



Title	Synchrotron FTIR micro-spectroscopy for structural analysis of Lewy bodies in the brain of Parkinson' s disease patients
Author(s)	荒木, 克哉
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55751
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 Name	荒木 克哉
論文題名 Title	Synchrotron FTIR micro-spectroscopy for structural analysis of Lewy bodies in the brain of Parkinson's disease patients (パーキンソン病患者脳のリビー小体に対する放射光顕微赤外分光法を用いた構造解析)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>パーキンソン病患者の脳に見られる特徴的な蛋白質凝集体であるレビー小体の主成分はα-シヌクレインである。α-シヌクレインは特定の構造をもたない天然変性タンパク質と考えられており、これがなんらかの要因でβシート構造をとることで異常な多量体形成が促進され、最終的にアミロイド線維を形成して凝集するという概念が広く知られている。最近ではこのアミロイド線維断片が脳内を伝播することで病変が拡大するということが次々と報告され、この伝播仮説も非常に注目されている。しかしながら、これらの概念は大腸菌に発現させた遺伝子組み換え蛋白質を用いた<i>in vitro</i>の実験に基づくものであり、また電子顕微鏡によるレビー小体の観察も形態情報を与えるのみであることから、人工的に作成不可能な実際のレビー小体が蛋白質レベルでどのような2次構造を有しているか、すなわち<i>in vitro</i>実験と同じようなβシート構造を有しているかどうかを確認した報告はない。パーキンソン病の発症機序の解明や治療法の開発には、この実際のレビー小体の構造を明らかにすることが非常に重要であるが、レビー小体は直径10μmととても小さく、実験室レベルの装置でその微細構造解析をすることは難しい。そこで、我々は大規模放射光施設SPring-8における放射光顕微赤外分光の手法を用いて、患者剖検脳のレビー小体に対する構造解析を行うこととした。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>パーキンソン病患者剖検脳から作製した厚さ10μmのパラフィン切片を脱パラフィン処理した上で抗リン酸化α-シヌクレイン抗体で免疫染色し、乾燥させた状態で測定に用いた。測定はSPring-8のBL43IRのビームラインにて、顕微鏡下でレビー小体を同定した上で、それを含む50μm\times50μmの範囲に対して2次元スキャンを行った。得られた各点の赤外吸収スペクトルに対して、アミドIおよびアミドIIのピークに注目して蛋白質の2次構造解析を行い、最終的に2次元マッピングされたデータとして完成させ、光学顕微鏡像との比較を行った。</p> <p>剖検脳内の実際のレビー小体はβシート構造を多く有しており、<i>in vitro</i>で作成されたアミロイド線維と似たような構造であると考えられた。さらに、典型的なレビー小体では、βシート構造の割合は一様ではなく、その中心部分(コア)よりも周辺部分(ハロー)で高いことがわかった。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>本研究は、パーキンソン病患者剖検脳の実際のレビー小体に対して、放射光顕微赤外分光法による構造解析を行った世界で初めての報告である。本研究によって、電子顕微鏡などの既存の手法では得られない蛋白質2次構造レベルでのレビー小体の構造が明らかとなり、<i>in vitro</i>実験によるパーキンソン病研究の正当性を支持する重要な結果が得られた。また、典型的なレビー小体ではβシート構造の割合が中心部分(コア)よりも周辺部分(ハロー)で高いことや中心部分には脂質が多いことがわかり、これらの成果はレビー小体の形成過程の謎の解明や異常蛋白質に対する凝集抑制治療の開発の手がかりになると期待される。</p> <p>我々が確立した生体試料に対する放射光顕微赤外分光法は、脳組織以外の臓器にも流用可能であり、生体内の微細構造における新たな知見を提供し得る可能性を有している。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 荒木 克哉	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 望月 秀樹
	副 査 大阪大学教授 高島 正一
	副 査 大阪大学教授 古峰 俊樹
<p>論文審査の結果の要旨</p> <p>パーキンソン病の患者の脳内には特徴的な蛋白質異常凝集体であるレビー小体が形成され、これが発症の重要な鍵を握ると考えられてきた。しかしながら、レビー小体に対する構造解析は光学顕微鏡や電子顕微鏡による観察のみであり、薬剤の開発に重要な蛋白質レベルの構造情報は得られていない。このことから、申請者はレビー小体における蛋白質レベルの構造情報を得るために以下の研究を行った。</p> <p>申請者は大型放射光施設SPring-8のBL43IRにおいて放射光顕微赤外分光法という手法を用いることで、蛋白質2次構造レベルでの構造解析を行い、電子顕微鏡では得られない構造の情報を得ることに成功した。今回の研究により、パーキンソン病の患者の脳内に実在するレビー小体はβシート構造を多く有していることがわかり、また、典型的なレビー小体ではβシート構造の割合が中心部分(コア)よりも周辺部分(ハロー)で高いことや中心部分には脂質が多いこともわかった。これらの成果は、レビー小体の形成過程の謎の解明につながると期待され、学位に値するものと認める。</p>	