

機関番号：32620

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21700395

研究課題名（和文） ○結合型糖化シヌクレインの解析

研究課題名（英文） Analysis of O-glycosylated α -synuclein

研究代表者

志村 秀樹 (SHIMURA HIDEKI)

順天堂大学 医学部 准教授

研究者番号：21700395

研究成果の概要（和文）：

α -シヌクレイン (α S) の新規修飾形である O-結合型糖化 α S を生化学的に解析した。 α S 33Thr, 44Thr, 54Thr に NeuNAc α 2-3Gal β 1-3GalNAc α 1 が結合していることが質量分析法により明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

We investigated O-glycosylated α -synuclein by biochemical analysis. We identified NeuNAc α 2-3Gal β 1-3GalNAc α attached to 33Thr, 44Thr, 54Thr residues of α -synuclein.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2010 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：脳神経科学、神経解剖学・神経病理学

キーワード：パーキンソン病、O結合型糖化 α シヌクレイン

1. 研究開始当初の背景

高齢者社会とあいまって神経変性疾患の原因解明、治療法の確立は医学的のみならず社会的要請となっている。パーキンソン病はアルツハイマー病に次いで頻度が多く千人に一人の割合で患者が存在している。近年家族性パーキンソン病の研究の進展に伴いパーキンソン病における神経細胞変性・細胞死の機序が解明されつつある。

私達は過去の研究において常染色体劣性遺

伝性家族性パーキンソン病の原因遺伝子産物 parkin がユビキチンリガーゼであることを明らかにした。さらに O-結合型糖化修飾された α -synuclein (O-結合型糖化 α S) が parkin の基質のひとつであることを明らかにした。 α -synuclein はパーキンソン病の発症機序において中心的な役割を果たしている非常に重要な分子であり、家族性パーキンソン病の原因遺伝子産物であるとともにパーキンソン病に特徴的な封入体レビー小体

の主要構成成分でもある。

これらのことより O-結合型糖化 α S を解析することはパーキンソン病の発症機序解明に重要であると考え研究に着手した。

2. 研究の目的

パーキンソン病の発症要因の一つである α -synuclein の新規修飾形 O-結合型糖化 α S を生化学的に解析し分析することを目的とした。

3. 研究の方法

ヒト凍結剖検脳より精製した O-結合型糖化 α S を質量分析法にて解析した。

4. 研究成果

1) O-結合型糖化 α S の精製

各研究に用いる O-結合型糖化 α S を agaricus bisporus lectin カラム、抗 α S 抗体カラムを用いて凍結ヒト剖検脳より精製した。50g 凍結脳より 50~100ng 精製度 95%以上の O-結合型糖化 α S が精製可能であった。

精製法

ヒト剖検脳ホモジェネート

→ Agaricus bisporus lectin column large scale

→ 抗 α -synuclein 抗体 column

large scale

→ Agaricus bisporus lectin column small scale

→ 抗 α -synuclein 抗体 column

small scale

→ 透析・濃縮

2) 糖鎖の解析、糖鎖結合部位の同定

この課題は本研究の最も重要な課題である。酵素学的な手法により α S の Ser/Thr に NeuNAc α 2-3Gal β 1-3GalNAc α 1-Ser/Thr が

結合していることが判明した。さらに共同研究者の Dr Anne Dell Imperial College の研究グループにより α S 33Thr, 44Thr, 54Thr に NeuNAc α 2-3Gal β 1-3GalNAc α 1 が結合していることが質量分析法により明らかになった。

3) In vitro での多量体凝集実験

現在 α S は多量体の細胞毒性が最も強いと考えられており α S 多量体形成機序について多数報告がなされている。 α S を対照とし様々な濃度での O-結合型糖化 α S の多量体形成能、凝集能を検討した。

O-結合型糖化 α S は非修飾型 α S に比べ多量体、凝集体を形成しに難い傾向にあった。さらに両者を同時に反応させると O-結合型糖化 α S は非修飾型 α S の凝集体形成を抑制した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 4 件)

Miyamoto N, Tanaka R, Shimura H, Watanabe T, Mori H, Onodera M, Mochizuki H, Hattori N, Urabe T. Phosphodiesterase III inhibition promotes differentiation and survival of oligodendrocyte progenitors and enhances regeneration of ischemic white matter lesions in the adult mammalian brain. J Cereb Blood Flow Metab. 2010 Feb;30(2):299-310.

Tanaka R, Shimada Y, Shimura H, Oizumi H, Hattori N, Tanaka S. Predominant Vasogenic Edema in a Patient with Fatal Cerebral Air Embolism. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2010 Dec 23.

Oizumi H, Tanaka R, Shimura H, Sasaki K, Koike H, Hattori N, Tanaka S. A case of cerebral embolism with metastatic chondrosarcoma in the left atrium. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2011 Jan-Feb;20(1):79-81.

Tanaka R, Kawanabe T, Yamauchi Y, Shimura H, Tanaka Y, Miyamoto N, Ueno Y, Urabe T, Hattori N, Tanaka S. Economy Class Stroke Syndrome after a Long Drive. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2010 Jul 23.

Kawanabe T, Yoritaka A, Shimura H, Oizumi H, Tanaka S, Hattori N. Successful treatment with Yokukansan for behavioral and psychological symptoms of Parkinsonian dementia. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2010 Mar 17;34(2):284-7.

Miyamoto N, Tanaka R, Shimura H, Watanabe T, Mori H, Onodera M, Mochizuki H, Hattori N, Urabe T. Phosphodiesterase III inhibition promotes differentiation and survival of oligodendrocyte progenitors and enhances regeneration of ischemic white matter lesions in the adult mammalian brain. J Cereb Blood Flow Metab. 2010 Feb;30(2):299-310.

Sasaki K, Shimura H, Itaya M, Tanaka R, Mori H, Mizuno Y, Kosik KS, Tanaka S, Hattori N. Excitatory amino acid transporter 2 associates with phosphorylated tau and is localized in neurofibrillary

tangles of tauopathic brains. FEBS Lett. 2009 Jul 7;583(13):2194-200.

Miyamoto N, Tanaka R, Zhang N, Shimura H, Onodera M, Mochizuki H, Hattori N, Urabe T. Crucial role for Ser133-phosphorylated form of cyclic AMP-responsive element binding protein signaling in the differentiation and survival of neural progenitors under chronic cerebral hypoperfusion. Neuroscience. 2009 Aug 18;162(2):525-36.

[学会発表] (計1件)
2010年 東京 日本神経学会総会
O-結合型糖化 α -synucleinの生化学的解 志村秀樹、佐々木久美、Schlossmacher Michael、Selkoe Dennis、服部信考

[図書] (計 件)
[産業財産権]
○出願状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計◇件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

志村 秀樹 (SHIMURA HIDEKI)
順天堂大学・医学部・准教授
研究者番号：50286746

(2) 研究分担者

該当なし

(3) 連携研究者

該当なし