

論文の内容の要旨

論文提出者氏名	丁 欣
論文審査担当者	主 査 竹下 敏一 副 査 山田 充彦 ・ 能勢 博
論文題目	Amyloidosis-inducing Activity of Blood Cells in Mouse AApoAII Amyloidosis (マウス血球細胞の AApoAII アミロイドーシス誘発活性)
(論文の内容の要旨)	<p>【背景・目的】 アミロイドーシスは本来、生理的機能を持つタンパク質が加齢・炎症等の生体変化やタンパク質の突然変異等が原因となって重合し、微細な線維（アミロイド線維）を形成し、主として細胞外に沈着する病態の総称である。マウス老化アミロイドーシスは、血清高密度リポタンパク質(HDL)のアポリポタンパク質 A-II (ApoA-II・APOA2) がアミロイド線維 (AApoAII) を形成して、全身臓器に沈着する疾患である。これまでに、AApoAII アミロイドーシスでは、アミロイドーシスを発症したマウスの糞、母乳、唾液、筋肉を介して、アミロイド線維が他の個体に取り込まれ、線維形成の seed として作用することにより「伝播 (Transmission)」が可能であることが報告されてきた。最近、プリオン病や炎症に伴う反応生 (AA) アミロイドーシス、さらにアルツハイマー病 (AB アミロイドーシス) では血液や血球成分を介した伝播の可能性が報告されている。本研究では、マウス AApoAII アミロイドーシスにおける白血球、赤血球、血漿のアミロイドーシス誘発活性を解析することによって、血液を介したアミロイドーシスの伝播が病態に及ぼす影響を明らかにしようとした。</p> <p>【方法】 アミロイドーシスを好発する C 型 ApoA-II アリル (<i>Apoa2^C</i>) を持つ、2 ヶ月齢の雌 SAMR1. SAMP1-<i>Apoa2^C</i> (R1. P1-<i>Apoa2^C</i>) マウスの尾静脈に、AApoAII アミロイド線維を投与してアミロイドーシスを誘発した。アミロイド沈着程度の異なる 4、6、9、12 ヶ月齢の R1. P1-<i>Apoa2^C</i> マウスと AApoAII 投与による誘発がなく、アミロイド沈着のない 12 ヶ月齢 R1. P1-<i>Apoa2^C</i> 及び 2 ヶ月齢 <i>Apoa2</i> ノックアウト (R1-<i>Apoa2^{-/-}</i>) マウスから血液を採取し、血漿、白血球、赤血球分画を分離した。これらの分画をレシピエントの R1. P1-<i>Apoa2^C</i> マウスの尾静脈に投与し、2 ヶ月後のアミロイド沈着 (Amyloid Index: AI) を測定して (Congo-red 染色後の緑色偏光)、アミロイドーシス誘発活性 (amyloidosis-inducing activities; AIA) を求めた。また、各分画を 6M グアニジン塩酸で変性処理をして線維構造を破壊し、そのアミロイドーシス誘発活性を解析した。さらに、9 ヶ月齢のマウスから分離した白血球と赤血球分画を PBS でホモジナイズし、可溶性 (Sol) と不溶性分画 (3KG-P) に分離し、アミロイドーシス誘発活性の測定と、電子顕微鏡と APOA2 抗体を用いた Western blot 解析を行った。</p> <p>【結果】 アミロイドが沈着した R1. P1-<i>Apoa2^C</i> マウスから分離した白血球および赤血球分画をレシピエントマウスへ投与すると、アミロイド沈着を誘発したが、アミロイド沈着のない R1. P1-<i>Apoa2^C</i> 及び R1-<i>Apoa2^{-/-}</i> マウスの白血球及び赤血球分画の投与はアミロイド沈着を誘発しなかった。白血球分画の AIA はマウスの月齢に伴い増加する傾向が見られたが、12 か月齢では低下した。9 ヶ月齢マウスの白血球分画の AIA は不溶性分画 (3KG-P) にのみ存在し、この不溶性分画には電子顕微鏡下で、アミロイド線維様物質が観察された。また、不溶性分画には抗 APOA2 抗体と反応するタンパク質バンド (MW: 7~15kDa) が検出された。さらに、6M グアニジン塩酸溶液処理によって、タンパク質を変性させると、アミロイドーシス誘発能力は消失した。予想に反して、アミロイド沈着の有無に関係なく、全てのマウスの血漿はアミロイドーシス誘発活性を示した。</p> <p>【考察】 AApoAII 沈着マウスの白血球の伝播活性は、不溶性分画中にアミロイド線維様物質や抗 APOA2 抗体と反応するタンパク質が見いだされたこと、グアニジン塩酸処理で活性が消失したことから、AApoAII 線維に起因することが示唆された。これらの結果は、AApoAII アミロイドーシスでの血球を介した臓器間あるいは個体間の伝播の可能性を示している。一方、アミロイドーシスを発症していない R1. P1-<i>Apoa2^C</i> マウスや APOA2 が存在しない R1-<i>Apoa2^{-/-}</i> マウスの血漿中にも、アミロイドーシス発症マウスとほぼ同等なアミロイドーシス誘発活性が存在することが明らかになり、マウス血漿中には AApoAII 線維以外のアミロイドーシス誘発物質が存在することが示唆された。この物質についての今後の検討が必要である。</p> <p>これらの知見は、アミロイドーシスの発症機構の解明や治療法の開発に重要な情報を与えると考えられる。</p>