

- Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- 31) Tsukimura T, Takada M, Aizawa Y, Suzuki T, Katayama M, Sakuraba H, Togawa T.: Comparative study on the content of mannose 6-phosphate residues of recombinant lysosomal enzymes. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- 32) Itoh K, Tsuji D, Namba K, Yamaguchi S, Imataki I, Ishimaru N, Sakuraba H.: Establishment of human neural cell culture systems induced from ips cells derived from Tay-Sachs disease patient for drug discovery. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- 33) Kitakaze K, Kawano K, Tsuji D, Asanuma D, Kamiya M, Urano Y, Sakuraba H, Itoh K.: Imaging of enzyme replacement with a novel fluorescent probe and purified lysosomal β -hexosaminidase carrying M6P-type glycans. The 3rd Asian Congress for Inherited Metabolic Diseases / The 55th Annual Meeting of The Japanese Society for Inherited Metabolic Diseases. Chiba, Japan, Nov. 2013
- 34) 櫻庭 均：ファブリー病疑い例から確定診断に至るプロセスに関して, 第 109 回日本皮膚学会総会, 大阪, 2010. 4
- 35) 櫻庭 均：ファブリー病の基礎と臨床—診断と治療のための小知識, 第 51 回日本神経学会総会, ランチョンセミナー, 東京, 2010. 5
- 36) 櫻庭 均：ファブリー病を知り, 診断と治療に生かすために, 第 53 回日本腎臓学会学術総会, イブニングセミナー, 神戸, 2010. 6
- 37) 櫻庭 均：ファブリー病の診断と治療へのアプローチ, 第 34 回日本小児皮膚科学会学術大会, ランチョンセミナー, 松山, 2010. 7
- 38) 櫻庭 均：ファブリー病診断と治療のためのロードマップ, 仙台 Fabry 病研究会, 仙台, 2010. 10
- 39) 櫻庭 均：ファブリー病の ABC: 診断と治療のために, 金沢ファブリー病研究会, 金沢, 2010. 10
- 40) 櫻庭 均：ファブリー病の診断から治療へ, 多摩ファブリー病研究会, 東京, 2010. 12
- 41) 櫻庭 均：ファブリー病の診断と治療のバイオマーカー: グロボトリアオシルスフィンゴシン, 第 5 回ファブリー病シンポジウム, 東京, 2011. 2
- 42) 櫻庭 均：ファブリー病をよく知るために: 分子病態から診断, 治療まで, 第 5 回埼玉酵素補充療法研究会, 大宮, 2011. 3
- 43) 櫻庭 均：ファブリー病の診断治療戦略—最新のスクリーニング結果報告, 第 55 回日本腎臓学会学術総会, 横浜, 2011. 6
- 44) 櫻庭 均：ファブリー病: その早期診断—早期治療のために, 第 5 回神奈川酵素補充療法研究会, 横浜, 2011. 7
- 45) 櫻庭 均：ファブリー病治療薬研究の最前線, 第 7 回日本ファブリー病フォーラム, 東京, 2011. 7
- 46) 櫻庭 均：ファブリー病の診断と治療

- Update, 第 3 回久留米ファブリー病研究会, 久留米, 2011. 7
- 47) 櫻庭 均: Fabry 病の診断と治療, 第 37 回皮膚かたち研究会 ランチョンセミナー, 東京, 2011. 7
- 48) 櫻庭 均: ファブリー病の診断と治療の最前線, ファブリー病シンポジウム in 福岡, 福岡, 2011. 9
- 49) 櫻庭 均: 心疾患に潜むファブリー病—その診断・治療ストラテジー, 第 5 回 Trends of Cardiovascular Disease in Nagasaki, 長崎, 2011. 11
- 50) 櫻庭 均: ファブリー病～早期診断の重要性～, 愛知ファブリー病研究会, 愛知, 2012. 1
- 51) 櫻庭 均: 神経内科医が遭遇する疾患 ファブリー病, 第 53 回日本神経学会学術大会, 東京, 2012. 5
- 52) 櫻庭 均: 蛋白尿に潜む疾患 ファブリー病, 第 55 回日本腎臓学会学術総会, 横浜, 2012. 6
- 53) 櫻庭 均: 分子設計に基づくファブリー病新規治療戦略, 第 57 回(社)日本透析医学会 学術集会・総会, 札幌, 2012. 6
- 54) 櫻庭 均: ファブリー病の分子病態と腎障害, 第 47 回日本小児腎臓病学会学術集会, 東京, 2012. 6
- 55) 櫻庭 均: 日常の診療に潜むファブリー病: 病態・診断・治療, 沖縄ファブリー病セミナー, 沖縄, 2012. 8
- 56) 櫻庭 均: 隠れ心筋症? ファブリー病～その診断と治療の最先端～, 第 123 回みなとセミナー 第 15 回心臓病センター病診連携学術講演会, 横浜, 2012. 8
- 57) 櫻庭 均: ファブリー病 診断と治療の実際, 第 18 回 日本腹膜透析医学会 学術集会・総会, 徳島, 2012. 9
- 58) 櫻庭 均: 酵素・低分子化合物複合体形成機構の熱力学的・構造学的検討, 第 1 回日本シャペロン療法研究会 遺伝性難病の治療を目指して, 東京, 2012. 11
- 59) 櫻庭 均: ファブリー病の診断方法と最近の話題. 京滋ファブリー病セミナー, 京都, 2012. 12
- 60) 櫻庭 均: こんな症状を認めたら… ファブリー病を理解し, 診断・治療する. 川崎ファブリー病セミナー, 川崎, 2013. 2
- 61) 櫻庭 均: ファブリー病の診断方法と最近の話題. 第 2 回大阪ファブリー病セミナー, 大阪, 2013. 2
- 62) 櫻庭 均: ファブリー病 診断から治療まで. 福島ファブリー病セミナー, 福島, 2013. 2
- 63) 櫻庭 均: 日常診療に潜在するファブリー病: 病態・診断・治療. 三重ファブリー病セミナー, 三重, 2013. 2
- 64) 櫻庭 均: リプレガル特定使用成績調査中間報告. 第 7 回ファブリー病シンポジウム, 東京, 2013. 3
- 65) 櫻庭 均: 日常診療で遭遇するファブリー病 病態から治療まで, 京橋ファブリー病セミナー, 東京, 2013. 3
- 66) 櫻庭 均: ファブリー病を疑うとき 診断・治療について, ファブリー病セミナー in 新潟, 新潟, 2013. 5
- 67) 櫻庭 均: ファブリー病の治療戦略. 熊本ファブリー病フォーラム, 熊本, 2013. 5
- 68) 櫻庭 均: ファブリー病の新しい治療薬開発に向かって. ふくろうの会 東京シンポジウム 2013, 東京, 2013. 6
- 69) 櫻庭 均: よくわかるシリーズ ファブリー病: ファブリー病の診断法, 第 58 回日本透析医学会 学術集会・総会, 福岡, 2013. 6
- 70) 櫻庭 均: ファブリー病の最近の話題. ファブリー病セミナー 腎臓 Special Lecture, 福岡, 2013. 6
- 71) 櫻庭 均: 心疾患の中に潜在するファブリー病 ファブリー病の病態・診断について

- て. 第 23 回 Educational Seminar in Cardiology, 東京, 2013. 7
- 72) 櫻庭 均: 日常診療に潜在するファブリー病: 病態・診断・治療. 福井ファブリー病セミナー, 福井, 2013. 7
- 73) 櫻庭 均: ファブリー病の最近の話題. 川口ファブリー病セミナー, 川口, 2013. 7
- 74) 櫻庭 均: ファブリー病の診断方法と最近の話題. 秋田ファブリー病セミナー, 秋田, 2013. 8
- 75) 櫻庭 均: ファブリー病へのアプローチ 診断・治療可能な希少疾患を見逃さないために. 西湘ファブリー病セミナー, 神奈川, 2013. 10
- 76) 櫻庭 均: ファブリー病を知ろう 病態・診断・治療. 函館ファブリー病セミナー, 函館, 2013. 10
- 77) 櫻庭 均: ファブリー病 その診断, 治療の核心に迫る. 弘前ファブリー病セミナー, 青森, 2013. 10
- 78) 櫻庭 均: 治療可能な希少疾病ファブリー病~酵素補充療法の実際~. 第 40 回 日本小児臨床薬理学会 学術集会, 横浜, 2013. 11
- 79) 菅原佳奈子, 櫻庭 均: 酵母で生産した新規酵素のファブリー病モデルマウス末梢神経および腎臓に対する効果の検討. 第 52 回小児神経学会総会, 福岡, 2010. 5
- 80) 月村考宏, 千葉靖典, 川島育夫, 渡邊 徹, 児玉 敬, 福重智子, 金蔵拓郎, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭 均: メタノール資化性酵母で生産した組み換えヒト α -ガラクトシダーゼのファブリー病マウスに対する効果. 第 52 回日本先天代謝異常学会. 大阪, 2010. 10
- 81) 黒田麻祐子, 鈴木俊宏, 小谷政晴, 川島育夫, 兎川忠靖, 伊藤孝司, 千葉靖典, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均: Sandhoff 病モデルマウス由来ニューロスフェア株の樹立とその応用, 第 52 回日本先天代謝異常学会, 大阪, 2010. 10
- 82) 児玉 敬, 兎川忠靖, 川島育夫, 月村考宏, 鈴木俊宏, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均: 臓器組織の Lyso-Gb3 はファブリー病の酵素補充療法における治療のバイオマーカーになり得る, 第 52 回日本先天代謝異常学会, 大阪, 2010. 10
- 83) 川島育夫, 月村考宏, 児玉 敬, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 渡邊 徹, 千葉靖典, 福重智子, 金蔵拓郎, 田島陽一, 芝崎 太, 櫻庭 均: メタノール資化性酵母により産生した組換えヒト α -ガラクトシダーゼ A はファブリー病モデルマウスに蓄積する基質を分解する, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 84) 兎川忠靖, 月村考宏, 川島育夫, 田中利絵, 児玉 敬, 鈴木俊宏, 櫻庭 均: ファブリー病のハイリスク・スクリーニング診断システムの構築, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 85) 月村考宏, 田島陽一, 川島育夫, 千葉靖典, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭 均: 酵素増強療法が有効な変異 α -ガラクトシダーゼと基質アナログの分子間相互作用解析, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 86) 渡邊 徹, 高岡 友紀, 櫻庭 均, 地神芳文, 千葉靖典: メタノール資化性酵母 *Ogataea minuta* によるヒトサポシン B の生産, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 87) 田島陽一, 川島育夫, 芝崎 太, 千葉靖典, 月村考宏, 櫻庭 均: 分子設計によるファブリー病に対する新しい酵素薬の開発, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 88) 児玉 敬, 兎川忠靖, 川島育夫, 月村考宏, 鈴木俊宏, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均: ファブリー病治療のためのバイオマーカーとしての臓器組織中 Lyso-Gb, 第 83 回

- 日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 89) 黒田麻祐子, 鈴木俊宏, 小谷政晴, 田島陽一, 川島育夫, 兎川忠靖, 辻 大輔, 伊藤孝司, 千葉靖典, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均: Sandhoff 病モデルマウス由来ニューロスフェア株を用いた酵素補充モデルの構築, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 90) 黒田麻祐子, 鈴木俊宏, 小谷政晴, 田島陽一, 川島育夫, 兎川忠靖, 辻 大輔, 伊藤孝司, 千葉靖典, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均: Sandhoff 病に対する ex vivo 遺伝子治療モデルの開発, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 91) 北風圭介, 松岡和彦, 辻 大輔, 櫻庭 均, 田島陽一, 伊藤孝司: 大腸菌発現系によるヒト GM2 activator protein の獲得およびヒト β -hexosaminidase との相互作用の解析, 第 83 回日本生化学会大会, 神戸, 2010. 12
- 92) 櫻庭 均, 齋藤 静司, 大野 一樹, 兎川忠靖, 鈴木俊宏, 月村考宏: ファブリー病データベースの構築, 第 15 回日本ライソゾーム病研究会. 東京, 2010. 12
- 93) 櫻庭 均: 臨床遺伝学講座では, この様な研究をしています, 臨床遺伝学公開シンポジウム 2011. 東京, 2011. 3
- 94) 兎川忠靖: Lyso-Gb3 はファブリー病の有用なバイオマーカーです. 臨床遺伝学公開シンポジウム 2011. 東京, 2011. 3
- 95) 月村考宏: 酵母を利用したファブリー病治療薬の開発を目指します, 臨床遺伝学公開シンポジウム 2011. 東京, 2011. 3
- 96) 鈴木俊宏: 組み換え酵素薬の取り込みに関わる分子を探索しています, 臨床遺伝学公開シンポジウム 2011. 東京, 2011. 3
- 97) 黒田麻祐子: ザンドホッフ病における神経系細胞に対する酵素補充モデルを構築しました. 臨床遺伝学公開シンポジウム. 東京, 2011. 3
- 98) 児玉 敬: 脳障害を伴うリソゾーム病のバイオマーカーを探索しています. 臨床遺伝学公開シンポジウム 2011. 東京, 2011. 3
- 99) 児玉 敬, 兎川忠靖, 川島育夫, 石田 洋一, 鈴木 實, 辻 大輔, 伊藤孝司, 千葉靖典, 月村考宏, 鈴木俊宏, 櫻庭 均: リゾ-GM2 ガングリオシド: GM2 ガングリオシドーシスのバイオマーカー, 日本薬学会第 131 年会. 静岡, 2011. 3
- 100) 黒田麻祐子, 鈴木俊宏, 小谷政晴, 田島陽一, 川島育夫, 兎川忠靖, 辻 大輔, 伊藤孝司, 千葉靖典, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均: Sandhoff 病モデルマウス由来ニューロスフェアにおけるヒト組み換え Hex A 酵素の取り込み, 日本薬学会第 131 年会. 静岡, 2011. 3
- 101) 月村考宏, 田中利絵, 児玉 敬, 川島育夫, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭 均: ファブリー病のハイリスク・スクリーニング, 日本薬学会第 131 年会. 静岡, 2011. 3
- 102) 兎川忠靖, 児玉 敬, 川島育夫, 月村考宏, 鈴木俊宏, 福重智子, 金蔵拓郎, 櫻庭 均: ファブリー病の治療のバイオマーカー: グロボトリアオシルフスフィンゴシン, 日本薬学会第 131 年会. 静岡, 2011. 3
- 103) 櫻庭 均: ファブリー病データベース: その分子病態解明と臨床表現型予測への応用, 第 53 回日本小児神経学会総会. 横浜, 2011.5
- 104) 北風 圭介, 堂園 幸恵, 辻 大輔, 櫻庭均, 田島陽一, 伊藤孝司: ヒト β -hexosaminidase と GM2 activator protein との相互作用の解析, 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
- 105) 月村考宏, 田中利絵, 児玉 敬, 川島育夫, 齋藤 静司, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭均: ファブリー病ハイリスク・スクリーニングの有用性と問題点, 第 84 回日本生化学

- 学会大会. 京都, 2011. 9
- 106) 兎川忠靖, 月村考宏, 兎玉 敬, 田中利絵, 川島育夫, 齋藤 静司, 鈴木俊宏, 櫻庭均 : ファブリー病の診断における α -ガラクトシダーゼの E66Q アミノ酸置換の重要性, 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
- 107) 堂園幸恵, 辻 大輔, 松岡和彦, 北風圭介, 櫻庭 均, 伊藤孝司 : 改変型ヒト β -hexosaminidase B の高発現 CHO 細胞株の樹立と無血清大量培養系の構築, 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
- 108) 田島陽一, 横山 清司, 川島育夫, 貞任大地, 設楽浩志, 多屋長治, 月村考宏, 廣井隆親, 芝崎 太, 櫻庭 均 : 免疫寛容ファブリー病モデルマウスを用いた新規ファブリー病酵素補充法の検討, 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
- 109) 川島育夫, 渡邊 徹, 千葉靖典, 兎玉 敬, 月村考宏, 兎川忠靖, 芝崎 太, 櫻庭 均 : 遺伝子操作した酵母より生産した組換えヒトサポシン B の α -ガラクトシダーゼ A 活性増強効果, 第 84 回日本生化学会大会. 京都 2011. 9
- 110) 兎玉 敬, 兎川忠靖, 川島育夫, 石田 洋一, 鈴木 實, 辻 大輔, 伊藤孝司, 千葉靖典, 月村考宏, 鈴木俊宏, 櫻庭 均 : GM2 ガングリオシドーシスのバイオマーカーとしての Lyso-GM2, 第 84 回日本生化学会大会. 京都, 2011. 9
- 111) 月村考宏, 兎川忠靖, 兎玉 敬, 田中利絵, 川島育夫, 齋藤 静司, 鈴木俊宏, 櫻庭均 : GLA における p.E66Q は遺伝的多型か, 第 16 回日本ライソゾーム病研究会. 東京, 2011. 9
- 112) 兎玉 敬, 兎川忠靖, 川島育夫, 石田洋一, 鈴木 實, 辻 大輔, 伊藤孝司, 月村考宏, 鈴木俊宏, 櫻庭 均 : Lyso-GM2 : GM2 ガングリオシドーシスのバイオマーカー, 第 53 回日本先天代謝異常学会総会, 第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 千葉, 2011. 11
- 113) 兎川忠靖, 兎玉 敬, 月村考宏, 柏 志保, 川島育夫, 鈴木俊宏, 櫻庭 均 : ファブリー病のバイオマーカーとしての lyso-Gb3 の評価, 第 53 回日本先天代謝異常学会総会, 第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 千葉, 2011. 11
- 114) 田中利絵, 月村考宏, 兎玉 敬, 川島育夫, 齋藤 静司, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭均 : ファブリー病男性患者のためのハイリスク・スクリーニング, 第 53 回日本先天代謝異常学会総会, 第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 千葉, 2011. 11
- 115) 森山 厚子, 月村考宏, 田島陽一, 川島育夫, 兎玉 敬, 福重智子, 金蔵拓郎, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭 均 : 改変型 α -N-アセチルガラクトサミニダーゼの生産と精製, 第 53 回日本先天代謝異常学会総会, 第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 千葉, 2011. 11
- 116) 月村考宏, 田中利絵, 兎玉 敬, 川島育夫, 齋藤 静司, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 櫻庭均 : E66Q を伴う α -ガラクトシダーゼ A の生化学的及び病理学的解析, 第 53 回日本先天代謝異常学会総会, 第 10 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 千葉, 2011. 11
- 117) 渡邊 徹, 高岡友紀, 川島育夫, 櫻庭 均, 千葉靖典 : サポシン B 欠損症治療薬を目指したヒトサポシン B の生産, 日本農芸化学会 2012 年度大会. 京都, 2012. 3
- 118) 向日良夫, 鈴木俊宏, 兎川忠靖, 片山昌勲, 松田兆史, 櫻庭 均 : 分析実習におけるビュレット操作の問題点日本薬学会第 132 年会. 札幌, 2012. 3
- 119) 兎川忠靖, 兎玉 敬, 月村考宏, 柏 志保, 川島育夫, 鈴木俊宏, 櫻庭 均 : ファブリー

- 一病の診断における Lyso-Gb3 の評価, 日本薬学会第 132 年会. 札幌, 2012. 3
- 120) 兎川忠靖, 月村考宏, 水戸部さゆり, 鈴木俊宏, 川島育夫, 櫻庭 均: グロボトリアオシルセラミドの新規測定法, 第 54 回日本先天代謝異常学会総会/第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 岐阜, 2012. 11
- 121) 水戸部さゆり, 兎川忠靖, 月村考宏, 土井研人, 野入英世, 赤井靖宏, 齋藤能彦, 芳野 信, 竹中俊宏, 櫻庭 均: M296I 変異 GLA を有するファブリー病患者は血漿中 Lyso-Gb3 濃度の増加を伴わない, 第 54 回日本先天代謝異常学会総会/第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 岐阜, 2012. 11
- 122) 辻 大輔, 難波建多郎, 石丸直澄, 櫻庭均, 伊藤孝司: Tay-Sachs 病患者由来 iPS 細胞の樹立と分化神経系細胞に対する酵素補充効果の検討, 第 54 回日本先天代謝異常学会総会. 第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 岐阜, 2012. 11
- 123) 北風圭介, 辻 大輔, 難波建多朗, 浅沼大祐, 神谷真子, 浦野泰照, 櫻庭 均, 伊藤孝司: 新規人工蛍光基質を用いたリソソーム酵素の脳内補充効果の *in vivo* イメージング, 第 54 回日本先天代謝異常学会総会/第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 岐阜, 2012. 11
- 124) 月村考宏, 田中利絵, 大塚智子, 水戸部さゆり, 鈴木俊宏, 齋藤静司, 兎川忠靖, 櫻庭 均: ハイリスク群の男性を対象としたファブリー病スクリーニング, 第 54 回日本先天代謝異常学会総会/第 11 回アジア先天代謝異常症シンポジウム. 岐阜, 2012. 11
- 125) 鈴木俊宏, 櫻庭 均: ヒト正常組織由来培養細胞における組換えリソソーム酵素の取り込み, 第 85 回日本生化学会大会, 福岡, 2012. 12
- 126) 月村考宏, 田中利絵, 大塚智子, 水戸部さゆり, 鈴木俊宏, 齋藤静司, 兎川忠靖, 櫻庭 均: 男性を対象としたファブリー病のハイリスク・スクリーニング, 第 85 回日本生化学会大会, 福岡, 2012. 12
- 127) 水戸部さゆり, 兎川忠靖, 月村考宏, 児玉敬, 齋藤静司, 鈴木俊宏, 櫻庭 均: 血漿中 Lyso-Gb3 濃度の増加しないファブリー病症例群の解析, 第 85 回日本生化学会大会, 福岡, 2012. 12
- 128) 北風圭介, 辻 大輔, 浅沼大祐, 神谷真子, 浦野泰照, 櫻庭 均, 伊藤孝司: 酵素の分子構造変化に基づく Tay-Sachs 病治療薬の開発. 第 85 回日本生化学会大会. 福岡, 2012. 12
- 129) 難波建多郎, 辻 大輔, 櫻庭 均, 伊藤孝司: Tay-Sachs 病患者由来 iPS 細胞の樹立と中枢神経系モデルの構築. 第 85 回日本生化学会大会. 福岡, 2012. 12
- 130) 兎川忠靖, 月村考宏, 水戸部さゆり, 鈴木俊宏, 川島育夫, 櫻庭 均: ファブリー病で蓄積する糖脂質の解析. 第 85 回日本生化学会大会. 福岡, 2012. 12
- 131) 北風圭介, 辻 大輔, 浅沼大祐, 神谷真子, 浦野泰照, 櫻庭 均, 伊藤孝司: 酵素の分子構造変化に基づく Tay-Sachs 病治療薬の開発. 日本薬学会第 133 年会. 横浜, 2013. 3
- 132) 水戸部さゆり, 兎川忠靖, 月村考宏, 齋藤静司, 鈴木俊宏, 櫻庭 均: 血漿中 Lyso-Gb3 濃度の増加を伴わない特異なファブリー病患者群に関する研究. 日本薬学会第 133 年会. 横浜, 2013. 3
- 133) 月村考宏, 高澤かおり, 山下翔悟, 水戸部さゆり, 鈴木俊宏, 片山昌勅, 兎川忠靖, 櫻庭 均: グロボトリアオシルセラミドの新規測定法の開発: ファブリー病バイオマーカーへの応用. 日本薬学会第 133 年会

． 横浜, 2013. 3

- 134) 高田 大, 相澤良明, 月村考宏, 兎川忠靖, 鈴木俊宏, 櫻庭 均 : リソソーム酵素中のマンノース-6-リン酸残基の測定. 日本薬学会第 133 年会. 横浜, 2013. 3
- 135) 月村考宏, 高田 大, 相澤良明, 鈴木俊宏, 片山昌勅, 櫻庭 均, 兎川忠靖 : マンノース-6-リン酸残基の新規定量法の開発 : 組換えヒトリソソーム酵素解析への応用. 第 86 回日本生化学会大会. 横浜, 2013. 9
- 136) 北風圭介, 河野加菜子, 田島陽一, 櫻庭均, 伊藤孝司 : テイ - サックス病の新規治療薬開発を目指した機能改変型ヒト β -ヘキソサミニダーゼ B の精製および評価. 第 86 回日本生化学会大会. 横浜, 2013. 9
- 137) 田島陽一, 芝崎 太, 櫻庭 均 : ポンペマウス骨格筋における p62 と Parkin の蓄積 . 第 36 回日本分子生物学会年会. 神戸, 2013. 12

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

該当なし

ムコ多糖症 II 型の遺伝子型、臨床型と治療酵素製剤に対する抗体産生に関する研究

分担研究者：田中 あけみ（大阪市立大学大学院医学研究科・准教授）

研究要旨

イズルスルファアーゼ製剤にて酵素補充療法中のムコ多糖症 II 型症例について、治療効果と抗イズルスルファアーゼ抗体産生の関係、および遺伝子変異との関係を検討した。臨床的重症型のなかのより軽症であるタイプ C 症例における遺伝子変異はミスセンス変異であり、より重症であるタイプ D は pseudogene recombination、ナンセンス変異、フレームシフト変異、大きな遺伝子欠失であった。タイプ C 症例では酵素補充療法中に高い抗体産生は認められなかったのに対し、タイプ D 症例では高い抗体産生が認められ、一部の症例で治療効果の減弱が見られた。このことから、ムコ多糖症 II 型重症型のなかで null mutation を持つ症例については、造血幹細胞移植を積極的に考慮すべきと結論された。

研究協力者

濱崎考史（大阪市立大学大学院医学研究科・講師）
門野千穂・工藤聡志・坂口知子（大阪市立大学大学院医学研究科・技術職員）

A. 研究目的

2007年よりムコ多糖症II型の治療酵素製剤イズルスルファアーゼ（エラプレース）が承認され、当科において16名の患者の治療を行っているが、一部の患者について高い抗体産生が認められ、治療効果の減弱が見られている。抗体産生と臨床型、遺伝子型との関係について検討した。

B. 研究方法

2年以上酵素補充療法を受けているムコ多糖症II型患者14名を重症度に従って下記のごとくA～Dのタイプに分類し、合わせて遺伝子型も調べた。

- タイプ A：知的障害なく、軽度の身体症状を認める。(n=4)
- タイプ B：知的障害なく、中等度以上の身体症状を認める。(n=1)
- タイプ C：知的障害が2歳以降に明らかとなる。(n=3)
- タイプ D：知的障害が2歳以前に明らかとなる。(n=6)

それぞれの患者について、抗体産生の経過を見た。

C. 研究結果

遺伝子解析では、タイプ A、B、C の患者においてはすべてミスセンス変異を持っていたのに

対し、タイプ D の患者では、ナンセンス変異、フレームシフト変異、あるいは大きな遺伝子欠失を持っていた。

肝臓容積と尿中ムコ多糖は、タイプ A、B の患者においては3～6か月の間に著明に減少し、その後も低値を保っていた。重症型のタイプ C の患者3症例についても同様であった (Fig. 1: C1, C2, C3)。タイプ D の pseudogene recombination の変異を持つ3症例 (Fig. 2: D1, D2, D3) においても肝臓容積、尿中ムコ多糖ともに同様の低下を認めたが、ナンセンス変異、フレームシフト変異、大きな遺伝子欠失を認めた3症例 (Fig. 3: D4, D5, D6) では、肝臓容積、尿中ムコ多糖にあまり低下が認められず、AST も高値であった。抗イズルスルファアーゼ抗体は、タイプ A、B、C (Fig. 1) のすべての症例で陰性であったが、タイプ D の症例はすべて陽性であった。タイプ D における抗体上昇は、pseudogene recombination の3症例 (D1, D2, D3) では投与後3～6か月でピークとなりその後横ばいであったが (Fig. 2)、ナンセンス変異、フレームシフト変異、大きな遺伝子欠失の3症例 (D4, D5, D6) では3か月目から上昇しその後も上昇を続けた (Fig. 3)。

D. 考察

ムコ多糖症 II 型のなかで、臨床経過より最重症のタイプ D と分類された症例は、遺伝子解析の結果においても recombination や欠失といった酵素蛋白が産生されていないあるいは構造が大きく異なっているような変異を持っており、臨床症状と矛盾しないものだった。また、これらの

症例では酵素製剤に対する抗体が産生され、酵素蛋白イズルスルファーゼを異物として認識していると推測された。

タイプDのなかでも pseudogene recombination の症例では抗体価が上昇するものの、1000倍付近で横ばいとなったのに対し、ナンセンス変異、フレームシフト変異、大きな遺伝子欠失の症例では抗体価が継続的に上がり続け、肝臓容積、尿中ムコ多糖の変化も少なく、酵素補充療法の治療効果の減弱が認められた。

この結果より、タイプD患者のうちのナンセンス変異、フレームシフト変異、大きな遺伝子欠失を持つ症例については、治療の選択肢として造血幹細胞移植を積極的に考えるのがよいと思われる。

E. 研究発表

学会発表

- 1) Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in Mucopolysaccharidosis Type II Patients. 12th International Symposium on MPS and Related Disease 28 Jun-1 Jul, 2012, The Netherland
- 2) Tanaka A, Hamazaki T, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in the patients with Mucopolysaccharidosis Type II. SSIEM 2012, 4-7 Sep, 2012, England
- 3) Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme

Replacement Therapy in Mucopolysaccharidosis Type II Patients. 4th International Forum for Lysosomal Storage Disorders & 17th Japanese Society of Lysosomal Storage Disorders, 4-6 Oct, 2012, Tokyo

- 4) Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Anti-idursulfase Antibody and the Efficacy of Enzyme Replacement Therapy in the patients with Mucopolysaccharidosis Type II. 第54回日本先天代謝異常学会 2012年11月14-17日 岐阜
- 5) Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Genotype-phenotype correlation and the antibody formation against idursulfase in the course of enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis type II. 第55回日本先天代謝異常学会 2013年11月27-29日 千葉
- 6) Hamazaki T, Tanaka A, Sawada T, Kadono C, Kudo S, Shintaku H, Genotype-phenotype correlation and the antibody formation against idursulfase in the course of enzyme replacement therapy in mucopolysaccharidosis type II. LDN World Symposium 2014, 10-13 Feb.2014, San Diego

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし。

Fig. 1. Type C with missense mutation (n=3)

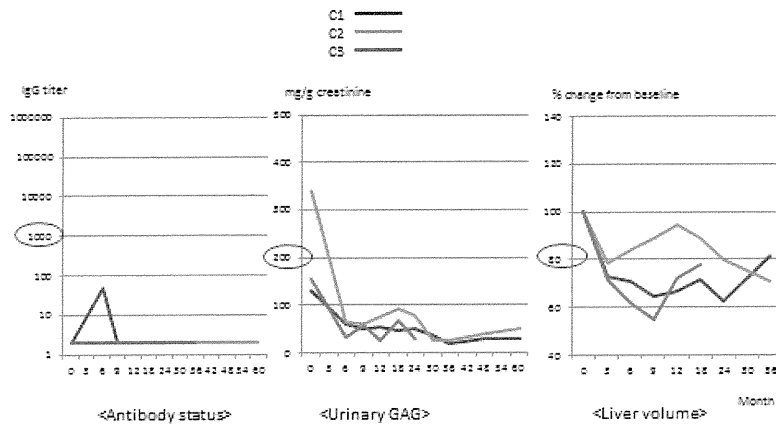


Fig. 2. Type D with pseudogene recombination (n=3)

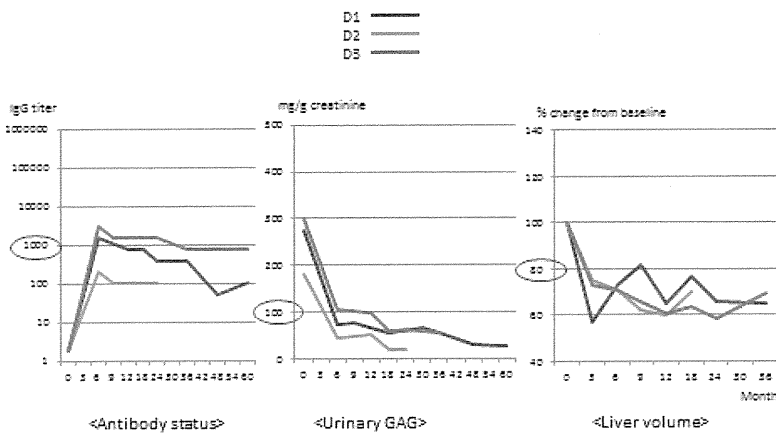
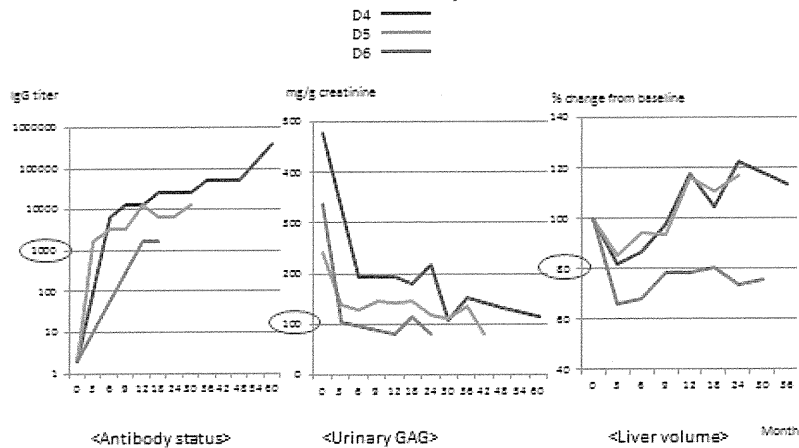


Fig. 3. Type D with nonsense mutation or large deletion (n=3)



スフィンゴリピドーシスの病態解明および治療法開発に関する研究

分担研究者：松田 純子（川崎医科大学 特任教授）

研究要旨

スフィンゴ糖脂質のライソゾームにおける分解にはライソゾーム酵素に加えてサポシンと呼ばれる糖タンパク質が必要である。プロサポシンは4種類のサポシン A、B、C、D の前駆体タンパク質である。我々は、本研究課題において、サポシンおよびプロサポシンの機能解析を行い、下記の研究成果を得た。1) 均一な糖鎖を持つ化学合成サポシン C はゴーシェ病の欠損酵素であるグルコシルセラミド- β -グルコシダーゼ酵素製剤に対して活性化作用、安定化作用、プロテアーゼからの保護作用を持つ。2) ガラクトシルセラミド- β -ガラクトシダーゼとサポシン C の両欠損マウスでは脳組織にラクトシルセラミドが蓄積し、特定の領域の神経細胞が細胞死を起こす。3) サポシンおよびプロサポシンは胚組織である脱落膜、栄養膜細胞、卵黄嚢細胞に強く発現し、マウスの胚発生において重要である。4) プロサポシン強発現マウスは網膜視細胞の変性・脱落を呈する。これらの成果はサポシンおよびプロサポシンの新たな機能を示しており、スフィンゴリピドーシスの病態解明と治療法開発への今後の展開が期待される。

A. 研究目的

スフィンゴ糖脂質は生体膜を構成する脂質成分の一つである。スフィンゴリピドーシスはライソゾームにおけるスフィンゴ糖脂質の分解異常症で、多くは重篤な神経病変を呈する。スフィンゴ糖脂質のライソゾームにおける分解には、疎水性のスフィンゴ糖脂質と親水性の加水分解酵素を相互作用させるために、加水分解酵素（ライソゾーム酵素）に加えて、サポシンと呼ばれる疎水性の糖タンパク質が必要である。サポシンは前駆体タンパク質のプロサポシンからライソゾーム内でのプロテアーゼ分解を受け、4種類のサポシン A、B、C、D が生成される。各サポシンは構造的に極めて相同性が高いが、ヒトの欠損症やモデルマウスの解析から、生体内においていくつかのオーバーラップがあるものの、特定のライソゾーム酵素を活性化する (Sandhoff

K. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 88, 554-582, 2012.) (図 1)。一方、プロサポシンは脳脊髄液、精液、母乳などの細胞外分泌液に豊富に存在することから、神経栄養因子、精子形成促進因子などの独自の生理活性が示唆されているが未だ不明な点が多い。

ヒト PSAP 欠損症はこれまでに世界で4家系の報告があるが、いずれの報告例も重篤な神経症状と著明な肝脾腫を呈し、新生児早期に死亡している。1996年に藤田らによって作製されたプロサポシンノックアウトマウス (*Psap*-KO) は全 SAPs の欠損により全身組織に多彩な GSL が蓄積し、重篤な神経症状を呈して生後 30 日前後で死亡する (Fujita N. et al. *Hum. Mol. Genet.* 5, 711-725, 1996.)。

我々は、先行研究において、SAP-A、SAP-C、SAP-D の特異的欠損マウスを世界に先駆けて作製し、スフィンゴ脂質蓄積症（スフィンゴリピド

ーシス) の病態解明に取り組んできた。我々は、本研究課題において、フィンゴリピドーシスの神経病態の解明と治療法開発を目指し、各種モデルマウスを用いてサポシンおよびプロサポシンの機能解明を行った。

B. 研究成果

1) グルコシルセラミド-β-グルコシダーゼに対する化学合成サポシン C の影響の検討

サポシン C はゴーシェ病の欠損酵素：グルコシルセラミド(GlcCer)-β-グルコシダーゼ(GCase)の活性化タンパク質である。ゴーシェ病の治療には酵素補充療法が有効である。しかし、酵素製剤は血中で不安定であり、酵素の安定性を高める低分子化合物の開発や、より安定で活性の高い酵素製剤の開発などの取り組みが行われている。そこで、我々は均一なアスパラギン結合型糖鎖をもつ3種類の化学合成サポシン C (無糖、1糖、9糖付)を用いて、サポシン C による GCase 酵素製剤 (セレザイム®) の活性化能、安定化能、プロテアーゼからの保護能を検討した。

サポシン C は疎水性のタンパク質で、その不溶性から化学合成が難しいタンパク質である。東海大学の北條らは、N 端側ペプチド鎖 Val¹-Ala³⁴ を O-アシルイソペプチド法を併用した Boc (t-butoxycarbonyl) 法で、C 端側ペプチド鎖 Cys³⁵-Arg⁸⁰ を、Fmoc (fluorenylmethoxycarbonyl) 法で固相合成し、両者をネイティブケミカルライゲーション法で縮合して、マウスサポシン C のペプチド鎖部分を合成した (Hojo H. et al. *Tetrahedron Lett.* 52, 635-639, 2011.)。同様の方法を用いてサポシン C の、21 番目のアスパラギンに GlcNAc を導入した 1 糖付サポシン C を合成し、Glycosynthase (Endo-M) によって複合型の 8 糖を転位して 9 糖付サポシン C を合成した (Hojo H. et al. *J. Org. Chem.* 77, 9437-9446, 2012.)。

まず GCase の活性化能を、セレザイム®を酵素

源、4-メチルウンベリフェロン-β-D-グルコシド (4MU-Glc) を基質として、界面活性剤 Triton X-100 非存在下、ホスファチジルセリン存在下のアッセイ系で検討した。その結果、糖鎖なし、1糖付、9糖付いずれの化学合成サポシン C も GCase の酵素活性を濃度依存的に同等に上昇させ、2μM のサポシン C 存在下で約 30 倍の活性上昇が得られた。次に低濃度下のセレザイム®の安定性に対するサポシン C の影響を検討した。セレザイム®を 20nM に溶解すると 37°C で 30 分後には活性は半分以下になり、2 時間後には測定限界を下回るが、化学合成サポシン C と BSA を 0~1.5μM の濃度で添加し、37°C で 2 時間インキュベーション後の GCase 活性を比較したところ、化学合成サポシン C が BSA に比しより低濃度で GCase 活性の低下を抑制した。GCase のプロテアーゼによる分解の抑制能を GCase のイムノブロットで検討した結果、化学合成サポシン C の添加によってカテプシン D によるセレザイム®の分解が有意に抑制された。以上の結果から、サポシン C はセレザイム®の活性化だけでなく、安定化やプロテアーゼからの保護作用もあることがわかった。

これらの結果は、ゴーシェ病の酵素補充療法において、酵素製剤であるセレザイム®とサポシン C の共投与の有用性を示唆している。今後は、ゴーシェ病モデルマウスにおけるセレザイム®とサポシン C との共投与の効果などを検討する必要がある。

2) ラクトシルセラミド蓄積マウスの作製と表現型解析

ラクトシルセラミド (LacCer) はゴルジ体で LacCer 合成酵素により合成され、ガングリオ系、グロボ系などの多様なスフィンゴ糖脂質の合成の起点になる重要な中間体である。LacCer は好中球をはじめ血球細胞に豊富に存在し、炎症反応時に細胞膜上の“マイクロドメイン”を構成して、細胞内外からのシグナル伝達に関与することが報告されている。LacCer のライソゾームにおける分

解にはガラクトシルセラミド (GalCer)- β -ガラクトシダーゼ (GALC) と GM1- β -ガラクトシダーゼ (BGAL) の2つの β -ガラクトシダーゼに加え、複数のサポシンが関わりとされている。そこで、GALC の遺伝的欠損マウスでクラッペ病のモデルマウスである *Twitchee* マウス (*Galc*^{-/-}) とサポシン C の欠損マウス (*Sap-C*^{-/-}) の交配により GALC とサポシン C の両欠損マウス (*Galc*^{-/-},*Sap-C*^{-/-}) を作製し、LacCer 蓄積マウスの作製を試みた。脳組織の脂質分析の結果、*Galc*^{-/-},*Sap-C*^{-/-}では *Galc*^{-/-}に比して LacCer が優位に蓄積していた (図 2)。*Galc*^{-/-},*Sap-C*^{-/-}は *Galc*^{-/-}より重篤な神経症状を呈し、短命であった。神経病理学的解析の結果、*Galc*^{-/-},*Sap-C*^{-/-}では *Galc*^{-/-}には認められない神経細胞死を、海馬 CA2 錐体細胞、嗅内皮質等の領域に特異的に認め、抗 LacCer 抗体を用いた免疫組織染色で、これらの脳領域では LacCer が蓄積していた。これらの結果からサポシン C は BGAL による LacCer の分解に必須であり、LacCer の蓄積は特定の神経細胞に細胞死を引き起こすことが明らかになった。また、クラッペ病の神経病態への LacCer の分解異常の関与も示唆する。

3) プロサポシンノックアウトマウス胚の表現型解析

プロサポシンノックアウトマウス (*Psap-KO*) はスフィンゴ脂質が全身組織に蓄積し、生後30日程度で死に至ることがわかっているが、その出生率が極めて低いことが示されていたが胎仔の解析は十分にはなされていなかった (Fujita N. et al. *Hum Mol Genet.* 6, 711-725, 1996.)。そこで、*Psap-KO*マウスの胎生致死の原因解明を目的に、*Psap-KO*マウスの胚の解析とマウス胎生期のプロサポシン/サポシンの発現変化を検討した。

Psap ヘテロマウス同士を交配して、胎齢 6.5 日 (E6.5) から E19.5 まで経時的に遺伝子型別の存在率を決定した。その結果、*Psap-KO* マウスは E10.5 頃から存在率が低下し、多くが胎生致死

であることがわかった (図 3)。胚の病理組織学的検討を行った結果、*Psap-KO* マウスは胎生早期の E7.5-9.5 頃から胚発生の遅延が見られ、臓側卵黄嚢の形態変化が認められた。臓側卵黄嚢内皮細胞に存在する巨大ライソゾームにエンドサイトーシスされることの知られている IgG を抗 IgG 抗体で免疫組織染色したところ、プロサポシン欠損マウスでは IgG の免疫反応性が弱く、巨大ライソゾームの大きさが不均一であることがわかった。胎盤では海綿状栄養膜の低形成が観察された。

次に野性型マウス胚を用いて胎生期のプロサポシンおよびサポシンの時空間的な発現変化をイムノブロットと免疫組織染色により検討した。イムノブロット解析の結果、E6.5の胚ではプロサポシン、サポシン共に殆ど発現を認めないのに対し、E7.5ではプロサポシンの発現量が急激に増加し、E10.5頃より低下することが分かった。羊水中にもプロサポシンが検出され、発現のピーク E10.5-11.5で、胎生後期にかけて発現量が減少した。*Psap-KO*マウスの羊水ではプロサポシンが検出されなかったことから、羊水中のプロサポシンは胎仔由来と考えられた。

免疫組織染色の結果、プロサポシン/サポシンは胎生初期の E7.5 頃から母体由来組織である脱落膜、胎仔由来の細胞である栄養膜巨細胞、臓側卵黄嚢内皮細胞の巨大ライソゾーム内に明瞭な発現を認めた。E10.5以降は胎盤の母体由来である脱落膜と、胎仔由来である栄養膜巨細胞および海綿状栄養膜細胞に発現を認めた。*Psap-KO*マウスの胚では、胚体組織および胎盤の栄養膜巨細胞、海綿状栄養膜の発現は消失していたが、脱落膜、臓側卵黄嚢の発現は野性型マウスと同等に認められたことから、脱落膜周辺、臓側卵黄嚢プロサポシン/サポシンは母体由来であると考えられた。

これらの結果から、プロサポシン/サポシンは胚発生において重要な生物機能を持つことが示唆された。臓側卵黄嚢内皮細胞は胎盤が形成される以前において、エンドサイトーシスにより母体

からの栄養成分を取り込み、巨大ライソゾーム内で分解し、胎仔へ供給する組織と考えられており、その機能異常が*Psap*-KOマウスの胎生致死の原因である可能性がある。今後は胚組織由来の細胞を用いたプロサポシンの機能解析が必要である。

4) プロサポシン強発現マウス (*PSAP-Tg*) の表現型解析

プロサポシンの新規機能を探索する目的でプロサポシン強発現マウス (*PSAP-Tg*) を作製し、その表現型解析を行った。*PSAP-Tg* は東海大学医学部分子生命科学の吉村真一博士らによって、マウス *ROSA26* 遺伝子座位に CAG-ヒト *PSAP* cDNA- PolyA カセットを挿入し作製された。*PSAP-Tg* マウスは正常に出生し寿命は 1 年以上であったが、組織病理学的解析の結果、*PSAP-Tg* マウスの網膜では視細胞が 3 週齢ころから脱落し、5 週齢にはアストログリアおよびマイクログリアの活性化を伴い完全に消失することが明らかになった (図 4)。網膜におけるプロサポシン/サポシンの発現をイムノブロットと免疫組織染色で検討したところ、プロサポシン/サポシンは網膜色素上皮細胞、視細胞外節、神経節細胞に強い発現が認められた。一方、*Psap*-KO マウスおよびサポシン A、C、D の各欠損マウスには網膜変性の所見を認めなかった。

PSAP-Tg マウスの網膜では網膜色素上皮細胞に隣接する錐体、桿体からなる視細胞層が生後 3 週齢頃から進行性に変性・脱落することが明らかになった。これまでにプロサポシンのサポシンへの分解にかかわるカテプシン D の欠損マウスが網膜変性を呈することが報告されている (Koike M., et al. *Mol. Cell Neurosci.* 22, 146-161, 2003.)。カテプシン D は神経セロイドリポフスチノーシス (NCLs) の原因遺伝子の一つである。NCLs は網膜病変による視力障害、てんかん、精神退行を特徴とする進行性神経変性疾患で、現在 14 の原因遺伝子 (CLN1-CLN14) が知られ

ており、カテプシン D 欠損症を含むいくつかの病型ではサポシン-A および D の細胞内蓄積を認める。一方、豊福らは、網膜色素変性症の原因遺伝子の一つであるセマフォリン 4A (*Sema4A*) のノックアウトマウス (*Sema4A*-KO) が網膜視細胞の変性を呈することを見出し、その分子メカニズム解析から、網膜色素上皮細胞に発現する *Sema4A* はプロサポシンと相互作用し、細胞外へのプロサポシンのエキソサイトーシスに必須であることを発見した (Toyofuku T. et al. *Genes Dev.* 26, 816-829, 2012.)。 *Psap*-KO マウスは病末期においても網膜変性を呈さないことから *Sema4* 欠損による視細胞脱落の原因は、プロサポシンが網膜色素上皮細胞内にとどまることが原因であると考えられる。今後はプロサポシン/サポシンの細胞内蓄積が網膜変性を引き起こす分子メカニズムを明らかにする必要がある。

網膜色素変性症は失明の主要原因であり、神経セロイドリポフスチノーシス (NCLs) をはじめ多くのライソゾーム病では網膜色素変性症を合併する。*PSAP-Tg* マウスの解析により、網膜におけるプロサポシンの機能と視細胞変性の分子メカニズムを明らかにすることは、ライソゾーム病態解明に加え、網膜色素変性症の病態メカニズムの解明、予防や治療方法の開発にもつながることが期待される。

C. 結論

近年、サポシンには、ライソゾーム加水分解酵素のコファクターとしての機能に加え、脂質抗原提示能や小胞膜融合促進能などの新たな機能が報告されている。一方、プロサポシンは 4 種類のサポシン A、B、C、D の前駆体タンパク質であるが、細胞外にも分泌され、神経栄養因子などの独自の生物機能が示唆されている。本研究によってプロサポシン/サポシンの新たな機能が示された。これが契機となりプロサポシン、サポシン研究の新しい展開がなされると予想される。

- 1) 均一な糖鎖を持つ化学合成サポシンCを用いて、サポシンCがゴーシェ病の欠損酵素であるグルコシルセラミド-β-グルコシダーゼ酵素製剤に対して活性化作用、安定化作用、プロテアーゼからの保護作用を持つことを明らかにした。この成果はゴーシェ病に対する酵素補充療法におけるサポシンC補充の有用性を示している。
- 2) クラッペ病の欠損酵素である GALC とサポシンCの両欠損マウスを作製したところ、脳組織にLacCerが蓄積し、クラッペ病の神経病態が増悪することが明らかになった。この成果はサポシンCがBGALによるLacCerの分解に必須であり、クラッペ病の神経症状にLacCerの分解異常が関与することを示している。
- 3) プロサポシンおよびサポシンはマウス胚において脱落膜、栄養膜細胞、卵黄嚢細胞に強く発現し、羊水中にも分泌されることを明らかにした。この成果はプロサポシン/サポシンがマウスの胚発生に必須であることを示している。
- 4) *PSAP-Tg* マウスの網膜では色素上皮細胞に隣接する視細胞層が進行性に変性・脱落することを明らかにした。この成果は、網膜におけるプロサポシン、サポシンの新たな機能を示している。

本研究は東海大学の「遺伝子組換え実験安全委員会」および「動物実験委員会」、川崎医科大学の「組換えDNA 実験安全委員会」および「動物実験委員会」から承認を得て施行された。

D. 研究発表

1. 誌上発表

論文

- 1) Yoneshige, A., Suzuki, K., Suzuki, K., and Matsuda, J.: A mutation in the saposin C domain of the sphingolipid activator protein (prosaposin) gene causes neurodegenerative disease in mice. *J. Neurosci. Res.* 88: 2118-2134, 2010.

- 2) Hojo, H., Katayama, H., Tano, C., Nakahara, Y., Yoneshige, A., Matsuda, J., Sohma, Y., Kiso, Y., and Nakahara, Y.: Synthesis of the sphingolipid activator protein, saposin C, using an azido-protected O-acyl isopeptide as an aggregation- disrupting element. *Tetrahedron Lett.* 52: 635-639, 2011.
- 3) Suzuki, A, Miyazaki, M, Matsuda, J, Yoneshige, A.: High-performance thin-layer chromatography/mass spectrometry for the analysis of neutral glycosphingolipids. *Biochim. Biophys. Acta. (Molecular and Cell Biology of Lipids)*, 1811, 861-874, 2011.
- 4) 松田純子：サポシン欠損と神経機能障害. 脳 21「特集；糖鎖と神経疾患 糖脂質」金芳堂. 14, 55-60, 2011.
- 5) Toyofuku, T., Nojima, S., Ishikawa, T., Takamatsu, H., Tsujimura, T., Uemura, A., Matsuda, J., Seki, T., and Kumanogoh, A.: Endosomal sorting by Semaphorin 4A in retinal pigment epithelium supports photoreceptor survival. *Genes Dev.* 26, 816-829, 2012.
- 6) Hisaki, H., Matsuda, J., Tadano-Aritomi, K., Uchida, S., Okinaga, H., Miyagawa, M., Tamamori-Adachi, M., Iizuka, M., and Okazaki, T.: Primary polydipsia, but not accumulated ceramide, causes lethal renal damage in saposin D-deficient mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 303, F1049-1059, 2012.
- 7) Hojo, H., Tanaka, H., Hagiwara, M., Asahina, Y., Ueki, A., Katayama, H., Nakahara, Y., Yoneshige, A., Matsuda, J., Ito, Y., Nakahara, Y.: Chemoenzymatic synthesis of hydrophobic glycoprotein: synthesis of saosin C carrying complex-type carbohydrate. *J. Org. Chem.* 77, 9437-9446, 2012.
- 8) Murakami, I, Mitsutake, S, Kobayashi, N, Matsuda, J, Suzuki, A, Shigyo, T, Igarashi, Y. : Improved

high-fat diet-induced glucose intolerance by an oral administration of phytosphingosine. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 77, 194-197. 2013.

図書

- 1) 松田純子：シアリドーシス．ライソゾーム病—最新の病態、診断、治療の進歩．診断と治療社．P.223-225, 2011.
- 2) 松田純子、米重あづさ：サポシン欠損症．ライソゾーム病—最新の病態、診断、治療の進歩．診断と治療社．P.180-183, 2011.
- 3) 松田純子：シアリドーシス．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—．日本臨牀．別冊 p.580-583. 2012.
- 4) 松田純子、米重あづさ：サポシン C 欠損症．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—．日本臨牀．別冊 p.518-522. 2012.
- 5) 松田純子、米重あづさ：サポシン B 欠損症．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—．日本臨牀．別冊 p.513-517. 2012.
- 6) 松田純子、米重あづさ：サポシン A 欠損症．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—．日本臨牀．別冊 p.508-512. 2012.
- 7) 松田純子：シアリドーシス．先天代謝異常ハンドブック．中山書店．p.212-213, 2013.

2. 学会発表

- 1) Yoneshige, A., and Matsuda, J. : Deficiency of saposin C in the mouse model of Krabbe disease showed neurodegeneration with accumulation of lactosylceramide. The 25th International Carbohydrate Symposium (ICS2010), August, 2010, Makuhari, Japan.
- 2) Mutou, M., Yoneshige, A., and Matsuda, J. : Lack

of prosaposin in mice causes embryonic lethal phenotype and placental dysgenesis. The 25th International Carbohydrate Symposium (ICS2010), August, 2010, Makuhari, Japan.

- 3) Matsuda, J., and Yoneshige, A. : The role of sphingolipid activator protein, saposins A-D in the nervous system: lessons learnt from mouse models of specific saposin deficiencies. Naito Conference: Glycan Expression and Regulation [I]: Functions and Disease mechanisms. August, 2010, Kanagawa, Japan.
- 4) Hojo, H., Katayama, H., Onuma, Y., Nakahara, Y., Yoneshige, A., Matsuda, J., and Nakahara, Y. : Synthetic study of sphingolipid activator glycoprotein, saposin C. 第46回ペプチド討論会 2009年11月 福岡.
- 5) 松田純子、武藤真長、米重あづさ、渡辺 昂. : マウス胚発生におけるプロサポシンの役割. 第52回日本先天代謝異常学会 2010年10月 大阪.
- 6) 松田純子. ラクトシルセラミドの蓄積と神経細胞死. 第8回糖鎖科学コンソーシアムシンポジウム. 2010年11月 東京・品川.
- 7) 米重あづさ、渡辺 昂、武藤真長、松田純子. : サポシンC欠損 *twitcher* マウスにおける領域特異的な神経細胞死の解析. BMB2010 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会合同大会. 2010年12月 神戸.
- 8) 武藤真長、米重あづさ、渡辺 昂、松田純子. : マウス胚発生におけるプロサポシンの役割. BMB2010 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会. 2010年12月 神戸.
- 9) 久樹晴美、只野一有富桂子、内田俊也、松田純子、岡崎具樹. : Saposin D 欠損マウスの多飲・多尿は中枢性の飲水行動異常によって引き起こされる. BMB2010 第33回日本分子生物学会年会・第83回日本生化学会大会 合同大会.

- 2010年12月 神戸.
- 10) 松田純子、米重あづさ、武藤真長、渡辺 昂.: クラッベ病モデルマウスにおけるラクトシルセラミドの蓄積と神経細胞死. 第15回日本ライソゾーム病研究会. 2010年12月 東京.
- 11) Yoneshige A, Muto M, Matsuda J. Prosaposin during the embryogenesis of mouse. The 31st Naito conference: Glycan Expression and Regulation [II]: Metabolites, Stress Response, Microdomains, and Beyond. Sapporo, Japan, September, 2011.
- 12) 武藤真長、米重あづさ、渡辺 昂、松田純子.: マウス胚発生におけるプロサポシンの役割. 第84回日本生化学会大会. 2011年9月 京都.
- 13) 米重あづさ、田野千春、北條裕信、松田純子.: グルコシルセラミド- β -グルコシダーゼ活性に対する化学合成サポシン C の影響. 第84回日本生化学会大会. 2011年9月 京都.
- 14) 米重あづさ、田野千春、北條裕信、松田純子.: グルコシルセラミド- β -グルコシダーゼ活性に対する化学合成サポシン C の影響. 第16回日本ライソゾーム病研究会. 2011年9月 東京.
- 15) 武藤真長、米重あづさ、昼沢良介、吉村真一、松田純子.: プロサポシン強発現マウス胚組織の表現型解析. 第85回日本生化学会大会. 2012年12月 福岡.
- 16) 昼沢良介、武藤真長、米重あづさ、吉村真一、松田純子.: プロサポシン強発現マウスの精巢の表現型解析. 第85回日本生化学会大会. 2012年12月 福岡.
- 17) 米重あづさ、北條裕信、武藤真長、松田純子.: 化学合成サポシン C のグルコシルセラミド β グルコシダーゼ活性への影響. 第85回日本生化学会大会. 2012年12月 福岡.
- 18) 吉川 彩、武田選理子、米重あづさ、松田純子.: クラッベ病モデルマウスの免疫組織の病態解析. 第85回日本生化学会大会. 2012年12月 福岡.
- 19) 吉川 彩、武田選理子、米重あづさ、松田純子.: クラッベ病モデルマウスの免疫系組織の病態解析. 第54回日本先天代謝異常学会. 2012年11月15-17日 岐阜.
- 20) Yoneshige A., Hojo H., Mutou M., Matsuda J.: The activity of chemically synthesized saposin C on glucosylceramide- β -glucosidase 第4回国際ライソゾーム病フォーラム 第17回日本ライソゾーム病研究会. 2012年10月4-6日 東京.
- 21) Mutou M, Yoneshige A, Watanabe T, Matsuda J.: Role of prosaposin in the embryogenesis of mouse. The 26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012), P238, July, 22-27, 2012, Madrid, Spain.
- 22) Yoneshige A, Mutou M, Watanabe T, Tano C, Hojo H, Matsuda J.: The effects of chemically synthesized saposin C on glucosylceramide- β -glucosidase. The 26th International Carbohydrate Symposium (ICS2012), P611, July, 22-27, 2012, Madrid, Spain.
- 23) Matsuda J, Ono K, Muto M, Yoneshige A, Yoshimura S.: Overexpression of prosaposin causes severe retinal degeneration in mouse. 第55回日本先天代謝異常学会. 2013年11月27-29日 舞浜.
- 24) 久樹晴美、只野一有富桂子、宮川誠、内田俊也、松田純子、戸田年総、岡崎具樹.: Saposin D 欠損マウスの2D-DIGE タンパク質発現解析 - 炭酸脱水酵素(CA2)との関連. 第86回日本生化学会大会. 2013年9月11-13日 横浜.
- E. 知的所有権の出願・取得状況 (予定を含む)
該当なし

図 1 サポシンはライソゾームにおけるスフィンゴ糖脂質の分解に必須である

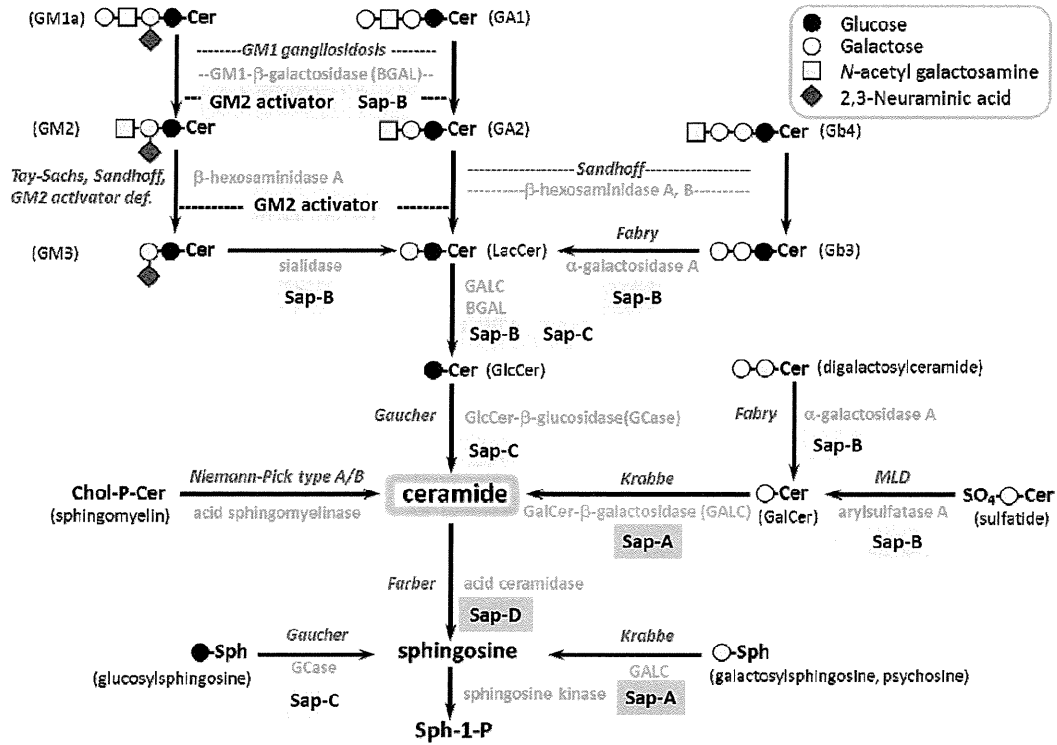
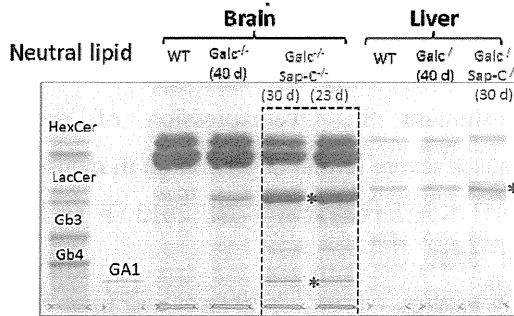
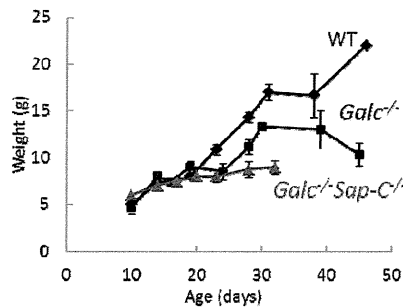


図 2 GALC と SAP-C 両欠損マウスの脳組織には LacCer が蓄積する

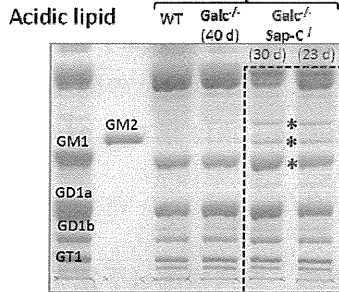
Massive accumulation of LacCer in the brain of *Galc^{-/-}Sap-C^{-/-}*



Body weight gain of *Galc^{-/-}Sap-C^{-/-}* mice



Acidic lipid



Survival rate of *Galc^{-/-}Sap-C^{-/-}* mice

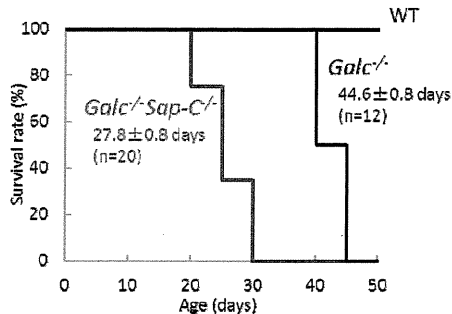


図3 プロサポシンノックアウトマウスの多くは胎生致死である

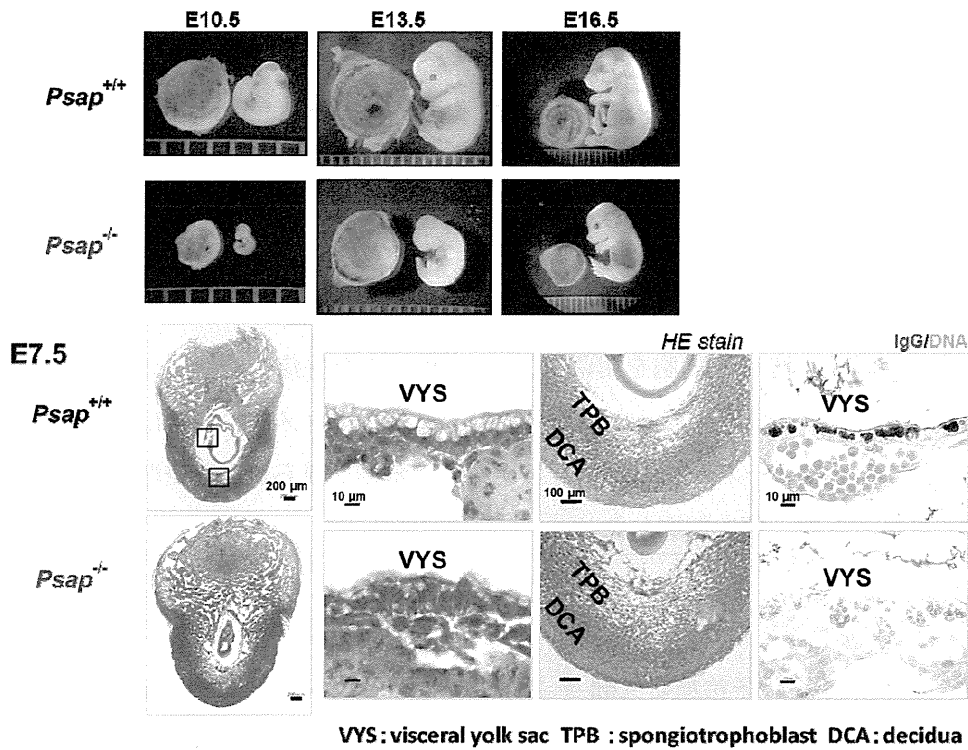
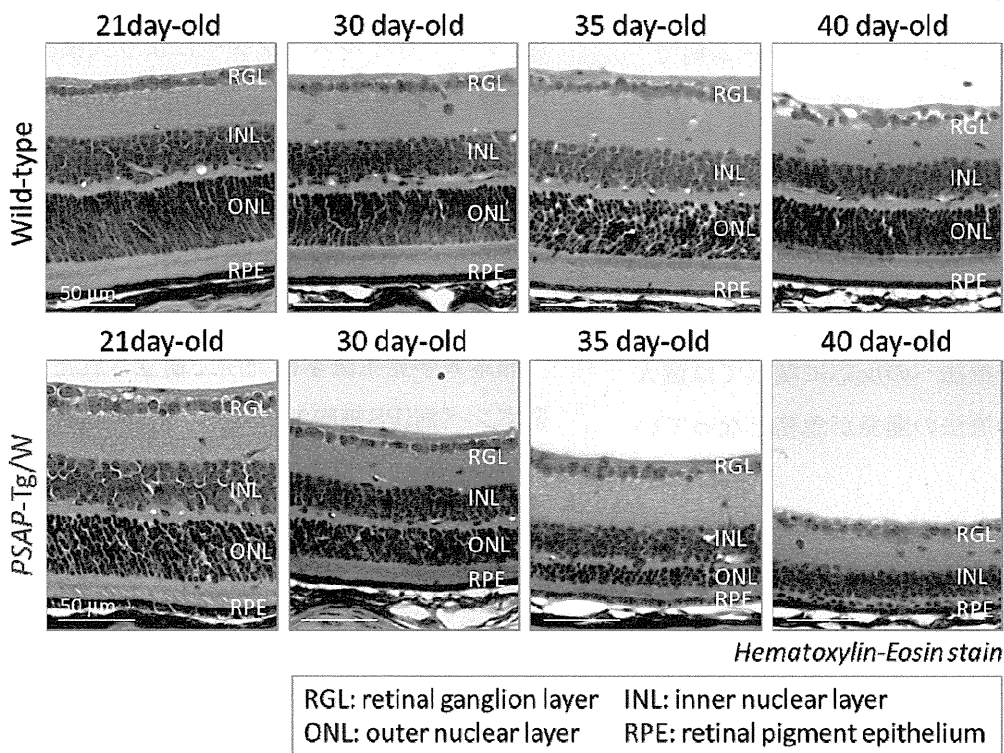


図4 プロサポシントランスジェニックマウスは網膜視細胞の変性・脱落を呈する



心筋細胞治療を目指したポンペ病 iPS 細胞に対する遺伝子治療

分担研究者：大橋十也（東京慈恵会医科大学 総合医科学研究センター遺伝子治療研究部）

研究要旨

われわれは遅発型ポンペ病 iPS 細胞を用いて、ポンペ病の心合併症の発症メカニズムの検討を行った。心筋細胞に分化誘導を行ったところ、明らかなサルコメアの異常は見られなかったが、細胞質にはライソゾームの腫大とグリコーゲンの蓄積が見られ、遅発型ポンペ病での心合併症のメカニズムの一部を解明した。

研究協力者氏名：

佐藤 洋平（東京慈恵会科大学遺伝子治療研究部
大学院生）

A. 研究目的

ポンペ病はグリコーゲンの加水分解酵素の欠損により、ライソゾームにグリコーゲンが蓄積する常染色体劣性遺伝のライソゾーム病である。進行性の筋力低下、呼吸不全、肥大型心筋症などの臨床症状を呈するが、症状の出現時期によって乳児型と遅発型の2つの臨床型に大別される。

2007年より本邦でも酵素補充療法が開始されたが、酵素補充療法への反応に関しては個人差があり、新規治療法の開発が急務となっている。

なぜグリコーゲンの蓄積が細胞機能不全を起こすのかは依然として不明である。新規治療法の開発を行う上で、ポンペ病の病態に関するメカニズムの解明が必要と考えられる。そのため、心筋や骨格筋などの標的臓器での病態を正確に反映する in vitro モデルの開発が期待されている。

2011年に台湾の研究グループによって乳児型ポンペ病患者から iPS 細胞が樹立され、心筋様細胞に分化させたという報告がなされた。

われわれは日本人の遅発型ポンペ病患者より樹立した iPS 細胞を用いて in vitro でポンペ病の病態再現をすることを目的に研究をしている。また、レンチウイルスベクターにより欠損酵素である GAA を発現させることで、遺伝子修復した iPS 細胞を作成し、治療効果の検討や病態の解明を目指して研究を行った。

B. 研究方法

熊本大学発生医学研究所で樹立された遅発型ポンペ病 iPS 細胞3クローン（HPS0175, 0176, 0177）の提供を受ける。iPS 細胞としての品質を検証するため、免疫蛍光染色（SSEA4, Tra-1-60, Tra-1-80）や未分化マーカー（Oct, Sox, Nanog）などの iPS 細胞に特徴的な分子マーカーの発現を確認する。

また、疾患特異的 iPS 細胞の研究において特に注意すべきである“クローン間での表現型の差”に関しては、iPS 細胞を電子顕微鏡で観