グリコシルホスファチジルイノシトール（GPI）アンカー型タンパク質の生化学

木下　タロウ

GPI アンカー型タンパク質（GPI-AP）は，グリコシルホスファチジルイノシトール（GPI）によって細胞膜にアンカーされている一群の膜タンパク質で，真核生物に広く存在している．GPI の基本骨格とエタノールアミンリン酸を介してカルボキシ末端にアミド結合している様式は，生物間で保存されている．GPI アンカーは，あらかじめ小胞体膜上で生合成され，GPI 付加シグナルペプチドを持つタンパク質前駆体へトランスアミデーションによって付加される．小胞体で作られた GPI-AP の前駆体は，GPI の脂質部分と糖鎖部分の構造変化を受けつつ，分泌経路によって輸送され，成熟型の GPI-AP として，細胞表面に発現される．本稿では，哺乳動物の GPI-AP に焦点を絞り，種類，構造，生合成，欠損症について概説する．

1.　はじめに

GPI アンカー型タンパク質（GPI-AP）は，カルボキシ末端にアミド結合したグリコシルホスファチジルイノシトール（GPI）によって，細胞膜外葉にアンカーされている一群の膜タンパク質で，真核生物に広く存在している（**図 1**）．糖脂質である GPI の基本骨格と，それがエタノールアミンリン酸のアミノ基を介してカルボキシ末端にアミド結合している様式は，生物間で保存されている[1,2]．GPI アンカーの付加は，小胞体で起こる翻訳後修飾であり，あらかじめ小胞体膜上で生合成された GPI の前駆体が，カルボキシ末端に GPI 付加シグナルペプチドを持つタンパク質前駆体のシグナルペプチドと置換される形で，トランスアミデーション（アミド基転移）によって付加される．この様式も生物間で共通である（**図 2A**）[3]．小胞体でできた GPI-AP の前駆体は，脂肪酸リモデリングや側鎖の付加等，GPI の脂質部分と糖鎖部分の構造変化を受けつつ，分泌経路によって輸送され，成熟型の GPI-AP として，細胞表面に発現される（図 2B）．GPI で修飾されるタンパク質は，糖脂質を膜アンカーに持つことにより，脂質ラフトへの局在，可逆的ホモ二量体形成，主としてアピカル側への輸送，GPI 切断酵素による細胞表面からの遊離といった共通した特有の性質を持っている．本稿では，哺乳動物の GPI-AP に焦点を絞り，種類，構造，生合成，欠損によって起こる異常と疾患について概説する．GPI-AP の生合成，GPI 切断酵素による GPI-AP の細胞表面からの遊離に関しては，本誌の 85 巻 11 号に藤田による詳細な総説が掲載されているので，参照していただきたい[4]．

2.　哺乳動物 GPI-AP の種類

GPI で修飾されるタンパク質の機能は，加水分解酵素，受容体，接着因子，酵素インヒビターなどさまざまで，アミノ末端の小胞体シグナルペプチドとカルボキシ末端の GPI 付加シグナルペプチドを除けば，構造的には共通の特徴は認められない．UniProt のデータベースには，2014 年 4 月現在，ヒトの GPI-AP として 140 種強が登録されてい

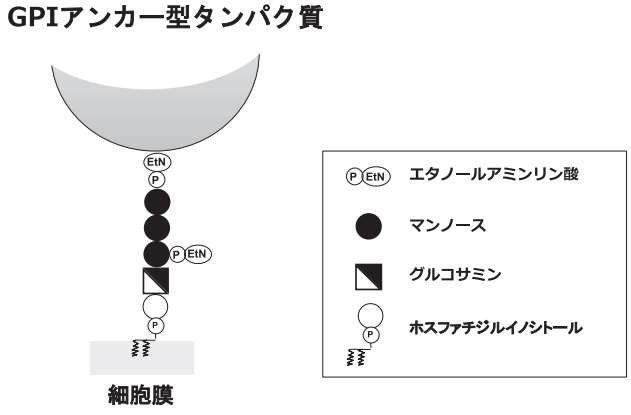

図 1　哺乳動物 GPI-AP の基本構造

大阪大学・免疫学フロンティア研究センター，微生物病研究所（〒565–0871　吹田市山田丘 3–1）

Biochemistry of glycosylphosphatidylinositol (GPI) anchored proteins

Taroh Kinoshita（WPI Immunology Frontier Research Center and Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, 3–1 Yamada-oka, Suita, Osaka 565–0871, Japan）

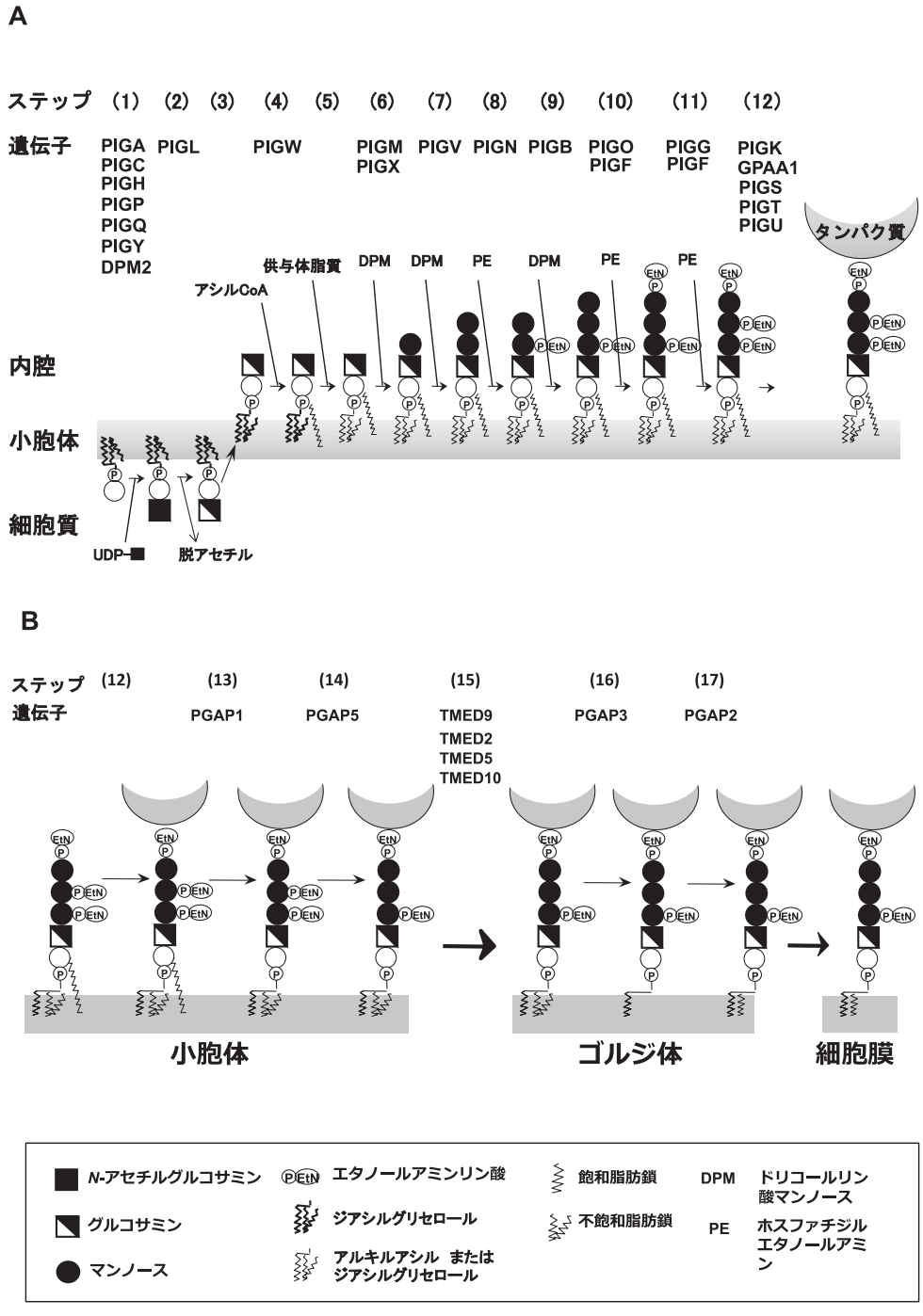

図 2　哺乳動物 GPI-AP の生合成
（A）小胞体における GPI アンカー前駆体の生合成（ステップ 1 から 11）とタンパク質への付加（ステップ 12）．（B）タンパク質への付加後に，小胞体で起こる GPI アンカーのリモデリング（ステップ 13，14），小胞体からゴルジ体への小胞輸送（ステップ 15），ゴルジ体で起こるリモデリング（ステップ 16，17）．

る．これらは GPI アンカー型であることが確実なタンパク質である．GPI-AP を予測するプログラムでは，既登録数の 2 倍以上の予測が出るものもあり，今後さらに登録数の増加が見込まれる．140 種強のうち，機能が明確なものの中に，酵素が 31 種，受容体が 23 種，接着因子が 26 種あり，その他，補体制御因子 2 種，イオンチャネル 4 種，プロテアーゼ阻害因子 1 種，プリオン等が含まれる．

3.　哺乳動物 GPI-AP の構造

哺乳動物 GPI-AP の基本構造は，
ωAA-EtNP-6-Man-α1, 2-Man-α1, 6-(EtNP-2)-Man-α1, 4-GlcN-α1, 6-*myo*PI
である（図 1）．ホスファチジルイノシトール（PI）に，α-グルコサミン（GlcN），3 分子の α-マンノース（Man），エ

タノールアミンリン酸（EtNP）が，順に結合して主鎖を形成し，GlcN に結合している 1 番目の Man に側鎖として EtNP が結合している．主鎖末端の EtN が，ω 位と呼ばれるアミノ酸残基（ωAA）のカルボキシ末端アミノ酸にアミド結合している[1]．

この基本構造に，さらに側鎖が付加されることにより，アンカーの構造多様性がもたらされる．知られている側鎖の一つは，α1, 2 結合している 3 番目の Man に第 4 の Man が側鎖として α1, 2 結合で付加される構造である．側鎖の二つ目は，第 1 の Man の 4 位に β-ガラクトサミンが付加している構造である．この側鎖に，さらにガラクトースが β1, 3 結合している構造，さらにそれにシアル酸が結合した構造が知られている[3]．

GPI の糖鎖部分の構造的特徴は，グルコサミンが *N*-アセチル化されていないことで，哺乳動物の糖鎖の中で唯一の形態である．脂質部分であるホスファチジルイノシトールの特徴の一つは，哺乳動物 GPI-AP では，主たる成分が 1-アルキル-2-アシルグリセロール型であり，ジアシルグリセロール型は少数成分であることがあげられる．二つ目の特徴は，*sn*-1 位の脂肪鎖が多くの場合飽和鎖であることに加え，*sn*-2 位の脂肪酸も飽和型のステアリン酸であることである．生合成の出発材料であるホスファチジルイノシトールは，ジアシル型で，*sn*-2 位には多くの場合不飽和脂肪酸が用いられている．これらの二つの違いは，生合成の過程で起こる脂質部分のリモデリングによってもたらされる（図 2A ステップ 5，図 2B ステップ 16，17）．

4. 哺乳動物 GPI-AP の生合成

1） 小胞体における GPI アンカー前駆体の生合成

GPI アンカーの前駆体は，小胞体膜上での少なくとも 11 ステップの反応を含む経路によって生合成される（図 2A）[4]．生合成経路は，基本的には，PI に各構成成分が順に付加される反応である．加えて，経路途中で細胞質側から内腔側への中間体のフリップ（ステップ 3）があり，また脂質リモデリング（ステップ 5）が起こる．11 ステップのうち九つの反応を担う酵素群の 17 遺伝子はクローニングされ，解析されているが，ステップ 3 と 5 についてはいまだ詳細が不明である．

ステップ 1：小胞体膜の細胞質側で，PI のイノシトールの 6 位に UDP-*N*-アセチルグルコサミン（UDP-GlcNAc）から GlcNAc が転移され，GlcNAc-PI が生成する．この転移を行う GPI-GlcNAc 転移酵素は，PIGA，PIGC，PIGH，PIGP，PIGQ，PIGY，DPM2[5~10]の七つのタンパク質の複合体で，単糖転移酵素としては最も複雑な構造をしている．このうち PIGA が，UDP-GlcNAc 結合部位を持ち glycosyltransferase family 4 に属する触媒サブユニットである．PIGQ は，複合体全体の安定化に働く．PIGC，PIGH，PIGP，PIGY はそれぞれ酵素反応にほぼ必須のサブユニットであるが，具体的な働きは不明である．DPM2 は，GPI に含まれるすべての Man の供与体であるドリコールリン酸マンノースを合成する酵素のサブユニットでもある[11]．DPM2 が含まれない複合体は，GPI-GlcNAc 転移酵素活性が 3 分の 1 程度に低下するので，GPI 生合成とドリコールリン酸マンノース合成に共通の制御があると考えられる[8]．PIGA，PIGC，PIGH，PIGP の完全欠損細胞では，細胞表面の GPI-AP の発現が完全欠損し，PIGQ と PIGY の完全欠損細胞では著減する．DPM2 欠損細胞では，ドリコールリン酸マンノース合成の欠損により，後述のステップ 7 以下が進行しないので，細胞表面での GPI-AP の発現は完全欠損する．

ステップ 2：GlcNAc-PI の GlcNAc 残基が *N*-脱アセチル化され，グルコサミン-PI（GlcN-PI）が生成する反応で，このステップも細胞質側で起こる．脱アセチル化酵素である PIGL によって触媒される[12, 13]．上述したように，*N*-アセチル化していないグルコサミンの存在は GPI に特徴的である．PIGL の完全欠損細胞では，GlcNAc-PI が蓄積し，細胞表面の GPI-AP の発現が完全欠損する．

ステップ 3：GlcN-PI が，小胞体内腔側へフリップする．フリップのメカニズムは不明である．GlcN-PI のフリップがランダムに起こるとは考えにくく，フリップを媒介する酵素が存在すると思われる．しかし，GPI 生合成欠損変異細胞のスクリーニングが徹底的に行われたにも関わらず，このステップの変異細胞が発見されないことから，複数の酵素が重複した機能を持っているか，当該酵素が細胞の生存に必須であると考えられる．

ステップ 4：小胞体内腔側へフリップした GlcN-PI のイノシトール環 2 位にアシル基が付加し，GlcN-(acyl)PI ができる[14, 15]．アシル基は，主としてパルミチン酸で，ミリスチン酸も検出される．アシル基転移酵素である PIGW によって，アシル CoA からアシル基が転移される．PIGW 欠損細胞では，その後のマンノース付加等数段階のステップは進行するが，タンパク質への付加には至らず，細胞表面の GPI-AP 発現は著減する[15]．

ステップ 5：GlcN-(acyl)PI の PI 部分が，ジアシルグリセロール型から，1-アルキル-2-アシルグリセロール型を主成分とする，1-アルキル-2-アシルグリセロール型とジアシルグリセロール型の混合型に変化する[16]．この脂質リモデリング反応の詳細メカニズムと関わる遺伝子は不明であるが，ジアシルグリセロール型の脂肪酸組成も変化することから，グリセロール骨格を含む脂質部分全体が入れ替わる反応であると考えられる．GlcN-(acyl)PI のジアシルグリセロール部分，あるいはホスファチジン酸部分が，供与体脂質の相当部分と置換する反応が可能性としてあげられる．

1-アルキルグリセロールの構造は，ペルオキシソームでジヒドロキシアセトンリン酸から 2 段階の反応で生合成される[17]．これらの反応を欠損したチャイニーズハムスター卵巣（CHO）細胞では，GPI アンカー型タンパク質は生合成され，細胞表面の発現も低下しないが，すべてがジアシ

ルグリセロール型のGPIアンカーを持っている．1-アルキル-2アシルグリセロール型が主成分になることの生理学的意義は不明である[18,19]．ペルオキシソームで生合成された1-アルキルグリセロンリン酸由来のアルキルアシルグリセロールを含有するリン脂質が，この脂質リモデリングの供与体脂質になると考えられる．脂肪鎖組成の比較からは，ホスファチジルエタノールアミンが供与体である可能性がある[18]．

ステップ6：脂質リモデリングを受けたGlcN-(acyl)PIに，第1Manがα1,4結合で付加し，Man-GlcN-(acyl)PIが生成する．この反応を触媒するGPIマンノース転移酵素Ⅰ（GPI-MTI）は，触媒成分であるPIGM[20,21]と酵素複合体を安定化させるPIGX[22]の複合体であり，供与体基質は，ドリコールリン酸マンノースである．PIGMは，glycosyltransferase family 50に属する．PIGM，PIGXの完全欠損細胞では，細胞表面のGPI-APが完全欠損し，細胞内にはGlcN-(acyl)PIが蓄積する．

ステップ7：第1Manに第2Manがα1,6結合で付加し，Man-Man-GlcN-(acyl)PIが生成する．GPIマンノース転移酵素Ⅱ（GPI-MTII）であるPIGVが触媒し，供与体はドリコールリン酸マンノースである[23]．PIGVは，glycosyltransferase family 76に属する．PIGV欠損細胞では，細胞表面のGPI-APが完全欠損する．細胞内には，Man-GlcN-(acyl)PIとステップ8に相当する反応でエタノールアミンリン酸側鎖が付加したEtNP-Man-GlcN-(acyl)PIが蓄積する．

ステップ8：ホスファチジルエタノールアミンから，第1Manの2位に，エタノールアミンリン酸が側鎖として付加され，Man-(EtNP)Man-GlcN-(acyl)PIが生成する．この反応は，GPIエタノールアミンリン酸転移酵素Ⅰ（GPI-ETI）であるPIGNによって触媒される[24]．PIGNの完全欠損細胞では，エタノールアミンリン酸側鎖を持たないGPI-APが発現し，発現レベルも有意に低下する[25]．

ステップ9：ドリコールリン酸マンノースから，第3Manがα1,2結合で転移し，Man-Man-(EtNP)Man-GlcN-(acyl)PIが生成する．反応は，GPIマンノース転移酵素Ⅲ（GPI-MTIII）であるPIGBが触媒する[26]．PIGBは，glycosyltransferase family 22に属する．PIGB完全欠損細胞では，細胞表面のGPI-APが完全欠損し，Man-(EtNP)Man-GlcN-(acyl)PIが蓄積する．

ステップ10：ホスファチジルエタノールアミンから，第3Manの6位に，エタノールアミンリン酸が付加し，EtNP-Man-Man-(EtNP)Man-GlcN-(acyl)PIが生成する．このエタノールアミンリン酸が，タンパク質のカルボキシ末端に結合するので，“bridging ethanolamine phosphate”と呼ばれる．反応は，触媒サブユニットのPIGO[27]と酵素複合体を安定化させるPIGF[28]の複合体であるGPIエタノールアミンリン酸転移酵素Ⅲ（GPI-ETIII）によって触媒される．PIGOとPIGFの完全欠損細胞では，細胞表面のGPI-APがほぼ完全欠損する．

ステップ11：ホスファチジルエタノールアミンから，第2Manの6位に，エタノールアミンリン酸が付加し，GPIアンカー前駆体であるEtNP-Man-(EtNP)Man-(EtNP)Man-GlcN-(acyl)PIが完成する．反応は，触媒サブユニットのPIGG[29]と酵素複合体を安定化させるPIGFの複合体であるGPIエタノールアミンリン酸転移酵素Ⅱ（GPI-ETII）によって触媒される．PIGG完全欠損細胞では，EtNP-Man-Man-(EtNP)Man-GlcN-(acyl)PIが蓄積するが，細胞表面GPI-AP発現レベルの低下は認められない（村上，未発表データ）．おそらく一段階手前の中間体もアンカー前駆体として用いられることによる．

一部のGPIには，タンパク質への付加前に，第4のManが第3Manの2位に側鎖として付加される． 反応は，GPIマンノース転移酵素Ⅳ（GPI-MTIV）であるPIGZが触媒する[30]．PIGZは，PIGBとよく似ており，glycosyltransferase family 22に属する．

2） GPIのタンパク質への付加（ステップ12）

GPI-APの前駆体タンパク質は，アミノ末端に小胞体シグナルペプチドを，カルボキシ末端にGPI付加シグナルペプチドを持っている．哺乳動物細胞での報告はまだないが，出芽酵母のGPI-APでは，アミノ末端小胞体シグナルペプチドの疎水性が比較的弱く，signal recognition particle（SRP）非依存的に，翻訳後に小胞体膜を通過するという結果が示されている[31]．小胞体シグナルペプチドは，前駆体タンパク質が小胞体内腔へ転送されたのち切断除去される．

カルボキシ末端のGPI付加シグナルペプチドには，コンセンサス配列はないが，四つの要素を持つ．1）GPIアンカーが付加するω位とω+2位に側鎖の小さなアミノ酸，2）およそω−11位からω−1位までの約10残基の伸びたリンカー領域，3）ω+3位からの5〜10残基の親水性領域，そして4）最末端15〜20残基の疎水性領域である[32]．

タンパク質へのアンカーの付加は，GPI付加シグナルペプチドとGPIアンカー前駆体が，トランスアミデーションで置き換わることにより行われる．これを触媒するGPIトランスアミダーゼは，PIGK，GPAA1，PIGS，PIGT，PIGUの5サブユニットの複合体である（図2A）[33〜35]．トランスアミデーションの第1段階では，システインプロテアーゼファミリーのC13類に属するPIGKが，前駆体タンパク質のω位とω+1位アミノ酸間のペプチド結合を切断し，ω位アミノ酸のカルボキシ基と触媒部位のシステイン間で，チオエステル結合を介した中間体を形成する．第2段階では，GPAA1に結合したGPI前駆体の末端エタノールアミンのアミノ基が，中間体のチオエステル結合を攻撃し，トランスアミデーション反応を完成させる[32,36]．

3） GPI-AP前駆体から成熟型への構造変化

GPIアンカーが付加されたGPI-AP前駆体は，小胞体内で二つのリモデリング（図2Bステップ13，14）を受けた

後，COPII 輸送小胞によりゴルジ体へ輸送され，さらに脂肪酸リモデリング（ステップ 16，17）を受けた後，成熟型の GPI-AP として細胞表面へ発現される．

ステップ 13：タンパク質への GPI アンカー付加後に最初に起こる反応は，脱アシル酵素である PGAP1 によって行われるイノシトール環からのアシル基の除去である[37]．この反応が起こらないと，小胞体に GPI-AP 前駆体の蓄積がみられ，小胞体からの輸送速度が 3 分の 1 程度に低下する．これは，COPII 輸送小胞へ GPI-AP を取り込む積み荷受容体である p24γ2 複合体への結合が起こらないためである[38]．イノシトールにアシル基が結合したままの「3 本足」の GPI-AP は，おそらく特異的な積み荷受容体に依存しない bulk 経路と呼ばれるメカニズムで輸送小胞に取り込まれ，低速度でゴルジ体へ輸送されるものと考えられる．3 本足の GPI-AP は，ゴルジ体での脂肪酸リモデリングを受けないまま細胞表面に発現する．

有核細胞で起こる脱アシル反応は，赤血球では起こらず，3 本足の GPI-AP が表面に発現する[39]．これは，長期間血中に存在する赤血球表面では 3 本の脂肪鎖によって GPI-AP がより安定にアンカーされるためであると推定される．

イノシトールの 2 位にアシル基を持つ GPI は，細菌由来の PI 特異的ホスホリパーゼ C（PI-PLC）に抵抗性であることが知られている[40]．これは，イノシトールの 2 位のヒドロキシ基が，PI-PLC による切断反応に使われるためであり，切断部位は，サイクリックイノシトールリン酸という特殊な構造になる．実際，赤血球や PGAP1 欠損細胞表面の GPI-AP は，PI-PLC による切断に抵抗性である[37]．

ステップ 14：GPI アンカー付加後に小胞体で起こるもう一つの反応は，第 2 Man からのエタノールアミンリン酸側鎖の除去である．この側鎖は，タンパク質への付加の直前に PIGG と PIGF の複合体酵素により付加されるので，一過性に存在する側鎖である．この側鎖の除去が起こらないと，GPI-AP は輸送小胞が形成される場である小胞体出口部位に濃縮されず，小胞体からの輸送が 3 分の 1 から 4 分の 1 程度の速度に低下する．この反応は，リン酸ジエステラーゼである PGAP5 によって触媒される[41]．PGAP5 は，小胞体，小胞体・ゴルジ体中間コンパートメント（ERGIC），ゴルジ体に分布しているが，小胞体では出口部位に局在している．PGAP5 による側鎖除去が起こらないと，GPI-AP は積み荷受容体へ結合できない[38]．

ステップ 15：二つのリモデリング反応を受けた GPI-AP は，COPII 輸送小胞に効率よく組み込まれる．GPI-AP は，細胞質側に貫通しておらず COPII コートの内層成分と直接相互作用できないので，輸送小胞への組み込みには積み荷受容体を必要とする．GPI-AP の特異的積み荷受容体は，p24 ファミリータンパク質のヘテロオリゴマー複合体である．p24 ファミリータンパク質は，四つのサブファミリーに分かれ，小胞体では各サブファミリーの一つずつが集合したヘテロオリゴマー複合体を形成する[42,43]．四つのサブファミリーのうちγサブファミリーには五つのメンバーがあり，そのうちの p24γ2 を含む p24α2/p24β1/p24γ2/p24δ1 複合体（TMED9/2/5/10 複合体）が，GPI-AP の積み荷受容体である．p24γ2（TMED5）が GPI-AP の特異的結合に必要で，内腔側のαヘリックス領域で GPI と相互作用する．p24 タンパク質は COPII コートの内層成分である Sec 24 との結合部位を細胞質側に持っていて，内腔側ドメインで結合した GPI-AP を輸送小胞に濃縮する[44]．

ステップ 16：小胞体から ERGIC，そしてゴルジ体へ輸送された GPI-AP は，p24 複合体から遊離し，さらに脂肪酸リモデリングを受ける．小胞体で生合成されタンパク質に付加される GPI アンカー前駆体は，PI の *sn*-2 位にオレイン酸，アラキドン酸，ドコサペンタエン酸などの不飽和脂肪酸を持っており，脂質ラフトとの親和性が悪い．脂肪酸リモデリングの第 1 段階において，*sn*-2 位の不飽和脂肪酸は，ゴルジ体膜タンパク質である PGAP3 によって除去され，リゾ型の中間体になる[45]．直接の酵素活性はいまだ証明されていないが，アルカリセラミダーゼ等を含む CREST ファミリーに属していることから，PGAP3 は GPI 特異的なホスホリパーゼ A2 自体であると考えられる．

ステップ 17：ゴルジ体での脂肪酸リモデリングの第 2 段階は，リゾ型中間体へのステアリン酸の付加である．この反応には，ゴルジ体膜タンパク質である PGAP2 を必要とする[46]．PGAP2 は，既知のアシル基転移酵素と相同性を持たず，酵素自体かどうかは不明である．*sn*-2 位の不飽和脂肪酸が飽和脂肪酸であるステアリン酸に入れ替わることによって，大部分の GPI-AP は 2 本の飽和脂肪鎖を持つことになり，脂質ラフトへの親和性を獲得する．PGAP 3 の欠損細胞では，*sn*-2 位に不飽和鎖を持ったままで GPI-AP が細胞表面に発現する．そのような GPI-AP は，detergent-resistant membrane（DRM）画分に回収されないことから，脂質ラフトへの局在が低下していると考えられる[45]．

5. GPI アンカー異常と疾患

1） GPI アンカー欠損症

GPI アンカーが全身で完全欠損する *Piga* ノックアウトマウスは，胎生の 9 日までに致死になることから[47]，全身での GPI 完全欠損に基づくヒトの疾患は存在しないと考えられ，実際見いだされていない．胎生致死にならずに，疾患として GPI アンカー欠損症になる場合は 2 通りある．一つは，成体ができた後，体細胞突然変異に基づいて一部の細胞だけで欠損が起こる場合である．二つ目は，生殖細胞における突然変異によって，胎生致死を免れる程度の GPI アンカーの部分低下が起こる場合である．GPI アンカー欠損症としては，前者の例である発作性夜間ヘモグロビン尿症だけが長く知られてきた．本症については，1993 年に *PIGA* 遺伝子の造血幹細胞における体細胞突然変異が原因であることがわかった[48]．後者の例は，2006 年に報告

された *PIGM* 遺伝子変異による症例が最初であり，先天性 GPI 欠損症（inherited GPI deficiency：IGD）と呼ばれている[49]．2010 年以降，主として全エクソーム解析により，GPI 関連遺伝子の突然変異による疾患が次々と発見されている[50]．

2） 発作性夜間ヘモグロビン尿症

i） 概要

発作性夜間ヘモグロビン尿症（paroxysmal nocturnal hemoglobinuria：PNH）は難治性の血液疾患で，自己補体による溶血，血栓，骨髄不全が 3 主徴である[51]．中年層を中心に発症し，10 万人あたり 1 人から 2 人程度の頻度である．すべての血液細胞種に，GPI アンカー型タンパク質が完全に欠損した（Ⅲ型 PNH 血球），あるいは，非常に低下した（Ⅱ型 PNH 血球）クローン性の大きな細胞集団が出現する．異常細胞は血液系だけに出現し，いったん発症すると 10 年以上，25 年から 30 年も継続することから明らかなように，異常多能性造血幹細胞クローンの形成と拡大に基づく疾患である．

PNH における GPI アンカーの欠損は，X 染色体遺伝子である *PIGA* の体細胞突然変異によって起こる[48]．男性では X 染色体が 1 本しかないことにより，女性では 2 本のうち片方が不活化されていることにより，*PIGA* に一つの機能喪失変異が起こることによって GPI アンカー欠損造血幹細胞ができる[48]．*PIGA* 変異造血幹細胞クローンは，骨髄中で正常クローンを凌駕して拡大し，末梢血中に GPI アンカー欠損の大きな異常細胞集団を供給する．

ii） 3 主徴のメカニズム

PNH の最も顕著な症状は，自己補体による溶血である．細胞は，自己補体の作用から自身を保護するために，種々の補体制御因子を発現している．赤血球は，GPI アンカー型の補体制御因子である CD55 と CD59 によって保護されている．CD55 は，decay-accelerating factor（DAF）と呼ばれ，自己細胞膜上に C3 転換酵素が形成されてしまったとき，触媒成分の解離を促進することにより速やかに失活させる．CD59 は，自己細胞膜上に，膜障害性複合体 C5b-9 の中間体である C5b-8 が形成されたとき，C8 部分に結合して C9 の結合を阻害することにより，膜障害性複合体の完成を阻害する．PNH の異常赤血球は，両因子を欠損しているため，細胞表面で補体の活性化とそれに続く膜障害性複合体形成を制御することができないので，補体の溶血作用に非常に弱い．感染等に伴って血管内で補体の活性化が起こったとき，異常細胞は一斉に溶血し，溶血発作となる．また，補体の第 2 経路は常時低レベルの活性化をしているため，血管内溶血がわずかずつ持続的に起こる．睡眠時には，そのレベルが亢進するため，起床時にヘモグロビン尿がよくみられる．

血栓は，肝静脈等深部静脈，門脈に起こることが多く，PNH の主たる死因の一つであるが，メカニズムの理解は十分ではない[51]．血管内溶血を防止する目的で使用されている抗 C5 モノクローナル抗体医薬のエクリズマブ[52]によって，血栓の発症も抑制されることから，異常細胞表面で起こる C5 の活性化が血栓形成に関与していることが明確になった．C5a による血小板，血管内皮細胞などの活性化，または膜障害性複合体 C5b-9 による細胞刺激や損傷，あるいは C5a と C5b-9 両者の関与によって血栓形成に至ることが想定される．

骨髄不全は，クローン性疾患である PNH の成立自体に関わっていると考えられる．すなわち，一つの *PIGA* 変異造血幹細胞が大きく拡大して発症する過程の必須段階であると思われる．骨髄不全は，特発性の再生不良性貧血におけると同様に，造血幹細胞に対する自己免疫により，幹細胞数が減少することによって起こる．そのとき，GPI アンカー型タンパク質を欠損した幹細胞は，自己反応性リンパ球の作用に抵抗性であることにより残存し，正常の幹細胞に比べ相対的に拡大すると考えられる．抵抗性の要因として，いくつかの異なるメカニズムが提唱され，それぞれ支持する実験結果が報告されている．一つは，GPI アンカー型タンパク質が T リンパ球上の副刺激受容体のリガンドであり（たとえば T リンパ球上の CD2 と標的細胞上の GPI アンカー型 CD58 の組み合わせ），GPI 欠損細胞は T リンパ球に副刺激シグナルを与えないため抵抗性になるメカニズムである[53]．二つ目は，細胞傷害性リンパ球の活性化受容体である NKG2D の GPI アンカー型リガンド（ULBP 1-3）が欠損することにより，傷害されないメカニズムである[54]．三つ目は，糖脂質である GPI が CD1d に提示され，それを自己反応性 NKT 細胞が認識して細胞傷害を起こすとき，GPI 欠損細胞は傷害されないというメカニズムである[55]．どのメカニズムが，全例のどれくらいの割合で実際に働いているかは，今後の課題である．

この自己免疫による選択メカニズムで 10% 程度の占有まで拡大が起こると血管内溶血が顕在化し PNH を発症しうる．しかし，多くの PNH 症例では，50% 以上，さらに 90% 以上の占有率であるので，選択の後，さらに体細胞変異が加わって良性腫瘍的な増殖性を獲得した PNH サブクローンができ，それが大きく拡大して病像が完成すると考えられる[56]．

iii） PNH の分子遺伝学

上記のように *PIGA* は X 染色体遺伝子なので，1 ヒットの体細胞突然変異で，細胞は GPI 生合成能を失う．体細胞突然変異は小さなものがほとんどで，症例ごとに異なっている[57~59]．集約された約 200 例の変異の内訳は，3 分の 1 が 1 塩基欠失で，その結果フレームシフトあるいはスプライス異常を来す．もう 3 分の 1 が 1 塩基置換で，ナンセンス変異，スプライス異常，機能喪失ミスセンス変異を来す．残りの 3 分の 1 のほとんどは，1 塩基挿入，少数塩基の欠失あるいは挿入，その組み合わせで，多くの場合フレームシフトを来す．ごく少数例で，遺伝子の大部分ある

いは全体の欠失が知られている．変異は，各エクソン，スプライス部位に広く散らばっており，明確なホットスポットはない．

20% 程度の症例で，二つから四つの異なる変異を持つクローンの存在が証明されている．このうち，一つのクローンが優先して大きく拡大しており，ほかは小さなクローンにとどまっていることがほとんどである．このことは，GPI 完全欠損クローン間でも拡大する性質に違いがあることを示しており，クローンの拡大が，自己免疫による選択だけでなく，さらなる体細胞変異の重なりによって増殖性を獲得するメカニズムと合致している．

これらの *PIGA* 体細胞突然変異は，病的に起こっているのではなく，健常人にも同様に起こっていると考えられる．健常人の末梢血好中球を GPI アンカー型タンパク質に対する蛍光抗体で染色し，フローサイトメトリーを行うと，100 万個に 20 個程度の好中球が GPI 欠損細胞である．これらをセルソーターで集め解析すると，PNH でみられたと同様の *PIGA* の体細胞変異が見つかる[60]．好中球で見つかる変異は，数か月後にも同じものが見つかるが，その後消失することから，幹細胞ではなく前駆細胞で起こっているらしい．しかし，このことはおそらく健常人の幹細胞にも *PIGA* に変異を持つ細胞が存在しているであろうこと，そして，クローンの拡大をもたらすメカニズムが働かなければ，1 個から数個の細胞に起こる体細胞変異自体は病的ではないことを示唆している．

GPI アンカー生合成とタンパク質への付加に必要な 20 数遺伝子は，そのどれが欠損しても GPI アンカー型タンパク質が形成されないので，欠損細胞ができる．しかるに，*PIGA* の変異だけが GPI 欠損の原因遺伝子として知られてきた．それは，*PIGA* 以外の残りすべてが常染色体遺伝子であることによっている．常染色体遺伝子の場合は，二つのアレルの両方が機能しているので，二つの体細胞変異が重ならないと，GPI 欠損細胞にならない．2 変異が 1 細胞に重なる確率はきわめて低いので，PNH の原因になることはないと考えられる．理論的には，一方のアレルが遺伝によって生殖細胞で変異している場合，機能のあるアレルが体細胞変異によって失活すれば，*PIGA* 変異と同様 GPI 欠損細胞となる．GPI トランスアミダーゼの必須成分である PIGT が，そのようなメカニズムで変異し，PNH を発症した例が最近発見された[61]．今後，ほかの常染色体遺伝子が原因の PNH が発見される可能性がある．

iv） PNH の生化学

PIGA 遺伝子に機能喪失変異が起こったとき，GPI アンカー型タンパク質の欠損はどのようにして起こるのであろうか．PIGA は，GPI 生合成の第 1 ステップをつかさどる GPI-*N*-アセチルグルコサミン転移酵素の触媒成分であるので，その機能喪失によって *N*-アセチルグルコサミン転移が起こらないので，GPI 生合成中間体は形成されず，ホスファチジルイノシトールはそのままである．CD55 や CD59 など GPI アンカー型タンパク質の前駆体タンパク質は翻訳されていることが示されており，おそらく小胞体内腔側に移行しているであろう．しかし，GPI あるいはその生合成中間体が存在しない PNH 細胞では，GPI トランスアミダーゼによる C 末端シグナル配列の切断が起こらない．その後，前駆体は速やかに細胞内分解を受けるので，細胞表面への GPI アンカー型タンパク質発現が欠損する．前駆体タンパク質の分解は，おそらく小胞体関連分解（ER associated degradation：ERAD）によるが，その過程の詳細は明らかではない．

PNH の異常細胞では，二つの補体制御因子だけでなく，好中球アルカリホスファターゼ，5′-ヌクレオチダーゼ（CD72），CD16b，赤血球アセチルコリンエステラーゼ，CD58，単球の uPA 受容体（CD87），CD24，リンパ球 CD 48 等々，30 種ほどのさまざまな GPI アンカー型タンパク質の欠損が示されている．しかし，臨床症状としては，補体制御因子欠損に基づく溶血と血栓が前面に出ている．

3） 先天性 GPI 欠損症（IGD）

i） 概要

GPI アンカー生合成経路の 27 遺伝子のうち，現在までに 12 遺伝子の先天性欠損症が報告されている．変異する遺伝子によって，また遺伝子産物の機能低下の程度によって，知的障害，てんかん，進行性脳症，筋緊張低下等，神経学的症状を中心に，特異顔貌，手指末節骨短縮症，難聴，魚鱗癬等，幅広いスペクトルの臨床症状を示す．既知の疾患の中に，その大部分あるいは一部の症例が，GPI アンカー欠損症であることがわかったものがいくつかある．hyperphosphatasia mental retardation syndrome/Mabry syndrome と CHIME syndrome の大部分，West syndrome と Ohtahara syndrome の一部の症例が GPI 欠損症であることが示されている[25, 62~79]．

糖鎖科学の領域では，*N*-グリカン，*O*-グリカン，グリコサミノグリカンなどさまざまな糖鎖の欠損症を congenital deficiencies of glycosylation（CDG）として総括し，原因遺伝子名を-CDG の前に ALG3-CDG のようにつけ，系統的に整理することが行われており，GPI 欠損症も CDG の 1 グループとして扱い，PIGM-CDG といった表記が用いられ始めている[80]．

ii） GPI 欠損の生化学

変異する遺伝子が生合成経路のどこに位置するかで，GPI アンカー型タンパク質に起こる異常が異なってくる．大きくは，① GPI の生合成に必要な遺伝子，② GPI トランスアミダーゼの成分の遺伝子，③タンパク質への付加後の GPI リモデリングに働く遺伝子の変異に分けられる．

① GPI の生合成に必要な遺伝子の変異：ある GPI 生合成遺伝子の機能低下が起こると，タンパク質へ付加できる GPI の量が減少するため，細胞表面での GPI-AP の発現が低下する．細胞内には，異常ステップの直前の GPI 中間

体が蓄積する．各タンパク質前駆体は，そのGPI付加シグナル配列の強さによって，GPIトランスアミダーゼの基質としての優劣があるので，GPIの量が減少するとタンパク質間で競争になると考えられる．劣勢のタンパク質ほどGPIを受け取りにくく，発現低下を来しやすい．実例として，Ⅱ型PNH赤血球は*PIGA*活性の部分低下によるが，CD59の発現低下が顕著で，CD55は残存する．

GPIが付加されなかったとき，前駆体タンパク質は，二つの運命をたどると考えられる．一つは，ERADによる分解で，もう一つは，GPIトランスアミダーゼによってC末端シグナル配列の切断を受け，可溶性タンパク質になっての細胞外への分泌である．後者の割合が高いときには，アルカリホスファターゼの分泌が顕著になり，高アルカリホスファターゼ血症を呈する[81]．生合成経路の後期の遺伝子が欠損した場合に高アルカリホスファターゼ血症が強くなる傾向がある．おそらく，少なくとも一つマンノースを持つGPI中間体があると，GPIトランスアミダーゼのシグナルペプチド切断活性が強まるのではないかと考えられる[81]．

現在までに，PIGA[63,73,77〜79]，PIGQ[67]，PIGL[71]，PIGW[70]，PIGM[49]，PIGV[50,76]，PIGN[25,72,75]，PIGO[62,64]の変異によるIDGが報告されている．

② GPIトランスアミダーゼの成分の遺伝子の変異：変異によりGPIトランスアミダーゼの活性が低下すると，GPIの生合成は正常に行われているにも関わらず，GPIを受け取れない前駆体タンパク質ができる．そのため，GPIアンカー型タンパク質の細胞表面発現が低下する．小胞体でGPIが付加されなかった前駆体タンパク質は，カルボキシ末端シグナル配列がGPIトランスアミダーゼで切断されず保持したまま小胞体にとどまるため，その後（おそらくERADによって）分解され，細胞外への可溶性タンパク質としての分泌は起こらない．PIGT変異の症例では，血漿中のアルカリ性ホスファターゼに関しては，健常人レベルよりも低値となり，低アルカリ性ホスファターゼ血症を呈する[74]．

③ GPIリモデリングの異常：タンパク質へのGPI付加後のGPIリモデリングの異常は，どの反応が欠損するかによってGPI-APへの影響が異なるので，個別に述べる．

PGAP1の異常：タンパク質へGPIアンカーが付加された直後に，小胞体膜タンパク質であるPGAP1によって，イノシトール環からアシル基が除去される．この脱アシル反応が起こらないと，GPI-APは「3本足」のまま細胞表面に発現される．PGAP1が完全に欠損した場合でも，細胞表面のGPI-APレベルには，ほとんど影響はない．しかし，小胞体からゴルジ体への輸送速度は3分の1程度に低下しており，小胞体ではGPI-APの軽度の蓄積も起こる．「3本足」のGPI-APは，小胞体の積み荷受容体であるp24α2/p24β1/p24γ2/p24δ1（TMED9/2/5/10）複合体と結合できないので，おそらくそのために効率よく輸送小胞へ取り込まれないことで，小胞体からの輸送遅延を来すと考えられる．また，イノシトールが脱アシルされていないと，ゴルジ体での脂肪酸リモデリングが起こらず，PIの*sn*-2位に不飽和脂肪酸を持ったままになる．PGAP1完全欠損の1家系が見いだされており，兄弟2人は知的障害を主徴とする[68]．異常な脂質構造のアンカーを持つことで，神経細胞の発達・機能に影響がでると考えられる．

PGAP2の異常：ゴルジ体の膜タンパク質であるPGAP2は，GPI-APの脂肪酸リモデリングの第2反応に働く．PGAP2が欠損すると，第1反応の結果できるリゾ体中間体に，ステアリン酸が付加されない．リゾ体のGPI-APは，そのまま細胞表面へ輸送され，さらに細胞外へ遊離される．そのため，細胞表面のGPI-APのレベルは，正常の数%から10%程度に大きく低下する．培養上清から回収したGPI-APは，もはやリゾ体ではなく水溶性であり，ホスホリパーゼDで切断された構造，すなわちイノシトールとリン酸の間で切断された構造になっている．このことは，リゾGPI-APを細胞膜上で切断するGPI-PLDが存在し，切断後に水溶性のGPI-APが遊離することを示唆している．しかし，「1本足」であるリゾ体のGPI-APが膜からはずれ，遊離後にGPI-PLDで切断された可能性も残る．

PGAP2の変異によってGPI-AP発現低下を示す4家系4人の症例が見いだされている．高アルカリホスファターゼ血症に加え，活性低下の強さに応じて，知的障害だけにとどまる場合から，いくつかの奇形，てんかん，発達障害を伴うMabry症候群まで幅広い臨床症状を呈する[62,66]．

PGAP3の異常：ゴルジ体膜タンパク質であるPGAP3は，GPI-APの脂肪酸リモデリングの第1反応であるPIの*sn*-2位からの不飽和脂肪酸除去に働くGPI特異的ホスホリパーゼA2であると思われる．PGAP3が欠損すると，GPI-APは脂肪酸リモデリングを受けずに，そのまま細胞表面へ発現される．*sn*-2位にアラキドン酸等の不飽和脂肪酸を持ったままのGPI-APは，DRMに回収されないことから，脂質ラフトへの局在ができないと考えられる．PGAP3欠損細胞株では，細胞表面のGPI-APの発現レベル自体には大きな低下はみられないが，PGAP3ノックアウトマウスの細胞では有意な低下がある．3家系5人のPGAP3欠損症例が見いだされている[65]．高アルカリホスファターゼ血症に加え，知的障害，てんかん，発達障害をさまざまな程度に持っている．脂質部分の構造異常によってGPI-APの機能に影響があると考えられる．GPI-APの細胞からの遊離は，*in vitro*では再現できないので，*in vivo*の環境下で脂質ラフトに局在できないGPI-APが遊離するメカニズムが働くと考えられる．

6. おわりに

主として全エクソーム解析によって，GPIアンカー生合成の部分低下，リモデリングの欠損によってさまざまな臨

床症状を伴うGPI欠損症が次々と見いだされている．現在までのところ，生合成に関与する27遺伝子のうち12遺伝子の欠損例が報告されているが，すでに数遺伝子の欠損が解析中であり，ほどなくすべての遺伝子の欠損例が報告されるに至るであろう．多くの症例に関する知見の蓄積によって，各遺伝子の変異がもたらす表現型のメカニズムがより明らかになり，より確実な診断法，さらには治療法の開発へとつながると期待される．欠損症は，また，GPI-APが関わるさまざまな生物現象の理解をも深め，GPI-APの生物学のいっそうの発展をもたらすと思われる．

文　　献

1）Homans, S.W., Ferguson, M.A., Dwek, R.A., Rademacher, T. W., Anand, R., & Williams, A.F.（1988）*Nature*, **333**, 269–272.
2）Ferguson, M.A., Homans, S.W., Dwek, R.A., & Rademacher, T.W.（1988）*Science*, **239**, 753–759.
3）Kinoshita, T., Fujita, M., & Maeda, Y.（2008）*J. Biochem*., **144**, 287–294.
4）藤田盛久（2013）生化学，**85**, 985–995.
5）Miyata, T., Takeda, J., Iida, Y., Yamada, N., Inoue, N., Takahashi, M., Maeda, K., Kitani, T., & Kinoshita, T.（1993）*Science*, **259**, 1318–1320.
6）Inoue, N., Watanabe, R., Takeda, J., & Kinoshita, T.（1996）*Biochem. Biophys. Res. Commun*., **226**, 193–199.
7）Kamitani, T., Chang, H.M., Rollins, C., Waneck, G.L., & Yeh, E.T.H.（1993）*J. Biol. Chem*., **268**, 20733–20736.
8）Watanabe, R., Murakami, Y., Marmor, M.D., Inoue, N., Maeda, Y., Hino, J., Kangawa, K., Julius, M., & Kinoshita, T.（2000）*EMBO J*., **19**, 4402–4411.
9）Watanabe, R., Inoue, N., Westfall, B., Taron, C.H., Orlean, P., Takeda, J., & Kinoshita, T.（1998）*EMBO J*., **17**, 877–885.
10）Murakami, Y., Siripanyaphinyo, U., Hong, Y., Tashima, Y., Maeda, Y., & Kinoshita, T.（2005）*Mol. Biol. Cell*, **16**, 5236–5246.
11）Maeda, Y., Tomita, S., Watanabe, R., Ohishi, K., & Kinoshita, T.（1998）*EMBO J*., **17**, 4920–4929.
12）Nakamura, N., Inoue, N., Watanabe, R., Takahashi, M., Takeda, J., Stevens, V.L., & Kinoshita, T.（1997）*J. Biol. Chem*., **272**, 15834–15840.
13）Watanabe, R., Ohishi, K., Maeda, Y., Nakamura, N., & Kinoshita, T.（1999）*Biochem. J*., **339**, 185–192.
14）Sagane, K., Umemura, M., Ogawa-Mitsuhashi, K., Tsukahara, K., Yoko-o, T., & Jigami, Y.（2011）*J. Biol. Chem*., **286**, 14649–14658.
15）Murakami, Y., Siripanyapinyo, U., Hong, Y., Kang, J.Y., Ishihara, S., Nakakuma, H., Maeda, Y., & Kinoshita, T.（2003）*Mol. Biol. Cell*, **14**, 4285–4295.
16）Houjou, T., Hayakawa, J., Watanabe, R., Tashima, Y., Maeda, Y., Kinoshita, T., & Taguchi, R.（2007）*J. Lipid Res*., **48**, 1599–1606.
17）Braverman, N.E., & Moser, A.B.（2012）*Biochim. Biophys. Acta*, **1822**, 1442–1452.
18）Kanzawa, N., Maeda, Y., Ogiso, H., Murakami, Y., Taguchi, R., & Kinoshita, T.（2009）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 17711–17716.
19）Kanzawa, N., Shimozawa, N., Wanders, R.J., Ikeda, K., Murakami, Y., Waterham, H.R., Mukai, S., Fujita, M., Maeda, Y., Taguchi, R., Fujiki, Y., & Kinoshita, T.（2012）*J. Lipid Res*., **53**, 653–663.
20）Maeda, Y., Watanabe, R., Harris, C.L., Hong, Y., Ohishi, K., Kinoshita, K., & Kinoshita, T.（2001）*EMBO J*., **20**, 250–261.
21）Oriol, R., Martinez-Duncker, I., Chantret, I., Mollicone, R., & Codogno, P.（2002）*Mol. Biol. Evol*., **19**, 1451–1463.
22）Ashida, H., Hong, Y., Murakami, Y., Shishioh, N., Sugimoto, N., Kim, Y.U., Maeda, Y., & Kinoshita, T.（2005）*Mol. Biol. Cell*, **16**, 1439–1448.
23）Kang, J.Y., Hong, Y., Ashida, H., Shishioh, N., Murakami, Y., Morita, Y.S., Maeda, Y., & Kinoshita, T.（2005）*J. Biol. Chem*., **280**, 9489–9497.
24）Hong, Y., Maeda, Y., Watanabe, R., Ohishi, K., Mishkind, M., Riezman, H., & Kinoshita, T.（1999）*J. Biol. Chem*., **274**, 35099–35106.
25）Ohba, C., Okamoto, N., Murakami, Y., Suzuki, Y., Tsurusaki, Y., Nakashima, M., Miyake, N., Tanaka, F., Kinoshita, T., Matsumoto, N., & Saitsu, H.（2014）*Neurogenetics*, **15**, 85–92.
26）Takahashi, M., Inoue, N., Ohishi, K., Maeda, Y., Nakamura, N., Endo, Y., Fujita, T., Takeda, J., & Kinoshita, T.（1996）*EMBO J*., **15**, 4254–4261.
27）Hong, Y., Maeda, Y., Watanabe, R., Inoue, N., Ohishi, K., & Kinoshita, T.（2000）*J. Biol. Chem*., **275**, 20911–20919.
28）Inoue, N., Kinoshita, T., Orii, T., & Takeda, J.（1993）*J. Biol. Chem*., **268**, 6882–6885.
29）Shishioh, N., Hong, Y., Ohishi, K., Ashida, H., Maeda, Y., & Kinoshita, T.（2005）*J. Biol. Chem*., **280**, 9728–9734.
30）Taron, B.W., Colussi, P.A., Wiedman, J. M., Orlean, P., & Taron, C. H.（2004）*J. Biol. Chem*., **279**, 36083–36092.
31）Ast, T., Cohen, G., & Schuldiner, M.（2013）*Cell*, **152**, 1134–1145.
32）Eisenhaber, B., Eisenhaber, S., Kwang, T.Y., Gruber, G., & Eisenhaber, F.（2014）*Cell Cycle*, **13**, 1912–1917.
33）Ohishi, K., Inoue, N., Maeda, Y., Takeda, J., Riezman, H., & Kinoshita, T.（2000）*Mol. Biol. Cell*, **11**, 1523–1533.
34）Ohishi, K., Inoue, N., & Kinoshita, T.（2001）*EMBO J*., **20**, 4088–4098.
35）Hong, Y., Ohishi, K., Kang, J.Y., Tanaka, S., Inoue, N., Nishimura, J., Maeda, Y., & Kinoshita, T.（2003）*Mol. Biol. Cell*, **14**, 1780–1789.
36）Vainauskas, S. & Menon, A.K.（2004）*J. Biol. Chem*., **279**, 6540–6545.
37）Tanaka, S., Maeda, Y., Tashima, Y., & Kinoshita, T.（2004）*J. Biol. Chem*., **279**, 14256–14263.
38）Fujita, M., Watanabe, R., Jaensch, N., Romanova-Michaelides, M., Satoh, T., Kato, M., Riezman, H., Yamaguchi, Y., Maeda, Y., & Kinoshita, T.（2011）*J. Cell Biol*., **194**, 61–75.
39）Roberts, W.L., Santikarn, S., Reinhold, V.N., & Rosenberry, T.L.（1988）*J. Biol. Chem*., **263**, 18776–18784.
40）Roberts, W.L., Myher, J.J., Kuksis, A., Low, M.G., & Rosenberry, T.L.（1988）*J. Biol. Chem*., **263**, 18766–18775.
41）Fujita, M., Maeda, Y., Ra, M., Yamaguchi, Y., Taguchi, R., & Kinoshita, T.（2009）*Cell*, **139**, 352–365.
42）Strating, J.R. & Martens, G.J.（2009）*Biol. Cell*, **101**, 495–509.
43）Hirata, R., Nihei, C., & Nakano, A.（2013）*J. Biol. Chem*., **288**, 37057–37070.
44）Theiler, R., Fujita, M., Nagae, M., Yamaguchi, Y., Maeda, Y., & Kinoshita, T.（2014）*J. Biol. Chem*., **289**, 16835–16843.
45）Maeda, Y., Tashima, Y., Houjou, T., Fujita, M., Yoko-o, T., Jigami, Y., Taguchi, R., & Kinoshita, T.（2007）*Mol. Biol. Cell*, **18**, 1497–1506.
46）Tashima, Y., Taguchi, R., Murata, C., Ashida, H., Kinoshita, T., & Maeda, Y.（2006）*Mol. Biol. Cell*, **17**, 1410–1420.
47）Nozaki, M., Ohishi, K., Yamada, N., Kinoshita, T., Nagy, A., & Takeda, J.（1999）*Lab. Invest*., **79**, 293–299.
48）Takeda, J., Miyata, T., Kawagoe, K., Iida, Y., Endo, Y., Fujita, T., Takahashi, M., Kitani, T., & Kinoshita, T.（1993）*Cell*, **73**, 703–711.

49) Almeida, A.M., Murakami, Y., Layton, D.M., Hillmen, P., Sellick, G.S., Maeda, Y., Richards, S., Patterson, S., Kotsianidis, I., Mollica, L., Crawford, D.H., Baker, A., Ferguson, M., Roberts, I., Houlston, R., Kinoshita, T., & Karadimitris, A. (2006) *Nat. Med.*, **12**, 846–851.

50) Krawitz, P.M., Schweiger, M.R., Rodelsperger, C., Marcelis, C., Kolsch, U., Meisel, C., Stephani, F., Kinoshita, T., Murakami, Y., Bauer, S., Isau, M., Fischer, A., Dahl, A., Kerick, M., Hecht, J., Kohler, S., Jager, M., Grunhagen, J., de Condor, B.J., Doelken, S., Brunner, H.G., Meinecke, P., Passarge, E., Thompson, M.D., Cole, D.E., Horn, D., Roscioli, T., Mundlos, S., & Robinson, P.N. (2010) *Nat. Genet.*, **42**, 827–829.

51) Parker, C., Omine, M., Richards, S., Nishimura, J., Bessler, M., Ware, R., Hillmen, P., Luzzatto, L., Young, N., Kinoshita, T., Rosse, W., Socie, G., & International, P.N.H.I.G. (2005) *Blood*, **106**, 3699–3709.

52) Rother, R.P., Rollins, S.A., Mojcik, C.F., Brodsky, R.A., & Bell, L. (2007) *Nat. Biotechnol.*, **25**, 1256–1264.

53) Murakami, Y., Kosaka, H., Maeda, Y., Nishimura, J., Inoue, N., Ohishi, K., Okabe, M., Takeda, J., & Kinoshita, T. (2002) *Blood*, **100**, 4116–4122.

54) Hanaoka, N., Murakami, Y., Nagata, M., Horikawa, K., Nagakura, S., Yonemura, Y., Murata, S., Sonoki, T., Kinoshita, T., & Nakakuma, H. (2013) *Br. J. Haematol.*, **160**, 114–116.

55) Gargiulo, L., Papaioannou, M., Sica, M., Talini, G., Chaidos, A., Richichi, B., Nikolaev, A.V., Nativi, C., Layton, M., de la Fuente, J., Roberts, I., Luzzatto, L., Notaro, R., & Karadimitris, A. (2013) *Blood*, **121**, 2753–2761.

56) Inoue, N., Izui-Sarumaru, T., Murakami, Y., Endo, Y., Nishimura, J., Kurokawa, K., Kuwayama, M., Shime, H., Machii, T., Kanakura, Y., Meyers, G., Wittwer, C., Chen, Z., Babcock, W., Frei-Lahr, D., Parker, C.J., & Kinoshita, T. (2006) *Blood*, **108**, 4232–4236.

57) Yamada, N., Miyata, T., Maeda, K., Kitani, T., Takeda, J., & Kinoshita, T. (1995) *Blood*, **85**, 885–892.

58) Nafa, K., Mason, P.J., Hillmen, P., Luzzatto, L., & Bessler, M. (1995) *Blood*, **86**, 4650–4655.

59) Pramoonjago, P., Wanachiwanawin, W., Chinprasertsak, S., Pattanapanayasat, K., Takeda, J., & Kinoshita, T. (1995) *Blood*, **86**, 1736–1739.

60) Araten, D.J., Nafa, K., Pakdeesuwan, K., & Luzzatto, L. (1999) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 5209–5214.

61) Krawitz, P.M., Hochsmann, B., Murakami, Y., Teubner, B., Kruger, U., Klopocki, E., Neitzel, H., Hoellein, A., Schneider, C., Parkhomchuk, D., Hecht, J., Robinson, P.N., Mundlos, S., Kinoshita, T., & Schrezenmeier, H. (2013) *Blood*, **122**, 1312–1315.

62) Krawitz, P.M., Murakami, Y., Hecht, J., Kruger, U., Holder, S. E., Mortier, G.R., Delle Chiaie, B., De Baere, E., Thompson, M.D., Roscioli, T., Kielbasa, S., Kinoshita, T., Mundlos, S., Robinson, P.N., & Horn, D. (2012) *Am. J. Hum. Genet.*, **91**, 146–151.

63) Krawitz, P.M., Murakami, Y., Riess, A., Hietala, M., Kruger, U., Zhu, N., Kinoshita, T., Mundlos, S., Hecht, J., Robinson, P. N., & Horn, D. (2013) *Am. J. Hum. Genet.*, **92**, 584–589.

64) Kuki, I., Takahashi, Y., Okazaki, S., Kawawaki, H., Ehara, E., Inoue, N., Kinoshita, T., & Murakami, Y. (2013) *Neurology*, **81**, 1467–1469.

65) Howard, M.F., Murakami, Y., Pagnamenta, A.T., Daumer-Haas, C., Fischer, B., Hecht, J., Keays, D.A., Knight, S.J., Kolsch, U., Kruger, U., Leiz, S., Maeda, Y., Mitchell, D., Mundlos, S., Phillips, J.A., 3rd, Robinson, P.N., Kini, U., Taylor, J.C., Horn, D., Kinoshita, T., & Krawitz, P.M. (2014) *Am. J. Hum. Genet.*, **94**, 278–287.

66) Hansen, L., Tawamie, H., Murakami, Y., Mang, Y., ur Rehman, S., Buchert, R., Schaffer, S., Muhammad, S., Bak, M., Nöthen, M.M., Bennett, E.P., Maeda, Y., Aigner, M., Reis, A., Kinoshita, T., Tommerup, N., Baig, S.M., & Jamra, R.A. (2013) *Am. J. Hum. Genet.*, **92**, 575–583.

67) Martin, H.C., Kim, G.E., Pagnamenta, A.T., Murakami, Y., Carvill, G.L., Meyer, E., Copley, R.R., Rimmer, A., Barcia, G., Fleming, M.R., Kronengold, J., Brown, M.R., Hudspith, K.A., Broxholme, J., Kanapin, A., Cazier, J.B., Kinoshita, T., Nabbout, R., Consortium, W.G.S., Bentley, D., McVean, G., Heavin, S., Zaiwalla, Z., McShane, T., Mefford, H.C., Shears, D., Stewart, H., Kurian, M.A., Scheffer, I.E., Blair, E., Donnelly, P., Kaczmarek, L.K., & Taylor, J.C. (2014) *Hum. Mol. Genet.*, **23**, 3200–3211.

68) Murakami, Y., Tawamie, H., Maeda, Y., Buttner, C., Buchert, R., Radwan, F., Schaffer, S., Sticht, H., Aigner, M., Reis, A., Kinoshita, T., & Jamra, R.A. (2014) *PLoS Genet.*, **10**, e1004320.

69) Kato, M., Saitsu, H., Murakami, Y., Kikuchi, K., Watanabe, S., Iai, M., Miya, K., Matsuura, R., Takayama, R., Ohba, C., Nakashima, M., Tsurusaki, Y., Miyake, N., Hamano, S., Osaka, H., Hayasaka, K., Kinoshita, T., & Matsumoto, N. (2014) *Neurology*, **82**, 1587–1596.

70) Chiyonobu, T., Inoue, N., Morimoto, M., Kinoshita, T., & Murakami, Y. (2014) *J. Med. Genet.*, **51**, 203–207.

71) Ng, B.G., Hackmann, K., Jones, M.A., Eroshkin, A.M., He, P., Wiliams, R., Bhide, S., Cantagrel, V., Gleeson, J.G., Paller, A. S., Schnur, R.E., Tinschert, S., Zunich, J., Hegde, M.R., & Freeze, H.H. (2012) *Am. J. Hum. Genet.*, **90**, 685–688.

72) Maydan, G., Noyman, I., Har-Zahav, A., Neriah, Z.B., Pasmanik-Chor, M., Yeheskel, A., Albin-Kaplanski, A., Maya, I., Magal, N., Birk, E., Simon, A.J., Halevy, A., Rechavi, G., Shohat, M., Straussberg, R., & Basel-Vanagaite, L. (2011) *J. Med. Genet.*, **48**, 383–389.

73) Johnston, J.J., Gropman, A.L., Sapp, J.C., Teer, J.K., Martin, J. M., Liu, C.F., Yuan, X., Ye, Z., Cheng, L., Brodsky, R.A., & Biesecker, L.G. (2012) *Am. J. Hum. Genet.*, **90**, 295–300.

74) Kvarnung, M., Nilsson, D., Lindstrand, A., Korenke, G.C., Chiang, S.C., Blennow, E., Bergmann, M., Stodberg, T., Makitie, O., Anderlid, B. M., Bryceson, Y.T., Nordenskjold, M., & Nordgren, A. (2013) *J. Med. Genet.*, **50**, 521–528.

75) Brady, P.D., Moerman, P., De Catte, L., Deprest, J., Devriendt, K., & Vermeesch, J.R. (2014) *Eur. J. Med. Genet.*, **57**, 487–493.

76) Horn, D., Wieczorek, D., Metcalfe, K., Baric, I., Palezac, L., Cuk, M., Petkovic Ramadza, D., Kruger, U., Demuth, S., Heinritz, W., Linden, T., Koenig, J., Robinson, P.N., & Krawitz, P. (2014) *Eur. J. Hum. Genet.*, **22**, 762–767.

77) Belet, S., Fieremans, N., Yuan, X., Van Esch, H., Verbeeck, J., Ye, Z., Cheng, L., Brodsky, B.R., Hu, H., Kalscheuer, V.M., Brodsky, R.A., & Froyen, G. (2013) *Hum. Mutat.*, **35**, 350–355.

78) Swoboda, K.J., Margraf, R.L., Carey, J.C., Zhou, H., Newcomb, T.M., Coonrod, E., Durtschi, J., Mallempati, K., Kumanovics, A., Katz, B.E., Voelkerding, K.V., & Opitz, J.M. (2014) *Am. J. Med. Genet. A*, **164**, 17–28.

79) van der Crabben, S.N., Harakalova, M., Brilstra, E.H., van Berkestijn, F.M., Hofstede, F.C., van Vught, A.J., Cuppen, E., Kloosterman, W., Ploos van Amstel, H.K., van Haaften, G., & van Haelst, M.M. (2014) *Am. J. Med. Genet. A*, **164**, 29–35.

80) Freeze, H.H. (2013) *J. Biol. Chem.*, **288**, 6936–6945.

81) Murakami, Y., Kanzawa, N., Saito, K., Krawitz, P.M., Mundlos, S., Robinson, P.N., Karadimitris, A., Maeda, Y., & Kinoshita, T. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 6318–6325.

著者寸描

●木下タロウ（きのした　たろう）
大阪大学免疫学フロンティア研究センター糖鎖免疫学研究室教授．医学博士．

■略歴　1951年兵庫県に生る．74年東京大学農学部卒業．77年同大学院農学系研究科修士課程修了．81年大阪大学大学院医学研究科博士課程修了．同年日本学術振興会奨励研究員．82年大阪大学医学部助手（細菌学）．88年同講師．90年大阪大学微生物病研究所免疫不全疾患研究分野教授．2003～07年同研究所長．07年大阪大学免疫学フロンティア研究センター副拠点長，教授（糖鎖免疫学研究室）．

■研究テーマ　タンパク質GPIアンカーの生物学と医学．

■抱負　糖脂質であるGPIがタンパク質の膜アンカーに用いられることの生理的意義を理解し，合わせてGPI欠損により起こる諸疾患の病態を解明したい．

■ウェブサイト　http://www.biken.osaka-u.ac.jp/biken/men-eki-huzen/index.html