

令和 6 年 6 月 27 日現在

機関番号：21601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20653

研究課題名（和文）アルツハイマー病モデルマウスを用いたO型糖鎖によるタウ病変の制御機構の解明

研究課題名（英文）Analysis of the mechanism of tau pathology focusing on O-glycan using Alzheimer's disease model mice.

研究代表者

飯島 順子（IIJIMA, Junko）

福島県立医科大学・保健科学部・講師

研究者番号：10559636

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：タウのO型糖鎖修飾の機能を解析するためには特異的な抗体が必要となるため、O型糖鎖修飾されたタウペプチドを抗原とし抗体を作製した。作製した抗体を付加したアガロースビーズを用いてWtau-Tgマウス脳から免疫沈降を行い、マススペクトル解析を行ったところ、多くのIgGが含まれ、O型糖鎖修飾タウの同定に至らなかった。そこで、還元剤を含まず抗体IgGが漏れこまない条件や、抗体を化学結合でビーズ表面に結合させるなどの条件検討を行っている。また、経時的な解析のため、若齢、高齢マウスを増やし脳サンプルを作製している。O型糖鎖修飾タウの精製条件を確定させたのちは、これらのサンプルを用いて経時的な変化を解析する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

O型糖鎖はタンパク質のセリンやスレオニンにN-アセチルグルコサミンなどが結合する。その結合部位がリン酸化と同様のため、O型糖鎖はリン酸化の調節に関与すると考えられる。タウでもO型糖鎖修飾によりリン酸化が抑制されること、O-GlcNAc付加酵素を欠損すると神経変性が観察されることが報告された。しかしながらO型糖鎖修飾とリン酸化のスイッチの制御は不明である。タウがリン酸化される時点でADは進行しており、予防・治療のためにはADの早期発見が重要である。ゆえにO型糖鎖に着目した本研究はADの発症機構の新たな知見となり、新規ADマーカーの確立や創薬標的としてADの予防、治療法の開発に貢献すると考える。

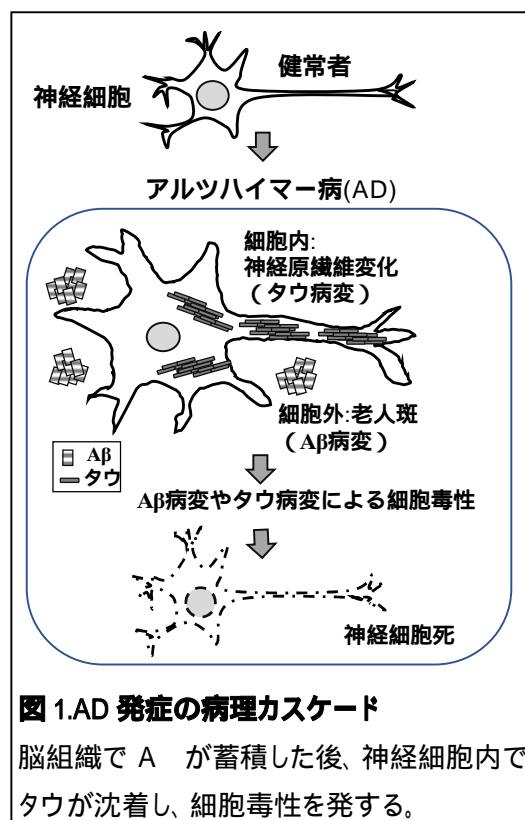
研究成果の概要（英文）：Since specific antibodies are necessary to analyze the function of O-glycosylation of tau, antibodies were prepared using O-glycosylated tau peptides as antigens. Immunoprecipitation of Wtau-Tg mouse brain was performed using agarose beads to which the antibody was attached, and mass spectral analysis showed that a large amount of mouse IgG was included, and identification of O-glycosylated tau was not achieved. Therefore, we are examining conditions under which antibody IgG does not leak without reducing agents, and conditions in which antibodies are chemically bonded to the bead surface. In addition, brain samples from young and old mice have been prepared, and these will be analyzed in the future.

研究分野：医化学

キーワード：tau Alzheimer's disease O-glycan

## 1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病(Alzheimer's disease; AD)は不可逆的な進行性の認知症疾患であり、脳組織でアミロイド (A $\beta$ ) が蓄積した後、神経細胞内でリン酸化タウが沈着し細胞毒性を発することで起こる。患者は世界的に増加しているが予防・治療法が確立しておらず、ADの分子病態を解明するには新たな多角的な取り組みが必要である。ADの顕著な特徴は脳内でA $\beta$  から成る老人斑と神経細胞のタンパク質であるタウの凝集による神経原繊維変化であり、とくにタウ凝集の部位と神経脱落部位が一致していることから、タウ凝集が神経毒性を發揮するとされている (*Nat Neurosci.* 2012;15(3):349-57)(図1)。通常タウは微小管に結合し神経細胞を安定化させるが、過剰にリン酸化されたタウは互いに凝集、線維化し神経原線維変化となり神経細胞死と認知機能の低下に関与すると予想される (*Nat Commun.* 2015, 16;6:10216. *EMBO J.* 2007, 12;26(24):5143-52)。しかしながらA $\beta$ の沈着からタウの凝集、神経細胞死に至る一連のADの遷移機構の詳細は不明であり、特にAD病症のスイッチであるタウのリン酸化の機構を解明し、神経原線維変化を制御することはADの予防、治療に貢献すると期待される。



0型糖鎖はタンパク質のセリンやスレオニンにN-アセチルグルコサミンなどが結合するが、その結合部位がリン酸化と同様なため、0型糖鎖はリン酸化の調節に関与すると考えられる。タウでも0型糖鎖修飾によりリン酸化が抑制されること (*PNAS.* 2004, 20;101(29):10804-10809)、近年さらにO-GlcNAc付加酵素を欠損すると神経変性が観察されることが報告された (*PNAS.* 2016, 27;113(52):15120-15125)。0型糖鎖はタウの凝集に伴う神経原繊維変化を制御しAD発症の鍵となる可能性がある。しかしながら0型糖鎖修飾とリン酸化のスイッチの制御は不明であり、今後明らかにすべき課題である。

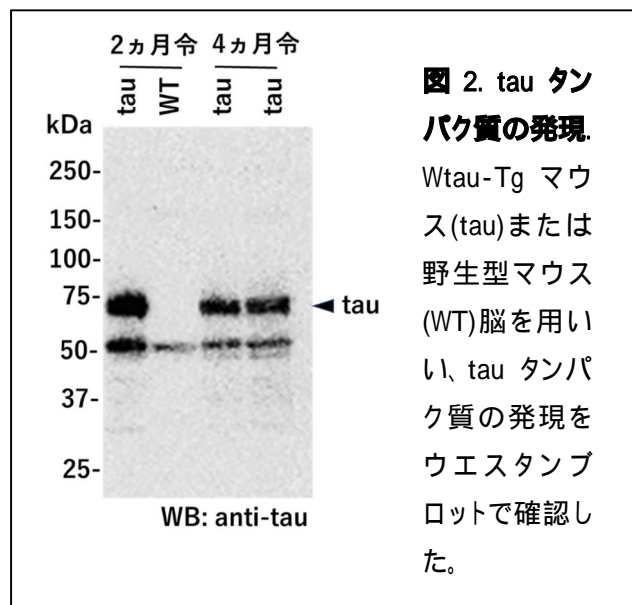
## 2. 研究の目的

ADの有効な予防・治療法はいまだ確立しておらず、AD病理の理解には新たな多角的な取り組み

組みが必要と言える。本研究ではタウを修飾する O 型糖鎖に着目し、タウの翻訳後修飾の変化、O 型糖鎖によるタウのリン酸化の制御機構を明らかにすることを目的とする。また、タウ病変を示すモデルマウスとして、共同研究にてヒト型タウを発現し加齢に伴いタウの過剰なリン酸化と学習障害を示す Wtau-Tg マウスの解析することで、ヒトとより類似したタウ病理の解明を目指す。このように、タウを修飾する O 型糖鎖の機能に着目し、動物モデルを用い、O 型糖鎖と AD の発症や進行の関連性やタウを修飾する新規 O 型糖鎖の同定を目指す。

### 3 . 研究の方法

タウの O 型糖鎖修飾の機能を解析するためには特異的な抗体が必要となるため、O 型糖鎖修飾されたタウペプチドを抗原とし抗体を作製した。タウ病変を示すモデルマウスとして、Wtau-Tg マウスを用いた (図 2)。作製した抗体により Wtau-Tg マウス (tau) または野生型マウス (WT) 脳から O 型糖鎖に修飾されたタウを精製した。O 型糖鎖を認識する RL2 抗体と抗タウ抗体を用い、作製した抗体が O 型糖鎖修飾タウを認識することをウエスタンブロッティングにより確認している。更にマスマスペクトル解析によりタウの O 型糖鎖修飾やリン酸化部位を同定を行うため、解析に必要な O 型糖鎖修飾タウの精製条件を検討している。



### 4 . 研究成果

タウの O 型糖鎖修飾の機能を解析するためには特異的な抗体が必要となるため、O 型糖鎖修飾されたタウペプチドを抗原とし抗体を作製した。作製した抗体を付加したアガロースビーズを用いて Wtau-Tg マウス脳から免疫沈降を行い、マスマスペクトル解析を行ったところ、多くの mouse IgG が含まれ、O 型糖鎖修飾タウの同定に至らなかった。そのため、還元剤を含まず抗体 IgG が漏れこまない条件や、抗体を化学結合でビーズ表面に結合させるなどの条件検討を行っている。また、経時的な解析のため、若齢、高齢マウスの飼育を増やし脳サンプルを作製している。O 型糖鎖修飾タウの精製条件を確定させたのちは、これらのサンプルを用いて経時的な変化を解析する。タウがリン酸化される時点で AD は進行しており、予防・治療のためには AD の早期発見が重要である。ゆえに O 型糖鎖に着目した本研究成果は AD の発症機構の新たな知見となり、新規 AD マーカーの確立や創薬標的として AD の予防、治療法の開発に貢献すると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 飯島 順子, 芳賀 淑美, 千葉 靖典, 植田 幸嗣, 西道 隆臣, 佐原 成彦, 北爪しのぶ
2. 発表標題 ADモデルマウスを用いたタウのO型糖鎖修飾の解析
3. 学会等名 第41回日本認知症学会学術集会 第37回日本老年精神医学会 [ 合同開催 ]
4. 発表年 2022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
---------	---------