

Title	Potential asthma biomarkers identified by nontargeted proteomics of extracellular vesicles in exhaled breath condensate
Author(s)	原, 伶奈
Citation	大阪大学, 2025, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/103121
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について＜/a> をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 N a m e	原 伶奈
論文題名 Title	Potential asthma biomarkers identified by nontargeted proteomics of extracellular vesicles in exhaled breath condensate (呼気凝縮液中の細胞外小胞に対するノンターゲットプロテオミクスによる喘息のバイオマーカー候補の同定)
論文内容の要旨	
<p>〔目 的(Objective)〕</p> <p>気管支喘息 (BA: Bronchial Asthma) は、症状や検査所見から総合的に診断される。簡便な補助診断として呼気一酸化窒素濃度 (F_{ENO}) が用いられるが、F_{ENO}はインターロイキン-13によるタイプ2気道炎症を反映し、BAの限られた側面の評価にとどまる。また、COPDにおいては早期の診断と介入が転帰を改善するにも拘らず、専門的医療機関以外における呼吸機能検査の施行率は低く、多くの未診断例が存在するとされる。このため、非侵襲的な新規BMの開発は、BAおよびCOPDの診断率を向上させ、病態解明へ貢献するものと考えられる。呼気凝縮液 (EBC: Exhaled breath condensate) は簡便かつ非侵襲的に採取でき、気道炎症を反映するバイオマーカー (BM) のリソースとして期待されてきたが、含有化合物の濃度が低く臨床的に有用なBMは同定されていない。今回、BAまたはCOPDにおいて、EBC中の細胞外小胞 (exhaled EV: exhaled extracellular vesicles) を用いてBAおよびCOPDのBMタンパク同定を行った。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>BA 8例、COPD 5例および健常者9例から得られた呼気凝縮液からPSアフィニティー法によりexhaled EVの単離を行い、Data-Independent Acquisition 法によるノンターゲットプロテオミクスを行った。EBC の報告として最多の 2524 個の蛋白が同定・定量され、得られたプロテオームは肺に特異性の高いタンパクで構成されていた。健常者と比較して BA では 20 種類のタンパク質が増加、34 種類が減少しており、Protein-Protein Interaction 解析では、mammalian target of the rapamycin (mTOR) のシグナル伝達経路に変動を認めた。同様に、健常者との比較において COPD では 46 種類のタンパク質が増加、67 種類が減少していた。BA と COPD における発現変動タンパクに対する Protein-Protein Interaction の結果からは、両者に共通のパスウェイの変化を認めた一方で、COPD でのみ上位に” cardiovascular disease” や” skeletal and muscular disorders” といったパスウェイの変化を認めるなど、BA および COPD における異なる病態の関与が示唆された。</p> <p>また、得られたバイオマーカータンパクと臨床指標との関連を解析し、BAでは5つのタンパク、COPDでは2つのタンパクにおいて臨床指標との相関が認められた。BAでは、S100 calcium-binding protein Pの値が1秒量 ($FEV_{1.0}$) と負の相関を示し、ribosomal protein S10の値は血中好酸球数と負の相関を示した。また、clathrin heavy chain 2をはじめとする3つのタンパクは血清免疫グロブリンE (IgE) 濃度と相関していた。またCOPDでは、14-3-3 protein thetaが$FEV_{1.0}$と正の相関を示し、galectin-related proteinは$FEV_{1.0}$と負の相関を示し、これらバイオマーカーが診断のみならず喘息の臨床的特徴の推定にも有用であることが示唆された。一方、COPDにおいてはGalectin-related protein (LGALS1) およびTyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein theta (YWHAQ)が$FEV_{1.0}$と相関を示した。</p> <p>〔総 括(Conclusion)〕</p> <p>EV の単離およびノンターゲットプロテオミクスを行うことで、BA および COPD における EBC のプロテオームを捉え、これら疾患の新規バイオマーカータンパクを同定した。炎症性肺疾患において、呼気凝縮液のプロテオームは非侵襲的な診断やフェノタイプ・エンドタイプ分類に有用である可能性がある。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 原 伶奈		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 熊ノ郷 淳
	副 査	大阪大学特任教授 横崎 雅司
	副 査	大阪大学教授 新谷 康

論文審査の結果の要旨

下気道の炎症を反映する化合物を含有するとされる呼気凝縮液に着目し、新規メッセンジャーとして注目されている細胞外小胞 (エクソソーム) を単離し最新プロテオミクス解析を行うことで、呼気凝縮液由来としては最多の 2000 種類以上の蛋白を同定し、喘息および COPD の診断的バイオマーカーを明らかにした。特に、S100-protein P (S100P) は喘息において呼吸機能と逆相関し、Ribosomal protein S10 (RPS10) は末梢血好酸球数と逆相関を示した。さらに、Peptidase D (PEPD)、Polypyrimidine tract-binding protein 1 (PTBP1)、Clathrin heavy chain 2 (CLTC) はそれぞれ血清 IgE と相関し、これらのバイオマーカーが診断のみならず喘息の臨床的特徴の推定にも有用であることを確認した。また、COPD においては Galectin-related protein (LGALS1) および Tyrosine 3-monooxygenase/tryptophan 5-monooxygenase activation protein theta (YWHAQ) が同定された。これらのバイオマーカー測定の実用化により、呼気という簡便かつ非侵襲的に採取可能な検体を用いた喘息および COPD の診断が可能となり、非専門機関を含め広く臨床現場での診断率向上が期待される。

上記につき、学位に値するものと認める。