

グリコサミノグリカンの欠損による遺伝病の研究

名城大学薬学部 山田修平

近年、グリコサミノグリカンの生合成酵素の先天的な異常に基づく遺伝病が次々に報告され、その発症の詳細なメカニズムが解明されつつある。我々は、幸運にもこれらの研究の幾つかに携わることができた。そこで、本発表では、特にデルマトン 4-O-硫酸基転移酵素-1 (D4ST-1) の変異によるエーラス・ダンロス症候群 (EDS) と EXTL3 の変異による脊椎骨端骨幹端異形成症に注目する。

デルマトン硫酸 (DS) は *N*-アセチルガラクトサミン (GalNAc) とイズロン酸 (IdoA) が交互に重合した直鎖状の硫酸化多糖で、コアタンパク質のセリン残基に共有結合したプロテオグリカンとして皮膚・軟骨・血管内皮に多く存在している。その生合成経路において、D4ST-1 は DS 鎖中の GalNAc の 4 位に硫酸基を転移する主要な酵素である。共同研究者である信州大学の古庄知己博士らは、先天異常 (顔貌上の特徴、先天性多発関節拘縮) と進行性結合組織脆弱性 (皮膚過伸展性・脆弱性、関節変形、巨大皮下血腫) を特徴とする新しいタイプの EDS を見出し (Kosho *et al.*, *Am J Med Genet.*, 2005; 2010)、さらに、ポジショナルクローニング法によって本疾患の原因遺伝子が *D4ST-1* の変異にあることを見出した (Miyake, Kosho, Mizumoto *et al.*, *Human Mutation*, 2010)。患者由来の繊維芽細胞のホモジェネートを酵素源、活性硫酸を硫酸基供与体、デルマトンを受容体基質として硫酸基転移活性を測定したところ、コントロールと比較して顕著に転移活性が低下していた。さらに、DS-プロテオグリカンの一種でコラーゲンと相互作用するデコリン上の DS 鎖の構造解析を行ったところ、患者由来の繊維芽細胞では DS が合成されておらず、代わりにコンドロイチン硫酸が合成されていた。したがって、D4ST-1 による硫酸化が DS 生合成に必須で、GalNAc の 4-O-硫酸化は IdoA からグルクロン酸 (GlcA) に異性化するエピメラーゼの反応を阻害すると推察された。また、皮膚の電子顕微鏡像から、患者ではコラーゲン繊維束が無秩序に配向していることが明らかとなり、皮膚の張力も減少していた。以上の結果から、D4ST-1 の変異によって DS 合成不全が起こり、皮膚や結合組織中のコラーゲンと相互作用できずに、本疾患が発症すると考えられた。我々はさらに、尿サンプルを用いて簡便に DS が定量できる方法を確認し、DS 欠損にもとづく EDS の非侵襲的な診断法を開発した。

一方、ヘパラン硫酸 (HS) も特定のコアタンパク質上のセリン残基に共有結合し、プロテオグリカンとして動物細胞表面や細胞外マトリックスに普遍的に存在している。HS は、*N*-アセチルグルコサミン (GlcNAc) と GlcA が交互に重合した直鎖状の硫酸化多糖で、HS の生合成に関わる糖転移酵素として EXT1 と EXT2 が同定されている。EXT1 と EXT2 をコードする遺伝子の変異は、かなり以前から遺伝性多発性骨軟骨腫を

引き起こすことが知られていた。多発性骨軟骨腫は常染色体優性遺伝病で、大腿骨などの長管骨の骨端成長部に発生する良性の骨軟骨腫を特徴とし、さらに低身長、前腕や下腿の彎曲変形、早期の変形性関節症などを引き起こすことがある。*EXT1* と *EXT2* に相同性を示す遺伝子として、*EXTL1*、*EXTL2*、*EXTL3* が同定されている。これらはいずれも HS の生合成に関与していると考えられており、特に *EXTL3* は、そのノックアウトマウスの解析から、HS 鎖の伸長において、*EXT1*、*EXT2* と共に、不可欠であることが証明されている (Takahashi *et al.*, *Biochem Biophys Res Commun*, 2009)。最近、共同研究者である理研の池川志郎博士らは、*EXTL3* のホモ接合変異 (p.Pro318Leu) によって、免疫異常を伴う脊椎骨端骨幹端異形成症を発症することを見出した (Guo *et al.*, *J Hum Genet*, 2017)。患者は、重篤な脊椎の扁平化と後側彎、骨盤の変形、大腿骨骨端・骨幹端の異形成、短指症、T 細胞と免疫グロブリンの減少などの症状を示した。組換え体の酵素を用いた実験により、野生型 *EXTL3* と比較して、変異型 *EXTL3*-p.Pro318Leu は GlcNAc 転移酵素活性が顕著に低下していた。したがって、患者では *EXTL3* 変異によって糖転移活性が低下し、HS の合成異常を引き起こし、その結果、脊椎骨端骨幹端異形成症を発症すると推察された。以上の知見から、*EXTL3* あるいは HS が骨格系や免疫系の発達や細胞分化に必要であることが示された。しかし、*EXTL3* の役割や *EXTL3* が合成する HS の機能には不明な点が多い。今後、患者由来の細胞やノックアウトマウスを用いたさらなる機能解析が必要であろう。

略 歴

1989 年	京都大学薬学部卒業
1991 年	京都大学大学院薬学研究科博士前期課程修了
1991 年～1994 年	神戸女子薬科大学薬学部 生理化学教室 助手
1995 年	京都大学博士 (薬学)
1994 年～2000 年	神戸薬科大学薬学部 生化学教室 助手 (校名、講座名変更)
2000 年～2006 年	神戸薬科大学薬学部 生化学教室 講師
2001 年～2003 年	スウェーデン王国ウプサラ大学、Visiting Scientist (Ulf Lindahl 研究室)
2006 年～2012 年	北海道大学大学院先端生命科学研究院 プロテオグリカンシグナリング医療応用研究室 助教授 (2007 年より准教授)
2012 年～現在	名城大学薬学部病態生化学研究室 教授