

# アルツハイマー型認知症の 新規バイオマーカー； 糖鎖修飾に注目して

A new biological marker of Alzheimer's disease; Altered glycosylation of cerebrospinal fluid and serum glycoprotein

鳥取大学医学部保健学科生体制御学／助教

谷口美也子\*

## 1. はじめに

アルツハイマー型認知症 (AD) の早期診断には、優秀な診断マーカーの存在は必須条件の1つであるといえる。現在では、リン酸化タウタンパク (p-tau)<sup>1,5)</sup>とアミロイドβタンパク (Aβ)<sup>6,7)</sup>が髄液中の診断マーカーとして確立され用いられているが、現在でもよりよい診断マーカーを求めて数多くの研究がなされている。我々も新たな診断マーカーを検索してきたが、糖タンパクの糖鎖がADにおいて変化している可能性を見だし、診断マーカーとして有効ではないかと考えている。これまでの髄液中、血液中における糖タンパクの研究について紹介する。

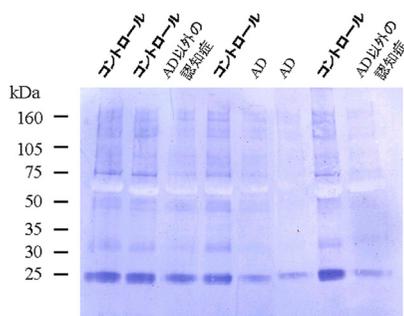


図1 WGAによる髄液中糖タンパクの検出

## 2. 髄液中糖タンパクの解析<sup>8)</sup>

まず、WGA (Wheat Germ Agglutinin:小麦胚芽レクチン) を用いたレクチンブロット法で髄液中の糖タンパクの検出を試みた。多くの糖タンパクのほぼすべてにおいてADではコントロール群、他の認知症群と比較してWGA結合量が減少していた(図1)。特に約75kDaの糖タンパク(図1矢印、タンパクaとする)はADでは有意に低値であり(図2)、さらに従来鑑別の困難であったタウオパチーをはじめとする他の認知症群間とのROC解析では、カットオフ値を205に設定すると感度88.6%、特異度92.3%であり、有用な診断マーカーであることが示された。

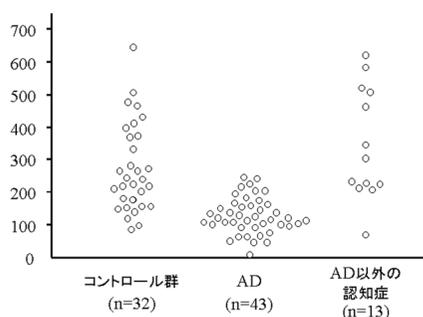


図2 糖タンパクaのWGA結合量

\* Miyako TANIGUCHI, Ph. D.: Assistant Professor, Department of Biological Regulation, School of Health Science, Faculty of Medicine, Tottori University

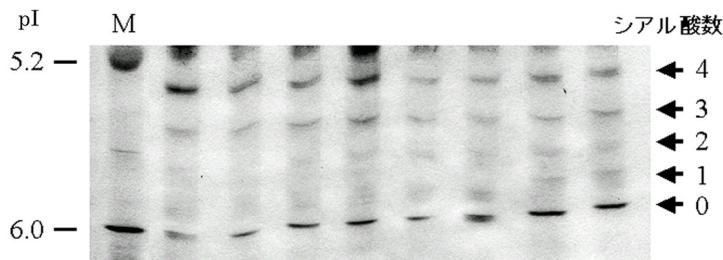


図3 髄液トランスフェリンの等電点電気泳動  
M: pIマーカー 1 $\mu$ g トランスフェリン/レーン

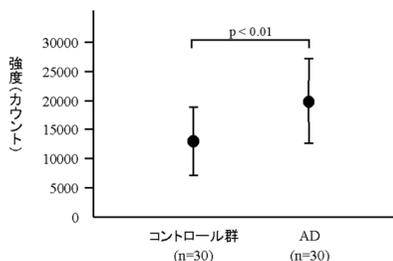


図4 血清中トランスフェリンのWGA結合量

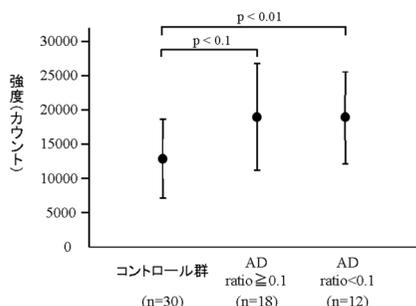


図5 p-tau/A $\beta$ 分類による血清中トランスフェリンのWGA結合量

この約75kDaの糖タンパクは、質量分析でトランスフェリンであることを同定した。そこで髄液中のトランスフェリン量を測定したが、AD群 $24.6 \pm 10.6\mu\text{g/ml}$ 、AD以外の認知症群 $25.0 \pm 12.5\mu\text{g/ml}$ 、コントロール群 $25.1 \pm 7.6\mu\text{g/ml}$ であり、有意な差が見られなかった。トランスフェリンは糖鎖に含まれるシアル酸の数によって等電点が異なるため、等電点電気泳動により糖鎖の解析を行った。ADではシアル酸を4つと3つ持つトランスフェリンが増加しており、逆に2つと1つ持つものが減少していた(図3)。このことから、髄液中トランスフェリンのWGA結合量が増加している原因の1つはシアル酸量の変化であることが明らかとなった。

### 3. 血液中糖タンパクの解析

トランスフェリンは血液中にも多く存在するタンパクであり、血液中トランスフェリンでも糖鎖が変化していることが期待された。血清中のトランスフェリン量は、AD群 $2.7 \pm 0.7 \text{ mg/ml}$ 、コントロール群 $2.7 \pm 0.6 \text{ mg/ml}$ であり、髄液同様なタンパク量に有意な差は見られなかった。一方WGAによるレクチンブロットでは、AD群のトランスフェ

リンのWGA結合量はコントロール群に比べて有意に高値であった(図4)。この解析に用いたADは比較的初期であるため、髄液マーカーであるp-tau181とA $\beta_{1-42}$ との指標であるp-tau181/A $\beta_{1-42}$  ratio<sup>9,10)</sup>を用いてさらに病態との関連を解析した。p-tau181/A $\beta_{1-42}$  ratioのカットオフ値を0.1に設定すると、AD群は0.1以上の軽度の群 (p-tau181:70.0  $\pm$  26.0 pg/ml、A $\beta_{1-42}$ :417.0  $\pm$  144.1 pg/ml) と0.1未満の極軽度の群 (p-tau181:35.3  $\pm$  9.6 pg/ml、A $\beta_{1-42}$ :733.4  $\pm$  231.4 pg/ml) に分類された。このAD 2群においてWGA結合量を比較すると、どちらの群においてもコントロール群と比較して有意に高値であった(図5)。このことからWGA結合量で示されるトランスフェリンの糖鎖の変化はp-tau181やA $\beta_{1-42}$ の変化に先行して起こっている可能性が示唆され、早期診断マーカーとして有用であると期待できる。

### 4. まとめ・考察

糖タンパクの糖鎖は、小胞体とゴルジ体をタンパクが輸送される際に付加される。ADではこの過程に異常をきたしている可能性がある。近年、A $\beta$ を産生する $\beta$ -セクレターゼがAPPだけ

でなくシアル酸転移酵素であるシアリルトランスフェラーゼも同様に基質として切断し、実際にADの血清中と神経細胞ではシアリルトランスフェラーゼが減少しているという報告がなされている<sup>11,12)</sup>。これは我々が示したトランスフェリンの糖鎖変化の原因の1つである可能性があり、ADで糖鎖変化が起こっていることを支持するものである。

現在我々は、糖タンパクの糖鎖量を測定するための簡便な方法として、サンドイッチELISA法を改良してレクチンで糖鎖の検出を行うレクチン酵素免疫法の確立を試みている。この方法は簡便であるだけでなく、使用するレクチンによって種々の糖鎖を特異的に検出し測定することができるため、糖タンパクの糖鎖を総合的に解析できると期待できる。

## 5. おわりに

ADにおける糖タンパクの糖鎖変化の原因は今のところ特定できていない。しかし、血清中トランスフェリンの糖鎖変化は、p-tauやA $\beta$ の変化に先行している可能性があり、このことは早期診断マーカーとしての可能性を示すものであるといえる。さらに現在まで有効な診断マーカーのなかった血清中のマーカーとなり得ることもADの早期診断に大きく貢献できると考えられる。

## 文献

- 1) Ishiguro K, Ohno H, Arai H, et al: Phosphorylated tau in human cerebrospinal fluid is a diagnostic marker for Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 270: 91-94, 1999
- 2) Schönknecht P, Pantela J, Hunta A, et al.: Levels of total tau and tau protein phosphorylated at threonine 181 in patients with incipient and manifest Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 339:172-174, 2003
- 3) Kohnken R, Buerger K, Zinkowski R, et al.: Detection of tau phosphorylated at threonine 231 in cerebrospinal fluid of Alzheimer's disease patients. *Neurosci Lett* 287:187-190, 2000
- 4) Itoh N, Arai H, Urakami K, et al.: Large-scale, multicenter study of cerebrospinal fluid tau protein phosphorylated at serine 199 for the antemortem diagnosis of Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 50:150-156, 2001
- 5) Hampel H, Buerger K, Zinkowski R, et al.: Measurement of phosphorylated tau epitopes in the differential diagnosis of Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry* 61:95-102, 2004
- 6) Motter R, Vigo-Pelfrey C, Kholodenko D, et al.: Reduction of beta-amyloid peptide 42 in the cerebrospinal fluid of patients with Alzheimer's disease. *Ann Neurol* 38:643-648, 1995
- 7) Kanai M, Matsubara E, Isoe K, et al.: Longitudinal study of cerebrospinal fluid levels of tau, A beta1-40, and A beta1-42(43) in Alzheimer's disease: a study in Japan. *Ann Neurol* 44:17-26, 1998
- 8) Taniguchi M, Okayama Y, Hashimoto Y, et al.: Sugar chains of cerebrospinal fluid transferrin as a new biological marker of Alzheimer's disease. *Dement Geriatr Cogn Disord* 26:117-122, 2008
- 9) Maddalena M, Papassotiropoulos A, Muller-Tillmanns B, et al.: Biochemical diagnosis of Alzheimer disease by measuring the cerebrospinal fluid ratio of phosphorylated tau protein to  $\beta$ -amyloid peptide42. *Arch Neurol* 60: 1202-1206, 2003
- 10) Kapaki EN, Paraskevas GP, N. G. Tzerakis NG, et al.: Cerebrospinal fluid tau, phospho-tau181 and  $\beta$ -amyloid1-42 in idiopathic normal pressure hydrocephalus: a discrimination from Alzheimer's disease. *Euro J Neurol* 14: 168-173, 2007
- 11) Kitazume S, Tachida Y, Oka R, et al.: Alzheimer's  $\beta$ -secretase,  $\beta$ -site amyloid precursor protein-cleaving enzyme, is responsible for cleavage secretion of a Golgi-resident sialyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 98:13554-13559, 2001
- 12) Kitazume S, Saido TC, Hashimoto Y: Alzheimer's  $\beta$ -secretase cleaves a glycosyltransferase as a physiological substrate. *Glycoconj J* 20:59-62, 2004

この論文は、平成21年4月18日(土)第17回中・四国老年期認知症研究会で発表された内容です。