

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
総合分担研究報告書

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 のイムノプ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与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 *Twitcher* 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、臍側卵黄嚢の形態変化が認められた。臍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プロットと免疫組織染色により検討した。イムノプロット解析の結果、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、臍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、臍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、臍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。臍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プ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变性・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 - 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 .: クラッペ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 .: クラッペ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 .: クラッペ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 - 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

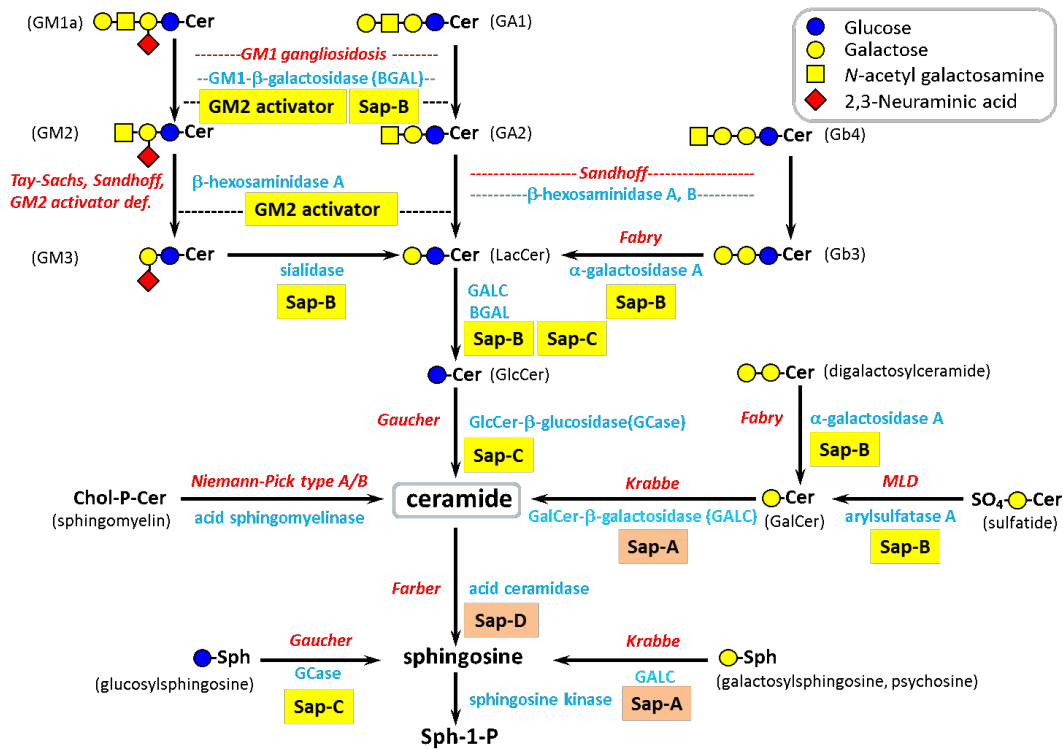
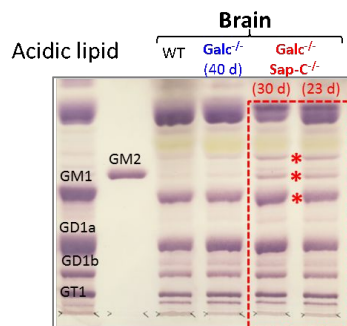
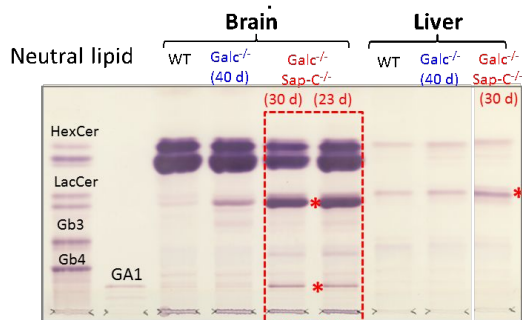
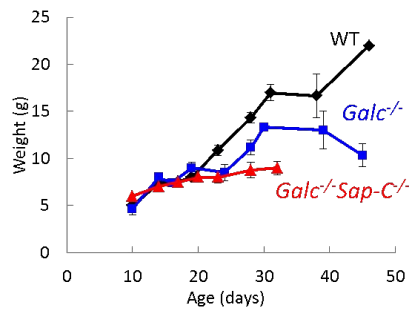


図2 GALC と SAP-C 両欠損マウスの脳組織には LacCer が蓄積する

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



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



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

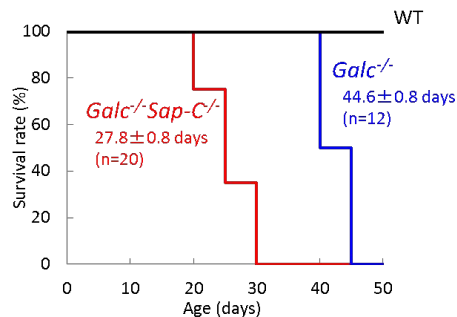


図3 プロサポシンノックアウトマウスの多くは胎生致死である

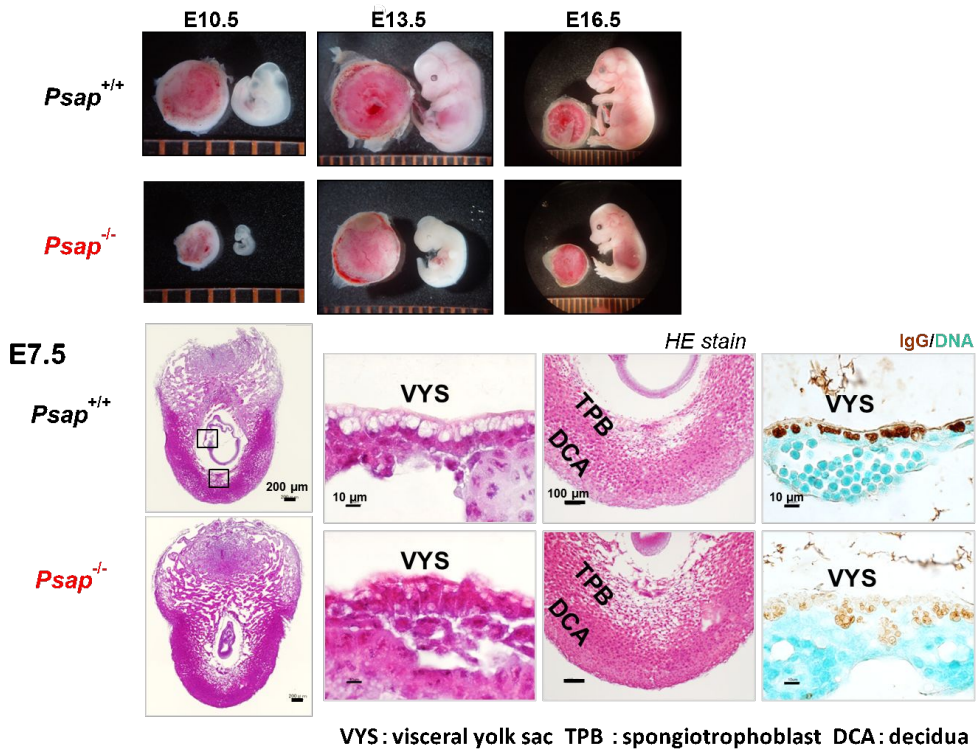


図4 プロサポシントランスジェニックマウスは網膜視細胞の変性・脱落を呈する

