



岐阜大学機関リポジトリ

Gifu University Institutional Repository

遺伝性ムコ多糖症の分子病態解析と新たな治療法開発への展開 - sulfatase familyの構造と機能解析を中心として -

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2008-03-12 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 祐川, 和子 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12099/434

(3) 研究成果の総括 (平成 10,11 年度)

本研究プロジェクトは、ムコ多糖症に対する安全で有効な治療法開発を目的として本症の分子病態解析を行うものである。特に sulfatase 欠損症である MPS II 型と MPS IVA 型を中心に解析を進める。平成 10, 11 年度の本研究においては、ムコ多糖症 IVA 型の原因酵素 GALNS 蛋白質を homology modeling 法にて構造モデルを構築し、臨床型と遺伝子変異との関連性について構造モデル上からの原因を解析した。さらにムコ多糖症 IVA 型についてはモデルマウス作成に取り掛かった。まずマウス Galns cDNA およびゲノム遺伝子をクローニングし、ノックアウトマウス作成に供した。またムコ多糖症 II, IVA 型については継続して国内外の患者遺伝子変異解析を行い、臨床像との関連性、民族の特性を明らかにするとともに、保因者診断、出生前診断への応用についても検討した。これらの結果を以下に要約し、報告書 A-J を掲載した。

1. ムコ多糖症 IVA 型は Sulfatase family の 1 つである N-acetylgalactosamine-6S sulfatase (GALNS) 欠損症である。ヒト sulfatase はアミノ酸配列の 20-30% において高度に保存された領域を持つ。そしてこれまでに Arylsulfatase A と N-acetylgalactosamine-4S sulfatase の X 線構造解析がなされている。①これらの構造を鋳型として homology modeling 法を用いて GALNS 酵素蛋白質の構造モデルを構築した。②ムコ多糖症 IVA 型患者の GALNS 遺伝子を構造モデル上から原因を解析すると、重症型では 1) 疎水性コアや packing の破壊、2) 塩橋の消失、3) 活性部位への影響が示されたのに対し、軽症型では構造表面での変異が高比率で確認された。以上の結果は論文として現在投稿中である。(報告 A)
2. ムコ多糖症 IVA 型 (GALNS 欠損症) モデルマウスを作成するにあたって、マウス Galns ゲノム解析を行い、全エクソン・イントロン境界領域の配列、プロモーター領域の配列、転写開始点を決定した。さらにゲノム遺伝子断片を Neo+TK ベクターに組み込み、ES 細胞に導入し、positive clone を得た。現在キメラマウスを作成中である。モデルマウスの誕生に期待したい。(報告 B)
3. ムコ多糖症 II 型 (Hunter 病) は X 染色体劣性遺伝形式をとり、男児に発症する。女兒への浸透率は極めて低く、欧米の 4 例の報告のみであったが、本邦にて 2 例の女兒例を経験した。2 例とも兄妹例で母親が保因者であり、父親由来の正常対立遺伝子が偏って不活化されていることを確認した。本研究では 1 家系の兄妹例についての解析結果を報告する。(報告 C)

4. これまでの継続した研究からムコ多糖症 IVA 型については、世界 20 カ国より 180 症例の検体を集めて遺伝子解析を進め、90 種類以上の変異を同定し、臨床型との関連性を考察している。本研究ではさらに先に明らかにした common mutation（日本人における double gene deletion、欧米人に見られる I113F 変異、人種を越えた R386C 変異、コロンビア人における G301C 変異、Irish/British に見られる I113F 変異）に加えて、軽症型変異 D60N がフィンランド人にのみ見出されることを確認した。患者の遺伝的背景や人類学的背景を検討する上で有用な結果を得た。
(報告 D-G)
5. ムコ多糖症の早期診断を目的として、マススクリーニングの試験的研究を行っているが、条件の検討と新生児早期診断法の開発を検討した。(報告 H-I)
6. リソソーム病の診断システムの開発として、TOF/MS による sphingolipid の分析法を検討した。(報告 J)

以上の研究は平成 10、11 年度文部省科学研究費補助金（基盤研究(C)(2)）によって行われました。。本研究の成果は、共同研究として構造モデルを構築下さいました大阪大学蛋白質研究所教授中村春木先生のご指導の賜と感謝致します。また遺伝子クローニングと変異解析およびモデルマウス作成を精力的に進めていただいた戸松俊治博士、福田誠司博士、大学院生 Adriana M Montaña さん、そして構造解析にご協力下さった加藤善一郎博士をはじめ教室各研究者の惜しめない協力によるものであります。さらに本研究推進にあたり、貴重なご助言をいただいた折居忠夫名誉教授、近藤直実教授および貴重な症例をご紹介いただきました国内外の諸先生方にあらためて感謝いたします。

平成 12 年 3 月 研究代表者 祐川 和子