

審査の結果の要旨

氏名 小川 真喜子

本研究は、アミロイドーシス病型のより正確な診断法を確立し、近年飛躍的に進歩している全身性アミロイドーシスの治療に結び付けることを目的とし、第一に、アミロイドーシス病型診断のための免疫組織化学染色の染色条件検討を行った。次に、アミロイド前駆タンパク質の正確な同定や、同一症例における複数のアミロイド前駆タンパク質の存在の有無を検証することを目的に、内部標準を用いたタンパク質の絶対定量法を用いて、全身性アミロイドーシス症例の解析を行い、下記の結果を得ている。

1. アミロイドーシス診断に有用との報告がある、13種類のアミロイド前駆タンパク質に対する一次抗体を選出し、染色法の条件検討を行い、Apo A2を除く12種類の抗体の有用な染色方法を見出した。
2. 全身性アミロイドーシス剖検例30例のFFPEサンプルを用いて、頻度の高いアミロイドーシス病型の前駆タンパク質であるSAA、ATTR、IGK、IGL、B2Mに対する一次抗体による、アミロイドーシス病型診断を行った。病理解剖の時点で病型不明であったのは30例中10例だが、本研究の免疫組織化学的検討により、30例中27例は病型確定に至った。
3. 免疫組織化学的検討で用いた全身性アミロイドーシス剖検例30例のFFPEサンプルを用いて、内部標準を用いたタンパク質の絶対定量を行い、全身性アミロイドーシス症例の解析を行った。アミロイド前駆タンパク質の同位体標識ペプチド（MS-QBiCペプチド）を内部標準として、三連四重極質量分析計で測定した。結果、全サンプルからSAA、ATTR、B2M、IGK、IGL、Apo A1、Apo A2、Apo A4、Apo E、Gelsolin、Fibrinogen alpha chain、Lysozymeの、計12種類のアミロイド前駆タンパク質の正確な定量値を得た。免疫組織化学染色で病型が確定した27例に関しては、その結果と絶対定量の結果は矛盾しなかった。ATTRが疑われた1例は、絶対定量においてATTR症例と確定した。病型不明の2例は、IGKが有意に多く検出され、AL(kappa)アミロイドーシスの可能性が最も高いと考えられた。結果、アミロイドーシス剖検例30例全ての病型を診断することができた。
4. 正常組織とアミロイド沈着組織を用いたApolipoprotein、Lysozymeの比較定量を行ったところ、Apo A1、Apo A4、Apo E、Lysozymeは、正常組織と比較し、アミロイド沈着組織中に特異的に多く存在することが判明した。このことから、Apolipoprotein、Lysozymeは、病因となる主要なアミロイド前駆タンパク質と共存し、アミロイド線維伸長、沈着過程において何らかの役割を担っている可能性が示唆された。

以上、本論文は、アミロイドーシス病型診断のための免疫組織化学染色の精度を向上させた。また、質量分析による絶対定量法を用いることにより、より確実なアミロイドーシス病型診断を可能とした。さらに、アミロイド線維沈着、臓器障害の過程に、ApolipoproteinやLysozymeなどの複数のアミロイド前駆タンパク質が関与している可能性が示唆された。本研究は、アミロイドーシスの病態の更なる解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものである。