



Title	家族性アミロイドポリニューロパチーのアミロイド線維蛋白の一次構造に関する研究
Author(s)	上地, 正雄
Citation	大阪大学, 1985, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35239">https://hdl.handle.net/11094/35239</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">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

【2】

氏名・(本籍)	上	地	正	雄
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	6997	号	
学位授与の日付	昭和	60年	10月	9日
学位授与の要件	医学研究科	生理系専攻		
	学位規則第5条第1項該当			
学位論文題目	家族性アミロイドポリニューロパチーのアミロイド線維蛋白の一次構造に関する研究			
論文審査委員	(主査) 教 授 濱岡 利之			
	(副査) 教 授 岸本 進 教 授 垂井清一郎			

論 文 内 容 の 要 旨

(目的)

家族性アミロイドポリニューロパチー (FAP) 第1型は、アミロイド蛋白沈着と重篤な自律神経障害をともなったポリニューロパチーを特色とする常染色体性優性の遺伝疾患である。組織に沈着したアミロイド蛋白の構造を決定することは、この疾患の病因を探る上で、大きな意味をもつと考えられる。最近、ポルトガルのFAP患者の臓器より得られたアミロイド蛋白が、血中のプレアルブミン (PA)と免疫学的関係をもつと報告された。以来、このアミロイド蛋白とPAとの相違が、議論の的とされてきた。

本研究は、熊本県荒尾地区におけるFAP患者の腎臓より、アミロイド線維蛋白を単離し、その一次構造を同定することを目的とする。

(方法と成績)

材料は、荒尾focusの3家系に属する4症例（1兄妹例を含む）の剖検腎臓である。対照としては、心筋梗塞で死亡した1患者の腎臓を用いた。

アミロイドフィブリルは、Glennerらの水抽出法により、腎臓より抽出し、電顕下で典型的な線維構造を確認した。これらをpH 9.6の6 M塩酸グアニジン（0.17 Mジチオスライトイールを含む）に溶解させ、セファデックスG100カラム（1.5×90cm）で、分離し、同操作で得た正常腎臓成分の溶出パターンと比較することにより、異常な主要成分として第3ピーク（P3）を検出し、更に分析した。

次に、ウサギにより作成したアミロイドフィブリルに対する抗血清を用いて、アガロースゲルによる免疫電気泳動法、及び免疫拡散法により、P3蛋白を分析したところP3蛋白とPAは、免疫学的に同一であることが判明した。また、WeberとOsbornの方法によるSDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動法で

は、P 3 蛋白は、PAのサブユニットと同じ分子量、14,000を示した。さらに、Righetti らの方法による等電点電気泳動法(pH 3.0～10)では、P 3 蛋白のfocusing patternは、4症例とも、その主要部分は、同一でpH 4.0～5.0の範囲に見られ、PAのfocusing patternと非常に類似していた。4症例とも、不純物と思われる小成分が、高いpH範囲に存在した。

次に、P 3 蛋白を、pH 8.6 の 7 M 塩酸グアニジン - 1.5 M トリスアミノメタンに溶解させ、ジチオスライトイールで還元し、ヨードアセトアマイドで、S-カルボキシメチル化した後、TSK-SW 2000 カラム(ゲルロ過HPLC)により、部分的に精製した。このようにして得た蛋白を、さらに、トリフルオロ酢酸-アセトニトリル系を用いて、Synchropak RP-Pカラム(逆相HPLC)により精製し、最終的にアミロイド蛋白を単離した。

こうして得られた、各症例のアミロイド蛋白を、トリプシン及びプロモシアンで、それぞれ消化後、同カラムで、ペプチドマッピングを行い、同様の操作で得たPAのマッピングと比較し、異常ペプチドを検出した。アミロイド蛋白、およびPAのすべてのペプチドについてアミノ酸分析を行い、前者の異常ペプチドについては、Hunkapiller らの方法を用い、Biosystems 470 A Protein Sequencerによりアミノ酸配列の自動分析を行った。その結果、アミロイド蛋白は、4症例間で、本質的な違いはなく、PAのN末端から30番目のバリンがメチオニンに置換し、かつN末端のアミノ酸の分解により、N末端がheterogeneousとなったPAの変異種であった。

#### (総括)

荒尾地区におけるFAPの独立した3家系に属する4患者(1兄妹例を含む)の腎臓よりアミロイド線維蛋白を単離し、その一次構造を同定した。その結果、主要蛋白は、患者家系の違いを問わず、正常PAのN末端から30番目のバリンがメチオニンに置換し、かつN末端がheterogeneousなPAの変異種であった。N末端のheterogeneityは、蛋白の単離操作中、あるいは、アミロイド形成中におけるproteolysisの結果と考える。

以上の結果は、極く最近、彼らにより報告されたFAPの1症例のアミロイド蛋白の構造と一致している。しかも、このPAの変異種が、PAの多型にすぎないという可能性を否定的にし、この遺伝疾患の病因に、本質的に関与していることを示唆している。

#### 論文の審査結果の要旨

本研究は、荒尾市における家族性アミロイドポリニューロパシーの独立した3家系に属する4患者の腎臓より単離したアミロイド蛋白が、いづれも、ヒトプレアルブミンの30番目のバリンが、メチオニンに置換した構造を持つ事を、明らかにした。これは、プレアルブミンの多型にすぎないという可能性を否定的にし、この遺伝疾患の病因に、本質的に関与したものである事を示唆した点で、価値があると考えられる。