

## ジストログリカンの糖鎖異常による 先天性筋ジストロフィーの発症機序

斉藤史明 Kevin P. Campbell

ジストログリカンは細胞外基底膜と細胞骨格とを連携するタンパク質であり、筋ジストロフィーの発症機序において重要な役割を果たすと推測されてきた。われわれは、先天性筋ジストロフィーではジストログリカンの糖鎖修飾の異常によりこの細胞内外の連携が破綻し、これにより筋病変のみならず脳病変も引き起こされることを示した。

ジストログリカン (dystroglycan : DG) は細胞外に存在する糖タンパク質  $\alpha$ -DG と、これを細胞表面につなぎとめている膜タンパク質  $\beta$ -DG からなる。 $\alpha$ -DG はさらに細胞外基底膜の主要な構成成分であるラミニンと、また  $\beta$ -DG はジストロフィン<sup>1)</sup>を介してアクチンと結合することで、細胞外マトリックスと細胞骨格が強固につなぎとめられ、筋細胞膜の安定化がはかられているわけである。DG はさらにこの連携を強化する役割を担うと考えられている複数のタンパク質と結合し、ジストロフィン糖タンパク質複合体を形成している。そして過去 10 年余の間に、これら複合体の構成タンパク質の遺伝子変異によりさまざまなタイプの筋ジストロフィーが発症することが明らかにされてきたのである。しかしながら DG はこの複合体のなかでも中核的な役割を担っていると考えられてはいるものの、その異常による疾患は見出されてはいなかった。また、DG 欠損マウスが胎生致死であることから、その機能異常はヒトにおいても致命的であり、疾患としては存在しないであろうと考えられていたのである。

### 重症の先天性筋ジストロフィーで ジストログリカンの異常が示唆された

ところがここ 1~2 年で、前述したような推測は誤りであったことが明らかになってきた。筋ジストロフィーのなかでも特に重症で、生下時あるいは生後数カ月より筋力低下が出現し、加えて脳奇形を合併する先天性の筋ジストロフィーが存在する。福山型先天性筋ジストロフィー (Fukuyama congenital muscular dystrophy : FCMD) や筋-目-脳病 (muscle-eye-brain disease : MEB) などである。これらの疾患の原因遺伝子である *fukutin*, *POMGnT1* はすでにクローニングされており、両者ともに糖転位酵素として機能すると考えられていた。そして、 $\alpha$ -DG の糖鎖部分に対する抗体を使った実験から、これらの疾患筋ではこの抗体に対する反応性が著減していることが明らかとなったのである<sup>1) 2)</sup>。すなわち、糖転位酵素の変異の結果、2 次的に  $\alpha$ -DG の糖鎖構造に異常が生じていると考えられるわけである。さらにこれと前後して、筋ジストロフィーのモデルマウスの 1 つ、*myd* マウスにおいて

Molecular mechanism underlying congenital muscular dystrophy caused by aberrant glycosylation of dystroglycan

Fumiaki Saito<sup>1)</sup>/Kevin P. Campbell<sup>2)</sup> : Teikyo University, Department of Neurology<sup>1)</sup>/Howard Hughes Medical Institute, University of Iowa<sup>2)</sup> (帝京大学神経内科<sup>1)</sup>/ハワード・ヒューズ医学研究所アイオワ大学<sup>2)</sup>)

も糖転位酵素 *large* の変異と  $\alpha$ -DG の糖鎖異常が明らかにされた<sup>3)</sup>。これらの疾患における筋変性の発症機序として、われわれは異常な糖鎖修飾を受けた  $\alpha$ -DG とラミニンとの間の結合能に着目した。

### $\alpha$ -DG の糖鎖異常により細胞外マトリックス-細胞骨格の連携が断たれる

$\alpha$ -DG には多量の糖鎖が負荷されており、その分子量のじつに 2/3 が糖鎖によるものである。われわれは、 $\alpha$ -DG のコアタンパク質に対する抗体を作製し、FCMD と MEB の骨格筋を用いてウェスタンブロットを行ったところ、50 kD 以上の分子量の低下を認め、 $\alpha$ -DG の著明な糖鎖修飾の異常 (hypoglycosylation) が明らかとなった<sup>1)</sup>。次にプロットオーバーレイアッセイ、ソリッドフェーズアッセイにより、この異常な  $\alpha$ -DG のラミニンに対する結合能は著しく低下していることを示した<sup>1)</sup>。また、*myd* マウスの骨格筋と脳にも同様の糖鎖修飾の異常とラミニンに対する結合能の低下がみられ、さらに興味深いことには、*myd* マウスにも FCMD や MEB と同様の脳奇形が見出されたのである<sup>2)</sup>。このことより、脳奇形を合併する先天性筋ジストロフィーや *myd* マウスでは  $\alpha$ -DG の糖鎖異常によりラミニンとの結合に障害が生じその結果筋細胞壊死ばかりでなく、脳奇形までもが生じると推測されたのである。

### DG を欠損させることで先天性筋ジストロフィーにみられる脳奇形が再現できる

DG は脳では主としてアストロサイトにより産生され、脳表のグリア境界膜 (glia limitans) と血管周囲の足突起 (foot process) に局在しているが、前述の仮説を検証するために、われわれは Cre-LoxP システムを用いた脳特異的な DG ノックアウトマウス (GFAP-DG null マウス) を作製した<sup>3)</sup>。驚くべきことに、このマウスには小脳回、大脳皮質層構造の欠如、大脳半球の癒合、さらには脳表のグリア境界膜の破綻や脳軟膜直下のグリアニューロンヘテロトピアなど、FCMD や MEB の脳病理所見に酷似した脳奇形が観察されたのである (図 1)。また、このマウス脳のラミニン結合能を測定したところ、FCMD や MEB の筋肉同様、著しく低下していることが明らかとなった。

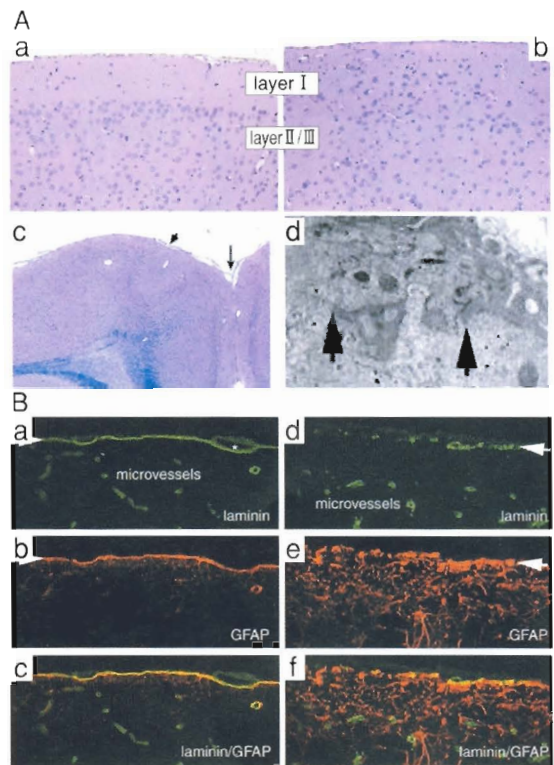


図 1 脳特異的なジストログリカン欠損マウスに見られる脳奇形 (文献 5 より改変引用)

A) 光学顕微鏡、電子顕微鏡所見。a) コントロールマウス大脳皮質にみられる正常な層構造。b) 脳特異的なジストログリカン欠損マウス (GFAP-DG null マウス) では層構造が欠如している。c) GFAP-DG null マウス大脳における小脳回様の皮質異常 (短い矢印)。d) 電子顕微鏡では GFAP-DG null マウス大脳でグリア境界膜 (矢印) が破綻し連続性が失われている。また皮質外、軟膜下には多数のグリア、およびニューロンの突起がみられる (グリアニューロンヘテロトピア)。a) b) ヘマトキシリンエオジン染色、c) ルクソールファストブルー染色。B) 免疫蛍光染色所見。a) ~c) コントロールマウス大脳皮質ではラミニン (緑)、GFAP (赤) によりグリア境界膜 (矢印) がきれいに染色される。d) ~f) GFAP-DG null マウスではグリア境界膜 (矢印) における両者の染色性が不規則、不連続となっている。

これらのことから、先天性筋ジストロフィーにおける多彩な脳奇形のうちの少なくとも一部の発症機序において、糖転位酵素異常の下流に DG の機能異常があることはほぼ間違いないものと考えられる。

さて、今後に残された課題であるが、① *fukutin* や *large* には実際にどのような糖転位酵素としての活性

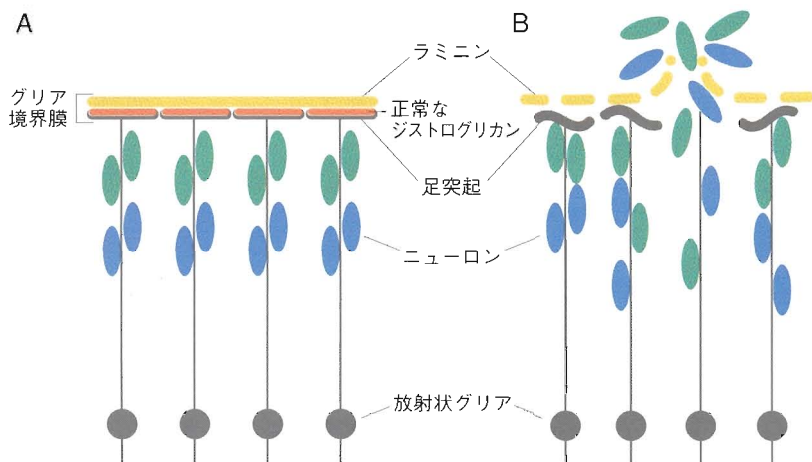


図2 先天性筋ジストロフィーにおける脳奇形の発症機序

A) 正常脳皮質における神経細胞の遊走と層構造の形成。  
B) 先天性筋ジストロフィーではジストログリカンの機能異常によりラミニンとの結合が失われ、グリア境界膜に破綻が生じる。その結果、神経細胞の遊走障害が生じると考えられる

があるのか、またこれらの変異の結果  $\alpha$ -DG にはどのような糖鎖異常が生じるのか、②脳奇形は DG の機能異常によるグリア境界膜の破綻にともなう神経細胞のオーバーマイグレーションだけで説明できるのか (図 2)、さらに下流に位置するメカニズムは何なのか、といった問いに答えていくことが急務と考えられる。

文献

- 1) Hayashi, Y. K. et al.: Selective deficiency of alpha-dystroglycan in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Neurology*, 57: 115-121, 2001
- 2) Kano, H. et al.: Deficiency of alpha-dystroglycan in muscle-eye-brain disease. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 291: 1283-1286, 2002
- 3) Grewal, P. K. et al.: Mutant glycosyltransferase and altered glycosylation of alpha-dystroglycan in the myo-

dystrophy mouse. *Nature Genet.*, 28: 151-154, 2001

- 4) Michele, D. E. et al.: Post-translational disruption of dystroglycan-ligand interactions in congenital muscular dystrophies. *Nature*, 418: 417-422, 2002
- 5) Moore, S. A. et al.: Deletion of brain dystroglycan recapitulates aspects of congenital muscular dystrophy. *Nature*, 418: 422-425, 2002

● 筆頭著者プロフィール ●

斉藤史明：1988年群馬大学医学部卒業。'95年東京医科歯科大学神経内科学大学院卒業。'99年5月より2002年3月までハワード・ヒューズ医学研究所アイオワ大学のCampbell研究室にてリサーチアソシエートとして筋ジストロフィーの分子発症機序に関する研究に従事。帰国後は帝京大学神経内科に勤務中です。神経筋疾患の発症メカニズムに少しでも迫れたらと考えています。

わかる実験医学シリーズ

## ポストゲノム時代の 糖鎖生物学がわかる

編集／谷口直之 (大阪大学大学院医学系研究科生化学分子生物学講座教授)

■ 定価 (本体4,200円+税) ■ 2002年10月発行  
■ B5判 ■ 132頁 ■ WJ11 ■ ISBN4-89706-995-5

わかる実験医学シリーズ  
ポストゲノム時代の  
**糖鎖生物学がわかる**  
編著／谷口直之

著者プロフィール  
本書の内容  
糖鎖生物学の重要性  
糖鎖の構造と機能  
糖鎖の生合成  
糖鎖の修飾  
糖鎖の病態  
糖鎖の診断  
糖鎖の治療

本書は、トピック編「糖鎖生物学」に基づいて、最新の糖鎖生物学に関する研究の動向をピックアップ！

華人社

最新刊!

癌, 再生, 異種移植, 生活習慣病, 発生, 分化, 神経など  
多岐にわたる糖鎖生物学がわかる!