

## 神経細胞の分化を調節する細胞間認識に係わる糖鎖シグナル

東 秀好

## Regulation of Neuronal Cell Function by Glyco-signals

Hideyoshi HIGASHI

Division of Glyco-signal Research, Institute of Molecular Biomembrane and Glycobiology,  
Tohoku Pharmaceutical University, CREST JST, 4-4-1 Komatsushima,  
Aoba-ku, Sendai 981-8558, Japan

(Received January 5, 2007)

Gangliosides and proteoglycans with various sugar chains exist abundantly in the brain. They participate in intercellular recognition by revealing the sugar chains on the cell surface, and some of them show neurite-extension activity. Several recognition features that are mediated by the sugar chains are known such as saccharide-saccharide interaction and cell-surface sugar-chain receptor-mediated recognition. Experiments on animals lacking the sugar-chain synthetic system with the technique of gene targeting suggest that phylogenetically “old” sugar chains such as chondroitin sulfate appear necessary for early development of the organism while relatively “new” sugar chains such as gangliosides, which appear with further development of the brain, are necessary for differentiation maturity processes. On the other hand, research using primary cultured neurons showed similar effects of the gangliosides and chondroitin sulfate on cell differentiation. It is possible that these sugar chains share the glyco-receptor-mediated signal transduction system.

**Key words**—ganglioside; chondroitin sulfate; neuron; signal transduction; cell-cell interaction

## 1. はじめに

動物細胞は脂質の二重膜によって外界と接しているが、主にリン脂質を構成成分とする膜には、多くのタンパク質が浮かんでおり、そのいくつかは細胞の外の情報を細胞内に伝える役割を持っている。実は、これら膜タンパク質のほとんどは、その細胞外部位に糖鎖が付いている糖タンパク質であるし、膜脂質中にも糖鎖を持つ糖脂質がかなりの量存在している。また、糖タンパク質のうち糖鎖の含量が極端に多いプロテオグリカンも膜に浮かんでいる。したがって、多くの細胞では、細胞表面に脂質二重膜が露出しているというよりも糖鎖の衣（糖衣）で覆われていると考えられる。糖鎖は、その構成成分と結合の様式が多様なため、核酸やアミノ酸で構成される配列に比べて構成単位当たりの多様性が非常に高く、認識分子として都合がよい。このように細胞表

面に露出されているプロテオグリカンや糖脂質、糖タンパク質の糖鎖は、細胞の顔と言われるように認識分子として細胞間認識に関与している。この糖鎖による細胞間認識機構を神経細胞における糖鎖シグナルを中心に、われわれの最近の知見を交えて解説したい。

## 2. 糖鎖と系統発生

細胞間認識が必須となるのは多細胞生物の出現からであり、その原始的な形態である海綿では、緩やかな細胞間結合が存在する。これは有名な実験であるが、海綿の細胞をばらばらにし、種類の異なる海綿の細胞と混ぜ合わせると、同じ種類の細胞同士が再集合する。<sup>1-3)</sup> この認識や結合が、プロテオグリカンの糖鎖であるグリコサミノグリカン (GAG) を介したものであることは、糖鎖が細胞間認識に古くから使われていることの典型である。GAGとガングリオシド糖鎖を比較すると、明らかに前者は系統発生的に古くから発現されている。GAGのうち、*N*-アセチルグルコサミン (GlcNAc) とグルクロン酸を構成糖とするヘパラン硫酸が合成できないショウジョウバエやマウスの変異体では、発生初期にお

東北薬科大学分子生体膜研究所生体膜情報学研究室,  
CREST JST (〒981-8558 仙台市青葉区小松島 4-4-1)  
e-mail: hhigashi@tohoku-pharm.ac.jp

本総説は、日本薬学会第126年会シンポジウムS10で  
発表したものを中心に記述したものである。

いて重篤な障害がみられる<sup>4,5)</sup>し、*N*-アセチルガラクトサミン (GalNAc) とグルクロン酸を構成糖とするコンドロイチン硫酸合成を阻害した線虫は初期の細胞分裂ができずに死滅する。<sup>6,7)</sup> このように系統発生的に「古い」糖鎖は個体発生の初期においても重要な機能を担っている。

### 3. 脳の進化とガングリオシド：ガングリオシドノックアウト動物の形質

脳の進化とともに、ガングリオシドと呼ばれる特徴的な酸性糖鎖を持った糖脂質が出現してきた。この脂質は、脳に特徴的に発現され、高等動物においては、種を超えて非常に似通った糖鎖構造の分子群から構成される。また、脳の膜の構成成分に占める割合が他臓器に比べ極端に高く、特定のガングリオシドが特定の部位に局在している。<sup>8,9)</sup> これらガングリオシドのいくつかは、神経系の細胞の分化を誘導したり、可塑的反応を助長したり、神経の損傷部の回復を促進する効果があることが、古くから報告されてきた。ガングリオシドの糖鎖は、脂質部位であるセラミドにグルコースが転移され、続いてガラクトースが転移されるというように、還元末端側から順番に、小胞体からゴルジ体にかけて分布する糖転移酵素によって合成される (Fig. 1)。

ガングリオシドの生合成に係わる主な糖鎖転移酵素のクローニングとノックアウト動物の作成は、ほぼ一通り達成され、特定の糖鎖の欠損が明らかな形質の変化として現れる例がいくつか報告されている。GM2 合成酵素をノックアウトしたマウスは GM1, GD1a, GD1b, GT1b を始め脳の主要なガングリオシドが合成できなくなる。<sup>10)</sup> このマウスは一見正常に発育するが、成熟後に脳神経の機能や形態には明らかな異常が現れ、後肢マヒなどの神経障害が現れる。<sup>11)</sup> この酵素と GD3 合成酵素の両者を欠損し GM3 を唯一のガングリオシドとして持つマウスは成熟後外部からの軽度の刺激に対して過敏に反応し、15 週目ころに突然死を来す<sup>12)</sup>か、マウスの遺伝的な背景が異なる場合には末梢神経障害により皮膚に異常を来す。<sup>13)</sup> ところが、主なガングリオシドの合成の前駆体である GM3 の合成酵素をノックアウトしたマウスは、少なくとも 1 年以上生存し、インスリン感受性が高い以外は正常なマウスとの明瞭な差が認められない。<sup>14)</sup> このことは、ガングリオシドがマウスの発生に全く必要ないということの意味して

いるかのようだ。しかし、GM3 合成酵素をノックアウトしても別の合成系が生きていて、その脳には、GM1b, GD1 $\alpha$ , GD1c といった、野生型ではごく微量にしか発現しないガングリオシドを主要なガングリオシドとして発現していたのだ (Fig. 1)。したがって、このマウスの形質からは、ガングリオシドがマウスの発生や脳の形態形成にどのように関わっているかという質問には答えられなかった。最近、GM2 合成酵素と GM3 合成酵素のダブルノックアウトマウスが作成され、ようやくその答えが得られた。<sup>15)</sup> このマウスでは GM3 ノックアウトマウスでは合成された GM1b, GD1 $\alpha$ , GD1c の合成系も断たれるため、GM4 という系列の異なるガングリオシド以外はガングリオシドを持たない。はたしてこのマウスは、胎児期で死亡することはなく生まれてくるが、生後間もなく死亡する。軸索の損傷や軸索とグリア細胞間の相互作用に障害がある。脳の形態形成はうまくいっているようなので、その後の神経細胞の成熟や分化に支障を来しているようである。

以上の事実から、GM2 ノックアウトや GD3/GM2 ノックアウトの成熟後にみられる重篤な形質は、先の合成系が断たれ異常に蓄積した GM3 が原因であると考えるのが妥当なようだ。実は、同じ GM2 合成酵素を欠損したヒトの形質は、GM2 ノックアウトマウスよりはるかに重篤で、生まれたときから精神運動発達遅延や頭部や手足の発育に異常があり、痙攣を起こし、多くは乳児期に死亡する。複雑なガングリオシドの合成が断たれた結果、前駆体である GM3 や GD3 が増加し、明らかに異常に蓄積した GM3 による肝臓と脾臓の肥大などの症状が出ているので、この病気は GM3 ガングリオシドーシスと称されるのである。<sup>16)</sup> GM3 ノックアウトマウスの形質が正常に近いことを考え合わせると、蓄積した GM3 が致命的な結果を招いているようだ。ヒトの妊娠期間が 9 ヶ月と長いので蓄積の影響が生



東 秀好

東北薬科大学教授。1955 年奈良県生まれ。北海道大学獣医学部獣医学科卒業。同大学大学院獣医学研究科修士課程修了。1980 年米国ノートルダム大学リサーチアソシエート。1981 年大阪大学微生物病研究所助手。1988 年三菱化学生命科学研究所・副主任研究員。1992 年同・主任研究員。2004 年理化学研究所脳科学総合研究センター研究員。2006 年より現職。獣医学博士。

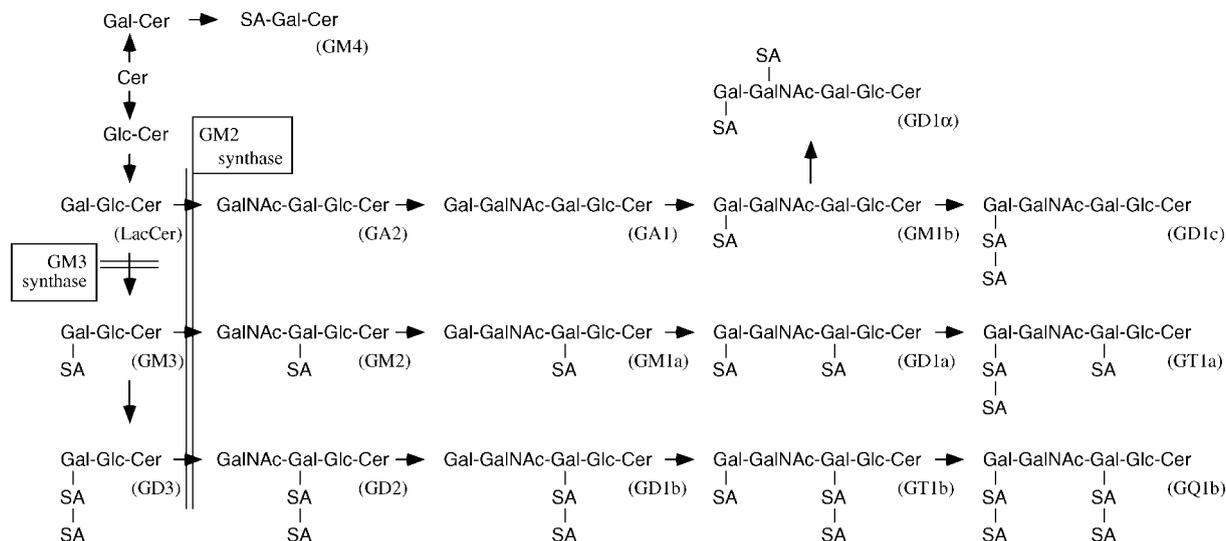


Fig. 1. Biosynthetic Pathway of Gangliosides

Double lines show the blocking sites at deficiency of GM2 (GA2/GD2) synthase and GM3 synthase.

誕時から現れるのであろう。

ノックアウトマウスを用いた研究の結果、ガングリオシド糖鎖は、神経機能の維持や可塑性など、いわゆる高次機能に係わっていて、脳の初期発生には必要がないように考えられる。初期発生には、系統発生的に「古い」糖鎖であるプロテオグリカンの糖鎖が関与しているのかも知れない。しかし、ノックアウトマウスなどではプロテオグリカンなどが本来のガングリオシド糖鎖の機能を肩代わりしている可能性もある。したがって、糖鎖の機能を総合的に理解するためには、これら脳に存在する糖鎖の機能の細胞レベル、情報伝達レベルでの理解が必要となる。

#### 4. ガングリオシドの機能研究

ガングリオシドの機能については、ノックアウト技術の出現以前から、細胞レベル、組織レベルにおいて膨大な事例が蓄積されている。神経芽腫細胞に対する神経突起伸展作用、神経情報伝達分子や神経成長因子などの受容体機能の増強、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ -AT-Pase の調節、シナプス膜のカルシウムチャンネル機能の修飾による神経伝達物質放出の調節、シナプスの可塑的反応の助長等である。これらの分子的機構のほとんどは明らかではないが、こうした成果を基に個体レベルにおいても多くの研究がなされている。脳損傷モデル、パーキンソン病モデル、脳虚血モデルなどの疾患動物モデルにおいて神経機能の回復にガングリオシドが有効であるとする多くの証拠が提出され、パーキンソン病などのヒトの神経疾患

の治療も実際に行われている。以上の各事例については安藤の著書を参照していただきたい。<sup>16)</sup>

細胞外に加えた GM1 ガングリオシドが神経芽腫細胞に神経突起の伸展を引き起こす有名な現象は、細胞膜に取り込まれた GM1 がラフトや glycosphingolipid-enriched domain (GEM) とされる膜のマイクロドメインに集合し、そこに存在する c-Src 等の情報伝達分子を活性化することによる。<sup>17)</sup> これを含めマイクロモルと比較的高濃度の外来性ガングリオシドを必要とする反応は例数が多いが、ガングリオシドが同じ細胞膜上の分子に作用する、いわゆる“cis”の反応がほとんどである。細胞膜シアリダーゼは複雑なガングリオシドのシアル酸残基を切断して GM1 を生成するが、このシアリダーゼを過剰発現した初代培養神経細胞は、軸索の伸展が促進される。<sup>18)</sup> これも、GM1 が同じ細胞膜上に存在する NGF 受容体である trkA を修飾することで NGF の情報伝達を増強する“cis”の効果であると考えられている。<sup>19,20)</sup> 細胞膜プロテオグリカンとして存在するヘパラン硫酸は FGF 受容体と共役することで FGF のシグナルを細胞内に伝える<sup>21)</sup>が、これらの糖鎖は本来のリガンドによる反応を調節するという役割を担っている。

これらに対して、海綿でみられるような糖鎖を介した細胞間相互作用は、別の細胞膜上にある分子間の反応、すなわち、“trans”の反応である。海綿では、硫酸化糖鎖間の相互作用が、その細胞間認識と

結合の機構の1つとなっているが、高等動物においても糖脂質糖鎖を介した糖鎖間相互作用がいくつか知られている。この際、膜マイクロドメインに存在する情報伝達分子である focal adhesion キナーゼ、Rho family small GTPase である Ras や Rho が活性化される。<sup>22)</sup> 糖鎖とタンパク質の相互作用に基づく trans の反応もある。Myelin-associated glycoprotein (MAG) は、神経細胞表面のガングリオシドに結合して神経の再生を阻害しており、<sup>23)</sup> この阻害作用は cAMP 依存性プロテインキナーゼ (PKA) を活性化すると解除される。<sup>24)</sup>

### 5. コンドロイチン硫酸の機能研究

コンドロイチン硫酸も脳に多量に存在する複合糖質の1つで、脳の発育時期や脳の部位により異なった分布を示す。<sup>25-28)</sup> これらは、グリア細胞や神経細胞の細胞表面に露出されるとともに細胞外マトリックスとして分泌される<sup>29)</sup> (Fig. 2)。菅原らは、軟骨組織などに由来するコンドロイチン硫酸 D や E を塗布した表面で培養した胎児の海馬神経細胞は神経突起の伸展が促進されるという一連の研究を報告している。<sup>30-32)</sup> 最近、彼らは、胎児脳由来のコンドロイチン硫酸・デルタマン硫酸 (CS/DS) ハイブリッド糖鎖 (E-CS/DS) が神経繊維の伸展を促進することを報告している。<sup>33,34)</sup> 彼らは、主としてグリア細胞で産生されるヘパリン結合性増殖因子であるプライオトロフィン (pleiotrophin) が、主

要な E-CS/DS 結合タンパクであることを示し、E-CS/DS の神経突起伸展作用には、プライオトロフィンに依存するものと依存しないものの少なくとも2つのメカニズムが存在するとしている。一方では、逆に、細胞外マトリックスを構成するコンドロイチン硫酸は神経軸索の伸展を阻害する作用があるので、この糖鎖を分解すると、成熟により停止した視神経回路の形成を再開したり、<sup>35)</sup> 軸索が再生して損傷を受けた神経機能を回復することができる。<sup>36)</sup> 細胞間マトリックスの特殊な形態であるペリニューロナルネット (perineuronal net) を構成するブレビカン (brevican) を欠いたマウスでは記憶のモデルとされる神経細胞の興奮現象である海馬の長期増強 (LTP) が障害される。<sup>37)</sup> また、神経特異的な HNK-1 糖鎖は、細胞接着分子状に存在し、これを欠いたマウスではシナプスの可塑性と空間学習能の低下が起きる。<sup>38)</sup> これらの糖鎖はリガンドとして受容体に認識されている可能性があるが、詳細は不明である。

### 6. 糖鎖受容体を介すると予想される糖鎖情報伝達系

糖鎖を介した細胞間認識機構において、ガングリオシドやコンドロイチン硫酸が似通った機能を持つので、一部の情報伝達系を共有している可能性がある。このことは神経系の分化における各糖鎖の役割を理解する上で重要である。この問題を明らかにす

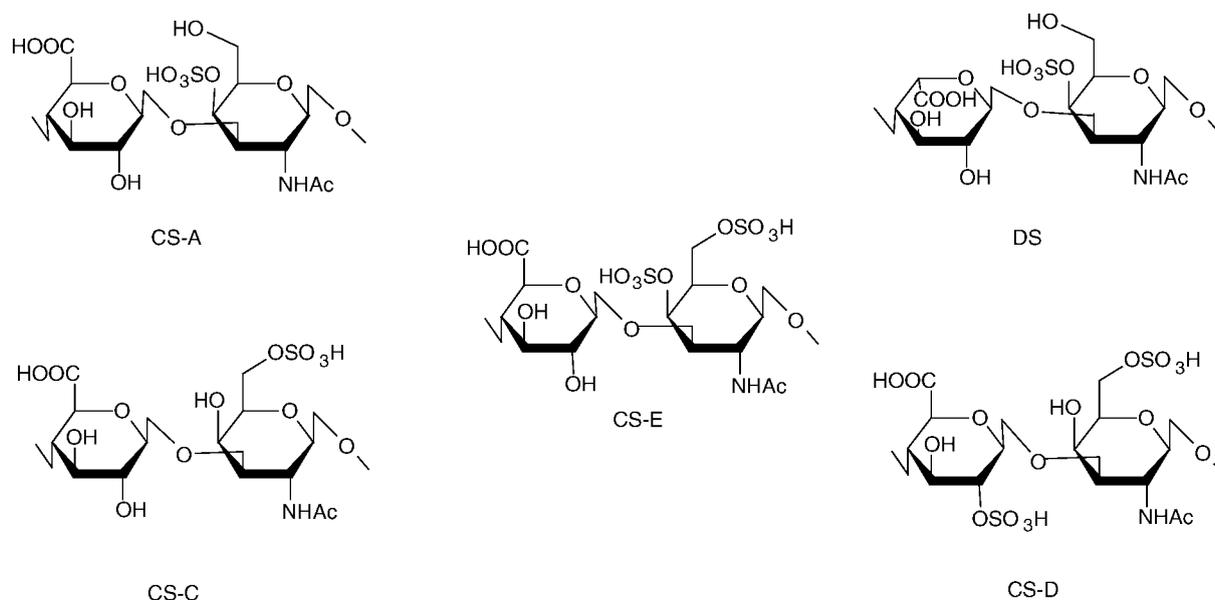


Fig. 2. Structures of the Typical Chondroitin Sulfate (CS) and Dermatan Sulfate (DS) Units

るため、われわれは、糖鎖シグナル系に係わるユニークな情報伝達タンパク質群を明らかにすることを試みた。細胞間認識を模すために nM レベルのガングリオシド又はそのオリゴ糖を神経細胞に加えた実験により、糖鎖構造に特異的にカルモジュリン依存性プロテインキナーゼ II (CaMKII) や PKA の活性化が引き起こされる 2 種類の糖鎖シグナル系が存在することを見出した。これらプロテインキナーゼの下流の反応は、非常に似通っていて、いずれも Rho family small GTPase である cdc42 活性化を介した細胞骨格アクチンの再構成によるフィロポディアの形成と神経樹状突起伸展・分岐の促進がみられた (Fig. 3)。以下にそれぞれの糖鎖シグナル系について説明する。

神経細胞の外液に加えたわずか数 nM の GT1b が、数秒以内に細胞内のカルシウムイオン濃度を上昇させ、CaMKII を活性化した。この刺激は、2 分

以内には、cdc42 活性化による細胞骨格アクチンの再構成を引き起こし、フィロポディアが発現した。さらに細胞培養系において、3—7 日間の処理により海馬神経細胞や小脳プルキニエ神経細胞の樹状突起の伸展と分岐が促進された。<sup>39)</sup> これらの結果は、GT1b ガングリオシドが神経細胞に作用すると細胞内の情報伝達系が活性化され、細胞の機能と形態を変化させることを示している。この糖鎖シグナルを引き起こす糖鎖は GT1b のほか、GD1b, GD3 であった。この反応においては、GT1b の糖鎖部分のみでも同じ濃度で効果があり、非常に短時間に細胞内に糖鎖情報が伝わることから、われわれは細胞表面の糖鎖受容体が関与していると予想している。また、カルシウムイオン濃度上昇が一過性であり、細胞内のストアからの流出によるものであることから、フォスホリパーゼ C の活性化により産生されたイノシトール 3 リン酸 (IP3) によるものと予想

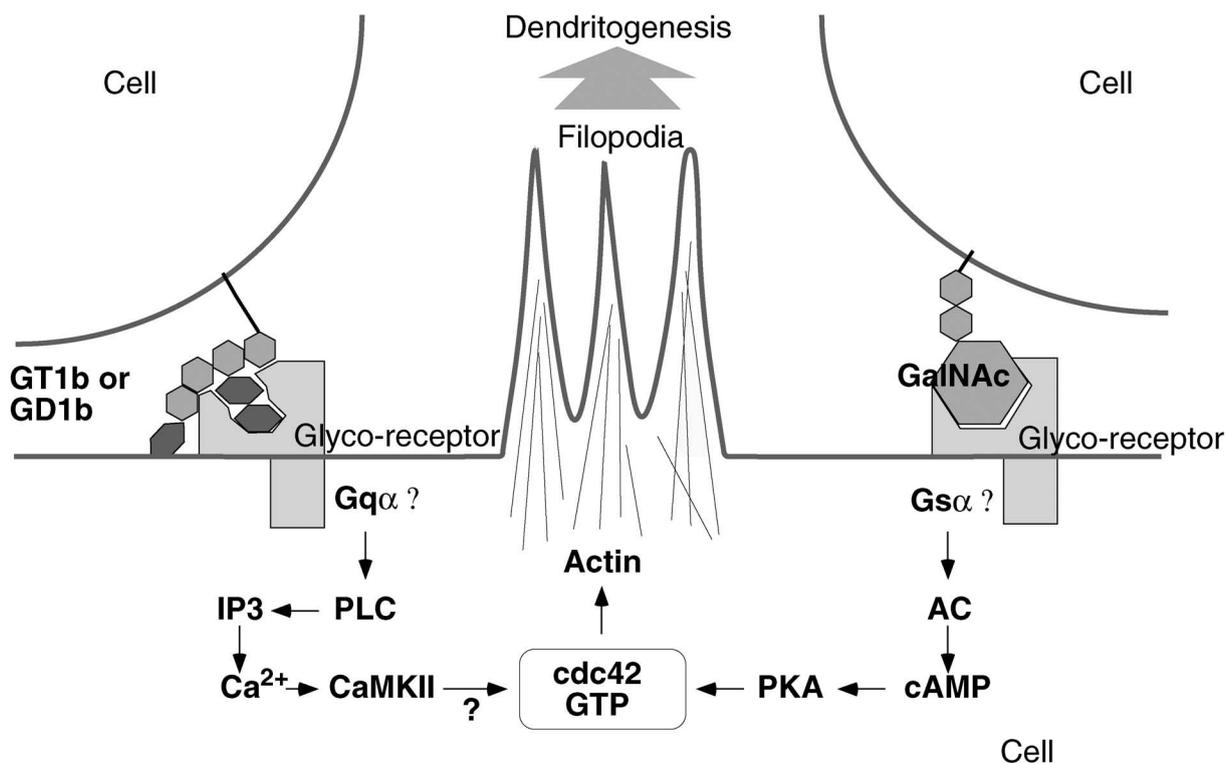


Fig. 3. Two Ganglioside-signaling Cascades

Left side: Oligosaccharide portions of GD1b or GT1b ganglioside are preferably recognized by probable cell-surface glyco-receptor and the saccharide signal is transduced to intracellular signal to activate CaMKII in seconds. The saccharide activates local CaMKII that is presumably anchored to actin via CaMKII $\beta$  isoform. Activated CaMKII induces cytoskeletal actin-reorganization to form filopodia via cdc42 activation within 2 min. Right side: Oligosaccharides with non-reducing terminal GalNAc residue such as that of GM2 ganglioside are recognized by probable cell-surface glyco-receptor and the saccharide signal is transduced to intracellular signal to activate local adenylate cyclase to produce local cAMP which activate neighboring PKA in seconds. The saccharide signal presumably activates actin-anchored PKA via an A-kinase anchoring protein (AKAP). PKA activates cdc42 in non-phosphorylation manner to induce re-organization of cytoskeletal actin to form filopodia within 2 min. Long-term exposure (3 to 7 days) of the cell to the saccharides enhances dendritogenesis of primary cultured neurons. Exposure to oligosaccharides probably mimics intercellular recognition via saccharide-receptor interaction.

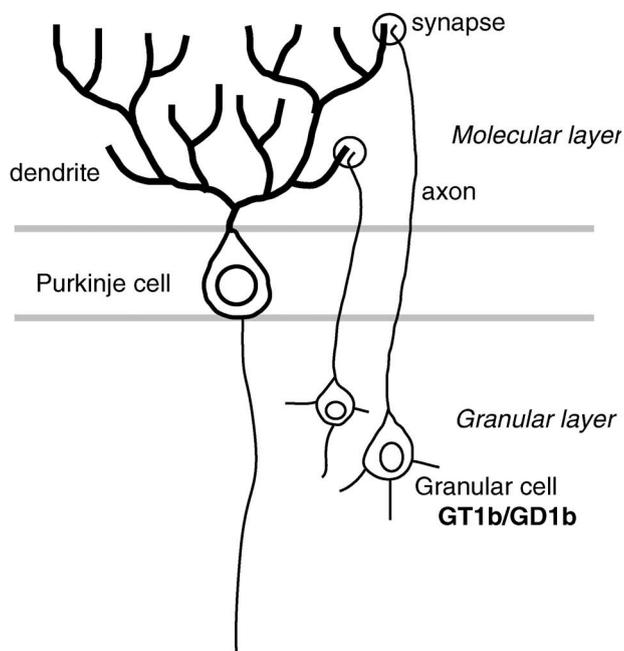


Fig. 4. Synapse Formation between Cerebellar Granular Cell and Purkinje Neuron

Purkinje neurons elongate their dendrites to molecular layer of cerebellum. Granular layer consists of granular cells (neurons) which elongate axon to the molecular layer to make synapse with dendrites of Purkinje neurons. Immunohistological study showed granular cells contain GT1b and GD1b and the gangliosides are present in molecular layer, thus their axons most probably express these gangliosides.

し、この受容体 (Glycoreceptor, Fig. 3) が、 $Gq\alpha$  と共役する G-タンパク質共役受容体である可能性が高いと考えている。小脳のプルキニエ細胞は分子層にその樹状突起を伸ばすが、そこには顆粒層の顆粒細胞から伸びた軸索が達してプルキニエ細胞の樹状突起との間でシナプスを形成する (Fig. 4)。免疫組織学的検索によると顆粒細胞には GT1b, GD1b が存在する<sup>40)</sup>ので、その軸索にもこれらガングリオシドが軸索輸送されるのであろう。実際、分子層には GT1b や GD1b が分布している。<sup>8,41)</sup> プルキニエ細胞はこれら糖鎖の受容体を発現しているのであろう。小脳は感情を作る入口と言われるが、この糖鎖シグナルが感情の調節に寄与しているのか興味深い。

一方、GM2 ガングリオシドのように N-アセチルガラクトサミン (GalNAc) を非還元末端に持つ糖鎖は、局所的なアデニレートサイクラーゼの活性化により産生された cAMP により、恐らく細胞膜近くにアンカーされた PKA を活性化する経路を経て cdc42 活性化によるフィロポディア形成、神経樹

状突起の伸展と分岐といった反応を引き起こした。<sup>42)</sup> この反応では、細胞内カルシウムイオンや CaMKII の活性には変化はなく、G-タンパク質共役受容体による  $Gs\alpha$  の活性化によるものであろうと予想している (Fig. 3)。重要なことは、この糖鎖シグナルは PKA のアンカリングを阻害すると遮断される。GM2 ガングリオシドや C 型ニーマンピック病のように GM2 ガングリオシドが病的に蓄積する病気においては、GM2 の局在部位で樹状突起の異常伸展が認められる。<sup>43)</sup> さらに正常な脳においても GM2 の局在部位があり、そこでは樹状突起の伸展が顕著に認められる。<sup>44)</sup> したがって、この糖鎖シグナル系も樹状突起の成熟やシナプス形成に関与していると考えている。ある種のカビが産生する GalNAc のポリマー<sup>45)</sup> から得られた GalNAc ( $\alpha 1-4$ ) オリゴ糖は、動物には存在しないが、GM2 と同様の活性を有していた。GalNAc は、ガングリオシドとコンドロイチン硫酸で共通の構成糖であるので、この比較的単純な構造の糖鎖の活性と比較することで、両者の活性の相同性を説明できるかも知れない。

われわれが見出した糖鎖シグナル系は、いずれもシナプス形成部位で働いていると考えられる。樹状突起の成長を促進することによってシナプス形成を容易にし、神経の可塑的変化を助長していると考えられる。

## 7. 今後の展望

われわれは、コンドロイチン硫酸とガングリオシドが、初代培養神経細胞に対して似通った神経突起伸展作用を有することに着目し、両者の作用の比較を試みている。コンドロイチン硫酸のあるものは細胞外液に加えると、GT1b や GD1b のように細胞内のカルシウムイオン濃度を一過性に上昇させた。初代培養細胞の突起伸展作用についての実験では、われわれは培養 3 日目以降の細胞に対して細胞外液に糖鎖を加えて効果をみているのに対して、菅原らは、培養基の表面に糖鎖をコートして培養初期 24 時間での効果をみている。彼らの実験系で観察されているのは、幼弱な神経細胞における現象であるので、軸索か樹状突起かの厳密な区別はできないが、培養後 24 時間で最も長く伸びてくる神経突起を軸索と考えるのが妥当で、残りの比較的短い突起は樹状突起として分化するものと考えられる。そこで、

菅原らの方法に従い、ガングリオシドとコンドロイチン硫酸を培養基の表面にコートして海馬の初代培養細胞の培養初期の突起伸展に対する効果で比較したところ、どちらの糖鎖にも同様の効果があったが、軸索様及び樹状突起様の突起伸展効果を区別して比較するとその効果には違いが認められた。今後、これらの情報伝達系を明らかにして、それぞれの糖鎖の機能の違いを明らかにしたい。

#### 8. おわりに

原始的な多細胞生物である海綿の細胞間認識においても、糖鎖-糖鎖、糖鎖-受容体タンパク質の間の認識機構を複数用いている。ほ乳動物においても同様にこの2つの組み合わせが用いられている。海綿の時代から用いられているGAGに加えて、高等動物で神経系などが複雑化するにつれてガングリオシドのような比較的新しい糖鎖が用いられてきた。こうした新しい糖鎖はGAGと似通った作用を有するので、ノックアウトマウスの結果をもってしても個体発生のどのステージから必須であるかどうかはまだ結論できないが、GAGの多様化では対応しきれない、より複雑な細胞間の認識のために必要になったのであろう。

#### REFERENCES

- 1) Misevic G. N., Burger M. M., *J. Biol. Chem.*, **268**, 4922-4929 (1993).
- 2) Spillmann D., Thomas-Oates J. E., van Kuik J. A., Vliegthart J. F., Misevic G., Burger M. M., Finne J., *J. Biol. Chem.*, **270**, 5089-5097 (1995).
- 3) Varner J. A., *J. Biol. Chem.*, **271**, 16119-16125 (1996).
- 4) Perrimon N., Bernfield M., *Nature*, **404**, 725-728 (2000).
- 5) Sugahara K., Kitagawa H., *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **10**, 518-527 (2000).
- 6) Mizuguchi S., Uyama T., Kitagawa H., Nomura K. H., Dejima K., Gengyo-Ando K., Mitani S., Sugahara K., Nomura K., *Nature*, **423**, 443-448 (2003).
- 7) Hwang H. Y., Olson S. K., Esko J. D., Horvitz H. R., *Nature*, **423**, 439-443 (2003).
- 8) Kotani M., Kawashima I., Ozawa H., Terashima T., Tai T., *Glycobiology*, **3**, 137-146 (1993).
- 9) Kotani M., Kawashima I., Ozawa H., Ogura K., Ishizuka I., Terashima T., Tai T., *Glycobiology*, **4**, 855-865 (1994).
- 10) Takamiya K., Yamamoto A., Furukawa K., Yamashiro S., Shin M., Okada M., Fukumoto S., Haraguchi M., Takeda N., Fujimura K., Sakae M., Kishikawa M., Shiku H., Aizawa S., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **93**, 10662-10667 (1996).
- 11) Chiavegatto S., Sun J., Nelson R. J., Schnaar R. L., *Exp. Neurol.*, **166**, 227-234 (2000).
- 12) Kawai H., Allende M. L., Wada R., Kono M., Sango K., Deng C., Miyakawa T., Crawley J. N., Werth N., Bierfreund U., Sandhoff K., Proia R. L., *J. Biol. Chem.*, **276**, 6885-6888 (2001).
- 13) Inoue M., Fujii Y., Furukawa K., Okada M., Okumura K., Hayakawa T., Sugiura Y., *J. Biol. Chem.*, **277**, 29881-29888 (2002).
- 14) Yamashita T., Hashiramoto A., Haluzik M., Mizukami H., Beck S., Norton A., Kono M., Tsuji S., Daniotti J. L., Werth N., Sandhoff R., Sandhoff K., Proia R. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **100**, 3445-3449 (2003).
- 15) Yamashita T., Wu Y. P., Sandhoff R., Werth N., Mizukami H., Ellis J. M., Dupree J. L., Geyer R., Sandhoff K., Proia R. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **102**, 2725-2730 (2005).
- 16) Ando S., "Brain Function, Ganglioside: The New Face of Neuroactivator," Kyoritsu Shuppan, Tokyo, 1997, pp. 85-155.
- 17) Prinetti A., Iwabuchi K., Hakomori S., *J. Biol. Chem.*, **274**, 20916-20924 (1999).
- 18) Rodriguez J. A., Piddini E., Hasegawa T., Miyagi T., Dotti C. G., *J. Neurosci.*, **21**, 8387-8395 (2001).
- 19) Mutoh T., Tokuda A., Miyadai T., Hamaguchi M., Fujiki N., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **92**, 5087-5091 (1995).
- 20) Da Silva J. S., Hasegawa T., Miyagi T., Dotti C. G., Abad-Rodriguez J., *Nat. Neurosci.*, **8**, 606-615 (2005).
- 21) Ishihara M., *Trends Glycosci., Glycotech.*, **5**, 343-345 (1993).
- 22) Iwabuchi K., Yamamura S., Prinetti A., Handa K., Hakomori S., *J. Biol. Chem.*, **273**, 9130-9138 (1998).
- 23) Vyas A. A., Patel H. V., Fromholt S. E.,

- Heffer-Laue M., Vyas K. A., Dang J., Schachner M., Schnaar R. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **99**, 8412–8417 (2002).
- 24) Cai D., Shen Y., De Bellard M., Tang S., Filbin M. T., *Neuron*, **22**, 89–101 (1999).
- 25) Saigo K., Egami F., *J. Neurochem.*, **17**, 633–647 (1970).
- 26) Oohira A., Matsui F., Matsuda M., Takida Y., Kuboki Y., *J. Biol. Chem.*, **263**, 10240–10246 (1988).
- 27) Gowda D. C., Margolis R. U., Margolis R. K., *Biochemistry*, **28**, 4468–4474 (1989).
- 28) Herndon M. E., Lander A. D., *Neuron*, **4**, 949–961 (1990).
- 29) Oohira A., Matsui F., Tokita Y., Yamauchi S., Aono S., *Arch. Biochem. Biophys.*, **374**, 24–34 (2000).
- 30) Nadanaka S., Clement A., Masayama K., Faissner A., Sugahara K., *J. Biol. Chem.*, **273**, 3296–3307 (1998).
- 31) Clement A. M., Nadanaka S., Masayama K., Mandl C., Sugahara K., Faissner A., *J. Biol. Chem.*, **273**, 28444–28453 (1998).
- 32) Clement A. M., Sugahara K., Faissner A., *Neurosci. Lett.*, **269**, 125–128 (1999).
- 33) Hikino M., Mikami T., Faissner A., Vilela-Silva A. C., Pavao M. S., Sugahara K., *J. Biol. Chem.*, **278**, 43744–43754 (2003).
- 34) Bao X., Nishimura S., Mikami T., Yamada S., Itoh N., Sugahara K., *J. Biol. Chem.*, **279**, 9765–9776 (2004).
- 35) Pizzorusso T., Medini P., Berardi N., Chierzi S., Fawcett J. W., Maffei L., *Science*, **298**, 1248–1251 (2002).
- 36) Bradbury E. J., Moon L. D., Popat R. J., King V. R., Bennett G. S., Patel P. N., Fawcett J. W., McMahon S. B., *Nature*, **416**, 636–640 (2002).
- 37) Brakebusch C., Seidenbecher C. I., Asztely F., Rauch U., Matthies H., Meyer H., Krug M., Bockers T. M., Zhou X., Kreutz M. R., Montag D., Gundelfinger E. D., Fassler R., *Mol. Cell. Biol.*, **22**, 7417–7427 (2002).
- 38) Yamamoto S., Oka S., Inoue M., Shimuta M., Manabe T., Takahashi H., Miyamoto M., Asano M., Sakagami J., Sudo K., Iwakura Y., Ono K., Kawasaki T., *J. Biol. Chem.*, **277**, 27227–27231 (2002).
- 39) Chen N., Furuya S., Doi H., Hashimoto Y., Kudo Y., Higashi H., *Neuroscience*, **120**, 163–176 (2003).
- 40) Kawashima I., Nagata I., Tai T., *Brain Res.*, **732**, 75–86 (1996).
- 41) Kotani M., Terashima T., Tai T., *Brain Res.*, **700**, 40–58 (1995).
- 42) Chen N., Furuya S., Shinoda Y., Yumoto M., Ohtake A., Sato K., Doi H., Hashimoto Y., Kudo Y., Higashi H., *Neuroscience*, **122**, 985–995 (2003).
- 43) Siegel D. A., Walkley S. U., *J. Neurochem.*, **62**, 1852–1862 (1994).
- 44) Goodman L. A., Walkley S. U., *Devel. Brain Res.*, **93**, 162–171 (1996).
- 45) Takagi H., Kadowaki K., *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 3159–3164 (1985).