

糖鎖の新しい機能を発見：補体系をコントロールして健康な脳神経を維持する

ポイント

- 神経細胞上の糖脂質の糖鎖構造が正常パターンになっていないと、細胞膜の構造や機能が障害されて、外界からのシグナルに対する反応や攻撃に対する防御反応が異常になることが示された。
- 細胞膜のタンパク質や脂質に結合している糖鎖の役割として、補体の活性のコントロールという新規の重要な機能が明らかになった。
- 糖脂質の糖鎖が欠損すると、外的から自らを守るために働いている補体系が宿主の神経系を攻撃することによって、炎症および神経変性を引き起こすことが分かった。
- アルツハイマー病など様々な神経変性症でも補体系が活性化して神経変性を招くことが知られており、補体系による炎症・神経変性のプロセスは普遍的なものかもしれない。

要旨

名古屋大学大学院医学系研究科（祖父江元研究科長）の古川鋼一教授（分子細胞化学）のグループは中部大学の生命医科学科のグループと共同で、酸性糖脂質の脳神経系における新しい機能を発見した。この成果は、12月7日付けの Proc. Natl. Acad. Sci. USA（米国科学アカデミー紀要）の電子版に掲載される。

細胞膜の外側に発現するタンパク質や脂質に結合している糖鎖の役割が注目されている。とくに、シアル酸というユニークな糖を含む糖脂質はガングリオシドとよばれ、脳神経系の組織に著明に認められる。従来は、脳神経系の発達に大切な分子と考えられてきたが、近年の研究により脳神経系の維持や損傷時の修復に必須な分子と考えられており、その欠損状態は神経変性を招くことが示されている。しかし、糖脂質が欠損すると神経変性が起こる機序はよく分かっていなかった。本研究では、2種類の糖鎖合成系酵素の欠損マウス（ノックアウトマウス）を交配して、GM3とよばれる最も簡単な構造のガングリオシドのみが残存する変異マウスを作成した（GM3-マウスと略す）。すると、この変異マウスでは生まれて間もなく著明な神経変性や皮膚損傷が認められた。そのメカニズムを明らかにするため、GM3-マウスの脳の mRNA と正常マウス脳の mRNA を比較して、糖鎖が欠損したために遺伝子発現が強くなった遺伝子に注目して解析を行った。その結果、GM3-マウスの脳では、生体を守るために働いている補体系の構成分子が一様に高レベルになっており、また脳組織に沈着していることが分かった。さらに、炎症性サイトカインも週齢が進むにつれ高レベルになっていることが分かった。つまり、ガングリオシドが欠損した結果、自分を守るべき補体系が活性化して炎症反応を引

き起こし、神経変性を招いたことが示唆された。ガングリオシドの欠損が補体系の活性化を招いた原因を明らかにするために、補体制御因子とよばれるタンパク質の脳内分布パターンを検討したところ、通常は脂質ラフトと呼ばれている細胞膜のマイクロドメインに集まっている補体制御因子（CD59 および DAF）が、GM3-マウスの脳では消散していることが分かった。脳組織の抗体染色でも補体制御因子が細胞膜だけにとどまらず、細胞質に散在することが判明した。これらの結果から、ガングリオシド欠損による細胞膜の構造異常が脂質ラフトの異常を惹起し、補体制御因子の機能異常を招いたことが示唆された。その結果、補体の活性化、炎症反応そして神経変性に至ったことが推測された。このことは、GM3-マウスと補体（C3）欠損マウスを交配したトリプルノックアウトマウスの作成によって実証された。すなわち、補体を最初から欠損する GM3-マウスでは、補体の活性化はもとより、炎症性サイトカインの分泌上昇や神経変性の病理像の大部分が消失して、正常脳に近い状態に復帰した。よって、ガングリオシドが補体系をコントロールして脳神経系の維持に必須な役割を果たしていることが明らかになった。

1. 背景

おもに細胞膜に存在する糖タンパク質や糖脂質は複合糖質とよばれ、細胞と細胞、細胞と細胞外基質、あるいは細胞と種々の病原体との相互作用において重要な役割を果たすと考えられている。とくにポストゲノム時代の生物学研究において、遺伝子に直接支配されない糖鎖の意義が注目されている。今回の研究で対象にしたガングリオシドはセラミドという脂質に様々な糖鎖が結合した膜分子群であり、脳神経系に豊富に存在することから、その発達、分化、機能に深く関わると考えられてきた。私たちは、ガングリオシドの糖鎖を合成する酵素の遺伝子を単離・操作することにより、生体内で果たしている役割を解析してきた。これまで、いくつかの糖鎖欠損変異マウス（ノックアウトマウス）によって、糖鎖欠損が神経組織の変性を招くことが示されてきたが、その詳しい機序は全く分からなかった。今回、GM3-マウスという、大部分のガングリオシドを欠損する変異マウスを用いることにより、生体内でガングリオシドが果たしている重要な機能の一つが明らかになった。

補体は、自然免疫系のなかの重要なシステムの一つで、多くの場合抗体と協同して生体防御に働くが、単独でも病原体や異物の除去において有効な役割を果たしている。多くの補体因子（10種以上）は肝臓で作られるが、脳神経系組織においても独自に補体系因子が生成され、機能していることが分かってきた。最近、脳の発生過程での不要物質の除去において補体系が重要な役割を果たすことが報告されているが、一方でアルツハイマー病をはじめ多くの神経変性疾患において補体系の活性化がアミロイド斑の形成など、炎症と変性の原因となることが報告されている。補体 C1q の阻害薬がアルツハイマー病の病変を緩和することも確認されている。

本研究の目的である、ガングリオシド欠損が神経の変性を惹起するメカニズムの解明において、アルツハイマー病のような変性疾患の機序と重なる「炎症から変性」という現象が見えてきたこと

が、大きな成果であり驚きでもある。

2. 研究成果

GM3-マウスの脳組織における遺伝子発現の変動を解析する過程で、補体の活性化を中心に炎症反応の存在が強く疑われ、実際に病理組織像、グリアの増生、炎症性サイトカインの遺伝子/タンパク質の亢進などが、マウスの加齢とともに顕著に観察された。これらの結果は、糖脂質の糖鎖の異常に基づく膜の異常が、「静かな細胞や組織の死」ではなく、細胞の活性化や無菌性の炎症反応を引き起こし、脳神経系の変性の要因となることが新たに示された。

糖鎖の異常が補体系の活性化を招いたメカニズムとして、細胞膜のマイクロドメインである脂質ラフトの変異を明らかにした。脂質ラフトには、コレステロール、スフィンゴ脂質、GPI (glycosyl-phosphatidylinositol)-アンカータンパク質などが豊富に存在して、エンドサイトーシス、コレステロール代謝、シグナル伝達、病原体の感染など、様々な生物学的過程の調節部位として重要な機能を果たしていると考えられている。さらに内側には、G-タンパク質など種々のシグナル分子が局在するとともに、いくつかの増殖因子や接着の受容体タンパク質も局在して機能調節を受けている。これまでの研究室内外の研究成果により、糖脂質の糖鎖の微妙な変化が、脂質ラフトを介するシグナルの質と量に少なからぬ影響を及ぼし、調節的に作用していることが明らかになった。とりわけ本研究で明らかになってきた補体に関しては、その制御に働く主要分子である CD59 や DAF (CD55) が GPI-アンカータンパク質であることから、糖脂質の変化に大きな影響を受けることが推測された。実際、GM3-マウスの脳から抽出し分画した膜タンパク質の生化学的解析では、いわゆるラフト画分の存在すべき位置が大きく変動しているとともに、補体制御因子がラフトから消散していることが示された。

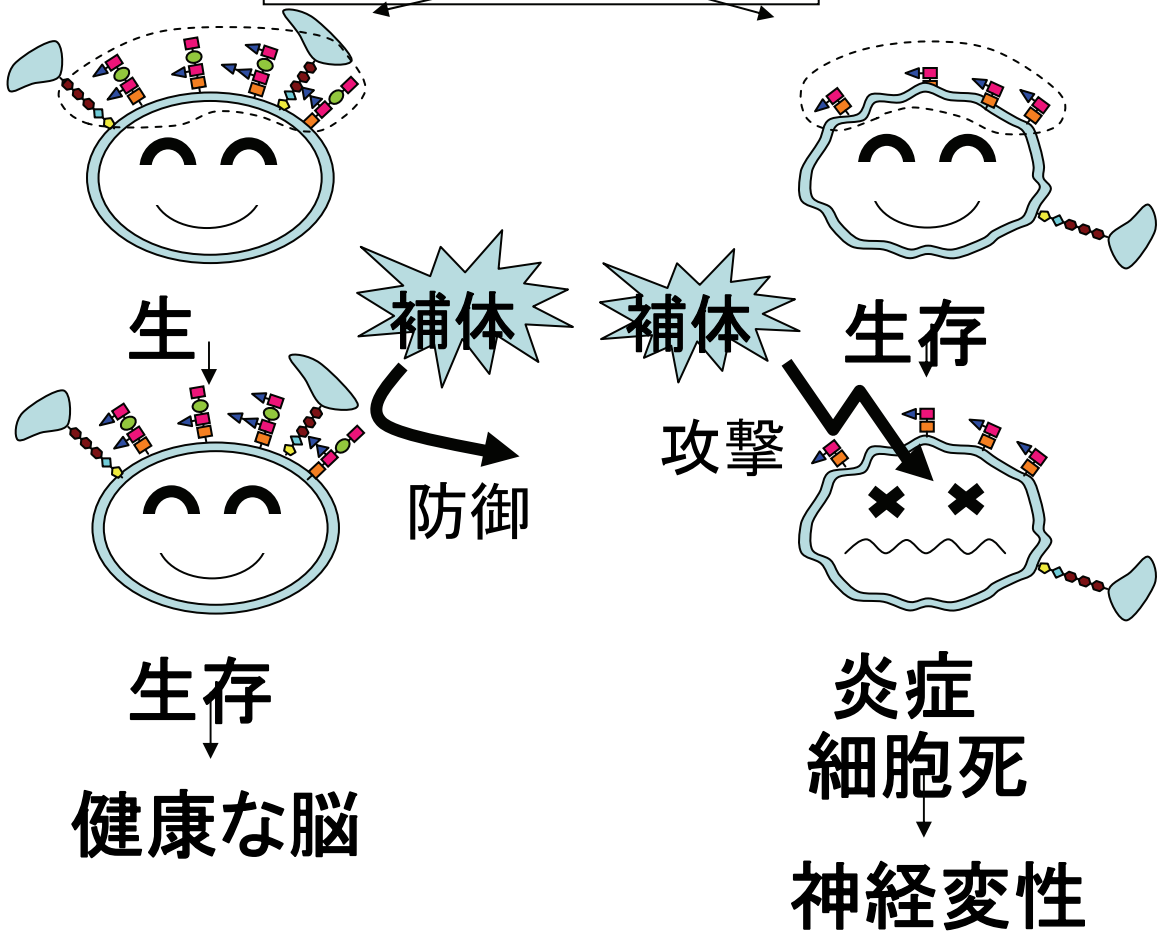
これまで、ほとんどの脂質ラフトの研究は培養細胞で行われてきており、生体内のラフトの状態を本格的に検討した研究は見当たらない。また、糖鎖の変異によって、ラフトの構造自体に顕著な変化が起きていて、それがラフト局在分子の機能不全を招いたことを示す報告も見られない。よって、本研究の内容は、糖脂質の糖鎖が生体内で果たしている役割のメカニズムを新たに示した点で新規かつ独創的といえる。

3. 今後の展開

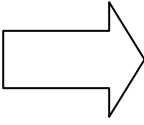
糖脂質の糖鎖の意義を明らかにする上で、多様性に富む糖鎖構造の個別の機能の差異を、最終的には解明しなければならない。その点で、本研究で用いた GM3-マウスはやや極端なモデルといわなければならない。単一の遺伝子ノックアウトでは、残存する糖脂質が代償機能を発揮することで本来の糖鎖機能が見えにくいものと推測される。しかし、単一遺伝子ノックアウトにおいても、微妙な炎症反応が観察されているので、それらの病態および脂質ラフトの変異などについて詳細に検討して、ガングリオシド糖鎖群の個別機能と共通の機能を明らかにしていく必要がある。

本研究の結果は、神経組織の無菌性炎症反応が神経変性を招くことを端的に示した。他のいくつかの神経変性疾患においても、様々な要因に基づく炎症反応が変性を誘導あるいは増強しているという報告がなされており、部分的に共通の病態が存在すると考えられる。脂質ラフトの構造や機能の人為的な制御によって病態のコントロールが可能性になれば、糖鎖の調節による病態の制御の可能性も開けるものと思われる。

膜上の糖鎖の変化



糖鎖の異常



糖鎖は正常な脳の状態をコントロールする

膜(脂質ラフト)の異常

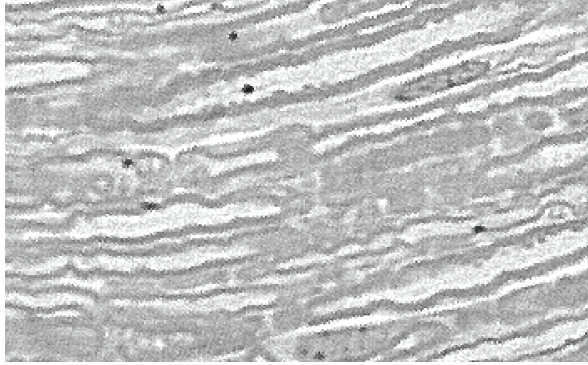
制御不能な補体の活性化

炎症

神経変性
III

アルツハイマー病の病像

正常な糖鎖の神



異常な糖鎖の神経

