

ライソゾーム病におけるミトコンドリア呼吸鎖機能の検討

分担研究者： 高柳正樹（帝京平成大学 教授）

研究要旨

10 例のライソゾーム病症例においてミトコンドリア呼吸能を評価した。突然死したGaucher disease III型の1例は、心筋、肝臓、腎臓において有意な酵素活性の低下、蛋白量の低下を認めた。さらに心筋で Autophagy markerの検出を行ったところ、ATG5及びLC3-1, IIのシグナルが低下していた。他の9例のライソゾーム病患者の呼吸鎖活性には異常を認めなかった。今後ゴーシェ病はもとより、ライソゾーム病全般においてミトコンドリア機能の検討を行っていくことは、ライソゾーム病の病態の解明に大きな寄与をすることと考えられる。

研究協力者氏名

千葉県こども病院代謝科部長

村山圭

A．研究目的

最近、ミトコンドリア呼吸鎖異常症の分子病理の解明が進んできている。

いろいろな先天代謝異常症（Wilson病、メチルマロン酸血症、PDHC欠損症など）やパーキンソン病などでも呼吸鎖の低下が起ることが知られている。

ライソゾーム病における、ミトコンドリア機能の研究はその研究の端緒についたばかりである。

千葉県こども病院で治療管理しているライソゾーム病症例におけるミトコンドリア呼吸鎖活性の検討を行ったので報告する。

B．研究方法

死亡したゴーシェ病三型患者の各種臓器の呼吸鎖活性を測定した。肝臓においてAutopagic markerの検索をおこない、ミトコンドリア機能障害の成因の検討を行った。この結果を図1に示す。

さらに9例のライソゾーム病患者の臓器、培養細胞において、ミトコンドリア呼吸鎖酵素解析等を行い、ミトコンドリア呼吸能を評価した。

さらにOxygenConsumption Rate (OCR)を8例のライソゾーム病症例の線維芽細胞を用いて測定した。

（倫理面への配慮）

患者個人が特定されない方法で、研究報告など行う

C．研究結果

突然死したGaucher disease III型の1例は、心筋、肝臓、腎臓において有意な酵素

活性の低下、蛋白量の低下を認めた。肝臓・腎臓はComplex I 欠損が認められ、心筋はComplex I+IVの欠損が認められた。表1に結果を示した。

突然死症例の肝臓、心筋を用いてAutophagy markerの検出を行ったところ、ATG5及びLC3-1, IIのシグナルが低下しており、Autophagy障害の可能性が示唆された。結果を図1に示す。

他の9例のライソゾーム病患者の呼吸鎖活性には異常を認めなかった。

OxygenConsumption Rate (OCR)を測定した8例のライソゾーム病症例のうち3例にOCRの低下を認めた。これ結果を表2に示す。

D．考察

ゴーシェ病のモデルマウスにおいて、ミトコンドリアとその品質管理がパーキンソン病との関連において検討されている。突然死したGaucher disease III型における検討では、臓器においてミトコンドリア呼吸鎖活性の低下を示したのみならず、オートファジーの障害を示す証拠が認められた。このことから本症例においては、ミトコンドリアの品質管理に異常が生じ、その結果ミトコンドリア呼吸鎖活性の低下をもたらした可能性が高いのではと考えられる。しかしながら呼吸鎖活性の低下が極めて高度なことから、他のミトコンドリア関連遺伝子の関与の存在も否定できない、今後患者の遺伝子のエキソーム解析などを行い検討する必要があると考えられた。

ゴーシェ病に限らず、ライソゾーム病においては機能障害を呈するライソゾームが、同じ細胞内小器官であるミトコンドリアに大きな影響を与えている可能性が考えられる。

今回線維芽細胞においてはミトコンドリア呼吸鎖活性の低下を見た症例はなかった

が、直接的な呼吸鎖活性の測定法であるOCRでは低下のみられた症例が存在した。今後多数の症例に対しての検討が必要かと考えられた。

E．結論

10例のライソゾーム病症例においてミトコンドリア呼吸能を評価した。

突然死したGaucher disease III型の1例は、心筋、肝臓、腎臓において有意な酵素活性の低下、蛋白量の低下を認めた。さらに心筋で Autophagy markerの検出を行ったところ、ATG5及びLC3-1, IIのシグナルが低下していた。

今後ゴーシェ病はもとより、ライソゾーム病全般においてミトコンドリア機能の検討を行っていくことは、ライソゾーム病の病態の解明に大きな寄与をすることと考えられる。

F．研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

G．知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他

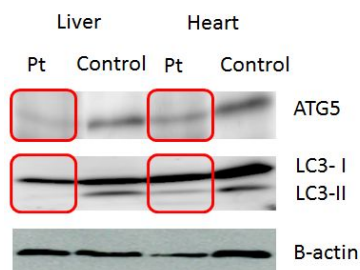
表 1 : ゴーシェ病 3 型症例臓器呼吸鎖活性

| | Co I | Co II | Co III | Co IV | CS |
|-----------------|------|-------|--------|-------|-----|
| Liver | | | | | |
| % of normal | 19 | 90 | 85 | 126 | 103 |
| CS ratio(%) | 16 | 77 | 72 | 106 | |
| Co II ratio (%) | 21 | | 93 | 138 | |
| Kidney | | | | | |
| % of normal | 0 | 16 | 40 | 21 | 47 |
| CS ratio (%) | 0 | 35 | 86 | 45 | |
| Co II ratio (%) | 1 | | 248 | 130 | |

表 2 : 8 例のライソゾーム病症例の OxygenConsumption Rate (OCR)測定結果

| ID | MRR | Enzyme activity | Disease | Gene |
|--------|-----|-----------------|-----------|--|
| F611EB | 84 | ns (Fb) | Gaucher | R120W/R170C |
| F587 | 36 | ns (Fb) | Gaucher | L444P, IVS6+1G>A/ IVS6+1G>A |
| F1048 | 134 | ns (Fb) | Gaucher | L444P/c.1446-1461del, c.1466-1468del. |
| F589 | 93 | ns (Fb) | MPS II | n.a. |
| F593 | 189 | ns (Fb) | Tay-Sachs | n.a. |
| F598 | 200 | ns (Fb) | Tay-Sachs | n.a. |
| F603 | 73 | ns (Fb) | MPS IIIB | n.a. |
| F1126 | 70 | ns (Fb) | I-cell | n.a. |

図 1 : Autophagy marker の検出
ATG5 及び LC3-I, II のシグナルが低下している。



Autophagic markers in liver and heart were analyzed via western blotting using antibodies of ATG5, and LC3-I and II. Beta-actin was used as a loading control.