

## 論 文 内 容 要 旨

報 告 番 号	甲 創 第 号	氏 名	堀井 雄登
学位論文題目	酵素補充によるガラクトシアリドーシス治療を目指した CHO 由来組換えヒト CTSA 前駆体の補充効果解析		
<p>内容要旨</p> <p>ガラクトシアリドーシス (GS) は、リソソーム酵素の一つである保護タンパク質/カテプシン A (CTSA) の遺伝的欠損に起因するリソソーム病の一種である。この疾患では、CTSA の欠損に伴い、CTSA と結合して活性を示すノイラミニダーゼ 1 (NEU1) および CTSA の保護を受ける <math>\beta</math>-ガラクトシダーゼ 1 (GLB1) の活性が低下する。その結果、NEU1 の基質となる末端シアル酸含有糖鎖が蓄積し、ミオクロオヌスや小脳性運動失調などの中枢神経症状や肝脾腫などの臨床症状を示す。GS は発症年齢や重症度に応じて 3 つの臨床型に分類されるが、このうち若年/成人型の症例は日本人に多く、またスプライシング異常を惹起する変異が高頻度で検出されている。</p> <p>当研究室では、II型 GS 患者由来不死化繊維芽細胞である T1 細胞や、カテプシン A 欠損モデルマウス (Ctsa 欠損マウス) を GS モデルとして用い、GS の病態解析と治療法開発を進めている。Ctsa 欠損マウスでは、Ctsa と Neu1 の同時活性低下を含むリソソーム酵素活性の変動がみられ、またミオクロオヌスや手足の浮腫などの GS 様の症状を示す。</p> <p>私は、チャイニーズハムスター卵巣 (CHO) 細胞にヒト CTSA-6His 遺伝子を導入して高発現株を得た。その培養上清から Ni sepharose カラムを用いて CTSA-6His を精製し、GS モデルに対する補充効果を検討した。</p> <p>精製 CTSA-6His を T1 細胞の培養上清に添加したところ、細胞内の CTSA、NEU1、GLB1 活性の上昇が見られ、NEU1 の基質となる末端シアル酸含有糖鎖の減少が見られ、NEU1 活性回復に伴う蓄積基質の分解が示された。酵素補充後の細胞内の各酵素活性の経時変化を解析したところ、CTSA の細胞内半減期は 19 時間程度と非常に短い、プロテアーゼ阻害によって延長されることが分かり、半減期の短さは CTSA がプロテアーゼの分解を受けるためであることが示された。</p> <p>さらに、10~12 週齢の Ctsa 欠損マウスに対し、3mg/体重 kg の用量で CTSA-6His の脳室内投与を行ったところ、投与群の脳組織中の Ctsa および Neu1 活性の上昇、蓄積基質の減少、ミクログリア活性化の抑制効果が確かめられた。末梢に投与した場合、心臓や肝臓、脾臓で蓄積基質の減少が見られた。以上の結果から、CHO/CTSA-6His 培養上清由来の CTSA-6His の GS に対する治療効果が示され、酵素補充療法による GS の治療が有効であることが期待できる。</p>			