京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	小 森 美 華
論文題目	Proteomic pattern analysis discriminates among multiple sclerosis-related disorders （プロテオミクスパターン解析手法を用いた多発性硬化症関連疾患の鑑別の試み）		

（論文内容の要旨）

多発性硬化症(MS)とその関連疾患は、中枢神経系を主座とする炎症性自己免疫疾患である。病気の進行形、病変の分布や性状により病態は異なり、治療方針を決定するために早期の診断は重要である。一方、共通する臨床所見が多く、互いに鑑別に苦慮する場合がある。例えば、視神経脊髄炎（NMO）の病理学的特徴として、アストロサイトの破壊、アクアポリン-4(AQP4)消失が認められ、血中抗AQP4抗体がNMOの診断確定に大きく寄与しているが、抗体陰性例も多く、現状ではMSとの鑑別のための診断基準は十分でない。近年プロテオミクスアプローチを用いた疾患バイオマーカー探索の手法が開発され、脳脊髄液を対象として様々な神経疾患の診断や病態理解に役立てる試みがなされている。本研究では、マトリックス支援レーザー脱離(MALDI)型質量分析計と磁性ビーズを組み合わせたシステム(ClinProt)を用い、MS関連疾患の疾患バイオマーカー探索を試みた。

対象として、MS、抗AQP4抗体陽性NMOスペクトラム病（SP-NMOSD）、抗体陰性NMOスペクトラム病（SN-NMOSD）、一次進行型多発性硬化症(PPMS)、筋委縮性側索硬化症(ALS)、他の炎症性神経疾患（OIND）群を含む107例を第一群とした。細胞分画を除去したのち凍結保存し、実験時に溶解した脳脊髄液5μlから、磁性ビーズを用いてタンパク質/ペプチドを精製、溶出し、MALDI 型質量分析計を用いて解析を行った。取得データは標準化した後、多変量解析およびパターン解析を行った。また、第二群として、各種疾患群を含む 84 例の脳脊髄液を採取し同様の解析を施行した。その結果、質量数1,000-20,000Daの範囲において、各脳脊髄液サンプルから安定したスペクトラムを得た。第一群の解析の結果、SP-NMOSD 群は特に再発期に、他の疾患群とサポートベクターマシン法にて 90%以上の交差検定値での鑑別が可能であった。スペクトラム中の 5 つのピークは、RRMS 群から SP-NMOSD 群を、受信者動作特性(ROC)法における曲線下面積（AUC）スコア 0.95 以上の値で群別することができた。この結果は第二群でも同様であった。さらに、パターンマッチング法により各疾患群のスペクトラムから樹状図を作成した結果、SN-NMOSD 群は、SP-NMOSD 群と類似した脳脊髄液プロテオミクスパターンを持ち、RRMS 群と再発寛解に関わらず区別できた。

これらの結果から、脳脊髄液プロテオミクスパターン解析は、MS のバイオマーカー探索に有効であり、また、脳脊髄液プロテオミクスパターンから MS 関連疾患の診断パネルを構築できる可能性が示された。本研究結果をもとに、さらなる解析をすることで、MS 関連疾患をより鋭敏に、より特異的に診断し、治療への反応性なども含めた臨床現場で治療方針決定に役立つものと考えられる。

（論文審査の結果の要旨）

多発性硬化症(MS)とその関連疾患は、中枢神経系を主座とする炎症性自己免疫疾患である。治療方針の違いから早期の診断は重要であるが、共通する臨床所見が多く、鑑別に苦慮する場合がある。本研究では、MALDI-TOF型質量分析計と磁性ビーズを組み合わせたクリンプロットシステムを用い、MS関連疾患のバイオマーカー探索を試みた。

計107例の髄液を解析した結果、抗アクアポリン4抗体陽性視神経脊髄炎（SP-NMOSD）群の髄液プロテオミクスプロファイルは特に再発期に、他の疾患群とサポートベクターマシン法にて90%以上の交差検定値で識別が可能であった。スペクトラム中の5つのピークは、再発寛解型MS（RRMS）群からSP-NMOSD群を、曲線下面積スコア0.95以上の値で鑑別することができた。さらに、パターンマッチング法により各疾患群のスペクトラムから樹状図を作成した結果、抗体陰性NMOSD群は、SP-NMOSD群と類似した髄液プロテオミクスパターンを持ち、RRMS群と再発寛解に関わらず区別できた。

これらの結果から、髄液プロテオミクスパターン解析は、MS のバイオマーカー探索に有効であり、MS 関連疾患の診断パネルを構築できる可能性が示された。

以上の研究は MS 関連疾患の病態解明に貢献し、臨床診断および治療方針決定に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 23 年 12 月 27 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日： 年 月 日 以降