

## 神経筋の発生と疾患におけるパールカンの役割

平澤(有川)恵理(順天堂大学医学部脳神経内科)

### パールカンノックアウトマウスの解析とヒト遺伝性疾患の同定

パールカンは、本来基底膜の主要構成成分として同定されたヘパラン硫酸プロテオグリカンで多様な生物学的活性をもつ多機能細胞外マトリックスとして知られている。ラミニン、ナイドジェン、フィブロネクチン、IV型コラーゲン等の細胞外マトリックスと結合して基底膜を構成する構造タンパク質である一方、FGFをはじめとする成長因子やその細胞膜受容体とも結合して様々な細胞内シグナリングを修飾制御する機能分子としても働き、器官の形態形成過程における上皮-間充織相互作用に重要であるとされている。コアタンパク質は400kDa以上あり、5つの機能ドメインを持ち、各ドメインの生物学的活性について *in vitro* の研究成果が数多く報告されてきた。我々はパールカン遺伝子のノックアウトマウスの作成、解析の結果からパールカンが軟骨の発生、分化に必須であることを見出し(文献1)、さらに、ヒトでのパールカン機能完全欠損疾患として周産期致死性の軟骨異形成症(Silverman-Handmaker型 Dyssegmental Dysplasia: DDSH)(文献2)、パールカン機能部分欠損疾患として Schwartz-Jampel 症候群(SJS)(文献3)を報告した。SJSは、別名軟骨異栄養性筋強直症(chondrodystrophic myotonia)と呼ばれ、ミオトニア症状と軟骨異常を伴う遺伝性疾患で DDSH と異なり患者は生存する。

### 神経筋接合部におけるパールカンの機能と Schwartz-Jampel 症候群での筋持続収縮に関する考察

パールカンは筋細胞をとりまく基底膜に局在し、特に神経筋接合部(NMJ)には多く存在する。パールカンの生物学的機能の一つに、NMJ 特異的な非対称型アセチルコリンエステラーゼ(AChE)のコラーゲン様ドメイン(Collagen-like tail: ColQ)と結合することが知られているが、我々が新生パールカンノックアウトマウスの神経筋接合部(NMJ)を

解析した結果からも、パールカンの AChE 局在における重要な働きが確認された(文献4)。新生マウス筋において神経支配、NMJ へのアセチルコリン受容体、アグリン、ラプシン、 $\alpha$ ジストログリカンといった分子の集合が正常に達成されているにもかかわらず、AChE の NMJ への局在のみが欠損していた。パールカンが NMJ の基底膜に AChE を集束、結合させることにより、アセチルコリン(ACh)による神経筋の興奮とその解除を速やかに調整していると推察された。このようなパールカンの機能と SJS 患者での筋持続収縮活動との関連が推察され興味深いと思われた。そこで、さらに検討するためにパールカンノックアウトマウスの致死性のレスキューを試みた。パールカンノックアウトマウスに、II 型 collagen プロモーターにより軟骨特異的にパールカンを発現させたトランスジェニックマウスを交配し、軟骨病変をレスキューしたマウス(レスキューマウス)を作成し、病理、電気生理学的検討を加えた。レスキューマウスでは筋病理学的にミオパチーを示し全身麻酔下針筋電図にて自発性持続性放電を認めるなど SJS 患者類似の所見が再現された。また、SJS マウスではほぼ正常な神経筋接合部が形成されたが、神経筋接合部におけるアセチルコリン受容体とアセチルコリンエステラーズの共局在に欠損がみられた。神経筋微小電極を用いた終板電位の検討からも終板におけるアセチルコリンエステラーズの部分欠損を示唆する所見が得られた。パールカンは糖尿病、ガン転移、動脈硬化などの疾患において重要な関与が推測されているので、今後このマウスを用いてさらにパールカンの機能解明や疾患の治療研究の進展が期待される。

#### 文献

1. Arikawa-Hirasawa, E., Watanabe, H., Takami, H. et al. Perlecan is essential for cartilage and cephalic development. *Nat Genet* 23, 354-8 (1999).
2. Arikawa-Hirasawa, E., Wilcox, W.R., Le, A.H. et al. Dyssegmental dysplasia, Silverman-Handmaker type, is caused by functional null mutations of perlecan. *Nat Genet* 23, 354-8 (2001).
3. Arikawa-Hirasawa, E., Le, A.H., Nishino, I. et al. Structural and functional mutations of the perlecan gene cause Schwartz-Jampel syndrome, with myotonic myopathy and chondrodysplasia. *Am J Hum Genet* 70, 1368-75 (2002).
4. Arikawa-Hirasawa E, R.S., Rotundo RL, Yamada Y. Absence of acetylcholinesterase at the neuromuscular junctions of perlecan-null mice. *Nat Neurosci.* 5, 119-23 (2002).