

学位論文要約

液体クロマトグラフィー質量分析法を用いた疾患関連血漿中 IgG 結合成分の検討

DM15016 土岐 卓也

【背景】劇症 1 型糖尿病 (FT1DM) は 1 型糖尿病の中で、膵島関連自己抗体の存在が確認されない特発性 1 型糖尿病に分類される。しかし、特発性 1 型糖尿病は既知の抗体が確認されないという分類であるため、未知の抗体に関しては一考の余地がある。FT1DM が自己免疫学的機序と関連があるか検討するためには、血漿中の免疫グロブリンと結合した蛋白質を網羅的に同定・解析する必要があると考えた。

【目的】本研究では、Protein G Magnet Beads と低分子量蛋白質抽出技術を用いて、血漿中の IgG 結合蛋白質を抽出し、還元アルキル化、トリプシン消化、脱塩処理後、液体クロマトグラフィー質量分析 (LC-MS) による蛋白質同定・解析法を応用した低分子量蛋白質・ペプチドの同定・解析方法により、FT1DM 患者に特有の IgG 結合蛋白質を同定する事を目的とした。

【検討 1】血漿中の IgG を抽出するために用いる Protein G Magnet Beads と血漿の反応効率を検討した。血漿と Beads の反応比率、反応時間、反応温度を検討し、Beads100 μ L 当たり血漿 10 μ L を室温で 1 時間反応させることとした。

【検討 2】健常者 6 例の血漿中の IgG 結合蛋白質抽出検体を Human Proteome Organization で行われている、Human Plasma Proteome Draft of 2017 (HPPD) と比較した。健常者 6 例で同定された蛋白質 340 種類中 116 種類の蛋白質が、HPPD で同定されていない蛋白質だった。

【検討 3】FT1DM 4 例と健常者 6 例の IgG 結合蛋白質を比較し、Fibrinogen 等 6 種類の蛋白質の断片ペプチド 11 種類が FT1DM 検体のみで認められた。

【考察】Protein G Magnet Beads と LC-MS を用いた IgG 結合蛋白質の網羅的な同定方法が確立できた。さらに膵島関連自己抗体が陰性である FT1DM の血漿から種々の抗原ペプチドを同定することに成功した。本研究で示した方法により、様々な自己免疫疾患の新たな抗体を発見する可能性があり、今後さらなる研究・分析の蓄積に期待が持たれる。