

<教育講演 7>

神経疾患と糖鎖生物学：新たな生命鎖の役割

武藤多津郎

(臨床神経 2011;51:849-852)

Key words : 脂質ラフト, 神経栄養因子, Trk, シグナル伝達, ギランバレー症候群

はじめに

近年の生物学研究の発展は、遺伝子を構成する DNA 鎖、それから翻訳されて蛋白質を構成するアミノ酸の鎖すなわちペプチド鎖を巡る膨大な知見の集積をもたらし、神経疾患の病因病態の解明にも多いに貢献してきた。しかしその一方で、この自然界における生物あるいは生命現象は、このような知見をもってしても到底理解できないほど複雑で多彩なものであるという認識もはっきりしてきました。たとえば、ヒトの血清蛋白質、酵素、成長因子、レセプター、細胞外マトリックス構築分子など、さまざまな機能をもつ蛋白質の多くは、それぞれ特徴ある糖鎖を結合していること、それら糖鎖の生合成は間接的にしか遺伝子の支配を受けないこと、蛋白質と協調しながらも糖鎖独特の生理機能を営むことなどがしだいに明らかになっています。つまり、糖脂質や糖タンパクなどの糖鎖構造を有する生体物質が種々の生物学的機能を有し、これまでの DNA 鎖やペプチド鎖の機能を制御している実態がつつぎと明らかとなっており、今後幅広い分野での研究展開が多いに望まれております。本講演では、こうした糖鎖構造を有する物質が果たす様々な生命現象における役割を探求する学問分野である糖鎖生物学上の知見が、如何に神経疾患の病態を解明してきたか、あるいは解明しつつあるかをわれわれの知見も踏まえレビューし、現状を整理してみたい。本稿では、紙面の関係もあり、重要な幾つかのポイントに絞って解説を加えることにします。

糖脂質と脂質ラフト： 細胞膜上のシグナリングドメイン

ギランバレー症候群 (GBS) で検出される抗-GM1 ガングリオシド (GM1) 抗体など種々のガングリオシド (Gg) に対する抗体の標的分子となっているのが酸性糖脂質の Gg である事は有名である。この、Gg 類は 1935 年ドイツの Klenk E らにより発見され、現在では細胞の脂質二重膜の outer leaflet に存在する事、種々のウイルスや細菌毒素の細胞へのエントリーサイト (受容体) を形成する事が知られています。近年、この Gg 類は細胞膜に均一に分布するのではなく、コレステ

ロール、スフィンゴミエリン、中性糖脂質などの脂質と共に、更に細胞内外のコミュニケーションを司るシグナル伝達分子が集中して存在する「脂質ラフト」というドメインを形成する事が明らかとなってきました¹⁾。一方、従来より上皮細胞などの細胞膜の電顕的観察からフラスコ状の形態をした細胞膜上の陥凹が存在することが観察されており、これはカベオラ (caveolae) と呼ばれてきました。この構造にも、やはり Gg、スフィンゴミエリン、中性糖脂質、種々の成長因子受容体や eNOS などのシグナル伝達分子とフラスコ状形態を形成するカベオリンという構造蛋白が局在し、脂質ラフトと同様な機能を有している事も明らかとなっています¹⁾²⁾。この両者の相違は構造蛋白のカベオリンの有無のみで、各々の機能には大きな差異はないといわれています。これら、シグナリングドメインに局在する物質の詳細を Table 1 に示す。さらに、最近では膜テトラスパンニン (TSP) が糖脂質と強く結合し、細胞成長因子受容体やインテグリン受容体と複合体を形成していること、この複合体はコレステロール感受性が低く、細胞接着・運動・成長に深くかかわった「グリコシナプス」として機能していることが明らかにされ、ラフトとは区別されている。大きさ的にも、前者は直径が 10~<100nm に対して、後者のそれは 500~1,000nm とグリコシナプスの方が圧倒的に大きいとされています。

神経栄養因子受容体機能と ガングリオシドとの深い関係

神経成長因子 (NGF) をはじめとする神経栄養因子類 (他に、脳由来神経栄養因子 (BDNF)、ニューロトロフィン-3 (NT-3) などがある) は、神経細胞の生存・分化促進因子として神経系組織の発達や様々な正常な神経活動に必須の因子として機能していることが多くの実験的結果により明らかとなっている。しかし、これら因子の機能的受容体の本態は、1991 年に NGF の高親和性機能的受容体が Trk チロシキナーゼである事が解明されるまで長年の謎であった³⁾。この発見以降、他の神経栄養因子の受容体も発見され、これらが Trk チロシキナーゼファミリーを形成することが確定した。さらに、これら受容体を介するシグナル伝達が如何に神経細胞内でなされているかその全容も明らかとなっている。

Table 1

Class of molecules	Name of molecule	description
Lipid	Ganglioside	<i>neuroprotective function like Neurotrophin (GM1)</i> <i>stimulates Ab fibril formation (GM1)</i> <i>sulfatide is involved</i>
	Sphingomyelin	generates ceramide by SMase
	Ceramide	<i>might be related to apoptosis induced by Hka</i>
	Diacylglycerol	produced from PC or PIP2
	Cholesterol	associates with caveolins, inhibited by Filipin
Acylated protein	Heteromeric G proteins	
	Src, Fyn, Hck, Lck	<i>essential for IgER signaling</i>
	eNOS	release NO, vasodilator, in response to extracellular signals
	CD36	
GPI-anchored protein	Caveolin	marker protein, essential for caveolar biogenesis
	Folate receptor	
	Thy1	<i>related to autoimmune disorders</i>
	Alkaline phosphatase	
	Prion	histidine-rich domain at N-terminus
	Urokinase receptor (uPAR)	<i>specific partner for HK</i>
	Multiple GPI proteins	glypicans are involved (concentration of negative charges)
	5'-Nucleotidase	
Membrane transporter	CD14	
	Porin	
	IP3 receptor	related to Ca ²⁺ immobilization
	Ca ²⁺ ATPase	
	Aquaporin-1	
Membrane receptor	H ⁺ ATPase	
	Insulin	
	RAGE	recognize aggregated/crosslinked proteins
	Tissue factor	colocalize with A β peptide
	Bradykinin	<i>ligand produced after contact activation</i>
	Endothelin	
	PDGF	
	EGF	
	m2 Acetylcholin	
	β Adrenergic	
FGF	<i>endothelial binding was competitively prevented by HK</i>	

われわれは、1993年にGM1に特異的に結合するコレラ毒素で細胞を予め処理しておく、細胞に発現するTrk受容体はそのリガンドであるNGFに対する応答が著明に増大することをみいだした⁴⁾。GM1は細胞脂質二重膜のouter leafletに存在するため、コレラ毒素のGM1への結合という情報を何らかの形で膜貫通蛋白であるTrkに伝えられなければ、こうした現象は説明できない。そこで、われわれはTrkとGM1が何らかの直接的な分子関係をもつのではないかとの仮説を立て、その証明を試みそれに成功した⁵⁾。われわれは、この関係の証明に大変ユニークな方法をもちいたが、われわれの方法はその後、他の蛋白-脂質相互関係を解明するための一つの有効な方法論を提供することとなった。さらに、Trk自体も約70kdの糖鎖が結合した糖タンパクで、脂質ラフトに局在する(Fig.1参照)。この糖鎖付加を薬剤で阻害するとTrkは脂質ラフトには局在できなくなると共に、恒常的な活性化状態にいたる事をみいだしている。さらに、同じ細胞を糖脂質合成酵素阻害剤D-PDMPで前処理して細胞内のすべてのGgを枯渇させると、同細胞に発現するTrkはNGFに反応しな

くなるが、GM1を培養液に投与しておいた時のみ反応性が回復する事から、Trkの正常な機能発現のためには脂質ラフト上でGM1と共に存在する事が必須であることが判明している⁶⁾。興味深い事に、GM1以外他の種々のGgを投与してもGM1でみられたような効果はみられなかった⁶⁾。したがって、神経系細胞の生存・分化に必須の役割を果たしている神経栄養因子類の受容体は、糖脂質さらには脂質ラフトによってその機能が制御されており、これらに異常が生じれば神経細胞機能に障害が生じ得ることは想像に難くない。事実、種々の糖脂質が先天性に蓄積してくるリビドーシス患者では共通に重篤な神経障害が出現してくるのは有名である。

ギランバレー症候群 (GBS) と脂質ラフト

これまでGBS患者には、種々のGgに対する自己抗体が産生されている事が明らかになってきたが、これら抗Gg抗体の病因論的意義は必ずしも明らかではなかった。われわれは、軸索型本症患者によくみいだされる抗GM1抗体の細胞生物

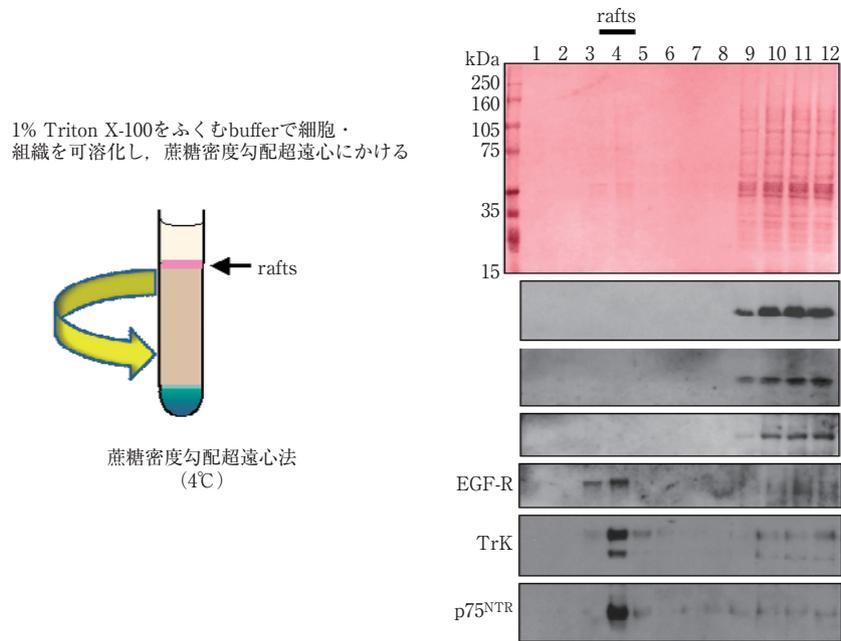


Fig. 1 lipid rafts の調整法と受容体型チロシンキナーゼの局在.

学的影響と脂質ラフトへの作用を神経系培養細胞をもちい詳細にしらべた⁷⁾. その結果, 患者血清中の抗 GM1 抗体は, 脂質ラフトを標的としその機能を阻害する可能性がある事をはじめてみだした⁷⁾. 神経組織における神経保護的なシグナル伝達系の主要な役割を果たす神経栄養因子類の情報伝達に重大な障害をもたらされている可能性が示唆された.

アルツハイマー病 (AD) と糖脂質・脂質ラフトとの関係

従来より, AD と糖脂質異常に関しては 1965 年 Suzuki K らにより, すでに異常があることが知られ現在まで種々の報告がなされている. その多くは, AD 患者脳では種々の Gg が正常対照に比し有意に低下しているとされている⁸⁾. しかし, 現在までこうした AD 患者脳での Gg 含量低下の分子機序は不明であり, 今後そのメカニズムが明らかにされると共に本症患者神経細胞での脂質ラフトやグライコ(イムノ)シナプス機能に如何なる異常があるのかその実態解明が待たれる.

先天性脂質蓄積症リピドーシス (Sandhoff 病) と抗糖脂質抗体

様々なリピドーシスでは, 共通に重篤な神経障害が生じる事が知られている. しかし, リピドーシス患者にどうして神経障害が発生するのかその原因は意外と知られていない. 2004 年に, Enomoto らは, GM2, アシアロ GM2 が蓄積してくる Sandhoff 病のモデルマウスをもちい大変エレガントな実験をおこない驚くべき結果を報告している⁹⁾. すなわち, このモデルマウスでは, 蓄積している GM2 や GA2 に対する抗体が

一定週齢になると産生され, それらが神経組織に炎症を惹起させ神経障害をもたらす事を証明している. この結果は, 体内で本来あるべき生理的な糖脂質が組織でその含量が変化するだけでも, それらに対する抗体産生と炎症反応がおきることを示したブレークスルー的な仕事と評価される.

大脳辺縁系の炎症と抗中性糖脂質抗体

われわれはこうした知見を参考に, グルコシルセラミド (glucosylceramide, GlcCer), ガラクトシルセラミド (galactosylceramide, GalCer), ラクトシルセラミド (lactosylceramide, LacCer) などの中性糖脂質に対する抗体を持つ種々の神経疾患患者さんがいるか否かのスクリーニングをおこなった. その結果, 大変興味あることに, 大脳辺縁系が障害される免疫性脳炎患者 (再発性多発軟骨炎に辺縁系脳炎が合併した患者さん) を中心に抗中性糖脂質抗体が血清中に存在する事をみだし, その抗体の characterization をおこなった¹⁰⁾. 興味ある事に, これら抗中性糖脂質抗体は治療によって患者さんが回復すると検出されなくなること, 再発性多発軟骨炎のみで脳炎の合併がない症例では抗中性糖脂質抗体はこれまで一例も検出されていない. なぜ, これら患者さんに抗中性抗体が産生されたのか現在の所不明でありわれわれの研究室では鋭意その機序解明に向けて研究を進めている.

おわりに

これまで述べたように, ポストゲノム時代を迎えた現代においては, 糖鎖生物学上の知見は確実に神経内科領域でも今後益々重要な分野を形成していく事が推定されます. しかし,

現在のところ、こうした研究分野に携わる神経内科研究者は必ずしも多いとはいえ、今後若手研究者の参入が大変期待されます。本稿がこうした先生方の何らかの刺激となれば幸いです。最後になりましたが、本稿で紹介した私共の知見は多くの共同研究者との共同研究でえられたものであり、この場をお借りして深謝申し上げます。

文 献

- 1) Hakomori S-I. Glycosynapse. Proc Natl Acad Sci USA 2002;99:225-232.
- 2) Masserini M, Palestini P, Pitto M. Glycolipid-enriched caveolae and caveolae-like domains in the nervous system. J Neurochem 1999;73:1-11.
- 3) Kaplan DR, Martin-Zanca D, Parada LF. Tyrosine phosphorylation and tyrosine kinase activity of the trk proto-oncogene product induced by NGF. Nature 1991;350:158-160.
- 4) Mutoh T, Tokuda A, Guroff G, et al. The effect of the B subunit of cholera toxin on the action of nerve growth factor on PC12 cells. J Neurochem 1993;60:1540-1547.
- 5) Mutoh T, Tokuda A, Miyadai T, et al. Ganglioside GM1 binds to the Trk protein and regulates receptor function. Proc Natl Acad Sci USA 1995;92:5087-5091.
- 6) Mutoh T, Tokuda A, Inokuchi JI, et al. Glucosylceramide synthase inhibitor inhibits the action of nerve growth factor in PC12 cells. J Biol Chem 1998;273:26001-26007.
- 7) Ueda A, Shima S, Miyashita T, et al. Anti-GM1 antibodies in axonal form of Guillain-Barré syndrome affect the integrity of lipid rafts. Mol Cell Neurosci 2010;45:355-362.
- 8) Mutoh T, Hirabayashi Y, Mihara T, et al. Role of glycosphingolipids and therapeutic perspectives on Alzheimer's disease. Current Drug Targets-CNS and Neurological Disorders 2006;5:375-380.
- 9) Yamaguchi A, Katsuyama K, Nagahama K, et al. Possible role of autoantibodies in the pathophysiology of GM2 gangliosidosis. J Clin Invest 2004;113:200-208.
- 10) Mihara T, Ueda A, Hirayama M, et al. Detection of new anti-neutral glycosphingolipids antibodies and their effects on Trk neurotrophin receptors. FEBS Lett 2006;580:4991-4995.

Abstract

Glycobiology and neurological disorders

Tatsuro Mutoh, M.D., Ph.D.

Department of Neurology, Fujita Health University School of Medicine

Many researchers now recognize the importance of glycobiological research achievements. Glycoside-containing substances such as proteins (glycoproteins) and lipids (glycosphingolipids) have been involved in many important and essential events for normal life. The production of glycoside residues of the proteins is only partially regulated by the genes. In this talk, I will make a brief description of what glycobiology can influence the future of neurological research arena and how glycoproteins and glycolipids affect the normal biology of the neurons. Furthermore, I will introduce you some evidences that many neurological disorders such as Alzheimer's disease and immune-mediated encephalitis have special relationships with glycobiological abnormalities. I also explain the structures and functions of lipid rafts, caveolae, and glycosynapse and their roles in the intracellular signal transduction and cell motility.

(Clin Neurol 2011;51:849-852)

Key words: lipid rafts, neurotrophin, Trk-neurotrophin receptor, signal transduction, Guillain-Barré syndrome