

ジストログリカンの糖鎖修飾と 先天性筋ジストロフィー

Glycosylation of dystroglycan and congenital muscular dystrophies

大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝学教室

大阪大学大学院医学系研究科臨床遺伝学教室教授

ハワードヒューズ医学研究所・アイオワ大学医学部教授

金川 基 *Motoi Kanagawa*

戸田 達史 *Tatsushi Toda*

Kevin P. Campbell

Key words: 先天性筋ジストロフィー, 糖鎖異常, ジストログリカン, LARGE, ラミニン

▶ はじめに ◀

糖転移酵素をコードしていると推定される遺伝子の変異が、ある一群の先天性筋ジストロフィーの発症に関与することが明らかになってきた。これらの疾患群に共通して、細胞外マトリックス受容体であるジストログリカン (dystroglycan ; DG) に糖鎖異常が生じている。その結果、DGによって維持されるべき細胞外マトリックスと細胞骨格との連携が弱まることで、筋細胞膜の物理的強度が低下し、筋ジストロフィーに至る、という発症メカニズムが提唱されている。したがって、DGの糖鎖構造や糖鎖修飾機構を理解することは、この疾患群の発症機序の理解、ひいては治療手段の開発にきわめて重要なテーマである。本稿では、はじめにDGの構造と機能を概説した後、DGの機能的発現に必須な翻訳後修飾の機序と先天性筋ジストロフィーの糖鎖治療の可能性を最近の知見を踏まえて考察したい。

筋ジストロフィーと

ジストロフィン-糖タンパク質複合体

筋ジストロフィーは進行性の筋力低下を認める遺伝性疾患の総称で、その原因遺伝子産物として

は、細胞骨格、細胞膜タンパク質、細胞外マトリックス分子などを含む30種以上が報告されている¹⁾。多くの筋ジストロフィーでは、四肢筋のみならず呼吸筋や心筋の変性萎縮も進行するため、末期では呼吸不全や心不全を併発する場合がある。近年における分子レベルでの筋ジストロフィー研究は、ジストロフィンの発見がブレイクスルーとなり発展してきた。ジストロフィン筋ジストロフィーのなかで最も頻度の高いデュシェンヌ型筋ジストロフィーの原因タンパク質であり、細胞膜直下で膜タンパク質とアクチンを結びつける役割を果たしている。後にジストロフィンと会合する膜型の糖タンパク質群が相次いで発見され、これらのタンパク質複合体はジストロフィン-糖タンパク質複合体 (dystrophin-glycoprotein complex ; DGC) と呼ばれている (図1)。ジストロフィンのみならず、サルコグリカンなどのDGC構成成分の変異も筋ジストロフィーの原因となることから、DGCは筋収縮運動という機械的負荷に耐えうる物理的強度を細胞膜に与えているのであろう。DGCにおいて中核的な役割を果たしているのが膜貫通型の糖タンパク質DGである (図1)²⁾。骨格筋組織において、DGは細胞外で基底膜の主成分であるラミニンと結合し、細胞内では

ジストロフィンと結合している。この細胞膜を隔てたマトリックス-DG-細胞骨格の分子鎖が筋細胞膜の物理的安定性の維持に重要な要素であると考えられている。

◀ ジストログリカンの構造と機能 ▶

DGは、単一のmRNAにコードされており、翻訳後修飾の過程で α 鎖(α -DG)と β 鎖(β -DG)に切断される(図1)。 α -DGは、ラミニン、パールカン、アグリン、ニューレキシンといった細胞外マトリックス分子と結合する受容体サブユニットで、膜貫通型サブユニットの β -DGによって細胞膜表層につなぎとめられている。 β -DGは細胞内でジストロフィンとも結合している。 α -DGはO型糖鎖が多量に付加されたムチン様領域と、それを挟むN末端とC末端の球状領域からなる。ラミニンやパールカンといったリガンドとの結合には、 α -DGのO型糖鎖が必須であり、なかでも哺乳類ではきわめて珍しいO-マンノース型糖鎖(Sia α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man-Ser/Thr)がリガンドとの結合に重要であることが示唆されている³⁾⁴⁾。DGは多くの組織に広範囲に発現しており、非筋肉組織においても重要な機能を担っていることが明らかになってきた。たとえば、大脳

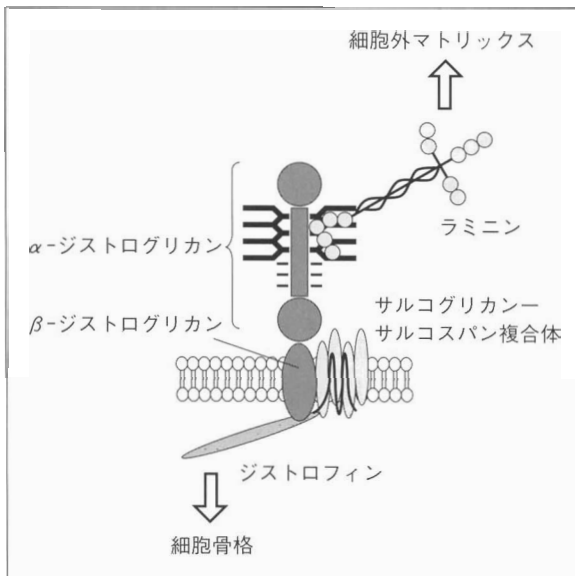


図1. ジストロフィン-糖タンパク質複合体の模式図

皮質においてはグリア境界膜-基底膜構造の維持や神経細胞遊走の調節⁵⁾、末梢神経では髄鞘形成および維持⁶⁾、肺や腎では上皮形態形成に関与している⁷⁾。

◀ ジストログリカンの糖鎖異常と先天性筋ジストロフィー ▶

先に述べたように、DGの糖鎖修飾はリガンド結合活性に必須であるが、近年、糖転移酵素をコードすると推察される遺伝子の変異により、 α -DGに糖鎖異常が生じている筋ジストロフィーが相次いで報告された(表1)⁸⁾。 α -DGの糖鎖異常は、糖鎖修飾型 α -DGを特異的に認識する抗体との反応性や、 α -DGの分子量のシフトを指標に検出できる。これらの疾患群は、変異が生じている遺伝子の種に関わらず、DGの糖鎖異常が共通して認められるためジストログリカノパチーと総称されており⁹⁾、構造タンパク質の変異を発症要因とする筋ジストロフィーが多いなか、酵素の異常が引き金となる新規な発症機序をとるため最近注目を集めている。Protein O-mannosyltransferase 1(POMT1)と protein O-mannose β -1, 2-N-acetylglucosaminyltransferase(POMGnT1)は、DGのO-マンノース型糖鎖の合成に直接関わる糖転移酵素として活性が同定されており¹⁰⁾¹¹⁾、その変異はそれぞれWalker-Warburg syndrome(WWS)と muscle-eye-brain disease(MEB病)の原因となる。WWSとMEB病筋では α -DGの糖鎖異常のみならず、リガンド結合能も著減している¹²⁾。つまり、糖転移酵素の異常によって、その基質分子であるDGが機能不全となる結果、DGを介した細胞外マトリックス-細胞骨格の連携が破綻し、筋ジストロフィーに至ると考えられる。福山型先天性筋ジストロフィー(Fukuyama congenital muscular dystrophy: FCMD)は、日本においてデュシェンヌ型筋ジストロフィーに次いで発生頻度が高く、脳・目の異常を伴う重度の筋ジストロフィーである。その原因遺伝子fukutinは糖転移酵素をコードしていると推定されているが、遺伝子産物フクチンの機能はいまだ同定されていない¹³⁾。FCMDにおいても、 α -DGの糖鎖異常と

リガンド結合能の低下が生じていることから、フクチンもDGの糖鎖修飾に関与している可能性がきわめて高い¹²⁾¹⁴⁾。フクチンと相同性の高い fukutin-related proteinの変異も、 α -DGの糖鎖異常を伴う先天性筋ジストロフィー1Cや肢帯型筋ジストロフィー2Iの原因となることが知られている。

ジストログリカンの機能発現に おけるLARGEの役割

ジストログリカノパチーの発症機序を理解するためのモデル動物として、Large^{myd}マウスが知られている。Large^{myd}マウスでは、LARGE (like-acetylglucosaminyltransferase) 遺伝子に変異があり、その病理学的特徴はMEB病やFCMDの病理所見と類似している。LARGEは膜貫通領域、coiled-coil領域、DXDモチーフ含有領域からなる糖転移酵素と推定されているが、Large^{myd}

マウスでは変異によってLARGEタンパクの大部分が欠損するため、LARGEの機能は発現しないのであろう。Large^{myd}マウスの脳と骨格筋では、MEB病やFCMDと同様に、 α -DGの糖鎖異常とラミニン結合能の低下が観察されることから(図2)、LARGEもまた α -DGの糖鎖修飾経路に関与すると考えられる。LARGEの変異によって生じるジストログリカノパチーは先天性筋ジストロフィー1D (congenital muscular dystrophy 1D ; MDC1D) と分類される。

Campbellのグループは、アデノウイルスベクターを用いてLARGE遺伝子をLarge^{myd}マウス筋肉に導入することで、筋ジストロフィーの進行を抑制できるか検討を行った¹⁵⁾。非常に興味深いことに、Large^{myd}のみならず、野生型マウスにおいても、LARGE遺伝子導入後、 α -DGの糖鎖修飾、ラミニン結合能が顕著に増加した。さらに、遺伝子導入を行ったLarge^{myd}マウスの筋繊維で

表1. ジストログリカンの糖鎖異常を伴う先天性筋ジストロフィーとその原因遺伝子産物

先天性筋ジストロフィー	原因遺伝子産物	遺伝子産物の機能
Walker-Warburg syndrome (WWS)	POMT1, POMT2	O-Man転移酵素
muscle-eye-brain disease (MEB病)	POMGnT1	GlcNAc転移酵素
福山型先天性筋ジストロフィー (FCMD)	fukutin	不明
肢帯型筋ジストロフィー2I (LGMD 2I)	fukutin-related protein (FKRP)	不明
先天性筋ジストロフィー1C (MDC1C)	fukutin-related protein (FKRP)	不明
先天性筋ジストロフィー1D (MDC1D)	LARGE	不明

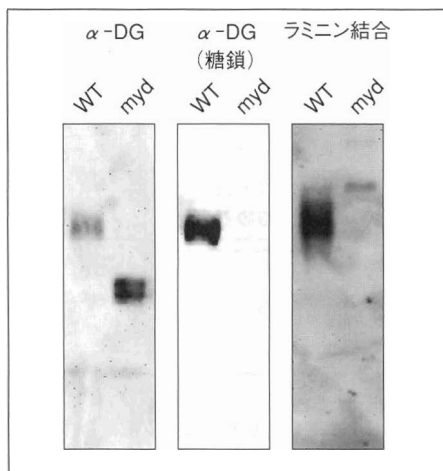


図2. Large^{myd}筋にみられるジストログリカンの糖鎖異常

野生型 (WT) と Large^{myd} (myd) マウス筋から調整した試料をウエスタンブロット法で解析した。Large^{myd}では、 α -ジストログリカンの分子量が低下し(左)、糖鎖を認識する抗体との反応性(中)とラミニン結合能(右)が消失している。

ジストロフィンと結合している。この細胞膜を隔てたマトリックス-DG-細胞骨格の分子鎖が筋細胞膜の物理的安定性の維持に重要な要素であると考えられている。

▶ ジストログリカンの構造と機能 ◀

DGは、単一のmRNAにコードされており、翻訳後修飾の過程で α 鎖(α -DG)と β 鎖(β -DG)に切断される(図1)。 α -DGは、ラミニン、パルカン、アグリン、ニューレキシンといった細胞外マトリックス分子と結合する受容体サブユニットで、膜貫通型サブユニットの β -DGによって細胞膜表層につなぎとめられている。 β -DGは細胞内でジストロフィンとも結合している。 α -DGはO型糖鎖が多量に付加されたムチン様領域と、それを挟むN末端とC末端の球状領域からなる。ラミニンやパルカンといったリガンドとの結合には、 α -DGのO型糖鎖が必須であり、なかでも哺乳類ではきわめて珍しいO-マンノース型糖鎖(Sia α 2-3Gal β 1-4GlcNAc β 1-2Man-Ser/Thr)がリガンドとの結合に重要であることが示唆されている³⁾⁴⁾。DGは多くの組織に広範囲に発現しており、非筋肉組織においても重要な機能を担っていることが明らかになってきた。たとえば、大脳

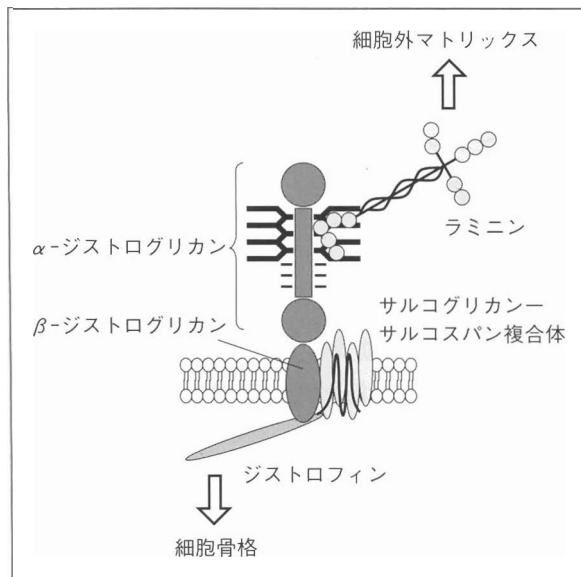


図1. ジストロフィン-糖タンパク質複合体の模式図

皮質においてはグリア境界膜-基底膜構造の維持や神経細胞遊走の調節⁵⁾、末梢神経では髄鞘形成および維持⁶⁾、肺や腎では上皮形態形成に参与している⁷⁾。

▶ ジストログリカンの糖鎖異常と先天性筋ジストロフィー ◀

先に述べたように、DGの糖鎖修飾はリガンド結合活性に必須であるが、近年、糖転移酵素をコードすると推察される遺伝子の変異により、 α -DGに糖鎖異常が生じている筋ジストロフィーが相次いで報告された(表1)⁸⁾。 α -DGの糖鎖異常は、糖鎖修飾型 α -DGを特異的に認識する抗体との反応性や、 α -DGの分子量のシフトを指標に検出できる。これらの疾患群は、変異が生じている遺伝子の種に関わらず、DGの糖鎖異常が共通して認められるためジストログリカノパチーと総称されており⁹⁾、構造タンパク質の変異を発症要因とする筋ジストロフィーが多いなか、酵素の異常が引き金となる新規な発症機序をとるため最近注目を集めている。Protein O-mannosyltransferase 1(POMT1)とprotein O-mannose β -1, 2-N-acetylglucosaminyltransferase(POMGnT1)は、DGのO-マンノース型糖鎖の合成に直接関わる糖転移酵素として活性が同定されており¹⁰⁾¹¹⁾、その変異はそれぞれWalker-Warburg syndrome(WWS)とmuscle-eye-brain disease(MEB病)の原因となる。WWSとMEB病筋では α -DGの糖鎖異常のみならず、リガンド結合能も著減している¹²⁾。つまり、糖転移酵素の異常によって、その基質分子であるDGが機能不全となる結果、DGを介した細胞外マトリックス-細胞骨格の連携が破綻し、筋ジストロフィーに至ると考えられる。福山型先天性筋ジストロフィー(Fukuyama congenital muscular dystrophy; FCMD)は、日本においてデュシェンヌ型筋ジストロフィーに次いで発生頻度が高く、脳・目の異常を伴う重度の筋ジストロフィーである。その原因遺伝子fukutinは糖転移酵素をコードしていると推定されているが、遺伝子産物フクチンの機能ははまだ同定されていない¹³⁾。FCMDにおいても、 α -DGの糖鎖異常と

リガンド結合能の低下が生じていることから、フクチンもDGの糖鎖修飾に関与している可能性がきわめて高い¹²⁾¹⁴⁾。フクチンと相同性の高い fukutin-related protein の変異も、 α -DGの糖鎖異常を伴う先天性筋ジストロフィー1Cや肢帯型筋ジストロフィー2Iの原因となることが知られている。

ジストログリカンの機能発現におけるLARGEの役割

ジストログリカノパチーの発症機序を理解するためのモデル動物として、Large^{myd}マウスが知られている。Large^{myd}マウスでは、LARGE (like-acetylglucosaminyltransferase) 遺伝子に変異があり、その病理学的特徴はMEB病やFCMDの病理所見と類似している。LARGEは膜貫通領域、coiled-coil領域、DXDモチーフ含有領域からなる糖転移酵素と推定されているが、Large^{myd}

マウスでは変異によってLARGEタンパクの大部分が欠損するため、LARGEの機能は発現しないのであろう。Large^{myd}マウスの脳と骨格筋では、MEB病やFCMDと同様に、 α -DGの糖鎖異常とラミニン結合能の低下が観察されることから(図2)、LARGEもまた α -DGの糖鎖修飾経路に関与すると考えられる。LARGEの変異によって生じるジストログリカノパチーは先天性筋ジストロフィー1D (congenital muscular dystrophy 1D ; MDC1D) と分類される。

Campbellのグループは、アデノウイルスベクターを用いてLARGE遺伝子をLarge^{myd}マウス筋肉に導入することで、筋ジストロフィーの進行を抑制できるか検討を行った¹⁵⁾。非常に興味深いことに、Large^{myd}のみならず、野生型マウスにおいても、LARGE遺伝子導入後、 α -DGの糖鎖修飾、ラミニン結合能が顕著に増加した。さらに、遺伝子導入を行ったLarge^{myd}マウスの筋繊維で

表1. ジストログリカンの糖鎖異常を伴う先天性筋ジストロフィーとその原因遺伝子産物

先天性筋ジストロフィー	原因遺伝子産物	遺伝子産物の機能
Walker-Warburg syndrome (WWS)	POMT1, POMT2	O-Man転移酵素
muscle-eye-brain disease (MEB病)	POMGnT1	GlcNAc転移酵素
福山型先天性筋ジストロフィー (FCMD)	fukutin	不明
肢帯型筋ジストロフィー2I (LGMD 2I)	fukutin-related protein (FKRP)	不明
先天性筋ジストロフィー1C (MDC1C)	fukutin-related protein (FKRP)	不明
先天性筋ジストロフィー1D (MDC1D)	LARGE	不明

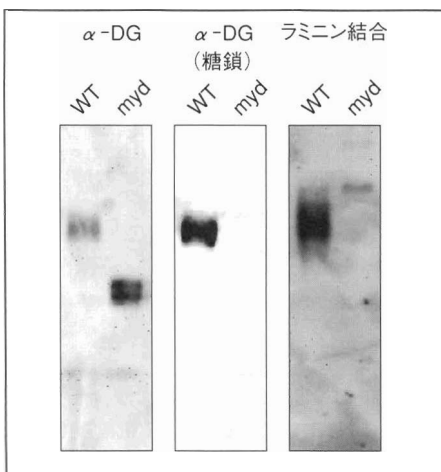


図2. Large^{myd}筋にみられるジストログリカンの糖鎖異常
野生型(WT)とLarge^{myd}(myd)マウス筋から調整した試料をウエスタンブロット法で解析した。Large^{myd}では、 α -ジストログリカンの分子量が低下し(左)、糖鎖を認識する抗体との反応性(中)とラミニン結合能(右)が消失している。

は、筋ジストロフィー進行の抑制が観察された¹⁵⁾。これらの結果から、LARGEは α -DGがラミニン受容体として機能的に発現するために不可欠な因子であること、過剰発現したLARGEは α -DGのラミニン結合活性を増強できることが明らかになった。

次いで、LARGE依存的な糖鎖修飾領域を明らかにする目的で、 α -DGの部位欠損変異体が作成された¹⁶⁾。培養細胞に α -DGを発現させると、細胞に残存する未成熟型と、培養液に分泌されるラミニン結合能をもつ成熟型の、2つの性質が異なる分子種が生成される。LARGEと α -DGを共発現させると、成熟型 α -DGの糖鎖修飾とラミニン結合能が増加するので、これを指標として糖鎖修飾領域のマッピングが行われた。その結果、 α -DGのN末端球状領域とムチン様領域の前半部分を含む変異体(変異体1)にラミニン結合が観察されたが、N末端球状領域単独(変異体2)や、ムチン様領域単独(変異体3)の変異体には、ラミニン結合はみられなかった(図3)。よって、N末端球状領域とムチン様領域の両方が存在することが、ラミニン結合に必要であると考えられた。

ところが、N末端球状領域は、DGが細胞膜に移行する過程で、フリン様プロテアーゼによってムチン様領域から切断されることが示されている¹⁶⁾¹⁷⁾。すなわち、ラミニン結合型の成熟 α -DG分子中にN末端球状領域は事実上存在していないため、N末端球状領域はラミニンとの結合に必要なのではないことになる。では、なぜN末端球状領域を欠損した変異体はラミニン結合能をもたないのであろう。N末端球状領域は成熟 α -DGには存在しないが、細胞残存型の未成熟型 α -DGからは検出できる。未成熟型 α -DGはラミニンと結合しないため、糖鎖修飾が進行していないプリミティブな分子であると考えられる。Campbellのグループでは、N末端球状領域は、ラミニンとの結合に必要なのではなく、細胞内での α -DGの糖鎖修飾過程において必要であると考え、糖転移酵素によって認識されるモチーフとして機能している、という仮説をたてた。もしN末端球状領域を介して酵素-基質複合体が形成されるのなら、N末端球状領域とLARGEの相互作用が検出できるはずである。そこで、親和性カラムを用いて種々のDG変異体とLARGEの結合を検討した結果、N末

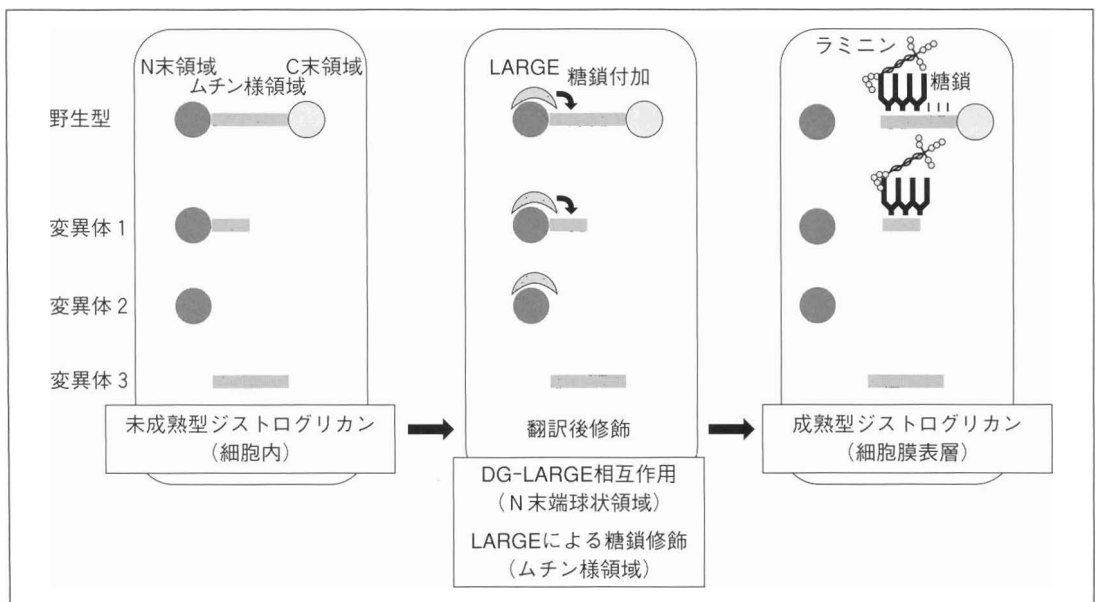


図3. ジストログリカンの翻訳後修飾におけるLARGEの役割

α -ジストログリカンのN末端球状領域は細胞内でLARGEによって認識される。このジストログリカン-LARGE複合体形成がムチン様領域に生じる糖鎖修飾に必要である。

端球状領域とLARGEとの相互作用を示すことに成功した。また、N末端球状領域に欠損があるDG変異体を、DG欠損のES細胞やマウス筋に導入しても、機能的なDGは発現しなかった。これらの実験から、N末端球状領域を介したDG-LARGE複合体形成がDGの翻訳後修飾過程において不可欠なイベントであることが明らかになった¹⁶⁾。

先天性筋ジストロフィー治療への ストラテジーと今後の課題

今まで述べてきたように、DGがラミニン受容体として細胞膜上に発現するためには、複雑な糖鎖修飾ネットワークが適切に機能することが不可欠であると推測できる。ゆえに、糖鎖修飾経路に関与するファクターが1つでも欠けるとジストログリカノパチーを発症するのであろう。興味深いことに、糖鎖修飾経路に欠陥のあるFCMD、

MEB病、WWS由来の細胞にLARGEを過剰発現させると、いずれの細胞においても、すなわち変異が生じている糖転移酵素の種に関わらず、 α -DGの糖鎖修飾が進行しラミニン結合能の回復がみられる¹⁵⁾。ジストログリカノパチー発症を引き起こすような異常をもつ糖鎖修飾経路は、「LARGEの過剰発現」という経路により代替され、結果として α -DGの機能不全が解消されることが示唆される(図4)。これらより、内因性タンパク質であるLARGEの発現や活性を増加させることで、DG-ラミニンの結合が新たに形成、あるいは増強され、ジストログリカノパチーの進行を抑制できる可能性が提唱されている¹⁵⁾。今後、モデルマウスを用いたLARGE過剰発現の長期的な効果、および他の糖タンパク質に及ぼす影響の検討が急がれる。また、LARGEの酵素活性はいまだ同定されておらず、さらにはLARGEの過剰発現によって生成するラミニン結合型糖鎖の解析

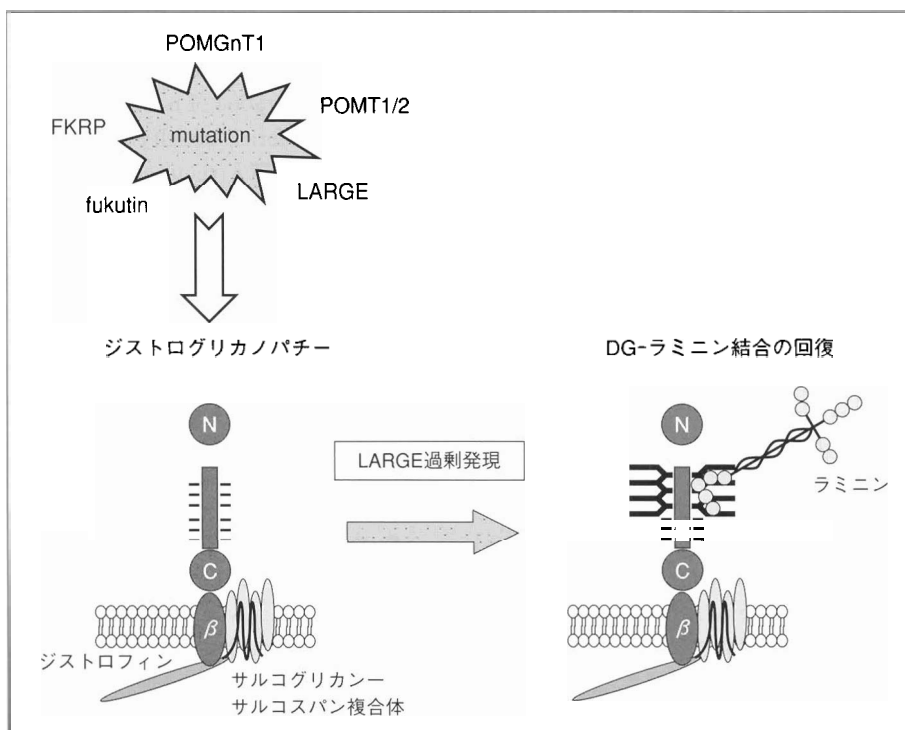


図4. LARGE過剰発現によるジストログリカン機能不全の解消モデル
糖鎖修飾経路の異常によってジストログリカンのラミニン結合能が著しく低下し、ジストログリカノパチーは発症する。LARGEを過剰発現させることによって、ジストログリカン-ラミニン結合が新たに形成、もしくは増強される。

など明らかにすべき課題は多いものの、将来的なジストログリカノパチーの治療を目標として、LARGEをターゲットにした研究が発展することを期待したい。

謝 辞

本研究は、ハワードヒューズ医学研究所・アイオワ大学医学部生理学生物物理学部門で行われたものであり、Campbell研究室のメンバーにこの場を借りて深謝の意を表します。

Summary

[背 景]

ジストログリカンの糖鎖異常が先天性筋ジストロフィーの発症原因であることが明らかになり、原因遺伝子産物の機能解析が進められている。

[新知見の要点]

LARGEとの相互作用が、ジストログリカンの機能発現に必要なステップであることがわかつ

た。LARGEを過剰発現させることで、ジストログリカンの機能異常を代替的に解消できることが明らかになった。

[将来の可能性]

LARGEの活性や発現を調節することが先天性筋ジストロフィーの治療に有効な手段となりうる可能性が提唱されている。

文 献

- 1) Durbeej M, Campbell KP : Muscular dystrophies involving the dystrophin-glycoprotein complex ; an overview of current mouse models. *Curr Opin Genet Dev* 12 : 349-361, 2002
- 2) Barresi R, Campbell KP : Dystroglycan ; from biosynthesis to pathogenesis of human disease. *J Cell Sci* 119 : 199-207, 2006
- 3) Michele DE, Campbell KP : Dystrophin-glycoprotein complex ; post-translational processing and dystroglycan function. *J Biol Chem* 278 : 15457-15460, 2003
- 4) Chiba A, Matsumura K, Yamada H, et al : Structures of sialylated O-linked oligosaccharides of bovine peripheral nerve alpha-dystroglycan. The role of a novel O-mannosyl-type oligosaccharide in the binding of alpha-dystroglycan with laminin. *J Biol Chem* 272 : 2156-2162, 1997
- 5) Moore SA, Saito F, Chen J, et al : Deletion of brain dystroglycan recapitulates aspects of congenital muscular dystrophy. *Nature* 418 : 422-425, 2002
- 6) Saito F, Moore SA, Barresi R, et al : Unique role of dystroglycan in peripheral nerve myelination, nodal structure, and sodium channel stabilization. *Neuron* 38 : 747-758, 2003
- 7) Durbeej M, Talts JF, Henry MD, et al : Dystroglycan binding to laminin alpha1LG4 module influences epithelial morphogenesis of salivary gland and lung *in vitro*. *Differentiation* 69 : 121-134, 2001
- 8) Muntoni F, Brockington M, Torelli S, et al : Defective glycosylation in congenital muscular dystrophies. *Curr Opin Neurol* 17 : 205-209, 2004
- 9) Toda T, Kobayashi K, Takeda S, et al : Fukuyama-type congenital muscular dystrophy (FCMD) and alpha-dystroglycanopathy. *Congenit Anom (Kyoto)* 43 : 97-104, 2003
- 10) Manya H, Chiba A, Yoshida A, et al : Demonstration of mammalian protein O-mannosyltransferase activity ; coexpression of POMT1 and POMT2 required for enzymatic activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101 : 500-505, 2004
- 11) Yoshida A, Kobayashi K, Manya H, et al : Muscular dystrophy and neuronal migration disorder caused by mutations in a glycosyltransferase, POMGnT1. *Dev Cell* 1 : 717-724, 2001
- 12) Michele DE, Barresi R, Kanagawa M, et al : Post-translational disruption of dystroglycan-ligand interactions in congenital muscular dystrophies. *Nature* 418 : 417-422, 2002
- 13) Kobayashi K, Nakahori Y, Miyake M, et al : An ancient retrotransposal insertion causes Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Nature* 394 : 388-392, 1998
- 14) Hayashi YK, Ogawa M, Tagawa K, et al : Selective deficiency of alpha-dystroglycan in Fukuyama-type congenital muscular dystrophy. *Neurology* 57 : 115-121, 2001
- 15) Barresi R, Michele DE, Kanagawa M, et al : LARGE can functionally bypass alpha-dystro-

glycan glycosylation defects in distinct congenital muscular dystrophies. *Nat Med* 10 : 696-703, 2004

16) Kanagawa M, Saito F, Kunz S, et al : Molecular recognition by LARGE is essential for expression of functional dystroglycan. *Cell* 117 :

953-964, 2004

17) Singh J, Itahana Y, Knight-Krajewski S, et al : Proteolytic enzymes and altered glycosylation modulate dystroglycan function in carcinoma cells. *Cancer Res* 64 : 6152-6159, 2004