

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	甲	第	号
------	---	---	---	---

氏 名 米 丹 阳

論 文 題 目

Association of poly(*rC*)-binding protein-2 with sideroflexin-3 through TOM20 as an iron entry pathway to mitochondria

(TOM20 を介した poly(*rC*)-binding protein-2 と sideroflexin-3 の結合がミトコンドリアへの新たな鉄輸送経路である)

論文審査担当者 名古屋大学教授

主 査 委員 榎本 篤  
名古屋大学教授

委員 木村 宏  
名古屋大学教授

委員 岡島 徹也  
名古屋大学教授

指導教授 豊國 伸哉

## 論文審査の結果の要旨

別紙1-2

今回、細胞質 Fe(II)シャペロンである PCBP2 のミトコンドリア受容体を特定するために、KU812 ヒト慢性骨髄性白血病細胞でミトコンドリアタンパク質をスクリーニングした。LC-MS 分析により、TOM20、sideroflexin-3 (SFXN3)、SFXN1 および TOM70 が特定された。STED 顕微鏡およびプロテイナーゼ K 消化により、TOM20 がミトコンドリアの外膜に、SFXN3 が内膜に位置していることが明らかになった。近接リガーゼアッセイにより、PCBP2 と TOM20 の近接局在が示され、TOM20 と SFXN3 の間に直接的な結合があることが示された。K562 白血病細胞における PCBP2 および SFXN3 のいずれかの単一ノックダウンにより、ミトコンドリアの触媒 Fe(II)およびミトコンドリアの最大呼吸が大幅に減少した。マウス胚線維芽細胞における SFXN3 ノックアウト (KO) は、MFRN1 ノックアウトとは異なり、FBXL5 およびヘムオキシゲナーゼ-1 (HO-1) を減少させ、トランスフェリン取り込みを増加させ、フェリチンを誘導した。これは、SFXN3 を介したミトコンドリアへの鉄の侵入が独自であることを示している。鉄過剰の下で SFXN3 および MFRN ノックアウトの両方で不十分なミトコンドリアヘム合成が明らかになり、HO-1 阻害剤によって部分的に回復した。

本研究に対し、以下の点を議論した。

- 1.PCBP2 は、以前の研究で DMT1 から鉄を受け取り、DMT1 がリソソームから二価鉄を輸送するのを助けることが示された。今回、鉄シャペロンとしての PCBP2 がミトコンドリア受容体と相互作用し、鉄をミトコンドリアに届けるためのその後のプロセスが明らかにされた。
- 2.SFXN3 は、マウスの貧血研究で初めて発見された。膜貫通領域を持つため、潜在的な鉄輸送体と予測された。アフィニティスコアを考慮して、SFXN3、TOM70、および TOM20 が最終候補として選ばれた。本研究では、近接リガーゼアッセイにより、SFXN3 と PCBP2 の間に間接的な結合が示された。
- 3.SFXN3 のサイレンシングにより、細胞質およびミトコンドリアの触媒 Fe(II)が大幅に減少した。最大呼吸も障害され、ミトコンドリア呼吸の障害とミトコンドリア Fe(II)の減少との関連が示唆された。SFXN3 ノックアウトは FBXL5 および HO-1 の減少とトランスフェリンの増加を引き起こし、SFXN3 がミトコンドリアへの鉄の運輸において主要な役割を果たしていることを示した。

本研究は、PCBP2-TOM20-SFXN3 軸を介した細胞質からミトコンドリアへの新しい鉄の運輸経路を発見した。

以上の理由により、本研究は博士 (医学) の学位を授与するに相応しい価値を有するものと評価した。

## 試験の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第	号	氏 名	米 丹 阳
試験担当者	主査 榎本 篤		副査 <sub>1</sub> 木村 宏	
	副査 <sub>2</sub> 岡島 徹也		指導教授 豊國 伸哉	
(試験の結果の要旨)				
<p>主論文についてその内容を詳細に検討し、次の問題について試験を実施した。</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. PCBP2の鉄シャペロンとしての鉄輸送機能について</li><li>2. SFXN3の細胞の鉄代謝における機能について</li><li>3. PCBP2-TOM20-SFXN3軸を介した細胞質からミトコンドリアへの新しい鉄の運輸経路について</li></ol> <p>以上の試験の結果、本人は深い学識と判断力ならびに考察力を有するとともに、生体反応病理学一般における知識も十分具備していることを認め、学位審査委員合議の上、合格と判断した。</p>				