

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

タイトル	神経変性疾患の早期診断に向けた赤血球 synucleinの解析
作成者(著者)	天谷, 亮介
公開者	東邦大学
発行日	2023.03.14
掲載情報	東邦大学大学院理学研究科 博士論文 内容の要約.
資料種別	学位論文
内容記述	主査: 蓮沼至 / 理学研究科学位規程第13条2項により要約公開
著者版フラグ	none
報告番号	32661甲第1075号
学位記番号	甲第168号
学位授与年月日	2023.03.14
学位授与機関	東邦大学
メタデータのURL	https://mylibrary.toho u.ac.jp/webopac/TD28224759

論文題目：神経変性疾患の早期診断に向けた赤血球 α -synuclein の解析

論文要約

パーキンソン病の運動症状は、ドパミン量が健常者の 10%–20%に減少することで発現すると言われており、その時点で黒質のドパミン神経細胞数は 50%以下に減少している。患者は 4 大症状である安静時振戦、無動、筋強剛、姿勢反射障害のいずれかが現れてから受診する 경우가多く、早期診断および治療介入のために非運動症状期のバイオマーカーが必要とされている。 α -Synuclein は 140 アミノ酸残基からなるタンパク質で、パーキンソン病とその類縁疾患を含むシヌクレイノパチーに特徴的な病理所見であるレビー小体には翻訳後修飾を受けた α -synuclein が含まれ、その 15%–20%が C 末端切断型であると報告されている。 α -Synuclein は脳に次いで赤血球に高発現で、赤血球 α -synuclein は細胞外小胞を介して放出され、脳内の α -synuclein の蓄積や神経炎症を引き起こすことで、疾患の病態に関与すると考えられている。さらに、レビー小体は脳だけでなく交感神経節や副腎、消化管上皮などでも見つかることから、疾患による病変は中枢神経系にとどまらず全身におよぶと考えられている。パーキンソン病のバイオマーカー候補として脳脊髄液や血漿中の α -synuclein 量を ELISA 法で定量した報告があるが、使用する抗体によって測定結果が大幅に異なることや、溶血により測定値が 1,000 倍近く上昇するなど、問題点が指摘され臨床応用には至っていない。

赤血球 α -synuclein の分子形態および翻訳後修飾を high resolution clear native (hrCN)-PAGE と SDS-PAGE、等電点電気泳動 (IEF) と hrCN-PAGE を組み合わせた二次元電気泳動および、抗原の異なる抗体を用いた Western blotting と液体クロマトグラフィー質量分析 (LC-MS/MS) により解析した。また、健常者とアルツハイマー病、パーキンソン病、レビー小体型認知症患者の赤血球 α -synuclein を、定量 Western blotting でそれぞれ定量し比較した。

赤血球 α -synuclein は、IEF/hrCN 二次元電気泳動により、等電点の異なる 4 種類の分子形態に分離されることを明らかにした。さらに、LC-MS/MS 解析により、赤血球 α -synuclein の一部は Y133–Q134 間で切断されていることを同定し、定量 Western blotting により赤血球 α -synuclein の約 3 割が C 末端切断型であることを明らかにした。また、アセチル化、糖化、グリコシル化、ニトロ化、リン酸化、ユビキチン化または small ubiquitin-related modifier (SUMO) 化修飾された α -synuclein が赤血球中に存在することを明らかにした。これらのことから、赤血球 α -synuclein は、膜結合やオリゴマー形成に関与するリジン残基に翻訳後修飾を受けやすく、翻訳後修飾された α -synuclein が赤血球から放出される細胞外小胞を介して全身に伝播することも考えられた。

定量 Western blotting により健常者とアルツハイマー病、パーキンソン病、レビー小体型認知症患者の 4 種類の分子形態の α -synuclein をそれぞれ比較したところ、レビー小体型認知症患者では、重症度と相関なく、全ての分子形態の α -synuclein 量が健常者、パーキンソン病、アルツハイマー病患者と比較して顕著に減少していた。赤血球 α -synuclein 量の変化を捉えることは、パーキンソン病と同様の運動症状を呈し、かつアルツハイマー病と認知症状で共通するレビー小体型認知症の早期鑑別に有用であることを示した。