

学位論文抄録

ヒト血清プロテオームプロファイリングによる疾患関連因子探索システムの
技術開発

(Development of a search system of biomarkers or biomarker patterns based on
the proteome profiling of human serum)

三池 浩一郎

指導教員

山村 研一教授

熊本大学大学院薬学教育部博士課程生命薬科学専攻臓器形成学
(前所属:熊本大学大学院医学研究科博士課程生理系専攻臓器形成学)

紹介教授

中瀬 直己教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医科学専攻資源開発学

学位論文抄録

[目的] 近年様々な疾患においてそのメカニズムの複雑性が明らかになっているが、既存の技術では生体内で複雑かつ同時に起こっているシグナルカスケードを把握することが容易ではない。そこで、それら疾患におけるより多くの情報を得るため、生体内のタンパク質群を準網羅的に比較解析する手法を構築し、バイオマーカー候補あるいはバイオマーカーパターンを暫定的にスクリーニングすることで、将来的に疾患の早期診断、予防法、創薬を含めた治療法の開発への応用を目指すことを目的とした。

[方法] iTRAQ 標識 (男性血清 1=標識 114、男性血清 2=標識 115、女性血清 1=標識 116、女性血清 2=標識 117)、4 種の HPLC、nano-LC、質量分析装置、そして経路解析用ソフトウェアを系統的に組み合わせることにより、試料内のタンパク質を準網羅的に比較解析した。今回の研究ではヒト血清を用いているため、予備調整時においてヒト血清を処理するための手法 (例えば多量発現タンパク質の除去など) をもちいている。

[結果] この解析システムにより、約 60 μ L の血清より 4,064 種類のタンパク質を比較解析することに成功した。これは今回用いた 4 種類の iTRAQ 全てにおいて (つまり男女血清全試料において) 同種のタンパク質が検出されていることを意味する。経路解析にあたり、男性同士では 1.2 倍以上の変動を認めないほぼ同量の発現量を示すタンパク質 1,513 種を対象とし、男女間の血清タンパク質の比較解析をおこなった。その結果、女性血清中のタンパク質量が男性血清中のそれよりも 1.5 倍以上多いものが 117 種類、逆に男性血清中のタンパク質量が女性血清中のそれよりも 1.5 倍以上多いものが 65 種類存在することが明らかになった。

[考察] 男女間で差が認められたタンパク質群を経路解析してみると、女性血清中に多いタンパク質群は乳ガン及び関節炎等女性に多く認められる疾患に関与するものであり、男性血清中に多いタンパク質群は多毛症や男性化症など、男性ホルモンが大きく関与する疾患に関わるものであった。また男女血清間でほぼ差が認められないタンパク質群は RNA 干渉や遺伝子発現制御に関わるものであり、生命維持の根幹に関わるような経路は男女間でほぼ差がないことが示唆された。

[結論] この解析システムにより、血清試料内のタンパク質を準網羅的に比較解析することに成功した。客観的、そして網羅的に全体像を把握することにより、疾患に関与するタンパク質あるいはタンパク質群を暫定的にスクリーニングすることが期待できる。