

## 総 説

### 糖脂質合成に関わる糖転移酵素遺伝子の変異と生合成不全症

稲森啓一郎

#### Mutations in the glycosyltransferase genes involved in glycolipid synthesis and disorders of the biosynthesis

Kei-ichiro INAMORI

*Division of Glycopathology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Institute of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Medical and Pharmaceutical University.*

(Received November 20, 2024)

Glycosphingolipids are composed of a hydrophobic ceramide portion, in which a fatty acid is bound to a long-chain base called sphingosine, and a hydrophilic sugar portion. Sialic acid-containing glycosphingolipids, called gangliosides, are abundant in the central nervous system, and four species GM1, GD1a, GD1b, and GT1b are predominant in mammalian brains. Both GM3 synthase and GM2/GD2 synthase are essential for the biosynthesis of these four major species. Pathogenic mutations in the genes encoding GM3 synthase (*ST3GAL5*) and GM2/GD2 synthase (*B4GALNT1*) are the cause of infantile-onset epilepsy syndrome associated with developmental regression as well as abnormal movements and blindness, and SPG26, a complicated form of hereditary spastic paraplegia associated with intellectual disability and peripheral neuropathy, respectively. In this review, the author summarizes the current understanding of the pathophysiology of glycolipid biosynthesis disorders based on the results of studies using gene knockout mice, and introduces the first cases of *ST3GAL5* and *B4GALNT1* gene mutations in Japan that have recently been identified in patients with neurological disorders.

**Key words** — glycosphingolipids, gangliosides, glycosyltransferase, GM3 synthase deficiency, hereditary spastic paraplegia SPG26

#### 1. はじめに

スフィンゴ脂質は、ドイツの科学者 Johann Ludwig Wilhelm Thudichum (1829–1901) によって初めて脳の脂質成分から単離された。<sup>1)</sup> 当時、それまで知られていたグリセリン脂質とは性質が異なる、すなわちアルカロイドに脂肪酸が結合した脂質の発見であり、そのアルカロイド部分はスフィンゴシンと命名された。その謎めいた成分に対する、ギリシャ神話の謎かけの怪物スフィンクスに因んだネーミングであるとされている。スフィンゴ糖脂質は、長鎖塩基のスフィンゴシンに脂肪酸が結合したセラミドに、親水性の糖（鎖）が結合したもので、両親媒性の複合糖質として細胞膜外層でコレステロールや種々のタンパク質などとの相互作用を介して、細胞内シグナル伝達、細胞接着、細胞間相互作用などを制御している。

特に、糖鎖部分にシアル酸を含む酸性スフィンゴ糖脂質はガングリオシドとよばれ、中枢神経系に多く存在し、神経細胞の機能と維持に重要な役割をもつ。<sup>2)</sup>

哺乳類の脳では、GM1, GD1a, GD1b, GT1b の4分子種が主要なガングリオシドとして存在し、ヒトにおいてはこれらが脳ガングリオシドの99%を占めている。<sup>3)</sup> これらの主要な4分子種の生合成には、シアル酸転移酵素であるGM3合成酵素 (GM3S) と、*N*-アセチルガラクトサミン (GalNAc) 転移酵素であるGM2/GD2合成酵素 (GM2S) の両方が必須である。<sup>4,5)</sup> Figure 1に、酸性スフィンゴ糖脂質の生合成経路と、その生合成に関わる糖転移酵素のノックアウト (KO) マウスが示す主な表現型を表した。GM3S遺伝子 *ST3GAL5* とGM2S遺伝子 *B4GALNT1* の病原性変異はそれぞれ、発達遅滞、異常運動、失明を伴う乳児期発症のてんかん症候群 (GM3S欠損症)、および、知的障害と末梢神経障害を伴う遺伝性痙攣性対麻痺 (hereditary spastic paraplegia, HSP) の複合型であるSPG26を引き起

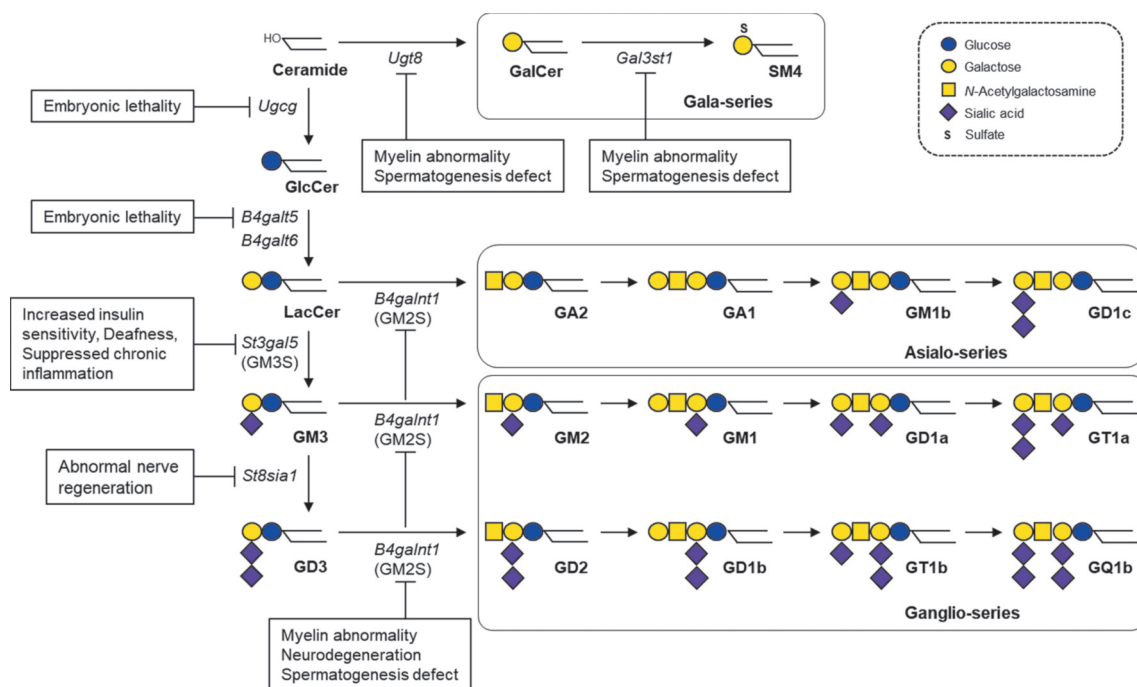


Figure 1. Biosynthetic pathway of acidic glycosphingolipids and major phenotypes of knockout mice for each of the glycosyltransferases. GlcCerS (*Ugcg*) transfers glucose to ceramide, and LacCer synthase (*B4galt5/B4galt6*) subsequently adds galactose to GlcCer. GalCer synthase (*Ugt8*) transfers galactose to ceramide to form GalCer, and cerebroside sulfotransferase (*Gal3st1*) subsequently adds a sulfate group to form sulfatide SM4. Rectangles indicate phenotypes observed in mouse KO models. 文献 37) から改変して引用。

こす。<sup>6,8)</sup> マウスにも両遺伝子のオルソログがあり、各 KO マウスはいずれも糖脂質の生合成不全を呈する。<sup>9,10)</sup> 本総説では、スフィンゴ糖脂質生合成不全症の病態生理に関する現在の理解について、各遺伝子の KO マウスの解析等から得られている結果に基づいて概説する。

## 2. スフィンゴ糖脂質生合成不全症

スフィンゴ糖脂質の生合成に関わる糖転移酵素遺伝子の異常による病気には、GM3S 遺伝子 *ST3GAL5* の変異による GM3S 欠損症と、GM2S 遺伝子 *B4GALNT1* の変異による HSP (SPG26) が知られている。GM3S 欠損症は Simpson らによって、オールド・オーダー・アーミッシュの家系において、発達遅滞と失明を伴う常染色体劣性遺伝形式の乳児期発症てんかん症候群として最初に報告された。<sup>8)</sup> *ST3GAL5* の両アレル変異は、ガングリオ系糖脂質の生合成不全を生じ、小頭症、知的障害、難聴、難治性てんかん、色素沈着異常などを特徴とする重篤な小児期発症の神経障害を引き起こす。<sup>8,11-22)</sup> GM3S 欠損症患者は出生時には概ね正常であるが、精神運動発達遅滞がみられ、多くの患者において運動障害と難治性てんかんを示す。アーミッシュ

やアフリカ系アメリカ人の患者においては、しばしば様々な部位の皮膚色素異常（色素沈着の亢進または低下）がみられ、Salt and pepper（塩と胡椒）症候群ともよばれている。<sup>16,17)</sup>

GM2S 遺伝子 *B4GALNT1* の病的変異は HSP の原因となる。HSP は進行性の下肢痙縮と筋力低下を主徴とする神経変性疾患で、現在までに 80 以上の原因遺伝子座が同定されており、発見された順番に SPG ナンバーが割り当てられている。<sup>23)</sup> HSP は、痙性対麻痺のみを呈する純粋型と、下肢痙縮に加えて末梢神経障害や小脳失調、てんかんなど多岐にわたる随伴症状を伴う複合型に分けられる。*B4GALNT1* 遺伝子変異による HSP は、2013 年に Boukhris らからチュニジア、ポルトガル、スペイン、ブラジル、ドイツ、アルジェリア、フランスの各家系において、一方、Harlalka らからはクウェート、イタリア、アーミッシュの各家系において、常染色体劣性遺伝の複合型痙性対麻痺で下肢の痙縮と知的障害、末梢神経障害などを伴う症例が報告された。<sup>6,7)</sup> 発症は通常、幼少期で発達遅延を伴い、進行性の下肢痙縮は歩行障害につながる普遍的特徴である。ほとんどの患者において、遠位筋の萎縮と拘縮、軽度から中程度の知的障害

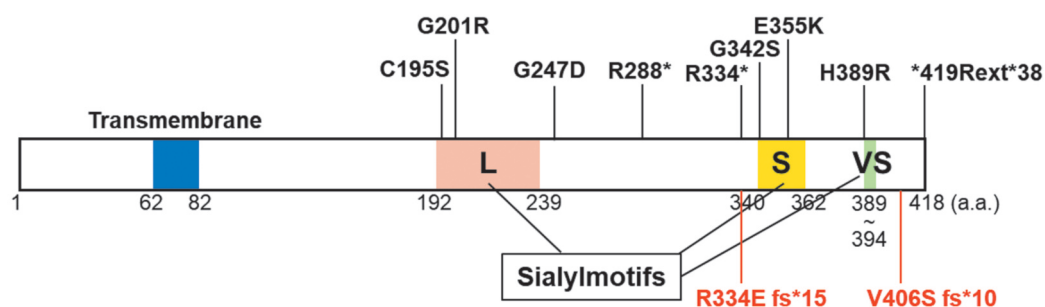


Figure 2. Schematic representation of sialylmotifs of GM3S protein (ST3GAL5) and its mutants reported in GM3S-deficiency patients. Sialylmotifs L (large), S (small) and VS (very small) are highly conserved in mammalian sialyltransferases.

と構音障害がみられる。<sup>6,7,24-28)</sup>

一方で、*ST3GAL5*と*B4GALNT1*遺伝子以外に、ガングリオシドの生合成前駆体となるグルコシルセラミド合成酵素 (GlcCerS) の遺伝子 *UGCG* の変異により皮膚バリア機能が障害される、致死性の常染色体劣性魚鱗癬が報告されている。*UGCG* にホモ接合変異をもったこの患者は、重度の高ナトリウム血症性無尿性腎不全により生後2週間で死亡した。<sup>29)</sup> 詳細な解析はなされていないものの、ホモ接合変異により GlcCerS タンパク質の大部分を欠くことで酵素活性が消失し、ガングリオシドを含む全ての GlcCer 系スフィンゴ糖脂質の生合成不全が生じたと考えられる。GlcCerS (*Ugcg*) KO マウスは胎生致死であるが、ケラチノサイト特異的 *Ugcg* KO マウスは、他の魚鱗癬モデルマウスと同様に重度の皮膚バリア障害を呈する。<sup>30,31)</sup>

ヒト GM3S タンパク質は 418 アミノ酸からなり、哺乳類のシアル酸転移酵素に高度に保存されているシアリルモチーフ配列 (L, S, VS) を含む (Figure 2)。<sup>32)</sup> アーミッシュの多くの GM3S 欠損症患者とフランス人およびパキスタン人の患者に見いだされたナンセンス変異体 R288\*は、シアリルモチーフ S と VS を欠くためシアル酸転移活性が損なわれ、GM3S としての機能を失っていると考えられる。<sup>8,14,18)</sup> 実際に、アーミッシュ患者の血漿スフィンゴ糖脂質の解析から、GM3 とその生合成経路下流のガングリオシドは検出されず、GM3S の基質であるラクトシルセラミド (LacCer) とアシアロ系糖脂質が増加していた。<sup>13)</sup> 最も患者報告数が多い R288\*変異の他にも、いくつかのミスセンス変異が GM3S 欠損症患者において見いだされ、それらの変異箇所はシアリルモチーフの L または S に位置していた。アフリカ系アメリカ人患者に見

られた E355K ホモ接合変異、<sup>22)</sup> 韓国人患者に複合ヘテロ接合体として見られた C195S および G201R 変異、<sup>15)</sup> イタリア人患者に見られた G342S ホモ接合変異などがあり、<sup>12)</sup> LacCer を基質に用いた *in vitro* GM3S アッセイにより、これらの変異体はシアル酸転移活性をもたないことが示された。<sup>12)</sup> Heide らの最近の研究では、さらに4種類の新たな患者変異が明らかにされた：ミスセンス変異 G247D と H389R、ナンセンス変異 R344\*、ストップロス・バリエント \*419Rext\*38 (ストップコドンが破壊され、読み枠が 37 コドン延長される)。<sup>11)</sup> これらの変異を持つ患者の血漿スフィンゴ糖脂質解析において、GM3 レベルの有意な低下がみられたものの、依然として GM3 の存在が確認された (患者 7 人で 0.4–2.6  $\mu\text{mol/L}$ , 対照 5 人で 11.5–14.4  $\mu\text{mol/L}$ )。また同時に、R288\*変異をもつアーミッシュ患者では検出されなかった GM2 も検出された。これらの変異体タンパク質の GM3S 活性については検討されておらず、その分子機序の詳細は不明である。

最近、日本国内において、中国人姉妹の神経疾患患者に *ST3GAL5* 遺伝子の新規複合ヘテロ接合変異 (R334E fs\*15/V406S fs\*10) が見いだされた。<sup>21)</sup> 国立精神・神経医療研究センター病院におけるこの患者は、乳児期に過敏性や成長不全が現れ、それに続いて発達遅滞や難聴が現れたというもので、これまでの GM3S 欠損症の特徴と一致していた。姉は9歳の時に重度の不随意運動に対して脳深部刺激療法を受けた。妹は9か月の時に急性脳症を発症し、その後、難治性てんかんを発症した。著者らは、*ST3GAL5* を欠損させた HEK293 細胞への遺伝子導入により、R334E fs\*15 および V406S fs\*10 変異体タンパク質の GM3S 活性について、蛍光標識



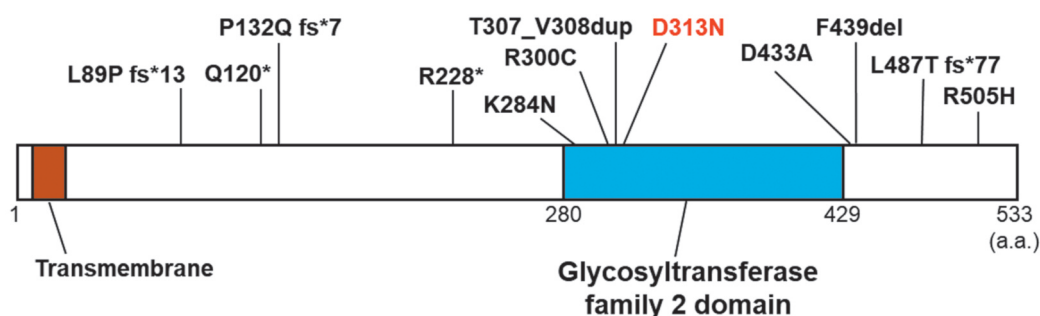


Figure 3. Schematic representation of GM2S protein (B4GALNT1) and its mutants reported in SPG26 patients.

アルキルラクトシドを基質に用いたアッセイで,<sup>33)</sup> いずれも酵素活性が消失していることを明らかにした。<sup>21)</sup> 本例は、国内で初めて診断された GM3S 欠損症の症例であった。

ヒト GM2S タンパク質は 533 アミノ酸からなり (Figure 3), GM3S タンパク質と同様に II 型膜タンパク質として主にゴルジ体で機能している。Boukhris らが報告した 8 変異 (L89P fs\*13, Q120\*, P132Q fs\*7, R228\*, R300C, T307\_V308dup, D433A, F439del: ホモ接合または複合ヘテロ接合) および Harlalka らが報告した 3 ホモ接合変異 (K284N, L487T fs\*77, R505H) について, Bhuiyan らは生化学的に変異体タンパク質の機能解析を行っている。<sup>34)</sup> これらの 11 変異体について, マウスのメラノーマ細胞株 B78 に, 遺伝子導入により一過性に発現させた変異体タンパク質の細胞内局在, GM2 酵素活性, および細胞表面 GM2 発現の解析を行った際, いずれもゴルジ体に局在を示すものの, 9 変異体において酵素活性の消失がみられ, 残りの 2 変異体においては弱いながらも酵素活性が検出されていた。この弱い GM2S 活性がみられた変異をもつ患者は, 酵素活性が消失する変異をもつ患者よりも比較的発症が遅く, 神経症状も軽度であったことから, 酵素活性と臨床的特徴はよく一致することが示された。

一方で, 米国ボストン小児病院において, プエルトリコ系の HSP 患者に *B4GALNT1* 遺伝子の新規複合ヘテロ接合変異 (一方のアレルにエキソン 6 の欠失が予想されるスプライス部位変異, 他方のアレルには R618P ミスセンス変異) が見いだされた。著者らは, 患者線維芽細胞のガングリオシド解析に携わり, GM1 に特異的に結合するコレラトキシン b-サブユニットの細胞表面への結合性が消失すること, および脂質解析と抗 GM2 抗体を用いた免疫

TLC 解析により, GM2 が完全に消失していることを明らかにし, SPG26 の診断につながった。<sup>26)</sup>

さらに最近, 信州大学医学部附属病院において, 進行性の神経変性症患者に新規 *B4GALNT1* 遺伝子変異 (ホモ接合変異: D313N) が見いだされた。<sup>28)</sup> 著者らはまず, 患者末梢血単核細胞 (PBMC) を用いて *B4GALNT1* 遺伝子変異の影響を検討した。ヒトの PBMC は通常, ガングリオシドをほとんど発現していないが, CD3 抗体と CD28 抗体により T 細胞を活性化させると *B4GALNT1* 遺伝子発現が強く誘導され, T 細胞表面の GM1 発現が顕著に上昇する。<sup>35)</sup> T 細胞活性化により, 健常者コントロールと患者 T 細胞のどちらも活性化マーカー CD69 の発現亢進が確認されたが, 患者 T 細胞では GM1 発現の上昇がみられなかった。ホモロジーモデリングにより, D313 が UDP 結合に関わる可能性が予測された。GM2S を含む GalNAc 転移酵素は, UDP-GalNAc を供与体基質として利用し, 受容体基質に対して GalNAc を転移する。D313N 変異によって UDP-GalNAc との結合が損なわれることで, その転移活性に影響を及ぼす可能性が示唆された。そこで, *B4GALNT1* を欠損させた HEK293 細胞への遺伝子導入により, D313N 変異体タンパク質の GM2S 活性を評価したところ, 完全に酵素活性が消失していた。本例は, 日本人で初めて SPG26 と診断された症例である。<sup>28)</sup>

### 3. スフィンゴ糖脂質合成不全症の病態生理

GM3S 欠損症および GM2S 欠損症 (SPG26) の病態生理については, KO マウスや KO 細胞を用いた研究から様々な知見が得られている。GM2S (*B4galnt1*) KO マウスでは神経軸索の変性が認められ, 進行性の末梢神経障害を呈し, ヒトの SPG26 と同様の症状を示す。一方で, GM3S 欠損

症がSPG26より一般的に重篤な神経症状を呈するのに対して、GM3S (*St3gal5*) KO マウスは難聴やインスリン感受性亢進などの表現型を示すものの、目立った神経性の症状を示さない。<sup>9,36,37)</sup>

ガングリオシドは細胞膜マイクロドメインの基本的な構成成分として、側方相互作用により上皮成長因子受容体やインスリン受容体などの受容体型チロシンキナーゼやレプチン受容体の機能を制御している。<sup>9,36,38-40)</sup> また、内耳の蝸牛において、GM3は2つのタンパク質PTPRQとミオシンVIとの側方相互作用により有毛細胞の構造維持に関わっており、*ST3GAL5* ノックアウトマウスにおいては有毛細胞が融合してしまうことで機能できずに難聴を呈す。<sup>41)</sup>

細胞間相互作用においても、ガングリオシドは重要な役割をもつ。特に、神経軸索上のガングリオシドとミエリンとの相互作用は、軸索の正常な機能と維持に不可欠である。ミエリン関連糖タンパク質 (myelin-associated glycoprotein, MAG) は、オリゴデンドロサイトおよびシュワン細胞から産生され、ミエリンの最内層に発現している。MAGはSiglec-4としても知られており、シグレック (sialic acid binding immunoglobulin-like lectin, Siglec) とよばれるシアル酸結合性レクチンのファミリーに属する。<sup>42)</sup> MAGは軸索上のGD1aとGT1bに高親和性で結合し、軸索再生を抑制して有髄軸索の維持に寄与している。<sup>43-45)</sup> MAGの遺伝子変異も常染色体劣性遺伝のHSP (SPG75) を生じることが示されている。<sup>46)</sup>

細胞内におけるガングリオシドの機能についてはよく分かっていないが、Fragakiらは、GM3S欠損症患者の線維芽細胞においてミトコンドリアにおける呼吸の低下を報告している。<sup>18)</sup> 一方、著者らが作製したGM3S KO マウスの脳およびGM3S KO 神経細胞株においては、グルコース代謝が亢進しており、ミトコンドリア呼吸が高まっていた。<sup>47)</sup> 患者の線維芽細胞にて観察された結果とは一見相反する結果ではあったが、腎臓、肝臓、脂肪組織などの多くの末梢組織ではGM3が主なガングリオシドであるのに対し、前述のように脳ではGM1やGD1aなどのより複雑なガングリオシドが大部分を占めている。個々のガングリオシド分子種が代謝やミトコンドリア機能に果たす役割については、組織ごとに評価する必要があるだろう。興味深いことに、GM3S KO マウスは野生型マウスに比べ

て、カイニン酸誘発てんかんモデルにおいて過敏に反応するが、<sup>48)</sup> 解糖系の阻害剤である2-デオキシグルコースによってグルコース代謝亢進を抑制することでGM3S KO マウスのてんかんが抑制された。<sup>47)</sup> この結果は、GM3S欠損患者の症状に対しての将来的な治療戦略につながる可能性がある。

#### 4. 今後の展望

*B4GALNT1* 変異によるSPG26患者の神経症状は、GM2S (*B4galnt1*) KO マウスにみられる表現型によく似ている。また、一部の男性患者においては血清テストステロン低値や性腺機能低下症が示されており、GM2S KO マウスが呈する精子形成異常と一致した症状である。<sup>34,49)</sup> このことから、GM2S KO マウスはSPG26患者の臨床症状を理解するうえで有用なモデルマウスと考えられる。一方、GM3S欠損症患者の呈する重度の神経症状に対して、GM3S (*St3gal5*) KO マウスは目立った神経性の症状を示さず、ヒトの欠損症のモデル動物としての利用には限界がある。GM3S KO マウスの脳およびその他の組織では、GM3以降のガングリオシド (ガングリオ系糖脂質) が消失し、代替的にアシアロ系糖脂質のGM1bやGD1 $\alpha$ 、GD1cなどが発現する。<sup>36)</sup> これらは消失したGM1やGD1a、GD1bなどの異性体として、神経機能・維持などにおいて代償的に機能しているのであろう。しかしながら、ヒトのGM3S欠損症においては、血清や線維芽細胞ではガングリオ系糖脂質の消失とともにグロボ系糖脂質の増加が観察され、アシアロ系糖脂質の増加はみられない。<sup>8,18,50,51)</sup> この代替的糖脂質発現の違いが、ヒトとマウスにおける神経症状などの違いを生じる原因と考えられる。このヒトとマウスにおける代替経路の違いを調べることで、スフィンゴ糖脂質生合成経路の新たな制御機構の解明に加えて、GM3S欠損症モデル動物の開発と治療戦略につながる可能性がある。

また最近、東北メディカル・メガバンク機構 (ToMMo) の日本人一般住民の全ゲノム参照パネルから、*B4GALNT1* のミスセンスバリエーションのうち有害と予測されるバリエーションを抽出し機能解析を行ったところ、多くのバリエーションにおいて細胞内局在変化とGM2S酵素活性の減弱または消失がみられた。<sup>28)</sup> *ST3GAL5* も含め、日本人における糖脂質生合成遺伝子の病的バリエーションの同定と機能解析をさらに進めることは、未診断疾患患者の診

断, および国内患者・保因者状況の把握につながるものと考えられる。

**謝辞** 本総説で紹介した GM3S KO マウス等を用いたガングリオシドの生理機能に関する研究, および欠損症における変異体タンパク質の機能解析は, 機能病態分子学教室の前教授である井ノ口仁一先生 (現・客員教授), および元客員教授・鈴木明身先生のご指導, ご助言をいただき行ったものです。また, ご協力いただいた, 同教室にご所属されていた永福正和先生, 郷慎司先生, 宍戸史先生, 狩野裕考先生, 新田昂大先生, ならびに大学院生の皆様に, 心より感謝申し上げます。国内の欠損症患者変異体タンパク質の機能解析は, 国立精神・神経医療研究センター, 信州大学医学部, 本学薬学部および医学部医学教育推進センター, 東北大学・東北メディカル・メガバンクなどの多くの先生方との共同研究による成果であり, 改めてこの場を借りて御礼申し上げます。

## 利益相反

開示すべき利益相反はありません。

## REFERENCES

- 1) Thudichum, J.L.W. A treatise on the chemical constitution of the brain: Bailliere, Tindall, and Cox, London (1884).
- 2) Inokuchi, J.I., Inamori, K.I., Kabayama, K., Nagafuku, M., Uemura, S., Go, S., Suzuki, A., Ohno, I., Kanoh, H., & Shishido, F. *Prog Mol Biol Transl Sci*, **156**, 151–195 (2018).
- 3) Schnaar, R.L. *Adv Carbohydr Chem Biochem*, **76**, 113–148 (2019).
- 4) Ishii, A., Ohta, M., Watanabe, Y., Matsuda, K., Ishiyama, K., Sakoe, K., Nakamura, M., Inokuchi, J., Sanai, Y., & Saito, M. *J Biol Chem*, **273**, 31652–31655 (1998).
- 5) Nagata, Y., Yamashiro, S., Yodoi, J., Lloyd, K.O., Shiku, H., & Furukawa, K. *J Biol Chem*, **267**, 12082–12089 (1992).
- 6) Harlalka, G.V., Lehman, A., Chioza, B., Baple, E.L., Maroofian, R., Cross, H., Sreekantan-Nair, A., Priestman, D.A., Al-Turki, S., McEntagart, M.E., et al. *Brain*, **136**, 3618–3624 (2013).
- 7) Boukhris, A., Schule, R., Loureiro, J.L., Lourenco, C.M., Mundwiler, E., Gonzalez, M.A., Charles, P., Gauthier, J., Rekik, I., Acosta Lebrigio, R.F., et al. *Am J Hum Genet*, **93**, 118–123 (2013).
- 8) Simpson, M.A., Cross, H., Proukakis, C., Priestman, D.A., Neville, D.C., Reinkensmeier, G., Wang, H., Wiznitzer, M., Gurtz, K., Verganelaki, A., et al. *Nat Genet*, **36**, 1225–1229 (2004).
- 9) Yamashita, T., Hashiramoto, A., Haluzik, M., Mizukami, H., Beck, S., Norton, A., Kono, M., Tsuji, S., Daniotti, J.L., Werth, N., et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **100**, 3445–3449 (2003).
- 10) Takamiya, K., Yamamoto, A., Furukawa, K., Yamashiro, S., Shin, M., Okada, M., Fukumoto, S., Haraguchi, M., Takeda, N., Fujimura, K., et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **93**, 10662–10667 (1996).
- 11) Heide, S., Jacquemont, M.L., Cheillan, D., Renouil, M., Tallot, M., Schwartz, C.E., Miquel, J., Bintner, M., Rodriguez, D., Darcel, F., et al. *Genet Med*, **24**, 492–498 (2022).
- 12) Indelicato, R., Parini, R., Domenighini, R., Malagolini, N., Iascone, M., Gasperini, S., Masera, N., dall'Olio, F., & Trinchera, M. *Glycobiology*, **29**, 229–241 (2019).
- 13) Bowser, L.E., Young, M., Wenger, O.K., Ammous, Z., Brigatti, K.W., Carson, V.J., Moser, T., Deline, J., Aoki, K., Morlet, T., et al. *Mol Genet Metab*, **126**, 475–488 (2019).
- 14) Gordon-Lipkin, E., Cohen, J.S., Srivastava, S., Soares, B.P., Levey, E., & Fatemi, A. *J Child Neurol*, **33**, 825–831 (2018).
- 15) Lee, J.S., Yoo, Y., Lim, B.C., Kim, K.J., Song, J., Choi, M., & Chae, J.H. *Am J Med Genet A*, **170**, 2200–2205 (2016).
- 16) Boccuto, L., Aoki, K., Flanagan-Steet, H., Chen, C.F., Fan, X., Bartel, F., Petukh, M., Pittman, A., Saul, R., Chaubey, A., et al. *Hum Mol Genet*, **23**, 418–433 (2014).
- 17) Wang, H., Bright, A., Xin, B., Bockoven, J.R., & Paller, A.S. *Am J Med Genet A*, **161A**, 875–879 (2013).
- 18) Fragaki, K., Ait-El-Mkadem, S., Chaussonnot, A., Gire, C., Mengual, R., Bonesso, L., Beneteau, M., Ricci, J.E., Desquret-Dumas, V., Procaccio, V., et al. *Eur J Hum Genet*, **21**, 528–534 (2013).
- 19) Rudy, N., Aoki, K., Ananth, A., Holloway, L., Skinner,



- C., Hurst, A., Tiemeyer, M., & Steet, R. *JIMD Rep*, **64**, 138–145 (2023).
- 20) Abdulkareem, A.A., Shirah, B.H., & Naseer, M.I. *Genes (Basel)*, **14** (2023).
- 21) Watanabe, S., Lei, M., Nakagawa, E., Takeshita, E., Inamori, K.I., Shishido, F., Sasaki, M., Mitsuhashi, S., Matsumoto, N., Kimura, Y., et al. *Brain Dev*, **45**, 270–277 (2023).
- 22) Mu, D., Yang, Y., Liu, Y., Shen, Y., Liu, H., & Wang, J. *Orphanet J Rare Dis*, **19**, 423 (2024).
- 23) Meyyazhagan, A., & Orlacchio, A. *Int J Mol Sci*, **23** (2022).
- 24) Dad, R., Walker, S., Scherer, S.W., Hassan, M.J., Alghamdi, M.D., Minassian, B.A., & Alkhater, R.A. *Neurol Genet*, **3**, e156 (2017).
- 25) Wakil, S.M., Monies, D.M., Ramzan, K., Hagos, S., Bastaki, L., Meyer, B.F., & Bohlega, S. *Clin Genet*, **86**, 500–501 (2014).
- 26) Alecu, J.E., Ohmi, Y., Bhuiyan, R.H., Inamori, K.I., Nitta, T., Saffari, A., Jumo, H., Ziegler, M., de Gusmao, C.M., Sharma, N., et al. *Am J Med Genet A*, **188**, 2590–2598 (2022).
- 27) Wilkinson, P.A., Simpson, M.A., Bastaki, L., Patel, H., Reed, J.A., Kalidas, K., Samilchuk, E., Khan, R., Warner, T.T., & Crosby, A.H. *J Med Genet*, **42**, 80–82 (2005).
- 28) Inamori, K.I., Nakamura, K., Shishido, F., Hsu, J.C., Nagafuku, M., Nitta, T., Ikeda, J., Yoshimura, H., Kodaira, M., Tsuchida, N., et al. *Front Neurosci*, **18**, 1437668 (2024).
- 29) Monies, D., Anabrees, J., Ibrahim, N., Elbardisy, H., Abouelhoda, M., Meyer, B.F., Alkuraya, F.S. *Clin Genet*, **93**, 1252–1253 (2017).
- 30) Jennemann, R., Sandhoff, R., Langbein, L., Kaden, S., Rothermel, U., Gallala, H., Sandhoff, K., Wiegandt, H., & Grone, H.J. *J Biol Chem*, **282**, 3083–3094 (2007).
- 31) Yamashita, T., Wada, R., Sasaki, T., Deng, C., Bierfreund, U., Sandhoff, K., & Proia, R.L. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **96**, 9142–9147 (1999).
- 32) Paulson, J.C., & Rademacher, C. *Nat Struct Mol Biol*, **16**, 1121–1122 (2009).
- 33) Inamori, K.I., Nitta, T., Shishido, F., Watanabe, S., Ohno, I., & Inokuchi, J.I. *Methods Mol Biol*, **2613**, 101–110 (2023).
- 34) Bhuiyan, R.H., Ohmi, Y., Ohkawa, Y., Zhang, P., Takano, M., Hashimoto, N., Okajima, T., Furukawa, K., & Furukawa, K. *Neuroscience*, **397**, 94–106 (2019).
- 35) Tani-ichi, S., Maruyama, K., Kondo, N., Nagafuku, M., Kabayama, K., Inokuchi, J., Shimada, Y., Ohno-Iwashita, Y., Yagita, H., Kawano, S., et al. *Int Immunol*, **17**, 749–758 (2005).
- 36) Yoshikawa, M., Go, S., Takasaki, K., Kakazu, Y., Ohashi, M., Nagafuku, M., Kabayama, K., Sekimoto, J., Suzuki, S., Takaiwa, K., et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **106**, 9483–9488 (2009).
- 37) Inamori, K.I., & Inokuchi, J.I. *Int J Mol Sci*, **23**, 5368 (2022).
- 38) Kabayama, K., Sato, T., Saito, K., Loberto, N., Prinetti, A., Sonnino, S., Kinjo, M., Igarashi, Y., & Inokuchi, J. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**, 13678–13683 (2007).
- 39) Inamori, K.I., Ito, H., Tamura, Y., Nitta, T., Yang, X., Nihei, W., Shishido, F., Imazu, S., Tsukita, S., Yamada, T., et al. *J Lipid Res*, **59**, 1472–1481 (2018).
- 40) Nordstrom, V., Willershauser, M., Herzer, S., Rozman, J., von Bohlen Und Halbach, O., Meldner, S., Rothermel, U., Kaden, S., Roth, F.C., Waldeck, C., et al. *PLoS Biol*, **11**, e1001506 (2013).
- 41) Yoshikawa, M., Go, S., Suzuki, S., Suzuki, A., Katori, Y., Morlet, T., Gottlieb, S.M., Fujiwara, M., Iwasaki, K., Strauss, K.A., et al. *Hum Mol Genet*, **24**, 2796–2807 (2015).
- 42) Macauley, M.S., Crocker, P.R., & Paulson, J.C. *Nat Rev Immunol*, **14**, 653–666 (2014).
- 43) Sheikh, K.A., Sun, J., Liu, Y., Kawai, H., Crawford, T.O., Proia, R.L., Griffin, J.W., & Schnaar, R.L. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **96**, 7532–7537 (1999).
- 44) Collins, B.E., Yang, L.J., Mukhopadhyay, G., Filbin, M.T., Kiso, M., Hasegawa, A., & Schnaar, R.L. *J Biol Chem*, **272**, 1248–1255 (1997).
- 45) Yang, L.J., Zeller, C.B., Shaper, N.L., Kiso, M., Hasegawa, A., Shapiro, R.E., & Schnaar, R.L. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **93**, 814–818 (1996).
- 46) Novarino, G., Fenstermaker, A.G., Zaki, M.S., Hofree, M., Silhavy, J.L., Heiberg, A.D., Abdellateef, M., Rosti, B., Scott, E., Mansour, L., et al. *Science*, **343**, 506–511 (2014).
- 47) Bharathi, S.S., Zhang, B.B., Paul, E., Zhang, Y.,

- Schmidt, A.V., Fowler, B., Wu, Y., Tiemeyer, M., Inamori, K.I., Inokuchi, J.I., et al. *Mol Genet Metab*, **137**, 342–348 (2022).
- 48) Tang, F.L., Wang, J., Itokazu, Y., & Yu, R.K. *ASN Neuro*, **12**, 1759091420938175 (2020).
- 49) Takamiya, K., Yamamoto, A., Furukawa, K., Zhao, J., Fukumoto, S., Yamashiro, S., Okada, M., Haraguchi, M., Shin, M., Kishikawa, M., et al. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **95**, 12147–12152 (1998).
- 50) Liu, Y., Su, Y., Wiznitzer, M., Epifano, O., & Ladisch, S. *Glycobiology*, **18**, 593–601 (2008).
- 51) Shevchuk, N.A., Hathout, Y., Epifano, O., Su, Y., Liu, Y., Sutherland, M., & Ladisch, S. *Biochim Biophys Acta*, **1771**, 1226–1234 (2007).