




審査委員会報告書

【書式11】

令和 5年 2月 2日

申請者	フリガナ	クワタ タクミ	生年月日	平成7年9月28日生
	氏名	桑田 巧 (男・女)	国籍又は本籍	岡山県
	学籍番号	20D5901	専攻名	生命理学専攻
論文題目		フェリチンの鉄酸化・ミネラル化に関する研究		
翻訳題目 (英文の場合のみ)				
審査 委員会 委員	(氏名) 印		(所属機関名) (役職名)	
	主査委員:	池口 雅道 	創価大学大学院理工学研究科	教授
	委員:	丸田 晋策 	創価大学大学院理工学研究科	教授
	委員:	郷田秀一郎 	創価大学大学院理工学研究科	教授
内容の要旨及び審査結果の要旨 最終試験の結果の要旨			別紙1	別紙2
博士学位申請論文の受付			受付日: 令和 5年 1月 5日	
博士学位申請論文の受理			受理日: 令和 5年 1月 11日	◎ ・ 不可
論文審査の合否			実施日: 令和 5年 1月 19日	◎ ・ 否
最終試験の合否			実施日: 令和 5年 1月 19日	◎ ・ 否
審査委員会の結論	本論文は、博士(理学)の学位論文として十分な価値を有すると判定した。また申請者は、学位論文を中心とする専門分野についての最終試験に合格した。			

審査委員会の審査及び最終試験の結果を受け、当該研究科委員会は以下の通り判定しました。

研究科委員会の判定	開催日: 令和 5年 2月 14日		
	出席者数 32名	可数 32名	不可数 0名

最終合否 ◎ ・ 否

学位記番号	博 ◎・乙 200号	授与年月日	令和 5年 3月 18日
学位の種類	博士 (理 学)	備考	

研究科長 北野晃朗 

内容の要旨及び審査結果の要旨

【書式11（別紙1）】

令和 5年 2月 2日

氏名（本籍）	桑田 巧（岡山県）
学位の種類	博士（理学）
学位記番号	博甲第200号
学位記の授与日	令和5年3月18日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 創価大学大学院学則第31条第3項該当 創価大学学位規則第3条の3第1項該当
論文題目	フェリチンの鉄酸化・ミネラル化に関する研究
論文審査機関	理工学研究科委員会
論文審査委員	主査委員 理学博士 池口 雅道 委員 医学博士 丸田 晋策 委員 博士（理学） 郷田 秀一郎



<論文の内容の要旨>

鉄は生命にとって不可欠の元素である。フェリチンはその代謝の中核をなすタンパク質であり、細菌、古細菌のような単細胞生物から植物、動物に至るまで、ほぼ全ての生物種に存在し、2価鉄イオンを酸化して不溶性の酸化鉄ミネラルとして貯蔵し、必要な時に2価鉄を供給する。本論文はフェリチンによる鉄の酸化およびミネラル化の仕組みに関して研究を行った成果をまとめたもので、5章から構成されている。

第1章の序論では様々な生物種が持つフェリチン分子に共通の特徴や生物種によって異なる多様性が解説されている。その上で、代表的なフェリチンに関して鉄酸化反応部位（フェロキシダーゼ活性サイト）の構造、そこで起こる鉄酸化反応の機構、酸化鉄ミネラル（鉄コア）の構造とその形成機構など、過去の研究により得られた知見がまとめられている。またヒトにおいてはフェリチン遺伝子の変異に起因する遺伝的疾患が知られており、それら疾患と鉄酸化・ミネラル化との関係も述べられている。

第2章には、脊椎動物のフェリチンでは鉄コアにリン酸がほとんど含まれないのに対して、細菌や植物の鉄コアでは鉄と同量のリン酸が含まれる点に着目した研究が述べられている。著者は大腸菌フェリチンを材料として、「リン酸非存在下で鉄コアの形成は可能か」、「リン酸存在下、非存在下での鉄コアはどのような形態をとるか」などの疑問に関して *in vitro* での実験により以下の答えを導いている。まず、大腸菌フェリチンではリン酸が存在しない場合でも鉄コアが形成されるが、球殻内に複数個の酸化鉄粒子が形成されることを明らかにしている。これに対してリン酸存在下ではフェリチン分子球殻の内径に一致する外径を持つ球殻状のリン酸鉄が形成されることを明らかにした。過去の研究では形態観測の手段として、電子顕微鏡観察が主であったが、著者は電子顕微鏡に加え、超遠心分析やエックス線小角散乱を駆使して、従来よりも明確な鉄コアの描像を得ることに成功している。

第3章では第2章の結果を踏まえ、なぜ大腸菌フェリチンでは鉄コアにリン酸が含まれるのかという疑問に対して答えるべく、鉄酸化反応に対するリン酸の影響をストップ・フロー法という高速反応追跡法により調べた結果がまとめられている。実験の結果、リン酸は鉄の酸化反応速度には影響しないが、酸化された鉄をフェロキシダーゼ活性サイトから排除し、次の酸化反応が可能な状態にするプロセスを加速する効果を持っていることを明らかにしている。また、脊椎動物のフェリチンではなぜ同じことが起こらないのかに関して、大腸菌フェリチンとヒト・フェリチンの立体構造上の差異、アミノ酸配列の差異に基づいて考察している。

第4章はヒト・フェリチンL鎖の遺伝子変異による神経フェリチン症という疾患と鉄酸化や鉄ミネラル化との関係を論じている。ヒト・フェリチンの遺伝子変異は多数知られており、先行研究ではフレームシフト変異により生じる変異タンパク質 p.Phe167SerfsX26 が鉄と異常な複合体を形成し、その結果として神経細胞内で鉄とフェリチンの沈着が生じることが原因と考えられている。著者は、これとは別の点変異により生じるフェリチン p.Ala96Thr を遺伝子組換えによって大腸菌で発現し、同じく大腸菌で発現した野生型ヒト・フェリチンと比較した。その結果、この変異の場合には *in vitro* での鉄ミネラル化に関して野生型と差異は見出されず、フォールディング効率に違いが見られたため、神経フェリチン症の発症メカニズムにも様々なケースがあることを示した。

第5章では第1章で記述された過去の知見と第2章から第4章に記述された新たな知見とを総括して、フェリチンの機能におけるリン酸の影響が論じられている。また、生物における鉄代謝は極めて複雑であり、フェリチン以外の分子との相互作用やフェリチン発現レベルの調整など、今後の研究課題に関して展望を述べている。

<論文審査結果の要旨>

鉄の代謝は生物において極めて重要な仕組みであり、その機構の解明は生物学、医学の分野において重要な課題である。その中核を担うフェリチンという分子に関する研究も1940年代から行われているが、現在でも不明な点が多く、数多くの研究論文が発表されている。本論文は脊椎動物のフェリチンと細菌や植物のフェリチンとの鉄コア組成の違いという古くからの謎を分子論的に解明した点、またフェリチンの遺伝子変異に起因する疾患について、そのメカニズムを明らかにした点において新規性が認められ、博士(理学)の学位論文として十分な価値を有するものと認める。




なお、本論文の一部は国際的な学術雑誌に下記の論文2編として掲載されている。

- 1) Kuwata T, Okada Y, Yamamoto T, Sato D, Fujiwara K, Fukumura T, Ikeguchi M.
Structure, function, folding, and aggregation of a neuroferritinopathy-related ferritin variant.
Biochemistry. 2019; 58(18):2318-2325.
- 2) Kuwata T, Sato D, Yanagida Y, Aoki E, Fujiwara K, Yoshimura H, Ikeguchi M.
Morphological difference of Escherichia coli non-heme ferritin iron cores reconstituted in the presence and absence of inorganic phosphate.
J Biol Inorg Chem. 2022; 27(6):583-594.

最終試験の結果の要旨

【書式11（別紙2）】

令和 5年 2月 2日

フリガナ 申請者氏名	クワタ タクミ 桑田 巧	専 攻 名	生命理学専攻
審査委員会委員	主査委員	池口 雅道	
	委 員	丸田 晋策	
	委 員	郷田 秀一郎	
<p>要 旨</p> <p>審査委員3名により、学位論文の内容および関連する学問分野に関して、口頭で試問を行った。その結果、専門分野に関する学力と研究能力を有することを確認できたので、最終試験の結果を合格とした。</p>			