



Title	Rapid disease progression correlates with instability of mutant SOD1 in familial ALS
Author(s)	佐藤, 貴子
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/46269
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名	佐藤貴子
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第19914号
学位授与年月日	平成18年2月20日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体統合医学専攻
学位論文名	Rapid disease progression correlates with instability of mutant SOD1 in familial ALS (家族性筋萎縮性側索硬化症において変異 SOD1 蛋白の不安定性は罹病期間の速さと関連する)
論文審査委員	(主査) 教授 佐古田三郎 (副査) 教授 武田 雅俊 教授 谷口 直之

論文内容の要旨

〔目的〕

筋萎縮性側索硬化症(ALS)は緩徐進行性に上位・下位運動ニューロンが障害される事により四肢および嚥下・呼吸に関する筋力の低下をきたし、呼吸器の装着なしでは死に到る神経変性疾患である。全ALSのうち約5-10%で家族歴が認められ、さらにその約20%に Cu/Zn superoxide dismutase (SOD1) 遺伝子の変異が認められる。主に常染色体優性遺伝形式をとり、現在114変異の報告がある。SOD1変異をもつ家族性ALSと臨床症状の関係については、症状の進行の速さがSOD1遺伝子変異により異なるといわれている。トランスジェニックマックスを用いた解析によりSOD1蛋白の toxic-gain-of-function が疾病の発症機序に関与していると考えられている。しかしその原因は明らかでなくヒト試料を用いた系統的解析は行われていない。我々が確立した HPLC-electrospray ionization mass spectrometry 法による変異/正常 SOD1蛋白比の解析で、以前我々は His46Arg 患者の剖検検体を用い、横隔膜、腸腰筋、脊髄、赤血球における比がそれぞれ 0.60、0.47、0.43、0.14 である事を示した。核を持たない赤血球は寿命が約 60 日であり、蛋白合成が行われない事から、変異/正常 SOD1蛋白比は、変異 SOD1蛋白の生体内での安定性を反映していると考えられる。このような背景にもとづいて、FALS患者における変異 SOD1蛋白の安定性と臨床経過パラメーター(発症年齢、罹病期間、性差)との関連を検討した。

〔方法ならびに成績〕

ALSの診断は revised El Escorial criteria of the World Federation of Neurologyに基づいて行い、同意を得て遺伝子診断を行った ALS29名の患者(22変異)洗浄赤血球を用いた。免疫沈降法を用いて SOD1蛋白の精製を行い、HPLC-ESI-MS 法で分析を行った。カラムは逆相 PLRP-S (1×50 mm) を用い、溶出液 A (2%酢酸)、溶出液 B (2%酢酸/アセトニトリル) とし、溶出液 B を 35 分、10-35%でグラジエント溶出させた。変異 SOD1蛋白と正常 SOD1蛋白のピーク高を計測し、その比を求めた。発症年齢は臨床的に症状が発現した時点とし、罹病期間は発症から呼吸不全が出現する期間とした。変異/正常 SOD1蛋白比と臨床的パラメーターとの関連について統計的解析を行った。

変異/正常 SOD1 蛋白比と発症年齢については、あきらかな相関は認められなかった。しかし、罹病期間との関係については $p=0.0029$ で相関が認められた。統いて、グループ内で比がどの数値以上もしくは以下であれば罹病期間と最も相関が認められるか検討するため、AIC 値 (value of the Akaike Information Criterion) を求めた所、AIC 値は、比が検出可能であったグループと検出不能であったグループに分けた時に最小値 ($AIC=-55.312$) となつた。つまり、上記 2 グループ間で最も罹病期間に差が認められる事が明らかになつた。

[総 括]

今回の解析では変異 SOD1 蛋白が不安定であれば罹病期間が短い傾向であることが示された。今までに、変異 SOD1 蛋白の安定性について少数のサンプルによる *in vitro* での報告は散見され、不安定性の高い apo 蛋白の変異をもつ患者は平均生存期間が短いことなどが報告されている。しかしながら、本研究のようにヒト由来の多数の変異 SOD1 蛋白を同時に解析した報告はない。ただし、Gly41Asp 患者では変異 SOD1 蛋白は検出されなかつたものの、罹病期間は 11 年にわたるといった例もあり、変異 SOD1 蛋白の安定性は罹病期間を決定する因子の一つであると考えられた。

論文審査の結果の要旨

SOD1 遺伝子変異に伴う家族性筋萎縮性側索硬化症 (FALS) は症状の進行の速さが SOD1 遺伝子変異により分類されている。しかしその原因は明らかでなくヒト試料を用いた系統的解析は行われていない。無核赤血球内では新たな蛋白合成が行われない事に着目し、我々が確立した HPLC-electrospray ionization mass spectrometry 法による赤血球内変異/正常 SOD1 蛋白比の解析は中枢神経における変異 SOD1 蛋白の安定性を反映していると考え、FALS 患者における変異 SOD1 蛋白の安定性と臨床像との関連を検討した。

29 名の患者 (22 変異) 赤血球を用い、上記方法で、変異/正常 SOD1 蛋白比を測定し臨床像との関連につき統計的解析を行つた結果、統計学的に、変異/正常 SOD1 蛋白比は罹病期間と強い関連性が認められ、変異 SOD1 蛋白の安定性は、罹病期間を決定する因子の一つであると考えられた。以上の成果は医学的発展に寄与すると考えられ、学位に値するものと認める。