

# Chondroitin Sulfate Proteoglycans in the Extracellular Matrix

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/19732">http://hdl.handle.net/2297/19732</a>

## 【研究紹介】

## 細胞外マトリックスのコンドロイチン硫酸プロテオグリカン

## Chondroitin Sulfate Proteoglycans in the Extracellular Matrix

愛知医科大学分子医科学研究所

渡 辺 秀 人

## はじめに

生体には細胞の外側に細胞外マトリックスと呼ばれる構造物が存在し、細胞を支持して組織を形作るのみならず、種々の生理活性分子を貯蔵する等して細胞の挙動を制御している。一般に細胞外マトリックスは、コラーゲン等から成る線維成分とその間隙を埋めるプロテオグリカン、ヒアルロン酸、その他の糖蛋白質等から構成されており、代謝の速い後者の分子群が細胞外マトリックスのダイナミックな細胞制御機能を持つと考えられている。

プロテオグリカンは、コア蛋白質と呼ばれる蛋白質に1本以上のグリコサミノグリカン (glycosaminoglycan, GAG) 鎖が共有結合している分子と定義される。コンドロイチン硫酸 (Chondroitin Sulfate, CS)、デルマトン硫酸、ヘパラン硫酸等のGAG鎖は基本的糖鎖骨格をもとにエピマー化や硫酸化等による修飾を受けて多様な微細構造を持ち、この特異な糖鎖構造がプロテオグリカンの多彩な機能を担っている。一方、コア蛋白質は通常複数の機能ドメインを有し、種々の分子と結合してグリコサミノグリカン機能の局在を決めている。本稿では、細胞外マトリックスに存在する巨大なコンドロイチン硫酸プロテオグリカンに関して、軟骨機能に不可欠のアグリカンと、マトリックス型プロテオグリカンのプロトタイプと考えられるパーシカンに焦点を当て、その構造と機能について述べる。

## 1. 軟骨のプロテオグリカン、アグリカン

世界で最初に発見されたGAGはコンドロイチン硫酸で、軟骨組織から抽出された。その後、ヒアルロン酸以外のGAGは蛋白質と共有結合したプロテオグリカンとして存在することが明らかとなり、軟骨に存在する当該プロテオグリカンのコア蛋白質の遺伝子クローニングが行われ、その主要分子はアグリカンと命名された。アグリカンは約220kDのコア蛋白質に多数のCS鎖が結合するため、その総分子量は200万以上に及ぶ。そのコア蛋白質は、G1, G2, G3の三つの球状ドメイン、G1とG2間の球状間ドメイン (interglobular domain, IGD)、およびケラタン硫酸とCSの二種類のグリコサミノグリカン結合ドメインから構成される。アグリカンはN-末端のG1ドメインでヒアルロン酸、リンク蛋白質と安定に結合し、軟骨の主要な構造体であるプロテオグリカン会合体を形成している (図1)。G1ドメインはリンク蛋白質と相同性を示し、A, B, B'の3つのループ状のサブドメインから成る。Aループがイムノグロブリンフォールドの構造を持ち、BとB'ループはそれぞれリンクモジュール<sup>2)</sup>というヒアルロン酸結合モジュールを含む。このリンクモジュールはヒアルロン酸結合能を示すTSG-6, CD44等の分子にも見られるが、TSG-6ではモジュール1つでヒアルロン酸と結合するのに対しアグリカンではB-B'の両方が必要である<sup>3)</sup>。G2ドメインもB-B'ループの構造を取っているが、ヒアルロン酸との結合能はない<sup>3)</sup>。一方、G3ドメインは上皮増殖因子 (Epidermal Growth Factor, EGF) 様、C型レクチン様、およびCRP (complement

regulatory protein) 様サブドメインを持ち、テネイシン、フィブリニン-1, -2, フィブリリン等のマトリックス分子と結合する。コア蛋白質中央のCS結合ドメインには100本以上のCS鎖が結合しており、このCS鎖の水分貯留作用を通じてプロテオグリカン会合体は軟骨に硝子様形態と弾力性を与えている。同分子の自然発症KOマウスcartilage matrix deficiencyは軟骨構造と機能の不全により短矩症を呈し、気管形成不全と顎顔面部の気道閉塞による呼吸困難のため出生直後に死亡する<sup>4)</sup>。そのヘテロ接合体は生後4週頃から軽度の短矩症を呈するようになり、生後約1年ころ頸椎ヘルニア症を発症する。このことはアグリカンが軟骨の発生のみならず成長後の骨格維持に重要な役割を果たしていることを示している<sup>5)</sup>。

アグリカンは上記の如く軟骨組織の構造体として関節機能に直接関与しているため、同分子の代謝に関して盛んに研究が進められている。ヒトアグリカンは成長と老化に従って分子の構造が変化する。胎児型と比較して成人型ではCS鎖が短く、6-O硫酸化の程度が高く、G3ドメインが欠失したものが多い<sup>6)</sup>。また、中央のCSドメイン内のCS鎖が付加する重複配列数に個人差がみられ、この可変重複配列 (Variable Number of Tandem Repeat, VNTR) によって一分子のアグリカンコア蛋白質に付加するCS鎖数の個体差が最大33%に及び<sup>7)</sup>、VNTRと両側手掌変形性関節症 (Bilateral hand osteoarthritis) とに相関が見られる<sup>8)</sup>。また、変形性関節症等の関節破壊性疾患においてアグリカンの分解産物が関節液中にみられる事実から、これらの疾患がアグリカンの分解によって進むと推測されていたが、現在、ヒトではADAMTS-4 (A disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin motif-4)<sup>9)</sup>、マウスではADAMTS-5<sup>10,11)</sup> によるアグリカンの分解が軟骨破壊の進展に関与していると考えられている。

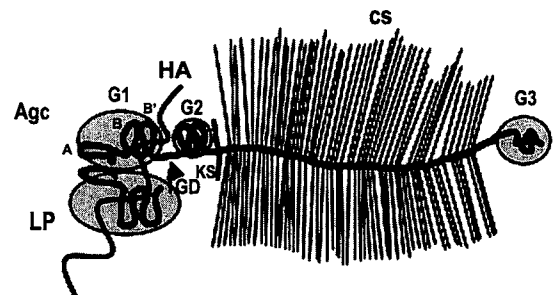


図1. 軟骨のプロテオグリカン会合体の模式図

プロテオグリカン会合体はアグリカン (Agc)、ヒアルロン酸 (HA)、リンク蛋白質 (LP) の三者より成る。アグリカンのコア蛋白質は3つの球状ドメイン (G1, G2, G3)、2つのグリコサミノグリカン結合ドメイン (KS, CS)、および球状間ドメイン (interglobular domain, IGD) を持つ。アグリカンは中央に100本以上のCS鎖を持ち、N-末端のG1ドメインでヒアルロン酸とリンク蛋白質と特異的に結合する。

## 2. パーシカン<sup>12)</sup>

パーシカン/PG-Mは約400kDaの大きなコア蛋白質を持つ。このプロテオグリカンが当初鶏胚の肢芽からヒアルロン酸結合性のコンドロイチン硫酸プロテオグリカンとして単離されPG-Mと命名されたが、その後、ヒト遺伝子がパーシカンとしてクローニングされた。コア蛋白質はN-末端、C-末端に各々球状ドメイン (アグリカンに習ってG1, G3と呼ばれる) と、中央にはCS- $\alpha$ , CS- $\beta$ の2つのCS結合ドメインを持つ。パーシカンの大きな特徴はオルタナティブスプライシング (alternative splicing) により4つのバリエーションが存在する点で、各バリエーションの持つCS鎖の数が異なる (図2)<sup>13)</sup>。最も長いV0はCS- $\alpha$ , CS- $\beta$ の両者を持つ一方、V1とV2はそれぞれCS- $\beta$ , CS- $\alpha$ を持つ。CS結合ドメインを全く持たないV3が蛋白質としては組織中に存在するかどうかはわかっていない。

パーシカンの基本的機能はそのCS鎖による細胞接着阻害 (anti-adhesive) 作用である<sup>14,15)</sup>。同分子は、様々な組織の形態形成や分化に前後して一過性の発現パターン (形態制御的発現) を示す場合と、恒常的に発現して細胞外マトリックスの構造分子として機能する場合がある。例えば発生期において一過性に高い発現を呈するパーシカンは、神経冠細胞の遊走阻害<sup>16)</sup>、間充織凝集から軟骨への分化促進、心房室形成への寄与<sup>17)</sup>、毛包の形成<sup>18)</sup>等の作用を持つ。一方、恒常的に存在する場合は、脳において脳特異的リンク蛋白質であるBral1 (Brain-specific link protein 1) とランヴィエ絞輪にて共存し神経の電気伝達速度を維持したり<sup>19)</sup>、弾性線維と結合して<sup>20)</sup>動脈等の組織に粘着的弾力性 (viscoelasticity) を与えていると推測されている。遺伝子トラップ法により得られたパーシカン欠損マウスは胎生約 9.5日に心形成不全を呈し致死となる<sup>21)</sup>。私達は近年、パーシカンのAサブドメインを欠失したノックインマウスの作製と解析を行い、形成中の心臓におけるTGF $\beta$ とBMPのシグナル伝達の減少によって同マウスが房室中隔欠損、心拡張等様々な心奇形を呈することを明らかにした (投稿中)。また同マウスの胎児線維芽細胞が数代の継代後、早老症を呈することを明らかにした。その機構として、パーシカンのマトリックス沈着への減少によってヒアルロン酸とCD44との結合によるシグナル伝達が亢進し、ERK1/2の恒常的活性化が起こったことによることがわかった<sup>22)</sup>。

現在、アグリカンファミリーメンバーは4種類が知られている。アグリカンが脳と軟骨に、ニューロカンとプレビカンが脳神経系に局在するのに対して、パーシカンは様々な組織に発現している。パーシカンの多彩な発現パターンを考えると、パーシカンが同ファミリーメンバーのプロトタイプで他の分子は各

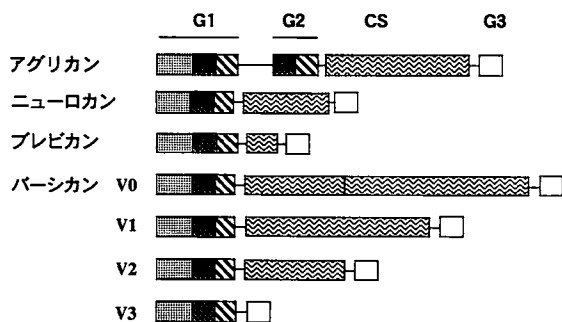


図2. アグリカンファミリー。N-末端、C-末端の球状ドメインはきわめてよく保存されている。アグリカンにはもう一つ球状ドメイン (G2) がある。中央のCSドメインにそれぞれのプロテオグリカンの特徴がある。パーシカンは4つのスプライスバリエーション (V0, V1, V2, V3) を持つことが特徴である。

臓器・組織の必要に応じて進化した分子だと推測できる。パーシカンの解析こそが細胞外マトリックスのプロテオグリカンの基本的機能の解明に直結すると私達は考えており、現在、同分子のコンディショナルノックアウトマウスの作製と解析を行っている。

## おわりに

現代の医学生物学研究的な多くは細胞の挙動そのものの解析であり、細胞外マトリックス自身に関する研究はきわめて少ない。その理由としては、1) その構成分子の多くが巨大分子で扱いにくいこと、2) 細胞外マトリックス自身にダイナミズムが乏しくその変化が捕らえにくいこと、3) 細胞外マトリックスの高次構造に対する解析手法が限られていることが挙げられる。細胞外マトリックスは細胞挙動を制御する微小環境であり、炎症や腫瘍浸潤の場でもある。また、再生医療・組織工学の面でも細胞外マトリックス研究の重要性が増している。私達はプロテオグリカンに関して研究を続けているが、近年の遺伝子クローニング、ゲノムプロジェクト、遺伝子改変マウスの技術を駆使して一定の成果を挙げることができた。今後、医学生物学分野に限らず他分野の研究手法を積極的に導入してマトリックス研究を推進・展開していきたい。

## 文 献

- 1) Watanabe, H., Yamada, Y. & Kimata, K. *J Biochem* (Tokyo) 124, 687-93 (1998).
- 2) Kohda, D. et al. *Cell* 86, 767-75 (1996).
- 3) Watanabe, H., Cheung, S. C., Itano, N., Kimata, K. & Yamada, Y. *J Biol Chem* 272, 28057-65 (1997).
- 4) Watanabe, H. et al. *Nat Genet* 7, 154-7 (1994).
- 5) Watanabe, H., Nakata, K., Kimata, K., Nakanishi, I. & Yamada, Y. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 6943-7 (1997).
- 6) Plaas, A. H., Wong-Palms, S., Roughley, P. J., Midura, R. J. & Hascall, V. C. *J Biol Chem* 272, 20603-10 (1997).
- 7) Doege, K. J., Coulter, S. N., Meek, L. M., Maslen, K. & Wood, J. G. A. *J Biol Chem* 272, 13974-9 (1997).
- 8) Horton, W. E., Jr. *Osteoarthritis Cartilage* 6, 245-51 (1998).
- 9) Tortorella, M. D. et al. *Science* 284, 1664-6 (1999).
- 10) Glasson SS, Askew R, Sheppard B, Carito B, Blanchet T, Ma HL, Flannery CR, Peluso D, Kanki K, Yang Z, Majumdar MK, & Morris EA. *Nature* 434, 644-648 (2005).
- 11) Stanton H, Rogerson FM, East CJ, Golub SB, Lawlor KE, Meeker CT, Little CB, Last K, Farmer PJ, Campbell IK, Fourie AM, & Fosang AJ. *Nature* 434, 648-652 (2005).
- 12) Wight, T. *Curr Opin Cell Biol* 14, 617 (2002).
- 13) Ito, K., Shinomura, T., Zako, M., Ujita, M. & Kimata, K. *J Biol Chem* 270, 958-65 (1995).
- 14) Yamagata, M., Saga, S., Kato, M., Bernfield, M. & Kimata, K. *J Cell Sci* 106 (Pt 1), 55-65 (1993).
- 15) Yamagata, M. & Kimata, K. *J Cell Sci* 107 (Pt 9), 2581-90 (1994).
- 16) Perissinotto, D. et al. *Development* 127, 2823-42 (2000).
- 17) Henderson, D. J. & Copp, A. J. *Circ Res* 83, 523-32 (1998).
- 18) Kishimoto, J. et al. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96, 7336-41 (1999).
- 19) Ohashi, T. et al. *Mol Cell Neurosci* 19, 43-57 (2002).
- 20) Isogai, Z. et al. *J Biol Chem* 277, 4565-72 (2002).
- 21) Mjaatvedt, C. H., Yamamura, H., Capehart, A. A., Turner, D. & Markwald, R. R. *Dev Biol* 202, 56-66 (1998).
- 22) Suwan, K., Choocheep, K., Hatano, S., Kongtawelert, P., Kimata, K., & Watanabe, H. *J Biol Chem*, 284, 8596-8604 (2009).