

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：14501

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16H05353

研究課題名(和文) 福山型筋ジストロフィーと類縁疾患の分子病態解明と治療法開発

研究課題名(英文) Investigation of molecular pathogenesis and development of therapeutic methods for Fukuyama muscular dystrophy and related diseases

研究代表者

小林 千浩 (Kobayashi, Kazuhiro)

神戸大学・医学研究科・准教授

研究者番号：90324780

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：筋ジストロフィーの原因となる ジストログリカン( a-DG)上のO-Man型糖鎖の未知部分の構造決定と生合成過程解明、神経機能障害との関連と治療の可能性の検討を目的とした。未知糖鎖部分を決定し、リビトールリン酸を含有する全体像を明らかにした。fukutinを含む4つの筋ジストロフィー原因遺伝子産物の機能を同定し、リビトールリン酸の生合成経路を明らかにした。新たなO-Man型糖鎖修飾タンパク質と a-DGのリガンドを検索したが、見出せなかった。疾患モデル細胞やマウスの治療法候補は有効であった。さらなる検討が必要である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

a-DGのO-Man型糖鎖の完全構造と生合成機構を明らかにしたことで、重篤な a-DGopathyの発症機序を理解でき、新たな治療標的発見、有効な治療法開発につながる。新たな翻訳後修飾の発見であり、医学的のみならず生物学的にも学術的な意義がある。また、O-Man型糖鎖と脳奇形・神経機能との関連を示し、神経機能障害の治療の有効性が示されれば、問題の多い胎児治療ではなく、生後の治療が可能になり、実現可能な脳の治療法の構築につながることを期待でき、社会的意義が大きい。

研究成果の概要(英文)：In this study, we aimed to delineate the full O-Man glycan structure of a-dystroglycan (a-DG) whose abnormalities cause muscular dystrophy, to clarify the biosynthesis pathway of the glycan, to understand the pathogenesis of neuronal dysfunction of the disease, and to explore its therapeutic possibility. We determined the unknown glycan structure that contained ribitol phosphate. We also identified the functions of four gene proteins such as fukutin that are responsible for muscular dystrophy, and determined the biosynthesis pathway for ribitol phosphate of the glycan. We could not find novel proteins modified with the O-Man glycan or a-DG ligands. Some therapeutic strategies were found to be effective for the disease model cells and mice. Further investigations are required.

研究分野：人類遺伝学、遺伝医学、ゲノム医科学

キーワード：糖鎖 筋ジストロフィー 脳神経疾患 酵素 遺伝子 ジストログリカノパチー fukutin a-dystroglycan

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

## 1. 研究開始当初の背景

福山型筋ジストロフィー(FCMD)、muscle-eye-brain 病(MEB)、Walker-Warburg 症候群は、先天性筋ジストロフィー、II 型滑脳症、眼奇形の 3 症状を示す代表的な常染色体劣性神経筋疾患である。申請者はポジショナルクローニング法により、FCMD の原因である fukutin 遺伝子の同定に成功、さらに候補遺伝子アプローチ法により、新規糖転移酵素 POMGnT1 をコードする遺伝子が MEB 原因遺伝子であることを明らかにした。患者において、細胞質と基底膜を繋ぐ  $\alpha$ -dystroglycan( $\alpha$ -DG)の O-mannose (O-Man)型糖鎖修飾に異常がみられ、 $\alpha$ -ジストログリカノパチー( $\alpha$ -DGpathy)という新しい疾患概念が確立された。

DG は骨格筋、心筋、脳に多く発現する糖タンパク質で、細胞外サブユニット( $\alpha$ -DG)が細胞外成分と、膜貫通サブユニット( $\beta$ -DG)が骨格系タンパク質や細胞内シグナル分子と結合し、細胞膜構造の維持や細胞内シグナルに関与する。細胞外の  $\alpha$ -DG のリガンドには laminin などの基底膜分子があるが、その結合には  $\alpha$ -DG 上への O-Man 型糖鎖修飾が必須である。 $\alpha$ -DGpathy 患者の骨格筋では、この糖鎖の異常により、laminin との結合能が低下し、筋細胞膜が脆弱化、筋細胞が壊死・変性に陥る。現在までに 18 個の  $\alpha$ -DGpathy 原因遺伝子が同定されており、まだ未同定の原因遺伝子の存在も示唆されている。またこの糖鎖は、ラッサ熱ウイルスの細胞侵入や、癌の浸潤にも関与していることが知られている。

O-Man 型糖鎖は哺乳類では珍しい糖鎖構造で、 $\alpha$ -DG には O-Man から延びる 4 糖構造が見つかった。しかし、この構造は laminin との結合には必須ではないことがわかり、laminin 結合に必須な糖鎖の発見と構造解明へ向けての競争が世界的に激化した。近年までにかなりその構造と、生合成に関わる  $\alpha$ -DGpathy 原因遺伝子の糖転移酵素活性が判明してきている一方で、未だに構造が判明しない部分や機能未知の原因遺伝子も残されている。すなわち、Man の 6 位炭素にリン酸基を介して、足場となるような未知の構造が結合しており、その先に laminin との結合に重要な xylose (Xyl)と glucuronic acid (GlcA)の 2 糖の繰り返し構造が続くのではないかと推測されている。申請者のこれまでの実験から、この糖鎖を構成する多くの GlcA の負電荷のためか、その性質が特殊で捕えることさえ大変難しいことがわかっており、世界でも難航していることが想像される。しかし申請者らは試行錯誤の末、ごく最近の質量分析でようやくこの糖鎖を捕えることができ、その未知の構造部分については、知られている動物界の糖鎖構成成分の単糖では説明できず、新たな糖鎖構成物質の存在が示唆された。

$\alpha$ -DGpathy の多くは脳奇形を合併する。これは、 $\alpha$ -DG の O-Man 型糖鎖の異常による脳表基底膜中の laminin との結合能の低下、それによるグリア境界膜の脆弱化・破綻、神経細胞の過遊走に起因すると考えられている。しかし、中枢神経系における O-Man 型糖鎖の意義は殆ど解明されていない。fukutin 遺伝子は脳の発生段階初期から発現しており、神経細胞の fukutin 遺伝子を in utero でノックダウンすると(グリア細胞は正常)、神経細胞は脳室周辺に留まるといふ、疾患病態の過遊走とは異なる現象が報告されている。これは、グリア細胞における fukutin とグリア境界膜-基底膜の脆弱化との  $\alpha$ -DG を介した関連の他に、神経細胞における fukutin と神経細胞移動との未知の関連を示唆している。一方で、発達性読み書き障害の関連遺伝子である脳特異的発現 KIAA0319 遺伝子のノックダウンは、fukutin と酷似した現象を示し、さらに KIAA0319 には  $\alpha$ -DG の O-Man 型糖鎖修飾部位と相同性を示すドメインが存在し、高度の O 型糖鎖修飾を受けることが知られている。新たな O-Man 型糖鎖修飾標的分子の存在と他疾患との関連を示唆し、O-Man 型糖鎖が脳の形態の様々な側面で重要であることが考えられる。

また  $\alpha$ -DGpathy は精神遅滞を伴うが、自閉症を合併する患者例も報告されており、脳奇形の他に神経機能障害を示唆している。確かに  $\alpha$ -DG の別のリガンドであるシナプスの neurexin は自閉症の関連遺伝子として知られている。申請者らは眼において、新たな  $\alpha$ -DG リガンドである網膜特異的な pikachurin の欠損により、 $\alpha$ -DGpathy の眼症状の一部が説明されることを報告しており、これらの事実は、 $\alpha$ -DGpathy の神経機能障害が、neurexin や未知の脳特異的リガンドと関わっている可能性を示唆している。つまり O-Man 型糖鎖は、脳の形態形成だけでなく、神経細胞機能の発達・獲得にも重要であり、精神遅滞・自閉症などの神経機能障害に関与していると考えられる。

デュシャンヌ型筋ジストロフィーの治療研究は世界各国で行われており、臨床試験も始まっている。一方で  $\alpha$ -DGpathy の治療研究としては、申請者は、大部分の FCMD 患者に見られるスプライシング異常をアンチセンス核酸で是正できることを見出しており、現在は製薬会社と共同で、我が国における臨床試験へ向けた FCMD のアンチセンス核酸治療研究を進めている。また申請者らは、AAV ベクターを用いた遺伝子治療研究も行っている。

## 2. 研究の目的

本研究では、この糖鎖の完全構造決定と、生合成経路としての機能未知の  $\alpha$ -DGpathy 原因遺伝子の機能解明、生合成に関わる未同定の遺伝子の検索と  $\alpha$ -DGpathy との関連の解析を行う。新規

の翻訳後修飾の発見となる可能性が高く、また筋ジストロフィーだけでなくウイルス感染や癌の新たな病態メカニズムが明らかになり、分子治療標的の発見に繋がる事が期待される。

マウス iPS 細胞由来の分化細胞や、すでに作製済みである FCMD モデルマウスの患者変異 fukutin ノックインマウス、中枢神経系特異的 fukutin ノックアウトマウスなどを用いて、fukutin の中枢神経における機能解析、新たな O-Man 型糖鎖修飾標的タンパク質、新たな  $\alpha$ -DG のリガンドの同定を行う。また同時に、FCMD モデルマウスの行動や LTPなどを解析することにより、O-Man 型糖鎖の脳における意義と神経機能障害への関連を明らかにする。

骨格筋で効果の見られるアンチセンス核酸や AAV ベクターを用いた、FCMD の脳の治療の可能性を検討する。神経機能障害への関連が明らかになった場合、神経機能を回復させるための生後の処置で脳治療が可能かもしれない、これまで脳奇形の治療として必要だと考えられてきた倫理面や技術面で多くの課題が残る胎児への処置が不要になるかもしれない。さらに、iPS 細胞とゲノム編集技術を用いた再生治療実験も行う。また、 $\alpha$ -DG の糖鎖構造が決定され分子治療標的が発見された場合、それに基づく骨格筋や脳の治療の可能性を FCMD に限らず他の  $\alpha$ -DGpathy に対しても検討し、臨床応用可能な治療法を模索する。

本研究で  $\alpha$ -DG の O-Man 型糖鎖の完全構造と生合成機構を明らかにすることで、重篤な  $\alpha$ -DGpathy の発症機序を理解でき、またラッサ熱ウイルスの細胞侵入、癌の浸潤の知見が広がり、さらに新たな治療標的の発見、有効な治療法開発につながる事が期待される。一方で、新たな翻訳後修飾の発見の可能性があり、医学的のみならず生物学的にも大変興味深い。また、O-Man 型糖鎖と脳奇形・神経機能との関連を示す新たな成果も期待され、精神遅滞・自閉症などの発達障害の発症機序の解明や治療法の構築につながる可能性もある。さらに、神経機能障害の治療の有効性が示されれば、問題の多い胎児治療ではなく、生後の治療が可能になり、実現可能な脳の治療法の構築につながる事が期待される。申請者により、fukutin 遺伝子は  $\alpha$ -DGpathy で最も早く同定された原因遺伝子で、有効な治療法も見出されているが、fukutin タンパク質の機能は未だ不明である。是非とも本研究で決着をつけたい。

### 3. 研究の方法

#### 1. $\alpha$ -DG 機能糖鎖の完全構造決定と生合成機構の解明

##### (1) $\alpha$ -DG 機能糖鎖の未知構造部分の解析

サンプルの調製と、質量分析・NMR による構造解析

- 質量分析で検出に成功したサンプル調製方法で、目的のサンプルを大量に集める。
- キシロシダーゼ、グルクロニダーゼで処理し、LARGE と B3GNT1 による付加糖を消化除去する。さらにフッ化水素により、リン酸基と側鎖との結合を切断し、目的の未知構造部分を大量に精製する。

-  $\alpha$ -DG の p.T190M 変異体から側鎖を調製する。

- B3GNT1 遺伝子をゲノム編集によりノックアウトした細胞株から  $\alpha$ -DG の側鎖を調製する。

- 質量分析を用いて未知構造部分の構成成分を決定する。

- NMR を用いてその構成成分の結合様式を決定する。

細胞や組織の内在性  $\alpha$ -DG を用いた構造の確認

- 自前の抗体を用いて内在性  $\alpha$ -DG を大量に調製し、決定した構造と矛盾がないかを確認する。

##### (2) $\alpha$ -DG 機能糖鎖の生合成機構の解明

機能未知の  $\alpha$ -DGpathy 原因遺伝子産物 fukutin、FKRP、TMEM5、ISPD の機能解析

- 各遺伝子を動物細胞強制発現系で発現させ各タンパク質を精製する。

-  $\alpha$ -DG 安定強発現細胞株において各遺伝子をゲノム編集によりノックアウトし  $\alpha$ -DG を精製する。

- RI ラベルされたドナー基質候補を用いて fukutin、FKRP、TMEM5 の転移酵素活性を測定する。

- ISPD のドナー基質合成活性を HPLC で測定する。

- 低分子のアクセプター基質を用いて fukutin、FKRP、TMEM5 転移活性を HPLC で測定する。

- モデル動物や患者サンプルの内在性  $\alpha$ -DG で、異常になっている糖鎖と矛盾がないかを確認する。

糖鎖生合成に関わる可能性のある未同定の遺伝子の検索と  $\alpha$ -DGpathy との関連

- SLC35A1 の機能解析

- ISPD の基質に関わる遺伝子の探索

- 原因未知の FCMD 疑い患者のエクソーム解析

#### 2. O-Man 型糖鎖の脳における意義の解明

##### (1) fukutin の中枢神経における機能解析

FCMD モデルマウスから iPS 細胞の作製

- 患者変異 fukutin ノックインマウス、fukutin-flox マウスから iPS 細胞を作製する。fukutin-flox 由来の iPS 細胞は Cre を発現させて fukutin をノックアウトさせる。

iPS 細胞から分化させた神経細胞、グリア細胞の性質の解析

- 神経細胞とグリア細胞に分化させ、細胞の生着、移動、軸索伸長、成長円錐・シナプス構造な

どの観察、生化学的な解析などを行って、細胞の種類と fukutin 機能との関連を探る。

(2) FCMD モデルマウスを用いた行動解析と LTP の解析

モデルマウスの行動解析による神経機能障害への関連の検索

- Morris 水迷路テスト、高架式十字迷路テストを用いて、学習記憶能力を評価する。
- 社会的相互作用テスト、母性行動テスト、自発運動解析、新奇環境適応テストを用いて、高次脳機能を評価する。

モデルマウスの LTP の解析

- マウス脳の海馬あるいは小脳のスライスを用いて LTP を測定し、増強変化を検討する。

(3) 新たな O-Man 型糖鎖修飾標的タンパク質と  $\alpha$ -DG リガンドの同定

fukutin 欠損により糖鎖変化が生じる糖タンパク質の探索

- fukutin 欠損脳の抽出液を二次元電気泳動で展開する。変化が生じているスポットのタンパク質を質量分析することで同定する。

fukutin 欠損により  $\alpha$ -DG との結合が変化するタンパク質の検索

- 脳抽出液から  $\alpha$ -DG と共沈殿するものを電気泳動で展開する。fukutin 欠損では共沈殿が見られないバンドのタンパク質を質量分析することで同定する。

KIAA0319 の糖鎖解析

- fukutin 欠損マウスの脳から KIAA0319 を抽出し、電気泳動にて分子量の変化を確認する。KIAA0319 をマウス脳から抽出し糖鎖を調製、質量分析にて O-Man 糖鎖の含有を確認する。

### 3. $\alpha$ -DGpathy に対する治療法の模索

(1) FCMD モデルマウスを用いた脳の治療の検討

アンチセンス核酸と AAV ベクターの脳内投与

- 患者変異 fukutin ノックインマウス、中枢神経特異的 fukutin ノックアウトマウスにアンチセンス核酸あるいは fukutin 遺伝子を組み込んだ AAV ベクターを脳室内、あるいは脳実質内投与する。

- 脳の  $\alpha$ -DG 糖鎖修飾の回復状況を免疫染色やウエスタンブロット法により生化学的に評価する。

- 行動解析や LTP 測定により、病態改善効果を評価する。

(2) FCMD モデルマウスを用いた再生治療の検討

ゲノム編集した iPS 細胞による細胞移植治療の検討

- iPS 細胞からゲノム編集技術により挿入変異を取り除く。

- fukutin が機能回復しているかどうか、 $\alpha$ -DG 糖鎖修飾の状況を確認する。

- iPS 細胞を筋前駆細胞・神経細胞・グリア細胞へ分化させ、セルソーターで目的の細胞集団を得る。

- FCMD モデルマウスへ細胞を投与し、症状の改善を評価する。

(3) ISPD 変異マウスおよび患者細胞を用いた補充療法の検討

ゲノム編集で作製した ISPD 変異培養細胞を用いた補充療法の検討

ISPD 変異マウスの購入（市販されている）と、骨格筋や脳への補充療法の検討

ISPD 変異を持つ患者細胞を用いた補充療法の検討

- いずれも、 $\alpha$ -DG 糖鎖修飾の回復状況を免疫染色やウエスタンブロット法により生化学的に評価する。

(4) FCMD、LGMD2I 患者細胞を用いた補充療法の検討

## 4. 研究成果

### 1. $\alpha$ -DG 機能糖鎖の完全構造決定と生合成機構の解明

$\alpha$ -DG 機能糖鎖の未知構造部分の解析として、 $\alpha$ -DG サンプルの調製と、質量分析を用いた未知構造部分の構成成分の決定、NMR を用いたその構成成分の結合様式の決定を行い、さらに、細胞や組織の内在性  $\alpha$ -DG を用いた構造の確認を行って、矛盾がないかを検討した。これまでに哺乳類では報告されたことのない、新たな糖鎖構造を見出した。すなわち、Man-6 リン酸から側鎖が伸びているという推測に反し、GlcNAc から ribitol-5 リン酸、ribitol-5 リン酸とタンデムに続き、Xyl、GlcA と伸びる糖鎖構造であることが判明した。

$\alpha$ -DG 機能糖鎖の生合成機構の解明として、 $\alpha$ -DGpathy 原因遺伝子産物 fukutin、FKRP、TMEM5、ISPD の機能解析を行った。ISPD のドナー基質合成酵素活性と、fukutin、FKRP、TMEM5 の転移酵素活性を HPLC と質量分析により測定することに成功した。 $\alpha$ -DG 安定強発現細胞株において各遺伝子をゲノム編集によりノックアウトし  $\alpha$ -DG を精製し質量分析を行い、各酵素活性が失われていることを確認した。低分子のアクセプター基質を用いて出来上がった産物から、NMR により結合様式を決定した。すなわち、ISPD は CTP: ribitol-5-phosphate cytidyltransferase、fukutin は CDP-ribitol: GalNAc-3 ribitol-5-phosphate transferase、FKRP は CDP-ribitol: ribitol-5-phosphate-1 ribitol-5-phosphate transferase、TMEM5 は UDP-D-xylose: ribitol-5-phosphate beta1,4-xylosyltransferase であることを明らかにした。さらに、未同定の遺伝子の検索を行った。fukutin と FKRP の基質のゴルジ体トランスポーター候補タンパク質については、検出感度を上げる工

夫を行っていたが、その活性を確認することができなかった。ISPD の基質 ribitol-5-phosphate を生合成する酵素候補については、その活性は検出されず、また筋ジストロフィーとは異なる疾患の原因遺伝子であることがごく最近報告された。原因未知の FCMD 疑い患者の疾患パネル解析を行い、3 患者で既知の原因遺伝子に変異を同定に成功し、その他の患者で変異候補を絞り込んだが決定までには到達できなかった。

## 2 . O-Man 型糖鎖の脳における意義の解明

fukutin の中枢神経における機能解析として、FCMD モデルマウスから iPS 細胞の作製、iPS 細胞から分化させた神経細胞、グリア細胞の性質の解析を行った。目立った異常は確認されなかったが、長期観察する必要がある。正常 iPS 細胞由来の脳オルガノイドと比較して患者由来では脳オルガノイドが形成されなかったが、今後のさらなる条件検討などが必要である。

FCMD モデルマウスを用いた行動解析と LTP の解析として、モデルマウスの行動解析による神経機能障害への関連の検索、モデルマウスの LTP の解析を行った。どちらも、有意な異常は確認できず、神経機能への重要性を確認することができなかった。

新たな O-Man 型糖鎖修飾標的タンパク質と  $\alpha$ -DG リガンドの同定として、fukutin 欠損により糖鎖変化が生じる糖タンパク質を fukutin 欠損脳の抽出液、WEA レクチン結合物で検出し質量分析した。得られた候補タンパク質からは標的候補 KIAA0319 を含め、標的タンパク質を同定できなかった。fukutin 欠損により  $\alpha$ -DG との結合が変化するタンパク質を脳抽出液から  $\alpha$ -DG と共沈殿するものとして検出を試みたが、新たな関連機能タンパク質を同定することはできなかった。

## 3 . $\alpha$ -DGpathy に対する治療法の模索

FCMD モデルマウスを用いた脳の治療の検討として、アンチセンス核酸の脳内投与、髄液内注入を試みた。患者変異 fukutin ノックインマウスを用いたところ、脳の  $\alpha$ -DG 糖鎖修飾の回復が生化学的検出法により観察された。今後さらなる検討が必要である。

再生治療に関しては、安定した筋細胞分化操作の検討が不十分であり、行うことができなかった。今後さらなる検討が必要である。

ISPD 変異マウスおよび患者細胞を用いた補充療法の検討では、ISPD 産物である CDP-ribitol 補充により、ISPD ゲノム編集培養細胞株や、ISPD 変異マウスの筋注による骨格筋の  $\alpha$ -DG 糖鎖修飾の回復を確認したが、ISPD、fukutin、FKRP 患者培養細胞では確認できなかった。今後さらなる検討が必要である。

本研究の最大の目的であった fukutin タンパク質の機能解明を達成することができた。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計27件（うち査読付論文 27件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 18件）

1. 著者名 Seki T, Kanagawa M, Kobayashi K, Kowa H, Yahata N, Maruyama K, Iwata N, Inoue H, Toda T	4. 巻 295
2. 論文標題 Galactin 3-binding protein suppresses amyloid- production by modulating -cleavage of amyloid precursor protein	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 3678 ~ 3691
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.008703	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kuwabara N, Imae R, Many H, Tanaka T, Mizuno M, Tsumoto H, Kanagawa M, Kobayashi K, Toda T, Senda T, Endo T, Kato R	4. 巻 11
2. 論文標題 Crystal structures of fukutin-related protein (FKRP), a ribitol-phosphate transferase related to muscular dystrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-14220-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ando J, Fujisawa KK, Hiraishi K, Shikishima C, Kawamoto T, Nozaki M, Yamagata S, Takahashi Y, Suzuki K, Someya Y, Ozaki K, Deno M, Tanaka M, Sasaki S, Toda T, Kobayashi K, Sakagami M, Okada M, Kijima N, Takizawa R, Murayama K	4. 巻 22
2. 論文標題 Psychosocial Twin Cohort Studies in Japan: The Keio Twin Research Center (KoTReC)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Twin Research and Human Genetics	6. 最初と最後の頁 591 ~ 596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/thg.2019.109	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ujihara Y, Kanagawa M, Mohri S, Takatsu S, Kobayashi K, Toda T, Naruse K, Katanosaka Y	4. 巻 10
2. 論文標題 Elimination of fukutin reveals cellular and molecular pathomechanisms in muscular dystrophy-associated heart failure	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5754
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-13623-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sugawara Y, Hamada K, Yamada Y, Kumai J, Kanagawa M, Kobayashi K, Toda T, Negishi Y, Katagiri F, Hozumi K, Nomizu M, Kikkawa Y	4. 巻 9
2. 論文標題 Characterization of dystroglycan binding in adhesion of human induced pluripotent stem cells to laminin-511 E8 fragment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13037
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-49669-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Li M, Hirano KI, Ikeda Y, Higashi M, Hashimoto C, Zhang B, Kozawa J, Sugimura K, Miyauchi H, Suzuki A, Hara Y, Takagi A, Ikeda Y, Kobayashi K	4. 巻 14
2. 論文標題 Triglyceride deposit cardiomyovascularopathy: a rare cardiovascular disorder	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Orphanet Journal of Rare Diseases	6. 最初と最後の頁 134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13023-019-1087-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sekiya H, Kowa H, Koga H, Takata M, Satake W, Futamura N, Funakawa I, Jinnai K, Takahashi M, Kondo T, Ueno Y, Kanagawa M, Kobayashi K, Toda T	4. 巻 137
2. 論文標題 Wide distribution of alpha-synuclein oligomers in multiple system atrophy brain detected by proximity ligation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica	6. 最初と最後の頁 455-466
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00401-019-01961-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Taniguchi-Ikeda M., Morisada N., Inagaki H., Ouchi Y., Takami Y., Tachikawa M., Satake W., Kobayashi K., Tsuneishi S., Takada S., Yamaguchi H., Nagase H., Nozu K., Okamoto N., Nishio H., Toda T., Morioka I., Wada H., Kurahashi H., Iijima K.	4. 巻 93
2. 論文標題 Two patients with PNKP mutations presenting with microcephaly, seizure, and oculomotor apraxia	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Clinical Genetics	6. 最初と最後の頁 931 ~ 933
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cge.13106	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Seki Tsuneyoshi, Kanagawa Motoi, Kobayashi Kazuhiro, Kowa Hisatomo, Yahata Naoki, Maruyama Kei, Iwata Nobuhisa, Inoue Haruhisa, Toda Tatsushi	4. 巻 295
2. 論文標題 Galectin 3?binding protein suppresses amyloid- production by modulating -cleavage of amyloid precursor protein	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 3678 ~ 3691
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA119.008703	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kuwabara Naoyuki, Imae Rieko, Manya Hiroshi, Tanaka Tomohiro, Mizuno Mamoru, Tsumoto Hiroki, Kanagawa Motoi, Kobayashi Kazuhiro, Toda Tatsushi, Senda Toshiya, Endo Tamao, Kato Ryuichi	4. 巻 11
2. 論文標題 Crystal structures of fukutin-related protein (FKRP), a ribitol-phosphate transferase related to muscular dystrophy	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 303
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-14220-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ando Juko, Fujisawa Keiko, Hiraishi Kai, Shikishima Chizuru, Kawamoto Tetsuya, Nozaki Mari, Yamagata Shinji, Takahashi Yusuke, Suzuki Kunitake, Someya Yoshiaki, Ozaki Koken, Deno Minako, Tanaka Mami, Sasaki Shoko, Toda Tatsushi, Kobayashi Kazuhiro, Sakagami Masamichi, Okada Mitsuhiro, Kijima Nobuhiko, et al.	4. 巻 22
2. 論文標題 Psychosocial Twin Cohort Studies in Japan: The Keio Twin Research Center (KoTReC)	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Twin Research and Human Genetics	6. 最初と最後の頁 591 ~ 596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1017/thg.2019.109	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Ujihara Yoshihiro, Kanagawa Motoi, Mohri Satoshi, Takatsu Satomi, Kobayashi Kazuhiro, Toda Tatsushi, Naruse Keiji, Katanosaka Yuki	4. 巻 10
2. 論文標題 Elimination of fukutin reveals cellular and molecular pathomechanisms in muscular dystrophy-associated heart failure	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5754
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-13623-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -



1. 著者名 Sugawara Yumika, Hamada Keisuke, Yamada Yuji, Kumai Jun, Kanagawa Motoi, Kobayashi Kazuhiro, Toda Tatsushi, Negishi Yoichi, Katagiri Fumihiko, Hozumi Kentaro, Nomizu Motoyoshi, Kikkawa Yamato	4. 巻 9
2. 論文標題 Characterization of dystroglycan binding in adhesion of human induced pluripotent stem cells to laminin-511 E8 fragment	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 13037
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-49669-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Li Ming, Hirano Ken-ichi, Ikeda Yoshihiko, Higashi Masahiro, Hashimoto Chikako, Zhang Bo, Kozawa Junji, Sugimura Koichiro, Miyauchi Hideyuki, Suzuki Akira, Hara Yasuhiro, Takagi Atsuko, Ikeda Yasuyuki, Kobayashi Kazuhiro, Futsukaichi Yoshiaki, Zaima Nobuhiro, Yamaguchi Satoshi, Shrestha Rojeet, Nakamura Hiroshi, et al.	4. 巻 14
2. 論文標題 Triglyceride deposit cardiomyovascularopathy: a rare cardiovascular disorder	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Orphanet Journal of Rare Diseases	6. 最初と最後の頁 134
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s13023-019-1087-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sekiya Hiroaki, Kowa Hisatomo, Koga Hinako, Takata Mariko, Satake Wataru, Futamura Naonobu, Funakawa Itaru, Jinnai Kenji, Takahashi Motonori, Kondo Takeshi, Ueno Yasuhiro, Kanagawa Motoi, Kobayashi Kazuhiro, Toda Tatsushi	4. 巻 137
2. 論文標題 Wide distribution of alpha-synuclein oligomers in multiple system atrophy brain detected by proximity ligation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica	6. 最初と最後の頁 455 ~ 466
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00401-019-01961-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sudo Atsushi, Kanagawa Motoi, Kondo Mai, Ito Chiyomi, Kobayashi Kazuhiro, Endo Mitsuharu, Minami Yasuhiro, Aiba Atsu, Toda Tatsushi	4. 巻 27
2. 論文標題 Temporal requirement of dystroglycan glycosylation during brain development and rescue of severe cortical dysplasia via gene delivery in the fetal stage	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Human Molecular Genetics	6. 最初と最後の頁 1174 ~ 1185
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/hmg/ddy032	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Nishihara Ryuta, Kobayashi Kazuhiro, Imae Rieko, Tsumoto Hiroki, Manya Hiroshi, Mizuno Mamoru, Kanagawa Motoi, Endo Tamao, Toda Tatsushi	4. 巻 497
2. 論文標題 Cell endogenous activities of fukutin and FKRPs coexist with the ribitol xylosyltransferase, TMEM5	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 1025 ~ 1030
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2018.02.162	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Imae Rieko, Manya Hiroshi, Tsumoto Hiroki, Osumi Kenji, Tanaka Tomohiro, Mizuno Mamoru, Kanagawa Motoi, Kobayashi Kazuhiro, Toda Tatsushi, Endo Tamao	4. 巻 293
2. 論文標題 CDP-glycerol inhibits the synthesis of the functional O-mannosyl glycan of $\alpha$ -dystroglycan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 12186 ~ 12198
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.003197	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Uenaka Takeshi, Satake Wataru, Cha Pei-Chieng, Hayakawa Hideki, Baba Kousuke, Jiang Shiyong, Kobayashi Kazuhiro, Kanagawa Motoi, Okada Yukinori, Mochizuki Hideki, Toda Tatsushi	4. 巻 27
2. 論文標題 In silico drug screening by using genome-wide association study data repurposed dabrafenib, an anti-melanoma drug, for Parkinson's disease	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Human Molecular Genetics	6. 最初と最後の頁 3974 ~ 3985
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/hmg/ddy279	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Sekiya Hiroaki, Kowa Hisatomo, Koga Hinako, Takata Mariko, Satake Wataru, Futamura Naonobu, Funakawa Itaru, Jinnai Kenji, Takahashi Motonori, Kondo Takeshi, Ueno Yasuhiro, Kanagawa Motoi, Kobayashi Kazuhiro, Toda Tatsushi	4. 巻 137
2. 論文標題 Wide distribution of alpha-synuclein oligomers in multiple system atrophy brain detected by proximity ligation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Acta Neuropathologica	6. 最初と最後の頁 455 ~ 466
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00401-019-01961-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshioka Mieko, Kobayashi Kazuhiro, Toda Tatsushi	4. 巻 39
2. 論文標題 Novel FKRP mutations in a Japanese MDC1C sibship clinically diagnosed with Fukuyama congenital muscular dystrophy	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Brain and Development	6. 最初と最後の頁 869 ~ 872
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.braindev.2017.05.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobayashi Kazuhiro, Kato Reiko, Kondo-Iida Eri, Taniguchi-Ikeda Mariko, Osawa Makiko, Saito Kayoko, Toda Tatsushi	4. 巻 62
2. 論文標題 Deep-intronic variant of fukutin is the most prevalent point mutation of Fukuyama congenital muscular dystrophy in Japan	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 945 ~ 948
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/jhg.2017.71	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takagi Atsuko, Ikeda Yasuyuki, Kobayashi Kunihisa, Kobayashi Kazuhiro, Ikeda Yoshihiko, Kozawa Junji, Miyauchi Hideyuki, Li Ming, Hashimoto Chikako, Hara Yasuhiro, Yamaguchi Satoshi, Suzuki Akira, Toda Tatsushi, Nagasaka Hironori, Hirano Ken-ichi	4. 巻 495
2. 論文標題 Newly developed selective immunoinactivation assay revealed reduction in adipose triglyceride lipase activity in peripheral leucocytes from patients with idiopathic triglyceride deposit cardiomyovascularopathy	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 646 ~ 651
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bbrc.2017.11.070	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kanagawa Motoi, Kobayashi Kazuhiro, Tajiri Michiko, Many Hiroshi, Kuga Atsushi, Yamaguchi Yoshiki, Akasaka-Manyo Keiko, Furukawa Jun-ichi, Mizuno Mamoru, Kawakami Hiroko, Shinohara Yasuro, Wada Yoshinao, Endo Tamao, Toda Tatsushi	4. 巻 14
2. 論文標題 Identification of a Post-translational Modification with Ribitol-Phosphate and Its Defect in Muscular Dystrophy	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 2209 ~ 2223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2016.02.017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yang Haipo, Many Hiroshi, Kobayashi Kazuhiro, Jiao Hui, Fu Xiaona, Xiao Jiangxi, Li Xiaoqing, Wang Jingmin, Jiang Yuwu, Toda Tatsushi, Endo Tamao, Wu Xiru, Xiong Hui	4. 巻 61
2. 論文標題 Analysis of phenotype, enzyme activity and genotype of Chinese patients with POMT1 mutation	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Human Genetics	6. 最初と最後の頁 753 ~ 759
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/jhg.2016.42	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kuwabara Naoyuki, Many Hiroshi, Yamada Takeyuki, Tateno Hiroaki, Kanagawa Motoi, Kobayashi Kazuhiro, Akasaka-Many Keiko, Hirose Yuriko, Mizuno Mamoru, Ikeguchi Mitsunori, Toda Tatsushi, Hirabayashi Jun, Senda Toshiya, Endo Tamao, Kato Ryuichi	4. 巻 113
2. 論文標題 Carbohydrate-binding domain of the POMGnT1 stem region modulates O-mannosylation sites of dystroglycan	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 9280 ~ 9285
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.1525545113	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Many Hiroshi, Yamaguchi Yoshiki, Kanagawa Motoi, Kobayashi Kazuhiro, Tajiri Michiko, Akasaka-Many Keiko, Kawakami Hiroko, Mizuno Mamoru, Wada Yoshinao, Toda Tatsushi, Endo Tamao	4. 巻 291
2. 論文標題 The Muscular Dystrophy Gene TMEM5 Encodes a Ribitol 1,4-Xylosyltransferase Required for the Functional Glycosylation of Dystroglycan	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 24618 ~ 24627
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.M116.751917	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計10件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 関谷博顕, 古和久朋, 古閑日奈子, 高田真利子, 佐竹渉, 二村直伸, 舟川格, 陣内研二, 高橋玄倫, 近藤武史, 上野易弘, 金川基, 小林千浩, 戸田達史
2. 発表標題 Wide distribution of alpha-synuclein oligomers in MSA brain detected by proximity ligation
3. 学会等名 第60回日本神経学会学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 関恒慶, 金川基, 小林千浩, 古和久朋, 八幡直樹, 丸山敬, 岩田修永, 井上治久, 戸田達史
2. 発表標題 Galectin 3 binding proteinはBACE1活性しA 産生を抑制する
3. 学会等名 第38回日本認知症学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 関恒慶, 金川基, 小林千浩, 古和久朋, 八幡直樹, 丸山敬, 岩田修永, 井上治久, 戸田達史
2. 発表標題 Galectin 3 binding proteinは内在性の -セクレターゼ活性を制御することでA 産生を抑制する
3. 学会等名 第92回日本生化学会大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yoshihisa Ohtsuka, Motoi Kanagawa, Tomoko Chiyo, Kazuhiro Kobayashi, Takashi Okada, Shin'ichi Takeda, Tatsushi Toda
2. 発表標題 LARGE Gene Therapy for -Dystroglycanopathies
3. 学会等名 11th Japanese-French Workshop (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 首藤篤史、金川基、近藤舞、伊藤千代美、小林千浩、遠藤光晴、南康博、饗場篤、戸田達史
2. 発表標題 ジストログリカノパチ - モデルマウスの中樞神経病態の解析
3. 学会等名 第37回日本糖質学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 小林 千浩、金川 基、田尻 道子、萬谷 博、久我 敦、山口 芳樹、和田 芳直、遠藤 玉夫、戸田 達史
2. 発表標題 ジストログリカン異常症の原因となるリピートリン酸タンDEM構造とその生合成機構
3. 学会等名 日本人類遺伝学会第62回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小林 千浩
2. 発表標題 ジストログリカン異常症の原因となるリピートリン酸タンDEM構造とその生合成経路
3. 学会等名 2017年度生命科学系学会合同年次大会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kazuhiro Kobayashi, Tetsuya Oda, Hui Xiong, Wataru Satake, Tatsushi Toda
2. 発表標題 A de novo mutation of the MYH7 gene in a large Chinese family with autosomal dominant myopathy
3. 学会等名 The 13th International Congress of Human Genetics (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Kazuhiro Kobayashi, Motoi Kanagawa, Michiko Tajiri, Hiroshi Many, Atsushi Kuga, Yoshiki Yamaguchi, Keiko Akasaka-Many, Jun-ichi Furukawa, Mamoru Mizuno, Hiroko Kawakami, Yasuro Shinohara, Yoshinao Wada, Tamao Endo, Tatsushi Toda
2. 発表標題 ジストログリカン糖鎖のリピートリン酸タンDEM構造とその生合成経路
3. 学会等名 第2回日本筋学会学術集会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Kazuhiro Kobayashi, Motoi Kanagawa, Michiko Tajiri, Hiroshi Many, Atsushi Kuga, Yoshiki Yamaguchi, Keiko Akasaka-Many, Jun-ichi Furukawa, Mamoru Mizuno, Hiroko Kawakami, Yasuro Shinohara, Yoshinao Wada, Tamao Endo, Tatsushi Toda
2. 発表標題 ジストログリカン糖鎖のリピトールリン酸タンデム構造とその生合成機構
3. 学会等名 第39回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

神戸大学大学院医学研究科分子脳科学分野ホームページ <a href="http://www.med.kobe-u.ac.jp/clgene/">http://www.med.kobe-u.ac.jp/clgene/</a>
--

6. 研究組織			
	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考