

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 由 良 義 充

論 文 題 目


Focused proteomics revealed a novel Rho-kinase signaling pathway
in the heart

(プロテオミクス解析を用いた心臓における新規 Rho-kinase
シグナル経路の解明)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

高橋雅英 

名古屋大学教授

委員

藤本豊士 

名古屋大学教授

委員

明松健治 

名古屋大学教授

指導教授

室原豊明 

論文審査の結果の要旨

別紙1-2

今回、タンパク質リン酸化酵素（キナーゼ）が基質をリン酸化する際に一過性の複合体を形成する性質を利用して、PKA、ERK といった心臓における主要な働きをしているキナーゼの基質を効率的にスクリーニングできることを示した。その上で、これまで心臓における特異的な基質が報告されていない Rho-kinase の基質についてもスクリーニングを行い、数多くのリン酸化基質候補タンパク質を得た。その中で新規基質 CARP を同定し、このリン酸化が CARP の機能を抑制することを示した。この方法を用いることにより心筋細胞内情報伝達の解析が進み、ひいては心疾患の病態解明および治療法の確立に貢献することが期待される。

本研究に対して、以下の点を議論した。

1. 本研究においては、精製タンパク質を用いた生化学的な実験と培養細胞、ラット初代培養心筋細胞を用いた細胞生物学的解析から、RhoA/Rho-kinase/CARP という新規のシグナル経路を提唱した。この仮説をさらに検証するためには、ウイルスペクターを用いた過剰発現系やノックダウン系を用いて個体（マウス）において、CARPのリン酸化と心筋肥大反応の関係を評価する必要がある。
2. PKA、ERK の基質はよく研究されており、それらはデータベース（PhosphoSitePlus）に登録されている。そのデータベースと比較すると、今回の方法によって既知の基質の10%程度は同定することが可能であった。このデータベースにはすべての臓器における基質が登録されているため、心臓に発現しているタンパク質のみに限定した場合、既知の基質の同定率は上昇することが予想される。この方法は基質と酵素の親和性を利用しているため、親和性が弱いものに関しては、同定できない可能性が高い。
3. 脱リン酸化酵素（フォスファターゼ）の基質を同定するために、この方法を応用することができるか否かについては試していないが、フォスファターゼが基質を脱リン酸化する際にもやはり同様の方法で複合体を形成するという報告があり、原理的には可能性はあると思われる。しかし、キナーゼに比べて、フォスファターゼは基質特異性が低いことから、無数の基質が検出される可能性が高い。

本研究は、心臓における情報伝達の解析をすすめる上で、重要な知見を提供した。

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	由良 義 充
試験担当者	主査	高橋 雅英	藤本 豊	櫻井 健
	指導教授	室原 豊明		
<p>(試験の結果の要旨)</p> <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"> 1. CARPのリン酸化が心筋肥大を引き起こすという仮説をさらに強めるにはどのような実験が必要か。 2. 今回の研究に用いた方法のスクリーニング効率について。 3. フォスファターゼの基質スクリーニングについて。 <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、循環器内科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>				