

糖脂質ガングリオシドが脳の形成に必須であることを解明

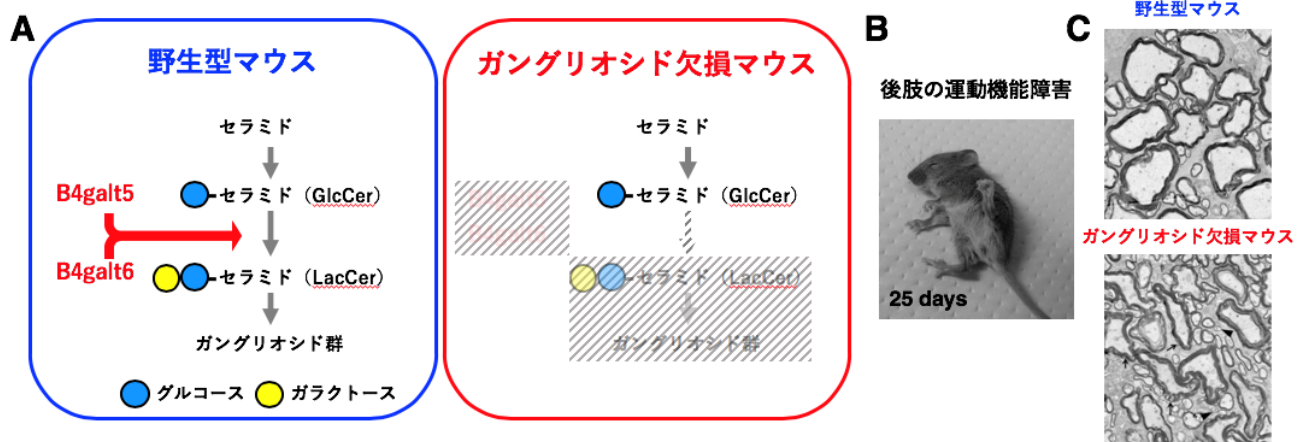
—神経系の構築異常のモデルを提示—

概要

脳内に豊富に存在する糖脂質「ガングリオシド群」の生合成の鍵となる酵素は、従来はひとつのみと考えられていました。京都大学大学院医学研究科附属動物実験施設の吉原亨 特定助教、浅野雅秀 同教授、九州大学の伊東信 教授、沖野望 同准教授、金沢医科大学の八田稔久 教授、中部大学の古川鋼一 教授などの研究グループは、そのような酵素が、マウスの脳では2つのガラクトース転移酵素（B4galt5 と B4galt6）であることを発見しました。教科書の記述に変更を迫る成果と言えます。

さらに、この2つの遺伝子を脳でのみ欠損するマウス（ガングリオシド欠損マウス）を作製したところ、授乳期に運動失調を示し、離乳期（4週齢）までにすべて死亡しました。このガングリオシド欠損マウスの脳を詳しく解析したところ、神経系の構築（神経軸索とそれを取り巻くミエリン鞘の形成）に異常が見られ、生後の運動失調を引き起こしたことが示唆されました。また、神経幹細胞の培養実験から、このマウスの神経細胞では、ガングリオシドが欠損したために増殖シグナルが伝わらないことが分かりました。以上の結果から、ガングリオシド群が脳の形成に必須であることが明らかになりました。本研究が、小児の神経系の構築異常のモデルになることが期待されます。

本成果は、2018年8月16日に米国の学術誌「PLOS Genetics」のオンライン版に掲載されました。



- (A) セラミドからガングリオシド群が生合成される経路。B4galt5 と B4galt6 は GlcCer にガラクトースを転移して LacCer を合成する LacCer 合成酵素として働く。ガングリオシド欠損マウスの脳ではこの2つの遺伝子が欠損するので LacCer 合成酵素が完全に消失し、LacCer や下流のガングリオシド群が合成されない。
- (B) 後肢に運動機能障害を生じたガングリオシド欠損マウス（生後25日齢）。
- (C) 野生型マウスとガングリオシド欠損マウスの脊髄の電子顕微鏡写真。ガングリオシド欠損マウスでは神経軸索が変形しており、ミエリン鞘が巻いていない軸索や巻き方が緩い軸索が多くみられる。

1. 背景

ガングリオシドは細胞膜に存在する糖脂質に含まれる分子群で、セラミドに順次単糖、特にシアル酸が付加したものです。哺乳類の脳内には豊富に存在し、単糖の付加様式によって多様な分子が存在するので、それぞれのガングリオシドが神経系で機能を持っていると考えられています。そこで、本研究ではガングリオシド全体を欠損させるために、ガングリオシド群の生合成の出発点にあるラクトシルセラミド (LacCer) に注目しました。ラットの研究から LacCer の合成を担う酵素はガラクトース転移酵素の B4galt6 であるとの報告がありましたが、B4galt6 欠損マウスは特に異常を生じませんでした (Tokuda *et al*, Glycobiology、23: 1175-1183、2013)。一方、我々の研究から B4galt5 欠損マウスは出生前に致死となることがわかっていました (Nishie *et al*, Glycobiology、20: 1311-1322、2010)。そこで本研究では、脳でのみ B4galt5 と B4galt6 を欠損するマウスの作製を試みました。

2. 研究手法・成果

我々が作製した B4galt5 を全身で欠損したマウスは出生前に致死となったので、成体での神経系の機能が研究できませんでした。そこで Cre-loxP という方法を用いて、出生後に神経系細胞でのみ B4galt5 を欠損するマウスを作製しましたが、顕著な異常は検出されませんでした。一方、共同研究者の古川教授らが全身で B4galt6 を欠損するマウスを作製しましたが、これも特に異常は見られませんでした。そこで両方のマウスを交配して脳でのみ B4galt5 と B4galt6 が欠損するマウスを作製しました。脳内での LacCer 合成酵素活性は、それぞれ単独に欠損した場合は約半分に減少しましたが、両方が欠損したマウスでは完全に消失しました。すなわち、マウスの脳では B4galt5 と B4galt6 の両方が、LacCer 合成酵素の活性を担うことがわかりました。こうして LacCer 合成酵素が欠損したので、脳内のガングリオシドの産生もなくなり、ガングリオシド欠損マウスの作製に成功しました。

ガングリオシド欠損マウスの脊髄の神経軸索は変形しており、その周りのミエリン鞘も形成不全を起こしていました。ガングリオシドが欠損したために神経細胞と細胞外基質のラミニンとの結合がうまくいかず、増殖シグナルが伝わらないことがわかりました。そのため脳の神経細胞は未熟で、神経ネットワークも未発達でした。このようにガングリオシドは脳の構築に必須の役割を担っていることがわかりました。

3. 波及効果、今後の予定

本研究により神経系でのガングリオシドの機能を解析する上で、非常に有用なマウスモデルを開発することができました。このマウスを用いることでさらに詳細なガングリオシドの機能を調べることができます。また、脳内に様々なガングリオシドを補充することにより、授乳期の死亡を予防できる可能性が考えられ、このマウスモデルはそのような研究にも有用です。

マウスでは B4galt5 を欠損しただけで胎生期に致死となることから、ヒトでも同様に B4galt5 欠損は生まれてこないと考えられます。しかし、B4galt5 や B4galt6 遺伝子の点変異など小さな変異が生じた場合は、LacCer 合成酵素活性の減少を生じて、このマウスと似たような症状を示す可能性があります。本研究が、ヒトの病気、とりわけ小児の神経系の構築異常のモデルになって、研究が発展することが期待されます。

4. 研究プロジェクトについて

本研究は日本学術振興会科学研究費助成事業 基盤研究 (B) (16H04681) と若手研究 (C) (23700509) の支援を受けました。

<用語解説>

Cre-loxP：まず、欠損させたい標的遺伝子の一部を loxP という配列で挟んだマウスを作製し、神経系細胞特異的に組換え酵素 Cre（loxP で挟まれた部分を切り出す働きを持つ）を発現する別のマウス（本研究では Nestin-Cre マウス）と交配して、神経系細胞特異的に標的遺伝子を欠損させる方法。

<論文タイトルと著者>

タイトル：Lactosylceramide synthases encoded by B4galt5 and 6 genes are pivotal for neuronal generation and myelin formation in mice.（B4galt5 と 6 遺伝子によってコードされるラクトシルセラミド合成酵素は神経系構築とミエリン鞘形成に必須である）

著者：吉原亨、佐武寛之、西江敏和、沖野望、八田稔久、大谷浩、成瀬智恵、鈴木紘史、杉原一司、神村栄吉、徳田典代、古川圭子、古川鋼一、伊東信、浅野雅秀

掲載誌：PLOS Genetics