【総 説】

1. G_{M1} -ガングリオシドーシスモデルマウスを用いた 新しい治療法の開発

鈴木 義之¹⁾ 一ノ宮 悟史¹⁾ 丸 山 貴美子¹⁾
戸 田 寛 子¹⁾ 渡 辺 浩 史²⁾ 岩 崎 博 之²⁾
黒 澤 美枝子³⁾ 小 川 誠一郎⁴⁾ 飯 田 真 己⁵⁾
松 田 潤一郎⁶⁾

国際医療福祉大学大学院¹⁾, 同 臨床医学研究センター²⁾, 同 基礎医学研究センター³⁾,
慶應義塾大学理工学部⁴⁾, 生化学工業(株)中央研究所⁵⁾,
医薬基盤研究所 生物資源研究部⁶⁾

A New Molecular Therapy for Genetically Engineered G_{M1} -Gangliosidosis Model Mice

Yoshiyuki SUZUKI¹⁾, Satoshi ICHINOMIYA¹⁾, Kimiko MARUYAMA¹⁾,
Hiroko TODA¹⁾, Hiroshi WATANABE²⁾, Hiroyuki IWASAKI²⁾,
Mieko KUROSAWA³⁾, Seiichiro OGAWA⁴⁾,
Masami IIDA⁵⁾, Junichiro MATSUDA⁶⁾

*Postgraduate School¹⁾, Clinical Research Center²⁾, and Center for Medical Science³⁾,
International University of Health and Welfare, Faculty of Science and Technology,
Keio University⁴⁾, Central Research Laboratories, Seikagaku Corporation⁵⁾,
Biological Resource Division, National Institute of Biomedical Innovation⁶⁾*

Summary

We are trying to develop a new molecular therapy (chemical chaperone therapy) for lysosomal diseases, particularly with severe neurological manifestations. Fabry disease (generalized vasculopathy) was the first target for therapeutic experiment using galactose and 1-deoxygalactonojirimycin, followed by β -galactosidase deficiency disorders (G_{M1} -gangliosidosis and Morquio B disease) using a newly developed chemical compound *N*-octyl-4-epi- β -valienamine (NOEV) for brain pathology, which serves as a chemical chaperone in somatic cells. NOEV is a potent inhibitor of lysosomal β -galactosidase *in vitro*. However, addition in the culture medium at low concentrations restored mutant enzyme activity and reduced substrate storage remarkably in human or murine fibroblasts. Oral administration of NOEV to the G_{M1} -gangliosidosis model mouse corrected pathological changes in the brain morphologically and biochemically. Preliminary clinical observations suggested prevention of phenotypic expression during short-term experiments. For monitoring the clinical effect of this new therapy, we developed a neurological assessment system for experimental mice, and hope to confirm the effect of this compound for disease model mice in the near future. Chemical chaperone therapy will be useful for certain patients with G_{M1} -gangliosidosis and potentially other lysosomal storage diseases with central nervous system involvement.

シャペロンとは

遺伝病治療の最終目標は、その原因となるひとつの遺伝子を修復することである。遺伝子異常は全身性である。特定の臓器組織のみに遺伝子の構造異常があるわけでないが、病態発現は一般に局在性である。多細胞生物としてのヒトの組織の遺伝子情報を改変することは容易でない。多くは脳組織の原発性病変を発現する。われわれは新しい発想のもとに、遺伝性ライソゾーム病をモデルとして、脳の遺伝病に対する経口薬を開発中である。その原理は酵素の基質類似の低分子化合物をシャペロンとして投与することである。

日本語としてシャペロンという言葉は一般的でない。元来フランス語であった「シャペロン」が英国に導入され、貴族（14世紀）、後には貴婦人（16世紀）のかぶる頭巾・帽子、ガーター勲位の装束の一部（16世紀）、棺を引く馬の前頭部につける飾り（17世紀）、などの意味を経て、若い未婚女性が社交界に出る時の付き添いで、主に行儀作法を指導し監督する年配の既婚女性（18世紀）、などの意味に使われた。現在の臨床医学では、医師とは異なった性の患者を診察するときに医師に付き添う人、という意味で、主に北米大陸で使われる。生物学では「分子シャペロン」として「他の蛋白質や蛋白質複合体の適正な折りたたみや構築を行う別の蛋白質」と定義される。単にシャペロンともいう。細胞内で熱変性を予防し、蛋白質が正しく働く機能をする熱ショック蛋白質がもっとも有名である。

この語は元来 chaperon という綴りであったが、原義が女性の持ち物あるいは女性自身をさすことが多かったため、chaperone という女性形単語として使われることが多い。

ライソゾーム病の分子病態

ライソゾームは細胞内に存在する酸性の小胞体で、数十の加水分解酵素が多く的高分子代謝産物を順序よく消化する。それぞれの酵素をコードする特異的な遺伝子のひとつに変異がおこると、発現された酵素蛋白質は構造変化により活性を失い、細胞の機能障害をおこす。個体としては生後ある一定の時期に全身病として発現する。このグループの病気が遺伝性ライソゾーム病である。多くは小児期の進行性中枢神経疾患としての病像を示す^{1,2)}。われわれは特に脳に特異的な脂質、ガングリオシドの分解酵素である β -ガラクトシダーゼの病態を詳細に調べてきた³⁾。

1988年にこれらの病気の責任遺伝子構造を解明したあと、変異遺伝子の多様性を確認し³⁾、発現する変異酵素蛋白質の細胞動態を調べ、いわゆる「酵素欠損」の分子病態が一樣でないことを知った。おおまかに次の3つに集約される^{4,5)}。

1. 蛋白質分子が合成されない。
2. 合成された蛋白質分子に酵素としての活性がない。
3. 合成された蛋白質分子に酵素活性はあるが、不安定で速やかに分解される。

これらの中で、最初の2つの病態では正常な酵素蛋白質あるいは遺伝子を補給しない限り、細胞の機能を正常化することは不可能である。しかし第3の場合、本来活性を持つ構造の酵素蛋白質は細胞に存在するが、活性が発現されない状態にある。そこで、何らかの方法でこの蛋白質に適切な細胞内環境を提供すれば、はたらくべき場所で活性を発揮し、細胞の機能を修復することができるはずである。

この論理をもとに、われわれはこれまでに2つの疾患グループを検討してきた。全身血管病であるファブリー病（ α -ガラクトシダーゼ A 欠損症）、そして古典的な神経遺伝病である G_{M1} -ガングリオシドーシスと骨系統疾患モルキオ B 病（ともに β -ガラクトシダーゼ欠損症）である。

ケミカルシャペロン療法の原理

上述のように、遺伝病患者の細胞には、本来の機能を保持しているにもかかわらず、立体的な折りたたみ（フォールディング）が不十分なために、細胞内での生合成のあと、速やかに分解、不活化されてしまう変異蛋白質分子が存在することがある。この場合、基質類似化合物を細胞に投与することにより、変異蛋白質分子が安定化される。この種の化合物は上記の分子シャペロンと本質的に同じはたらきを持つので、ケミカルシャペロン（chemical chaperone）と呼ぶことにする。具体的な細胞内での分子反応のプロセスを図1の模式図に示す⁶⁾。糖鎖末端を加水分解するライソゾーム酵素、たとえばガラクトシダーゼはガラクトース、グルコシダーゼはグルコースを認識する。酵素分子に親和性の高い類似化合物が基質とともに大量に試験管内に存在すれば、酵素の競合的阻害剤としてはたらく。ところが細胞内に低濃度のシャペロン分子が存在する場合には、Fig. 1のような機構により変異分子を安定化し、ライソゾームに輸送する。酸性の条件下で

Fig. 1 Principle of chemical chaperone therapy for lysosomal diseases. The exogenously supplied chaperone molecule enters the cell, binds stably to the target protein molecule. The complex is safely transported to the lysosome, and the two molecules are dissociated under the acidic condition. The mutant enzyme protein keeps functional conformation, expressing catalytic activity to hydrolyze substrates normally. Modified from ref 5.

酵素分子はシャペロン分子と解離し、安定な状態で触媒活性を示す。ただし、シャペロン分子が過剰に存在すれば、酵素活性は逆に阻害される可能性がある。

この細胞処理で変異酵素活性を正常のレベルまで上昇させることができるとは限らない。それでも酵素の基質処理能力がある程度以上になれば、理論上は病気の発症を著しく遅らせることができる。実際、酵素活性がかなり低くても保因者は発症しない。β-ガラクトシダーゼ欠損症については、発症年齢と残存酵素活性の関係が放物線状の曲線となる⁹⁾。合成基質を用いた線維芽細胞内の酵素活性を試験管内で測定するという人工的な実験条件では、細胞内酵素活性が正常細胞の活性平均の8~10%存在すれば、発症年齢が無限大になると予測できる。つまり発症年齢が個体の寿命との競争になる。活性発現が不十分な細胞に対して、いくらでも活性をあげることができれば、この目的が達成される可能性がある。

新しいシャペロン化合物の検索とその成果

変異α-ガラクトシダーゼA分子の詳細な分析データをもとに、ファブリー病患者細胞にガラクトースを投与したところ、活性が著しく増加した⁷⁾。しかしこの実験には、ガラクトースを人体における血液の浸透圧よりも高い濃度にする必要があった。次いで、ほかの類似体のスクリーニングの結果、市販化合物、1-デオキシガラクトノジリマイシンがより低濃度でこの酵素の変異体にはたらくことがわかった⁸⁾。

次にβ-ガラクトシダーゼ欠損症について検討した。この酵素欠損症は、単一遺伝子の異なった変異により、重症脳障害を起こす全身疾患 (G_{M1}-ガングリオシドーシス) または骨系統疾患 (モルキオ B 病) として発現する³⁾。脳をはじめとして全身臓器にガングリオシド G_{M1}、そのアシアロ体 G_{A1} のほかにオリゴ糖やムコ多糖 (ケラタン硫酸) などが蓄積する。まず1-デオキシガラクトノジリマイシンを試したが、ファブリー病と違い、その効果はα-ガラクトシダーゼAの数十分の一であった⁹⁾。

次に新規合成化合物のスクリーニングを始めた。その中に *N*-オクチル-4-エピ-β-バリエナミン (*N*-octyl-4-epi-β-valienamine; NOEV) (Fig. 2) という化合物がヒト細胞内でβ-ガラクトシダーゼ活性の強力な阻害剤としてはたらくことがわかった¹⁰⁾。この化合物のコア構造はガラクトースに似ているが、ガラクトース環の酸素原子を炭素原子で置き換え、さらに二重結合の導入によってガラクトシドの加水分解遷移状態に立体構造を対応させた、カルバガラクトース誘導体であり、これにアルキル側鎖 (アグリコン部) が擬似 *N*-グリコシド型で結合した化学的に安定な第2アミンである。現在のところ、テストしたいいくつかのホモログの中で、炭素数8のオクチル体 (NOEV) がわれわれの目的にもっとも有効であることを確認した。

NOEVの水に対する親和性は高くない。しかしこのフリー体のままでも3~5 mMまでの濃度であれば容易に水に溶解する。塩酸塩は高度に水溶性である。メタノール、DMSOに対する溶解性も高い。室温で安定であり、試験管内での50%酵素阻害濃度は0.2 μMである。

NOEV (Fig. 2) は類似化合物 NOV (*N*-octyl-β-valienamine) のエピマーとして開発された化合物である¹¹⁾。NOVはβ-グルコシダーゼ阻害剤であり、ゴーシェ病患者細胞の中に、活性発現が誘導される変異

Fig. 2 Molecular structure of NOEV and NOV. NOEV and NOV are analogous to galactose and glucose, respectively. The core structure is similar to galactose or glucose, except for the side chain linkage (O $\rightarrow$ N) and C1-C5 linkage (O $\rightarrow$ C).

がある¹²⁾。

シャペロン化合物 NOEV の細胞内変異 β -ガラクトシダーゼに対する効果

1. ヒト線維芽細胞

患者由来のヒト線維芽細胞培養液に 0.2~2 mM の NOEV を添加して 4 日間培養すると、酵素活性が著しく上昇する細胞株があった。とくに R201C, R457Q 変異でその反応が大きかった。表現型として若年型症例にもっとも有効であり、乳児型症例にも 3 倍以上の活性上昇を示す症例があった。すべての症例をあわせて 35% の細胞が陽性反応を示した¹³⁾。この実験条件下では、成人型・モルキオ B 病症例の反応は大きくなかった。

2. マウス線維芽細胞

すでに確立した β -ガラクトシダーゼ欠損ノックアウト (KO) マウス^{14,15)} の線維芽細胞にヒト β -ガラクトシダーゼ欠損患者の病型特異的な変異 cDNA を導入し、この変異を発現する細胞株を確立した¹⁰⁾。ヒト細胞とは多少の違いがあるが、NOEV は変異 β -ガラクトシダーゼに対して、ファブリー病に有効な 1-デオキシガラクトノジリマイシンの 1,000 倍から 2,000 倍の活性誘導効果を示した。R201C 変異にもっとも有効であった^{10,13)}。ガングリオシド負荷後、正常遺伝子の

発現細胞には基質の蓄積が見られなかったが、R201C 発現細胞ではガングリオシド G_{M1} とそのアシアロ体 G_{A1} の著しい蓄積を示した。そして NOEV 添加により基質蓄積が著しく減少した⁸⁾。

遺伝子組換え G_{M1} -ガングリオシドーシスモデルマウスに対する NOEV 経口投与

1. 遺伝子組換えモデルマウスの作成

動物個体実験のために、上記の KO マウスにヒト β -ガラクトシダーゼ欠損症の病型特異的な変異遺伝子をトランスジーンとして導入したトランスジェニック (Tg) モデルマウスを作成した¹⁰⁾ (Table 1)。正常な β -ガラクトシダーゼを発現する遺伝子 GP8 を導入したマウスは病気を発現せず、正常の個体として生存した。この遺伝子の過剰発現により遺伝子治療ができたということになる。この結果をそのままヒト個体に適用することはできないが、理論的には操作が可能である。ただしヒトのように生存期間が長い個体では、トランスジーンによる長期の酵素活性過剰発現の影響を考慮しなければならない。

若年型 G_{M1} -ガングリオシドーシスに特異的な R201C 変異遺伝子は、細胞実験で酵素活性発現効果が高い。その Tg マウスは、マウスの酵素活性を発現せず、KO マウスよりも緩徐な臨床経過を示し、 G_{M1} と

Table 1 Phenotypic manifestations of β -galactosidase deficiency model mice prepared by genetic engineering.

Genotype		Phenotype	Severity	Onset	Death
KO	Null	Infantile G _{M1} -gangliosidosis	Severe	3 m	7-10 m
KO-Tg	R201C	Juvenile G _{M1} -gangliosidosis	Less severe	6-7 m	12-18 m
	I51T	Adult G _{M1} -gangliosidosis	?	?	?
	W273L	Morquio B disease	?	?	?
	GP8	Normal	—	—	—
—	Wild	Normal	—	—	—

The KO mouse was produced by homologous recombination as a disease model of infantile G_{M1}-gangliosidosis. Then each of the other mouse models was produced by introducing phenotype-specific human mutant cDNA as transgene into the KO mouse; R201C for juvenile G_{M1}-gangliosidosis, I51T for adult G_{M1}-gangliosidosis and W273L for Morquio B disease. Introduction of normal human cDNA (GP8) resulted in complete recovery of enzyme function and prevention of the disease phenotype. Phenotypic abnormalities did not appear in I51T or W273L Tg mice during the period of experimental observation.

G_{A1} が大脳皮質に蓄積する。発現する酵素活性は野生型マウスの 4% である¹⁰⁾。

成人型 G_{M1}-ガングリオシドーシス、モルキオ B 病のモデルマウスとして作成した Tg マウス (I51T, W273L) のこれまでの臨床観察では、はっきりした臨床徴候を観察できなかった。ヒトの成人型症例の発症は生後数年以上であり、マウスの生存中には発病しないのであろう。またマウスの骨ではケラタン硫酸が合成されないので、モルキオ B 病としての骨病変が発生しないのであろうと考えている。ただし時間的要因も考慮しなければならない。

2. モデルマウスに対する NOEV 経口投与の効果

R201C 発現マウス (若年型 G_{M1}-ガングリオシドーシスモデルマウス) に 1~3 mM の NOEV 水溶液を 1 週間経口投与したところ、脳を含むすべての組織の酵素活性が著しく上昇し、脳組織のガングリオシド蓄積が消失した¹⁰⁾。3 mM の NOEV 水溶液 2 か月間投与後の脳内酵素活性は、正常マウスの 30%、脳内 NOEV 濃度は肝臓内濃度の 30~45% であった (未発表データ)。この結果から、経口投与した NOEV が腸管から吸収され、血液脳関門を通過し、中枢神経系に取り込まれ、酵素分子を安定化し、活性を発現させたとの結論を得た (Fig. 3)。

3. マウスの神経学的検査法の開発

以上のように、NOEV 投与により、マウス脳の病理学的、生化学的異常が矯正されることを確認したが、臨床像、特に中枢神経症状の予防・改善効果を知るためには、マウスの神経学的評価を行う必要がある。こ

Fig. 3 Expression of enzyme activity in the brain after oral administration of NOEV to experimental mice. After oral intake, NOEV goes into the blood stream through the intestine without digestion, and enters the brain via the blood-brain barrier. The mutant enzyme protein is stabilized in the neuron by NOEV to form a stable complex, which is transported to the lysosome. Finally, after dissociation from NOEV, the mutant enzyme retains functional conformation, expressing the catalytic activity to hydrolyze substrates.

Table 2 Neurological assessment of genetically engineered G_{M1}-gangliosidosis model mice.

I. Spontaneous movement and posture
(1) Gait
(2) Forelimb
(3) Hind limb
(4) Trunk
(5) Tail
II. Primitive and postural reflex
(6) Avoiding
(7) Rolling
(8) Body righting acting on head
(9) Parachute
(10) Hind limb shaking
III. Simple test apparatus
(11) Treading on horizontal wire netting
(12) Hanging to vertical wire netting
(13) Rotarod test

れまで多数の遺伝子組換えマウスが作成され、その病態解析が行われたが、臨床的な評価の方法が確立されておらず、特に進行性脳変性疾患としての遺伝病の経過観察は不十分であった。

そこでマウスの神経学的評価法の開発を始めた。マウス脳の局在診断は極めて困難であり、ヒト乳児同様、対象個体の協力が得られるわけではない。そこで新たに、ヒト乳幼児の神経学的診察法をマウスに適用すべく、種々の工夫を重ね、現在までに Table 2 の 13 項目をセットとした評価法を試みている。

この種の検査には、短時間に大きな機器を使わない簡便な手技が求められる。現在は全身状態（動き、姿勢）の観察、反射機能の評価、簡単な道具を用いた検査のみである。それぞれの検査項目を、0（正常）、1（軽度異常）、2（中等度異常）、3（高度異常）の 4 段階に評価し、個別的な評価とともに総合的評価を行う。これらの評価スコアは可能な限り数字で客観化した基準をもとに算出する（未発表データ）。疾患モデルマウスに対する臨床評価の試みはあるが、多くは定常的な臨床症状の検査であり、われわれの目指す進行性脳変性疾患としての遺伝病の評価には必ずしも適当でないことが多い。

Table 3 に、3 種の典型的な遺伝子型のマウス個体の同じ時期における予備的なスコアデータをまとめてみた。生後数カ月の時点で、野生型マウス、Tg マウス（軽症型）、KO マウス（重症型）の 3 群を比較すると、

Table 3 Scoring of neurological test items in G_{M1}-gangliosidosis model mice.

Genotype	WT	Tg	KO
Age	4-5 m	6-7 m	6.5 m
N	6	9	6
Gait	0.0	0.7	1.8
Forelimb	0.0	0.0	0.2
Hind limb	0.0	0.3	1.0
Trunk	0.3	1.0	1.3
Tail	0.0	1.8	2.5
Avoiding	0.0	0.0	0.5
Rolling over	0.0	0.2	1.0
Body righting acting on body	0.0	0.1	1.2
Parachute	0.0	0.2	0.5
Hind limb shaking	0.7	1.3	1.0
Horizontal wire netting	0.3	0.4	1.8
Vertical wire netting	0.0	0.1	1.5
Rotarod	0.3	1.6	3.0
Total	1.6	7.7	17.3

The value is the mean of the scores in each group. Score 0=normal, 1=slightly abnormal, 2=moderately abnormal, 3=highly abnormal. Assessment criteria will be described elsewhere (in preparation). WT: wild type, Tg: transgenic, KO: knock-out.

軽症型が病初期としてのスコアを示したのに対し、重症型にはすでに中等度の脳機能障害が存在することがわかった。これは少数例のマウスグループの比較実験結果であるが、現在、多数例について時間経過を観察するとともに、投薬実験中の NOEV 投与の効果を検討中である。なお、現在の 13 項目の中には再現性、信頼性に疑問のあるテストもあり、妥当性の検討をさらにすすめている。

この評価システム開発前の段階で、R201C 発現 Tg マウスに 3 mM の NOEV 水溶液を生後 6 カ月（発症初期）から経口投与した少数例を予備的に観察した。投与 4 カ月後（生後 10 カ月）に非投与マウスが後肢の不全まひを発現したのに対し、投与群では後肢のまひは認められなかった（未発表データ）。上記の新しい評価システムによる数値化により、さらに明確なデータが得られるであろう。

NOEV についてわかったこと

NOEV は長期間、室温で安定である。これは薬剤として必須の条件である。塩酸塩は水によく溶ける。経口投与後、腸管で吸収され血液に入り、血液脳関門を

通って脳組織に入る。NOEV は神経細胞の中で変異蛋白質を安定化、活性化し、蓄積した基質（脂質）を分解する。今後は最適の投与量や投与方法を検討しなければならない。

予備的なデータによると、経口投与5週間までは、体重、飲水量、血液生化学分析データに異常を認めない。マウスの嗜好性・忌避はない。現在、長期投与実験の経過中、血液生化学検査、病理組織学的検査などを系統的に実施しているところである。投薬群・非投薬群とも、一部の個体に肝機能障害、肝組織形態変化があるが、その臨床的意義については検討中である。

NOEV が β -ガラクトシダーゼ欠損症のシャペロン療法に最もすぐれた薬剤であるかどうかはわからない。また、変異体により効果の違いがある。シャペロン分子と変異蛋白質との分子反応について、構造機能相関の観点から分子モデリング法による解析を始めたところである。

この新しい治療的アプローチが可能であるためには、変異遺伝子が触媒活性を持つ変異蛋白質を発現する、という条件が必須である。同じ名前の病気のすべての患者に様に適用できる手法ではない。しかし、現在まったく治療法のない病気の一部でもこの方法で症状の軽減、予防が可能になれば、きわめて大きな学問的、社会的な意味を持つ。 β -ガラクトシダーゼ変異については30~35%程度の患者に効果が期待される¹³⁾。

他のライソゾーム病・他の遺伝病への応用

すでに述べたように、この研究はファブリー病から始まった。現在の主要な研究対象は脳病変を発現する β -ガラクトシダーゼ欠損症候群、すなわち G_{M1} -ガングリオシドーシスである。モルキオ B 病については効果が確認できていない。しかし原理的にこのアプローチはすべてのライソゾーム病に適用できるはずである。

NOEV は G_{M1} の分解酵素だけでなく、ガラクトシルセラミドの β -ガラクトース結合分解酵素（ガラクトシルセラミダーゼ）の強い競合的阻害剤であることが最近わかった。つまり、クラッペ病の治療に使える可能性もあるということである。しかしこれまでのところ、細胞実験では、NOEV 添加、さらにサポシン A 添加によっても欠損酵素の活性復元は確認できていない。変異の特異性なのか、この極めて極性の低い酵素蛋白質自体の特性によるものかわからない。また、 β -グルコシダーゼ欠損症候群（ゴーシェ病）でも、グル

コース類似の化合物が、少なくとも培養細胞で有効であることが確認できた¹²⁾。 α -ガラクトシダーゼに有効な NOEV 類縁体も検索中である。

これまで、われわれはライソゾーム病という、細胞内分子病態がかなり明らかにされた疾患群を対象としてきたが、ほかのカテゴリーの遺伝病でも、もし、その分子病態、つまり変異遺伝子の発現、変異蛋白質の分子修飾、活性発現部位への細胞内移動、活性発現機構などが明らかにされれば、同じ原理の治療的アプローチが可能になるはずである。その意味で、この分子治療法、ケミカルシャペロン療法が、今後多くの病気について検討され、実用化されることを期待している。

この研究は文部科学省科学研究費（13680918、14207106）ならびに厚生労働省科学研究費（H10-脳-006、H14-こころ-017、H17-こころ-019）の補助金を受けた。

文 献

- 1) 鈴木義之：リソゾーム病総論。最新内科学大系 11 井村裕夫，尾形悦郎，高久史麿，垂井清一郎 編：ミトコンドリア病・リソゾーム病，中山書店 pp 173-186, 1996.
- 2) 鈴木義之：遺伝性ライソゾーム病。内科 87: 737-742, 2001.
- 3) Suzuki Y, Oshima A, Nanba E: β -Galactosidase deficiency (β -galactosidosis): G_{M1} -Gangliosidosis and Morquio B disease. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al (eds): The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease, 8th ed, 3775-3809, 2001.
- 4) 鈴木義之：ライソゾーム病に対するケミカルシャペロン療法。小児科 45: 2313-2320, 2004.
- 5) Suzuki Y: β -Galactosidase deficiency: an approach to chaperone therapy. J Inherit Metab Dis, in press, 2006.
- 6) 鈴木義之：薬物療法（遺伝病に対する新しい治療法）。小児科の新しい流れ：先端医療シリーズ 34, 先端医療技術研究所, pp 104-108, 2005.
- 7) Okumiyama T, Ishii S, Takenaka T, Kase R, Kamei S, Sakuraba H, Suzuki Y: Galactose stabilizes various missense mutants of β -galactosidase in Fabry disease. *Biochem Biophys Res Commun* 214: 1219-1224, 1995.
- 8) Fan JQ, Ishii S, Asano N, Suzuki Y: Accelerating transport and maturation of lysosomal α -galactosidase A in Fabry lymphoblasts by an

- enzyme inhibitor. *Nat Med* **5**: 112-115, 1999.
- 9) Tominaga L, Ogawa Y, Taniguchi M, Ohno K, Matuda J, Oshima A, Suzuki Y, Nanba E: Galactonojirimycin derivatives restore mutant human β -galactosidase activities expressed in fibroblasts from enzyme-deficient knockout mouse. *Brain Dev* **23**: 284-287, 2001.
 - 10) Matsuda J, Suzuki O, Oshima A, Yamamoto Y, Noguchi A, Takimoto K, Itoh M, Matsuzaki Y, Yasuda Y, Ogawa S, Sakata Y, Nanba E, Higaki K, Ogawa Y, Tominaga L, Ohno K, Iwasaki H, Watanabe H, Brady RO, Suzuki Y: Chemical chaperone therapy for brain pathology in G_{M1}-gangliosidosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, **100**: 15912-15917, 2003.
 - 11) Ogawa S, Kobayashi Matsunaga Y, Suzuki Y: Chemical modification of the β -glucocerebrosidase inhibitor *N*-octyl- β -valienamine: synthesis and biological evaluation of 4-epimeric and 4-*O*-(β -D-galactopyransyl) derivatives. *Bioorg Med Chem* **10**: 1967-1972, 2002.
 - 12) Lin H, Sugimoto Y, Ohsaki Y, Ninomiya H, Oka A, Taniguchi M, Ida H, Eto Y, Ogawa S, Matsuzaki Y, Sawa M, Inoue T, Higaki K, Nanba E, Ohno K, Suzuki Y: *N*-Octyl- β -valienamine up-regulates activity of F213I mutant β -glucosidase in cultured cells: a potential chemical chaperone therapy for Gaucher disease. *Biochim Biophys Acta* **1689**: 219-228, 2004.
 - 13) Iwasaki H, Watanabe H, Iida M, Ogawa S, Tabe M, Higaki K, Nanba E, Suzuki Y: Fibroblast screening for chaperone therapy in β -galactosidosis. *Brain Dev*, in press, 2006.
 - 14) Matsuda J, Suzuki O, Oshima A, Ogura A, Naiki M, Suzuki Y: Neurological manifestations of knockout mice with β -galactosidase deficiency. *Brain Dev* **19**: 19-20, 1997.
 - 15) Matsuda J, Suzuki O, Oshima A, Ogura A, Noguchi Y, Yamamoto Y, Asano T, Takimoto K, Sukegawa K, Suzuki Y, Naiki M: β -Galactosidase-deficient mouse as an animal model for G_{M1}-gangliosidosis. *Glycoconjugate J* **14**: 729-736, 1997.