




論文審査結果の要旨

報告番号	甲 創 第 66 号	氏 名	堀井 雄登
審査委員	主 査	藤野 裕道	
	副 査	伊藤 孝司	
	副 査	山崎 尚氏	

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

審査結果の要旨

堀井雄登君は、従来治療法がない、ガラクトシアリドーシス (GS) (リソソーム性カテプシン A (CTSA) 遺伝子の潜性変異が原因で、CTSA 活性と二次的なノイラミニダーゼ 1 (NEU1) 活性の同時欠損を伴うライソゾーム病) に対する新規酵素補充療法の開発を目的とし、まずヒト CTSA-6His 遺伝子の恒常発現 CHO 細胞株から細胞外に分泌された、末端マンノース 6-リン酸 (M6P) 含有糖鎖付加型の CTSA 前駆体タンパク質 (proCTSA、分子量 54-kDa) の精製法を確立した。精製 proCTSA を、NEU1 基質である末端シアルリ糖鎖がリソソーム内に過剰蓄積する、GS 患者由来線維芽細胞 T1 株の培養液に投与すると、M6P レセプターと結合後、細胞内に取り込まれ、速やかに 32-/20-kDa 成熟体に変換され、一過性に CTSA 活性を回復させた。しかしロイペプチン感受性プロテアーゼにより分解を受けるため、細胞内半減期が非常に短い (12 時間程度) ことを初めて明らかにした。一方、NEU1 活性を増大させ、蓄積シアルリ基質が減少した。さらに、スプライシング異常誘導型変異ノックインにより、ミオクロノスなどの中枢神経症状や、顔貌異常や脊椎変形などの末梢症状を発症する GS モデルマウスの脳室内への単回投与 (3mg/kg 体重) 効果を検討した。その結果、大脳・小脳等においても CTSA 活性の一過性回復と NEU1 活性の増大及び蓄積シアルリ基質の減少に伴う活性化ミクログリアと炎症性ケモカインの抑制等の神経炎症抑制作用が明らかになり、CHO 由来ヒト proCTSA の脳室内酵素補充療法の有効性が示唆された。以上の研究成果を含む本研究論文は、博士学位論文に十分値すると判断される。