

平成19年9月

# 雷 珂 学位論文審査要旨

主 査 難 波 栄 二  
副主査 大 野 耕 策  
同 畠 義 郎

## 主論文

Enzyme enhancement activity of N-octyl- $\beta$ -valienamine on  $\beta$ -glucosidase mutants associated with Gaucher disease

(ゴーシェ病の原因となる $\beta$ -グルコシダーゼ変異体に対するN-オクチル- $\beta$ -バリエナミンの酵素活性増強効果)

(著者：雷珂、二宮治明、鈴木倫毅、井上岳彦、澤美和、飯田真巳、井田博幸、衛藤義勝、小川誠一郎、大野耕策、鈴木義之)

平成19年5月 Biochimica et Biophysica Acta 1772巻 587頁～596頁

# 学 位 論 文 要 旨

## Enzyme enhancement activity of N-octyl- $\beta$ -valienamine on $\beta$ -glucosidase mutants associated with Gaucher disease

### (ゴーシェ病の原因となる $\beta$ -グルコシダーゼ変異体に対するN-オクチル- $\beta$ -バリエナミンの酵素活性増強効果)

$\beta$ -グルコシダーゼ( $\beta$ -Glu)の遺伝的欠陥によっておこるゴーシェ病は、常染色体劣性遺伝形式を示し、リピードシスのなかで最も患者数の多い疾患である。最近、酵素補充療法が行われるようになったが、中枢神経症状には有効ではない。これまでに、このグループは、N-オクチル- $\beta$ -バリエナミン(NOV)が、F213I変異を持つゴーシェ病患者由来の培養皮膚線維芽細胞の $\beta$ -Gluの酵素活性を上げることを示し、NOVがこのF213I変異酵素に結合し、酵素の折りたたみ構造を変化させる分子シャペロンとして働く可能性を示してきた。今回、ゴーシェ病に対する変異酵素の活性増強による治療法の開発を目的として、NOVによって活性化される $\beta$ -Glu変異の種類を明らかにし、NOV以外に分子シャペロンとなる薬剤の検討を行った。

## 方 法

F213I以外の $\beta$ -Glu変異体に対するNOVの効果の検討。異なる変異を持つ9種類のヒト皮膚線維芽細胞を、種々濃度のNOV存在下で4日間培養し、酵素活性を測定した。さらにCOS細胞にFlag-標識 $\beta$ -Glu (wild-typeおよび6種類の変異体: N188S、G193W、G202R、F213I、N370S、L444P)を一過性に発現させ、NOV存在下で培養し、抗Flag抗体免疫沈降産物の $\beta$ -Glu酵素活性を測定した。NOVよりも強い酵素活性増強効果を持つ薬物の開発のため、種々の長さのアシル基をもつN-アルキル- $\beta$ -バリエナミンを合成し、F213I $\beta$ -Gluに対する酵素活性増強効果を比較した。

## 結 果

NOVはF213Iに加えてN188S、G202R、N370S変異を持つヒト皮膚線維芽細胞の $\beta$ -Glu変異に対して活性上昇効果を示したが、G193W、D409H、L444Pの各変異体に対しては無効だった。COS細胞に発現させたFlag-標識変異 $\beta$ -Gluでも、NOVはF213Iに加えてN188S、G202R、N370Sの各変異体では酵素活性を増加させ、G193W、L444Pでは無効であり、ヒト皮膚線維芽細胞

とCOS細胞発現系でのNOVの変異酵素の活性上昇効果は一致していた。アシル基の長さが異なるN-アルキル- $\beta$ -バリエナミンの活性を比較したところ、2つのアルキル基を持ち最も強い $\beta$ -Glu阻害効果を持つ化合物ではなく、N-ドデシル- $\beta$ -バリエナミンがNOVと同等の酵素活性増強効果を示した。

## 考 察

各変異体とNOVの効果の選択性については、F213I、N188S、G202R、N370Sは $\beta$ -Gluの構造の中で、触媒活性を持つドメインⅢに位置するのに対して、G193W、L444P、D409Hはその他のドメインに位置する。この結果は、アミノ酸変異はドメインⅢ変異を持つことがNOVによる変異酵素の安定化・活性化の必要条件であることを示唆する。一方、NOVを含むN-アルキル- $\beta$ -バリエナミンの酵素活性増強効果には、適当な長さのアシル基が一つ存在することが必要と考えられた。

## 結 論

NOVは、ゴーシェ病の原因である $\beta$ -Glu変異体の中で、触媒活性部位に変異を持つF213I、N188S、N370S、G202Rを安定化させることが示された。NOVは、低分子化合物で脳内への移行が可能と考えられ、ゴーシェ病に対する分子シャペロンによる変異酵素の活性増強療法という新しい治療法の可能性が期待できる。