

Identification of two novel amyloid A protein subsets coexisting in an individual patient of AA-amyloidosis

メタデータ	言語: jpn 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-30 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 馬場, 聡 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1450

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 173号	学位授与年月日	平成 6年 3月 3日
氏 名	馬 場 聡		
論文題目	Identification of two novel amyloid A protein subsets coexisting in an individual patient of AA -amyloidosis (一人の AA-アミロイドーシス患者に共存する2つの新しいアミロイド A タンパクの同定)		

医学博士 馬 場 聡

論文題目

Identification of two novel amyloid A protein subsets coexisting in an individual patient of AA-amyloidosis

(一人のAA-アミロイドーシス患者に共存する2つの新しいアミロイドAタンパクの同定)

論文の内容の要旨

アミロイドAタンパク(AA)は、反応性AA-アミロイドーシスにおけるアミロイド線維形成タンパクで、その血中前駆体である血清アミロイドAタンパク(SAA)が分解されたN末端側フラグメントからなる。マウスやミンクではSAAの3つのアイソタイプのうちSAA2のみがアミロイドになる。ヒトのSAA亜型はSAA1 α 、-1 β 、-2 α 、-2 β が知られているが、AAに関しては、地中海熱に続発したアミロイドーシスの1例でSAA2 β 由来のAAが報告されているのを除きすべてSAA1由来とみられるものの、一部でアミノ酸の不一致がみられSAA亜型とAA-アミロイドとの関係はいまだにはっきりしていない。我々は慢性関節リウマチに続発した1人のAA-アミロイドーシス患者から2つの新しいAAを質量分析とアミノ酸配列分析を用いて同定し解析した。そのうちの1つはSAA2 α の2-75および2-76残基に相当するペプチド(AA2 α)であった。もう1つはSAA1の2-75および2-76残基に相当するペプチドと思われたが、既知のSAA1 α では52と57番目のアミノ酸がそれぞれバリンとアラニン、逆にSAA1 β ではそれぞれアラニンとバリンであるのに、この例では2箇所ともアラニン(AA1_{52, 57Ala})であった。沈着アミロイドにおけるAA2 α とAA1_{52, 57Ala}の割合はそれぞれ28%と72%であった。今回の結果から、1) SAA2 α がアミロイド原性であること、および2) SAA1とSAA2が1個体に同時にAA-アミロイドとして沈着し得ること、が明らかとなり、さらに3) SAA1に新たなアミロイド原性亜型(SAA1_{52, 57Ala})の存在が示唆された。これまで報告されているAAのアミノ酸配列とSAAのそれとの不一致の理由としては、突然変異型を含め未知のSAA亜型由来のAAであった可能性と、2つ以上のSAA亜型に由来するAAの混合型をみていた可能性との両方が考えられる。今後、症例を重ね、沈着したAAとその患者のSAAとを合わせて解析していくことでSAA亜型とAA-アミロイドーシスとの関係が明らかになるものと思われる。

論文審査の結果の要旨

アミロイド変性を呈している組織には、アミロイド蛋白と総称される各種の特殊な蛋白もしくはペプチドが沈着することが知られており、その1つにアミロイドA(AA)がある。AAの本態や生成機序に関してはある程度の報告があるが、申請者による今回の研究は、従来のエドマン分解によるアミノ酸配列分析法と、新しい分析技術である高速液体クロマトグラフィー(HPLC)/質量分析法(MS)の両方を駆使することにより、新しい2種類のAAペプチドを発見したことにある。

本研究の発端として、慢性関節リウマチに続発した全身性アミロイドーシス剖検例の甲状腺から抽出したAAのトリプシン消化物を高速液体クロマトグラフィー(HPLC)/高速原子衝突質量分析法(FAB-MS)を用いて分析したところ、既知のAA由来のものとは異なった質量数を有する2種類のピークを発見した。このピークに相当するペプチドの本体を解明するために、さらに逆相ゲルカラムや陰イオン交換FPLCにて精製し各トリプシン消化ペプチドフラグメントの詳細なアミノ酸分析を行

なった。さらに最近開発された質量分析技術であるイオンスプレー MS 法を用いて、精製 AA そのものについて正確な分子量測定をも行なった。以上の実験で得た結果と AA の前駆体である血清アミロイド A (SAA) 蛋白の既知の各アイソタイプのアミノ酸配列とを詳細に比較検討したところ、2 つの新しい AA が見い出された。すなわち、その 1 つは SAA 蛋白のタイプ 2 α の 2-75 および 2-76 残基に相当するペプチド (AA 2 α) であった。もう 1 つは SAA 1 の 2-75 および 2-76 残基に相当するペプチドとアミノ酸配列がほとんど同じであったが、52 番目と 57 番目のアミノ酸が共にアラニンに置換されている新しいペプチド (AA 1_{52, 57Ala}) であることが判明した。

AA 1_{52, 57Ala} の存在を確認したことは、その前駆体である SAA 蛋白にそれを含む新しいアロタイプ蛋白が存在することを示唆している。したがって申請者は、上記の AA に関する実験と同様な分析技術を用い、急性期炎症患者のプール血清から精製した SAA 蛋白のなかに 52 番目と 57 番目のアミノ酸が共にアラニンである新しい蛋白を同定し、これを SAA 1 γ と命名した。

本研究に関して以下の質問がなされた。

- 1) SAA 蛋白の生理機能はなかに、さらに炎症疾患におけるコレステロール代謝と SAA 蛋白の関連について
- 2) SAA 蛋白から AA が生成されるメカニズムと SAA 蛋白自体の合成と代謝について
- 3) AA ペプチドの沈着する組織部位について
- 4) 今回 AA 源として慢性リウマチ患者の甲状腺を用いた理由について
- 5) AA を抽出するのに高濃度の EDTA とジチオスレイトールを用いた理由について
- 6) エドマン分解によるアミノ酸配列決定法と FAB-MS によるそれとの比較について
- 7) SAA 1 γ の出現とアミロイドーシス発症との関連について

これらの質問について申請者の解答は適切であり、本論文の研究内容も博士 (医学) の学位論文として十分であると全員一致で判定した。

論文審査担当者	主査	教授	鈴木	修			
	副査	教授	市山	新	副査	教授	菅野剛史
	副査	助教授	小出幸夫		副査	助教授	三浦克敏