ジストログリカンの糖鎖機能と筋ジストロフィー

金川　基

ジストログリカンは，細胞外マトリックス分子やシナプス分子の細胞表面受容体で，リガンド結合活性を獲得するためには，ユニークな糖鎖修飾を受けることが必要である．近年，この修飾に関わる分子がいくつか同定され，ジストログリカンが独特な機序によって翻訳後修飾を受けることがわかってきた．また，ジストログリカンはさまざまな組織で重要な役割を担っているが，その一方で，ジストログリカンの糖鎖異常が，脳奇形や精神発達遅滞を伴う筋ジストロフィーの原因になることも知られている．最近，糖鎖異常モデルを用いた研究から，脳奇形や筋ジストロフィーの発症機序が明らかになり，その成果に基づいた治療戦略も樹立され始めている．本稿では，ジストログリカンの糖鎖構造，修飾機序，糖鎖機能と疾患との関連について概説し，筋ジストロフィーの治療戦略について紹介する．

1.　はじめに

ジストログリカン（dystroglycan：DG）は，ジストロフィン–糖タンパク質複合体（dystrophin-glycoprotein complex：DGC）の成分として骨格筋から発見された[1]．DGC は，デュシェンヌ型筋ジストロフィーの原因遺伝子産物であるジストロフィンと膜型糖タンパク質群からなる分子複合体で，基底膜とアクチン骨格を結ぶ構造を形成している（**図1A**）．この DGC が仲介する基底膜–細胞骨格の連携が，筋の伸収縮といった機械的ストレスに耐えうるような筋細胞膜の強度を維持するために重要と考えられている．DG はジストロフィンを細胞膜直下につなぎとめる一方で，細胞外ではラミニンなどの基底膜分子と結合しており，細胞骨格と基底膜を結ぶ分子軸として機能している[2]．DG は α と β の二つのサブユニットからなるが，両者は単一の mRNA にコードされており，翻訳後修飾の過程で αDG と βDG に切断される[3]．αDG は高度な糖鎖修飾を受けており，細胞外サブユニットとして，リガンドと結合する機能を担う．αDG のリガンド分子はいくつか知られているが，いずれも共通してラミニン G（LG）ドメインを持つ．βDG は膜貫通型サブユニットで，細胞外では αDG を細胞表面につなぎとめておく一方で，細胞内ではジストロフィンと結合している．βDG はタンパク質リン酸化を受けることや，アダプター分子と結合することなどから，シグナル分

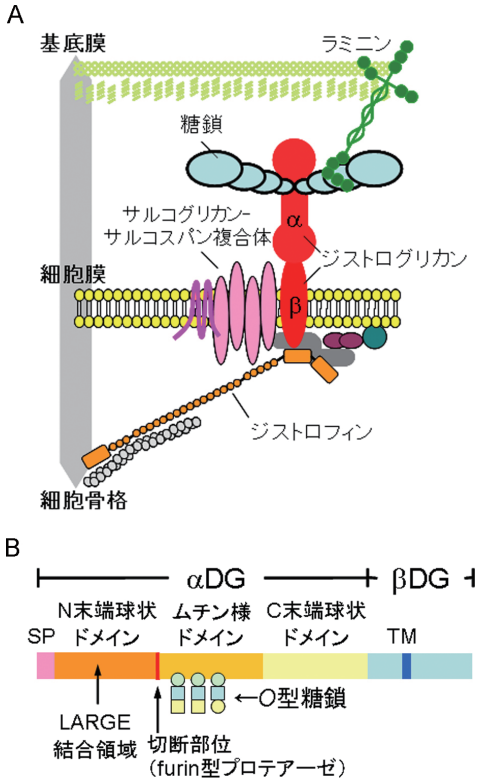


図1　ジストロフィン–糖タンパク質複合体とジストログリカン
（A）ジストロフィン–糖タンパク質複合体は細胞膜を貫通して基底膜と細胞骨格を結ぶ役割を担っている．（B）ジストログリカンは N 末端と C 末端にある二つの球状ドメインと，それらにはさまれるムチン様領域からなる．ムチン様領域には多量の *O* 型糖鎖が修飾されている．N 末端球状領域は糖鎖修飾完了後切断されるため成熟型ジストログリカンには存在しない．SP：シグナルペプチド，TM：膜貫通領域．

神戸大学大学院医学研究科分子脳科学分野（〒650–0017 兵庫県神戸市中央区楠町 7 丁目 5–1）
Dystroglycan glycosylation and muscular dystrophy
Motoi Kanagawa（Division of Molecular Brain Science, Kobe University Graduate School of Medicine, Kusunoki-cho 7–5–1, Chuo-ku, Kobe, Hyogo 650–0017, Japan）
本総説は 2013 年度奨励賞を受賞した．

子としての機能を持つことも示唆されている[2,4]．αDGは640アミノ酸ほどからなり，N末端とC末端にある二つの球状ドメインと，それらにはさまれているムチン様ドメインに分けられる（図1B）．ムチン様ドメインには40以上のセリン・トレオニン残基が存在し，*O*型糖鎖が多く修飾されている．N末端球状ドメインは，ムチン様ドメインに生じる*O*型糖鎖修飾に不可欠であるが，糖鎖修飾完了後にプロセシングされるため，細胞膜上に発現している成熟型αDGには存在しない[5]．成熟型αDGのコアタンパク質部分は約40 kDaと推定されるが，SDSゲル上では，組織や細胞によって異なるものの，120～160 kDaの位置に検出されるため，非常に高度な糖鎖修飾を受けていると考えられる．また，αDGは*N*型糖鎖修飾も受けるが，化学的な脱糖鎖実験から，*O*型糖鎖がリガンドとの結合に必要であることが示されている．αDGのモノクローナル抗体であるIIH6抗体やVIA4-1抗体は，脱糖鎖処理によって反応性が消失することや，後述の糖鎖不全型αDGとは反応しないことから，αDGに修飾される糖鎖がエピトープの形成に関与していると考えられている．IIH6抗体はリガンド結合を阻害することから，リガンド結合活性を持つ糖鎖構造を認識していると推察される[6]．1997年，遠藤らはαDGに*O*-マンノース（*O*-Man）型糖鎖（Siaα2-3Galβ1-4GlcNAcβ1-2Man）が存在することを突き止めた[7]．この構造は哺乳類で初めて発見された*O*-Man型糖鎖である．2010年，Campbellらは*O*-Man上にリン酸ジエステル結合を介して存在する新規の修飾構造が存在することを報告し，この修飾体がリガンド結合に関与すると提唱した[8]．

糖鎖と疾患との関係に目をやると，2001年，林らによって，福山型筋ジストロフィー（FCMD）患者の筋生検でIIH6抗体の反応性が消失していることが示されたが，これがαDGの糖鎖と筋ジストロフィーの関連を示唆する初めての報告である[9]．その翌年には，Walker-Warburg症候群（Walker-Warburg syndrome：WWS）や筋眼脳病（muscle-eye-brain disease：MEB）患者でも，IIH6反応性が消失していること，そして，これらの先天性筋ジストロフィーでは，糖鎖異常に伴いαDGのリガンド結合活性も劇的に低下していることが明らかになった[10]．つまり，これらの疾患では，αDGの糖鎖異常とリガンド結合能の消失が共通した分子病態であり，その後，DGの糖鎖異常によって発症する筋ジストロフィー（ジストログリカノパチー）という疾患概念が確立されていった[11,12]．ジストログリカノパチーは筋病変のみならず，中枢神経障害や眼症状を伴う場合も多く，αDGの糖鎖が骨格筋に限らずさまざまな組織において重要な働きをしていることが示唆される．2000年代前半までは，*POMT1*，*POMT2*，*POMGNT1*，*fukutin*，*FKRP*，*LARGE*の6遺伝子がジストログリカノパチー原因遺伝子として知られていたが，近年のゲノム解析技術の飛躍もあいまって，現在15種以上の遺伝子がαDGの糖鎖修飾や病変に関与することが知られている（**表1**）．以上のように，αDGの糖鎖構造や機能に関する糖質生物学・生化学研究と，臨床遺伝学研究や分子病態学研究が，有機的につながりあってジストログリカノパチー研究が発展してきた．次節から，αDGの糖鎖構造，修飾機序，生理機能，疾患との関わりについて最近の知見を概説する．

表1　ジストログリカノパチー遺伝子と機能

ジストログリカノパチー遺伝子	遺伝子産物機能
POMT1	*O*-Man transferase（POMT1/2 complex）
POMT2	*O*-Man transferase（POMT1/2 complex）
POMGNT1	Protein *O*-Man β1,2-GlcNAc transferase
FKTN	Unknown, involved in post-phosphoryl modification ?
FKRP	Unknown, involved in post-phosphoryl modification ?
LARGE	Synthesis of Xyl-GlcA repeating units
ISPD	Unknown
GTDC2/*POMGNT2*	Protein *O*-Man β1,4-GlcNAc transferase
DAG1	Dystroglycan, reduced interaction with LARGE
TMEM5	Unknown
B3GALNT2	β1,3-GalNAc transferase
SGK196/*POMK*	*O*-Man kinase
B3GNT1	β1,3-GlcNAc transferase
GMPPB	GDP-Man pyrophosphorylase B
DPM1	Dol-P-Man synthesis
DPM2	Dol-P-Man synthesis
DPM3	Dol-P-Man synthesis
DOLK	Dolichol phosphate synthesis

2.　ジストログリカンの糖鎖構造と修飾機序

現在のところ明らかになっているαDGの*O*-Man型糖鎖構造を**図2**に，ジストログリカノパチー原因遺伝子を表1に記す．Core M1はウシ末梢神経より精製したαDGから[7]，Core M3はHEK293細胞に発現させた組換えαDGから発見された[8]．*N*-acetylglucosaminyltransferase IX（GnT-IX）が*O*-Manに*N*-アセチルグルコサミン（GlcNAc）を転移する活性を持つため，αDGにはCore M2が修飾されている可能性も示唆されている[13]．Campbellらは，Core M3の*O*-Manはリン酸化されており，さらにリン酸ジエステル結合を介して修飾される構造が存在すると提唱している[8]．この修飾構造の詳細は完全には明らかにされていないため，“ポストリン酸構造”や“ポストリン酸修飾”と呼ばれている．ポストリン酸構造には，LARGE（like-acetylglucosaminyltransferase）の糖転移酵素活性によって形成されるキシロース（Xyl）とグルクロン酸（GlcA）か

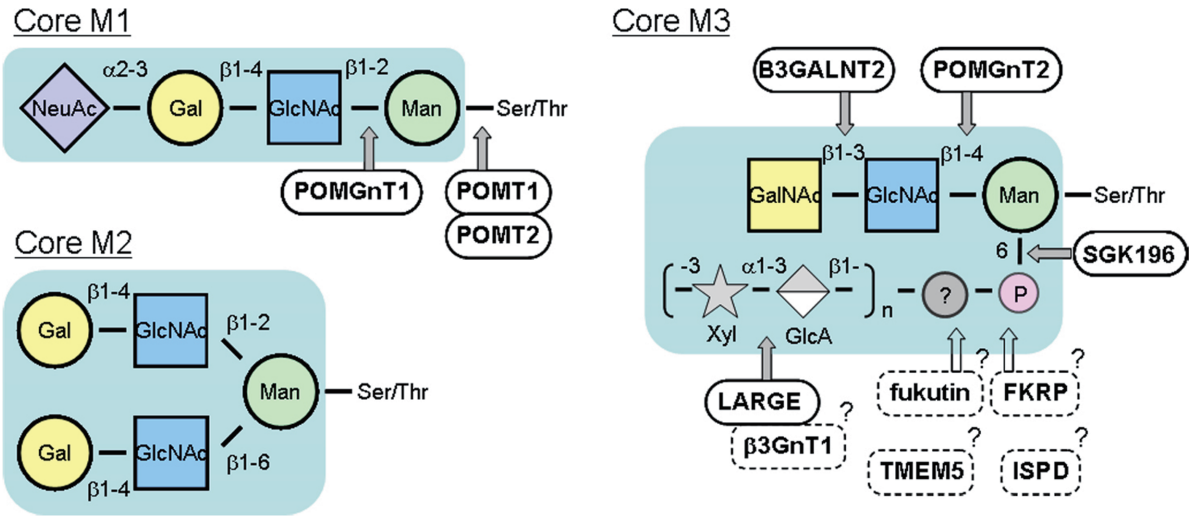


図 2　α ジストログリカンの糖鎖構造と糖鎖修飾関連分子
αDG に修飾されるユニークな *O*-Man 型糖鎖構造（Core M1，Core M2，Core M3）と，その修飾に関与するジストログリカノパチー遺伝子産物を示した．糖転移酵素活性が同定されているものは灰色矢印で示す．

らなる繰り返し構造が含まれる可能性が高い[14]．しかしながら，リン酸化 Man と Xyl-GlcA リピートを結ぶ構造はまだ明らかにされていない．本節では，ジストログリカノパチー原因遺伝子産物の機能と DG 糖鎖修飾との関連について概説する．

1）　POMT 複合体と POMGnT1

protein O-mannosyltransferase（*POMT*）*1* と *POMT2* は，いずれも，非常に重篤な先天性筋ジストロフィーである WWS の原因遺伝子として同定された[15,16]．両者は小胞体（ER）に局在し，POMT1/POMT2 複合体を形成している．POMT1/POMT2 複合体は，ドリコールリン酸マンノース（Dol-P-Man）を糖供与体として，αDG のセリン/トレオニン残基への Man 転移反応を触媒する[17]．*protein O-linked mannose β1, 2-N-acetylglucosaminyltransferase1*（*POMGNT1*）は，*N*-acetylglucosaminyltransferase I（GnT-I：遺伝子名 *MGAT1*）との相同性をもとにクローニングされたが，*POMGNT1* 遺伝子変異が，フィンランドに多くみられる MEB 病の原因となることも同時に報告されている[18]．POMGnT1 は，UDP-GlcNAc を糖供与体として，GlcNAc を β1-2 結合で *O*-Man に転移する酵素である．Core M1 から酵素的に NeuAc，Gal，GlcNAc を除去しても αDG のリガンド結合能が維持されているとの報告があり，Core M1 はリガンド結合部位として機能していない可能性も示唆されている[19]．一方，POMGnT1 欠損マウスや MEB 病患者由来の細胞では，Core M1 のみならず，ポストリン酸修飾も部分的に不全となっているため，Core M1 が CoreM3/ポストリン酸修飾を制御している可能性が考えられる[8,20]．

2）　GTDC2, B3GALNT2, SGK196

glycosyltransferase-like domain containing 2（GTDC2, POMGnT2），β1, 3 - *N*- acetylgalactosaminyltransferase 2（B3GALNT2），SGK196 （POMK）は，比較的新しく同定されたジストログリカノパチー原因遺伝子産物で，Core M3 の生合成に関与する[21~24]．GTDC2（AGO61 とも呼ばれる）は UDP-GlcNAc を糖供与体として *O*-Man に GlcNAc を β1-4 結合で，B3GALNT2 は UDP-GalNAc を糖供与体として GlcNAcβ1-4Man の GlcNAc 残基に GalNAc を β1-3 結合で転移させる酵素で，いずれも ER に局在することが示唆されている．SGK196 は ATP を基質に Core M3 の Man6 位をリン酸化する活性を持つ．ところが，SGK196 は，*O*-マンノシルペプチドや GlcNAcβ1-4Man ペプチドをリン酸化基質とはせず，GTDC2 と B3GALNT2 によって作られる GalNAcβ1-3GlcNAcβ1-4Man 構造があって初めて *O*-Man をリン酸化できる．つまり，GalNAcβ1-3GlcNAcβ1-4Man 構造が SGK196 の認識モチーフになっていると推察できる．Core M3 形成に関与するいずれの遺伝子に変異が生じてもジストログリカノパチーになるため，POMT1/POMT2 複合体，GTDC2，B3GALNT2，SGK196 が順序だって酵素活性を発揮することが，ポストリン酸修飾に必要である，という秩序だった機序が成立している．この機序の発見に伴い，GTDC2 は POMGnT2，SGK は POMK と呼ぶことが提唱されている．Core M1，Core M3 いずれの異常によっても αDG のリガンド結合能が消失するため，糖鎖の生合成過程やリガンド結合状態における両者の関係に興味が持たれる．

3）　LARGE と β3GnT1

LARGE は髄膜腫で頻繁にみられる欠失領域に位置する遺伝子として報告され[25]，後に，自然発症の筋ジストロフィーマウスである *Large*^{myd} マウスの原因遺伝子[26]，次いで，先天性筋ジストロフィー（MDC）1D 型の原因遺伝子であることが明らかになった[27]．LARGE には糖転移活性中心と予想されるドメインが複数存在することや，過剰発

現によってαDGの糖鎖修飾が高度に進行し，リガンド結合活性も増強することから，その活性について長年注目されてきた[5,28]．2012年，稲森らは，LARGEにはXyl転移酵素活性とGlcA酸転移酵素活性があり，UDP-XylとUDP-GlcAを糖供与体として［-3Xylα1-3GlcAβ1-］の繰り返し構造が生成されることをついに突き止めた[14]．酵素的に合成したXyl-GlcA繰り返し構造には，ラミニン結合活性があること，また，繰り返し鎖長とリガンド結合量が相関することも示されている[29]．LARGE過剰発現の状況では，繰り返し鎖長や修飾部位が増加するため，αDGの糖鎖修飾やリガンド結合活性が増強すると推察できる．これらから，Xyl-GlcA繰り返し構造が，αDGのリガンド結合部位として機能していると考えられる．また，LARGE酵素活性のみならず，LARGEとαDGのタンパク質相互作用もαDGの機能的発現に要求される[5]．αDGのN末端球状領域はLARGEと物理的に結合するが，LARGE結合部位を欠損させたαDGは，糖鎖修飾部位が存在するにも関わらず，正常な糖鎖修飾が進行せず，リガンド結合活性も獲得できない．つまり，LARGEとの結合がαDGの糖鎖修飾に必須なイベントであり，かつ，αDGのN末端球状領域がLARGEによって認識されることが，LARGE依存の翻訳後修飾の特異性を決定していると考えられる．興味深いことに，N末端球状領域は，糖鎖修飾完了後，furin型のプロテアーゼによって切断されるため，成熟したαDGには存在しない．このプロセシングの意義は明らかになっていないが，リガンド結合に関わる糖鎖修飾部位が切断部位の直後に位置することから，リガンドと糖鎖の結合をより効率的に行うためと推察される[30]．また，LARGEはβ3-*N*-acetylglucosaminyltransferase 1（β3GnT1：遺伝子名 *B3GNT1*）と結合することも報告されている[31]．β3GnT1はi抗原（poly-*N*-acetyllactosamine）の合成に関与する糖転移酵素だが，β3GnT1/LARGE複合体がαDGの糖鎖修飾に必要であることが示唆されている．*B3GNT1* 変異もまたWWS患者に見いだされているが[32]，β3GnT1活性やβ3GnT1/LARGE複合体が，どのようにαDG糖鎖修飾に関与するかは明らかにされていない．

4） フクチンとFKRP

フクチン（fukutin：*FKTN*）はFCMD原因遺伝子として同定された[33]．その後，フクチンと相同性のある分子として *fukutin-related protein*（*FKRP*）がクローニングされ[34]，*FKRP* 遺伝子変異がMDC1Cや肢帯型筋ジストロフィー2Iの原因になることが報告された[34,35]．フクチンとFKRPはゴルジ体に局在し，αDGのポストリン酸修飾に関与することが示唆されているが[8,20]，現在のところ，両者の活性は明らかにされていない．フクチンは，細菌の多糖やコリンリン酸修飾に関わるタンパク質や，酵母多糖のマンノシルリン酸化に関わるタンパク質と相同性領域を持つこと[36]，また，フクチンとFKRPは，nucleotidyltransferase（NTase）foldスーパーファミリーに分類されることが報告されている[37]．

5） TMEM5とISPD

最近発見されたジストログリカノパチー原因遺伝子の *TMEM5* は，exostosin glycosyltransferase 1（EXT1）にみられるexostosinファミリー領域を持つ膜貫通型のタンパク質と予想される[23,38]．EXT1はヘパリン硫酸の生合成に必要な糖転移酵素であることから，TMEM5もまた糖転移酵素と考えられるが，その活性はまだ明らかにされていない．isoprenoid synthase domain containing protein（ISPD）は4-diphosphocitidyl-2*C*-methyl-D-erythritol（CDP-ME）synthaseファミリーに属し，*ISPD* 遺伝子変異がWWS患者において同定されている[39,40]．大腸菌Ispdは，イソプレノイド前駆体の合成に関するメチルエリスリトールリン酸（methylerythritol phosphate：MEP）経路に関わるが，哺乳類にMEP経路は存在せず，ヒトにおけるISPDの機能，特にαDG糖鎖修飾にどのように関与しているかは不明である．ISPDがPOMT依存の*O*-マンノシル化に関与しているとの説や，αDGの糖鎖修飾に必要な新規の糖ヌクレオチドの生合成に関わるとの推察もある[39,40]．

6） ドリコールリン酸マンノース合成関連分子

ドリコールリン酸マンノース（dolichol-phosphate mannose：Dol-P-Man）は，小胞体での*N*型糖鎖修飾，*O*型糖鎖修飾，グリコシルホスファチジルイノシトールアンカー（GPI）などの生合成に関わるマンノシル化の供与体で，DPM合成複合体によって，GDP-Manとドリコールリン酸から合成される．DPM合成複合体は，触媒酵素のDPM1と，ER局在型膜タンパクのDPM2とDPM3からなる．先にも述べたように，Dol-P-Manは，POMT複合体が担うαDGの*O*-マンノシル化の糖供与体であるが，ジストログリカノパチー症状と先天性糖鎖異常症（congenital disorders of glycosylation：CDG）I型を合併する症例において，*DPM1*，*DPM2*，*DPM3* の遺伝子変異が同定されている[41~43]．CDGは*N*型糖鎖修飾経路の異常を伴った希少疾患群と定義されていたが，最近では，*O*型糖鎖や糖脂質合成経路の異常も含まれる[44]．DPM合成複合体の変異以外にも，ドリコールリン酸生成に関与するドリコールキナーゼ（*DOLK*）変異も拡張型心筋症とCDGを合併した患者から同定されており，患者心筋でのαDG糖鎖異常が認められている[45]．また，GDP-mannose pyrophosphorylase Bをコードする *GMPPB* 遺伝子の変異もジストログリカノパチー患者において同定されている[46]．GMPPBは，GTPとMan1リン酸からGDP-Manを合成する酵素で，GDP-Manは*N*型糖鎖やDol-P-Manの生合成に用いられる．GMPPB変異によって，GDP-Manの合成量が減少し，結果としてDol-P-Man量も低下すると推察される．以上のように，本節で紹介した遺伝子変異を原因とする疾患では，Dol-P-Man合成経路の異常によって，αDGの*O*-マンノシル化に影響が及んだものと考えられる．しかし，Dol-P-Man合成

障害は，αDG 以外の *O*-マンノシル化や *N* 型糖鎖修飾，GPI アンカーの形成などにも影響するはずである．実際，DPM 変異患者は *N* 型糖鎖修飾異常もあわせ持つ．一方で，GMPPB 変異患者では *N* 型糖鎖異常を認めないケースもある．このケースのように Dol-P-Man 合成経路の異常が，αDG の *O*-マンノシル化に選択的に作用する原因は不明だが，*O*-マンノシル化経路と *N* 型糖鎖修飾経路の競合や共通基質の選択性・親和性の違いなどが原因かもしれない．Dol-P-Man 合成経路に関する遺伝子変異は，αDG 以外の修飾にも影響が及ぶため，ジストログリカノパチーの原因と定義できるかについては議論の余地が残されている．

3. ジストログリカンのリガンド分子

αDG のリガンドとしては，ラミニン[6,47~49]，アグリン[50,51]，パールカン[52]，ニューレキシン[53]，ピカチュリン[54]，Slit[55]が知られている．いずれもラミニン G（LG）ドメインを含む構造を持ち，LG ドメインを介して αDG と結合する．また，αDG の *O*-Man 型糖鎖とポストリン酸構造はリガンド結合活性に必要であるため，ジストログリカノパチーの組織や細胞では，αDG のリガンド結合活性が劇的に低下している．

ラミニンは基底膜を構成する主要な細胞外マトリクス分子で，α 鎖，β 鎖，γ 鎖の三つのサブユニットからなる[56]．それぞれのサブユニットには複数のアイソフォーム（α 鎖五つ，β 鎖三つ，γ 鎖三つ）があり，α/β/γ の組み合わせによって多様なラミニン種が存在する．現在 15 種以上のラミニン分子が知られているが，組織や細胞によって発現するラミニン分子は異なる．たとえば，骨格筋では，ラミニン 211（α2/β1/γ1）が主に発現しており，筋細胞の構造的支持体となる基底膜を形成している． ラミニン α 鎖は，基底膜と細胞表面のラミニン受容体を結ぶ機能を担っており，中でもラミニン α2 と αDG の結合は，骨格筋の基底膜と細胞膜を連携する主要な役割を担っている．また，ラミニン α2 遺伝子の変異が MDC1A の原因になることからも，ラミニン–DG 結合の重要性がうかがえる[57]．ラミニン α 鎖には五つの LG ドメインがあり，細胞接着部位（ラミニン受容体結合部位）として機能している．αDG との結合には，4 番目と 5 番目の LG ドメイン（LG4-LG5）が関与しているが，α2 鎖に限り LG1-LG3 でも結合しうる．αDG との結合親和性は各ラミニン α 鎖間で異なる．たとえば，α1 や α2 の結合親和性は，α4 や α5 に比べ二桁ほど高いことが知られている．

アグリンはヘパラン硫酸プロテオグリカンで，DG との結合は神経筋接合部の構造的な維持や安定性に重要とされている[58]．アグリンの C 末端部分に存在する三つの LG ドメインのうち，LG2 が αDG との結合部位とされているが，LG2-LG3 タンデムになることで，αDG との結合はより増強する．パールカンもまた基底膜を構成する主要なヘパラン硫酸プロテオグリカンの一つである．パールカンにも LG ドメインが三つ存在し，最初の二つが αDG との結合に必要とされる．パールカンは，ラミニンなどほかのリガンドに比べ，αDG に高い結合親和性を示すことから，パールカンと αDG の結合は何らかの特異的な役割を担っている可能性が考えられる[47]．

ニューレキシンは神経組織に発現する膜貫通型の分子で，α と β の 2 種類のニューレキシンがあるが，いずれも αDG と結合する．ニューレキシンと αDG の結合の生理的意義は解明されていないが，ニューレキシンがプレシナプスに発現する細胞接着分子であること，そして DG がポストシナプスに発現していることから[59]，シナプスの形成や維持に関与している可能性がある．ピカチュリンは網膜光受容体のリボンシナプスに発現する分子で，C 末端に三つの LG ドメインを持つが，LG2-LG3 のタンデム構造が αDG との結合に必要とされる．ピカチュリン欠損マウスや αDG 糖鎖異常マウスを用いた研究から，ピカチュリンと αDG の結合は，網膜シナプスの構造，信号伝達，視覚機能の維持に重要な役割を担っていることが明らかになっている[54,60]．Slit は軸策伸長を反発する効果を持つ軸索誘導因子で，その膜型受容体としては Robo が有名である．Slit は C 末端に一つ存在する LG ドメインを介して αDG と結合するが，この結合が Slit の正常な局在に必要とされる．このことから，DG が軸索誘導の制御に関わるという新たな可能性が示唆される[55]．

αDG とリガンドの結合はカルシウム依存的であり，LG ドメインには Ca^{2+} を配位するアミノ酸残基が保存されている[61,62]．リガンド分子の多くは複数の LG ドメインを持つが，個々の LG ドメインが単独で存在する場合に比べ，LG ドメインがタンデムになることで，αDG への結合親和性が増加することが多い．LG ドメインがタンデムになることで複数の Ca^{2+} 結合部位が生まれ，負電荷性のポストリン酸糖鎖とより効率的に結合できると考えられる．αDG とリガンドの結合がカルシウム依存的であることは各リガンド間で共通しているが，NaCl やヘパリンによる結合阻害の様式は各リガンドによってさまざまな相違がある．また，ラミニンとパールカン，ラミニンとピカチュリンなど，各リガンドの LG ドメインどうしは，αDG 結合に対して競合することが知られている．一方で，ラミニンとパールカンを例にすると，これらの分子は，LG ドメイン以外の部位を介して互いに結合できる．生体に近い環境では，それぞれのリガンドが競合するというよりはむしろ，αDG との結合を細胞表面上へのイニシャルの足がかり（支点）として，その支点上に複数のマトリクス分子が集積していくことで，マトリクスネットワークが形成されるとする receptor-facilitated laminin network model が受け入れられている[56]．

DG はほとんどすべての組織で発現しているが，糖鎖修飾パターンは組織や細胞によって異なる[20]．このような糖鎖修飾パターンの違いがリガンド選択性に関与する可能性

が考えられる．たとえば，Xyl-GlcA の繰り返し鎖長がリガンド結合量に関係することが明らかになった一方で[29]，正常組織であってもポストリン酸糖鎖がまったく修飾されない組織（精巣）や，その量がきわめて少ない組織（肺）もある[20]．つまり，αDG 糖鎖修飾パターン，リガンド分子の細胞表面での局在・濃度，DG 親和性や結合量などの要素によって，リガンド–DG 結合に多様な生理機能が生み出されると推察される[63]．

ところで，αDG はリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）やラッサ熱ウイルス（LASV）などのアレナウイルスの細胞受容体であり，これらのウイルスの細胞侵入経路にもなる[64~66]．LG ドメインを持つリガンド分子の場合と同様に，*O*-Man 型糖鎖修飾と LARGE 依存の修飾がウイルスとの結合に必要とされる．また，αDG のウイルス結合部位も，LG ドメイン含有リガンド分子の結合部位と部分的に重なっている．ウイルスエンベロープの糖タンパク質 GP1 が αDG との結合に関わるとされているが，カルシウム非依存的な結合など，LG ドメイン含有リガンド分子との結合様式とは若干の違いがある．

4. 糖鎖異常と筋ジストロフィー（ジストログリカノパチー）

筋ジストロフィーは骨格筋の壊死・変性を主病変とし，進行性の筋力低下を認める遺伝性疾患の総称で，現在のところ 40 種以上の原因遺伝子が知られている[67]．1980 年代後半に，ジストロフィンの変異がデュシェンヌ型筋ジストロフィーの原因になることが発見され，その後，DGC 成分のサルコグリカン，DG 結合リガンドのラミニン α2 鎖の変異がさまざまなタイプの筋ジストロフィーの原因になることも明らかになり，DGC と筋ジストロフィーの関連が確立されていった．その一方で，DGC の中核的成分である DG 自体の変異による筋ジストロフィーは見いだされていなかった．DG の生理機能がさまざまな組織や発生過程において重要であるため，その変異は胎生致死に至ると考えられていた（後述するが，現在では，DG 遺伝子変異の筋ジストロフィー症例が報告されている）．ところが，2001 年，林らは FCMD 患者において，糖鎖修飾型 αDG を認識する IIH6 抗体の反応性が著減していることを報告し[9]，翌年，Campbell らのグループが，FCMD，WWS，MEB 病患者では αDG に糖鎖異常が生じており，その結果，リガンド結合能が消失していることを実証した[10]．これらの報告から，ほかの筋ジストロフィー原因遺伝子産物とは異なり，DG は糖鎖修飾不全に起因する機能異常によって筋ジストロフィー発症に関連することが明らかになった．さらに，これらの報告に続いて，αDG の糖鎖異常を認める先天型や肢帯型筋ジストロフィー患者に *FKRP* 変異や *LARGE* 変異が見いだされた[27, 34, 35]．このようにして，糖鎖と筋ジストロフィーの関係が明らかになり，αDG の糖鎖異常を発症要因とする筋ジストロフィー（ジストログリカノパチー）という新しい疾患概念が確立されたのである[11, 12]．現在のところ 15 種類程度の遺伝子がジストログリカノパチー原因遺伝子として知られている．そのほとんどは αDG の糖鎖修飾に関与するが，先述のように DG 遺伝子（*DAG1*）の変異による症例も報告されている[68]．この症例で報告された *DAG1* 遺伝子のミスセンス変異は，αDG の N 末端球状領域内に存在しており，変異によって αDG の LARGE 結合活性が低下し，正常な Xyl-GlcA 繰り返し構造の修飾が進行しないため発症に至ると考えられる．

FCMD，WWS，MEB の臨床的特徴として，重篤な先天性筋ジストロフィーに加え，眼や中枢神経の病変を伴うことがあげられる．ただし，原因遺伝子が同一であっても臨床像に大きな広がりがあることが，ジストログリカノパチーの遺伝子型–表現型の相関研究から明らかになっている[69, 70]．最重篤型では，重度の先天性筋ジストロフィーに加え，脳奇形や眼異常を伴い，乳児期初期で致死に至る．最軽症型では，脳・眼異常を伴わない成年発症の肢帯型筋ジストロフィーにとどまる．2007 年，Muntoni らはジストログリカノパチー病型を重篤度に応じて 7 種に分類することを提唱し[69]，また，最新の Online Mendelian Inheritance in Man（OMIM）では，簡素化した 3 種の臨床像と原因遺伝子種の組み合わせによって区分されている．なお，いまだに原因遺伝子が同定されていないジストログリカノパチー症例も数多く存在しており，今後，新しい疾患遺伝子がさらに発見されると予想される．

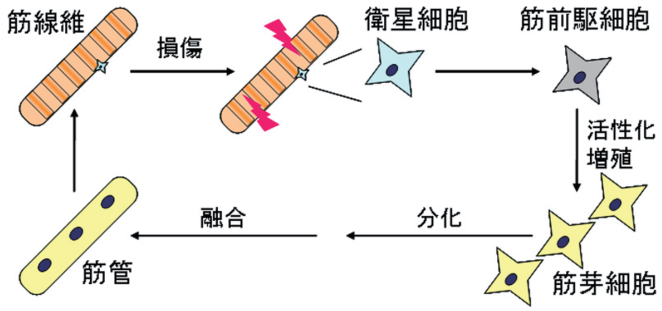
FCMD は 1960 年福山らによって発見，疾患として確立された常染色体劣性遺伝疾患で，本邦の小児期筋ジストロフィーの中ではデュシェンヌ型に次いで多くみられる[71]．日本人の約 90 人に 1 人が保因者で，発症頻度は 10 万人あたり 3 人ほどと推定される．本症は先天性筋ジストロフィーに加え，大脳と小脳に多小脳回を基本とする高度の脳奇形（Ⅱ型滑脳症）と重度の精神発達遅滞を認める[72]．また，近視，白内障，視神経低形成，網膜異形成などの眼症状も伴う．ほとんどの患者は生涯にわたり歩行能力を獲得できず，平均寿命は 20 歳くらいである．FCMD 患者で最も多くみられる変異は，フクチン遺伝子 3′ 非翻訳領域内への SINE-VNTR-*Alu*（SVA）レトロトランスポゾン挿入変異で，この変異は FCMD 染色体の約 90% を占める[33]．挿入変異以外にも，フレームシフト，ノンセンス・ミスセンス変異も国内外から報告されている．SVA 挿入変異内には強力なスプライシング受容部位が存在しており，フクチン遺伝子のエクソン 10 内にある潜在的なスプライシング供与部位が活性化されることで，異常スプライシングが生じる[73]．その結果，フクチンの C 末端 38 残基が欠損し，代わりに SVA 配列由来の 129 残基が付加された異常フクチンが産出される．正常フクチンはゴルジ体に局在するが，この異常フクチンは ER に局在する．局在異常や C 末端配列の変化によって，フクチンが正常に機能せず，αDG の糖鎖修飾異常に至ると考えられる．また，

いくつかの点変異はフクチンのフォールディング異常を引き起こすが，その結果，フクチンの局在がゴルジ体からERに変化し，αDGの糖鎖修飾異常が生じることも示唆されている[74]．

5. ジストログリカン糖鎖の生理的役割と病態への関与

ジストログリカノパチーでは，糖鎖不全によってαDGのリガンド結合能が低下しているため，基底膜と細胞骨格の連携が弱化していると考えられる．実際，骨格筋選択的なDG欠損マウスや，αDGの糖鎖異常を認める*Large*変異*Large*^{myd}マウスの骨格筋において，基底膜–細胞膜構造の異常（基底膜の遊離）がみられる[75]．このような構造異常を伴った筋細胞は，収縮弛緩に伴う機械的負荷に耐えられず，細胞膜が障害を受け，筋壊死に至ると推察される．つまり，αDGの糖鎖不全とリガンド結合能の低下が，筋細胞膜の脆弱化を引き起こしていると考えられる．我々はαDGの糖鎖不全を示す筋線維選択的フクチンコンディショナルノックアウト（MCK-fukutin-cKO）マウスを用いて，細胞膜の脆弱化が病態に先行して生じていることを明らかにしたが，これは膜脆弱化が発症の引き金になることの証拠といえる[76]．ただし，MCK-fukutin-cKOマウスの病態は軽症で，細胞膜の脆弱性だけではジストログリカノパチーの重篤な筋病態を説明できない．骨格筋は損傷すると，衛星細胞と呼ばれる骨格筋内在の幹細胞が活性化し，筋前駆細胞（muscle precursor cell：MPC），筋芽細胞，最終的には筋管へと分化することで再生する（**図3**）．MCK-fukutin-cKOマウスにおいて，筋線維ではフクチンが欠損しているものの，筋再生に関与する衛星細胞や筋前駆細胞では，フクチンが正常に発現していると考えられる．このことが，MCK-fukutin-cKOマウスが軽症にとどまる理由と考えられた．そこで我々は，フクチン依存的な修飾を受けたαDGが筋再生プロセスに重要な役割を担っており，その異常が病態の重篤度に関与すると考え，筋前駆細胞からフクチンを欠損するMyf5-fukutin-cKOマウスを作出した．予想どおり，MCK-fukutin-cKOマウスとは異なり，Myf5-fukutin-cKOマウスは，結合織の侵潤や著しい筋力低下などの重篤な筋ジストロフィー病変を示した[76]．また，Myf5-fukutin-cKOマウスの骨格筋から単離した筋前駆細胞は，増殖・分化活性が低下していることがわかった．組織レベルにおいても，衛星細胞数や筋再生能が低下しており，さらに，これらの異常は病態が進行するにつれて増悪していた[76]．つまり，フクチン依存的に修飾されるαDGの糖鎖は，衛星細胞や筋前駆細胞の生存能や活性，ひいては筋再生力の維持に重要な役割を担っており，その異常が重篤な病態に関与していることが示唆される．また，出生後や発育期の筋形成・成熟過程における糖鎖異常が，その後の筋病態に多大な影響を及ぼす可能性も示唆されている[77]．さらに，FCMD患者や*Large*^{myd}マウスでは，神経筋接合部の形態異常が生じており，未成熟な筋線維も多く存在する[78]．異常な神経筋接合部由来の筋分化シグナル不全や，筋線維の成熟障害もジストログリカノパチー病態に関与していると考えられる．このように，従来から考えられてきた筋細胞膜の脆弱性に加え，筋形成や再生などのプロセスもまた病態に関与することが明らかになってきた（図3）．

一方，多小脳回を基本とする脳奇形の発生においても，αDGの糖鎖異常が病態の中心と考えられる．通常，大脳皮質の表面はグリア境界膜–基底膜複合体によって覆われており，神経細胞が露出することはない．ところが，FCMD患者やジストログリカノパチーモデルでは，脳表基底膜の連続性が破綻しており，その破綻箇所からクモ膜下腔へ神経細胞の迷出が認められる[10, 79, 80]．このような異常が皮質形成障害やⅡ型滑脳症の発生要因と推察されている．しかし，αDGの糖鎖不全がどのようにグリア境界膜–基底膜複合体の破綻を引き起こすか，その詳細なメカニズムは完全には理解されていない．フクチン欠損キメラマウスの胎仔脳では，胎生初期には脳病変や基底膜の異常が認められないが，胎生後期にかけて，脳表基底膜の破綻が顕著になり，神経細胞のクモ膜下腔への迷出が観察されるようになる[81]．αDGは放射状グリアにも発現しており，グ



フクチンcKOマウス	フクチン欠損細胞	表現型	病因
MCK-fukutin-cKO	筋管	軽症	細胞膜の脆弱化（発症の引き金）
Myf5-fukutin-cKO	筋前駆細胞、筋管	重篤	筋前駆細胞機能低下、筋再生不良

図3 骨格筋におけるフクチンの病態生理的意義
骨格筋再生の概要図と，フクチンcKOマウスの表現型と病因．

リア境界膜と基底膜の連携に関与していると考えられるが[80,82]，胎仔脳の成長に伴う脳表の拡張に対して，糖鎖異常型αDGではグリア境界膜–基底膜複合体の物理的強度や可塑性を維持することができず，基底膜が破綻してしまうのかもしれない．また，神経細胞選択的なDG欠損マウス（NEX-DG-cKO）や*Large*^{myd}マウスでは，海馬CA3-CA1シナプスの長期増強が低下している[83]．DGはポストシナプスにも発現しているが[59]，DG機能障害に起因するシナプス可塑性障害のメカニズムについて今後の展開に興味が持たれる．最後に，αDGの糖鎖が腫瘍悪性度に関与する可能性を紹介しておく[31,84,85]．悪性の前立腺がん細胞や乳がん細胞では，αDGのラミニン結合活性が低下していることが知られており，Xyl-GlcA繰り返し構造が腫瘍抑性作用を持つ可能性が示唆されている[31]．

6. ジストログリカノパチー治療戦略

相次ぐ疾患遺伝子の発見や病態の解明が進んできたにも関わらず，ジストログリカノパチーに有効な治療法はいまだに存在しない．国際的にも，ジストログリカノパチーと診断される患者数も増えており，治療法の開発が強く望まれている．米国では，Cure CMD（http://curecmd.org/）やLGMD2i Fund（http://www.lgmd2ifund.org/）などの団体が，ジストログリカノパチーの克服を目指し，情報交換・交流等の活動拠点になっている．

ジストログリカノパチーの病態解明や治療法開発について，疾患モデルを用いた研究が主流であり，我々も，ジストログリカノパチー疾患モデルとしてさまざまなフクチン変異マウスを作出してきた．フクチン遺伝子を破壊した全身性のフクチン欠損マウス（*fukutin* KO）は胎生致死であり[86]，フクチン欠損キメラマウスは個体や組織ごとにキメラ率が異なるため，表現型にばらつきが生じる[87]．フクチン依存的に修飾されるαDG糖鎖の生物学的な重要性は証明されたものの，これらは治療研究に用いるモデルとして有効ではなかった．そこで我々は，FCMD患者でみられるレトロトランスポゾン挿入変異を持つノックインマウス（フクチンKI：*fukutin*$^{Hp/Hp}$，*fukutin*$^{Hp/-}$）や，前出のフクチンcKOマウスを作出することにした．フクチンKIマウスにおいては，αDGの糖鎖異常が認められたものの，筋ジストロフィー症状は認められなかった[88]．この理由として，フクチンKIマウスの骨格筋では，正常糖鎖型のαDGがわずかながら残存しており，ラミニン結合能も維持されているため，発症に至らなかったと考えられる．この結果からジストログリカノパチー治療を考えるに，糖鎖異常を完全に解消する必要はなく，部分的にでも回復できれば治療効果が得られるとの予測が成立する．

さて，フクチンcKOマウスやKIマウスを用いた研究から明らかになった発症機序を考慮すると，治療戦略としては，①発症の引き金になる筋細胞膜の脆弱化を抑制すること，②筋前駆細胞の量的・質的な枯渇を抑制すること，が

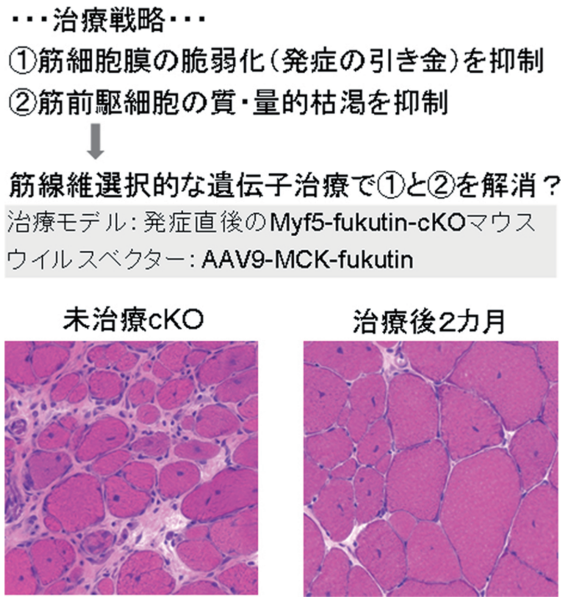


図4 フクチンcKOマウスの遺伝子治療
フクチン欠損マウスから得られた情報をもとにした治療戦略．発症直後に遺伝子治療を行った筋前駆細胞フクチンcKOマウスと未治療cKOマウスの組織病理像を示した．治療群では筋ジストロフィー病変が軽症化している．

有効と考えられる（**図4**）[76]．ただし，筋細胞膜の脆弱化を抑制できれば，筋壊死/再生の頻発のみならず，その結果生じると予想される筋前駆細胞の質的・量的な枯渇も結果的に抑制できる．したがって，仮に筋前駆細胞に異常があったとしても治療効果が得られると期待できる．そこで我々は，筋線維選択的にフクチン遺伝子を発現させることで，Myf5-fukutin-cKOマウスに治療効果がもたらされるか検証することにした．Myf5-fukutin-cKOマウスは，筋前駆細胞と筋再生の異常に加え，筋細胞膜の脆弱化を認める重篤型の疾患モデルである．まず，筋線維選択的にフクチン遺伝子を発現させるために，筋線維選択的なMCKプロモーターの下流にフクチンcDNAを配したアデノ随伴ウイルスベクター（AAV9-MCK-fukutin）を設計した．治療モデルとしては，発症直後の若いMyf5-fukutin-cKOマウスを用い，尾静脈からの全身性の遺伝子導入を行った（図4）．その結果，遺伝子導入後2か月で，劇的に病態が改善され，さらに，筋力を野生型と同等のレベルにまで改善することに成功した[76]．また，フクチン遺伝子治療の場合，構造タンパク質異常を病因とするほかの病型の筋ジストロフィーモデルへの遺伝子治療と比べ，1/10～1/100程度のベクター量で治療効果が得られている．ジストログリカノパチー遺伝子の多くは酵素をコードしているため，少量の遺伝子導入でも十分な治療効果が得られると推察される．少量の投与量で治療効果が得られるということは，遺伝子ベクターによる副作用の可能性を軽減する上でも非常に重要である．また，我々のモデル研究から，筋ジストロフィー発症後の介入であっても治療効果が得られたことから，遺伝子治療はジストログリカノパチー全体に有効な治療法と考えられる．一方で，αDGの糖鎖修飾様式は筋形

成や再生の過程で変化するため，αDG の糖鎖修飾に関与する遺伝子（ジストログリカノパチー遺伝子）の発現や遺伝子産物の活性も厳密に制御されている可能性が高い．遺伝子治療の場合は，介入時期に加え，治療標的細胞や遺伝子発現プロモーターについても考慮する必要がある．我々の報告とほぼ時を同じくして，FKRP 変異マウスへの AAV 遺伝子治療例も報告されており[89]，今後，遺伝子治療の可能性について議論が高まることを期待したい．

LARGE を過剰発現すると，正常糖鎖型 αDG にのみならず，フクチン変異や POMGnT1 変異の細胞に由来する糖鎖異常型 αDG にも，ラミニン結合性の糖鎖が新たに修飾されることが知られている[28]．つまり，LARGE には，糖鎖異常が発生している細胞や組織において，その糖鎖異常の原因となる変異遺伝子の種によらず，機能的な αDG を生み出せるというユニークな特性があると考えられる．そして，この特性に基づき，DG-リガンド結合の増強やバイパスを狙った，LARGE 過剰発現による糖鎖治療の概念が提唱された．現在のところ，ウイルスベクターを用いた *LARGE* 遺伝子導入によって POMGnT1 欠損マウスの運動機能が向上したとの報告はあるが[90]，一方で，LARGE 過剰発現トランスジェニックマウスとの掛けあわせによって FKRP 変異マウスや MCK-fukutin-cKO マウスの病態が悪化したとの報告もある[91, 92]．常時過剰に増強された糖鎖が，筋再生力を低下させ，筋ジストロフィー病態に負の影響をもたらす可能性が考えられている[29, 92]．また，LARGE による糖鎖増強は，すべての病型のジストログリカノパチーで生じるわけではなく，αDG のマンノシルリン酸化が必要であることも明らかになってきた[40, 93]．LARGE 特性を応用した治療戦略については，治療標的細胞や発現方法などに工夫する必要があり，今後の詳細な検討が待たれる．

最後に，FCMD の発症分子機序に基づいた新たなアンチセンス療法（エクソントラップ阻害療法）を紹介する[73]．先にも紹介したように，ほとんどの FCMD 患者がレトロトランスポゾン挿入変異を持つが，この挿入変異の中には強力なスプライシング受容部位が存在し，タンパク質をコードする最終エクソン内の潜在的なスプライシング供与部位を活性化させることで（エクソントラッピング），フクチンのスプライシング異常が発生する．異常スプライシングに関与する配列（スプライシング受容部位，スプライシングエンハンサー領域）に対するアンチセンス核酸を患者由来細胞や挿入変異ノックインマウスに投与したところ，スプライシング異常が是正され，機能的なフクチンタンパク質が発現し，αDG の糖鎖修飾とラミニン結合活性を正常に戻せることがわかった．この治療法は国内におけるほぼ全例の FCMD 患者を対象に同一の方法で行えるため，根本的分子標的治療として有望であり，今後の臨床試験の実現が期待される．

7. おわりに

ジストログリカノパチーという疾患概念が確立されてから 10 年余が経つ．その間，新規疾患遺伝子やその機能，分子・細胞病態，αDG の糖鎖構造や修飾機序が続々と明らかになった．ポストリン酸構造の全容や，未知のジストログリカノパチー遺伝子の同定などが今後の課題として残されているものの，その解明によって，新たなブレイクスルーがもたらされることは想像にかたくない．また，アンチセンス核酸を用いた分子標的治療や遺伝子治療が有効であることが示され，トランスレーショナルリサーチへの期待も高まっている．この 10 年余を振り返ると，生化学を基盤にした研究が筋ジストロフィーの理解に多大な貢献を果たしていることに気づく．加えて，臨床遺伝学研究や病理学研究など実に多様な研究分野と融合することで，重要な生物学・医学的発見がもたらされている．今後も，生化学的な切り口を基盤にしつつもさまざまな角度から，ジストログリカノパチーの克服に貢献することを目指していきたい．

謝辞

本稿で紹介した研究の多くは，筆者が現在所属している戸田達史先生の研究室，および，留学先の Kevin Campbell 先生の研究室で行われたものです．その間，懇切なるご指導を賜りました戸田達史先生と Kevin Campbell 先生に深謝いたします．また，研究者としての基礎をご指導いただきました，谷口和弥先生に感謝申し上げます．また，長年にわたりご指導いただいております遠藤玉夫先生，和田芳直先生をはじめ，多くの共同研究者の先生，日々研究をともに行っている教室員の皆様に深く感謝申し上げます．

文　献

1）Ervasti, J.M., Ohlendieck, K., Kahl, S.D., Gaver, M.G., & Campbell, K.P.（1990）*Nature*, **345**, 315–319.
2）Barresi, R. & Campbell, K.P.（2006）*J. Cell Sci*., **119**, 199–207.
3）Ibraghimov-Beskrovnaya, O., Ervasti, J.M., Leveille, C.J., Slaughter, C.A., Sernett, S.W., & Campbell, K.P.（1992）*Nature*, **355**, 696–702.
4）Moore, C.J. & Winder, S.J.（2012）*Neuromuscul. Disord*., **22**, 959–965.
5）Kanagawa, M., Saito, F., Kunz, S., Yoshida-Moriguchi, T., Barresi, R., Kobayashi, Y.M., Muschler, J., Dumanski, J.P., Michele, D.E., Oldstone, M.B., & Campbell, K.P.（2004）*Cell*, **117**, 953–964.
6）Ervasti, J.M. & Campbell, K.P.（1993）*J. Cell Biol*., **122**, 809–823.
7）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.
8）Yoshida-Moriguchi, T., Yu, L., Stalnaker, S.H., Davis, S., Kunz, S., Madson, M., Oldstone, M.B., Schachter, H., Wells, L., & Campbell, K.P.（2010）*Science*, **327**, 88–92.
9）Hayashi, Y.K., Ogawa, M., Tagawa, K., Noguchi, S., Ishihara,

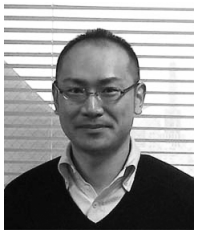
T., Nonaka, I., & Arahata, K.（2001）*Neurology*, **57**, 115–121.
10）Michele, D.E., Barresi, R., Kanagawa, M., Saito, F., Cohn, R. D., Satz, J.S., Dollar, J., Nishino, I., Kelley, R.I., Somer, H., Straub, V., Mathews, K.D., Moore, S.A., & Campbell, K.P.（2002）*Nature*, **418**, 417–422.
11）Toda, T., Kobayashi, K., Takeda, S., Sasaki, J., Kurahashi, H., Kano, H., Tachikawa, M., Wang, F., Nagai, Y., Taniguchi, K., Taniguchi, M., Sunada, Y., Terashima, T., Endo, T., & Matsumura, K.（2003）*Congenit. Anom.*（*Kyoto*）, **43**, 97–104.
12）Michele, D.E. & Campbell, K.P.（2003）*J. Biol. Chem.*, **278**, 15457–15460.
13）Inamori, K., Endo, T., Gu, J., Matsuo, I., Ito, Y., Fujii, S., Iwasaki, H., Narimatsu, H., Miyoshi, E., Honke, K., & Taniguchi, N.（2004）*J. Biol. Chem.*, **279**, 2337–2340.
14）Inamori, K., Yoshida-Moriguchi, T., Hara, Y., Anderson, M.E., Yu, L., & Campbell, K.P.（2012）*Science*, **335**, 93–96.
15）Beltrán-Valero de Bernabé, 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.
16）van Reeuwijk, J., Janssen, M., van den Elzen, C., Beltran-Valero de Bernabé, 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.
17）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.
18）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.
19）Combs, A.C. & Ervasti, J.M.（2005）*Biochem. J.*, **390**, 303–309.
20）Kuga, A., Kanagawa, M., Sudo, A., Chan, Y.M., Tajiri, M., Manya, H., Kikkawa, Y., Nomizu, M., Kobayashi, K., Endo, T., Lu, Q.L., Wada, Y., & Toda, T.（2012）*J. Biol. Chem.*, **287**, 9560–9567.
21）Manzini, M.C., Tambunan, D.E., Hill, R.S., Yu, T.W., Maynard, T.M., Heinzen, E.L., Shianna, K.V., Stevens, C.R., Partlow, J.N., Barry, B.J., Rodriguez, J., Gupta, V.A., Al-Qudah, A.K., Eyaid, W.M., Friedman, J.M., Salih, M.A., Clark, R., Moroni, I., Mora, M., Beggs, A.H., Gabriel, S.B., & Walsh, C. A.（2012）*Am. J. Hum. Genet.*, **91**, 541–547.
22）Stevens, E., Carss, K.J., Cirak, S., Foley, A.R., Torelli, S., Willer, T., Tambunan, D.E., Yau, S., Brodd, L., Sewry, C.A., Feng, L., Haliloglu, G., Orhan, D., Dobyns, W.B., Enns, G.M., Manning, M., Krause, A., Salih, M.A., Walsh, C.A., Hurles, M., Campbell, K.P., Manzini, M.C.; UK10K Consortium, Stemple, D., Lin, Y.Y., & Muntoni, F.（2013）*Am. J. Hum. Genet.*, **92**, 354–365.
23）Jae, L.T., Raaben, M., Riemersma, M., van Beusekom, E., Blomen, V.A., Velds, A., Kerkhoven, R.M., Carette, J.E., Topaloglu, H., Meinecke, P., Wessels, M.W., Lefeber, D.J., Whelan, S.P., van Bokhoven, H., & Brummelkamp, T.R.（2013）*Science*, **340**, 479–483.
24）Yoshida-Moriguchi, T., Willer, T., Anderson, M.E., Venzke, D., Whyte, T., Muntoni, F., Lee, H., Nelson, S.F., Yu, L., & Campbell, K.P.（2013）*Science*, **341**, 896–899.
25）Peyrard, M., Seroussi, E., Sandberg-Nordqvist, A.C., Xie, Y.G., Han, F.Y., Fransson, I., Collins, J., Dunham, I., Kost-Alimova, M., Imreh, S., & Dumanski, J.P.（1999）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**, 598–603.
26）Grewal, P.K., Holzfeind, P.J., Bittner, R.E., & Hewitt, J.E.（2001）*Nat. Genet.*, **28**, 151–154.
27）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.
28）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.
29）Goddeeris, M.M., Wu, B., Venzke, D., Yoshida-Moriguchi, T., Saito, F., Matsumura, K., Moore, S.A., & Campbell, K.P.（2013）*Nature*, **503**, 136–140.
30）Hara, Y., Kanagawa, M., Kunz, S., Yoshida-Moriguchi, T., Satz, J.S., Kobayashi, Y.M., Zhu, Z., Burden, S.J., Oldstone, M.B., & Campbell, K.P.（2011）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **108**, 17426–17431.
31）Bao, X., Kobayashi, M., Hatakeyama, S., Angata, K., Gullberg, D., Nakayama, J., Fukuda, M.N., & Fukuda, M.（2009）*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 12109–12114.
32）Buysse, K., Riemersma, M., Powell, G., van Reeuwijk, J., Chitayat, D., Roscioli, T., Kamsteeg, E.J., van den Elzen, C., van Beusekom, E., Blaser, S., Babul-Hirji, R., Halliday, W., Wright, G.J., Stemple, D.L., Lin, Y.Y., Lefeber, D.J., & van Bokhoven, H.（2013）*Hum. Mol. Genet.*, **22**, 1746–1754.
33）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.
34）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.
35）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.
36）Aravind, L. & Koonin, E.V.（1999）*Curr. Biol.*, **9**, R836–837.
37）Kuchta, K., Knizewski, L., Wyrwicz, L.S., Rychlewski, L., & Ginalski, K.（2009）*Nucleic Acids Res.*, **37**, 7701–7714.
38）Vuillaumier-Barrot, S., Bouchet-Séraphin, C., Chelbi, M., Devisme, L., Quentin, S., Gazal, S., Laquerrière, A., Fallet-Bianco, C., Loget, P., Odent, S., Carles, D., Bazin, A., Aziza, J., Clemenson, A., Guimiot, F., Bonnière, M., Monnot, S., Bole-Feysot, C., Bernard, J.P., Loeuillet, L., Gonzales, M., Socha, K., Grandchamp, B., Attié-Bitach, T., Encha-Razavi, F., & Seta, N.（2012）*Am. J. Hum. Genet.*, **91**, 1135–1143.
39）Roscioli, T., Kamsteeg, E.J., Buysse, K., Maystadt, I., van Reeuwijk, J., van den Elzen, C., van Beusekom, E., Riemersma, M., Pfundt, R., Vissers, L.E., Schraders, M., Altunoglu, U., Buckley, M.F., Brunner, H.G., Grisart, B., Zhou, H., Veltman, J.A., Gilissen, C., Mancini, G.M., Delrée, P., Willemsen, M.A., Ramadža, D.P., Chitayat, D., Bennett, C., Sheridan, E., Peeters, E.A., Tan-Sindhunata, G.M., de Die-Smulders, C. E., Devriendt, K., Kayserili, H., El-Hashash, O.A., Stemple, D. L., Lefeber, D.J., Lin, Y.Y., & van Bokhoven, H.（2012）*Nat. Genet.*, **44**, 581–585.
40）Willer, T., Lee, H., Lommel, M., Yoshida-Moriguchi, T., de Bernabe, D.B., Venzke, D., Cirak, S., Schachter, H., Vajsar, J., Voit, T., Muntoni, F., Loder, A.S., Dobyns, W.B., Winder, T. L., Strahl, S., Mathews, K.D., Nelson, S.F., Moore, S.A., & Campbell, K.P.（2012）*Nat. Genet.*, **44**, 575–580.
41）Yang, A.C., Ng, B.G., Moore, S.A., Rush, J., Waechter, C.J.,

Raymond, K.M., Willer, T., Campbell, K.P., Freeze, H.H., & Mehta, L. (2013) *Mol. Genet. Metab.*, **110**, 345–351.
42) Barone, R., Aiello, C., Race, V., Morava, E., Foulquier, F., Riemersma, M., Passarelli, C., Concolino, D., Carella, M., Santorelli, F., Vleugels, W., Mercuri, E., Garozzo, D., Sturiale, L., Messina, S., Jaeken, J., Fiumara, A., Wevers, R.A., Bertini, E., Matthijs, G., & Lefeber, D.J. (2012) *Ann. Neurol.*, **72**, 550–558.
43) Lefeber, D.J., Schönberger, J., Morava, E., Guillard, M., Huyben, K.M., Verrijp, K., Grafakou, O., Evangeliou, A., Preijers, F.W., Manta, P., Yildiz, J., Grünewald, S., Spilioti, M., van den Elzen, C., Klein, D., Hess, D., Ashida, H., Hofsteenge, J., Maeda, Y., van den Heuvel, L., Lammens, M., Lehle, L., & Wevers, R.A. (2009) *Am. J. Hum. Genet.*, **85**, 76–86.
44) Wolfe, L.A. & Krasnewich, D. (2013) *Dev. Disabil. Res. Rev.*, **17**, 211–225.
45) Lefeber, D.J., de Brouwer, A.P., Morava, E., Riemersma, M., Schuurs-Hoeijmakers, J.H., Absmanner, B., Verrijp, K., van den Akker, W.M., Huijben, K., Steenbergen, G., van Reeuwijk, J., Jozwiak, A., Zucker, N., Lorber, A., Lammens, M., Knopf, C., van Bokhoven, H., Grünewald, S., Lehle, L., Kapusta, L., Mandel, H., & Wevers, R.A. (2011) *PLoS Genet.*, **7**, e1002427.
46) Carss, K.J., Stevens, E., Foley, A.R., Cirak, S., Riemersma, M., Torelli, S., Hoischen, A., Willer, T., van Scherpenzeel, M., Moore, S.A., Messina, S., Bertini, E., Bönnemann, C.G., Abdenur, J.E., Grosmann, C.M., Kesari, A., Punetha, J., Quinlivan, R., Waddell, L.B., Young, H.K., Wraige, E., Yau, S., Brodd, L., Feng, L., Sewry, C., Macarthur, D.G., North, K.N., Hoffman, E., Stemple, D.L., Hurles, M.E., van Bokhoven, H., Campbell, K.P., Lefeber, D.J.; UK10K Consortium, Lin, Y.Y., & Muntoni, F. (2013) *Am. J. Hum. Genet.*, **93**, 29–41.
47) Talts, J.F., Andac, Z., Göhring, W., Brancaccio, A., & Timpl, R. (1999) *EMBO J.*, **18**, 863–870.
48) Ido, H., Harada, K., Futaki, S., Hayashi, Y., Nishiuchi, R., Natsuka, Y., Li, S., Wada, Y., Combs, A.C., Ervasti, J.M., & Sekiguchi, K. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 10946–10954.
49) Yoon, J.H., Chandrasekharan, K., Xu, R., Glass, M., Singhal, N., & Martin, P.T. (2009) *Mol. Cell Neurosci.*, **41**, 448–463.
50) Gee, S.H., Montanaro, F., Lindenbaum, M.H., & Carbonetto, S. (1994) *Cell*, **77**, 675–686.
51) Bowe, M.A., Deyst, K.A., Leszyk, J.D., & Fallon, J.R. (1994) *Neuron*, **12**, 1173–1180.
52) Peng, H.B., Ali, A.A., Daggett, D.F., Rauvala, H., Hassell, J. R., & Smalheiser, N.R. (1998) *Cell Adhes. Commun.*, **5**, 475–489.
53) Sugita, S., Saito, F., Tang, J., Satz, J., Campbell, K., & Südhof, T.C. (2001) *J. Cell Biol.*, **154**, 435–445.
54) Sato, S., Omori, Y., Katoh, K., Kondo, M., Kanagawa, M., Miyata, K., Funabiki, K., Koyasu, T., Kajimura, N., Miyoshi, T., Sawai, H., Kobayashi, K., Tani, A., Toda, T., Usukura, J., Tano, Y., Fujikado, T., & Furukawa, T. (2008) *Nat. Neurosci.*, **11**, 923–931.
55) Wright, K.M., Lyon, K.A., Leung, H., Leahy, D.J., Ma, L., & Ginty, D.D. (2012) *Neuron*, **76**, 931–944.
56) Yurchenco, P.D. (2011) *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.*, **3**, a004911.
57) Gawlik, K.I. & Durbeej, M. (2011) *Skelet. Muscle*, **1**, 9.
58) Singhal, N. & Martin, P.T. (2011) *Dev. Neurobiol.*, **71**, 982–1005.
59) Zaccaria, M.L., Di Tommaso, F., Brancaccio, A., Paggi, P., & Petrucci, T.C. (2001) *Neuroscience*, **104**, 311–324.
60) Kanagawa, M., Omori, Y., Sato, S., Kobayashi, K., Miyagoe-Suzuki, Y., Takeda, S., Endo, T., Furukawa, T., & Toda, T. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 31208–31216.
61) Hohenester, E., Tisi, D., Talts, J.F., & Timpl, R. (1999) *Mol. Cell*, **4**, 783–792.
62) Timpl, R., Tisi, D., Talts, J.F., Andac, Z., Sasaki, T., & Hohenester, E. (2000) *Matrix Biol.*, **19**, 309–317.
63) Kanagawa, M., Michele, D.E., Satz, J.S., Barresi, R., Kusano, H., Sasaki, T., Timpl, R., Henry, M.D., & Campbell, K.P. (2005) *FEBS Lett.*, **579**, 4792–4796.
64) 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.
65) Kunz, S., Sevilla, N., McGavern, D.B., Campbell, K.P., & Oldstone, M.B. (2001) *J. Cell Biol.*, **155**, 301–310.
66) Oldstone, M.B. & Campbell, K.P. (2011) *Virology*, **411**, 170–179.
67) Davies, K.E. & Nowak, K.J. (2006) *Nat. Rev. Mol Cell Biol.*, **7**, 762–773.
68) Hara, Y., Balci-Hayta, B., Yoshida-Moriguchi, T., Kanagawa, M., Beltrán-Valero de Bernabé, D., Gündeşli, H., Willer, T., Satz, J.S., Crawford, R.W., Burden, S.J., Kunz, S., Oldstone, M.B., Accardi, A., Talim, B., Muntoni, F., Topaloğlu, H., Dinçer, P., & Campbell, K.P. (2011) *N. Engl. J. Med.*, **364**, 939–946.
69) Godfrey, C., Clement, E., Mein, R., Brockington, M., Smith, J., Talim, B., Straub, V., Robb, S., Quinlivan, R., Feng, L., Jimenez-Mallebrera, C., Mercuri, E., Manzur, A.Y., Kinali, M., Torelli, S., Brown, S.C., Sewry, C.A., Bushby, K., Topaloglu, H., North, K., Abbs, S., & Muntoni, F. (2007) *Brain*, **130**, 2725–2735.
70) Godfrey, C., Foley, A.R., Clement, E., & Muntoni, F. (2011) *Curr. Opin. Genet. Dev.*, **21**, 278–285.
71) Fukuyama, Y., Osawa, M., & Suzuki, H. (1981) *Brain Dev.*, **3**, 1–29.
72) Toda, T., Kobayashi, K., Kondo-Iida, E., Sasaki, J., & Nakamura, Y. (2000) *Neuromuscul. Disord.*, **10**, 153–159.
73) Taniguchi-Ikeda, M., Kobayashi, K., Kanagawa, M., Yu, C.C., Mori, K., Oda, T., Kuga, A., Kurahashi, H., Akman, H.O., DiMauro, S., Kaji, R., Yokota, T., Takeda, S., & Toda, T. (2011) *Nature*, **478**, 127–131.
74) Tachikawa, M., Kanagawa, M., Yu, C.C., Kobayashi, K., & Toda, T. (2012) *J. Biol. Chem.*, **287**, 8398–8406.
75) Han, R., Kanagawa, M., Yoshida-Moriguchi, T., Rader, E.P., Ng, R.A., Michele, D.E., Muirhead, D.E., Kunz, S., Moore, S. A., Iannaccone, S.T., Miyake, K., McNeil, P.L., Mayer, U., Oldstone, M.B., Faulkner, J.A., & Campbell, K.P. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 12573–12579.
76) Kanagawa, M., Yu, C.C., Ito, C., Fukada, S., Hozoji-Inada, M., Chiyo, T., Kuga, A., Matsuo, M., Sato, K., Yamaguchi, M., Ito, T., Ohtsuka, Y., Katanosaka, Y., Miyagoe-Suzuki, Y., Naruse, K., Kobayashi, K., Okada, T., Takeda, S., & Toda, T. (2013) *Hum. Mol. Genet.*, **22**, 3003–3015.
77) Beedle, A.M., Turner, A.J., Saito, Y., Lueck, J.D., Foltz, S.J., Fortunato, M.J., Nienaber, P.M., & Campbell, K.P. (2012) *J. Clin. Invest.*, **122**, 3330–3342.
78) Taniguchi, M., Kurahashi, H., Noguchi, S., Fukudome, T., Okinaga, T., Tsukahara, T., Tajima, Y., Ozono, K., Nishino, I., Nonaka, I., & Toda, T. (2006) *Hum. Mol. Genet.*, **15**, 1279–1289.
79) Nakano, I., Funahashi, M., Takada, K., & Toda, T. (1996) *Acta Neuropathol.*, **91**, 313–321.
80) 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.
81) Chiyonobu, T., Sasaki, J., Nagai, Y., Takeda, S., Funakoshi, H., Nakamura, T., Sugimoto, T., & Toda, T. (2005) *Neuromuscul. Disord.*, **15**, 416–426.
82) Myshrall, T.D., Moore, S.A., Ostendorf, A.P., Satz, J.S., Ko-

walczyk, T., Nguyen, H., Daza, R.A., Lau, C., Campbell, K.P., & Hevner, R.F.（2012）*J. Neuropathol. Exp. Neurol*., **71**, 1047–1063.
83）Satz, J.S., Ostendorf, A.P., Hou, S., Turner, A., Kusano, H., Lee, J.C., Turk, R., Nguyen, H., Ross-Barta, S.E., Westra, S., Hoshi, T., Moore, S.A., & Campbell, K.P.（2010）*J. Neurosci*., **30**, 14560–14572.
84）de Bernabé, D.B., Inamori, K., Yoshida-Moriguchi, T., Weydert, C.J., Harper, H.A., Willer, T., Henry, M.D., & Campbell, K.P.（2009）*J. Biol. Chem*., **284**, 11279–11284.
85）Henry, M.D., Cohen, M.B., & Campbell, K.P.（2001）*Hum. Pathol*., **32**, 791–795.
86）Kurahashi, H., Taniguchi, M., Meno, C., Taniguchi, Y., Takeda, S., Horie, M., Otani, H., & Toda, T.（2005）*Neurobiol. Dis*., **19**, 208–217.
87）Takeda, S., Kondo, M., Sasaki, J., Kurahashi, H., Kano, H., Arai, K., Misaki, K., Fukui, T., Kobayashi, K., Tachikawa, M., Imamura, M., Nakamura, Y., Shimizu, T., Murakami, T., Sunada, Y., Fujikado, T., Matsumura, K., Terashima, T., & Toda, T.（2003）*Hum. Mol. Genet*., **12**, 1449–1459.
88）Kanagawa, M., Nishimoto, A., Chiyonobu, T., Takeda, S., Miyagoe-Suzuki, Y., Wang, F., Fujikake, N., Taniguchi, M., Lu, Z., Tachikawa, M., Nagai, Y., Tashiro, F., Miyazaki, J., Tajima, Y., Takeda, S., Endo, T., Kobayashi, K., Campbell, K. P., & Toda, T.（2009）*Hum. Mol. Genet*., **18**, 621–631.
89）Xu, L., Lu, P.J., Wang, C.H., Keramaris, E., Qiao, C., Xiao, B., Blake, D.J., Xiao, X., & Lu, Q.L.（2013）*Mol. Ther*., **21**, 1832–1840.
90）Yu, M., He, Y., Wang, K., Zhang, P., Zhang, S., & Hu, H.（2013）*Hum. Gene Ther*., **24**, 317–330.
91）Whitmore, C., Fernandez-Fuente, M., Booler, H., Parr, C., Kavishwar, M., Ashraf, A., Lacey, E., Kim, J., Terry, R., Ackroyd, M.R., Wells, K.E., Muntoni, F., Wells, D.J., & Brown, S.C.（2014）*Hum. Mol. Genet*., in press.
92）Saito, F., Kanagawa, M., Ikeda, M., Hagiwara, H., Masaki, T., Ohkuma, H., Shimizu, T., Sonoo, M., Toda, T., & Matsumura, K.（2014）*Hum. Mol. Genet*., in press.
93）Yagi, H., Nakagawa, N., Saito, T., Kiyonari, H., Abe, T., Toda, T., Wu, S.W., Khoo, K.H., Oka, S., & Kato, K.（2013）*Sci. Rep*., **3**, 3288.

著者寸描

●金川　基（かながわ　もとい）



神戸大学大学院医学研究科講師．博士（理学）．

■略歴　2001年北海道大学大学院理学研究科化学専攻博士後期課程修了（生物化学：谷口和弥教授）．同年ハワードヒューズ医学研究所/アイオワ大学医学部博士研究員（Kevin Campbell教授）．06年大阪大学大学院医学系研究科（戸田達史教授），09年神戸大学大学院医学研究科助教（戸田達史教授），11年より現職．

■研究テーマ　生化学・糖鎖生物学を基盤にした，神経筋疾患の病態解明と治療法の開発．

■ウェブサイト　http://www.med.kobe-u.ac.jp/clgene/

■趣味　ゴルフ，グルメ散策，温泉，Iowa Hawkeyesの応援．