

学位論文審査結果の要旨

学位申請者 氏名	徳 永 雄 平
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 杉 元 康 志
	副査 鹿児島大学准教授 大 塚 彰
	副査 佐賀大学 教授 渡 邊 啓 一
	副査 佐賀大学 教授 光 富 勝
	副査 鹿児島大学 教授 玉 置 尚 徳
審査協力者	
題 目	<p>リゾチーム及び好塩性タンパク質を用いたアミロイド線維形成機構の解明 (Studies on the mechanisms of amyloid fibril formation of lysozyme and a halophilic protein)</p>
<p>近年不良化したタンパク質が生体内に蓄積し、アミロイド病と言われる重篤な疾患を引き起こし、高齢化社会を迎えた我が国でも大きな社会問題となっている。これらの不良化したタンパク質は特異的な構造を持つアミロイド線維を形成し、神経細胞などに毒性を示すことが知られている。これまでアミロイド線維の形成機構については広く、詳しく研究されているが、まだ不明な点が多く、疾病の治療・予防には機構の解明が欠かせない。</p> <p>そこで本研究はヒトで実際、アミロイド線維を形成し、アミロイド病を起こすリゾチームとアミロイド線維を作り難いとされる可溶性の高い好塩性タンパク質（HP）を用いてアミロイド線維形成機構の解明に取り組み、いくつかの重要な知見を得た。</p> <p>まず、ヒトリゾチームのホモログであるニワトリ卵白リゾチーム（HEWL）を使ってアミロイド線維形成に重要な分子内領域の同定を行った。その結果、リゾチームのα-ドメインとβ-ドメインを繋ぐ9個のアミノ酸（54G-62W、Kペプチドと命名）からなる領域がアミロイド線維形成に必須であることを明らかにした。その中でも、62Wは最も</p>	

重要で、これを他のアミノ酸に置換したり、欠失させるとアミロイド線維を形成しなくなった。ヒトではこの配列の62Wは63Yに相当するが、それでもアミロイド線維を形成することからC-末端側の芳香族のアミノ酸が重要と考えられ、二次構造解析から芳香族アミノ酸が整列した β -クロス構造をなすものと推定された。

リゾチームは構造的に高い安定性を有しており、通常の条件ではアミロイド線維を作り難いが、酸性下で高温に晒すと酸による部分分解と構造変化が進み、分子内部にあるKペプチド領域が分子表面に露出し、分子間相互作用、集合、凝集そしてプロト線維、成熟した線維と成長するものと結論した。ヒトで知られているアミロイド病を起こすリゾチーム変異体はこのKペプチド領域の中やその周辺にアミノ酸変異が起こっており、そのため構造的な安定性が失われ、アミロイド線維を形成しやすくなっていると推察された。

一方、可溶性の高い好塩性タンパク質（HP）は分子表面には酸性アミノ酸が豊富にあり、分子同志の会合が妨げてられており、アミロイド線維を作り難いと考えられる。しかし、そのようなHPでも酸性・高温下で、あるいは2,2,2-Trifluoroethanol（TFE）存在下で容易にアミロイド線維を形成した。HPにはアミロイド線維形成にはいくつかの重要な領域があり、リゾチームとは異なっていた。TFEは加水分解することなくアミロイド線維を形成することから、HPの構造変化によって内部の疎水性領域が表面に移行することにより、いくつかの領域が関係した線維を形成するものと推定された。

アミロイド線維形成するタンパク質には共通のアミノ酸配列はなく、それぞれのタンパク質自体が持つ分子内にある特異的な配列が関係しており、これが遺伝的変異や何らかの環境変化で構造が不安定化して、アミロイド線維が形成していくと思われる。本研究でのKペプチドの同定はリゾチームのアミロイド線維形成機構の解明に大きく寄与することとなり、また、HPはアミロイド線維形成に関し、いくつかの領域が関係するという新しい知見を提供するこのとなった。

以上のように、本論文はアミロイド線維の形成機構についてリゾチームと好塩性タンパク質を使って詳細に解析し、両タンパク質には線維形成に重要な領域が存在し、タンパクの立体構造変化によりその領域の表面への露出が線維形成のトリガーになることを明らかにした。よって本研究はこれまで不明であったアミロイド線維形成機構に重要な知見を提供し、タンパク質の品質管理の問題に大きなインパクトを与えた。タンパク質化学だけでなく、疾病学や予防学にも大きく貢献するものであった。したがって、博士の学位論文として十分な価値を持つと判定した。