A Route from Glycobiology to Congenital Muscular Dystrophy

糖鎖生物学から先天性筋ジストロフィー研究への道

Endo, Tamao

Molecular Glycobiology, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology, Itabashi-ku, Tokyo 173-0015, Japan
FAX: 81-3-3579-4776, E-mail:endo@tmig.or.jp

(Received on April 28, 2010, accepted on May 7, 2010)

Key Words: *dystroglycan, O-mannosylation, muscular dystrophy, congenital disorders of glycosylation***Abstract**

Most proteins within living organisms contain glycans. Glycan structures can modulate the biological properties and functions of glycoproteins. The major glycans of glycoproteins can be classified into two groups, *N*-glycans and *O*-glycans, according to their glycan-peptide linkage regions. This review will give an outline of the *O*-mannosyl glycans; structure, biosynthesis, function, and pathology.

要 約

生体で作られるタンパク質の多くは糖鎖を含んでいる。糖鎖は糖タンパク質の生物学的な性質や機能に影響を与えることが知られている。糖タンパク質糖鎖は、タンパク質への結合様式によって *N*-型糖鎖と *O*-型糖鎖の二つのグループに大別される。本稿では、*O*-マンノース型糖鎖の構造、生合成、機能、そして病理との関連について概説する。

A. Introduction

Proteins produced by eukaryotic cells are frequently post-translationally modified by the addition of glycans. More than half of proteins are known to undergo glycosylation. The glycan moieties of these glycoproteins not only affect their stability and conformation, but also have roles in molecular recognition processes that occur in bacterial and viral infection, cell adhesion in inflammation and metastasis, differentiation, development, and many other events characterized by intercellular communication. The mechanisms underlying the many glycan-mediated recognition processes are not fully understood.

The major glycans of glycoproteins can be classified into two groups according to their glycan-peptide linkage regions. Those that are linked to asparagine (Asn) residues of polypeptides are termed *N*-glycans, while those that are linked to serine (Ser) or threonine (Thr) residues are called *O*-glycans. In *N*-glycans, the reducing terminal GlcNAc is linked to the amide group of Asn. In *O*-glycans, the reducing terminal GalNAc is attached to the hydroxyl groups of Ser and Thr residues of polypeptides. In addition to the abundant *O*-GalNAc forms, several unique types of protein *O*-glycosylation have been known. For example, *O*-mannosyl glycan of dystroglycan (DG) has been shown to be important in muscle and brain development.

Muscular dystrophies are genetic diseases that cause progressive muscle weakness and wasting. The causative

A. はじめに

有核細胞によって作られるタンパク質の多くは、糖鎖付加という翻訳後修飾を受けることが知られている。半数以上のタンパク質は糖鎖が付加されている。糖タンパク質の糖鎖は、タンパク質の安定性や構造に影響を与えるばかりでなく、細菌やウイルス感染、がん細胞の転移や炎症時の細胞接着、細胞の分化や増殖など、細胞間コミュニケーションが関わる様々な過程において重要な働きをしていると考えられている。しかしながら、糖鎖の関与する認識機構の詳細は、まだ十分に解明されていない。

糖タンパク質糖鎖は、糖鎖とタンパク質の結合の様式によって二つのグループに大別される。タンパク質の Asn に結合する *N*-結合型と呼ばれるタイプと、タンパク質の Ser や Thr に結合する *O*-結合型と呼ばれるタイプがある。*N*-結合型糖鎖は GlcNAc が Asn のアミド基に結合しており、*O*-結合型糖鎖は GalNAc が Ser や Thr の水酸基に結合している。*O*-結合型では最も頻繁に見られる GalNAc に加えて他の糖が結合していることも知られている。その中の一つ、例えば本稿で紹介する、ジストログリカン (DG) の研究から展開した *O*-マンノース型糖鎖は、筋や脳の形成において重要な役割を果たしている。

筋ジストロフィーは、進行性に筋の変性・壊死を主症状とする遺伝性疾患である。過去 15 年位の間に数多くの原因遺

genes of several muscular dystrophies have been identified in the past fifteen years. The best known is the one described by Duchenne that results from mutations in the gene encoding a protein called dystrophin. Another subclass is congenital muscular dystrophies, where muscle weakness is apparent at birth or shortly afterwards. Recent data suggest that aberrant glycosylation of α -DG is the primary cause of some forms of congenital muscular dystrophy. This article reviews new insights into the glycobiology of muscular dystrophy.

B. Dystroglycan (DG) and O-Mannosyl Glycan

DG is encoded by a single gene (DAG1) and is cleaved into two proteins, α -DG and β -DG, by posttranslational processing (1). Disruption of this gene in mice results in embryonic lethality. To allow the embryo to develop, chimeric mice generated from targeted embryonic stem cells have been produced. DG-null chimeric mice showed muscular dystrophy, although muscle basement membrane formation was normal (2). The function of DG in specific tissues was examined with the Cre/LoxP system. Targeting the gene in skeletal muscle did not affect muscle basement membrane formation but resulted in a mild dystrophic phenotype (3). Targeting in brain resulted in abnormal cerebral cortical layering resembling human cobblestone lissencephaly, and in abnormal cerebellar granule cell migration (4). Targeting in peripheral nerves caused defects in myelination and nodal architecture (5). DG is also required for polarizing epithelial cells and oocytes in *Drosophila* (6) and removal of DG causes severe muscular dystrophy in zebrafish embryos (7). These results indicate that DG is essential for normal development.

In skeletal muscle, DG is a component of the dystrophin-glycoprotein complex. α -DG is an extracellular peripheral membrane glycoprotein anchored to the cell membrane by binding to a transmembrane glycoprotein, β -DG. The α -DG- β -DG complex is thought to stabilize the plasma membrane by acting as an axis through which the extracellular matrix is tightly linked to cytoskeleton. This is because α -DG strongly binds to laminin in the extracellular matrix, and the cytoplasmic domain of β -DG interacts with dystrophin, which in turn binds to the actin cytoskeleton (8).

α -DG is heavily glycosylated and its sugars have a role in binding to laminin, neurexin and agrin (8). We demonstrated that the major glycans of α -DG include O-mannosyl glycan: Sia α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man (9). Subsequent studies described a series of O-mannosyl glycans with heterogeneous mannose-branching (2-substituted and 2,6-substituted mannoses) and peripheral structures Gal β 1-4(Fuc α 1-3)GlcNAc β 1-2Man, HSO $_3$ -3GlcA β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man, Sia α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-2(Sia α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-6)Man]. Recently, a GalNAc β 1-3GlcNAc β 1-4branch and a phosphodiester-linked modification

伝子が同定された。最も患者数が多いデュシェンヌ型筋ジストロフィーの原因遺伝子が最初に同定され、スペクトリン様細胞内タンパク質、ジストロフィンをコードしていることが明らかになった。他に先天性筋ジストロフィーと呼ばれる一群があり、出生時あるいは出生直後から筋力低下が顕著である。最近の研究により、 α -DGの糖鎖異常がいくつかの先天性筋ジストロフィー症の原因であることが判明した。本総説では、糖鎖研究が筋ジストロフィー研究分野にもたらした新たな潮流について紹介する。

B. ジストログリカン (DG) と O-マンノース型糖鎖

DGはDAG1遺伝子によってコードされているが、翻訳後 α -DGと β -DGの二つのサブユニットに切断される(1)。DGの遺伝子破壊マウスは、胎生致死である。胎生致死を克服するために、キメラマウスが作製され解析された。その結果、筋基底膜の形成は正常であったが、筋ジストロフィー症状を示した(2)。次に、各組織におけるDGの役割を明らかにするために、Cre/LoxPシステムによる組織特異的コンディショナルノックアウトマウスが作製された。骨格筋特異的にDGの発現を阻害すると、筋基底膜は影響を受けないが筋ジストロフィー症状を示した(3)。脳特異的に発現を阻害すると、ヒト滑脳症に似た大脳皮質層構造の乱れや小脳の顆粒細胞の移動異常などが観察された(4)。末梢神経特異的に発現を阻害すると、髄鞘や絞輪の形成不全が認められた(5)。一方、ショウジョウバエでは卵母細胞や上皮細胞の極性にDGは必要であり(6)、ゼブラフィッシュ胚ではDGがないと筋ジストロフィーが起る(7)。いずれの結果も、DGは正常な発生に必須な分子であることを示している。

DGは、骨格筋においてジストロフィン-糖タンパク質複合体の成分として発見された。 α -DGは、細胞膜の外側に存在し膜貫通の β -DGと結合している。 α -DGと β -DGの複合体は、細胞外マトリックスと細胞骨格とを連結させる軸として働くことにより筋膜の安定化をもたらしていると考えられている。これは、細胞外では α -DGは細胞外マトリックス成分であるラミニンと結合し、細胞内では β -DGはジストロフィン、さらにアクチン細胞骨格系と結合していることによる(8)。

α -DGは高度に糖鎖修飾を受けており、その糖鎖はラミニン、アグリン、ニューレキシンなどとの結合に必要である(8)。我々は、 α -DGの主要な糖鎖はO-マンノース型糖鎖と呼ばれる、Sia α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Manであることを明らかにした(9)。その後複数のグループにより、O-マンノース型糖鎖には多様な構造(末端構造やManからの分岐)があり、Gal β 1-4(Fuc α 1-3)GlcNAc β 1-2Man、HSO $_3$ -3GlcA β 1-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man、Sia α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-6(Sia α 2-

on *O*-mannosyl glycans of α -DG were identified (10).

C. Biosynthesis of *O*-Mannosyl Glycan

C-1. Protein *O*-Mannosyltransferase

The biosynthesis of *O*-mannosyl glycans is started by the addition of Man to Ser/Thr residues of proteins. The enzymes involved in the initiation of protein *O*-mannosylation were identified and characterized in yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast *O*-mannosylation is initiated in the lumen of the ER by a family of PMTs that catalyze the transfer of Man from Dol-P-Man to Ser/Thr residues of proteins (11). *S. cerevisiae* has seven PMT homologues (Pmt1p–7p) that share almost identical hydropathy profiles. The hydropathy profiles predict that PMTs are integral membrane proteins with multiple transmembrane domains (11). The PMT family is classified phylogenetically into the PMT1, PMT2, and PMT4 subfamilies. Members of the PMT1 subfamily (Pmt1p and Pmt5p) interact heterophilically with those of the PMT2 subfamily (Pmt2p and Pmt3p), whereas the single member of the PMT4 subfamily (Pmt4p) acts as a homophilic complex (12). Although Pmt1p–4p and Pmt6p have *O*-mannosyltransferase activity by themselves, complex formation is essential for maximal activity (12). It is of interest that *O*-mannosylation is vital in yeast, and its absence affects cell wall structure and rigidity. Additionally, a deficiency in protein *O*-mannosylation in the fungal pathogen *Candida albicans* leads to defects in multiple cellular functions including expression of virulence (13).

PMT is evolutionarily conserved from prokaryotes, such as *Mycobacterium tuberculosis*, to eukaryotes, such as yeast, *Drosophila*, mouse, and human. Human have two homologues of yeast PMT (*POMT1* and *POMT2*) (14,15). The hydropathy profiles of these proteins are almost identical and predict that the integral membrane proteins with multiple transmembrane domains (15–17). We demonstrated that human *POMT1* and *POMT2* have protein *O*-mannosyltransferase activity, but only when they are co-expressed (18,19). This suggests that *POMT1* and *POMT2* form a hetero-complex to express enzymatic activity. *POMT1* and *POMT2* are expressed in all human tissues, but *POMT1* is highly expressed in fetal brain, testis and skeletal muscle, and *POMT2* is predominantly expressed in testis (15,17). Disruption of *pomt1* in mice results in embryonic lethality (20), indicating that protein *O*-mannosylation is essential for normal development.

Drosophila has two PMT orthologs, *dPOMT1* and *dPOMT2*, which correspond to human *POMT1* and *POMT2*, respectively (15,17). Two mutants, *rt* and *tw*, have reduced viability as well as pronounced defects in muscle development and synaptic defects (21). The *rt* and *tw* genes were identified as *dPOMT1* and *dPOMT2*, respectively (14,15,17,22). As with human *POMT1* and *POMT2*, co-expression of *dPOMT1* and

3Gal β 1-4GlcNAc β 1-2)Man などの構造が報告された。最近、GalNAc β 1-3GlcNAc β 1-4 分岐ヤリン酸ジエステル構造が α DG にあることが報告された (10)。

C. *O*-マンノース型糖鎖合成に関わる糖転移酵素

C-1. Protein *O*-mannosyltransferase

O-マンノース型糖鎖の合成は、タンパク質上の Ser/Thr 残基に Man が付加されることによって開始される。この酵素 (Protein *O*-mannosyltransferase) は、酵母 *Saccharomyces cerevisiae* において同定され、その性質が明らかにされた。酵母の *O*-マンノース転移は、小胞体の内腔でタンパク質上の Ser/Thr 残基に Dol-P-Man から Man が PMT 群の酵素によって転移されることで始まる (11)。酵母には同じような疎水性である 7 つの PMT ホモログ (Pmt1p ~ 7p) が知られている。疎水性から考えると、PMT は複数回膜貫通のタンパク質であると予測される。PMT 群は進化的に、PMT1、PMT2、PMT4 の亜群に分類される。PMT1 亜群の (Pmt1p と Pmt5p) は PMT2 亜群の (Pmt2 と Pmt3p) との間でヘテロ複合体を形成するが、PMT4 亜群には Pmt4p しかなく、これはホモ複合体を形成する (12)。Pmt1p ~ Pmt4p と Pmt6p は単独でも酵素活性をもつが、最大活性を発揮するためには複合体形成が必須である (12)。タンパク質の *O*-マンノース化は酵母の生存に必須であり、*O*-マンノース化が起これないと、細胞壁の構造や堅固さが保たれない。さらに病原性の真菌である *Candida albicans* では、病原性に関わることも知られている (13)。

PMT 遺伝子は、*Mycobacterium tuberculosis* の様な原核細胞から酵母、ショウジョウバエ、マウス、ヒトまで進化的に広く保存されている。ヒトには酵母の PMT ホモログとして *POMT1* と *POMT2* が報告されていた (14, 15)。遺伝子から予測されるアミノ酸配列は、いずれも複数回膜貫通のタンパク質であることを示唆している (15–17)。我々は、*POMT1* と *POMT2* は *O*-マンノース転移酵素であるが、酵素活性発現には *POMT1* と *POMT2* の両方の発現が必要であった (18, 19)。この事実は *POMT1*-*POMT2* のヘテロ複合体形成が必要であることを示している。*POMT1* と *POMT2* はヒトでは様々な組織で発現しているが、*POMT1* は胎児脳、精巣、骨格筋で強く発現し、*POMT2* は精巣で強く発現している (15, 17)。なお、*pomt1* の遺伝子破壊マウスは胎生致死となることから (20)、タンパク質の *O*-マンノシル化は正常な発生に必要な翻訳後修飾であることが分かる。

ショウジョウバエでもやはり二つの *POMT* ホモログ、*dPOMT1* と *dPOMT2* が知られている (15,17)。一方、*rt* と *tw* という筋形成とシナプス形成異常を示す変異体が知られている (21)。その後が、*rt* 遺伝子と *tw* 遺伝子は、それぞれ *dPOMT1* と *dPOMT2* であることが明らかになった (14, 15, 17, 22)。ヒトの場合と同様に *POMT* 活性発現には *dPOMT1* と *dPOMT2* の両方が必要であることが *in vitro* 系 (22) および *in*

dPOMT2 is required for glycosylation of DG *in vitro* (22) and *in vivo* (21,23). Thus, protein *O*-mannosylation is essential for muscle development in both human and flies.

Individual yeast PMTs have different specificities for protein substrates (11), suggesting the presence of a novel recognition mechanism by PMTs. Hutzler et al. reported (24) that Pmt4p mediates *O*-mannosylation of Ser/Thr-rich membrane-bound proteins, whereas Pmt1/Pmt2 complexes act on both soluble and membrane-bound proteins. However, *O*-mannosylation does not depend on the membrane-anchoring sequence, but it is flanked by a Ser/Thr-rich domain facing the endoplasmic reticulum (ER) lumen. The results suggest that yeast *O*-mannosylation does not require a specific sequence of a protein. On the other hand, the only well characterized *O*-mannosylated protein is α -DG in mammals. To address the regulation of mammalian *O*-mannosylation, we synthesized a series of peptides and examined whether these peptides worked as acceptors for protein *O*-mannosylation. Based on the *in vitro* results, we proposed a preferred amino acid sequence [IXPT(P/X)TXPXXXXPTX(T/X)XX] for mammalian *O*-mannosylation. A BLAST search for proteins with this sequence turned up only α -DG, suggesting that the primal *O*-mannosylated protein is α -DG (25). On the other hand, another group worked with recombinant fragments of α -DG and analyzed the *O*-mannosylation by *in vivo* assays. In contrast to *in vitro* study, *O*-mannosylation is a more complex regulation and is controlled by peptide regions within and upstream of the α -DG mucin domain (26). Further studies are necessary to clarify the regulatory mechanism of protein *O*-mannosylation.

C-2. Protein *O*-Mannose β 1,2-*N*-Acetylglucosaminyl-transferase

In unicellular eukaryotic organisms such as yeast, all *O*-mannosyl glycan structures elucidated so far are neutral linear glycans consisting of 1 to 7 mannose residues, oligomannose-type *O*-mannosyl glycans (27). A key difference between yeast and mammalian-type *O*-mannosyl glycans is that those in mammals have the GlcNAc β 1-2Man linkage. This linkage is catalyzed by a glycosyltransferase, UDP-GlcNAc: protein *O*-mannose β 1,2-*N*-acetylglucosaminyltransferase (POMGnT1). POMGnT1 catalyzes the transfer of GlcNAc from UDP-GlcNAc to *O*-mannosyl glycoproteins (28). We cloned the gene and characterized POMGnT1. The nucleotide sequence of human *POMGNT1* indicates that it encodes a 660 amino acid protein and is a type II membrane protein. As described above, mammalian *O*-mannosyl glycan has 2,6-substituted mannose. A gene for such a 6-branching enzyme (GnT-IX, GnT-VB) was shown to be specifically expressed in the brain (29–31).

vivo 系 (21, 23) で明らかになった。以上の結果、*O*-マンノース型糖鎖はヒト (脊椎動物) とハエ (無脊椎動物) を問わず筋形成において重要であることを示している。

酵母の各 PMT は、それぞれ基質とするタンパク質が異なる (11)。このことは PMT にはそれぞれの基質を認識する機構があると考えられる。そこで Hutzler らは、Pmt4p は膜結合型のタンパク質の Ser/Thr に富んだ領域を *O*-マンノシル化し、Pmt1p/Pmt2p 複合体は可溶性および膜結合性の両方のタンパク質を *O*-マンノシル化することを明らかにした (24)。しかしながら、*O*-マンノシル化は膜結合領域の配列に依存する訳ではなく小胞体の内腔側の Ser/Thr に富んだ領域で *O*-マンノース化が起こり、結局 *O*-マンノシル化は特異的なアミノ酸配列を要求するものではないことを報告した。一方、哺乳類では *O*-マンノシル化されているタンパク質として、 α -DG が良く知られている。そこで、哺乳類における *O*-マンノシル化機構を調べるために、我々は様々な配列を持つペプチドを合成し、*O*-マンノシル化の基質になるかどうか *in vitro* 系で調べた。その結果、[IXPT(P/X)TXPXXXXPTX(T/X)XX] というアミノ酸配列を好んで *O*-マンノシル化することが分かった。BLAST で検索すると、この配列に一致するのは α -DG だけであったことから、やはり α -DG は *O*-マンノシル化され易いタンパク質であると考えている (25)。一方、他のグループは α -DG の大きな断片を細胞に発現させ、*in vivo* 系での *O*-マンノシル化され易さを調べた。その結果、*in vitro* 系の結果と異なり、*O*-マンノシル化はもっと複雑な制御を受けており α -DG のムチン領域の上流部位によって制御を受けていることを報告した (26)。*O*-マンノシル化の制御機構の解明にはさらに検討が必要であろう。

C-2. Protein *O*-mannose β 1,2-*N*-acetylglucosaminyl-transferase

酵母のような有核単細胞の *O*-マンノース型糖鎖は、1～7 個の Man が直鎖上につながった構造をしている (27)。このような酵母でみられる *O*-マンノース型糖鎖と哺乳類で見られる *O*-マンノース型糖鎖の大きな違いは、哺乳類の *O*-マンノース型糖鎖は GlcNAc β 1-2Man 構造を持つことである。この構造を形成する GlcNAc 転移酵素は、POMGnT (Protein *O*-mannose β 1,2-*N*-acetylglucosaminyltransferase) である (28)。我々は酵素遺伝子のクローニングに成功し POMGnT1 の性質を明らかにした。POMGnT は UDP-GlcNAc から GlcNAc をタンパク質上の *O*-マンノース残基に転移する。そのヒト遺伝子は 660 アミノ酸からなるタンパク質をコードしており、II 型の膜タンパク質である。すでに述べた様に、哺乳類の *O*-マンノース型糖鎖には 2, 6 分岐した構造がある。この GlcNAc β 1-6Man 形成に関わる糖転移酵素がクローニングされ (GnT-IX、GnT-VB)、この遺伝子は脳特異的に発現している (29–31)。

Table I. Muscular dystrophies possibly caused by abnormal glycosylation.

Condition	Gene	Protein function	Gene locus	OMIM
Muscle-eye-brain disease (MEB)	<i>POMGNT1</i>	GlcNAc transferase	1p34-33	253280
Fukuyama congenital muscular dystrophy (FCMD)	<i>FKTN</i>	Putative glycosyltransferase	9q31	253800
Walker-Warburg syndrome (WWS)	<i>POMT1</i>	O-Mannosyltransferase	9q34.1	236670
MDC1C	<i>POMT2</i>		14q24.3	
Limb-girdle muscular dystrophy 2I (LGMD2I)	<i>FKRP</i>	Putative glycosyltransferase	19q13.3	606612
MDC1D	<i>LARGE</i>	Putative glycosyltransferase	22q12.3	607155
				608840

OMIM = Online Mendelian Inheritance in Man (<http://www.ncbi.nih.gov/>); MDC, muscular dystrophy, congenital.

D. Congenital Muscular Dystrophies and Glycosylation Defects

Aberrant glycosylation of α -DG is the primary cause of some forms of congenital muscular dystrophy (Table I). These diseases are called α -dystroglycanopathies. Hypoglycosylated α -DG has greatly reduced affinities for laminin, neurexin and agrin causing muscle cell degeneration and abnormal brain structure in the diseases listed in Table I.

D-1. Muscle-eye-brain disease (MEB)

Muscle-eye-brain disease (MEB) is an autosomal recessive disorder characterized by congenital muscular dystrophy, ocular abnormalities and brain malformation (type II or cobblestone lissencephaly). Mutations in the *POMGNT1* gene were first identified in patients with MEB (28). To confirm that the mutations observed in MEB are responsible for the defects in the synthesis of O-mannosyl glycan, we expressed all of the mutant proteins and found that none of them had enzymatic activity (28,32). Together, these findings indicate that MEB is inherited as a loss-of-function of the *POMGNT1* gene. If POMGnT1 does not work, no peripheral structure can be formed on O-mannosyl glycans. A selective deficiency of glycosylated α -DG in MEB patients was found, suggesting that α -DG is a potential target of POMGnT1 and that hypoglycosylation of α -DG may be the pathomechanism of MEB.

D-2. Walker-Warburg Syndrome (WWS)

Walker-Warburg syndrome (WWS) is another form of autosomal recessive condition characterized by congenital muscular dystrophy, structural brain defects, and eye malformations. Patients with WWS are severely affected from birth and usually die within their first year. At first only mutations in *POMT1* were found (33), but none had mutations in *POMT2*. However, it was speculated that mutations in *POMT2* could also lead to disease because POMT1 and POMT2 are both required to achieve protein O-mannosyltransferase activity (18). Recent works identified

D. O-マンノース型糖鎖異常と先天性筋ジストロフィー

α -DG の糖鎖異常は、ある病型の先天性筋ジストロフィー症の原因である (表 I)。これらの疾患群は、 α -ジストログリカノパチーと総称される。いずれの疾患も O-マンノース型糖鎖不全により α -DG とラミニン、ニューレキシン、アグリンなどとの結合が低下し、筋膜あるいは基底膜が脆弱となり筋ジストロフィーや脳奇形を発症すると考えられる。

D-1. Muscle-eye-brain (MEB) 病

MEB は、筋ジストロフィー、眼疾患、脳奇形 (II 型滑脳症) を特徴とする常染色体劣性遺伝病である。我々は、MEB 患者において *POMGNT1* 遺伝子の変異を見いだした (28)。これらの *POMGNT1* 遺伝子の変異が O-マンノース型糖鎖の合成不全をもたらすかどうかを調べたところ、変異を導入した遺伝子組換え型 *POMGnT1* は、すべて酵素活性を失っていた (28, 32)。これらの結果は、MEB は *POMGnT1* の機能喪失による O-マンノース型糖鎖不全疾患であることを示している。もし *POMGnT1* が働かなければ、上述した O-マンノース型糖鎖の様々な末端構造は形成されない。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は消失していた。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。

D-2. Walker-Warburg 症候群 (WWS)

WWS は、筋ジストロフィー、脳奇形、眼疾患を特徴とする別の常染色体劣性遺伝病である。WWS 患者は出生時から重篤であり、ほとんど一年以内に死亡してしまう。最初に WWS の原因遺伝子として *POMT1* が報告されたが (33)、*POMT2* の報告はなかった。しかしながら、我々が報告した様に、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 (18)、*POMT2* 変異による患者がいるのではないかと考えられた。その後

mutations in the *POMT2* gene in this syndrome (34,35). We have demonstrated that the mutations of *POMT1* or *POMT2* protein found in WWS patients abolished *O*-mannosyltransferase activity (35,36). WWS and MEB are clinically similar disorders, but WWS is a more severe syndrome than MEB. This may be because *POMT1* or *POMT2* mutations prevent the attachment of any *O*-mannosyl glycans to α -DG in WWS, while *POMGNT1* mutations permit the attachment of a single *O*-mannosyl residue to α -DG in MEB.

D-3. Fukuyama-Type Congenital Muscular Dystrophy (FCMD)

Like MEB and WWS, Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD) is characterized by with central nervous system involvement. Severe mental retardation and epilepsy are characteristic clinical features of FCMD, with brain showing polymicrogyria/pachygyria caused by altered neuronal migration. FCMD is the second most common form of muscular dystrophy in Japan. Kobayashi *et al.* identified the gene responsible for FCMD, which encodes a protein named fukutin (37). Sequence analysis of fukutin predicts it to be an enzyme that could modify glycoconjugates. Recently, fukutin was reported to be associated with POMGnT1 in the Golgi compartment (38). Transgenic knock-in mouse carrying a retrotransposon insertion in the *fukutin* gene showed a 30% reduction of POMGnT1 activity (38), suggesting that fukutin modulates POMGnT1 activity.

D-4. Congenital Muscular Dystrophy Type 1C (MDC1C) and Limb-Girdle Muscular Dystrophy 2I (LGMD2I)

Additionally, congenital muscular dystrophy type 1C (MDC1C) is caused by mutations in a homologue of fukutin (fukutin-related protein, *FKRP*) (39). MDC1C is characterized by a rapidly progressive muscle disease leading to a complete loss of muscle function and lethal respiratory insufficiency during the second decade (40). Mental retardation and cerebellar cysts have been observed in some patients. In contrast, allelic mutations in the *FKRP* gene cause a milder and more common form of myopathy, named limb-girdle muscular dystrophy 2I (LGMD2I), with a variable onset ranging from adolescence to adulthood (41). Although the function of *FKRP* is unknown, it is suggested that *FKRP* is involved in the glycosylation of α -DG as a glycosyltransferase or a kind of modulator. Recently, *FKRP* was reported to be associated with the sarcolemmal dystrophin-glycoprotein complex (42).

D-5. Congenital Muscular Dystrophy Type 1D (MDC1D)

Finally, the gene *large*, which is mutated in the myodystrophy (*Large^{myd}*) mouse, encodes a putative glycosyltransferase (43). However, its biochemical activity has not yet been confirmed. The *Large^{myd}* mouse showed a progressive muscular dystrophy, ocular defects, and a central nervous system phenotype characterized by abnormal

POMT2 変異の患者が報告された (34, 35)。我々は患者で見いだされた *POMT1* と *POMT2* の変異酵素活性を調べた結果、すべて触媒活性を失っていた (35, 36)。これは、WWS も MEB と同様 *O*-マンノース型糖鎖不全疾患であることを示している。WWS と MEB は臨床的に似た疾患であるが、一般的に MEB に比較して WWS の症状の方が重い。*POMT1* あるいは *POMT2* 変異である WWS では、 α -DG の *O*-マンノース型糖鎖は全く付かず、*POMGNT1* 変異である MEB では Man だけは付加されるからであろう。

D-3. 福山型先天性筋ジストロフィー (FCMD)

MEB や WWS と同じように FCMD は、先天性筋ジストロフィー、滑脳症と眼奇形を特徴とする。知能発達遅延やてんかん発作もしばしば認められ、神経細胞の移動傷害による無脳回や厚脳回といった脳奇形を示す。FCMD は日本においてデュシェンヌ型筋ジストロフィーに次いで多い小児筋ジストロフィーである。小林らは FCMD の原因遺伝子を特定し、それは fukutin と名付けたタンパク質をコードしていることを明らかにした (37)。アミノ酸の配列情報によると、fukutin は糖鎖修飾に関わる分子であることを予測させる。最近、fukutin はゴルジ体において POMGnT1 と複合体を形成することが明らかになった (38)。FCMD 患者に最も多くみられる 3' 非翻訳領域における 3kb のレトロトランスポゾン挿入変異を導入したノックインマウスの POMGnT1 活性は、野生型マウスと比較して約 30% 低下していた (38)。この結果から、fukutin は POMGnT1 と相互作用して酵素活性に影響を与えていることが示唆された。

D-4. 先天性筋ジストロフィー 1C 型 (MDC1C) と肢帯型筋ジストロフィー 2I 型 (LGMD2I)

先天性筋ジストロフィー 1C 型 (MDC1C) は、fukutin のホモログ (fukutin-related protein, *FKRP*) の変異による疾患である (39)。MDC1C は青年期における重篤な筋衰弱と変性、呼吸不全症を特徴とする (40)。精神遅延や小脳嚢胞が観察されることもある。*FKRP* 遺伝子の対立変異は、しばしば心筋症を併発し、青年期から成人期と幅広い発症時期を示す肢帯型筋ジストロフィー 2I 型 (LGMD2I) の原因でもある (41)。*FKRP* の機能は不明だが、糖転移酵素あるいは糖鎖修飾調節因子として α -DG の糖鎖修飾に関与すると考えられている。最近 *FKRP* は筋細胞膜に存在しジストロフィン-糖タンパク質複合体と結合していることが報告された (42)。

D-5. 先天性筋ジストロフィー 1D 型 (MDC1D)

最後に、おそらく糖転移酵素をコードしていると思われる *large* 遺伝子の変異による筋ジストロフィーモデルマウス (*Large^{myd}*) を紹介する (43)。*large* 遺伝子産物の生化学的な性質は明らかになっていない。*Large^{myd}* マウスは、進行性の筋ジストロフィー、眼の異常、さらに大脳皮質、小脳、海馬での神経細胞の遊走異常と基底膜の亀裂を特徴とする中枢神経

neuronal migration in the cerebral cortex, cerebellum and hippocampus, and disruption of the basal lamina (8,44). Mutations in the *LARGE* gene cause congenital muscular dystrophy type 1D (MDC1D) with a variable degree of mental retardation and brain abnormalities (45). A study revealed that *LARGE* can functionally bypass α -DG glycosylation defects in many congenital muscular dystrophies, including FCMD, MEB, and WWS (46). Manipulation of α -DG glycosylation by *LARGE* may provide new therapeutic potential for α -dystroglycanopathies.

E. Congenital Disorders of Glycosylation (CDG)

As described, aberrant *O*-mannosylation of α -DG causes congenital muscular dystrophy. Lastly, I will introduce defects in general glycosylation pathway and human diseases briefly.

Congenital disorders of glycosylation (CDG) are clinically and genetically heterogeneous group of disorders resulting from abnormal glycosylation. The first patients were described in 1980. Since then, about 40 diseases have been identified (47). Originally CDG was thought to be diseases of protein hypo-*N*-glycosylation. However, disorders are now known to be due to defects not only in *N*-glycans but also in *O*-glycans, or both on proteins. Further, defects of lipid glycosylation have been reported. Due to the limited space, all diseases cannot be described here. CDG type I is caused by defects of the assembly of lipid-linked oligosaccharides, whereas CDG type II is caused by defects of trimming and elongating of *N*-glycans involving in nucleotide-transporters. The molecular nature of 14 CDG-I types (CDG-Ia to CDG-In) and 8 CDG-II types (CDG-IIa to CDG-IIh) has been identified.

Recently, abnormalities of intracellular trafficking and organelle pH also caused defects in glycosylation. Conserved oligomeric Golgi (COG) complex is an eight subunit (COG1-8) peripheral Golgi membrane hetero-oligomeric protein complex and involved in retrograde vesicular Golgi trafficking. In 2004, Wu *et al.* reported the first patients with a defect in the COG7 subunit by studying of a previously uncharacterized CDG-II (48). Continuously, patients with defects in other subunits 1, 8, 4, and 5 were described (49,50). It is well known that the maturation of glycans is occurred through from the ER to Golgi involving in many glycosidases and glycosyltransferases. Deficiencies in retrograde vesicular trafficking Golgi proteins as a cause of glycosylation abnormalities highlighted that the glycosylation process is much more complicated.

Autosomal recessive cutis laxa type II (ARCL II)-causing mutations were identified in the *ATP6V0A2* gene, encoding the α 2 subunit of the vesicular H^+ -ATPase (V-ATPase) (51). Patients with ARCL II showed a combined

系の異常を起こす (8, 44)。 *LARGE* の変異による精神遅延と脳奇形を伴う先天性筋ジストロフィー 1D 型 (MDC1D) が報告された (45)。なお *LARGE* 強制発現により、FCMD、MEB、WWS 疾患などの α -DG の糖鎖が回復し、ラミニンとの結合能も上昇するという (46)。 *LARGE* による糖鎖付加の亢進は、 α -ジストログリカノパチーの新たな治療法につながる可能性がある。

E. 先天性グリコシル化異常症 (CDG)

前述したように、 α -DG の *O*-マンノシル化の異常は先天性筋ジストロフィー症を引き起こす。そこで最後に、他の糖鎖異常疾患として先天性グリコシル化異常症について簡単に述べる。

先天性グリコシル化異常症 (Congenital disorders of glycosylation : CDG) は、糖鎖の付加異常によって起こる臨床的にも遺伝子的にも幅広い疾患群である。1980 年に最初の報告があり、その後現在までに 40 種類以上の CDG のタイプが報告されている (47)。発見当初は、タンパク質の *N*-型糖鎖不全による疾患と考えられていた。しかしながら、その後の研究の進展により、*N*-型糖鎖ばかりでなく *O*-型糖鎖、あるいは両方の糖鎖異常の疾患も見つかった。さらに糖脂質の糖鎖不全も報告された。本稿では全てを紹介することはできないことをお断りする。二つのタイプに分類され、CDG-I 型と呼ばれる糖鎖前駆体のオリゴ糖脂質中間体がうまくできないことによるタイプと、CDG-II 型と呼ばれる糖鎖のプロセッシング過程や糖ヌクレオチド輸送体異常などに起因するタイプがある。これまで 14 種類の CDG-I 型 (CDG-Ia ~ CDG-In) と、8 種類の CDG-II 型 (CDG-IIa ~ CDG-IIh) が報告されている。

最近、細胞内輸送過程やオルガネラの pH など糖鎖異常を引き起こすことが明らかになった。Conserved oligomeric Golgi (COG) 複合体は、8 つのサブユニット (COG1-8) から構成され、ゴルジが関与する逆行輸送を行う。2004 年に Wu らは、それまで原因が分からなかった CDG-II 型疾患の解析を進め、COG7 の異常が原因であることを明らかにした (48)。その後、次々と他のサブユニット 1, 8, 4, 5 が原因である CDG が報告された (49, 50)。糖鎖は細胞内で小胞体からゴルジを通過する際に、多くの糖鎖分解酵素や糖転移酵素の働きを受け成熟することは良く知られている。ゴルジタンパク質の逆行輸送の異常が糖鎖異常の原因となることは、改めて糖鎖のプロセッシング過程は予想以上の複雑な制御を受けていることを示している。

常染色体劣性皮膚弛緩症 II 型 (Autosomal recessive cutis laxa type II : ARCL II) の原因遺伝子は、小胞 H^+ -ATPase (V-ATPase) の α 2 サブユニットをコードする *ATP6V0A2* 遺伝子である (51)。ARCL II 患者は、*N*-型糖鎖と *O*-型糖鎖の両方に

defect in *N*- and *O*-glycosylation. The mechanism by which mutations of V-ATPase affect glycosylation remained to be elucidated. Defects in pH regulation of organelle by proton transport may be considered, because change of pH in the Golgi apparatus caused redistribution of glycosyltransferases (52,53). A recent study supported above hypothesis because an anion channel (GPHR) modulated Golgi functions including in glycosylation through regulation of acidification (54). Taken together, the CDG studies indicate that correct glycosylation of proteins is essential for normal development.

F. Concluding Remarks

In summary, *O*-mannosylation is important in muscle and brain development. Interestingly, recent studies suggest α -DG *O*-mannosylation is relevant to other diseases. For example, *O*-mannosylation is important for infection of the arenavirus family including the Lassa fever virus and lymphocytic choriomeningitis virus (55,56). Also changes in α -DG *O*-mannosylation may play a role in cancer progression (57,58). These results indicate that α -DG *O*-mannosylation is an important posttranslational modification.

At present, of the six known α -dystroglycanopathy genes, the functions of the protein products are clear only for POMT1, POMT2, and POMGnT1 (Table I). Further, a recent cohort study revealed many patients with α -dystroglycanopathy having mutations in any known genes (59). Identification of the other genes and elucidation their function may reveal how α -DG glycosylation contributes to muscular dystrophy and how normal glycosylation restores functions of α -DG (Fig. 1). Finally, established mouse models for α -dystroglycanopathy will help our understanding

異常がみられる。V-ATPase の変異によって、何故糖鎖異常が起こるか詳細は不明である。ゴルジ体の pH の変化は、糖転移酵素の分布に影響を与えることは良く知られているので (52,53)、プロトン輸送異常によるオルガネラ pH の制御不全が原因と考えられる。最近の陰イオンチャネル (GPHR) がオルガネラの pH 調節に関与し糖鎖修飾に影響を与えるという報告は (54)、この仮説を支持する。以上より、CDG 研究はタンパク質の正確な糖鎖修飾の生物学的意義を明示する研究の一つである。

F. まとめ

以上まとめると、タンパク質の *O*-マンノシル化は、筋や脳の発育形成に必須な翻訳後修飾である。興味深いことに、最近 α -DG の *O*-マンノシル化は他の疾患にも関係することが分かった。例えば、ラッサ熱ウイルスやリンパ球脈絡髄膜炎ウイルスなどのアレナウイルス族の感染に重要である (55, 56)。また、 α -DG の *O*-マンノシル化の変化は、がんの進行に関わることも報告された (57, 58)。これらの結果も、タンパク質の *O*-マンノシル化は重要な翻訳後修飾であることを示している。

現在 6 種の α -ジストログリカノパチーの原因遺伝子のうち、機能が明らかになっているのは、POMT1、POMT2、POMGnT1 だけである (表 I)。さらに、最近の α -ジストログリカノパチーのコホート研究によると、原因遺伝子が不明である患者が依然として多いという (59)。これら未解明の原因遺伝子の同定やその機能解明は、 α -DG の糖鎖修飾がどのように α -ジストログリカノパチーの病理に関わり、 α -DG の機能に関わるか明らかにすることに貢献するであろう (図 1)。最後に最近開発された α -ジストログリカノパチーのモデルマウスは

Fig. 1. Proposed *O*-mannosyl glycan processing. POMT1 and POMT2 form a hetero-complex to express protein *O*-mannosyl-transferase activity in the ER. After *O*-mannosylated DG is transported to the Golgi, and then POMGnT1 forms a GlcNAc β 1-2Man linkage. Then uncharacterized galactosyltransferase (Gal-T) and sialyltransferase (Sia-T) act on *O*-mannosyl glycan. DG having mature *O*-mannosyl glycan is located on the cell surface and binds to extracellular matrix proteins such as laminin. Recent studies suggest that fukutin is associated with POMGnT1, and that Large and FKR are associated with the DG, although the details are still unclear.

between glycosylation and pathophysiology of these diseases and developing new therapies for incomplete glycosylation-induced α -dystroglycanopathies (60-62).

Acknowledgement

I thank Drs. Akemi Suzuki and Makoto Kiso for the suggestions in writing the article to celebrate the 30th Anniversary of Japanese Society of Carbohydrate Research.

References

- Barresi, R., and Campbell, K. P. (2006) *J. Cell Sci.* **119**, 199–207.
- Cote, P. D., Moukhles, H., Lindenbaum, M., and Carbonetto, S. (1999) *Nat. Genet.* **23**, 338–342.
- 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., and Campbell, K. P. (2002) *Cell* **110**, 639–648.
- 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., and Campbell, K. P. (2002) *Nature* **418**, 422–425.
- 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., and Campbell, K. P. (2003) *Neuron* **38**, 747–758.
- Deng, W. M., Schneider, M., Frock, R., Castillejo-Lopez, C., Gaman, E. A., Baumgartner, S., and Ruohola-Baker, H. (2003) *Development* **130**, 173–184.
- Parsons, M. J., Campos, I., Hirst, E. M., and Stemple, D. L. (2002) *Development* **129**, 3505–3512.
- Michele, D. E., and Campbell, K. P. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 15457–15460.
- Chiba, A., Matsumura, K., Yamada, H., Inazu, T., Shimizu, T., Kusunoki, S., Kanazawa, I., Kobata, A., and Endo, T. (1997) *J. Biol. Chem.* **272**, 2156–2162.
- Yoshida-Moriguchi, T., Yu, L., Stalnakier, S. H., Davis, S., Kunz, S., Madson, M., Oldstone, M. B., Schachter, H., Wells, L., and Campbell, K. P. (2010) *Science* **327**, 88–92.
- Lehle, L., Strahl, S., and Tanner, W. (2006) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **45**, 6802–6818.
- Girrbach, V., and Strahl, S. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 12554–12562.
- Timpel, C., Strahl-Bolsinger, S., Ziegelbauer, K., and Ernst, J. F. (1998) *J. Biol. Chem.* **273**, 20837–20846.
- Jurado, L. A., Coloma, A., and Cruces, J. (1999) *Genomics* **58**, 171–180.
- Willer, T., Amselgruber, W., Deutzmann, R., and Strahl, S. (2002) *Glycobiology* **12**, 771–783.
- Manya, H., Akasaka-Manya, K., Nakajima, A., Kawakita, M., and Endo, T. (2010) *J. Biochem.* **147**, 337–344.
- Martin-Blanco, E., and Garcia-Bellido, A. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**, 6048–6052.
- Manya, H., Chiba, A., Yoshida, A., Wang, X., Chiba, Y., Jigami, Y., Margolis, R. U., and Endo, T. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 500–505.
- Akasaka-Manya, K., Manya, H., Nakajima, A., Kawakita, M., and Endo, T. (2006) *J. Biol. Chem.* **281**, 19339–19345.
- 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., and Cruces, J. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **101**, 14126–14131.
- Wairkar, Y. P., Fradkin, L. G., Noordermeer, J. N., and DiAntonio, A. (2008) *J. Neurosci.* **28**, 3781–3789.
- Ichimiya, T., Manya, H., Ohmae, Y., Yoshida, H., Takahashi, K., Ueda, R., Endo, T., and Nishihara, S. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 42638–42647.
- Nakamura, N., Stalnakier, S. H., Lyalin, D., Lavrova, O., Wells, L., and Panin, V. M. (2010) *Glycobiology* **20**, 381–394.
- Hutzler, J., Schmid, M., Bernard, T., Henrissat, B., and Strahl, S. (2007) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **104**, 7827–7832.
- Manya, H., Suzuki, T., Akasaka-Manya, K., Ishida, H. K., Mizuno, M., Suzuki, Y., Inazu, T., Dohmae, N., and Endo, T. (2007) *J. Biol. Chem.* **282**, 20200–20206.
- Breloy, I., Schwientek, T., Gries, B., Razawi, H., Macht, M., Albers, C., and Hanisch, F. G. (2008) *J. Biol. Chem.* **283**, 18832–18840.
- Strahl-Bolsinger, S., Gentzsch, M., and Tanner, W. (1999) *Biochim. Biophys. Acta* **1426**, 297–307.
- Yoshida, A., Kobayashi, K., Manya, H., Taniguchi, K., Kano, H., Mizuno, M., Inazu, T., Mitsushashi, H., Takahashi, S., Takeuchi, M., Hermann, R., Straub, V., Talim, B., Voit, T., Topaloglu, H., Toda, T., and Endo, T. (2001) *Dev. Cell* **1**, 717–724.
- Inamori, K., Endo, T., Ide, Y., Fujii, S., Gu, J., Honke, K., and Taniguchi, N. (2003) *J. Biol. Chem.* **278**, 43102–43109.
- Kaneko, M., Alvarez-Manilla, G., Kamar, M., Lee, I., Lee, J. K., Troupe, K., Zhang, W., Osawa, M., and Pierce, M. (2003) *FEBS. Lett.* **554**, 515–519.
- Inamori, K., Endo, T., Gu, J., Matsuo, I., Ito, Y., Fujii, S., Iwasaki, H., Narimatsu, H., Miyoshi, E., Honke, K., and Taniguchi, N. (2004) *J. Biol. Chem.* **279**, 2337–2340.
- Manya, H., Sakai, K., Kobayashi, K., Taniguchi, K., Kawakita, M., Toda, T., and Endo, T. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **306**, 93–97.
- 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., and Brunner, H. G. (2002) *Am. J. Hum. Genet.* **71**, 1033–1043.
- 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., and van Bokhoven, H. (2005) *J. Med. Genet.* **42**, 907–912.
- Manya, H., Bouchet, C., Yanagisawa, A., Vuillaumier-Barrot, S., Quijano-Roy, S., Suzuki, Y., Maugenre, S., Richard, P., Inazu, T., Merlini, L., Romero, N. B., Leturcq, F., Bezier, I., Topaloglu, H., Estournet, B., Seta, N., Endo, T., and Guicheney, P. (2008) *Neuromuscul. Disord.* **18**, (60-62), α -ジストログリカノパチーにおける糖鎖と病態の関係や、糖鎖不全疾患である α -ジストログリカノパチーの新たな治療法の開発に貢献することが期待される。

謝辞

日本糖質学会創立 30 周年の記念号発刊に当り、本稿の執筆の機会を与えて頂きました鈴木明身博士と木曾真博士に感謝申し上げます。

45–51.

36. Akasaka–Manya, K., Manya, H., and Endo, T. (2004) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **325**, 75–79.
37. 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., and Toda, T. (1998) *Nature* **394**, 388–392.
38. 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., and Toda, T. (2006) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **350**, 935–941.
39. 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., and Muntoni, F. (2001) *Am. J. Hum. Genet.* **69**, 1198–1209.
40. Quijano–Roy, S., Galan, L., Ferreira, A., Cheliout–Heraut, F., Gray, F., Fardeau, M., Barois, A., Guicheney, P., Romero, N. B., and Estournet, B. (2002) *Neuromuscul. Disord.* **12**, 466–475.
41. 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., and Muntoni, F. (2001) *Hum. Mol. Genet.* **10**, 2851–2859.
42. Beedle, A. M., Nienaber, P. M., and Campbell, K. P. (2007) *J. Biol. Chem.* **282**, 16713–16717.
43. Holzfeind, P. J., Grewal, P. K., Reitsamer, H. A., Kechvar, J., Lassmann, H., Hoeger, H., Hewitt, J. E., and Bittner, R. E. (2002) *Hum. Mol. Genet.* **11**, 2673–2687.
44. Grewal, P. K., Holzfeind, P. J., Bittner, R. E., and Hewitt, J. E. (2001) *Nat. Genet.* **28**, 151–154.
45. 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., and Muntoni, F. (2003) *Hum. Mol. Genet.* **12**, 2853–2861.
46. 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., and Campbell, K. P. (2004) *Nat. Med.* **10**, 696–703.
47. Jaeken, J., Hennet, T., Matthijs, G., and Freeze, H. H. (2009) *Biochim. Biophys. Acta* **1792**, 825–826.
48. Wu, X., Steet, R. A., Bohorov, O., Bakker, J., Newell, J., Krieger, M., Spaapen, L., Kornfeld, S., and Freeze, H. H. (2004) *Nat. Med.* **10**, 518–523.
49. Foulquier, F. (2009) *Biochim. Biophys. Acta* **1792**, 896–902.
50. Paesold-Burda, P., Maag, C., Troxler, H., Foulquier, F., Kleinert, P., Schnabel, S., Baumgartner, M., and Hennet, T. (2009) *Hum. Mol. Genet.* **18**, 4350–4356.
51. Kornak, U., Reynders, E., Dimopoulou, A., van Reeuwijk, J., Fischer, B., Rajab, A., Budde, B., Nurnberg, P., Foulquier, F., Lefeber, D., Urban, Z., Gruenewald, S., Annaert, W., Brunner, H. G., van Bokhoven, H., Wevers, R., Morava, E., Matthijs, G., Van Maldergem, L., and Mundlos, S. (2008) *Nat. Genet.* **40**, 32–34.
52. Rivinoja, A., Hassinen, A., Kokkonen, N., Kauppila, A., and Kellokumpu, S. (2009) *J. Cell. Physiol.* **220**, 144–154.
53. Axelsson, M. A., Karlsson, N. G., Steel, D. M., Ouwendijk, J., Nilsson, T., and Hansson, G. C. (2001) *Glycobiology* **11**, 633–644.
54. Maeda, Y., Ide, T., Koike, M., Uchiyama, Y., and Kinoshita, T. (2008) *Nat. Cell Biol.* **10**, 1135–1145.
55. Imperiali, M., Thoma, C., Pavoni, E., Brancaccio, A., Callewaert, N., and Oxenius, A. (2005) *J. Virol.* **79**, 14297–14308.
56. Kunz, S., Rojek, J. M., Kanagawa, M., Spiropoulou, C. F., Barresi, R., Campbell, K. P., and Oldstone, M. B. (2005) *J. Virol.* **79**, 14282–14296.
57. Bao, X., Kobayashi, M., Hatakeyama, S., Angata, K., Gullberg, D., Nakayama, J., Fukuda, M. N., and Fukuda, M. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **106**, 12109–12114.
58. de Bernabe, D. B., Inamori, K., Yoshida-Moriguchi, T., Weydert, C. J., Harper, H. A., Willer, T., Henry, M. D., and Campbell, K. P. (2009) *J. Biol. Chem.* **284**, 11279–11284.
59. 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., and Muntoni, F. (2007) *Brain* **130**, 2725–2735.
60. Liu, J., Ball, S. L., Yang, Y., Mei, P., Zhang, L., Shi, H., Kaminski, H. J., Lemmon, V. P., and Hu, H. (2006) *Mech. Dev.* **123**, 228–240.
61. 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., and Toda, T. (2009) *Hum. Mol. Genet.* **18**, 621–631.
62. Miyagoe-Suzuki, Y., Masubuchi, N., Miyamoto, K., Wada, M. R., Yuasa, S., Saito, F., Matsumura, K., Kanesaki, H., Kudo, A., Manya, H., Endo, T., and Takeda, S. (2009) *Mech. Dev.* **126**, 107–116.

Profile of the Author

Tamao Endo graduated from the Faculty of Pharmaceutical Sciences, the University of Tokyo in 1977 and obtained his Ph.D. at the same institution in 1982 (Prof. Shoshichi Nojima). He was a postdoctoral fellow at the Baylor College of Medicine (Prof. Donald M. Marcus), and a research associate in the Institute of Medical Science, the University of Tokyo (Prof. Akira Kobata). Since 1994, he has been the head of Department of Glycobiology, Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology (TMIG). His current research interests are glycobiology on aging, dementia, and development.