

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患政策研究事業）
（総合）研究報告書

ムコ多糖症 型およびIV型の診療ガイドラインの策定およびライソゾーム病と
ペルオキシソーム病の診断マーカーの探索

研究分担者 横山 和明 帝京大学・薬学部・教授

研究要旨:ムコ多糖症 型と IV 型の診療ガイドラインの策定のエビデンス文献を検索した。診断マーカーに関して ALD モデルマウス脳内 C44:1-PC の分布と、患者線維芽細胞での C26:1-CoA の蓄積を明らかにした。スフィンゴ糖脂質の一斉解析系を確立した。

A．研究目的

ライソゾーム病のうちムコ多糖症 型とIV型の診療ガイドラインを策定する。さらに脂質性のライソゾーム病やペルオキシソーム病において、変動する脂質をメタボロームの手法により定量解析し構造も決定する。これにより各疾患の診断マーカーを見いだすとともに病態解明する。

B．研究方法

診療ガイドラインの策定では、Medline でムコ多糖症 型と IV 型の疾患名でのエビデンス論文の英語と日本語で書かれた母集合の検索を行なった。そのうちでさらに各 CQ に関連するキーワードで検索した。診断マーカーに関しては、副腎白質ジストロフィー (ALD) のモデルマウスの脳の凍結切片を用いて、イメージング質量分析計により、極長鎖脂肪酸含有リン脂質分子種の C44:1-PC の脳内の分布を計測した。またアシル CoA の LC-MS 法による解析系を構築し、ALD 患者線維芽細胞と ALD モデル細胞である ABCD1 ノックアウト細胞で測定した。また LC-MS を用いてスフィンゴミエリンと各種スフィンゴ糖脂質について分子種ごとに網羅的に定量し構造解析できる測定法を構築した。糖脂質ではキラルカラムを用いて分離した。

（倫理面への配慮）

学内倫理委員会の承認のもとに調査研究を行った。

C．研究結果

診療ガイドラインの策定では、ムコ多糖症 型に関して酵素補充療法112報、造血幹細胞移植168法、うち36報は共通で合計候補244報が得られた。ムコ多糖症IV型では1985報が得られた。診断マーカーに関しては、ALDモデルマウス脳ではC44:1-PCが白質ではなく灰白質の部分に多かった。ALD患者線維芽細胞とALDモデル細胞ではC26:1-CoAが蓄積していた。スフィンゴミエリンはネガティブイオンモードでLC-MS/MS/MS測定を行うことで、常法では検出できない脂肪酸残基のシグナルを検出できることがわかった。スフィンゴ糖脂質の一斉解析系では、マウス脳の総脂質中の中性糖脂質、 Ganglioside、硫酸化糖脂質を同時に分子種レベルでの定量に成功した。

D．考察

両疾患の診療ガイドラインの策定では、さらに推奨文の作成とシステムレビューが必要である。

診断マーカーに関しては、スフィンゴミエリンとスフィンゴ糖脂質の解析系を確立したことにより、ライソゾーム病の、特に亜型や重症度を反映した新たな診断マーカー探索がより進展すると考えられる。ALD モデルマウス脳における極長鎖脂肪酸含有リン脂質分子種 C44:1-PC が灰白質に分布し、ALD 患者線維芽細胞と ALD モデル細胞では

C26:1-CoA が蓄積するという本疾患の新たな病態機構が明らかとなった。

E. 結論

診療ガイドラインの策定では、ムコ多糖症型とIV型のエビデンス論文の検索を担当した。診断マーカーに関しては、スフィンゴミエリンとスフィンゴ糖脂質の解析系を確立した。さらにALDという病態での疾患関連脂質分子種の脳内分布と、その前駆体アシルCoAの細胞内に蓄積する分子種を明らかにした。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Comprehensive quantitation using two stable isotopically labeled species and direct observation of N-acyl moiety of sphingomyelin by LC-MS. K. Hama, K. Yokoyama et al. **Lipids**. (2017) 52, 789-799. PMID: 28770378
- 2) Profiling and imaging of phospholipids in brains of Abcd1-deficient mice. K. Hama, K. Yokoyama et al. **Lipids**. (2018) 53, 85-102. PMID: 29469952
- 3) Quantitative and Qualitative Method for Sphingomyelin by LC-MS Using Two Stable Isotopically Labeled Sphingomyelin Species. (2018) Hama K, Yokoyama K. et al. **Journal of visualized experiment**_May, doi: 10.3791/57293. PMID: 29782002
- 4) Lipidomics of Peroxisomal Disorders. Hama K., Yokoyama K. et al., Chapter 11 p249-260, in **Peroxisomes: Biogenesis, Function, and Role in Human Disease**, Springer (2019)
- 5) Hexacosenoyl-CoA is the most abundant very long-chain acyl-CoA in ATP-binding cassette transporter D1-deficient cells. Hama K., Yokoyama K. et al. **Journal of Lipid Research**. (2020) doi: 10.1194/jlr.P119000325, PMID: 32075856
- 6) Mass spectrometry in combination with a chiral column and multichannel-MRM allows comprehensive analysis of glycosphingolipid molecular species from mouse brain. Fujiwara Y., Yokoyama K. et al. **Carbohydrate Research**. (2020) doi: 10.1016/j.carres.2020.107959, PMID: 32120021

2. 学会発表

直近の発表 1 件と期間中発表数を記載。

1) 日本脂質生化学会

BezafibrateはABCD1欠損条件下において極長鎖脂肪酸CoAを上昇させる、濱弘太郎、横山和明他、第61回日本脂質生化学会、脂質生化学研究 61 (2019), p195、7/4-5、他：2017年2報、2018年2報

2) 日本糖質学会

キラルカラムを用いたLC-MS法によるスフィンゴ糖脂質一斉分析系の構築、藤原優子、横山和明他、第38回日本糖質学会、要旨集p106 (2019)、8/19-21、名古屋、他2019年1報

3) 日本医用マスペクトル学会

質量分析計とキラルカラムを用いたスフィンゴ糖脂質一斉分析系の構築、藤原優子、横山和明他、第44回日本医用マスペクトル学会、JSBMS Letters 44 (2019), p96、9/12-13、名古屋、他：2017年2報、2018年1報

4) 日本先天代謝異常学会

Lorenzo's oilとBezafibrateの極長鎖脂肪酸CoAに対する影響、濱弘太郎、横山和明他、第61回日本先天代謝異常学会、日本先天代謝異常学会雑誌 35 (2019), p171、10/24-26、秋田、他：2017年2報、2018年1報、2019年1報

5) 日本生化学会

細胞内の極長鎖脂肪酸脂肪酸CoA量を上昇する薬剤の検証、濱弘太郎、横山和明他、第92回日本生化学会、プログラム集(2019) p157、9/18-20、横浜、他：2017年2報

6) International Conference on the Bioscience of Lipids (ICBL)

Hexenoyl-CoA is the most abundantly accumulated very long chain fatty acyl-CoA and increased by bezafibrate in ABCD1-deficient cells、K. Hama, K. Yokoyama 他、60th International Conference on the Bioscience of Lipids、Abstracts (2019) p260、6/17-21、東京他：2018年1報、2019年1報

G. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし