

審査の結果の要旨

氏名 辰巳 憲

本研究は、ペルオキシゾーム病において引き起こされる糖脂質代謝異常について、その病態との関連を明らかにするため、チャイニーズハムスター由来ペルオキシゾーム欠損変異株Z65細胞および患者由来線維芽細胞株を用いて、Z65細胞において増加が報告されたスフィンゴ糖脂質の代謝の解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. チャイニーズハムスターのセラミドグルコシルトランスフェラーゼのクローニングを行った。その結果同酵素の遺伝子は394アミノ残基からコードされており、予想される質量は45kDaと考えられた。ヒトとの相同性は塩基配列の点で92.3%、アミノ酸配列の点で98.7%であった。
2. クローニングされたセラミドグルコシルトランスフェラーゼcDNAを野生株へトランスフェクトし、活性について検討した。その結果、細胞内にふくまれる生成産物であるグルコシルセラミド (CMH) はおよそ1.5倍に増加していた。
3. クローニングされたセラミドグルコシルトランスフェラーゼcDNAの一部をプローブとしてノーザン・ブロットを行ったところ、Z65細胞では野生株であるCHO-K1細胞と比べセラミドグルコシルトランスフェラーゼの発現が亢進していた。

Zellweger症候群2例、および乳児Refsum病患者一名から由来する線維芽細胞より脂質を抽出して、その組成の変化を正常線維芽細胞のものと比較した。その結果以下の実験結果を得た。

1. 患者由来細胞でCDHの軽度の増加と ガングリオシドGM2、GM 1、GD1aの増加を認めた。陰イオンFAB-MSや特異的抗体を用いて正常細胞に含まれない GM1や GD1aが検出されることを確認した。
2. 抗GM3抗体を用いた免疫組織染色を行い細胞内GM3の検出と局在の確認を行い、患者由来細胞では細胞質内のゴルジ体と予想される部位にGM3の蓄積を認めた。
3. セリン、パルミトイル-Co-Aより始まるスフィンゴ脂質生成の各分画へ取り込まれた¹⁴Cラベルセリンの定量を行った。PS, PE, SMそれぞれの分画すべてにおいて患者細胞では取り込みが増加していた。

以上よりCMHの増加が認められたチャイニーズハムスターのペルオキシゾーム欠損変異株細胞であるZ65において、糖脂質の合成の亢進を認め、セラミドグルコシルトランスフェラーゼ遺伝子をクローニングし、この遺伝子のZ65細胞での発現の増加を明らかにした。また、Zellweger症候群および乳児Refsum病では糖脂質組成でガングリオa系列合

成経路の亢進によると考えられるガングリオシドGM2、GM1、およびGD1aの増加を認め同時にスフィンゴ脂質代謝速度の亢進を明らかにした。本論文は、これまで未知に等しかったペルオキシゾーム病の多彩な病態の原因の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。