

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：31305
研究種目：基盤研究(C)（一般）
研究期間：2021～2023
課題番号：21K06547
研究課題名（和文）1,6フコースによる神経炎症と脳の機能制御機序の解明

研究課題名（英文）Elucidation of neuroinflammation and brain function control mechanism by alpha1,6 fucose

研究代表者
福田 友彦（Fukuda, Tomohiko）

東北医科薬科大学・薬学部・准教授

研究者番号：40433510
交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：糖鎖修飾は一般的な翻訳後修飾で、その一つである1,6フコース糖鎖が減少すると脳の免疫系を担うミクログリアの過剰な活性化が引き起こされる。しかし、糖の一種であるL-フコースの経口投与により脳内の1,6フコース糖鎖が増加し、ミクログリアの活性化が抑制された。そのメカニズムは1,6フコース糖鎖が減少するとIL-6受容体の複合体形成が促進し、炎症反応が活性化するが、増加すると複合体形成が抑制されるためであることを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義
感染やストレスにさらされた時や加齢によっても炎症反応が起こることが知られており、さまざまな精神疾患においてミクログリアの過活性が報告されている。今回明らかにしたL-フコースの経口投与により、脳内の1,6フコース糖鎖を増加させることが可能であることは、L-フコースの投与により脳内炎症を抑制できる可能性があることを示すもので、精神疾患の新しい予防法や治療戦略につながることを期待される。

研究成果の概要（英文）：Glycosylation is a common post-translational modification, and a decrease in 1,6-fucose causes excessive activation of microglia, which plays a role in the brain's immune system. Oral administration of L-fucose increased 1,6-fucose levels in the brain and suppressed microglial activation. We revealed that the mechanism is that when 1,6-fucose levels decreased the association of gp130 with the IL-6 receptor is promoted and inflammatory responses are activated, but when 1,6-fucose sugar chains increase, complex formation is suppressed.

研究分野：糖鎖生物学

キーワード：1,6フコース N-型糖鎖 神経炎症 IL-6 ミクログリア

1. 研究開始当初の背景

タンパク質に付加されている N-結合型糖鎖は、糖転移酵素の発現パターンや基質特異性の違いから多様な糖鎖構造を持つ。Fut8 は哺乳類における唯一の 1,6 フコース転移酵素で N-結合型糖鎖に単糖 1 つだけのシンプルな末端構造を付加する。Fut8 ホモ欠損(Fut8^{-/-})マウスには統合失調症の患者の症状と一致する表現型が見られる(Fukuda T., et al. JBC., 2011)。さらに、Fut8 ホモ欠損マウスは海馬の長期増強(LTP) が野生型マウスより著しく減弱していることと、その機序を報告した(Gu W., Fukuda T., et al. JBC., 2015)。LTP の減弱と深く関わる脳内の炎症反応に注目した解析から、ミクログリアが活性化され易くなっていることを明らかにした(Lu X., Fukuda T., et al. BBA GEN SUB., 2019)。神経炎症は、精神疾患に共通して見られる病態基盤の一つであり、Fut8 ヘテロ欠損(Fut8^{+/-})マウスは遺伝子が半分あるにも関わらず、野生型と Fut8 ホモ欠損マウスの中間の表現型を示した。これらは、生理的な状況では α1,6 フコースによりグリア細胞の活性化が抑制されていることを強く示唆している。

2. 研究の目的

Fut8 ヘテロ欠損マウスが野生型と Fut8 ホモ欠損マウスの中間の表現型を示したことから、α1,6 フコシル化の減少が炎症反応に対する脆弱性を増すのであれば、増加させることによって脳内炎症を抑制できると仮説をたてた。仮説を検証し、その分子機序を明らかにすることで、1,6 フコースによる神経炎症と脳の機能制御機序を解明することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

(1) L-フコース投与による 1,6 フコースの増加

1,6 フコースを増加させるには、Fut8 の発現促進が有用であるが、これまでの研究からそれは困難であることがわかっている。そこで、先天性糖鎖形成異常症の糖鎖補充療法を参考に、L-フコースを Fut8 ヘテロ欠損マウスに経口投与し、Fut8 の基質となる糖供与体(ドナー基質)である GDP-フコース合成経路(salvage 経路(図 1))を活性化させるアプローチを試みた(ドナー基質を増加させることで、Fut8 の酵素活性を上昇させ、1,6 フコースを増加させる。)

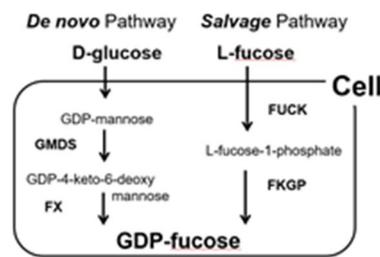


図1 GDP-fucose 合成経路

(2) 炎症可視化 Fut8^{+/-}マウスを用いた炎症抑制効果の実証

Fut8 ヘテロ欠損マウスの脳では、弱い炎症が慢性的に生じていることから、Fut8 ヘテロ欠損マウスと、IL-6 の挙動を高感度で可視化できる炎症可視化マウス(東北医科薬科大学森口教授)をもちいて、炎症可視化 Fut8 ヘテロ欠損マウスを作成し、1,6 フコシル化による神経炎症抑制効果を可視化した。

(3) 炎症抑制と脳機能の回復機序の解明

L-フコースを経口投与した Fut8 ヘテロ欠損マウスの脳組織をミクログリアのマーカーである抗 Iba1 抗体で染色し、Iba1 陽性細胞の数と細胞体の面積を指標に、ミクログリアの活性化をモニターした。さらに、ミクログリアが産生する炎症性サイトカインの下流のシグナルを、JAK2/STAT3、AKT などのリン酸化を指標に検討した。

シグナル伝達の抑制機序を明らかにするため、IL-6 の作用に注目した。N-結合型糖鎖修飾が多い IL-6 受容体複合体のシグナル伝達分子である gp130 の糖鎖構造の変化を 1,6 フコース認識レクチンを用いて検討した。さらに、gp130 を免疫沈降し、共沈殿してくる IL-6 受容体の量を検討することで、IL-6 受容体複合体形成に及ぼす 1,6 フコースの影響を検討した。

4. 研究成果

(1) L-フコース投与による 1,6 フコースの増加

GDP-フコースを増加させるため、L-フコースを経口投与した Fut8 ヘテロ欠損マウスの脳組織の GDP-フコース濃度を HPLC を用いて検討したところ、L-フコース用量依存的に、GDP-フコースの濃度が上昇した。さらに、糖鎖構造の変化を質量分析により検討したところ、1,6 フコシル化の発現レベルが野生型マウスよりヘテロ欠損マウスで低いことを示した。しかし、L-フコース投与によって有意に回復した。L-フコースの経口投与により、脳内の 1,6 フコシル化促進に成功した。

(2) 炎症可視化 Fut8 ヘテロ欠損を用いた炎症抑制効果の実証

In vivo イメージングシステムを用いて検討したところ、LPS を腹腔内に投与した Fut8 ヘテロ欠損マウスは野生型マウスと比較して、より強い炎症が脳に誘導された。しかし、この誘導された強い炎症は L-フコース経口投与により抑制された(図 2)

(3) 炎症抑制と脳機能の回復機序の解明

L-フコースを経口投与した Fut8 ヘテロ欠損マウスの脳組織をミクログリアマーカーである抗 Iba1 抗体で染色したところ、L-フコース非投与群と比較してサイズ・数ともに有意に低下し、ミクログリアの活性化の抑制が観察された。さらに、JAK2/STAT3、AKT など IL-6 下流のシグナル伝達が抑制された。

シグナル伝達の抑制機序を明らかにするため、IL-6 受容体複合体を構成する gp130 に注目し、gp130 が Fut8 のターゲットとなっていることを

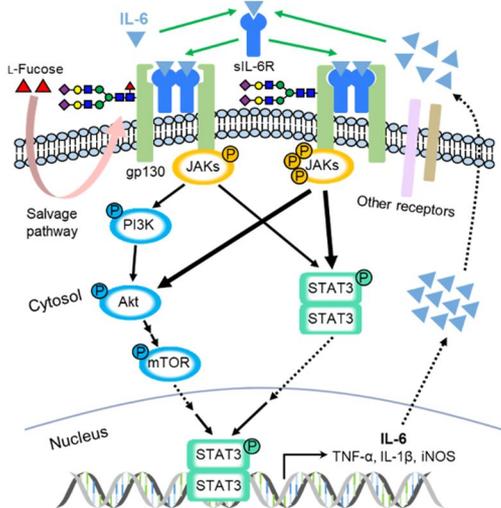


図3 α 1,6フコシル化によって制御される神経炎症の分子メカニズム

あり、脳内炎症を抑制できる可能性があることを示している。

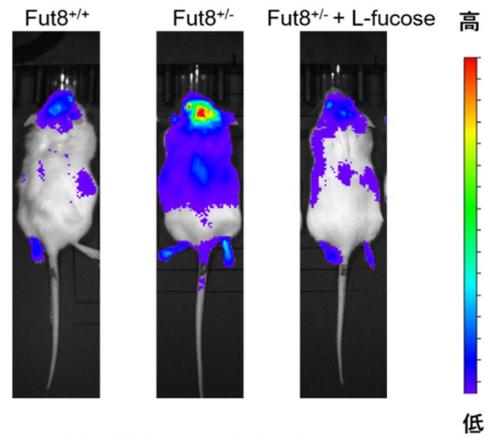


図2. 炎症反応のin vivoイメージング

IL-6の発現をモニターできるマウスとFut8ヘテロ変異マウスを交配させ、LPSにより誘発した炎症に対して、Fut8ヘテロ変異マウス(中央)では野生型マウス(左)と比較して脳内炎症反応が増強するが、L-フコース投与されたマウス(右)は改善された。

レクチンを用いて明らかにした。すなわち、Fut8 ヘテロ欠損マウスでは gp130 に付加された 1,6 フコース糖鎖が野生型マウスと比較して、減少していたが、L-フコース投与により有意に増加した。さらに、1,6 フコシル化がどのように作用しているのか、IL-6 受容体複合体の形成に注目して検討した。gp130 を免疫沈降し、IL-6 でプロットすると、Fut8 欠損、つまり、1,6 フコースがないと複合体の形成が促進され、L-フコース投与により有意に抑制された。重要な事に、1,6 フコース糖鎖を作ることが出来ない Fut8 欠損細胞では、L-フコースの効果を得られなかった。これは、gp130 の 1,6 フコース糖鎖は IL-6 受容体複合体の形成を抑制的に制御し、過剰な炎症反応の抑制に寄与していることを示している。

これらのことは、L-フコースの経口投与で脳内のコアフコース糖鎖を増加させることが可能で

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kanto Noriko, Ohkawa Yuki, Kitano Masato, Maeda Kento, Shiida Masafumi, Ono Tatsuya, Ota Fumi, Kizuka Yasuhiko, Kunimasa Kei, Nishino Kazumi, Mukai Mikio, Seike Masahiro, Azuma Arata, Harada Yoichiro, Fukuda Tomohiko, Gu Jianguo, Taniguchi Naoyuki	4. 巻 299
2. 論文標題 A highly specific antibody against the core fucose of the N-glycan in IgG identifies the pulmonary diseases and its regulation by CCL2	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 105365 ~ 105365
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2023.105365	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 該当する
1. 著者名 Xu Xing, Fukuda Tomohiko, Takai Jun, Morii Sayaka, Sun Yuhan, Liu Jianwei, Ohno Shiho, Isaji Tomoya, Yamaguchi Yoshiki, Nakano Miyako, Moriguchi Takashi, Gu Jianguo	4. 巻 300
2. 論文標題 Exogenous l-fucose attenuates neuroinflammation induced by lipopolysaccharide	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 105513 ~ 105513
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jbc.2023.105513	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 Hayashiji Nozomi, Kawahara Genri, Xu Xing, Fukuda Tomohiko, Kerever Aurelien, Gu Jianguo, Hayashi Yukiko K., Arikawa-Hirasawa Eri	4. 巻 12
2. 論文標題 -1,6-Fucosyltransferase Is Essential for Myogenesis in Zebrafish	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cells	6. 最初と最後の頁 144 ~ 144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/cells12010144	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 Cantero-Recasens Gerard, Burballa Carla, Ohkawa Yuki, Fukuda Tomohiko, Harada Yoichiro, Curwin Amy J., Brouwers Nathalie, Thun Gian A., Gu Jianguo, Gut Ivo, Taniguchi Naoyuki, Malhotra Vivek, IBD Character Consortium	4. 巻 119
2. 論文標題 The ulcerative colitis-associated gene FUT8 regulates the quantity and quality of secreted mucins	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2205277119	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 該当する

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 福田 友彦、徐 興、高井 淳、森井 爽、孫 鈺涵、劉 健偉、伊左治 知弥、中の 三弥子、森口 尚、顧 建国
2. 発表標題 Fut8ヘテロ欠損マウスへのL-フコース投与によるLPS 誘発性神経炎症抑制とその機序
3. 学会等名 第42回日本糖質学会年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福田 友彦、徐 興、高井 淳、森井 爽、孫 鈺涵、劉 健偉、伊左治 知弥、中の 三弥子、森口 尚、顧 建国
2. 発表標題 L-フコース投与による脳内炎症抑制とその機序
3. 学会等名 第62回日本薬学会東北支部大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 福田 友彦、徐 興、高井 淳、森井 爽、孫 鈺涵、劉 健偉、大野 詩歩、伊左治 知弥、山口 芳樹、中の 三弥子、森口 尚、顧 建国
2. 発表標題 L-フコース投与によるLPS誘発性脳内炎症抑制とその機序
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------