

コンドロイチン硫酸鎖による骨格筋分化と神経可塑性の制御

北川 裕之

神戸薬科大学・生化学研究室/神戸大学 G-COE

コンドロイチン硫酸(CS)鎖は、様々な細胞増殖因子や細胞外マトリックス成分と相互作用し、細胞接着、移動、増殖、分化、形態形成といった様々な細胞活動を制御している。これら CS の機能発現は、生合成によって厳密に調節されていると考えられている。実際、CS の生合成に関与する酵素遺伝子の変異が、様々な疾患を引き起こすことも見いだされている。本講演では、CS 鎖による骨格筋分化と神経可塑性の制御機構に関する我々の最近の成果をお話ししたい。

コンドロイチン硫酸鎖による骨格筋分化の制御

我々は以前、コンドロイチンの発現が減少した線虫初期胚では、一度分裂した細胞が再度融合し、多核となって死に至ることを明らかにしている(1)。また、最近の研究で、CS を含むグリコサミノグリカン多糖の生合成に必須であるグルクロン酸転移酵素 I が欠損したマウスの初期胚においても、同様の細胞分裂異常が観察されることを明らかにした(2)。これらの報告は、時間的空間的に発現制御された CS が、初期胚の細胞質分裂といった限定した現象に関与するのみならず、多核化を伴うその他の細胞分化過程にも関与している可能性を想起させた。そこで我々は、生体内で多核化というステップを経る骨格筋の分化に着目した。骨格筋は、間葉系幹細胞が筋芽細胞へと分化し、筋芽細胞が互いに融合することにより多核の筋管が形成され、やがて成熟した筋線維となる。我々は、筋芽細胞が融合し、多核の筋管を形成する過程において CS が減少することが重要なのではないかと予測し、*in vitro* で骨格筋分化過程を再現できる C2C12 細胞を用いて CS の発現変動を調べた。分化誘導した C2C12 細胞から経時的に抽出・精製した CS の二糖組成を HPLC により解析したところ、CS の二糖総量は分化誘導後の初期段階において、培養日数の経過に伴い増加する傾向を示した。しかしながら、ミオシン重鎖陽性細胞の割合が増加し、多核の細胞が出現し始める筋分化過程の最終段階においては、むしろ減少する傾向を示した。これらの結果から、CS 鎖総量の減少が筋芽細胞の融合と多核化に重要な役割を果たしていることが考えられた。さらに、筋損傷における筋再生や筋ジストロフィーなどの筋原性疾患に対する治療への応用の可能性についても検討した。

コンドロイチン硫酸鎖による神経可塑性の制御

神経可塑性とは、新たな経験によって脳が神経回路を再編成する能力のことである。脳は臨界期と呼ばれる生後初期の一定期間にのみ高い可塑性を示すが、成体において可塑性が低下する機構はよく分かっていない。多くの研究から、興奮性と抑制性の神経回路のバランスによって、臨界期が調節されることが示されている。特に、パルブアルブミンというカルシウム結合タンパク質を発現する抑制性神経細胞 (PV 細胞) が臨界期可塑性に大きく貢献すると考えられている。

CS は脳の発生に伴い PV 細胞の周囲に濃縮し、ペリニューロナルネット (PNN) と呼ばれる特殊な細胞外マトリックスを形成する。CS の PNN への濃縮は、生後の比較的遅い時期に開始され、臨界期の終了後に完了する。臨界期の終了した成体に、CS 鎖を分解する酵素であるコンドロイチナーゼ ABC を注入し、PNN を除去すると、視覚野の可塑性が回復する。また、脊髄損傷を起こした動物にコンドロイチナーゼ ABC を投与することで、損傷神経の再生が劇的に回復することからも、CS は、可塑性や軸索再生を阻害する物理的障壁であると認識されている。しかしながら、特定の CS が軸索伸長を促進することも知られており、このような CS の機能多様性の少なくとも一部は、CS 鎖の構造多様性に起因すると考えられている。

CS 鎖はグルクロン酸と *N*-アセチルガラクトサミン (GalNAc) の二糖が数十回交互に繰り返し重合した直鎖状の糖鎖を基本骨格にもつ。生合成過程で GalNAc 残基の大部分は、その 6 位もしくは 4 位が、コンドロイチン 6-*O*-硫酸基転移酵素 (C6ST-1) もしくはコンドロイチン 4-*O*-硫酸基転移酵素によって硫酸化される。そこでまず我々は、脳の発生に伴う CS 鎖の硫酸化パターンの変動を解析した。その結果、6 硫酸化 CS は発生初期に多く存在し、発生に伴い減少するのに対し、4 硫酸化 CS は発生に伴い増加し、結果として 6 硫酸化 CS に対する 4 硫酸化 CS の比率 (4S/6S 比) が顕著に増加することが分かった。マウス視覚野では、臨界期を挟んで、この 4S/6S 比の変動が起こることから、CS 硫酸化パターンの変動によって、臨界期が調節されるのではないかと考えた。そこで、この仮説を検証するため、C6ST-1 を過剰発現するトランスジェニック (TG) マウスを作成した。成体の野生型マウス視覚野では、ほとんどの PV 細胞が WFA レクチン陽性の PNN によって覆われるが、C6ST-1 TG マウスでは、WFA 陽性の PNN 数が減少していた。さらに、C6ST-1 TG マウスは成体においても、視覚野の可塑性を維持していた。これらの結果から、発生に伴う CS 鎖の硫酸化パターンの変動が、正常な PNN 形成、および、臨界期の終了に必要なことを示された (3)。

参考文献

- 1) Mizuguchi, S., Uyama, T., Kitagawa, H., Nomura, K. H., Dejima, K., Gengyo-Ando, K., Mitani, S., Sugahara, K., and Nomura, K. (2003) *Nature* **423**, 443-448
- 2) Izumikawa, T., Kanagawa, N., Watamoto, Y., Okada, M., Saeki, M., Sakano, M., Sugahara, K., Sugihara, K., Asano, M., and Kitagawa, H. (2010) *J. Biol. Chem.* **285**, 12190-12196
- 3) Miyata, S., Komatsu, Y., Yoshimura, Y., Taya, C., and Kitagawa, H. (2012) *Nature Neurosci.*
Published online: 15 January (doi: 10.1038/nn.3023)