

令和 5 年 6 月 1 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07762

研究課題名(和文) タウタンパク質のリン酸化におけるATBF1機能解析

研究課題名(英文) The functional analysis of ATBF1 in the phosphorylation of tau protein

研究代表者

鄭 且均 (Jung, Cha-Gyun)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・准教授

研究者番号：00464579

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：N2AP301L細胞にインスリンを処理すると、PI3K-Akt-CREBシグナル伝達経路を介してATBF1のmRNAおよびタンパク質レベルが増加した。N2AP301L細胞およびラット由来の初代神経培養細胞にATBF1をノックダウンすると、ERKおよびJNKの活性化が低下することでタウタンパク質のリン酸化が抑制した。逆に、N2AP301L細胞にATBF1を過剰発現させるとERKおよびJNKの活性化を介してタウタンパク質のリン酸化が亢進した。さらに、野生型マウスに比べてATBF1(-/-)マウス脳ではタウタンパク質のリン酸化の亢進や、ERKおよびJNKの活性化の亢進が見られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、世界ではリン酸化タウタンパク質の亢進メカニズムを解明する研究が活発に行われているが、未だに不明なことが多い。我々は、世界で初めてATBF1の発現減少がタウタンパク質のリン酸化を亢進させることを見出した。タウタンパク質のリン酸化制御メカニズムにおけるATBF1の機能を細胞・動物レベルで明らかにすることによって、新たなタウタンパク質のリン酸化メカニズムが解明されれば、ATBF1をターゲットとしたAD治療薬開発の基盤となることが予想され、成功した場合に非常に卓越した成果が期待できる。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to clarify the mechanism of ATBF1 expression reduction by insulin deficiency and the function of ATBF1 in tau phosphorylation at the molecular, cellular, and animal levels. Here, we found that insulin treatment increased the expression levels of ATBF1 mRNA and protein via the PI3K-Akt-CREB signaling pathway in Neuro2a-P301L cells stably expressing the human 2N4R tau isoform and repeat domain fragment with the P301L mutation. Furthermore, ATBF1 knockdown in these cells and in rat primary cultured neurons increased tau phosphorylation, which was mediated by the activation of ERK and JNK. Conversely, ATBF1 overexpression in Neuro2a-P301L cells decreased tau hyperphosphorylation. Our in vivo experiment showed that tau phosphorylation levels were higher in ATBF1 -/- brains than in wild-type brains at embryonic 18 (E 18).

研究分野：アルツハイマー病、神経科学

キーワード：アルツハイマー病 糖尿病 インスリン欠乏 ATBF1 タウタンパク質のリン酸化

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー病 (AD) 脳ではインスリンやインスリン受容体の量が低下し、脳内インスリンシグナルの障害は新たな AD 病態の一つとして注目されている。実際に AD 患者にインスリンを投与することで記憶力改善効果が確認されている。AD 脳の病理学的特徴の一つとして過剰なタウタンパク質のリン酸化によって生じる神経原線維変化が知られている。特に脳内のインスリン欠乏によるリン酸化タウタンパク質の亢進などが報告されている。したがって、インスリン欠乏によるタウタンパク質のリン酸化のメカニズムの解明は AD の発症機構の解明と創薬ターゲットを開発する上で重要であると考えられる。インスリン欠乏によるタウタンパク質のリン酸化は、主に cAMP 依存性プロテインキナーゼである PI3K の活性低下、グリコーゲン合成酵素キナーゼ 3 (GSK3) の活性亢進、サイクリン依存性キナーゼ 5 (CDK5) の活性亢進など、数種類のキナーゼによって調節される。現在、インスリン欠乏によるタウタンパク質のリン酸化制御メカニズムを解明する研究が活発に行われているが、未だに不明なことが多い。そこで申請者らは、AD モデルマウスにストレプトゾトシン (STZ) を投与し 1 型糖尿病を誘発させ、インスリン欠乏によって変動する分子の探索を行なった。その結果、STZ 投与群の脳で ATBF1 発現が減少していることを世界で初めて発見した。また、細胞で ATBF1 をノックダウンさせるとタウタンパク質のリン酸化が亢進した。しかし、インスリン欠乏による ATBF1 の発現減少メカニズムやタウタンパク質のリン酸化における ATBF1 の機能は不明である。

2. 研究の目的

本研究は、インスリン欠乏による ATBF1 発現減少メカニズムと、タウタンパク質のリン酸化における ATBF1 の機能を分子・細胞・動物レベルで明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) ラット由来の初代神経培養細胞および N2AP301L 細胞 (タウ安定発現細胞) にインスリンを投与し、ATBF1 の mRNA 発現 (real-time PCR) およびタンパク質レベル (ウェスタンブロットリング) を調べた。また、インスリン受容体の主な下流シグナルである PI3K の阻害剤を前処理した後、インスリンを処理し、ATBF1 mRNA 発現およびタンパク質レベルを調べた。

(2) N2AP301L 細胞へ ATBF1 のノックダウン (siRNA を利用) または ATBF1 cDNA を導入し、タウタンパク質のリン酸化をウェスタンブロットリングで調べた。

(3) N2AP301L 細胞へ ATBF1 のノックダウン (siRNA を利用) または ATBF1 cDNA を導入し、タウタンパク質のリン酸化に関わる酵素 (GSK3、Akt、p38、JNK、ERK、PP1、PP2A) のタンパク質レベルやそのリン酸化をウェスタンブロットリングで調べた。

(4) 胎生 18 日目の野生型マウスおよび ATBF1 (-/-) マウスの脳サンプルを用いてタウタンパク質のリン酸化や、タウタンパク質のリン酸化に関わる酵素 GSK3、Akt、p38、JNK、ERK、PP1、PP2A) のタンパク質レベルとそのリン酸化レベルをウェスタンブロットリングで調べた。

4. 研究成果

(1) ラット由来の初代神経培養細胞および N2AP301L 細胞にインスリンを処理すると、ATBF1 の mRNA およびタンパク質レベルはインスリン濃度依存的に増加した。また、インスリン受容体の主な下流シグナルである PI3K の阻害剤を前処理した後、インスリンを処理するとインスリンによる ATBF1 発現レベルの増加が見られなかった。すなわち、ATBF1 発現はインスリンシグナルによって制御されることが示唆された。

(2) N2AP301L 細胞に ATBF1 を過剰発現させるとタウタンパク質のリン酸化が減少し、ATBF1 をノックダウンするとタウタンパク質のリン酸化が亢進された。

(3) N2AP301L 細胞に ATBF1 を過剰発現させると、タウタンパク質のリン酸化に関わる酵素である ERK および JNK の活性化が低下した。逆に、ラット由来の初代神経培養細胞および N2AP301L 細胞に ATBF1 をノックダウンすると ERK および JNK の活性化が亢進した。この結果から、ATBF1 の過剰な発現は、ERK および JNK の活性化を介してタウタンパク質のリン酸化を促進することが示唆された。

(4) 胎生 18 日目の野生型マウスと ATBF1 (-/-) マウスの脳を解析したところ、野生型に比べて ATBF1 (-/-) マウス脳ではタウタンパク質のリン酸化の亢進や、ERK および JNK の活性化の亢進が見られた。この結果から、in vitro 実験結果と同様に、in vivo においても ATBF1 発現の減少は ERK および JNK の活性化を介してタウタンパク質のリン酸化を促進する

ことが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 7件）

1. 著者名 Jung Cha-Gyun, Yamashita Hitoshi, Kato Reiko, Zhou Chunyu, Matsushita Hiroaki, Takeuchi Tamaki, Abdelhamid Mona, Chen Yuxin, Michikawa Makoto	4. 巻 24
2. 論文標題 Deletion of UCP1 in Tg2576 Mice Increases Body Temperature and Exacerbates Alzheimer's Disease-Related Pathologies	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 2741 ~ 2741
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms24032741	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 Taslima Ferdous, Abdelhamid Mona, Zhou Chunyu, Chen Yuxin, Jung Cha-Gyun, Michikawa Makoto	4. 巻 6
2. 論文標題 Tooth Loss Induces Memory Impairment and Glial Activation in Young Wild-Type Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Alzheimer's Disease Reports	6. 最初と最後の頁 663 ~ 675
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/ADR-220053	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 Ohno Kazuya, Abdelhamid Mona, Zhou Chunyu, Jung Cha-Gyun, Michikawa Makoto	4. 巻 89
2. 論文標題 Bifidobacterium breve MCC1274 Supplementation Increased the Plasma Levels of Metabolites with Potential Anti-Oxidative Activity in APP Knock-In Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Alzheimer's Disease	6. 最初と最後の頁 1413 ~ 1425
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-220479	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 Jung Cha-Gyun, Kato Reiko, Zhou Chunyu, Abdelhamid Mona, Shaaban Esraa Ibrahim A., Yamashita Hitoshi, Michikawa Makoto	4. 巻 12
2. 論文標題 Sustained high body temperature exacerbates cognitive function and Alzheimer's disease-related pathologies	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	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) 10.1038/s41598-022-16626-0	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 Abdelhamid Mona, Zhou Chunyu, Jung Cha-Gyun, Michikawa Makoto	4. 巻 14
2. 論文標題 Probiotic Bifidobacterium breve MCC1274 Mitigates Alzheimer ' s Disease-Related Pathologies in Wild-Type Mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Nutrients	6. 最初と最後の頁 2543 ~ 2543
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/nu14122543	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 Zhou Chunyu, Jung Cha-Gyun, Kim Mi-Jeong, Watanabe Atsushi, Abdelhamid Mona, Taslima Ferdous, Michikawa Makoto	4. 巻 59
2. 論文標題 Insulin Deficiency Increases Sirt2 Level in Streptozotocin-Treated Alzheimer ' s Disease-Like Mouse Model: Increased Sirt2 Induces Tau Phosphorylation Through ERK Activation	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Molecular Neurobiology	6. 最初と最後の頁 5408 ~ 5425
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12035-022-02918-z	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 Taslima F, Jung CG, Zhou C, Abdelhamid M, Abdullah M, Goto T, Saito T, Saido TC, Michikawa M	4. 巻 80(4)
2. 論文標題 Tooth loss induces memory impairment and gliosis in APP knock-in mouse models of Alzheimer ' s disease	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Alzheimer ' s Dis.	6. 最初と最後の頁 1687-1704
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-201055	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Abdelhamid M, Zhou C, Ohno K, Kuhara T, Taslima F, Abdullah M, Jung CG, Michikawa M	4. 巻 85(4)
2. 論文標題 Probiotic Bifidobacterium breve prevents memory impairment through the reduction of both A production and microglia activation in APP knock-in mouse.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Alzheimer ' s Dis.	6. 最初と最後の頁 1555-1571
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3233/JAD-215025	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 Park SJ, Lee YJ, Park JH, Jin HT, Choi MJ, Jung CG, Akatsu H, Choi EK, Kim YS	4. 巻 28(1)
2. 論文標題 Establishment of Method for the Determination of Aggregated α -Synuclein in DLB Patient Using RT-QuIC Assay	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Protein Pept Lett.	6. 最初と最後の頁 115-120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2174/0929866527666200420105352	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 Cha-Gyun Jung, Reiko Kato, Chunyu Zhou, Mona Abdelhamid, Hitoshi Yamashita, Makoto Michikawa.
2. 発表標題 Effect of sustained high body temperature on cognitive function
3. 学会等名 第41回認知症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Chunyu Zhou, Cha-Gyun Jung, Mi-Jeong Kim, Atsushi Watanabe, Mona Abdelhamid, Ferdous Taslima and Makoto Michikawa.
2. 発表標題 Sirt2 increases tau phosphorylation through ERK activation
3. 学会等名 第41回認知症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Mona Abdelhamid, Chunyu Zhou, Cha-Gyun Jung, Makoto Michikawa.
2. 発表標題 ビフィズス菌MCC1274のアルツハイマー病病態関連分子に対する影響の検討
3. 学会等名 第41回認知症学会学術集会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Cha-Gyun Jung, Reiko Kato, Chunyu Zhou, Mona Abdelhamid, Hitoshi Yamashita, Makoto Michikawa
2. 発表標題 Sustained high body temperature exacerbates cognitive function and Alzheimer ' s disease-related pathologies
3. 学会等名 Neuro2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Chunyu Zhou, Cha-Gyun Jung, Mi-Jeong Kim, Atsushi Watanabe, Mona Abdelhamid, Ferdous Taslima and Makoto Michikawa
2. 発表標題 Insulin deficiency increases Sirt2 level in streptozotocin-treated Alzheimer ' s disease-like mouse model: Sirt2 increases tau phosphorylation through ERK activation
3. 学会等名 Neuro2022
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Cha-Gyun Jung, Mona Abdelhamid, Chunyu Zhou, Kazuya Ohno, Tetsuya Kuhara, Ferdous Taslima, Mohammad Abdullah, Makoto Michikawa.
2. 発表標題 Probiotic Bifidobacterium breve decreases A β production via the upregulation of ADAM10 level and attenuates microglia activation in APP knock-in mouse model of Alzheimer ' s disease.
3. 学会等名 Alzheimer ' s Association International Conference 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mona Abdelhamid, Cha-Gyun Jung, Chunyu Zhou, Ferdous Taslima, Mohammad Abdullah, Makoto Michikawa
2. 発表標題 アルツハイマー病モデルマウスにおけるビフィズス菌摂取による認知機能改善作用とアミロイド 産生低下作用。
3. 学会等名 第25回腸内細菌学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Mona Abdelhamid, Chunyu Zhou, Kazuya Ohno, Tetsuya Kuhara, Ferdous Taslima, Mohammad Abdullah, Cha-Gyun Jung, Makoto Michikawa.
2. 発表標題 Effect of Bifidobacterium breve MCC1274 on the pathogenesis of Alzheimer ' s disease.
3. 学会等名 第40回認知症学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Zhou CY, Jung CG, Abdelhamid M, Ferdous T, Shaaban I. E, Michikawa M.
2. 発表標題 Effect of ATBF1 on tau phosphorylation.
3. 学会等名 第40回認知症学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jung CG, Zhou CY, Abdelhamid M, Ferdous T, Shaaban I. E, Michikawa M.
2. 発表標題 Effect of Tid1 on the mitochondrial accumulation of APP.
3. 学会等名 第40回認知症学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鄭 且均、Abdelhamid Mona、周 春雨、Abdullah Mohammad、道川 誠
2. 発表標題 Effect of lactoferrin on the memory impairment and pathogenesis of Alzheimer's disease
3. 学会等名 日本ラクトフェリン学会第9回学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020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
研究 分担 者	道川 誠 (Michikawa Makoto) (40270912)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903)	

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