〔生化学　第79巻　第12号，pp. 1105–1119，2007〕

総　説

筋ジストロフィーと糖鎖

遠　藤　玉　夫

糖鎖は構造の多様性・複雑さにより機能解明が遅れていたが，糖鎖合成に関わる糖鎖遺伝子のクローニング，さらに糖鎖遺伝子のノックダウンやノックアウト体の作製および解析により，糖鎖は細胞の運命や感染の成立を決定するなど様々な生命現象に関わることが明らかになりつつある．近年ヒトの先天性疾患で糖鎖異常が原因になっているものが明らかになり，こうした疾患研究からも糖鎖の役割の解明が急速に進んでいる．我々は糖鎖の異常が筋ジストロフィーの原因となることを明らかにし，現在治療法の開発を視野に入れ病態解明を目指して研究を進めている．本稿では，筋ジストロフィーにおける糖鎖異常が明らかになった経緯と最近の知見，さらに糖鎖に含まれる生命情報解明に向けた糖鎖研究の現状および期待される点について概説する．

1. はじめに

ヒトのゲノム情報がほぼ明らかになったことにより，現在各遺伝子から翻訳されてつくられるタンパク質の機能や役割を明らかにしようとする，いわゆるポストゲノム研究が盛んに行われている．ところでタンパク質はリン酸化や糖鎖付加など翻訳後修飾を受けることによって初めて機能をもつようになると考えられている．最近のデータによるとタンパク質の50%以上は糖鎖修飾を受けており主要な翻訳後修飾である[1]．糖鎖がタンパク質の機能にいかに関与し，機能的に不完全なタンパク質に機能を付加するかは，ポストゲノム研究の重要な研究テーマの一つである．これまで行われた糖鎖の構造解析，糖鎖遺伝子のクローニング，糖鎖遺伝子を使った糖鎖リモデリング，糖鎖遺伝子のノックアウトおよび糖鎖遺伝子異常による疾患の発見という一連の糖鎖研究により，生体における糖鎖の重要性や疾患との関わりが明らかにされつつある．**図1**に示すように免疫，がん，感染，神経・筋，脳，再生医療，発生・分化などで観察される様々な生物現象において糖鎖の重要性が明らかになりつつある．最近のトピックスとして，リンパ球ホーミング受容糖鎖の発見[2~4]，ヒトインフルエンザとトリインフルエンザを区別する糖鎖の発見[5,6]，発生・分化におけるNotchシグナル糖鎖の発見[7,8]など，糖鎖によって細胞の運命や感染の成立が決定されることが分かってきた．

財団法人東京都高齢者研究・福祉振興財団東京都老人総合研究所老化ゲノム機能研究チーム（〒173–0015 東京都板橋区栄町 35–2）
Regulation of glycosylation and muscular dystrophies
Tamao Endo (Department of Glycobiology, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Foundation for Research on Aging and Promotion of Human Welfare, 35–2 Sakaecho, Itabashi-ku, Tokyo 173–0015, Japan)

2. 糖鎖の分布と生合成

糖鎖は生体において独立に存在することはまれで，タンパク質と結合した糖タンパク質あるいは脂質と結合した糖脂質という複合糖質の形で存在している．糖脂質は主にセラミドと呼ばれる脂質に糖鎖が1本付いている．これに対して，糖タンパク質の分子形態はきわめて多様であり，糖鎖の本数も様々である．糖鎖はタンパク質上の結合するアミノ酸によって，*O*-型糖鎖（セリンまたはスレオニンに結合）あるいは*N*-型糖鎖（アスパラギンに結合）と大きく二つに分類される．これらの糖鎖は多様な構造を示す．糖タンパク質は，細胞外に分泌され，あるいは細胞膜の構成成分として存在する．糖鎖はタンパク質の安定性など物性に寄与するばかりでなく，細胞内外における認識分子として重要な働きをしていることが分かっている．

糖鎖は文字通り単糖が鎖状につながったものであるが，それぞれ糖は一つ一つ特異的な糖転移酵素によって順番につなげられ合成される．糖転移酵素遺伝子はヒトの場合全

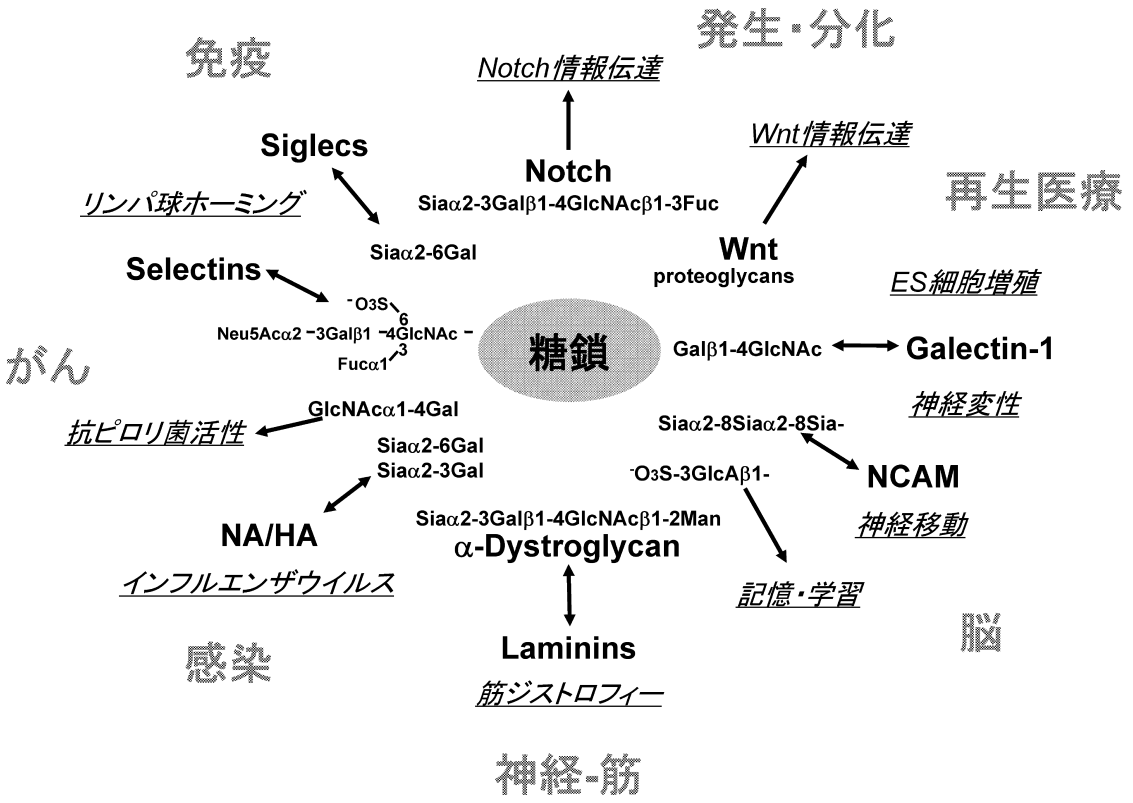


図1 様々な生物現象に関わる糖鎖の例

遺伝子の約1%，300程度あると考えられているが，これまでに半数以上が明らかにされている．長い間構造研究が主体に進められていた糖鎖研究も糖転移酵素遺伝子のクローニングによって，生物学に共通の言語である遺伝子という言葉で糖鎖の生物学的意義が明らかになる期待が高まった．この糖鎖研究の大きな転換をもたらした糖転移酵素のクローニングに関して日本は大きな貢献をし，60%以上の遺伝子を明らかにした．世界の糖鎖研究をリードしてきた日本の糖鎖研究はさらに大きく展開し，糖転移酵素のノックアウト，ノックダウン体の作製と解析，糖鎖遺伝子異常の疾患の解析が進められ，糖鎖遺伝子と生体機能・疾患は直結することが明らかになりつつある．

3. 糖鎖合成異常と筋ジストロフィー

糖鎖を分解する障害，たとえばリソソーム酵素の欠損による疾患は，「糖鎖蓄積症」として解析の焦点が定めやすく活発な研究がなされてきた．ところが糖鎖合成の障害は，糖鎖の蓄積といった形を取らないために発見が遅れた．そうした糖鎖合成不全例として，我々が発見した糖鎖異常による筋ジストロフィーを紹介する．

進行性の筋力低下を主徴とし，筋変性を主病変とする一群の遺伝性疾患を，一般的に筋ジストロフィーと総称する．1987年筋ジストロフィーの中で最も頻度が高いデュシェンヌ（Duchenne）型筋ジストロフィーの原因遺伝子が同定され，遺伝子産物がジストロフィンと命名された．その後ジストロフィン–糖タンパク質複合体（dystrophin-glycoprotein-complex；DGC，**図2**）が発見された．DGCには，筋ジストロフィーの他の病型の原因遺伝子産物が含まれており，筋ジストロフィー分子病態研究の出発点となった[9]．

3–1. *O*-マンノース型糖鎖の発見

DGCが筋膜の安定化に寄与することは良く知られている[10]．DGCはαおよびβ-ジストログリカン（DG）とジストロフィンを中心にいくつかのタンパク質によって構成されている．形質膜を貫通するβ-DGは細胞の外側でα-DG，細胞の内側でジストロフィンと結合し，さらにα-DGはラミニンなど基底膜の分子と，ジストロフィンは細胞骨格系の分子と結合している．DGはこのように細胞骨格系と基底膜を連結している．このDGCの構造は，筋肉の収縮弛緩という激しい運動を絶えず要求される過酷な環境から筋膜を保護する役割を担っており，DGCの異常による細胞骨格系と基底膜の連結不全が，筋膜の脆弱化を招き筋線維の崩壊を引き起こすと考えられている．DGCは筋ジストロフィーに密接に関連しており，ジストロフィン欠損によるデュシェンヌ型筋ジストロフィーをはじめとして，ラミニン欠損やサルコグリカン欠損など，DGCの異常を原因とする筋ジストロフィーが多く知られている．

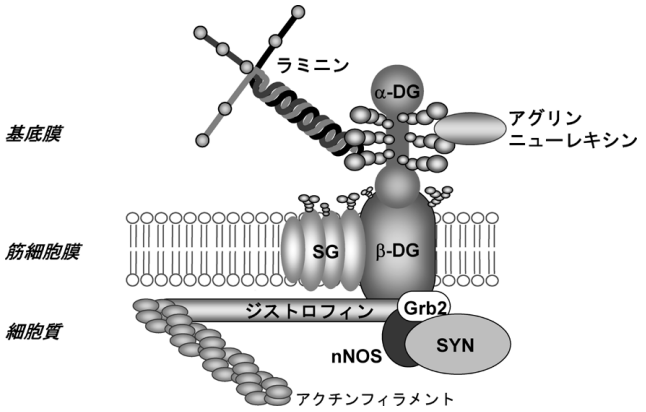


図2　筋細胞膜におけるジストロフィン–糖タンパク質複合体（DGC）の存在状態

α-DGに*O*-マンノース型糖鎖が存在するため，DGCはラミニンなどの基底膜の分子と結合し，細胞内外を繋ぐ安定な連結軸を形成する．しかし糖鎖不全となると，α-DGは基底膜の分子に糖鎖を介して結合できなくなるため連結軸が形成できない．こうしたDGCの破綻が脳の形態形成の異常や，筋障害の引き金となっていると考えられる．ジストロフィンやラミニン，サルコグリカン欠損でも別のタイプの筋ジストロフィーを発症する．また，β-DGはGrb2やnNOSなどの細胞内シグナル伝達に関わる分子と結合し，神経や筋細胞の分化や移動の制御に関与する可能性も示されている．α-DG：α-ジストログリカン，β-DG：β-ジストログリカン，SG：サルコグリカン，SYN：シントロフィン，nNOS：神経型一酸化窒素合成酵素，Grb2：シグナル伝達に関与するアダプタータンパク質．

DGの機能を明らかにしようと，ノックアウトマウスの作製が試みられたが，結果は胎生致死でありDGは発生の初期過程に重要であることが分かった[11]．ヒトの筋ジストロフィーにおいても，ジストロフィンやラミニンが原因のものはあるが，DGが原因の筋ジストロフィーはこれまで報告がない．おそらくヒトの場合も生まれないためと予想される．そこで，脳と筋と末梢神経，それぞれ特異的にDGの発現を阻害したコンディショナルノックアウトマウスが作製された．これらのマウスでは，それぞれ筋と脳と末梢神経で特異的な障害（筋ジストロフィー病変あるいは大脳皮質層構造の乱れと脳表のグリア境界膜の破綻あるいは末梢神経での髄鞘の形成不全とNa^+チャネルのランビエ絞輪へのクラスタリングの異常）が認められている[12~14]．また，α-DGはラミニンの他にアグリンやニューレキシンといった分子に結合することが報告され，これらの結合も糖鎖を介していることが明らかになった[15]．α-DGの分子量は組織によって異なることが知られている．例えばヒトの場合，骨格筋では約180kDa，脳では約120kDaである．この差は各組織における糖鎖修飾の違いによるものとされる[16]．α-DGはこうした組織特異的な糖鎖の違いにより，結合する相手あるいは結合の親和性を変える可能性が考えられ，様々な組織で多様な機能を発揮しているのかも知れない．また，α-DGは細菌やウイルス感染の際の受容体として[17,18]，あるいはがん転移との関連性[19]も示唆されている．

ラミニンとα-DGとの結合にはα-DGの糖鎖が関与することが示唆されていたので，我々はまずラミニンとα-DGの結合における糖鎖の役割を解析した．その結果，ラミニンとα-DGの結合には*O*-型糖鎖が関与することが分かった．そこで，α-DGの糖鎖構造を分析し主要な*O*-型糖鎖は，Siaα2-3Galβ1-4GlcNAcβ1-2Manであることを明らかにした[20]．この糖鎖はマンノースを介してタンパク質に結合するので*O*-マンノース型糖鎖と呼ばれ，哺乳類ではこの報告が世界で初めてとなる新しい糖鎖構造だった．遊離*O*-マンノース型糖鎖は，ラミニンとα-DGとの結合を阻害したことから，ラミニンが*O*-マンノース型糖鎖を介してα-DGに結合していることが示唆された．ところでα-DGは筋以外に脳や末梢神経などにも存在しているが，いずれのα-DGにも*O*-マンノース型糖鎖修飾が起こっていた[21]．

O-マンノース型糖鎖は酵母や真菌では一般的に見られ，細胞壁の主要糖鎖であるなど細胞の生育に必要不可欠な糖鎖であることが知られており，生合成経路も詳しく調べられている（**図3**）[22,23]．一方，哺乳類における*O*-マンノース型糖鎖の研究は，1997年に筆者らがその構造を明らかにしたことに始まり，ごく最近まで機能はもとより生合成経路も全く分かっていなかった．現在までに哺乳類の*O*-マンノース型糖鎖は，α-DGとテネイシンという細胞外マトリックスの糖タンパク質でしか検出されていないことから，限られたタンパク質のみを修飾する特殊な糖鎖であると考えられている．また，哺乳類と酵母の*O*-マンノース型糖鎖は，タンパク質に最初に結合している糖がマンノースであるところ以外は全く異なる構造をしている．酵母と哺乳類におけるこのような違いにどれほどの生物学的意味があるのかは分からないが，哺乳類の糖鎖は酵母等の単細胞生物には見られない多細胞生物特有の細胞間相互作用において機能するために進化を遂げてきたのかもしれない．こうした背景から，我々は哺乳類における*O*-マンノース型糖鎖の役割を理解するためには，まず，その生合成経路を解明する必要があると考えた．

3–2.　*O*-マンノース型糖鎖糖転移酵素の同定

まずGlcNAcβ1–2Man結合を合成する酵素*O*-マンノースβ1，2-*N*-アセチルグルコサミン転移酵素（protein　*O*-mannose　β1，2-*N*-acetylglucosaminyltransferase，POMGnT）を同定した．この酵素をコードしている遺伝子を*POMGnT1*と命名した[24]．POMGnT1は660個のアミノ酸からなり，N末端側の約40アミノ酸が細胞質側，幹領域と触媒活性領域を含むC末端側の大部分が管腔側に存在するII型膜結合タンパク質である．POMGnT1のN末端側から298個およびC末端側から9個のアミノ酸を除いても触媒活性は保持されることから，Val299–Glu651が触

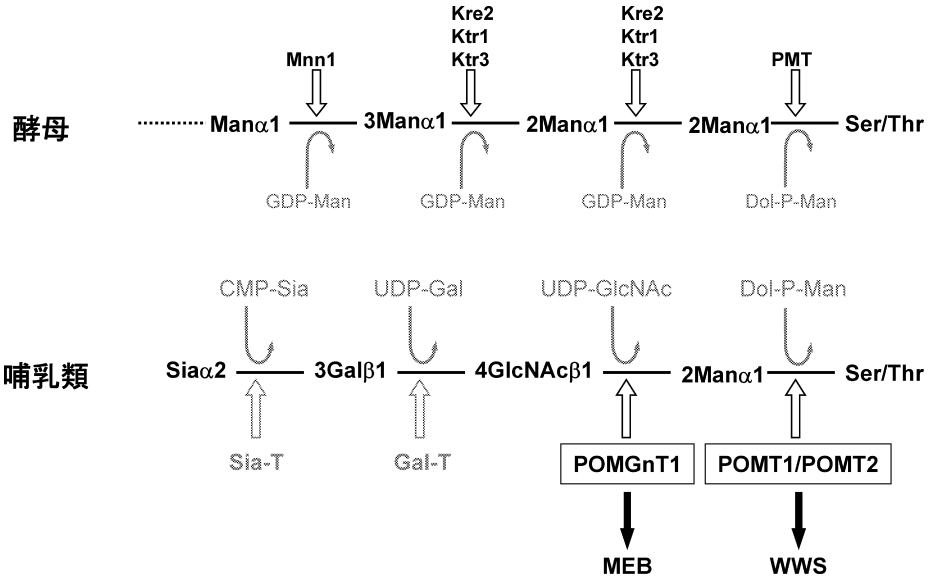


図3 酵母と哺乳類における*O*-マンノース型糖鎖の生合成経路
Man：マンノース，GlcNAc：*N*-アセチルグルコサミン，Gal：ガラクトース，Sia：シアル酸，PMT（POMT）：*O*-マンノース転移酵素，Kre2，Ktr1，Ktr3：α1,2-マンノース転移酵素，Mnn1：α1,3-マンノース転移酵素，POMGnT1：*O*-マンノースβ1,2-*N*-アセチルグルコサミン転移酵素，Gal-T：β1,4-ガラクトース転移酵素，Sia-T：α2,3-シアル酸転移酵素，MEB：muscle-eye-brain 病，WWS：Walker-Warburg 症候群．

媒活性領域であると考えられる[25]．

次に*O*-マンノース転移酵素の解明に取り組んだ．*O*-マンノース転移酵素については，酵母での研究が進んでいたのでそれを参考にした．酵母には，これまでにPMT1〜7の7種の*O*-マンノース転移酵素が存在することが明らかにされている[23]．これらの酵素は*O*-マンノース型糖鎖生合成の最初のステップであるドリコールリン酸マンノース（Dol-P-Man）からタンパク質のセリン／スレオニンへのマンノース転移反応を触媒する[22]．これまでに触媒活性部位など構造上の特徴や，アイソザイム間のホモおよびダイマー形成などの酵素触媒機能に関する詳細な解析が行われている[23,26]．一方，哺乳類ではPMTsのホモログとして*O*-マンノース転移酵素1（protein *O*-mannosyltransferase 1, POMT1）とPOMT2，SDF2，SDF2L1がクローニングされている[23,27]．このうちSDF2とSDF2L1は酵母PMTsとの比較から，触媒活性領域に相当する部位を含むN末端側約半分が欠けた構造をしているため酵素ではないと予想される．

多くの研究者が哺乳類にも酵母のような*O*-マンノース転移機構があると予想し，それがPOMT1かPOMT2であることを考え，酵母の酵素反応条件を基に*O*-マンノース転移活性の発見を目指した．しかし，POMT1とPOMT2の活性を確認するどころか，哺乳類細胞あるいは組織から*O*-マンノース転移活性を検出することさえできなかった．我々はこの難問の解決に取り組んだ．まず，哺乳類では*O*-マンノース型糖鎖が特定のタンパク質に見いだされることから，酵素が厳密な基質特異性を有する可能性と，POMT1およびPOMT2が膜7回貫通型と予想される疎水性の高いタンパク質であることから[23]，酵素反応時の疎水環境，すなわち界面活性剤が活性に影響している可能性を考えた．これらの可能性を考慮し，本糖鎖修飾を受けることが分かっているα-DGのムチン領域とGST融合タンパク質（GST-α-DG）を受容体とし，30種類以上の界面活性剤を用いて，哺乳類細胞における*O*-マンノース転移酵素活性の検出を試みた．その結果，界面活性剤として0.5%の*n*-オクチル-β-D-チオグルコシドを用いることによって，Dol-P-ManからGST-α-DGへのマンノース転移反応を検出することに成功した[28]．次に，この新たに開発したマンノース転移酵素活性測定法によりPOMT1とPOMT2の酵素活性を調べた．ヒトPOMT1およびPOMT2をHEK293T細胞に発現させたところ，それぞれの単独発現では活性の上昇は見られなかったが，POMT1とPOMT2の共発現によりPOMT活性の顕著な上昇が見られた（**図4**）[28]．この結果から，Walker-Warburg症候群（WWS）の原因遺伝子産物POMT1とそのホモログであるPOMT2は*O*-マンノース転移酵素であることが明らかとなった．

このようにPOMT1とPOMT2の共発現では酵素活性が検出されるが，それぞれの単独発現では活性が検出されなかったことから，酵素活性にはPOMT1とPOMT2の複合体形成が必要であると考えられた[28]．それを支持するように，POMT1，POMT2はともに小胞体に局在していた[29]．そこで，免疫沈降法によりPOMT1–POMT2複合体の検出

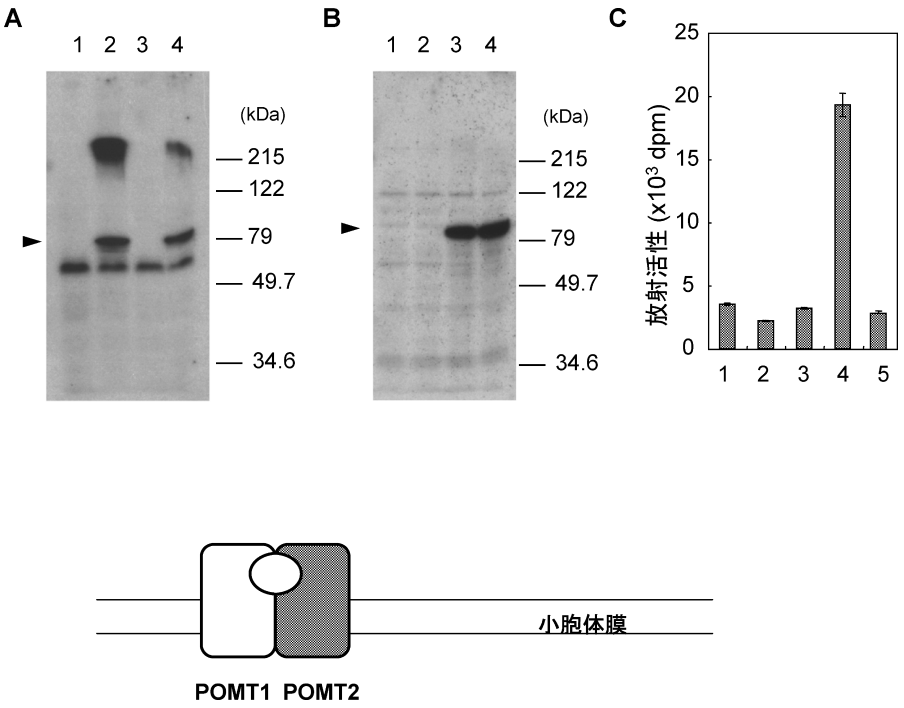


図4 ヒトPOMT1とPOMT2の*O*-マンノース転移酵素活性
ヒト胎児由来培養細胞株HEK293TにヒトPOMT1とPOMT2を発現させ*O*-マンノース転移酵素活性を調べた．その結果，POMT1とPOMT2を共発現させた場合にのみ，顕著な活性の上昇が観察された．POMT1とPOMT2の単独発現，および単独発現後の酵素源を混合した場合には，活性の上昇が見られないことから，*O*-マンノース転移酵素活性にはPOMT1–POMT2複合体の形成が必要である可能性が示唆された．A：抗POMT1抗体によるウェスタンブロット，B：抗POMT2抗体によるウェスタンブロット，C：酵素活性．レーン1：ベクターのみ発現，レーン2：POMT1のみ発現，レーン3：POMT2のみ発現，レーン4：POMT1とPOMT2の共発現，レーン5：POMT1とPOMT2の単独発現後の酵素源の混合画分．下図は小胞体膜におけるPOMT1とPOMT2の複合体により活性中心が形成されるモデル図（図8も参照）．

を試みた．先に述べたとおり両者は疎水性の高いタンパク質であり，活性を保持したままウェスタンブロットで検出可能な量を可溶化する条件をみつけることはかなり困難だった．可溶化の際の界面活性剤の濃度，温度，時間など詳細な検討を根気強く重ねた結果，酵素活性を保持したPOMT1–POMT2複合体を検出し，*O*-マンノース転移活性の本体がPOMT1–POMT2複合体であることを証明することに成功した（**図4**）[29]．複合体の形成はPOMT1とPOMT2を単独で発現させた膜画分を混合しても検出されないことから，POMT1–POMT2複合体は小胞体におけるタンパク質翻訳の過程で形成されると考えている[29]．

POMT1とPOMT2が複合体を形成する必要性については今後の課題である．触媒ユニットと制御ユニットといった機能分担があるのかもしれない．ちなみに*Drosophila*の*PMT*ホモログもヒトと同様*dpomt1*と*dpomt2*とがあり，酵素活性にはやはり両者の共発現が必要である[30]．このことは哺乳類と*Drosophila*で*O*-マンノース型糖鎖が関与する共通のシステムが存在することを示唆している．このように*O*-マンノース型糖鎖の生合成機構の一端がようやく垣間見えてきたが，α-DG以外の*O*-マンノース型糖鎖修飾の標的タンパク質の有無など，*O*-マンノース型糖鎖の修飾機構や生理機能の全容解明が待たれる．

3–3. *O*-マンノース型糖鎖修飾機構解明へ向けて（タンパク質特異的な糖鎖付加）

糖鎖構造研究の結果，*O*-マンノース型糖鎖は調べた限りいずれの哺乳類組織由来のα-DGにも結合していた[21]．また哺乳類で*O*-マンノース型糖鎖は珍しい糖鎖修飾であることから，限られたタンパク質にのみ起こる修飾である可能性が高い．タンパク質の*O*-型糖鎖修飾では，限られたアミノ酸の一次配列を要求するものと比較的緩やかな配列に働く酵素に二分される．前者の例としてはNotchシグナル形成に関わる*O*-フコース型糖鎖があげられる[7]．*O*-フコース転移酵素（protein *O*-fucosyltransferase 1, POFUT1）はEGFモチーフの$CysX_{4-5}$（Ser/Thr）Cys配列のセリン（スレオニン）にのみフコースを転移し，POFUT2はトロンボスポンジン1型リピート（TSR）の$TrpX_5CysX_{2/3}Ser/ThrCysX_2G$配列のセリン（スレオニン）にのみフコースを

転移するという厳密な基質特異性を示す[31,32]．一方，*O*-GalNAc転移酵素や *O*-GlcNAc転移酵素は，厳密なアミノ酸配列を要求しない[33,34]．では，*O*-マンノース型糖鎖の場合はどちらであろうか？ この答えを得るために，我々はα-DGのムチン領域をカバーするように平均長20アミノ酸残基程度のペプチドを調製した（**図5A**）．同時に，*O*-型糖鎖を受けるムチン糖タンパク質にある特異的なムチン繰り返し配列ペプチドを合成した．そしてこれらのペプチド中に*O*-マンノシル化されやすいセリンあるいはスレオニンがあるかどうかを調べた（図5B）．その結果，各ペプチドは一律に*O*-マンノシル化されるのではなく，二つのペプチドのみが特異的に*O*-マンノシル化されることが分かった[35]．それはα-DGのアミノ酸位置（336–355と401–420）に対応するペプチドであった．興味深いことにこの両ペプチドは非常に似た配列であった．さらにこれらのペプチド中のセリンあるいはスレオニンをアラニンに置き換えた一連のペプチドの*O*-マンノシル化効率への影響の測定や，*O*-マンノシル化ペプチドの質量分析計による*O*-マンノシル化サイトの決定を行った．その結果，**図6**に示すように，*O*-マンノシル化されやすいアミノ酸配列があり，その配列にあるセリンあるいはスレオニンはランダムに*O*-マンノシル化されるのではなく，一定の順序に従い*O*-マンノシル化されることが分かった[35]．この二つのペプチド配列から共通のアミノ酸配列を読み取り，データベースでこの配列をもつタンパク質を検索してみると，DGのみが候補タンパク質として浮かび上がった．これからまだ詳細な解析は必要であるが，この結果は限られたタンパク質のみが選択的に*O*-マンノシル化される可能性を示唆するものである．

一方タンパク質の*O*-マンノシル化が主要な糖鎖修飾である酵母では，哺乳類の場合とメカニズムは異なるようである．Pmt4による*O*-マンノシル化は膜結合型タンパク質であることが決定因子であり，Pmt1/Pmt2による*O*-マンノシル化は膜結合型および可溶型タンパク質ともに修飾を受け，特定のアミノ酸配列の要求は無いようである[36]．こうした哺乳類と酵母での*O*-マンノシル化メカニズムの相違は興味深く，今後詳細なメカニズムの解明が期待される．

3–4. Muscle-eye-brain病

我々は，POMGnT1の酵素学的な性質を明らかにし，さらに *POMGnT1* は muscle-eye-brain 病（MEB，OMIM 253280）の原因遺伝子であることを明らかにした[24]．MEBは，1989年Santavuoriらによって報告された疾患である[37]．その名のとおり骨格筋，眼，脳を中心に侵す一系統疾患である（**図7**）．これまでフィンランドを中心としたヨーロッパでしか症例が報告されていなかったが，後述するように我々によって原因遺伝子が同定され，日本を含む世界各国に広く存在することが分かった[38]．病変部位，症状が似ている福山型先天性筋ジストロフィー（FCMD）とWWSとは類縁疾患とされ，同じメカニズムで発症すると考えられている．

臨床的には，運動発達の遅延を認め多くの症例は独歩を獲得するに至らない．知能発達障害は高度で，いくつかの単語を獲得する程度である．けいれん発作もしばしば認められ，その重症度は脳奇形の程度とよく相関する．眼症状は特徴的で，進行性の近視，網膜変性，視神経萎縮が認められ，先天性緑内障，若年性白内障を合併することもある．頭部MRIでは無脳回や厚脳回を示し，側脳室拡大，側脳室中隔ならびに脳梁の欠損，小脳の低形成や嚢胞，扁平な脳幹橋部が認められる．症状の進行度はWWSほど重篤でなく，FCMDに似ており，約85%は成人に達することができる．

POMGnT1 遺伝子は第1染色体短腕（1p34.1）にマップされ，9.76kbの領域に22のエクソンよりなる．ノーザンブロット解析から，*POMGnT1* は全組織に広範囲に発現し，特に筋組織と精巣で発現が強い．我々は，*POMGnT1* はMEBの原因遺伝子であることを明らかにした[24]．現在までにMEB患者から *POMGnT1* 遺伝子に置換や欠失，フレームシフトなど13種類の変異を検出している．これらの変異を導入した遺伝子組換え型POMGnT1は，すべて触媒活性を失っていた[24,39]．これは，MEB患者では完成した*O*-マンノース型糖鎖が形成されないことを示している．実際に，MEB患者骨格筋におけるα-DGの抗糖鎖抗体に対する反応性の消失と，α-DGの分子量の減少を観察している．このことから，α-DGはPOMGnT1による糖鎖修飾の標的であり，MEBは*O*-マンノース型糖鎖不全による疾患であることが明らかになった．糖鎖異常が筋ジストロフィーに関わること，および患者で確認された初めての例であった．神経および筋組織の発生における*O*-マンノース型糖鎖が，筋ジストロフィーの病態解明や治療に対する新たな標的として注目された．本研究により筋や神経の発生や機能における*O*-マンノース型糖鎖の重要性が明らかになり，世界で初めて「糖鎖異常による筋ジストロフィー」という新たな疾患概念を提唱した[40]．

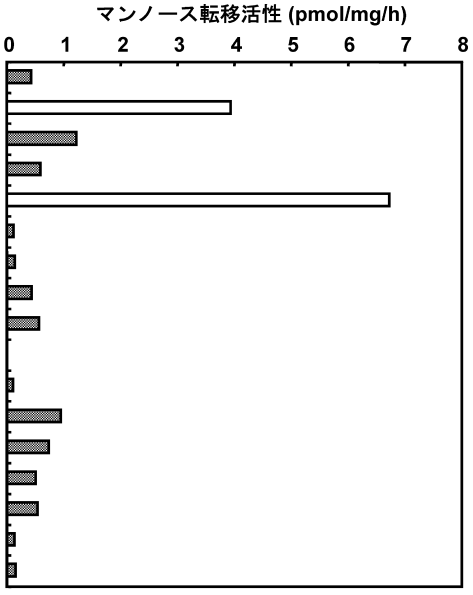
α-DGは筋組織の他，脳など広範な組織で発現しており，ラミニン以外にもアグリンやニューレキシンといった基底膜分子が糖鎖を介して結合する[41,42]．MEBで見られる神経細胞移動の異常もα-DGとこれら基底膜分子との結合不全によると考えられている．最近 *POMGnT1* 遺伝子ノックアウトマウスが作製されMEBと良く似た表現異常を示したことから，MEBモデル動物として治療法開発のために役立つことが期待される[43,44]．

A

```
  1 MRMSVGLSLL LPLWGRTFLL LLSVVMAQSH WPSEPSEAVR DWENQLEASM HSVLSDLHEA
 61 VPTVVGIPDG TAVVGRSFRV TIPTDLIASS GDIIKVSAAG KEALPSWLHW DSQSHTLEGL
121 PLDTDKGVHY ISVSATRLGA NGSHIPQTSS VFSIEVYPED HSDLQSVRTA SPDPGEVVSS
181 ACAADEPVTV LTVILDADLT KMTPKQRIDL LHRMRSFSEV ELHNMKLVPV VNNRLFDMSA
241 FMAGPGNPKK VVENGALLSW KLGCSLNQNS VPDIHGVEAP AREGAMSAQL GYPVVGWHIA
301 NKKPPLPKRV RRQIHATPTP VTAIGPPTTA IQEPPSRIVP TPTSPAIAPP TETMAPPVRD
361 PVPGKPTVTI RTRGAIIQTP TLGPIQPTRV SEAGTTVPGQ IRPTMTIPGY VEPTAVATPP
421 TTTTKKPRVS TPKPATPSTD STTTTTRRPT KKPRTPRPVP RVTTKVSITR LETASPPTRI
481 RTTTSGVPRG GEPNQRPELK NHIDRVDAWV GTYFEVKIPS DTFYDHEDTT TDKLKLTLKL
541 REQQLVGEKS WVQFNSNSQL MYGLPDSSHV GKHEYFMHAT DKGGLSAVDA FEIHVHRRPQ
601 GDRAPARFKA KFVGDPALVL NDIHKKIALV KKLAFAFGDR NCSTITLQNI TRG
```

B

合成ペプチドのアミノ酸配列	アミノ酸数(aa)	転移活性 (単位は同右)
α-ジストログリカン	図5Aでの位置	
ATPTPVTAIGPPTTAIQEPPSR	316-337 (22 aa)	0.43
SRIVPTPTSPAIAPPTETMA	336-355 (20 aa)	3.94
GKPTVTIRTRGAIIQTPTLG	364-383 (20 aa)	1.22
IQPTRVSEAGTTVPGQIRP	385-403 (19 aa)	0.59
IRPTMTIPGYVEPTAVATPP	401-420 (20 aa)	6.72
TPPTTTTKKPRVSTPKPATPSTD	418-440 (23 aa)	0.12
ATPSTDSTTTTTRRPTKKPR	435-454 (20 aa)	0.14
KKPRTPRPVP RVTTKVSITR	451-470 (20 aa)	0.44
ITRLETASPPTRIRTTTSGVP	469-488 (21 aa)	0.57
ムチン	由来ムチン名	
AHGVTSAPDTRPPPGSTAPP	Muc1 (20 aa)	0.11
PTTTPITTTTTVTPTPTPTGTQT	Muc2 (23 aa)	0.95
HSTPSFTSSITTTETTS	Muc3 (17 aa)	0.74
ATPLPVTDTSSASTGH	Muc4 (16 aa)	0.51
TTAAPPTPSATTPAPPSSSAPPE	Muc7 (23 aa)	0.54
SGLSEESTTSHSSPGSTHTT	Muc11 (20 aa)	0.14
SSESSASSDGPHPVITPSR	Muc20 (19 aa)	0.15




```
336 SRIVPTPTSPAIAPPTETMAPP 357
    ..* ** * *.  . **..  .**
399 GQIRPTMTIPGYVEPTAVATPP 420
```

図5 合成ペプチドを用いたO-マンノシル化のアミノ酸配列特異性の検討

A. ヒトα-DGのアミノ酸配列および使用した合成ペプチド配列．四角で囲んだ部分はシグナル配列で，黒字で示した316–488がムチン領域である．使用した各合成ペプチドはそれぞれ下線で示した．B. 合成ペプチドに対してO-マンノシル化されやすいセリンあるいはスレオニンがあるかどうかを調べた．その結果，白棒で示した二つのペプチドのみ（336–355と401–420）が，効率的にO-マンノシル化されることが分かった．下図はその両者の配列が良く似ていることを示している．＊印は同じアミノ酸を，黒点は似たアミノ酸を示している．

3–5. Walker-Warburg症候群（WWS）

WWS（OMIM236670）はMEBと類似の症状を呈し，神経細胞の遊走障害によるII型滑脳症，眼疾患，筋ジストロフィーを主徴とする[45]．FCMDやMEBに比べて重症で致死的疾患であり，ほとんどが生後数カ月で死亡する．WWSではMEBと同様にやはり骨格筋においてα-DGの

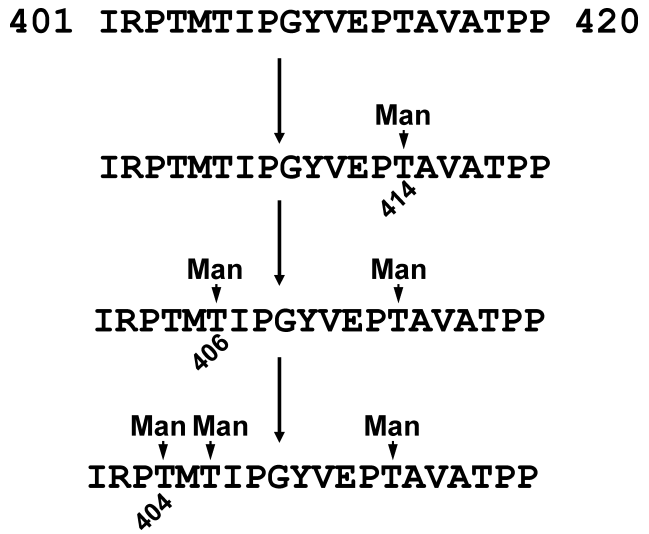


図6 合成ペプチド(401–420)における*O*-マンノシル化の機序
合成ペプチド（401–420）における*O*-マンノシル化は，ランダムに起こるのではなく，414，406，404の順番で起こることを質量分析とアミノ酸配列分析によって明らかにした．

糖鎖異常が観察される．WWSの原因遺伝子の一つとして*POMT1*が報告されていた[46]．*POMT1*は酵母の*O*-マンノース転移酵素（*pmt*）のホモログであることから，WWSも*O*-マンノース型糖鎖不全による疾患であろうと予想された．哺乳類の*pmt*のホモログとして*POMT1*と*POMT2*がクローニングされており，アミノ酸の相同性からPOMT1とPOMT2は膜7回貫通型タンパク質であると予想されている．ノーザンブロット解析から，POMT1とPOMT2の発現組織は一致しており，精巣で最も強く，脳，心臓，腎臓，肝臓などで発現している[47~49]．

我々は上述したようにPOMT1が*O*-マンノース転移酵素であることを明らかにした[28]．ただし，POMT1が*O*-マンノース転移酵素として機能するためには，もう一つのホモログであるPOMT2の共存が必要である．これまでにWWS患者の一部で*POMT1*遺伝子に7種類の変異が見つかっているが，いずれのPOMT1変異体も酵素活性を失っていた[50]．上述したように，POMT1とPOMT2が共存することが*O*-マンノース転移酵素として機能するために必要であることから，*POMT2*変異による患者がいるのではないかと考えられていた．その後*POMT2*変異の患者が報告され，3種類の変異が見つかった[51]．いずれも変異から予測すると不完全なタンパク質しか産生されず酵素活性はもたないと推測される．最近我々は新たに4種の点変異*POMT2*をもつ患者を見いだし，これらの変異により酵素活性は失われることを明らかにした[52]．以上のことから，WWSもMEB同様，*O*-マンノース型糖鎖不全による疾患であると考えている．WWSはMEBと異なって遺伝的に不均一であり，WWS家系の連鎖解析から少なくとも4箇所の遺伝子座の存在が報告されている．今後残り2箇所の原因遺伝子の同定が待たれ，さらにそれらの遺伝子産物が*O*-マンノース転移に関わるかどうかも興味深い．

以上の知見から，WWSのα-DGでは*O*-マンノース型糖鎖が完全に消失し，MEBでは最初のマンノースのみ付加され*N*-アセチルグルコサミン以降がないと考えられる．一般的にMEBに比較してWWSの症状の方が重いことが知られている．MEBもWWSもラミニンなどのリガンドと結合できなくなることで発症すると予想されるが，一つの糖の違いがα-DGの立体構造や安定性に影響し症状の違いとなっている可能性が考えられる．なお*Pomt1*ノックアウトマウスは，胎生致死であった[48]．

3–6. 他の糖鎖異常による筋ジストロフィー

ここ数年の間に，MEBとWWS以外の筋ジストロフィーでもα-DGの糖鎖異常を示す知見が相次いで報告されている（**表1**）．我が国の小児期筋ジストロフィーのなかではデュシェンヌ型についで多いFCMDもMEBとWWSと類似の症状を呈し，原因遺伝子として*fukutin*が同定されている[53]．fukutinは糖転移酵素あるいは糖鎖修飾に関与する分子ではないかと推定されているが，酵素活性などの機能は分かっていない．最近大阪大学の戸田教授ら

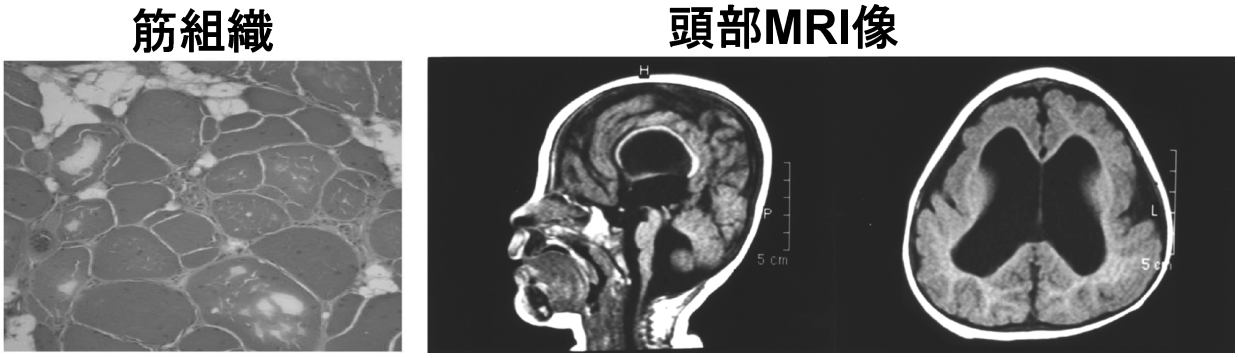


図7 Muscle-eye-brain病患者（5歳児）で見られる病理所見
文献24の図1を改変．筋細胞は壊死と再生を繰り返すためサイズが小さく，脂肪の浸潤や結合組織の増加が見られる．一方，頭部MRI像は，脳室拡大，厚脳回，薄脳梁，小脳や脳幹の低形成などを特徴的に示す．

表1　α-ジストログリカンの糖鎖修飾異常を伴う筋ジストロフィー

疾患名	原因遺伝子産物	染色体座位
Muscle-eye-brain 病（MEB）	POMGnT1	1p34.1
Walker-Warburg 症候群（WWS）	POMT1 POMT2	9q34.1 14q24.3
福山型先天性筋ジストロフィー（FCMD）	fukutin	9q31
先天性筋ジストロフィー 1C 型（MDC1C） 肢帯型筋ジストロフィー 2I 型（LGMD2I）	fukutin-related protein（FKRP）	19q13,3
先天性筋ジストロフィー 1D 型（MDC1D）	LARGE	22q12.3

によって fukutin と POMGnT1 の共発現および免疫沈降実験から，両者は結合してゴルジ体に局在することが示された．また，FCMD で見られる *fukutin* の変異を導入した遺伝子改変マウスでは POMGnT 活性が減少していたことから，fukutin が POMGnT 活性の発現に関与することを我々と共同で明らかにした[54]．一方，先天性筋ジストロフィー 1C 型（MDC1C）[55]や肢帯型筋ジストロフィー 2I 型（LGMD 2I）[56]の原因遺伝子 *FKRP*（fukutin-related protein）は *fukutin* の相同遺伝子であるが，fukutin と同様に機能はまだ不明である．FKRP はゴルジ体など細胞内器官に存在すると報告されていたが，最近筋細胞膜に存在し DGC と結合していることが指摘され（**図8**），糖鎖修飾関与に加えて糖結合分子としての可能性も提唱された[57]．筋ジストロフィーモデルマウスとして知られる myd マウスも α-DG の糖鎖

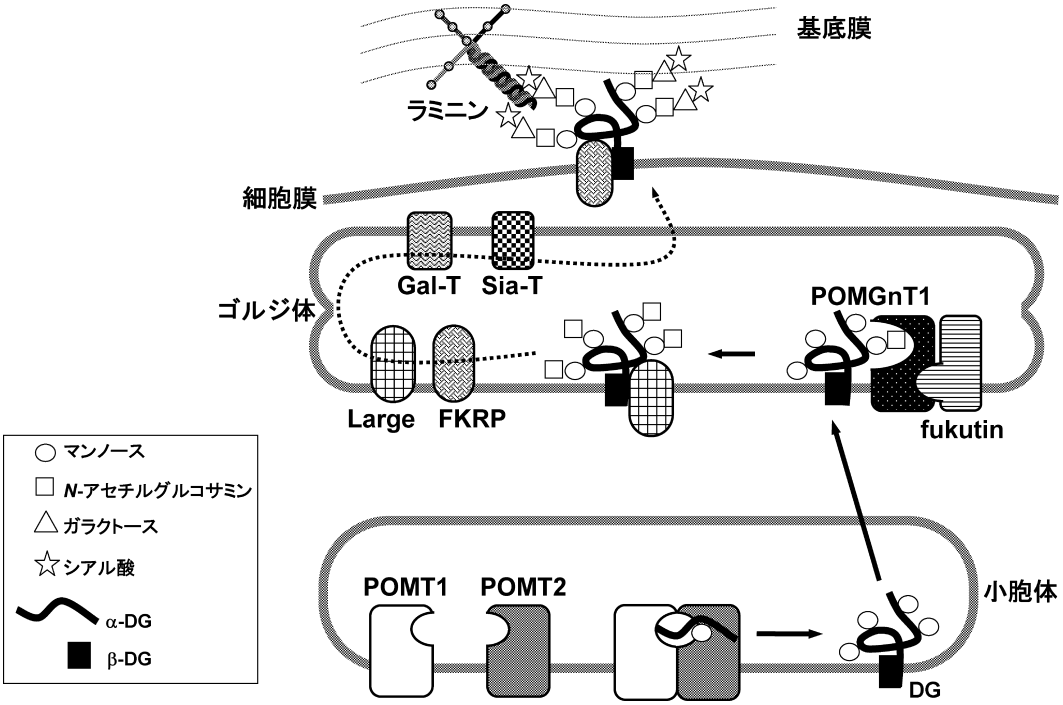


図8　これまで得られた結果から予想される *O*-マンノース型糖鎖の生合成経路
小胞体において POMT1 と POMT2 は酵素活性を有する複合体を形成し，特定のタンパク質（ここではジストログリカン，DG）のアミノ酸配列を認識してマンノースを転移する．マンノシル化された DG はゴルジ体に輸送された後，POMGnT1 により GlcNAcβ1-2 が延長される．さらにガラクトース転移酵素（Gal-T）やシアル酸転移酵素（Sia-T）の働きにより *O*-マンノース型糖鎖が形成される．*O*-マンノース型糖鎖をもった α-DG は，細胞膜においてラミニンなどの基底膜の分子と結合し，細胞内外を繋ぐ安定な連結軸を形成する．fukutin と POMGnT1 は結合すること，および変異体 fukutin により POMGnT1 の活性が低下することより，fukutin は POMGnT1 の活性発現に関与する分子と考えられる[54]．また FKRP はゴルジ体など細胞内器官に存在すると報告されていたが，最近筋細胞膜に存在し DGC と結合して可能性が指摘された[57]．Large や FKRP の機能については今後の課題である．

異常が原因であり，その原因遺伝子 *large* は糖転移酵素と相同性がある[58]．原因遺伝子が *LARGE* である先天性筋ジストロフィー1D型（MDC1D）も見つかり，やはりα-DGの糖鎖異常が原因であると考えられている[59]．一方，*LARGE* あるいはそのホモログの過剰発現により，mydやMDC1Dだけでなく WWS，FCMD，MEB由来の筋芽細胞や線維芽細胞などでもα-DGの糖鎖修飾が回復しラミニンなどとの結合も回復するという報告がなされ，α-DGの糖鎖修飾にLARGE分子が重要であることが示唆された[60〜62]．

これらの筋ジストロフィーでは，α-DGの糖鎖異常によりラミニンやニューレキシン，アグリンなどの細胞外マトリックス分子との結合障害が起こることで，筋変性と神経細胞移動の異常が生じるものと考えられる．しかし，これらの原因遺伝子は糖転移酵素との相同性が認められているだけで，POMTとPOMGnT1以外機能はまだ分かっていない（図8）．今後，これらの遺伝子産物の機能を明らかにし，*O*-マンノース型糖鎖を含むα-DGの糖鎖の生物学的意義を解明することによって，糖鎖異常による筋ジストロフィーの病態解明が進むことが期待される．

ところで糖鎖異常によるこれら筋ジストロフィーの症例数が集積すると，各疾患の臨床症状は幅広く類似しており臨床症状だけでは明確な診断が困難であることが判明した．その結果，表1に示したそれぞれ原因候補遺伝子6個について，一つ一つ遺伝子変異を探索する必要があり，診断のために長い時間が掛かり大きな労力が必要である．最近我々は筋ジストロフィー患者リンパ球を用いた生化学的診断法を開発することに成功した．それは原因分子のうちPOMGnT1，POMT1，POMT2は，糖転移酵素であることを利用したものである．その結果，遺伝子診断により確定したMEBとWWS患者リンパ球では，それぞれPOMGnT1およびPOMT活性が著しく低下していることが明らかになった．一方，遺伝子変異未定の筋ジストロフィー患者についても調べたが，POMGnT1およびPOMT活性の低下を示す症例が数例みつかった．これら酵素活性低下の患者の当該遺伝子について変異を調べてみると，予想通りそれぞれの遺伝子変異が見いだされた[52]．これらの結果は，POMGnT1およびPOMT活性を測定することによりMEBとWWSの診断が可能であり，原因候補遺伝子の絞り込みも可能であることを示している．

縁取り空胞を伴う遠位型ミオパチー（distal myopathy with rimmed vacuoles，DMRV）は我が国で初めて見いだされた疾患であるが，その後欧米で遺伝性封入体ミオパチー（hereditary inclusion body myopathy，HIBM）と名付けられた疾患も原因遺伝子の解明で同一疾患であることが明らかとなった．それは *GNE* 遺伝子と呼ばれ，シアル酸生合成経路の律速段階酵素UDP-*N*-アセチルグルコサミン-2-エピメラーゼ（GNE）ドメインをN端側に，その次の反応を触媒する酵素 *N*-アセチルマンノサミンキナーゼ（MNK）ドメインをC端側にもつ，二つの酵素ドメインをもつタンパク質をコードしていた[63]．DMRV/HIBMの変異は両ドメインに広く分布していた．これまで *GNE* 遺伝子は，常染色体優性遺伝形式をとるシアル尿症の原因遺伝子と知られていた[64]．シアル尿症は，通常最終産物であるシアル酸によってGNEがフィードバックを受け酵素活性を調節していると考えられるが，変異のためにフィードバックが掛からずシアル酸が過剰に合成される病態である．調べられたDMRV/HIBMの変異とシアル尿症の変異は重複せず，両者は病態が異なることが分かる．一方 *GNE* 遺伝子ノックアウトマウスは胎生致死となることより，発生の初期過程においてシアル酸は必須であることが明らかになった[65]．*GNE* 遺伝子の機能喪失により，シアル酸合成が低下しシアリル化糖鎖が減少することが示唆されているが，病態との関連など詳細は不明である．最近日本人に多い *GNE* 遺伝子変異をもつマウスが作製されたことから，病態解明および治療実験に役立つものと期待される[66]．

病態解明はもちろん重要であるが，やはり期待されるのは治療法の開発である．しかしながら，まだ筋ジストロフィーには根本的な治療法がない．筋ジストロフィーという難病の一部が酵素異常であることが解明されたことにより，その治療法への足掛かりができたといえる．

4. 糖鎖異常による他の疾患

N-型糖鎖の合成異常による先天的な病気をCDG（congenital disorders of glycosylation）と呼び，1980年に初めて報告された[67]．これまで20種類以上の原因が報告されている[68]．原因不明の精神運動発達遅延患者の血清のトランスフェリンに電気泳動上の異常，すなわち健常人由来のトランスフェリンよりも高い等電点をもつ分子が存在し，それが糖鎖の末端のシアル酸の減少に起因し，トランスフェリン以外の糖タンパク質でも共通にみられる異常であることが分かった．その後の解析によりこれはシアル酸だけの欠損ではなく *N*-型糖鎖そのものの欠損であることが明らかになった．その後の研究の進展によって，CDGは大きく二つに分類される．CDG-I型は小胞体におけるタンパク質への糖鎖の転移に至るまでの過程の障害で，CDG-II型は糖鎖がついた後でのプロセシングの障害である．なおCDG-II型には糖転移酵素の異常でなく，糖ヌクレオチド輸送体の変異による疾患もある．糖転移反応には糖ヌクレオチドが必要であるが，これは細胞質に存在する．一方糖転移反応はゴルジ内腔で起こるので，糖ヌクレオチドは細胞質から反応の場であるゴルジ内腔に輸送されなければならない．これを司るのがゴルジ膜にある糖ヌクレオチド輸送体である．この輸送体が十分に機能しなければ，十分の

糖ヌクレオチドが供給されず糖転移反応が起こらず，その結果として糖鎖不全となってしまうのである．

最近全く新しいCDGとしてCOG（conserved oligomeric Golgi）複合体の変異による例が報告された[69,70]．COGは1〜8までの8個のサブユニットから構成され，ゴルジ関連タンパク質の輸送全般に関わる重要な機能タンパク質群である．最初に*COG7*の異常による疾患が見いだされた[69]．このサブユニットが異常になると，ほぼすべての糖タンパク質の糖鎖に異常をもたらす表現型となり症状が多彩となる．こうした複雑な病態がこのような疾患群の存在を20世紀が終わるまで暴けなかった原因であろう．その後*COG1*や*COG8*の異常による疾患も見つかっている．

糖転移酵素そのものの変異ではなく糖転移酵素特異的なシャペロンの異常により糖鎖ができなくなる疾患を紹介しよう．*O*-型糖鎖にはコア1（Galβ1−3GalNAc）と呼ばれる構造があり，コア1β3-ガラクトース転移酵素によって形成される．この酵素活性発現にはCosmcと呼ばれるコア1β3-ガラクトース転移酵素のホモログが必要である[71]．ただしCosmc自身は酵素活性をもっていない．Cosmcはコア1β3-ガラクトース転移酵素が活性を発現できるような構造を形成させるために必要であり，この酵素特異的なシャペロンである．自己免疫疾患の一種にTn症候群と呼ばれコア1構造が形成できない疾患があるが，*COSMC*変異が原因である症例が報告された[72]．さらに最近このシャペロン分子の変異により，タンパク質に新規な抗原エピトープ（抗原決定基）が作られ，特異性が高く選択性の高い標的抗原が出現する可能性も指摘された[73]．今後まだ明らかになっていない糖鎖合成の制御メカニズムが解明されることにより，新たなタイプの糖鎖疾患が発見される可能性が高い．

N-型糖鎖はタンパク質上のすべてのアスパラギンに転移される訳ではなく，特定の配列，すなわちAsn-X-Ser/Thrという配列のアスパラギンにのみ糖が転移される．これは糖鎖合成に関わる直接の異常でなくてもアミノ酸変異によって，新たに糖鎖が付加する，あるいは糖鎖が消失する可能性を示唆している．これまでそのような変異は，それほど頻度は高くないと考えられていたが，予想以上に高いこと（データベースによると疾患原因ミスセンス変異のうちの約1.3%程度），そしてアミノ酸変異により新たに糖鎖が付くことによって疾患の原因となることが明らかになった[74]．こうした疾患も今後次々と明らかになることが期待される．糖鎖遺伝子が関わる他の疾患については総説を参照して頂きたい[75]．

5. ノックアウトによる糖鎖機能解析

糖鎖機能を最も端的に提示できるアプローチとして，糖鎖遺伝子のノックアウトマウスの作製がある．すでに50以上の糖鎖遺伝子のノックアウトマウスが作製されている[75]．糖鎖遺伝子ノックアウトのアプローチは，異常症状が明瞭に現れた場合には，直接的に糖鎖の機能を示す証拠となり，きわめて有効で説得力がある解析方法である．そしてその異常の機序を理解することが，本来の糖鎖機能のメカニズムの解明へとつながる．これまで作製されたノックアウトマウスの解析についてその一部を紹介する．

肺気腫を惹起する主たる原因は長期の喫煙である．他の多因子疾患と同様，遺伝，環境，加齢因子により発症すると考えられている．最近，α1,6-フコース転移酵素（Fut8）のノックアウトマウスが作製された[76]．この変異マウスが生後早い時期に死に至ることで，コアフコースが成長発育に必須であることが分かった．さらにこの変異マウスが肺気腫をきたすことが明らかになった．これはTGF-β受容体の糖鎖不全が起こり，TGF-βのシグナル伝達の機能が低下し，マトリックスメタロプロテアーゼ（MMP）の発現制御ができなくなり，MMPの異常な発現が起こり，肺胞の細胞間マトリックスが分解され肺気腫に至ると考えられている．たった一つの糖の欠失でこのような影響を起こすことは，生体における糖鎖の重要性を如実に示す好例であろう．今後はヒト肺気腫とフコシル化糖鎖の関連など検証が必要であろう．

食事などにより変化する体内グルコース濃度に応じて膵臓ベータ細胞からインスリンを分泌することは，グルコース代謝を維持するうえで大変重要である．これはベータ細胞上にあるグルコース輸送体2によるグルコース濃度に応じたグルコースの取り込みを可能にしている．しかし2型糖尿病の発症初期ではグルコース輸送体2の発現異常が起こり，その結果インスリンによるグルコース代謝制御が不全となり，より重度な糖尿病に進行すると考えられている．しかしグルコース輸送体2の発現障害のメカニズムは十分理解されていなかったが，最近グルコース輸送体2の糖鎖が重要な役割を果たしていることが，ノックアウトマウスの解析から明らかになった[77]．GnT-4aは消化管や膵臓特にベータ細胞において高発現しており，*N*-型糖鎖の分岐構造（二本鎖から三本鎖，四本鎖へ）の形成に寄与している．GnT-4a欠損マウスについて，表現系の詳細な検討，グルコース負荷試験，インスリン負荷試験などによる糖代謝解析から，このマウスはグルコース刺激によるインスリン分泌の障害により引き起こされる2型糖尿病であることが明らかになった．GnT-4aにより形成されるグルコース輸送体2の糖鎖と内在性レクチン（ガレクチン9）とがベータ細胞上で結合してグルコース輸送体2を細胞表面にとどめておくというメカニズムが考えられている．GnT-4a欠損で四本鎖になるべき糖鎖が二本鎖で止まってしまい，ガレクチン9に対する親和性が20分の1に低下し，この糖鎖構造の異常がグルコース輸送体2の細胞内局

在を決める因子となっていると考えられる．さらに高脂肪食摂取マウスにより誘導された2型糖尿病マウスのベータ細胞では*GnT-4a*遺伝子の発現が顕著に低下しており，それと一致するようにグルコース輸送体2の糖鎖修飾が低分岐化していることが明らかになった．これらの結果は，高脂肪食摂取により引き起こされた2型糖尿病の発症メカニズムにGnT-4aによるグルコース輸送体2の糖鎖修飾が関与していることを示唆しており興味深い．ところで*GnT-4a*遺伝子は，ヒト染色体では2q11-12に存在しており，この部位は遺伝子連鎖解析により2型糖尿病の感受性部位であることも興味深く，関連性の解明を期待したい．

6. 糖鎖と感染

多くの細菌やウイルスは，感染局所に存在する細胞表面の糖鎖を介して接着・侵入する．O157毒素やコレラ毒素も同様である．インフルエンザは，世界で最も広く分布する人獣共通伝染病である．特にA型インフルエンザウイルスは，カモなどの野生水鳥を自然宿主とし，これまで世界的大流行を何回も起こしている[78]．昨今でもトリインフルエンザウイルスのヒトへの感染変異の恐怖が囁かれている．インフルエンザウイルス膜には2種のスパイク糖タンパク質（ヘマグルチニンおよびノイラミニダーゼ）が，ウイルスの感染成立やウイルスの宿主細胞からの出芽に重要な働きをしている．インフルエンザウイルスは細胞膜上のシアル酸を含むある特定の糖鎖構造を厳密かつ特異的に認識している．トリインフルエンザウイルスがヒトに適応し，感染増殖能を獲得する要因の一つとして，シアル酸の結合様式に対するウイルスの親和性が2–3結合糖鎖（トリ型）から2–6結合糖鎖（ヒト型）に変化することが挙げられている[6]．これはウイルスの宿主変異機構における糖鎖のシアル酸の結合様式やシアル酸分子種の重要性を示している．ところでウイルスは高頻度で変異するため，その変異に的確に対応し流行を防ぐことは並大抵ではない．ここで特筆したいことは，シアル酸誘導体がインフルエンザ治療薬として開発されたことである．インフルエンザウイルスが感染細胞から遊離するためにはノイラミニダーゼが働くことが必須であるが，その阻害剤である商品名タミフルやリレンザである．コンピューターモデリングによる新しいドラッグデザインの手法で開発されたこれら薬剤は，これまでワクチンに頼っていたウイルス感染阻止に顕著な効果を発揮し，画期的な成功を収めている．さらにインフルエンザに対する第二世代の糖鎖創薬も期待されている．

ピロリ菌は胃炎や慢性消化性潰瘍だけでなく，胃がんや胃悪性リンパ腫の発生にも深く関与している．胃表層粘液細胞に含まれる糖鎖（ルイスbやシアリルルイスx）は，ピロリ菌表面の接着分子を介して胃粘膜上皮との接着に重要な役割を演じている[79,80]．最近，胃粘液糖鎖のもつ新たな機能として，粘膜深層の腺粘液細胞に含まれるGlcNAcα1-4残基を有する*O*-型糖鎖がピロリ菌に対して防御的に働いていることが明らかになった[81]．胃粘液糖鎖はピロリ菌膜の重要な構成成分で，コレステロールと反応して作られるコレステリルαグルコシドの生合成を阻害することによって，ピロリ菌の増殖を抑制すると考えられている[81,82]．αGlcNAc残基をもつ*O*-型糖鎖の生物学的意義の解明とともに，ピロリ菌阻害に特異な糖鎖抗菌剤の開発が期待されている．

7. おわりに

近年活発に開発が進められている抗体医薬にも糖鎖生物学が大きく関係している．抗体分子に含まれる糖鎖のフコース残基を除去すると，抗体のがん細胞障害活性が劇的に上昇することが明らかになった[83,84]．こうした研究も抗体の糖鎖構造研究から展開派生した研究成果であるといえるだろう．本稿で筆を進めて来たように，糖鎖が様々な生命現象に関わっていることが明らかになりつつある．従って，糖鎖異常による病気が発症することは想像に難くない．その例として糖鎖異常による筋ジストロフィーについて説明した．今後，糖鎖の生物学的意義を理解していくことによって，糖鎖異常による筋ジストロフィーの病態解明さらに治療法確立への道が拓かれることを期待したい．

糖タンパク質はアミノ酸配列が同一であっても，糖鎖が不均一なことに起因する混合物として存在している．そこでグライコミクス（糖鎖全体を対象とした研究）あるいはグライコプロテオミクス（糖タンパク質全体を対象とした研究）が必要となる．糖鎖の合成は糖転移酵素の発現に基づいており，ゲノム情報から糖鎖構造を予測することは現時点では不可能である．また，PCRのような糖鎖増幅技術もないし，DNAシークエンサーやペプチドシークエンサーのような簡便な糖鎖の配列決定方法もない．ソフトイオン化の開発と多段階質量分析MS^nが実用的になったことにより，糖鎖構造，タンパク質への糖鎖結合部位，タンパク質のアミノ酸配列情報をハイスループットに得ることが可能となりつつある．今後はこれら糖鎖解析技術を一層高感度化・高精度化することや糖鎖のダイナミクスの可視化，さらにバイオインフォマティクスを効率的に駆使することによって，糖鎖研究の新たなステップへと展開しなければならない．

これまでの糖鎖研究により，同じ糖鎖でもどのタンパク質に結合しているかで機能が異なり重要性も異なることが明らかになりつつある．こうした複雑な糖鎖の機能発現メカニズムに関しては十分に解明されていない．本稿では紙面の関係で詳しくは述べることができないが，糖鎖の機能発現には糖鎖とともに糖鎖結合分子の重要性はいうまでもなく，がん，再生医療，感染などで数多く報告されてい

る[85~88]．おのおのの糖鎖の特異的機能の解明のために，糖鎖合成マシナリーによる糖鎖の構築機構を解明し，細胞膜における機能発現の観察・解析法を開発し，糖鎖を統合的に理解することが必要である[89]．これからのライフサイエンス研究において糖鎖研究と他の研究領域との連携（図1）は一段と深まり，糖鎖研究がポストゲノムの様々な課題を解決し，生物学の全般の進歩に貢献すると確信している．

謝辞

本稿で紹介しました研究成果は，多くの研究者との共同研究に支えられ行なわれたものであり，ここに改めて関係の皆様に心から深謝申し上げます．

文　献

1）Apweiler, R., Hermjakob, H., & Sharon, N.（1999）*Biochim. Biophys. Acta*, **1473**, 4–8.
2）Kawashima, H., Petryniak, B., Hiraoka, N., Mitoma, J., Huckaby, V., Nakayama, J., Uchimura, K., Kadomatsu, K., Muramatsu, T., Lowe, J. B., & Fukuda, M.（2005）*Nat. Immunol*., **6**, 1096–1104.
3）Uchimura, K., Gauguet, J.M., Singer, M.S., Tsay, D., Kannagi, R., Muramatsu, T., von Andrian, U.H., & Rosen, S.D.（2005）*Nat. Immunol*., **6**, 1105–1113.
4）Mitoma, J., Bao, X., Petryanik, B., Schaerli, P., Gauguet, J.M., Yu, S.Y., Kawashima, H., Saito, H., Ohtsubo, K., Marth, J.D., Khoo, K.H., von Andrian, U.H., Lowe, J.B., & Fukuda, M.（2007）*Nat. Immunol*., **8**, 409–418.
5）Shinya, K., Ebina, M., Yamada, S., Ono, M., Kasai, N., & Kawaoka, Y.（2006）*Nature*, **440**, 435–436.
6）Yamada, S., Suzuki, Y., Suzuki, T., Le, M.Q., Nidom, C.A., Sakai-Tagawa, Y., Muramoto, Y., Ito, M., Kiso, M., Horimoto, T., Shinya, K., Sawada, T., Kiso, M., Usui, T., Murata, T., Lin, Y., Hay, A., Haire, L.F., Stevens, D. J., Russell, R.J., Gamblin, S.J., Skehel, J.J., & Kawaoka, Y.（2006）*Nature*, **444**, 378–382.
7）Haines, N. & Irvine, K.D.（2003）*Nat. Rev. Mol. Cell Biol*., **4**, 786-797.
8）Rampal, R., Luther, K.B., & Haltiwanger, R.S.（2007）*Curr. Mol. Med*., **7**, 427–445.
9）Blake, D.J., Weir, A., Newey, S.E., & Davies, K.E.（2002）*Physiol. Rev*., **82**, 291–329.
10）Barresi, R. & Campbell, K.P.（2006）*J. Cell Sci*., **119**, 199–207.
11）Williamson, R.A., Henry, M.D., Daniels, K.J., Hrstka, R.F., Lee, J.C., Sunada, Y., Ibraghimov-Beskrovnaya, O., & Campbell, K.P.（1997）*Hum. Mol. Genet*., **6**, 831–841.
12）Cohn, R.D., Henry, M.D., Michele, D.E., Barresi, R., Saito, F., Moore, S.A., Flanagan, J. D., Skwarchuk, M.W., Robbins, M. E., Mendell, J.R., Williamson, R.A., & Campbell, K.P.（2002）*Cell*, **110**, 639–648.
13）Moore, S.A., Saito, F., Chen, J., Michele, D.E., Henry, M.D., Messing, A., Cohn, R.D., Ross-Barta, S.E., Westra, S., Williamson, R.A., Hoshi, T., & Campbell, K.P.（2002）*Nature*, **418**, 422–425.
14）Saito, F., Moore, S.A., Barresi, R., Henry, M.D., Messing, A., Ross-Barta, S.E., Cohn, R.D., Williamson, R.A., Sluka, K.A., Sherman, D.L., Brophy, P.J., Schmelzer, J.D., Low, P.A., Wrabetz, L., Feltri, M.L., & Campbell, K.P.（2003）*Neuron*, **38**, 747–758.
15）Michele, D.E., Barresi, R., Kanagawa, M., Saito, F., Cohn, R. D., Satz, J.S., Dollar, J., Nishino, I., Kelley, R.I., Somer, H., Straub, V., Mathews, K.D., Moore, S.A., & Campbell, K.P.（2002）*Nature*, **418**, 417–422.
16）Ibraghimov-Beskrovnaya, O., Ervasti, J.M., Leveille, C.J., Slaughter, C.A., Sernett, S.W., & Campbell, K.P.（1992）*Nature*, **355**, 696–702.
17）Cao, W., Henry, M.D., Borrow, P., Yamada, H., Elder, J.H., Ravkov, E.V., Nichol, S. T., Compans, R.W., Campbell, K.P., & Oldstone, M.B.（1998）*Science*, **282**, 2079–2081.
18）Rambukkana, A., Yamada, H., Zanazzi, G., Mathus, T., Salzer, J.L., Yurchenco, P.D., Campbell, K.P., & Fischetti, V.A.（1998）*Science*, **282**, 2076–2079.
19）Singh, J., Itahana, Y., Knight-Krajewski, S., Kanagawa, M., Campbell, K.P., Bissell, M.J., & Muschler, J.（2004）*Cancer Res*., **64**, 6152–6159.
20）Chiba, A., Matsumura, K., Yamada, H., Inazu, T., Shimizu, T., Kusunoki, S., Kanazawa, I., Kobata, A., & Endo, T.（1997）*J. Biol. Chem*., **272**, 2156–2162.
21）Endo, T.（2004）*Glycoconj. J*., **21**, 3–7.
22）Strahl-Bolsinger, S., Gentzsch, M., & Tanner, W.（1999）*Biochim. Biophys. Acta*, **1426**, 297–307.
23）Willer, T., Valero, M.C., Tanner, W., Cruces, J., & Strahl, S.（2003）*Curr. Opin. Struct. Biol*., **13**, 621–630.
24）Yoshida, A., Kobayashi, K., Manya, H., Taniguchi, K., Kano, H., Mizuno, M., Inazu, T., Mitsuhashi, H., Takahashi, S., Takeuchi, M., Herrmann, R., Straub, V., Talim, B., Voit, T., Topaloglu, H., Toda, T., & Endo, T.（2001）*Dev. Cell*, **1**, 717–724.
25）Akasaka-Manya, K., Manya, H., Kobayashi, K., Toda, T., & Endo, T.（2004）*Biochem. Biophys. Res. Commun*., **320**, 39–44.
26）Girrbach, V. & Strahl, S.（2003）*J. Biol. Chem*., **278**, 12554–12562.
27）Fukuda, S., Sumii, M., Masuda, Y., Takahashi, M., Koike, N., Teishima, J., Yasumoto, H., Itamoto, T., Asahara, T., Dohi, K., & Kamiya, K.（2001）*Biochem. Biophys. Res. Commun*., **280**, 407–414.
28）Manya, H., Chiba, A., Yoshida, A., Wang, X., Chiba, Y., Jigami, Y., Margolis, R. U., & Endo, T.（2004）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 500–505.
29）Akasaka-Manya, K., Manya, H., Nakajima, A., Kawakita, M., & Endo, T.（2006）*J. Biol. Chem*., **281**, 19339–19345.
30）Ichimiya, T., Manya, H., Ohmae, Y., Yoshida, H., Takahashi, K., Ueda, R., Endo, T., & Nishihara, S.（2004）*J. Biol. Chem*., **279**, 42638–42647.
31）Wang, Y., Shao, L., Shi, S., Harris, R.J., Spellman, M.W., Stanley, P., & Haltiwanger, R.S.（2001）*J. Biol. Chem*., **276**, 40338–40345.
32）Luo, Y., Koles, K., Vorndam, W., Haltiwanger, R.S., & Panin, V.M.（2006）*J. Biol. Chem*., **281**, 9393–9399.
33）Wells, L., Vosseller, K., & Hart, G.W.（2001）*Science*, **291**, 2376–2378.
34）Ten Hagen, K.G., Fritz, T.A., & Tabak, L. A.（2003）*Glycobiology*, **13**, 1R–16R.
35）Manya, H., Suzuki, T., Akasaka-Manya, K., Ishida, H.K., Mizuno, M., Suzuki, Y., Inazu, T., Dohmae, N., & Endo, T.（2007）*J. Biol. Chem*., **282**, 20200–20206.
36）Hutzler, J., Schmid, M., Bernard, T., Henrissat, B., & Strahl, S.（2007）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **104**, 7827–7832.

37) Santavuori, P., Somer, H., Sainio, K., Rapola, J., Kruus, S., Nikitin, T., Ketonen, L., & Leisti, J. (1989) *Brain Dev*., **11**, 147–153.
38) Taniguchi, K., Kobayashi, K., Saito, K., Yamanouchi, H., Ohnuma, A., Hayashi, Y.K., Manya, H., Jin, D.K., Lee, M., Parano, E., Falsaperla, R., Pavone, P., Van Coster, R., Talim, B., Steinbrecher, A., Straub, V., Nishino, I., Topaloglu, H., Voit, T., Endo, T., & Toda, T. (2003) *Hum. Mol. Genet*., **12**, 527–534.
39) Manya, H., Sakai, K., Kobayashi, K., Taniguchi, K., Kawakita, M., Toda, T., & Endo, T. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **306**, 93–97.
40) Endo, T. & Toda, T. (2003) *Biol. Pharm. Bull*., **26**, 1641–1647.
41) Hemler, M.E. (1999) *Cell*, **97**, 543–546.
42) Sugita, S., Saito, F., Tang, J., Satz, J., Campbell, K., & Sudhof, T.C. (2001) *J. Cell Biol*., **154**, 435–445.
43) Liu, J., Ball, S.L., Yang, Y., Mei, P., Zhang, L., Shi, H., Kaminski, H.J., Lemmon, V.P., & Hu, H. (2006) *Mech. Dev*., **123**, 228–240.
44) Hu, H., Yang, Y., Eade, A., Xiong, Y., & Qi, Y. (2007) *J. Comp. Neurol*., **501**, 168–183.
45) Dobyns, W.B., Pagon, R.A., Armstrong, D., Curry, C.J., Greenberg, F., Grix, A., Holmes, L.B., Laxova, R., Michels, V.V., Robinow, M., & et al. (1989) *Am. J. Med. Genet*., **32**, 195–210.
46) Beltran-Valero De Bernabe, D., Currier, S., Steinbrecher, A., Celli, J., Van Beusekom, E., Van Der Zwaag, B., Kayserili, H., Merlini, L., Chitayat, D., Dobyns, W.B., Cormand, B., Lehesjoki, A.E., Cruces, J., Voit, T., Walsh, C.A., Van Bokhoven, H., & Brunner, H.G. (2002) *Am. J. Hum. Genet*., **71**, 1033–1043.
47) Willer, T., Amselgruber, W., Deutzmann, R., & Strahl, S. (2002) *Glycobiology*, **12**, 771–783.
48) Willer, T., Prados, B., Falcon-Perez, J.M., Renner-Muller, I., Przemeck, G.K., Lommel, M., Coloma, A., Valero, M.C., de Angelis, M.H., Tanner, W., Wolf, E., Strahl, S., & Cruces, J. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 14126–14131.
49) Manya, H., Chiba, A., Margolis, R.U., & Endo, T. (2006) *Glycobiology*, **16**, 863–873.
50) Akasaka-Manya, K., Manya, H., & Endo, T. (2004) *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **325**, 75–79.
51) van Reeuwijk, J., Janssen, M., van den Elzen, C., Beltran-Valero de Bernabe, D., Sabatelli, P., Merlini, L., Boon, M., Scheffer, H., Brockington, M., Muntoni, F., Huynen, M.A., Verrips, A., Walsh, C. A., Barth, P. G., Brunner, H. G., & van Bokhoven, H. (2005) *J. Med. Genet*., **42**, 907–912.
52) Manya, H., Bouchet, C., Yanagisawa, A., Vuillaumier-Barrot, S., Quijano-Roy, S., Suzuki, Y., Maugenre, S., Richard, P., Inazu, T., Merlini, L., Romero, N., Leturcq, F., Bezier, I., Topaloglu, H., Estournet, B., Seta, N., Endo, T., & Guicheney, P. (2007) *Neuromuscul. Disord*. in press.
53) Kobayashi, K., Nakahori, Y., Miyake, M., Matsumura, K., Kondo-Iida, E., Nomura, Y., Segawa, M., Yoshioka, M., Saito, K., Osawa, M., Hamano, K., Sakakihara, Y., Nonaka, I., Nakagome, Y., Kanazawa, I., Nakamura, Y., Tokunaga, K., & Toda, T. (1998) *Nature*, **394**, 388–392.
54) Xiong, H., Kobayashi, K., Tachikawa, M., Manya, H., Takeda, S., Chiyonobu, T., Fujikake, N., Wang, F., Nishimoto, A., Morris, G. E., Nagai, Y., Kanagawa, M., Endo, T., & Toda, T. (2006) *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **350**, 935–941.
55) Brockington, M., Blake, D.J., Prandini, P., Brown, S.C., Torelli, S., Benson, M.A., Ponting, C.P., Estournet, B., Romero, N.B., Mercuri, E., Voit, T., Sewry, C.A., Guicheney, P., & Muntoni, F. (2001) *Am. J. Hum. Genet*., **69**, 1198–1209.
56) Brockington, M., Yuva, Y., Prandini, P., Brown, S.C., Torelli, S., Benson, M.A., Herrmann, R., Anderson, L.V., Bashir, R., Burgunder, J.M., Fallet, S., Romero, N., Fardeau, M., Straub, V., Storey, G., Pollitt, C., Richard, I., Sewry, C.A., Bushby, K., Voit, T., Blake, D.J., & Muntoni, F. (2001) *Hum. Mol. Genet*., **10**, 2851–2859.
57) Beedle, A.M., Nienaber, P.M., & Campbell, K.P. (2007) *J. Biol. Chem*., **282**, 16713–16717.
58) Grewal, P.K., Holzfeind, P.J., Bittner, R.E., & Hewitt, J.E. (2001) *Nat. Genet*., **28**, 151–154.
59) Longman, C., Brockington, M., Torelli, S., Jimenez-Mallebrera, C., Kennedy, C., Khalil, N., Feng, L., Saran, R.K., Voit, T., Merlini, L., Sewry, C.A., Brown, S.C., & Muntoni, F. (2003) *Hum. Mol. Genet*., **12**, 2853–2861.
60) Barresi, R., Michele, D.E., Kanagawa, M., Harper, H.A., Dovico, S.A., Satz, J.S., Moore, S.A., Zhang, W., Schachter, H., Dumanski, J.P., Cohn, R.D., Nishino, I., & Campbell, K.P. (2004) *Nat. Med*., **10**, 696-703.
61) Brockington, M., Torelli, S., Prandini, P., Boito, C., Dolatshad, N.F., Longman, C., Brown, S.C., & Muntoni, F. (2005) *Hum. Mol. Genet*., **14**, 657–665.
62) Fujimura, K., Sawaki, H., Sakai, T., Hiruma, T., Nakanishi, N., Sato, T., Ohkura, T., & Narimatsu, H. (2005) *Biochem. Biophys. Res. Commun*., **329**, 1162–1171.
63) Eisenberg, I., Avidan, N., Potikha, T., Hochner, H., Chen, M., Olender, T., Barash, M., Shemesh, M., Sadeh, M., Grabov-Nardini, G., Shmilevich, I., Friedmann, A., Karpati, G., Bradley, W.G., Baumbach, L., Lancet, D., Asher, E.B., Beckmann, J.S., Argov, Z., & Mitrani-Rosenbaum, S. (2001) *Nat. Genet*., **29**, 83–87.
64) Seppala, R., Lehto, V.P., & Gahl, W.A. (1999) *Am. J. Hum. Genet*., **64**, 1563–1569.
65) Schwarzkopf, M., Knobeloch, K.P., Rohde, E., Hinderlich, S., Wiechens, N., Lucka, L., Horak, I., Reutter, W., & Horstkorte, R. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 5267–5270.
66) Freeze, H.H. (2006) *Nat. Rev. Genet*., **7**, 537–551.
67) Malicdan, M.C., Noguchi, S., Nonaka, I., Hayashi, Y.K., & Nishino, I. (2007) *Hum. Mol. Genet*., **16**, 2669–2682.
68) Jaeken, J. & Carchon, H. (2004) *Curr. Opin. Pediatr.*, **16**, 434–439.
69) Wu, X., Steet, R.A., Bohorov, O., Bakker, J., Newell, J., Krieger, M., Spaapen, L., Kornfeld, S., & Freeze, H.H. (2004) *Nat. Med*., **10**, 518–523.
70) Foulquier, F., Vasile, E., Schollen, E., Callewaert, N., Raemaekers, T., Quelhas, D., Jaeken, J., Mills, P., Winchester, B., Krieger, M., Annaert, W., & Matthijs, G. (2006) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 3764-3769.
71) Ju, T. & Cummings, R.D. (2002) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **99**, 16613–16618.
72) Ju, T. & Cummings, R.D. (2005) *Nature*, **437**, 1252.
73) Schietinger, A., Philip, M., Yoshida, B.A., Azadi, P., Liu, H., Meredith, S.C., & Schreiber, H. (2006) *Science*, **314**, 304–308.
74) Vogt, G., Chapgier, A., Yang, K., Chuzhanova, N., Feinberg, J., Fieschi, C., Boisson-Dupuis, S., Alcais, A., Filipe-Santos, O., Bustamante, J., de Beaucoudrey, L., Al-Mohsen, I., Al-Hajjar, S., Al-Ghonaium, A., Adimi, P., Mirsaeidi, M., Khalilzadeh, S., Rosenzweig, S., de la Calle Martin, O., Bauer, T. R., Puck, J.M., Ochs, H.D., Furthner, D., Engelhorn, C., Belohradsky, B., Mansouri, D., Holland, S.M., Schreiber, R.D., Abel,

L., Cooper, D.N., Soudais, C., & Casanova, J.L.（2005）*Nat. Genet*., **37**, 692–700.
75）Lowe, J.B. & Marth, J.D.（2003）*Annu. Rev. Biochem*., **72**, 643–691.
76）Wang, X., Inoue, S., Gu, J., Miyoshi, E., Noda, K., Li, W., Mizuno-Horikawa, Y., Nakano, M., Asahi, M., Takahashi, M., Uozumi, N., Ihara, S., Lee, S.H., Ikeda, Y., Yamaguchi, Y., Aze, Y., Tomiyama, Y., Fujii, J., Suzuki, K., Kondo, A., Shapiro, S.D., Lopez-Otin, C., Kuwaki, T., Okabe, M., Honke, K., & Taniguchi, N.（2005）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 15791–15796.
77）Ohtsubo, K., Takamatsu, S., Minowa, M.T., Yoshida, A., Takeuchi, M., & Marth, J.D.（2005）*Cell*, **123**, 1307–1321.
78）Kobasa, D., Takada, A., Shinya, K., Hatta, M., Halfmann, P., Theriault, S., Suzuki, H., Nishimura, H., Mitamura, K., Sugaya, N., Usui, T., Murata, T., Maeda, Y., Watanabe, S., Suresh, M., Suzuki, T., Suzuki, Y., Feldmann, H., & Kawaoka, Y.（2004）*Nature*, **431**, 703–707.
79）Ilver, D., Arnqvist, A., Ogren, J., Frick, I.M., Kersulyte, D., Incecik, E.T., Berg, D.E., Covacci, A., Engstrand, L., & Boren, T.（1998）*Science*, **279**, 373–377.
80）Mahdavi, J., Sonden, B., Hurtig, M., Olfat, F.O., Forsberg, L., Roche, N., Angstrom, J., Larsson, T., Teneberg, S., Karlsson, K.A., Altraja, S., Wadstrom, T., Kersulyte, D., Berg, D.E., Dubois, A., Petersson, C., Magnusson, K.E., Norberg, T., Lindh, F., Lundskog, B.B., Arnqvist, A., Hammarstrom, L., & Boren, T.（2002）*Science*, **297**, 573–578.
81）Kawakubo, M., Ito, Y., Okimura, Y., Kobayashi, M., Sakura, K., Kasama, S., Fukuda, M.N., Fukuda, M., Katsuyama, T., & Nakayama, J.（2004）*Science*, **305**, 1003–1006.
82）Wunder, C., Churin, Y., Winau, F., Warnecke, D., Vieth, M., Lindner, B., Zahringer, U., Mollenkopf, H.J., Heinz, E., & Meyer, T.F.（2006）*Nat. Med*., **12**, 1030–1038.
83）Shields, R.L., Lai, J., Keck, R., O'Connell, L.Y., Hong, K., Meng, Y.G., Weikert, S.H., & Presta, L.G.（2002）*J. Biol. Chem*., **277**, 26733–26740.
84）Shinkawa, T., Nakamura, K., Yamane, N., Shoji-Hosaka, E., Kanda, Y., Sakurada, M., Uchida, K., Anazawa, H., Satoh, M., Yamasaki, M., Hanai, N., & Shitara, K.（2003）*J. Biol. Chem*., **278**, 3466–3473.
85）Hirano, M., Ma, B.Y., Kawasaki, N., Okimura, K., Baba, M., Nakagawa, T., Miwa, K., Kawasaki, N., Oka, S., & Kawasaki, T.（2005）*J. Immunol*., **175**, 3177–3185.
86）Sakaguchi, M., Shingo, T., Shimazaki, T., Okano, H. J., Shiwa, M., Ishibashi, S., Oguro, H., Ninomiya, M., Kadoya, T., Horie, H., Shibuya, A., Mizusawa, H., Poirier, F., Nakauchi, H., Sawamoto, K., & Okano, H.（2006）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 7112–7117.
87）Saijo, S., Fujikado, N., Furuta, T., Chung, S.H., Kotaki, H., Seki, K., Sudo, K., Akira, S., Adachi, Y., Ohno, N., Kinjo, T., Nakamura, K., Kawakami, K., & Iwakura, Y.（2007）*Nat. Immunol*., **8**, 39–46.
88）Elola, M.T., Wolfenstein-Todel, C., Troncoso, M.F., Vasta, G. R., & Rabinovich, G.A.（2007）*Cell Mol. Life Sci*., **64**, 1679–1700.
89）Lau, K.S., Partridge, E.A., Grigorian, A., Silvescu, C.I., Reinhold, V. N., Demetriou, M., & Dennis, J.W.（2007）*Cell*, **129**, 123–134.