

三池 浩一郎 氏の学位論文審査の要旨

論文題目

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)

近年様々な疾患の発症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、申請者は、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ことで、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探索するシステムの開発を試みた。

今回の研究では、申請者は、試料として健常者（医学部学生のボランティア）から採取したヒト血清を用い、多量発現タンパク質の除去などを行った後、iTRAQ 標識、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。この解析により、約 60 μ L の血清から 4,064 種類のタンパク質を比較解析することに成功した。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行った結果、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 種類存在することを明らかにした。経路解析の結果、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等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。以上の結果より、この解析システムが、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有効であることを示した。

審査では、①試料を採取した対象者の年齢や体重等の均一性や試料間のばらつき、②試料として血清を用いることの妥当性、③試料タンパク質の分解を抑えるための低温化とプロテアーゼ阻害剤の有効性、④カラム操作によりアルブミンなどの多量タンパク質を除去することの意義と問題点、⑤iTRAQ 試薬によるペプチドの標識や TOF/TOF 解析等の手法的問題点、⑥量の変化のみならずタンパク質修飾化の解析への応用の可能性、⑦先天性疾患やガンなどの患者試料を用いて解析の有効性を検証する必要性、⑧将来臨床応用する際のコスト、時間、簡便性あるいは再現性の問題、などについて活発な質疑応答が行われ、申請者からは適切な回答があった。

本研究は、客観的かつ網羅的に血清タンパク質の全体像を把握する手法を開発し、今後さらに改良を加えることで、疾患に関与するタンパク質あるいはタンパク質群を探索する技術を確立し、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可能にする先駆けとなる研究であり、学位に値すると評価した。

審査委員長 分子細胞制御学担当教授

小椋 光

審査結果

学位申請者名：三池 浩一郎

専攻分野：臓器形成学

学位論文題名：

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)

指導： 山村 研一 教授

判定結果：

可 不可

不可の場合：本学位論文名での再審査

可 不可

平成22年12月14日

審査委員長 分子細胞制御学担当教授

小椋 光

審査委員 分子遺伝学担当教授

三池 雄一

審査委員 分子生理学担当教授

富澤 一仁

審査委員 細胞情報薬理学担当教授

中西 宏之