

別紙 1-1

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 坂口 輝洋

論 文 題 目

Protein Kinase N Promotes Stress-Induced Cardiac Dysfunction Through Phosphorylation of Myocardin-Related Transcription Factor A and Disruption of Its Interaction With Actin

(プロテインキナーゼ N は MRTEFA のリン酸化とそのアクチン結合を阻害することでストレス誘導性心機能不全を促進する)

論文審査担当者

名古屋大学教授

主 査 委員

碓氷 章考 

名古屋大学教授

委員

古森 公浩 

名古屋大学教授

委員

岡島 徹也 

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、プロテインキナーゼ N (PKN) にはアイソフォームが 3 種存在するが、心筋細胞には PKN1 および PKN2 が発現し、マウス圧負荷心不全モデル (TAC モデル) では PKN1/2 が活性化されることを見出した。次に薬剤誘導性心筋特異的心筋特異的 PKN1/PKN2 遺伝子欠損マウス (PKN KO マウス) を作製し、PKN KO マウスは TAC による心機能低下を改善した。In vitro リン酸化アッセイにより、転写因子の調節因子である myocardin-related transcription factor A (MRTFA) が PKN によりリン酸化することを示した。クロマチン免疫沈降では、このリン酸化が心不全関連遺伝子プロモーターと MRTFA の結合を促進することを明らかにした。この結果、PKN1/2 は MRTFA のリン酸化により心不全関連遺伝子の発現を活性化することを示し、新たな治療標的分子となる可能性を示した。





本研究に対し、以下の点を議論した。

1. PKN には 3 種のアイソフォームがあるが、これらは異なった組織分布、機能を示す。PKN1,2 は人やマウスのあらゆる組織に遍在的に存在し細胞骨格の制御や細胞接着などの機能の報告がある。PKN3 は正常細胞ではなく、癌細胞株に存在し腫瘍の増殖や転移に関与している報告を認める。今回の研究では心筋細胞には PKN1,2 が存在し、心肥大や線維化に関与していることを示した。
2. PKN の阻害薬について報告があり、PKN の部位で脂質に結合する C2 ドメインと呼ばれる構造から 15 アミノ酸から構成されるペプチド (PRL) を作成し、精製されている。このペプチドは生化学実験と細胞内実験で PKN のリン酸化を阻害することが示されているが、まだ動物実験レベルでの使用報告はなく、今後の発展が期待される場所である。
3. MRTFA はアクチン結合性転写活性因子であり、その N 末端には 3 か所の RPEL モチーフ (RPxxxEL) がある。これらは G アクチンとの結合部位と報告されており、MRTFA と G アクチンが結合することで MRTFA の核内移行が抑制され、その下流の転写が調整されている。今回、PKN が MRTFA をリン酸化することで MRTFA と G アクチンの結合が抑制されることを示した。PKN による MRTFA のリン酸化部位は RPEL 内ではないため、リン酸化により構造変化が起こることでアクチンが結合できなくなると想定されている。

本研究は、心不全の機序解明や治療標的の点において、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	坂口輝洋
試験担当者	主査	碓氷章孝 	副査 ₁	古森公浩 
	副査 ₂	岡島 徹也 	指導教授	室原豊明 
(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"> 1. PKNのアイソフォームについて 2. 創薬への発展について 3. MRTFAのリン酸化とアクチン結合のメカニズムについて <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>				