3を同定したのであった。彼は、この結合が線虫のaPKCとPAR-3においても確認できることを示すとともに、哺乳動物においては、PAR-3がaPKCとともに上皮細胞の細胞接着装置の最もアピカル側に位置するタイトジャンクション（TJ:密着結合）に局在することを明らかとした（図1B右下）。この研究は、先のショウジョウバエにおける研究とともに、線虫受精卵とはまったく見かけ上異なる上皮細胞の極性形成に同じタンパク質（PAR-3）が働いていることを示唆する結果であり、かつ、その機能が進化的に離れた多細胞動物において広く保存されていることを示した結果であった。この結果は、さらにもう一つの論文、すなわち、「哺乳動物のPAR-1ホモログが上皮細胞においてバソラテラル領域に局在し、上皮極性形成に必須な役割をしている」という論文が報告されるに至って多くの研究者の確信するところとなった¹⁰⁾。すなわち、線虫受精卵と上皮細胞にいずれにおいても、PAR-1とPAR-3がそれぞれの極性軸に沿って非対称に相互排他的に局在することがわかったのである（図1B, C）。

重要なことには、この泉論文は、それまで線虫におけるスクリーニングでは同定されていなかった分子、aPKCがPARタンパク質群とともに極性形成に必須な働きをしている可能性をはじめて示した。この点は、その後、NEC研究所の線虫研究者、田伏博士との共同研究という形で、泉博士の第二報として上記論文とほぼ同時に報告された¹¹⁾。すなわち、その当時、次第に使われだされていた「RNA干渉法」（後述参照）を用いて線虫受精卵のaPKCをノックダウンすると、PAR-3、およびPAR-6に見られるものと同様の極性異常が引き起こされることが示されたのである。ここに至って、「細胞極性現象に広く普遍的に働く、進化的に保存された分子群、aPKC/PARシステム」という概念の原型が初めて誕生した。私自身はこの時点ではまだこの関連の研究には関与していなかったの。しかし、泉博士が見せてくれた蛍光染色の（PAR-3が上皮細胞のTJに局在することを示す）像を見て、この研究のその後の展開の可能性に心が震えたのを昨日のことのように思い出す。そして、私たちの研究室がその重心の一つをこの細胞極性研究に移すこととしたのと同時に、私もこの研究に参加することとなり、上皮細胞極性形成におけるaPKC/PARシステムの研究のさらなる発展に力を尽くすこととなった。

II. aPKCは接着構造形成を制御することを通じて、哺乳上皮細胞の極性形成に働いている

私がまず行った研究は、哺乳動物上皮細胞の極性形成においても、aPKCの機能、特にそのキナーゼ活性が必須であることを示すことであった¹²⁾。このことには、哺乳動物上皮細胞の細胞生物学的研究において非常に有名なイヌ腎尿細管由来の培養細胞、MDCK細胞にaPKCの優性抑制変異体（aPKC優性抑制変異体）を導入する（細胞内で内在性のaPKCの活性を抑制する）という方法によって成功した（図2）。ポイントは、アデノウイルスベクターを用いて非常に効率よく変異体を導入したということと、もう一つ、aPKC優性抑制変異体導入後、上皮細胞をいったん脱極性化し、aPKC活性を抑制した状況で再度極性化させるという実験条件を採用したことであった（培地中のカルシウムを除去することでE-cadherinを介した細胞間の接着を壊し、MDCK細胞の脱極性化を実験的に誘導することができる）。実際、完全に極性化したところにaPKC優性抑制変異体を発現させても全く上皮極性が乱れることはなかった（図2 A -CS）。これらの結果は、aPKCのキナーゼ活性が基本的には上皮極性の維持にではなく、その形成の過程に働いていることを示すものであった。因みに現在では、RNAi法を利用したaPKCのノックダウンによっても同様の結果が確認されている。

MDCKを用いた上皮細胞極性の研究の歴史は古く、その中で、上皮細胞の極性と上皮細胞特有の細胞間接着構造の形成、特にTJの形成は切っても切れない関係にあることがすでに指摘されていた³⁾。すでに述べたように、上皮細胞は、二つの相対する膜領域、アピカル膜領域とバソラテラル膜領域に極性化しており、膜タンパク質や脂質を非対称に局在させることによって重要な生理機能を発揮している。これは、細胞内の小胞輸送系が膜タンパク質を選別的に輸送する（小胞輸送系が極性化している）ことによって可能になっているが、同時に、細胞間にTJが存在し、両膜ドメイン間での膜構成成分の混合が妨げられていることも不可欠である。図2 Aに見られるように、aPKC優性抑制変異体を導入した細胞では、このTJが形成される過程が阻害され、その結果、図2 Bに見られるように膜ドメインの非対称な形成が阻害された。これは、aPKCやPAR-3が最終的に局在する構造であるTJを形成すること自身にaPKCの活性が必要であることを意味している。上皮細胞間接着構造の発達過程では、まずE-cadherinを介した点状の細胞間接着(dot-like AJ)が形成され、その後、この未成熟な接着構造に将来の接着構造の構成成分のほとんどが集合すると報告されている。そして然る後に、この未成熟な接着構造がアピカル側のTJ、および、それより少しベ-サル側で細胞全周を取り囲むベルト様の接着結合(belt-like AJ)に分離するのである。これに対応して私は、続く論文で、「aPKCキナーゼ活性は初期の点状の接着構造の形成には必要なく、その後、この未成熟な接着構造がTJ,

belt-like AJに分化、発達する過程に必須であること」を明らかとした¹³⁾。残念ながら、aPKCがいかなるメカニズムでこの接着構造の形成過程を制御しているのか、その詳細な分子メカニズムについては、いまだ不明な点が多い。現在も大学院生とともに、この問題に取り組んでいるところである（その中では、belt-like AJと表裏一帯で発達するactin cortical bundleの発達をaPKCが制御している可能性が浮上している）。いずれにせよ、こうした一連の研究を通じて、上皮細胞のグローバルな極性の形成が、まず接着構造の非対称な発達を通じた膜裏打ち構造の非対称化を第一段階とするという仮説が浮かび上がってきた。これは、普遍的な極性形成機構が存在するという観点で線虫初期胚の極性化と上皮細胞極性化の共通点を考察することによって初めて明示的に提唱できた仮説である。これは、後述するような現在私が進めている仕事においてさらに発展させられている。

線虫において必須な役割をすることが泉博士らによって示されたaPKCが、やはり他の生物、他の極性現象においても普遍的に機能していることは、まずショウジョウバエ初期胚の上皮、および神経幹細胞で示された¹⁴⁾。さらに、細胞の方向性を持った運動や、神経細胞の軸策決定という極性化現象においてもaPKCが必須であることもその後、次々と報告された^{15), 16)}。こうして現在、aPKCは細胞極性制御因子としての不動の位置を固めるに至っている。

Ⅲ. aPKC/PAR-3/PAR-6複合体の働き

では、aPKCはいかにしてTJに局在するのであろうか？ aPKCが結合するPAR-3は多くの膜タンパク質の細胞質ドメインに結合することで知られるPDZドメインというモチーフを3つも有していることから、aPKCがPAR-3を介してTJ系の膜タンパク質に結合していることが当初から予想されていた。そして実際、TJ系の膜タンパク質である、Occludin, Claudinはともに細胞質ドメインにPDZ結合コンセンサス配列を有し、さらにはZO-1タンパク質などのPDZタンパク質と結合していることが当時すでに示されていた（PDZの”Z”はZO-1の頭文字に由来する）。しかし、PAR-3のPDZドメインがOccludin, Claudinに結合するという結果はこの当時我々が検討した限りでは得られなかった。いよいよ残るTJ系膜タンパク質はJAM (junctional adhesion molecule) だと思っていた時期に、私はKeystoneシンポジウムにでかけ、その朝食の席で、偶然、JAMの研究を精力的に進めているEbnet博士と同席した。そして彼との議論の中で、このJAMとPAR-3の結合の可能性について話していたのであるが、なんと学会から戻ってくると、

彼からメールが来ていて、「実は我々はJAMがPAR-3に結合することを見つけている。共同研究しよう」という提起がなされたのである。それから、頻繁な国際電話を交わしつつ研究を二人三脚で進め、最終的に、結合のデータに加え、「TJ膜タンパク質の中では最も早くリクルートされるこのJAMが、aPKC/PAR-3複合体の初期の接着部位へのリクルートに働いている」という可能性を示唆する結果を付け加えて論文として発表することに成功した¹⁷⁾。因みに、同様の結果は、今は亡き、月田承一郎京都大学教授（当時）のグループによってもほぼ同時に発見され、彼らとの激しい競争の末にともに発表に漕ぎつけたという思い出話もある（そもそも、上皮細胞の接着構造の研究には全く素人であった我々は、月田先生のグループには大変なお世話になっていた。この場を借りて月田先生のご冥福を改めて心からお祈りしたい）。

一方、線虫における解析においては、aPKC、PAR-3に加えて、PAR-6という分子も前極側に局在しながら、aPKC、PAR-3と同様の機能を果たしていることが示唆されていた。そこで、当時大学院生だった山中博士（現、理研脳科学総合研究センター）は、他のグループとの激しい競争の中でこのPAR-6の哺乳動物ホモログのクローニングを進め、重要ないくつかの成果を生み出した。まず彼は、PAR-6はaPKC、PAR-3と三者複合体を形成しながら、やはり哺乳動物上皮細胞においてTJに局在することを示した（aPKCとともに、PAR-6はアピカル膜領域にも分布する）¹²⁾。さらに、彼は、PAR-6が低分子量Gタンパク質の一種である、Rac1やCdc42の活性化型と結合し、そのことを通じて、aPKCのキナーゼ活性を上昇させることも試験管内の実験で示した¹⁸⁾。こうした結果は、E-cadherinを介した初期の細胞間接着がRac1やCdc42の活性化を引き起こすという他の研究室の結果とよく一致するものであった。そしてこの E-cadherin→ Rac1/Cdc42→ PAR-6→aPKCという経路が、初期細胞間接着からaPKCの活性化につながるシグナル経路として現在広く認識されている。このaPKC活性化因子として働くPAR-6はあたかもサブユニットのようにaPKCと常に挙動をともしにする。これに対し、PAR-3とaPKC/PAR-6複合体との結合は実はダイナミックであり、極性化した細胞ではPAR-3とaPKC/PAR-6が必ずしも局在を完全に一致しないことが今日では明らかとなっている。種々の結果から、PAR-3はaPKC/PAR-6複合体を膜構造にリクルートする初期の段階で働き、その後次第にaPKC/PAR-6がPAR-3から解離し、他の構造に移っていく可能性が指摘されている。実際、我々は、aPKCがPAR-3との結合部位をリン酸化し、そのことによってaPKCとPAR-3との結合が弱まることを報告している¹⁹⁾。紙面の関係で詳述は避けるが、山中博士らは最近、やはり進化的に保存された極性制御因子である、Lglというタンパク質が、aPKC/PAR-6との結合

をPAR-3と競合することも明らかにした²⁰⁾。このことを通じて、LglはaPKC/PAR-6/PAR-3複合体の形成を負に制御し、こうした活性のバランスによって上皮細胞の極性が微妙に制御されていることが明らかとなってきた(図3B)(Yamanaka et al. in press)。そして細胞外基質の中で上皮細胞が嚢胞(シスト)構造を形成する過程においては、このLglによるaPKC/PAR-6/PAR-6の活性抑制が必須であることが示された。この結果は、組織形成の過程が進むためには上皮極性のダイナミックな制御が不可欠であることを意味するものとして興味深い。

IV. aPKC/PAR6/PAR-3複合体の下流で働く、PAR-1の機能解析

先に示したように、aPKC/PARシステムは、aPKCと6つのPARタンパク質により構成されている。そして前述したように、PAR-1は、aPKC/PAR-6/PAR-3複合体とは対極の後極側(線虫受精卵)、あるいはバソラテラル側(上皮細胞)に局在する(図1)。このPAR-1はaPKCと同様、セリン/スレオニンキナーゼであり、線虫の遺伝学的研究からはaPKC/PAR-6/PAR-3複合体の下流で働くことが示唆されていた。私は、aPKCの研究を続ける一報で、この数年間、このPAR-1の哺乳動物上皮細胞における機能に注目して研究を展開している²¹⁾。

研究の発端は、全く対極的に局在するはずのaPKCとPAR-1が結合するという泉博士やその後の大学院生の出していた結果であった。その後、PAR-1はaPKCをリン酸化しないが、その逆に、aPKCがPAR-1の膜結合部位近傍のThr595をリン酸化することが大学院生の平田ら(本年度、博士号取得)によって明らかにされた。このThr595をAlaに変異させ、aPKCによるリン酸化を受けないようにしたPAR-1変異体(T595A)は、可溶性を失い、膜分画のみに検出されるようになった。一方、オカダ酸によって脱リン酸化酵素(PP2A)を阻害し、MDCK細胞内でPAR-1 Thr595のリン酸化を亢進させると、PAR-1がバソラテラル膜から遊離することが確認された。したがって、aPKCによるPAR-1のリン酸化はPAR-1の膜への局在をネガティブに制御していることが示唆された。ここで重要なのは、PAR-1はどこでaPKCによってリン酸化を受けるのかという点である。両者が相互排他的に局在することを考慮すると、このリン酸化が起こるのはaPKCとPAR-1の局在が隣接するTJ近傍であると考えられる(図4)。とすると、PAR-1はTJに近傍においてaPKCによってリン酸化され、膜から遊離することによってそれ以上アピカル側の膜領域に侵入できないのではないかという可能性が浮かび上がった。この可能性は、aPKCによるリン酸化を受けないPAR-1(T595A)変異体が、野生型と異なり、TJへ

のアピカル膜領域への侵入を示すことによって強く示唆された（図4）。残念ながら、「対極的な局在を示す極性タンパク質が、相互に互いの局在を負に制御し合い、そのことによってこれらのタンパク質の非対称な局在が維持される」という概念自身は我々のオリジナルではなく、近年、すでに提起されてきたものであった（図3）^{22),23)}。ただ、我々の結果は、極性タンパク質がいかにして相互に排除し合うのかという点において、新規な分子メカニズムを提起した。aPKCがPAR-1をリン酸化することによってその膜局在を制御するという機構は、我々が研究を発表した後に、ショウジョウバエ、線虫においても確認され、進化的に保存された機構であることが証明されつつある。一方、我々は上記の研究の中でPAR-5の役割についても重要な示唆を与えた。このPAR-5の哺乳動物ホモログは古くから14-3-3と呼ばれていたタンパク質に相当しているが、この14-3-3は、リン酸化したセリン/スレオニン残基を認識して結合し、そのリン酸化タンパク質の局在などに影響を与えるということがすでにわかっていた。我々は、PAR-5/14-3-3がリン酸化されたThr595を介してPAR-1に結合すること、そして、その結合は、細胞質に遊離したPAR-1にのみ認められることを明らかとし、aPKCによるPAR-1の局在制御にPAR-5/14-3-3が関与していることを明らかとした（図3, 4）。

では、このようにaPKCによってその局在をバソラテラル膜に限定されながら、PAR-1は上皮細胞でいかなる機能を果たしているのであろうか？この点についても、上記研究を進める中で重要な示唆が得られた。近年、細胞内で特定のタンパク質の発現を、そのmRNAの特異的分解（ノックダウン）を誘導することによって抑制する方法が確立してきた（RNA干渉法：RNA interference法）。この方法を用いて、MDCK細胞でPAR-1の発現を抑制したところ、上皮細胞特有の、基質面に垂直な方向（z軸）の細胞の厚みの顕著な低下が観察された²¹⁾。また、アピカル膜のマーカータンパク質の染色や微柔毛の発達も低下した。但し、aPKC活性を抑制した場合と異なり、これらのPAR-1発現抑制細胞では、TJの発達にはほとんど障害がなく、aPKCやPAR-3のTJへの局在も影響を受けなかった。こうした結果は、「PAR-1がaPKC/PAR-6/PAR-3複合体の下流で働く」という線虫遺伝学で示唆されていた結果と合致するものであり、より具体的には、PAR-1はaPKC/PAR-6/PAR-3複合体が上皮細胞特有な細胞接着構造の発達に働いた後に、その次の段階として、細胞の膜ドメインの発達（ラテラル膜の伸張、アピカル膜の発達）に働くことを強く示す結果である。これは、上皮細胞の極性の発達が、① 初期の細胞同士の接触によって惹起される細胞膜裏打ち構造（接着構造）の非対称な発達、分化、と、② それに続く、細胞内、細胞膜のグローバルな非

対称的発達、の二段階に分離できること、そして、そのそれぞれのステップに aPKC/PAR-6/PAR-3 複合体と PAR-1 が各々かなり独立な形で関与しているという概念を新たに提起するものとなった。こうした考えは、さらに、① 上皮細胞の極性化過程における PAR-1 の膜への移行が TJ 形成の完了後に起こること、② PAR-1 を高発現すると、ノックダウンした場合とは逆に、細胞の厚みが増し（図 4）、アピカルドメインが異常に発達するという結果からも支持される。現在、我々の教室では、「いかにして、PAR-1 が上皮細胞の膜ドメインの発達・制御に働くのか」という点について、その分子メカニズムを明らかとする作業を進めている。その中では、思いもよらない分子を PAR-1 のキナーゼ活性の基質、結合タンパク質として同定した。そして、その発見を通じて、まったく新しい上皮細胞の極性制御メカニズムについて世界に提起するという新たな局面に現在至っている。

V. 多細胞生物の複雑な形態形成に果たす aPKC/PAR システムの役割と疾患との関連

以上、最初、線虫に同定された aPKC/PAR タンパク質群のうち、aPKC, PAR-1, PAR-3, PAR-5, PAR-6 が、哺乳動物上皮細胞の極性形成にも必須な役割を果たしていることを、当研究室の研究を中心に紹介してきた。残る PAR タンパク質のうち、PAR-2 は線虫以外にはいまだそのホモログが同定されていない。一方、哺乳動物 PAR-4 は、すでにヒトのがん抑制遺伝子として同定されていたセリン/スレオニンキナーゼ、LKB1 であるということが近年確認された。そして、実際に LKB1 が上皮細胞の極性形成にもかかわること、かつ、LKB1 が PAR-1 をリン酸化しその活性化を引き起こすキナーゼであることが明らかとされてきている^{24), 25), 26)}。このように、aPKC/PAR タンパク質群が同定され始めて約 10 年の間に、このタンパク質群内部の相互作用、制御関係もほぼ明らかとされ、これらが進化的に保存された「細胞極性制御システム」として働くことが広く認められるようになってきた（図 3）。そして近年の研究の中で、このシステムは、初期の細胞極性シグナルを増幅し、他の極性タンパク質群とも共同しながら最終的に非対称な膜ドメイン（膜裏打ち構造）の発達に結び付けるという役割を果たしていることが次第に明らかとなってきた。単細胞生物である酵母にももちろん細胞極性が見られ、その制御には低分子量 G タンパク質である Cdc42 が根源的に重要な役割を果たしていることが知られている。にも関わらず、興味深いことには、この生物には PAR-1, PAR-5 以外に aPKC/PAR タンパク質に対応するものを見つけるこ

とができない。ここで思い出していただきたいのは、aPKC/PAR-6/PAR-6複合体が活性化したCdc42と結合することで活性化しその後のTJ形成に働くと考えられることである。この点を考慮するならば、aPKC/PARシステムというものは、多細胞生物という生き物のあり方がこの地球上に登場するに際し、それまで単細胞生物が利用していた単純な細胞極性制御メカニズムを発展させ、多細胞生物特有の複雑な形態形成を可能にすることに大きな役割を果たしてきたのではないかという仮説が浮かび上がる。

本稿で紹介した分子細胞生物学的な研究とともに、私の所属する研究室では、aPKC, PAR-3のノックアウトマウスが作成されその解析が別途進められている。これらの分子の根源的重要性から予想されるように、aPKC, PAR-3のノックアウトマウスはいずれも初期の形態形成に異常を示し、発生初期に致死になることが明らかとなっている。さらに、特定の発生時期に、特定の臓器、部位でコンディショナルにこれらの分子をノックアウトした場合には、それぞれの部位の細胞の細胞極性、接着構造の異常とそれにもとづく種々の個体レベルの異常が観察されることもわかってきている²⁷⁾。本稿の冒頭に、非常に抽象的な形で、細胞極性と「疾患」、「死」との関連を指摘させていただいた。「細胞極性」を制御する分子機構が急速に解明された現在、こうした観点でより具体的に「疾患」を捉えなおすことが可能になってきている。そして、たとえば、癌細胞のほとんどが由来する上皮細胞が、その癌化の過程でその発達した極性を失っているという点についても新たな観点で考察をすることが可能になっている。実際、当研究室の秋本助手の研究からは、aPKCの欠失が癌化の前段階と密接な関わりがあることがすでに明らかとされつつある。こうした研究は、すでに大野教授を拠点リーダーとするCOEプロジェクト「細胞極性システム研究に基づく未来医療創成」として、横浜市大の他の臨床系の教室との共同研究に発展しようとしていることを最後に付記して本稿を終わりたいと思う。

参考文献

1. Nance, J. PAR proteins and the establishment of cell polarity during *C. elegans* development. *Bioessays*, 27: 126-135, 2005.
2. Betschinger, J. and Knoblich, J. A. Dare to be different: asymmetric cell division in *Drosophila*, *C. elegans* and vertebrates. *Curr Biol*, 14: R674-685, 2004.
3. Yeaman, C., Grindstaff, K. K., and Nelson, W. J. New perspectives on mechanisms involved in generating epithelial cell polarity. *Physiol Rev*, 79: 73-98., 1999.
4. Suzuki, A., Akimoto, K., and Ohno, S. Protein Kinase C lambda/iota (PKClambda/iota): A PKC Isotype Essential for the Development of Multicellular Organisms. *J Biochem (Tokyo)*, 133: 9-16., 2003.
5. Suzuki, A. and Ohno, S. The PAR-aPKC system: lessons in polarity. *J Cell Sci*, 119: 979-987, 2006.
6. Etemad-Moghadam, B., Guo, S., and Kemphues, K. J. Asymmetrically distributed PAR-3 protein contributes to cell polarity and spindle alignment in early *C. elegans* embryos. *Cell*, 83: 743-752, 1995.
7. Guo, S. and Kemphues, K. J. par-1, a gene required for establishing polarity in *C. elegans* embryos, encodes a putative Ser/Thr kinase that is asymmetrically distributed. *Cell*, 81: 611-620., 1995.
8. Kuchinke, U., Grawe, F., and Knust, E. Control of spindle orientation in *Drosophila* by the Par-3-related PDZ- domain protein Bazooka. *Curr Biol*, 8: 1357-1365, 1998.
9. Izumi, Y., Hirose, T., Tamai, Y., Hirai, S., Nagashima, Y., Fujimoto, T., Tabuse, Y., Kemphues, K. J., and Ohno, S. An atypical PKC directly associates and colocalizes at the epithelial tight junction with ASIP, a mammalian homologue of *Caenorhabditis elegans* polarity protein PAR-3. *J Cell Biol*, 143: 95-106, 1998.
10. Bohm, H., Brinkmann, V., Drab, M., Henske, A., and Kurzchalia, T. V. Mammalian homologues of *C. elegans* PAR-1 are asymmetrically localized in epithelial cells and may influence their polarity. *Curr Biol*, 7: 603-606, 1997.
11. Tabuse, Y., Izumi, Y., Piano, F., Kemphues, K. J., Miwa, J., and Ohno, S. Atypical protein kinase C cooperates with PAR-3 to establish embryonic polarity in *Caenorhabditis elegans*. *Development*, 125: 3607-3614, 1998.
12. Suzuki, A., Yamanaka, T., Hirose, T., Manabe, N., Mizuno, K., Shimizu, M., Akimoto, K., Izumi, Y., Ohnishi, T., and Ohno, S. Atypical protein kinase C is involved in the evolutionarily conserved par protein complex and plays a critical

- role in establishing epithelia-specific junctional structures. *J Cell Biol*, 152: 1183-1196., 2001.
13. Suzuki, A., Ishiyama, C., Hashiba, K., Shimizu, M., Ebnet, K., and Ohno, S. aPKC kinase activity is required for the asymmetric differentiation of the premature junctional complex during epithelial cell polarization. *J Cell Sci*, 115: 3565-3573, 2002.
 14. Wodarz, A., Ramrath, A., Grimm, A., and Knust, E. Drosophila Atypical Protein Kinase C Associates with Bazooka and Controls Polarity of Epithelia and Neuroblasts. *J Cell Biol*, 150: 1361-1374, 2000.
 15. Nishimura, T., Kato, K., Yamaguchi, T., Fukata, Y., Ohno, S., and Kaibuchi, K. Role of the PAR-3-KIF3 complex in the establishment of neuronal polarity. *Nat Cell Biol*, 6: 328-334, 2004.
 16. Etienne-Manneville, S. and Hall, A. Cdc42 regulates GSK-3beta and adenomatous polyposis coli to control cell polarity. *Nature*, 421: 753-756., 2003.
 17. Ebnet, K., Suzuki, A., Horikoshi, Y., Hirose, T., Meyer Zu Brickwedde, M. K., Ohno, S., and Vestweber, D. The cell polarity protein ASIP/PAR-3 directly associates with junctional adhesion molecule (JAM). *Embo J*, 20: 3738-3748., 2001.
 18. Yamanaka, T., Horikoshi, Y., Suzuki, A., Sugiyama, Y., Kitamura, K., Maniwa, R., Nagai, Y., Yamashita, A., Hirose, T., Ishikawa, H., and Ohno, S. PAR-6 regulates aPKC activity in a novel way and mediates cell-cell contact-induced formation of the epithelial junctional complex. *Genes Cells*, 6: 721-731., 2001.
 19. Nagai-Tamai, Y., Mizuno, K., Hirose, T., Suzuki, A., and Ohno, S. Regulated protein-protein interaction between aPKC and PAR-3 plays an essential role in the polarization of epithelial cells. *Genes Cells*, 7: 1161-1171, 2002.
 20. Yamanaka, T., Horikoshi, Y., Sugiyama, Y., Ishiyama, C., Suzuki, A., Hirose, T., Iwamatsu, A., Shinohara, A., and Ohno, S. Mammalian Lgl Forms a Protein Complex with PAR-6 and aPKC Independently of PAR-3 to Regulate Epithelial Cell Polarity. *Curr Biol*, 13: 734-743., 2003.
 21. Suzuki, A., Hirata, M., Kamimura, K., Maniwa, R., Yamanaka, T., Mizuno, K., Kishikawa, M., Hirose, H., Amano, Y., Izumi, N., Miwa, Y., and Ohno, S. aPKC acts upstream of PAR-1b in both the establishment and maintenance of mammalian epithelial polarity. *Curr Biol*, 14: 1425-1435, 2004.
 22. Bilder, D., Schober, M., and Perrimon, N. Integrated activity of PDZ protein complexes regulates epithelial polarity. *Nat Cell Biol*, 5: 53-58, 2003.
 23. Benton, R. and St Johnston, D. Drosophila PAR-1 and 14-3-3 inhibit Bazooka/PAR-3 to establish complementary cortical domains in polarized cells. *Cell*, 115: 691-704., 2003.

24. Martin, S. G. and St Johnston, D. A role for *Drosophila* LKB1 in anterior-posterior axis formation and epithelial polarity. *Nature*, 421: 379-384., 2003.
25. Lizcano, J. M., Goransson, O., Toth, R., Deak, M., Morrice, N. A., Boudeau, J., Hawley, S. A., Udd, L., Makela, T. P., Hardie, D. G., and Alessi, D. R. LKB1 is a master kinase that activates 13 kinases of the AMPK subfamily, including MARK/PAR-1. *Embo J*, 23: 833-843, 2004.
26. Baas, A. F., Kuipers, J., van der Wel, N. N., Batlle, E., Koerten, H. K., Peters, P. J., and Clevers, H. C. Complete polarization of single intestinal epithelial cells upon activation of LKB1 by STRAD. *Cell*, 116: 457-466, 2004.
27. Hirose, T., Karasawa, M., Sugitani, Y., Fujisawa, M., Akimoto, K., Ohno, S., and Noda, T. PAR3 is essential for cyst-mediated epicardial development by establishing apical cortical domains. *Development*, 133: 1389-1398, 2006.