

エンドソームのレトリーバー複合体機能障害による 希少難病の分子メカニズムの解明



名古屋市立大学大学院医学系研究科新生児・小児医学分野・研究員 加藤 耕治

背景と目的

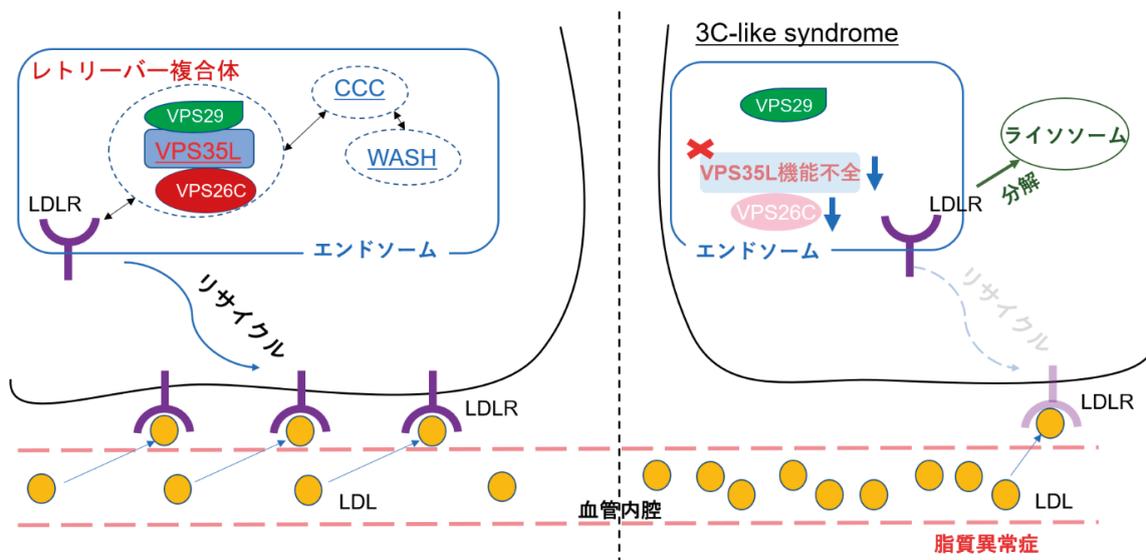
3C syndromeは、頭蓋顔面の形成異常 (Craniofacial malformation)、先天性心疾患 (Cardiac Defect)、小脳虫部の形成異常 (Cerebellar dysplasia) からなる3つのCを頭文字とする症状を特徴とする症候群です。それらの症状に加え、近年の報告により精神発達、筋骨格系、免疫系、消化器系、泌尿器系、脂質代謝など、様々な組織・器官の機能障害を伴うことが知られています。原因としてはCCDC22、WASHC5という遺伝子の機能喪失型バリエーションが従来から知られていましたが、2020年に私たちがVPS35L遺伝子を第3の原因遺伝子として報告しました。ただし、私たちの報告した症例はCCDC22やWASHC5に原因となるバリエーションを持つ報告例よりも症状が多彩であったため、同一の症候群と捉えて良いのか、別疾患として捉えるべきなのかはまだ結論が出ておらず、本研究においては3C-like syndromeという記載にしています。

VPS35Lはレトリーバー複合体、CCDC22はCCC複合体、そしてWASHC5はWASH複合体を構成するタンパクです。このレトリーバー複合体、CCC複合体、WASH複合体はエンドソームと呼ばれる細胞内小器官で、協調して細胞膜タンパクの発現量を維持する重要な役割を果たしています。細胞膜タンパクがエンドソームに取り込まれた後、その膜タンパクには2つの運命があります。1つはライソソームに送られて分解されることで、もう1つは細胞膜にリサイクルされることです。レトリーバー複合体はこのリサイクルにおいて重要な役割を担っています。細胞膜にはたくさんのタンパクがあり、それぞれ細胞への栄養供給や様々な指令伝達、細胞極性などに重要な役割を果たします。VPS35Lの機能不全によって、何故前述した多彩な症状が生じるのかはまだ殆ど分かっていませんが、私たちはVPS35Lの機能不全によって細胞膜タンパクの発現量が低下し、その膜タンパクが果たしている重要な細胞機能が障害されることが、3C-like syndromeの症状の背景に存在するメカニズムであると考えています。

結果

難病医学研究財団より支援を頂き、私たちはその仮説を検証して病態解明するため、まず脂質異常症に着目しました。3C-like syndromeの患者さんでは、小児期から血清LDLの高値が見られています。患者さんの血清をゲル濾過HPLC法を用いてリポタンパク質のサイズによる分画データを解析したところ、VLDLとLDLの分画が増えており、かつLDL分画のピークの粒子径がコントロールに比較して大きくなっていることが分かりました。

次にこの脂質異常の原因を検査するため、マウス胎児繊維芽細胞（MEF）を用いて、VPS35Lの欠損細胞を作成しました。血清LDLはLDL受容体（LDLR）を介して細胞内に取り込まれますので、まずMEFの親細胞とVPS35L欠損細胞でLDLRの発現量を比較しました。結果、MEFにおいてVPS35Lを欠損させると、LDLRの細胞膜表現での発現量が大きく低下することが分かりました。続いて免疫沈降法というタンパク相互作用を確認する手法を用いて細胞内でのLDLRとVPS35Lとの相互作用を確認したところ、VPS35LとLDLRとが相互作用を有することが示されました。従って、LDLRが細胞膜からエンドサイトーシスによりエンドソームに取り込まれたのち、VPS35Lを含むレトリーバー複合体がLDLRの細胞膜へのリサイクルの役割を担っており、VPS35L欠損細胞ではそのリサイクル機能が正常に働かず、分解系にLDLRが回ってしまうために細胞膜での発現量が低下していると考えられます。最後に、このLDLRの発現低下が脂質の取込み機能に影響を及ぼすのかどうかを確認したところ、VPS35L欠損細胞では親細胞に比較して有意にLDLの取込み能力が低下していることが示されました。



図：3C-like syndrome における脂質異常症の分子メカニズム

考察・今後の展望

本研究では脂質異常症のメカニズムを検討しましたが、患者さんは多彩な症状を有していますので、それらについても検討を行っていきたいと考えています。まずは主要な症状のメカニズムを明らかにすることにより、医学的マネジメントの確立や今後の治療法開発に繋げていきたいと考えています。

謝 辞

このような研究の機会を与えていただいた難病医学研究財団、ならびに研究に御協力頂いた患者様と御家族の皆様にご心より深く感謝申し上げます。