

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究年度終了報告書

ニーマンピック病の臨床および病態に関する研究

分担研究者：高橋 勉（秋田大学大学院医学系研究科医学専攻小児科学講座教授）

研究要旨

ニーマンピック病は、ライソゾームにおける水解酵素 ASM (A/B 型) あるいは膜蛋白 NPC1 あるいは NPC2 (C 型) の異常でスフィンゴミエリンあるいはコレステロールがライソゾームに蓄積し、肝脾腫・肺機能異常・多彩な神経症状などを示す稀な遺伝性疾患である。脂質蓄積減少をもたらす新たな薬物療法の開発が期待されている。最近、Histone Deacetylase (HDAC) Inhibitor の C 型細胞への蓄積脂質減少効果が示された。変異 NPC1 蛋白量の発現量増強による効果とされているが、C 型細胞の二次的 ASM 欠損に対する改善効果も考慮され、本研究ではコレステロール輸送への ASM の関与に関して検討した。

A. 研究目的

ニーマンピック病 A/B 型は、ライソゾーム酸性スフィンゴミエリナーゼ (Acid sphingomyelinase: ASM) 異常によりライソゾームにスフィンゴミエリンが蓄積し、二次的にコレステロールが蓄積する。一方、ニーマンピック病 C 型は細胞内コレステロール輸送に関与する NPC1 あるいは NPC2 の異常によりライソゾームに遊離コレステロールが蓄積する。ニーマンピック病 C 型では二次的に ASM 活性低下とスフィンゴミエリン蓄積が観察される。

最近、ニーマンピック病 C 型細胞の脂質蓄積に対して Histone Deacetylase (HDAC) Inhibitor の効果が報告された。変異 NPC1 蛋白の発現量増強による効果とされている。しかし、HDAC Inhibitor は ASM 活性上昇作用もあり、C 型細胞に伴う二次的 ASM 欠損に対する酵素活性上昇効果もある。本研究では、コレステロール輸送についての ASM の関与に関して検討した。

B. 研究方法

正常皮膚線維芽細胞および C 型皮膚線維芽細胞に対して、HDAC Inhibitor として valproic acid (2 μ M)、vorinostat (10 μ M)、panobinostat (75 μ M) を加えコレステロール蓄積を Filipin 染色および Amplex Red cholesterol quantification (Fluoroscan Asent system) にて評価した。ASM のコレステロール輸送への関与を調べるために ASM Inhibitor として desipramine (50 μ M) を追加で加え検討した。

C. 研究結果

研究結果は以下の通りであった。

1) C 型培養皮膚線維芽細胞に観察される遊離コレステロール蓄積は、valproic acid、vorinostat、panobinostat により filipin 染色で明らかに減少することが観察された。しかし、desipramine を加えることでコレステロール蓄積が再び観察された。この結果は、HDAC Inhibitor による細胞内コレステロール輸送の改善には、ASM 活性の存在が重要であることが分かった。

2) C 型皮膚線維芽細胞に vorinostat および panobinostat を加えて、さらに追加として

desipramine を加えてその前後で細胞内コレステロール量を Amplex Red cholesterol quantification (Fluorocan Asent system)で定量した。その結果 desipramine 追加した細胞では優位に細胞内コレステロール量の増加を認めた。

D. 考察

C 型細胞の蓄積脂質に対する HDAC inhibitor の減少作用は ASM 抑制剤である desipramine により軽減され、消失した脂質が再び増加した。その結果は細胞内でコレステロール輸送に關与する NPC1 および NPC2 の作用には ASM 活性の存在が大きいことが分かった。

E. 結論

細胞外由来の LDL コレステロールは LDL 受容体からライソゾームに至り酸性リパーゼにより遊離コレステロールとなる。その後のライソゾームから細胞質への輸送に C 型ニーマンピック病の原因である NPC1 および NPC2 が關与する。本研究によりこの輸送には A/B 型ニーマンピック病の欠損酵素である ASM が關与している可能性がある。従って、C 型ニーマンピック病の細胞内脂質蓄積の改善には、二次的 ASM 欠損を改善する必要がある。

F. 研究発表

< 論文 >

- 1) Takamura A, Sakai N, Shinpoo M, Noguchi A, Takahashi T, Matsuda S, Yamamoto M, Narita A, Ohno K, Ohashi T, Ida H, Eto Y: The useful preliminary diagnosis of Niemann-Pick disease type C by filipin test in blood smear. *Mol Genet metab* **111**: 401-404, 2013

< 著書 >

- 1) 高橋 勉 : Niemann-Pick 病、新領域別症候群シリーズ No.23、血液症候群 (第 2 版) その他の血液疾患を含めて、日本臨床、日本臨床社、491-75、2013.
- 2) 小山千嘉子、高橋 勉 : ニーマンピック病 A, B 型、新領域別症候群シリーズ No.20、先天代謝異常症候群(第 2 版)下 病因・病態研究、診断治療の進歩、日本臨床、日本臨床社、472-75、2012.

< 学会発表 >

- 1) Hirayama, M., Oyama, C., Noguchi, A., Takahashi, T. Histone deacetylase inhibitors need acid sphingomyelinase to reduce the abnormal storage of cholesterol in Niemann-Pick C1 cells. The 3rd Asian congress for inherited metabolic diseases, Chiba, Japan, Nov. 2013.

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

