

## アルツハイマー型認知症早期診断のための糖鎖マーカー測定法の確立と臨床応用の検討

谷口美也子

### ～研究概要・目的～

我々は以前よりアルツハイマー型認知症(AD)において髄液中・血液中の糖タンパクの糖鎖異常を見出しており、特に2種の糖タンパクに注目して診断マーカーとしての可能性を検討してきた。本研究助成においては、この2種の糖タンパクの糖鎖異常を検出する為の感度のよい簡易測定法を確立すること、糖鎖を解析して異常構造を明らかにすること、診断マーカーとしての有効性を検討することを目的とした。

### ～得られた研究成果～

2種の候補タンパクそれぞれについて報告する。

#### (1)トランスフェリン

##### <簡易測定法について>

トランスフェリンの糖鎖異常は、髄液中ではシアル酸の異なるアイソフォームの比が変化していることが判っている。このことから、シアル酸に結合するSSA レクチンを用いたレクチン酵素免疫測定法を用いて髄液中・血液中のトランスフェリンシアル酸量を測定することによって、AD のトランスフェリンシアル酸量の減少を検出することができていた。しかしこの手法では特に血液中のシアル酸量について、AD 群とコントロール群のオーバーラップが多く、トラ

---

鳥取大学医学部生体制御学助教

トランスフェリンシアル酸量単独での診断マーカーとしての臨床応用については、感度・特異度の観点から問題があった。この問題の解決方法の1つとして、レクチン酵素免疫法の固相化する捕獲抗体(capture 抗体)が糖鎖を持つことから捕獲抗体の糖鎖を除去することが有効であると考えた。糖鎖を除去する手段として、①糖鎖をN-グリコナーゼで処理する ②糖鎖をシアリダーゼで処理する ③糖鎖をペプシンで処理し、F(ab)部位のみを固相化する ④糖鎖を酸化処理するを試みたが、いずれも有効な測定法を確立できず、現段階でもこの問題は解決できていない。

#### <診断マーカーとしての有効性について>

現時点で測定可能な測定方法(レクチン酵素免疫測定法)によって測定した髄液中・血液中のトランスフェリンシアル酸量は、同一患者の髄液中リン酸化タウ・アミロイドβ(Aβ)いずれとも相関がなく、またリン酸化タウやAβの変化よりも先行して起こっている変化であることが示唆された。さらに臨床症状との関連を検討すると、極早期のADでもトランスフェリンシアル酸量は検出できることから、早期血液診断マーカーとしての可能性が期待された。

#### (2) 新規糖タンパク

※ 現在、特許申請済みで投稿準備中です。タンパクの固有名詞は、現時点では匿名と致します。

#### <簡易測定法について>

新規糖タンパクの糖鎖量もレクチン酵素免疫測定法にて、市販のELISA キットの検出をWGAとConAに替えて測定した。ADではいずれのレクチンに対する結合量も、髄液中・血液中で有意に減少しており、糖鎖の変化が起こっていることが判った。また、このキットの固相化された捕獲抗体も酸化処理を行ってみたが、検出感度を改善することは出来なかった。また、単独の抗体を購入してELISA測定系を確立したうえでトランスフェリンの捕獲抗体同様①～④の処理を行ってみたが、いずれも現時点で測定感度を改善することは出来なかった。

<糖鎖解析について>

血液中の新規糖タンパクを免疫沈降により精製し、糖鎖を切断して糖鎖構造解析を行った。個体差は見られるが、5検体数中3検体にN-GlcNAcの数に変化がみられ、ADではシアル酸に限らず他の糖鎖にも異常をきたしている可能性が示唆された。今後は、検体数を増やして検討すること、新規糖タンパクはヘテロ2量体であり今回はその1つしか糖鎖解析を行っていないことからもう1つのサブユニットの糖鎖も解析していく予定である。

<診断マーカーとしての有効性について>

新規糖タンパクの糖鎖量(WGA結合量、ConA結合量)は、いずれも髄液中と血液中で相関がみられ、髄液中の変化を血液で検出できる有用なマーカーとなり得ることが示唆された。また、これらの変化も髄液中のリン酸化タウ・A $\beta$ の変化よりも先行して起こっていること、極早期のADでも検出が可能であったことから、血液の早期診断マーカーとしての可能性が高い。さらに、髄液中・血液中のWGA結合量は髄液中のA $\beta$ と相関があったことから、A $\beta$ の変化と関連した変化でありかつA $\beta$ の変化よりも先行していると言える。このことは、A $\beta$ よりも上流の変化でありA $\beta$ の病態に影響を与えている指標であることが期待できる。