

学位授与番号：甲 1104 号

氏 名：保科 宙生

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 31 年 4 月 10 日

学位論文名：

Chaperone effect of sulfated disaccharide from heparin on mutant iduronate-2-sulfatase in mucopolysaccharidosis type II.

(ムコ多糖症Ⅱ型における変異型イズロン酸-2-スルファターゼに対するヘパリン由来の硫酸化二糖のシャペロン効果)

学位論文審査委員長：教授 靱山俊彦

学位論文審査委員：教授 馬目佳信 教授 吉田博

論文要旨

氏名	保科 宙生	指導教授名	井田 博幸
主論文			
Chaperone effect of sulfated disaccharide from heparin on mutant iduronate-2-sulfatase in mucopolysaccharidosis type II. (ムコ多糖症Ⅱ型における変異型イズロン酸-2-スルファターゼに対するヘパリン由来の硫酸化二糖のシャペロン効果)			
Hiroo Hoshina, Yohta Shimada, Takashi Higuchi, Hiroshi Kobayashi, Hiroyuki Ida, Toya Ohashi			
Molecular Genetics and Metabolism. 2018; 123: 118-122.			
要旨			
【背景・目的】			
ライソゾーム病は、細胞内小器官であるライソゾームに含まれる酵素の先天性欠損を原因として生じる疾患群である。近年、ライソゾーム病に対する治療法は様々なアプローチで進められており、その1つとして薬理的シャペロン療法が存在する。この治療法は、変異型酵素に対して親和性を有する低分子化合物を用いて同酵素の安定化や機能の改善を目指すものであり、Fabry病などのいくつかのライソゾーム病においてその効果が示され、有望な治療法として研究開発が進められている。しかし、X連鎖性のライソゾーム病であるムコ多糖症Ⅱ型 (MPS II) については、原因遺伝子産物であるイズロン酸-2-スルファターゼ (IDS) に対してシャペロン作用を有する分子が未だ見出されておらず、薬理的シャペロン療法の開発は進んでいない状況である。			
【方法】			
本研究では、IDS に対する薬理的シャペロンの候補化合物として、ヘパリン由来の硫酸化二糖である 2-硫酸化不飽和ウロン酸-N-硫酸化グルコサミン (D2S0) に着目し、そのシャペロン効果を解析した。			
【結果】			
組換えヒトIDSにD2S0を処理する群と処理しない群をそれぞれin vitroで熱変性させたところ、D2S0未処理群と比較してD2S0処理群では酵素活性の低下が軽減され、その軽減効果はD2S0の濃度依存的に増強されることを見出した。また、D2S0をMPS II患者由来線維芽細胞に投与したところ、細胞内のIDS活性の改善が認められた。さらに、7種類の変異型IDSを作成しHEK293T細胞に強制発現させD2S0を投与したところ、6種類の変異型IDSで酵素活性の改善が認められた。			
【結論】			
D2S0が一部の変異型IDS活性の改善に寄与し得ることを示しており、MPS IIに対する薬理的シャペロンとして有用かもしれない。			

学位論文審査結果の要旨

保科宙生氏の学位申請論文は主論文 1 編からなり、タイトルは、” Chaperone effect of sulfated disaccharide from heparin on mutant iduronate-2-sulfatase in mucopolysaccharidosis type II”、日本語では「ムコ多糖症 II 型における変異型イズロン酸-2-スルファターゼに対するヘパリン由来の硫酸化二糖のシャペロン効果」であり、2018 年 2 月に、*Molecular Genetics and Metabolism* 誌の 123 巻 118-122 ページに公表された。同誌の最新のインパクトファクターは 3.7 であった。

公開学位審査会は平成 31 年 3 月 27 日、審査委員長靱山俊彦教授、審査委員馬目佳信教授、同吉田博教授出席のもとに行われ、保科氏の研究内容発表に続いて質疑応答が行われ、以下の質問があった。

- 1) なぜ D2S0 に着目したのか？他の物質については検討していないのか？
- 2) この物質の分子量は？血液脳関門を通過する可能性はあるのか？
- 3) 患者由来の fibroblast の特性はどのようなものか？
- 4) HEK293T を使用した根拠は？
- 5) transfection の効率に問題はないか？
- 6) 熱変性に対して安定性を認めるのは一般的なのか？
- 7) ライソゾームの pH はどのくらいか？
- 8) 酵素の機能回復、安定化について、D2S0 の作用部位はどこか？
- 9) A85 では用量によって反対の作用が生じているが、この機構はどのようなものか？
- 10) 競合阻害の機構はどのようなものか？たとえば細胞内に入ることがあるのか？
- 11) 今後どのような点をクリアすれば臨床応用への展望が拓かれるか？

保科氏はこれらの質問に対し、今回のデータ、これまでに報告された知見に言及しつつ適切に解答し、活発な議論が行われた。その後馬目教授、吉田教授と慎重に審議した結果、本研究は、ムコ多糖体症 II 型に対するシャペロン療法に関して世界に先駆けて検討した研究であり、さらなる改良を加えることによって新たな治療法開発につながることを期待されることから、学位論文として価値を有すると判断した。尚、Thesis 中に不適切な表記があったが、適切に修正されたことを確認した。