



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Functional analysis of a novel cardiac-specific protein RING finger protein 207 [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	水島, 航
Description	配架番号 : 2192
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第11962号
Issue Date	2015-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/60061
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Wataru_Mizushima_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（医 学） 氏 名 水 島 航

主査 教授 三輪 聡一
審査担当者 副査 教授 松居 喜郎
副査 教授 佐邊 壽孝
副査 教授 筒井 裕之

学 位 論 文 題 名

Functional analysis of a novel cardiac-specific protein RING finger protein 207
(新規心筋特異的タンパク質 RING finger protein 207 の機能解析)

申請者は、RING finger protein 207 (RNF207) の機能解析を行い、① RNF207 が mRNA レベルおよびタンパク質レベルの何れにおいても心臓に特に優位に発現しており、心筋特異的 E3 ユビキチンリガーゼと考えられること、② 質量分析法を用いた解析で、ミトコンドリア外膜タンパク質である voltage dependent anion channel 1 (VDAC1) が RNF207 と相互作用するタンパク質として同定されたこと、③ 免疫沈降法を用いた解析で、*in vivo* および *in vitro* で RNF207 が VDAC1 と相互作用すること、④ 欠失変異体を用いた解析で、VDAC1 との相互作用には RNF207 の 277 番目のリジン残基および 278 番目のグルタミン酸残基が重要であること、⑤ 同じく欠失変異体を用いた解析で、RNF207 との相互作用には VDAC1 の N 末端領域が重要であること、⑥ RNF207 によって VDAC1 のユビキチン化が促進されるが、VDAC1 の半減期には影響を与えないこと、⑦ 心筋細胞での RNF207 ノックダウンによって心筋エネルギーホメオスタシスが変化し、AMPK のリン酸化の減少、ATP 濃度の低下およびオートファジーの亢進が認められること、⑧ 心筋細胞での RNF207 ノックダウンによって、解糖系と TCA 回路を結び付けている pyruvate dehydrogenase の活性が低下し、ミトコンドリアによる酸化的リン酸化が低下すること、⑨ 酸化ストレス、肥大ストレス、小胞体ストレス、Ca 過負荷によって心筋細胞内での RNF207 の発現が低下すること、⑩ 心疾患モデルマウス（心肥大モデル、虚血再灌流モデル、慢性心不全モデル）では、心臓での RNF207 の発現が低下していること、を明らかにした。

これらの結果から、申請者は以下の通りの考察を行った。1) ①の結果から、RNF207 は心疾患マーカーとしての応用が期待される。2) ⑥の結果から、RNF207 による VDAC1 のユビキチン化はタンパク質分解以外の機能に関わっていることが示唆され、今後パッチクランプ法などを用いたチャネル活性の変化などを評価する必要がある。3) ③⑦⑧の結果および先行研究から、RNF207 は VDAC1 の Ca^{2+} イオンに対する透過性を変化させることでミトコンドリア内 Ca^{2+} 濃度を調節し、心筋エネルギー代謝に影響を与えることが推測されたが、今回の研究で行った既存の方法ではミトコンドリア内 Ca^{2+} 濃度を正確に測定することはで

きず、今後の研究法発展によってミトコンドリア内 Ca^{2+} 濃度に対する RNF207 の機能が明らかにされるのが待たれる。4) ⑨⑩の結果および先行研究から、RNF207 の減少が心疾患モデルマウスの心筋細胞におけるエネルギー不足の原因となっている可能性が示唆され、RNF207 の発現量低下に対して介入することが新たな慢性心不全治療となる可能性がある。

以上より、RNF207 が心筋細胞のエネルギー代謝に関与していることが明らかとなり、今後心疾患の病態解明や新規治療薬につながる可能性のある重要な研究と考えられた。

以上の研究結果について、主査および副査の教授より、① 質量分析法で RNF207 が相互作用するタンパク質を同定する際の銀染色にて、過剰発現させた RNF207 の wild type と欠失変異体で、VDAC1 との結合能に違いがあるように見えるが、それについてはどのように考えているのか、② VDAC1 と RNF207 の結合だけでは、RNF207 のノックダウンによって引き起こされる心筋細胞でのエネルギー代謝の変化を十分に説明できないように思われるが、その点についてはどのように考えているのか、③ AMPK のリン酸化は AMP/ATP 比が上昇すると亢進するものであり、RNF207 のノックダウンによって ATP 量が減少したのであれば本来はリン酸化が亢進するはずだが、今回の研究で逆に低下しているのはなぜか、④ 心疾患モデルマウスにおける RNF207 の発現低下は、原因ではなくて単なる結果をみている可能性はないか、⑤ RNF207 が慢性心不全の新たな治療標的となる可能性があると考えられているが、今後具体的にどのような実験をすることで、その可能性を確かめていくのか、などの質問を受けた。申請者は、それぞれの質問に対して自己の実験データや文献的考察に基づいて、概ね適切に返答した。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や取得単位なども併せ、申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。