

「質量分析法によるアミロイドーシス診断法の確立」

熊本大学医学部附属病院 神経内科 講師 植田光晴



【研究まとめ】

アミロイドーシスとは、通常は可溶性である蛋白質が、様々な原因によりアミロイドと呼ばれる線維状の物質に変性し、細胞外に沈着する疾患群である。様々な蛋白が前駆物質となり異なるアミロイドーシスが起ることが明らかにされている。これらの前駆蛋白質の違いによりアミロイドーシスは各病型に分類され、予後や治療法も病型間で全く異なる。そのため、アミロイド原因蛋白質の同定と病型診断は本疾患の診療に必要不可欠である。現在、アミロイドーシスの前駆蛋白質を同定する手法として、各アミロイド前駆蛋白質に対する抗体を用いた免疫組織化学染色が行われることが多いが、蛋白質がアミロイド線維化することで、抗体との反応性が低下することも多く、判定が困難な場合も少なくない。また新規のアミロイドーシスや稀な病態を診断することは困難である。

本研究の目的は、質量分析法を用いて病理組織からアミロイド原因蛋白質を同定する新たな病型診断法を確立することである。

ホルマリン固定パラフィン包埋した病理検体をメンブレンスライド上に薄切し、脱パラフィン後にコンゴレッド陽性のアミロイド沈着部位をレーザーマイクロダイセクション法で分取した。特殊な可溶化剤等を用いてアミロイド原因蛋白質を可溶化しトリプシン処理でペプチド化したものを nano LC-MS/MS システムで解析した。

本解析法で病理組織からアミロイド原因蛋白質を検出可能であることが判明した。解析に用いた組織は、心臓、神経、腎臓などであったが、いずれの臓器からでもアミロイド原因蛋白質は検出可能であった。また、蛋白質を同定するためのデータベースへ情報を追加することや、質量分析の前に各種の試薬を用いることで目的の蛋白質をより検出しやすくなることも判明した。免疫染色による同定法と合わせて実施することで、より確実な診断が可能となると考えられる。

【プロジェクトの感想】

この度は、日本臨床検査医学会学術推進プロジェクト研究助成を賜り、誠に有難うございました。本研究は、当教室教授である安東由喜雄先生、アミロイドーシス診療体制構築

事業の大林光念先生（現 構造機能解析学分野 教授）、同事業の現特任教授である山下太郎先生のご指導のもと実施されました。お陰様で、熊本大学に創設されたアミロイドーシス診療体制構築事業には全国から依頼を受け、3年間で約1,000例の診断サポートを行うことが出来ました。これらの診断サポートに本研究プロジェクトで検討した質量分析法を現在活用しています。また、質量分析法による詳細な検討は大学院生の田崎雅義君（現 構造機能解析学分野 助教）が主体となり実施いたしました。

学術推進プロジェクト研究に採択されたことで、研究費をサポート頂いたことに加え、臨床検査医学会から本研究を推進して頂いたことは、とても光栄であり研究を実施する上で励みとなりました。今後も学術推進プロジェクトを是非ご継続頂き、我々を励まして頂きたいと存じます。

本研究成果によりアミロイドーシス診療の質を高め社会に還元し、また臨床検査医学会の発展に少しでも貢献できるよう今後も努力してまいります。この度は本当にありがとうございました。