

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	宮原大貴
論文審査担当者	主査 山田充彦 副査 瀧伸介・竹下敏一
論文題目	
<p>Comprehensive proteomic profiles of mouse AApoAII amyloid fibrils provide insights into the involvement of lipoproteins in the pathology of amyloidosis</p> <p>(マウス AApoAII アミロイド線維の包括的なプロテオーム分析結果はアミロイドーシスの病理におけるリポタンパク質の関与を示唆する)</p>	
(論文の内容の要旨)	
<p>【背景と目的】 アミロイドーシスは加齢や遺伝的な要因などにより、生体内で生じた misfolded protein がアミロイド線維と呼ばれる微細な線維状構造に凝集して組織に沈着する疾患である。アミロイド線維の沈着部位には線維状の凝集タンパク質の他に、アミロイド関連タンパク質として共沈着するタンパク質の存在が報告されており、その共沈着のメカニズムを解明することはアミロイドーシスの病態を理解する上で重要であると考えられている。本研究では、Apolipoprotein A-II (ApoA-II) が形成するアミロイド線維 (AApoAII) が全身組織に沈着する AApoAII アミロイドーシスモデルマウス (R1.P1-<i>Apoa2</i>^{-/-}マウス) を用いて、沈着程度の異なるアミロイドサンプルを作出し、質量分析計 (LC-MS/MS) によりプロテオーム解析を行うことで関連タンパク質の同定と機能の検討を行った。</p> <p>【材料及び方法】 アミロイドサンプルの作出には、2ヶ月齢の R1.P1-<i>Apoa2</i>^{-/-}雌マウスに対して AApoAII アミロイド線維 100 µg を尾静脈内注射により投与し AApoAII アミロイドーシスを誘発させ、3, 4, 6, 9, 12ヶ月齢時に安楽死させた後、組織の採取を行った。対照群は 2, 6, 12ヶ月齢の群を準備した。プロテオーム分析対象として、肝臓から古典的なアミロイド線維の抽出方法に則ってアミロイド線維分画を分取し、トリプシン消化した後 LC-MS/MS を用いてタンパク質を網羅的に同定した。また、データマイニング的手法を用いて、同定されたタンパク質に有意に集積された機能の検討を行った。</p> <p>【結果】 LC-MS/MS による分析結果から、アミロイド沈着が重度に亢進した誘発群の 12ヶ月齢のサンプルで、対照群と比較して特異的かつメジャーであるタンパク質 6 個を AApoAII 関連タンパク質として同定した。アミロイド沈着の亢進に伴い AApoAII 関連タンパク質のアミロイド線維分画中における含有量は増加したが、一方で関連タンパク質間の相対比に変化は認められなかった。UniprotKB の機能用語の分類に基づいた生物学的機能の解析から、AApoAII 関連タンパク質には分泌機能と HDL 代謝関連の機能の有意な集積が認められた。まず、分泌機能に関連して AApoAII 関連タンパク質の血清中の濃度変化を測定したところ、アミロイド沈着の亢進に伴い ApoE, clusterin の劇的な変化を認めた。また、HDL 脂質代謝関連の機能用語に着目して解析した結果、Oil red O 染色または電顕での観察によりアミロイド沈着部位における脂質の共沈着を認めた。</p> <p>【結論】 これらの結果より、AApoAII 沈着初期から脂質の共沈着したことは、アミロイドの沈着過程における ApoA-II と脂質を涵むリポタンパク質の関与が示唆された。いくつかの同定された AApoAII 関連タンパク質 (ApoE, clusterin, vitronectin) はアミロイドーシスのみならず、アテローム性動脈硬化症や加齢黄斑変性といった他の細胞外凝集物を伴う変性疾患の沈着物においても共沈着することが報告されている。このことから、これらの疾患で共通する内皮細胞下へのリポタンパク質の滞留とその後の代謝過程がアミロイドーシスの病態機序に関与する可能性が示唆された。</p>	