

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年 6月 5日現在

機関番号：82674

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22790330

研究課題名（和文） 糖転移酵素による APP 代謝調節機構の解析

研究課題名（英文） Regulation of APP metabolism by glycosyltransferase

研究代表者

萬谷 啓子 (MANYA KEIKO)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）

・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：70415496

研究成果の概要（和文）：これまでの研究から糖転移酵素GnT-IIIがAPPの代謝に影響し、アルツハイマー病の原因となるA β の産生を抑制することを明らかにしている。本研究ではアルツハイマー病の新たな予防および治療法の提唱を目指し、GnT-IIIの発現を誘導することにより糖鎖を介してA β 産生を抑制する天然化合物の検索を行った。その結果、ポリフェノールの一種にGnT-IIIの発現増加作用がある可能性を見いだした。

研究成果の概要（英文）：It was revealed that glycosyltransferase GnT-III affects APP metabolism and glycan modification by GnT-III decreases A β production in the previous study. The aim of this study is to find natural compound that decreases A β production by increase of GnT-III expression. As a result, a type of Polyphenol promoted GnT-III expression.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：生化学

科研費の分科・細目：基礎医学・病態医化学

キーワード：アルツハイマー病、糖転移酵素、APP、bisecting GlcNAc、

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病（AD）は進行性の認知症を呈する脳神経疾患であり、患者の生活の質は著しく低下する。近年、AD研究は著しく進展してきたが、未だ詳細な発症メカニズムや根本的な治療法・予防法は見つかっていない。ADの病理学的特徴である老人斑は、 β -amyloid（A β ）の蓄積により形成される。A

β はamyloid precursor protein（APP）がセクレターゼによって切断されて生じるペプチドで、A β 40とA β 42の2種類がある。A β 42はA β 40に比べ蓄積しやすく、老人斑の主な構成成分である。A β はADの発症に深く関わるとされ、家族性ADではAPP遺伝子の変異によるA β 産生量の増加などが示されている。APPにはN型糖鎖修飾され得るアスパラギンが2ヶ所

存在し、主に2本鎖および3本鎖複合型糖鎖が修飾されている。私はAPP上の糖鎖がA β 産生に影響しているのではないかと考え、これまでに家族性AD患者に見られる変異を持ったAPP (Swedish type Lys595Asn/Met596Leu と London type Val642Phe) のN型糖鎖の構造を解析した。解析の結果、変異型APPの糖鎖は正常型APPのものとは異なり、core fucoseやbisecting GlcNAcといった糖鎖構造が増加していることを明らかにし、報告した。この糖鎖変化はSwedish type とLondon typeという異なる2つの変異APPに共通していた。この結果は、糖鎖がAPP代謝に影響し、ADの病態に関わることを示している。さらに、ヒト脳における遺伝子発現を調べると、変異型APPで増加していたbisecting GlcNAcを転移する酵素 (N-acetylglucosaminyltransferase III, GnT-III) 遺伝子がADの進行に伴って増加することを見いだした。これらの結果より、GnT-IIIの増加がADの進行に関わることが予測された。そこで培養神経細胞にGnT-IIIを過剰発現させたところ、予想に反してA β 40、A β 42ともに産生量が約4割も減少することがわかった。さらにA β 42の添加により培養神経細胞のGnT-IIIの発現が増加することも明らかになった。APPのプロセッシングには α -、 β -、 γ -セクレターゼが関与することが知られている。APPが β -、 γ -セクレターゼによる切断を受けるとA β が生じ、 α -セクレターゼによって切断されるとA β の産生が阻害される。そこでA β 産生量の低下の原因を明らかにするため、各セクレターゼ活性を測定したところ、GnT-III遺伝子導入により α -セクレターゼ活性の上昇傾向が認められた。この結果から、GnT-IIIには α -セクレターゼを活性化させることによりA β の産生を抑制する効果があることが明らかとなった。これらの知見から、神経細胞ではA β 42の増加を感知するとGnT-IIIの発現が誘導され、最終的にA β の産生を抑制するという、A β 産生に対するGnT-IIIによる生体防御メカニズムの存在を想定した。このメカニズムは、AD脳においてGnT-III mRNAの増加が認められることから支持される。

2. 研究の目的

これまでの研究により、糖転移酵素GnT-IIIを介したA β 産生に対する生体防御機構の存在が示唆されたことから、本研究では、GnT-IIIの発現に影響する天然化合物などのスクリーニングにより、新たな予防および治療法への応用を目指す。これまでに、A β 42の添加により培養神経細胞における糖転移酵素GnT-IIIの発現が増加することを明らかにしている。GnT-IIIは糖鎖構造変化を介してA β の産生を抑制し、生体防衛的に働くことから、GnT-IIIの発現増加はADの予防

や治療に有効であると考えられる。しかし、A β 42を脳に大量に投与することは難しく、また、それが病因となってしまう可能性も考えられる。そこで、予防という観点から摂取のし易さを考慮し、食品成分中からGnT-IIIの発現を増加させるような化合物を見つけたい。

3. 研究の方法

GnT-IIIがA β の産生を抑制し、生体防衛的に働くことから、GnT-IIIの発現増加はADの予防や治療に有効であると考えられる。そこで、予防という観点から摂取のし易さを考慮し、食品成分中からGnT-IIIの発現を増加させるような化合物を見つけたい。まず培養神経細胞または初代培養神経細胞に化合物を直接添加し、リアルタイムPCRによりGnT-IIIの発現量の変化を、ELISA法によりA β の分泌量の変化を調べる。近年、植物成分であるポリフェノールによる抗酸化作用以外の効果(抗腫瘍作用など)に着目した研究が進められていることから本研究ではポリフェノール、およびそれ以外の化合物についてスクリーニングを行う。

4. 研究成果

本研究では、bisecting GlcNAcを合成する糖転移酵素GnT-IIIとAPP代謝との関連について検討したところ、GnT-IIIによるセクレターゼを介したA β 産生抑制作用があることを明らかになっており、治療への応用が考えられた。そこで本年度は、GnT-IIIの発現を誘導する化合物の探索を試みた。Neuro2a細胞(マウス神経芽細胞腫)に食品成分などのさまざまな天然化合物を添加し、GnT-III mRNAの発現量をリアルタイムPCR法により調べたところ、ポリフェノールの一種であるクルクミンにGnT-IIIの発現増加作用がある可能性を見いだした。この成果はアルツハイマー病の新たな予防および治療法開発への応用が期待できる。クルクミンには複数の構造異性体が存在し、構造異性体によって効果が異なる可能性が考えられたため、構造異性体による効果の違いなどについても解析を行った。また、ポリフェノールを中心に他の化合物についてもスクリーニングを続けている。

また、アルツハイマー病脳で発現の変化が見られる様々な糖鎖関連遺伝子をクローニングし、強制発現株を作製するなどアルツハイマー病における糖鎖の役割を明らかにするための実験を進めた。

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0件）

〔学会発表〕（計4件）

- ① Endo, T., Manya, H., and Akasaka-Manya, K. : Regulation of beta-amyloid production in Alzheimer's disease by N-glycan processing. 10th International Conference AD/PD 2011, Barcelona, Spain, 2011.3.9-13
- ② Manya, H., Akasaka-Manya, K., and Endo, T. : Inhibitory effect of N-acetylglucosaminyltransferase III on β -amyloid production in Alzheimer's disease. Neuroscience 2010, San Diego, California, USA, 2010.11.13-17
- ③ Akasaka-Manya, K., Manya, H., Sakurai, Y., Saito, Y., Murayama, S., Endo, T. : Structural alteration of N-glycan on APP and β -amyloid production. GlycoT 2010 (7th International Symposium on Glycosyltransferase), Tokyo, 2010.7.30-8.1
- ④ Akasaka-Manya, K., Manya, H., Sakurai, Y., Wojczyk, B. S., Kozutsumi, Y., Saito, Y., Taniguchi, N., Murayama, S., Spitalnik, S. L., and Endo, T. : Protective effect of N-glycan bisecting GlcNAc residues on β -amyloid production in Alzheimer's disease. The 28th Naito Conference Glycan Expression and Regulation [I], Hayama, Japan, 2010.7.27-30

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0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0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

萬谷 啓子 (MANYA KEIKO)

地方独立行政法人東京都健康長寿医療センター（東京都健康長寿医療センター研究所）・東京都健康長寿医療センター研究所・研究員

研究者番号：70415496

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：