

Presenilin欠損によるタウタンパク質のリン酸化および 分泌の促進に関する研究および Presenilinの神経変性疾患における多面的な役割

名古屋市立大学大学院 医学研究科 神経生化学分野
博士研究員 孫 陽

(共同研究者)

日本歯科大学 新潟生命歯学部 高齢者医療学 教授 道川 誠
名古屋市立大学大学院 医学研究科 腫瘍・神経生物学分野 准教授 鄒 鶴

はじめに

アルツハイマー病 (Alzheimer's disease, AD) は、高齢者に多く見られる神経変性疾患であり、脳内のアミロイド β ($A\beta$) プラークの蓄積と、神経細胞内でのリン酸化タウタンパク質の異常蓄積が特徴です。 $A\beta$ の生成はアミロイド前駆体タンパク質 (APP) の切断により行われ、 γ -セクレターゼ複合体がこの切断を担います。Presenilin (PS, PSEN) 1およびPS2は、この γ -セクレターゼ複合体の重要な構成要素として広く知られていますが、近年の研究により、Presenilinは $A\beta$ 病理に限らず、さまざまな細胞プロセスにおいても重要な役割を果たしていることが明らかになってきました。

Presenilinは、タウのリン酸化および分泌に対する影響に加え、Apolipoprotein E (ApoE) の分泌にも関与しています。ApoEは、 $A\beta$ の蓄積におけるリスク因子として知られており、PresenilinとApoEの相互作用は、 $A\beta$ 病理進行の調節に重要な役割を果たしている可能性があります。特に、ApoE4の存在は、AD発症リスクを大幅に増加させることが示されています。さらに、Presenilinはアンジオテンシン変換酵素 (ACE) による $A\beta$ 42から $A\beta$ 40への変換活性にも関与しており、この変換は $A\beta$ 蓄積の制御において重要なプロセスと考えられています。

これらの新たな発見は、Presenilinが $A\beta$ 生成に加え、細胞プロセス全体において広範な役割を果たしていることを示し、神経変性疾患におけるその機能を再評価する必要性を強調しています。Presenilinの多様な役割は、神経細胞の生存と機能維持に不可欠であり、特に $A\beta$ 病理とタウ病理の両方を調節することで、ADや他の神経変性疾患の治療ターゲットとしての可能性が示唆されています。

本研究では、Presenilin 1および2が欠損した線維芽細胞 (PS1/2^{-/-}) におけるタウのリン酸化および分泌の変化を解析し、GSK-3 β の活性化がこのプロセスに与える影響を調べました。また、 γ -セクレターゼ活性の欠損がタウ病理にどのように影響するかを評価し、 $A\beta$ 依存性ではないタウ病理の進行におけるPresenilinの役割を解明することを目指してい

ます。この研究結果は、Presenilinが多様な細胞機能に関与していることを示し、神経変性疾患の新たな治療ターゲットとしての可能性を明らかにするものです。

結 果

1. PS1/2欠損線維芽細胞におけるタウのリン酸化および分泌の増加

本研究では、Presenilin 1および2を欠損させた線維芽細胞 (PS1/2^{-/-}) において、タウタンパク質のリン酸化および分泌が野生型線維芽細胞と比較して有意に増加していることを発見しました。具体的には、Western blot解析により、PS1/2欠損細胞においてタウのリン酸化レベルが顕著に増加していることが確認されました。さらに、細胞外分泌に関しても、PS1/2欠損細胞から分泌されたタウタンパク質の量が野生型細胞に比べて大幅に増加していました (図1)。

図1

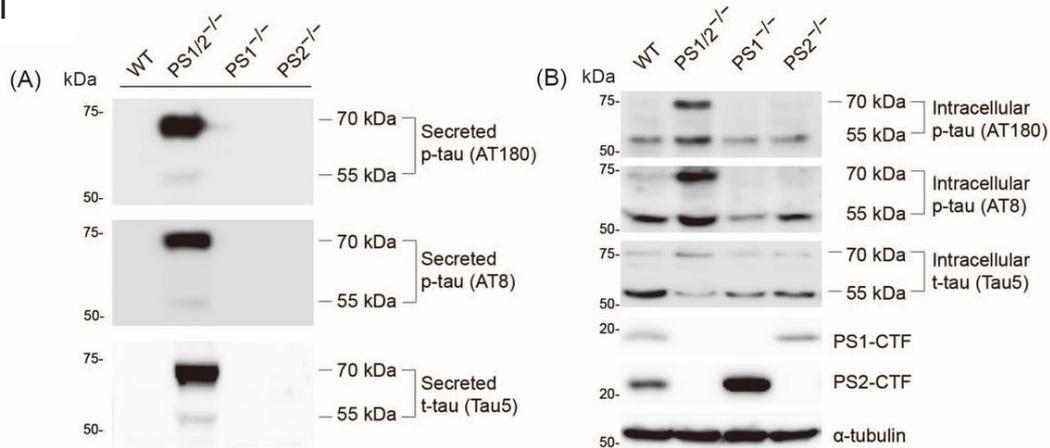


図1 (A) WT、PS1/2^{-/-}、PS1^{-/-}、PS2^{-/-}線維芽細胞から分泌されたリン酸化タウ (p-tau) および総タウ (t-tau) のウェスタンブロット解析。p-tauは抗体AT180およびAT8で、t-tauは抗体Tau5で検出された。PS1/2^{-/-}線維芽細胞では、分泌された70kDaおよび55kDaのp-tauおよびt-tauレベルが有意に増加している。

(B) WT、PS1/2^{-/-}、PS1^{-/-}、PS2^{-/-}線維芽細胞内のリン酸化タウ (AT180およびAT8) および総タウ (Tau5) のウェスタンブロット画像。

2. PS1/2欠損細胞におけるタウ陽性小胞の増加と異常な分泌

また、免疫染色によって、PS1/2欠損細胞の細胞質内におけるタウ陽性小胞の数が顕著に増加していることが観察されました。この結果は、PS1/2欠損によってタウが異常に蓄積し、細胞外への分泌が促進されることを示しており、Presenilinがタウの正常な代謝と分泌の調節に重要な役割を果たしていることを示唆しています (図2)。

図2

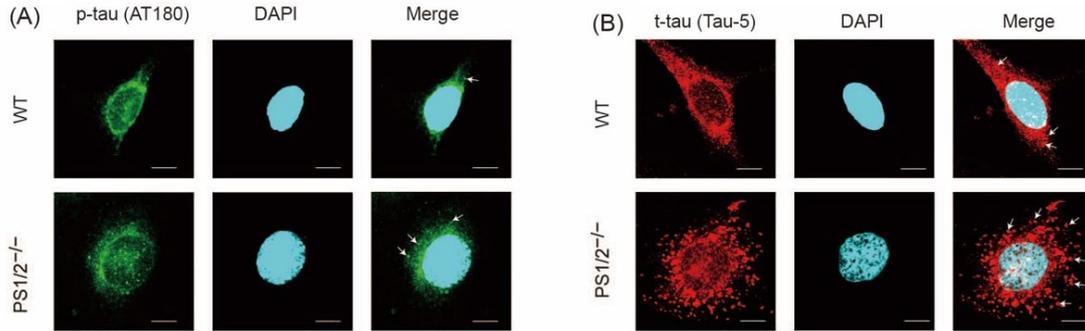


図2 (A, B) WTおよびPS1/2^{-/-}線維芽細胞におけるリン酸化タウ(p-tau, 緑)、総タウ(t-tau, 赤)、およびDAPI(青)による核染色の免疫染色。スケールバーは10 μm。白い矢印は、細胞質内のp-tauおよびt-tau陽性小胞を示している。

3. GSK-3β 活性の増加によるタウリン酸化の促進

PS1/2欠損線維芽細胞では、GSK-3βの活性化が観察され、特にp-GSK-3β (Tyr216)のレベルが増加し、不活性型GSK-3β (Ser9)のレベルが減少していました。GSK-3β阻害剤CHIR99021の処理により、PS1/2欠損細胞でのリン酸化タウ(p-tau)および総タウ(t-tau)の分泌が有意に減少しました。これらの結果は、GSK-3βの活性化がPS1/2欠損細胞におけるタウのリン酸化と分泌の増加に関与していることを示しています(図3)。

図3

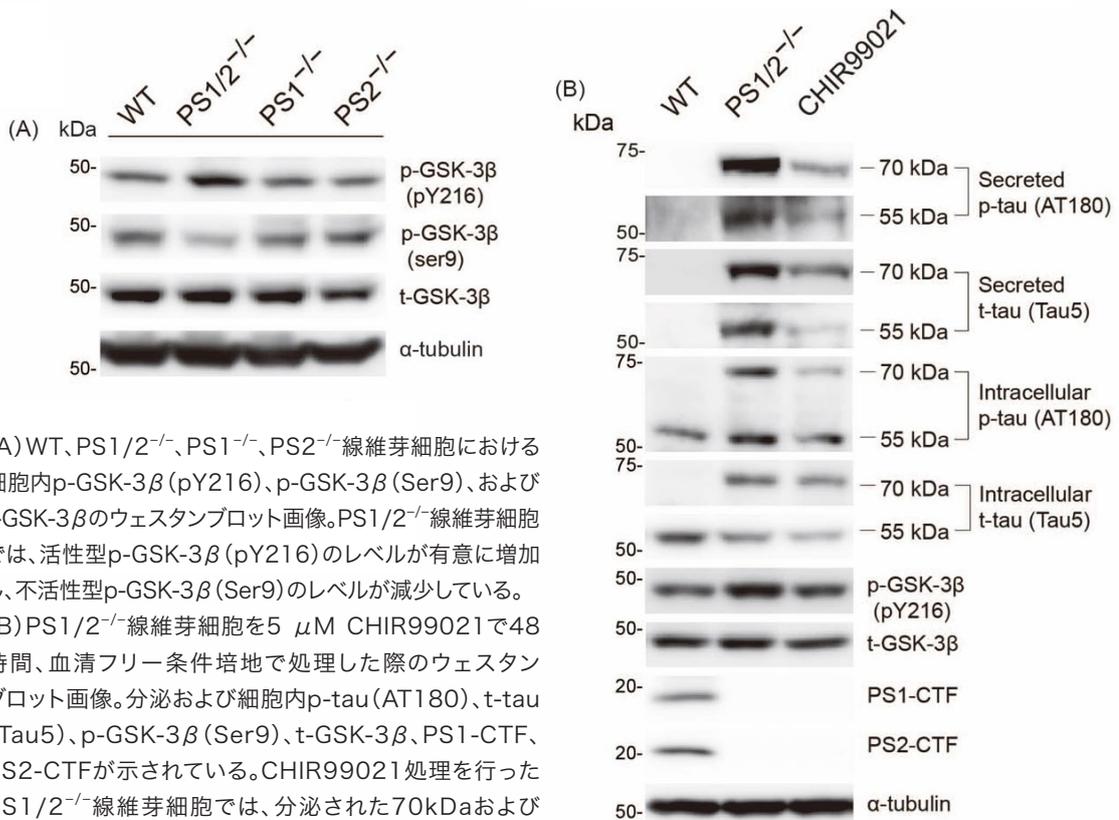


図3 (A) WT、PS1/2^{-/-}、PS1^{-/-}、PS2^{-/-}線維芽細胞における細胞内p-GSK-3β(pY216)、p-GSK-3β(Ser9)、およびt-GSK-3βのウェスタンブロット画像。PS1/2^{-/-}線維芽細胞では、活性型p-GSK-3β(pY216)のレベルが有意に増加し、不活性型p-GSK-3β(Ser9)のレベルが減少している。(B) PS1/2^{-/-}線維芽細胞を5 μM CHIR99021で48時間、血清フリー条件培地で処理した際のウェスタンブロット画像。分泌および細胞内p-tau(AT180)、t-tau(Tau5)、p-GSK-3β(Ser9)、t-GSK-3β、PS1-CTF、PS2-CTFが示されている。CHIR99021処理を行ったPS1/2^{-/-}線維芽細胞では、分泌された70kDaおよび55kDaのp-tauおよびt-tauのレベルが有意に減少した。また、細胞内の70kDa p-tauおよびt-tauレベルも有意に減少している。

考 察

本研究の結果は、Presenilinの欠損がGSK-3 β を介してタウのリン酸化および分泌を促進することを強く示唆している。PS1/2欠損線維芽細胞におけるp-GSK-3 β (Tyr216)の増加は、GSK-3 β の活性化がタウの異常なリン酸化の主要な原因であることを示している。GSK-3 β 阻害剤であるCHIR99021の処理により、リン酸化タウおよび総タウの分泌が顕著に抑制されたことから、GSK-3 β がタウ病理の進行において中心的な役割を果たしていることが確認された。

また、Presenilinがタウ病理の進行において、A β とは独立した新たな経路で機能していることを示している。これにより、Presenilinの役割がA β 生成にとどまらず、タウのリン酸化調節においても重要であることが示唆された。先行研究では、PresenilinがNotchシグナル伝達やカルシウム恒常性など多様な細胞プロセスに関与していることが明らかになっており、Presenilinの多面的な役割を理解するためのさらなる研究が必要である。

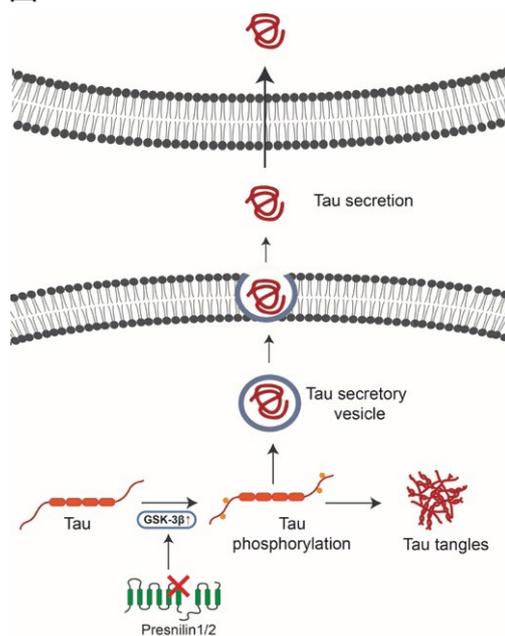
さらに、Apolipoprotein E (ApoE)やアンジオテンシン変換酵素(ACE)との相互作用も、Presenilinが神経変性疾患の進行に与える影響において重要な要素であると考えられる。本研究の結果は、PresenilinおよびGSK-3 β がアルツハイマー病の治療ターゲットとして有望であることを示しており、これらの経路を標的とした治療法の開発が期待される。

しかし、本研究にはいくつかの限界が存在する。たとえば、細胞モデルを使用しているため、in vivoでのPresenilinの役割についてはさらなる研究が必要である。また、タウの異常な分泌が神経細胞間の伝播にどのように影響を与えるかについても、今後の研究が求められる。

要 約

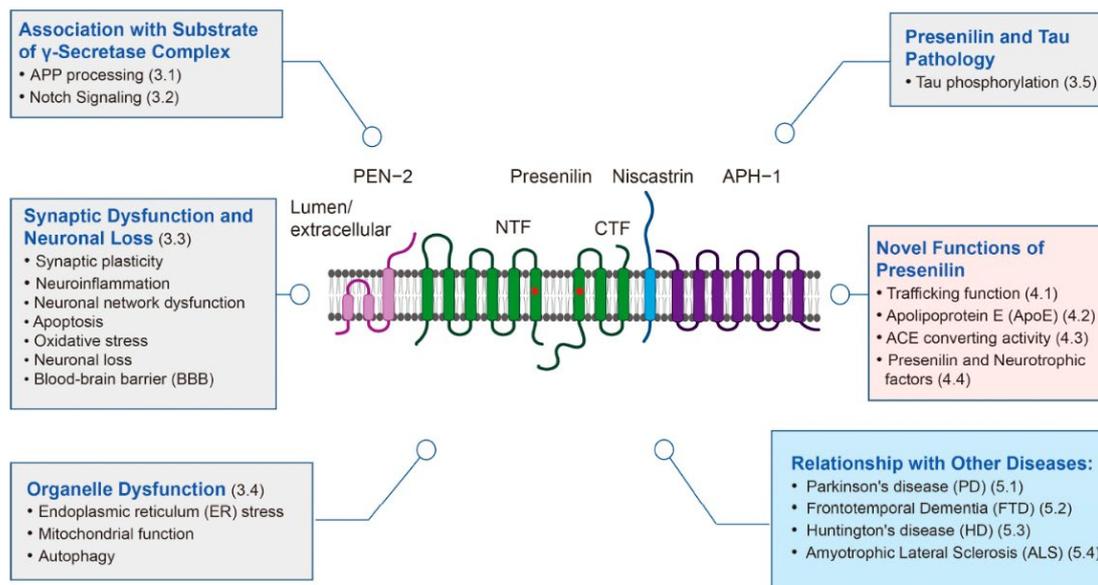
本研究では、PS1/2二重欠損(PS1/2^{-/-})線維芽細胞において、野生型線維芽細胞と比較してタウのリン酸化および分泌が有意に増加していることを明らかにしました。また、PS1/2^{-/-}細胞では活性化GSK-3 β が増加し、GSK-3 β の活性を阻害することでタウのリン酸化および分泌が減少しました。これらの結果は、Presenilin 1/2の欠損がGSK-3 β の活性化を介してタウのリン酸化と分泌を促進することを示唆しており、A β とは独立した経路でタウ病理を調節する新たなメカニズムを発見しました。Presenilinは、タウ凝集を伴う神経変性疾患の治療ターゲットとしての潜在的な可能性を示しています(図4)。

図 4



また、最近発表した論文はPresenilinがアルツハイマー病（AD）および他の神経変性疾患における多様な機能を果たしていることが強調されました。Presenilinは、APPのプロセッシングやNotchシグナル伝達に加え、Apolipoprotein E（ApoE）の分泌、ApoEとPresenilinの相互作用、およびアンジオテンシン変換酵素（ACE）によるA β 42からA β 40への変換活性など、広範な細胞プロセスに関与しています。これらの新たな発見は、PresenilinがA β 病理にとどまらず、神経変性疾患における治療ターゲットとしての潜在性を示唆しています（図5）。

図5



文 献

1. Yang Sun, Sadequl Islam, Yuan Gao, Makoto Michikawa, and Kun Zou*.
Presenilin: A Multi-Functional Molecule in the Pathogenesis of Alzheimer's Disease and Other Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*, 25 (3) :1757, 2024.
2. Sun, Y., Islam, S., Gao, Y., Nakamura, T., Tomita, T., Michikawa, M., & Zou, K.
Presenilin deficiency enhances tau phosphorylation and its secretion. *Journal of Neurochemistry*, 168, 2956–2973, 2024