

# 透析アミロイドーシスの原因タンパク質が アミロイド線維形成を加速する仕組みを解明

—化学合成タンパク質により isoAsp 修飾の影響を精密に実証—

## 【研究成果のポイント】

- ◆ 透析アミロイドーシスの原因タンパク質  $\beta_2$ -ミクログロブリンに生じる**自発的な化学修飾**(isoAsp 化)が、**アミロイド線維形成を強力に促進することを世界で初めて明らかに**
- ◆ 正常な  $\beta_2$ -ミクログロブリンがどのように病原性を獲得しアミロイド化するのは十分に解明されていなかったが、isoAsp 含有  $\beta_2$ -ミクログロブリンを化学合成で作製することによって解明
- ◆ 17 番目のアスパラギン残基が isoAsp へ変化すると、既知の病原性変異体  $\Delta N6$  よりも強いアミロイド形成能を示すことを発見
- ◆ タンパク質の**非酵素的な経時変化**が**強力なアミロイド形成の引き金になり得ることを実証し**、新たな診断・治療戦略への応用に期待

## ❖ 概要

大阪大学蛋白質研究所の川上隆治さん（研究当時大学院生）、武居俊樹助教、北條裕信教授らの研究グループは、透析アミロイドーシス<sup>※1</sup>の原因タンパク質である  $\beta_2$ -ミクログロブリンに生じる**非酵素的な翻訳後修飾「iso アスパラギン酸 (isoAsp) 化<sup>※2</sup>」**が、**アミロイド線維形成を強力に促進することを世界で初めて明らかにしました。**

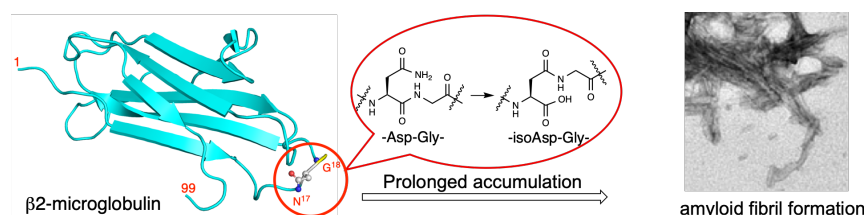


図 1

$\beta_2$ -ミクログロブリンの isoAsp 化は、迅速なアミロイド線維を引き起こす。  
(<https://doi.org/10.1002/anie.7045464>、CC-BY-NC-ND ライセンスの下で公開)

腎機能が低下した透析患者では血中に  $\beta_2$ -ミクログロブリン蓄積し、アミロイド線維を形成して組織に沈着し、透析アミロイドーシスを引き起こしますが、正常な  $\beta_2$ -ミクログロブリンがどのように病原性を獲得しアミロイド化するのは十分に解明されていませんでした。

研究グループは、化学タンパク質合成技術を用いて、**タンパク質内で経時的・自発的に発生する isoAsp 修飾を特定部位に導入した  $\beta_2$ -ミクログロブリンを作製しました。**構造解析の結果、17 番目のアスパラギン残基が isoAsp へ変換されたタンパク質は、大きく不安定化し、透析アミロイドーシスとの関連が知られている病原性変異体  $\Delta N6$ <sup>※3</sup>を上回るアミロイド形成能を示すことを発見しました。

本研究成果は、タンパク質の**経時的な構造変化**がアミロイド形成の直接的な要因となり得ることを示したものであり、透析アミロイドーシスの病態理解や新たな予防・治療法開発への貢献が期待されます。

本研究成果は、ドイツ化学誌「Angewandte Chemie International Edition」に、6月8日に公開されました。

#### 【北條裕信教授のコメント】

タンパク質中のアスパラギン残基が isoAsp へ変化する現象は古くから知られていましたが、その生物学的意義を直接検証することは困難でした。今回、化学タンパク質合成によって特殊な翻訳後修飾を精密に再現し、それがアミロイド形成を強力に促進することを初めて示すことができました。本研究は、タンパク質の「自発的な化学変化」がアミロイド病態の引き金となる分子レベルの振る舞いの理解に貢献するとともに、化学合成タンパク質の有用性を示す成果であると考えています。

#### ❖ 研究の背景

$\beta_2$ -ミクログロブリンは主要組織適合遺伝子複合体（MHC クラス I）の構成タンパク質であり、通常は腎臓で速やかに除去されます。しかし、腎機能が低下した患者では血中に蓄積し、長期透析患者では正常値の数十倍に達することがあります。その結果、 $\beta_2$ -ミクログロブリンがアミロイド線維を形成して組織に沈着し、透析アミロイドーシスを引き起こします。

これまで、N 末端 6 残基が欠失した  $\Delta$ N6 変異体がアミロイド形成を促進することが知られていましたが、患者体内で正常タンパク質が病原性を獲得する初期過程については不明な点が多く残されていました。

一方、タンパク質中のアスパラギン残基は**経時的に非酵素的変化を起こし**、Asp または isoAsp へ変換されることが知られています。 $\beta_2$ -ミクログロブリンでは 17 番目および 42 番目のアスパラギン残基が変換を受けやすいことが報告されていましたが、isoAsp を含むタンパク質は遺伝子工学的に作製できないため、その影響を直接調べることはできませんでした。

#### ❖ 研究の内容

研究グループは化学タンパク質合成技術を駆使し、17 番目または 42 番目のアスパラギン残基を Asp あるいは isoAsp に置換した 5 種類の  $\beta_2$ -ミクログロブリン変異体を合成しました。

構造解析の結果、17 番目の残基が isoAsp へ変換されるとタンパク質構造が大きく不安定化することが分かりました。また、アミロイド形成試験では、isoAsp17 を含む変異体が極めて高いアミロイド形成能を示し、その速度は病原性変異体  $\Delta$ N6 を上回りました。

さらに、isoAsp17 を含む変異体由来のアミロイド線維は正常型  $\beta_2$ -ミクログロブリンの線維形成も促進することが分かりました。これらの結果から、Asn17 の isoAsp 化が**試験管内における強力なアミロイド形成要因であることが示されました**。

#### ❖ 本研究成果が社会に与える影響（本研究成果の意義）

透析アミロイドーシスは長期透析患者の生活の質を著しく低下させる疾患であり、その**病態形成メカニズム**の解明は重要な課題となっています。

本研究は、タンパク質の**非酵素的修飾**そのものがアミロイド形成を引き起こすことを直接示した初めての例の一つです。今後は、isoAsp 形成を抑制する治療法や、isoAsp を指標とした早期診断技術の開発につながる可能性があります。

また、本研究で用いた化学タンパク質合成技術は、疾患に関連するさまざまな翻訳後修飾タンパク質の解析にも応用でき、神経変性疾患をはじめとするアミロイド関連疾患の研究進展にも貢献すると期待されます。

## ❖ 特記事項

本研究成果は、6月8日にドイツ化学誌「Angewandte Chemie International Edition」に掲載されました。

掲載誌：Angewandte Chemie International Edition

論文タイトル：Post-Translational Isoaspartate Promotes Amyloid Formation in  $\beta$ 2-Microglobulin

著者：Ryuji Kawakami, Toshiki Takei, Masatomo So, Toshifumi Takao, Yoshinori Taguchi and Hironobu Hojo

DOI：10.1002/anie.7045464

なお、本研究は、日本学術振興会科学研究費助成事業（JSPS KAKENHI Grant Number JP24K17788, JP25K00268, JP23K23464）の一環として行われ、大阪大学蛋白質研究所 高尾敏文特任教授、京都大学 大学院農学研究科 宗正智助教の協力を得て行われました。

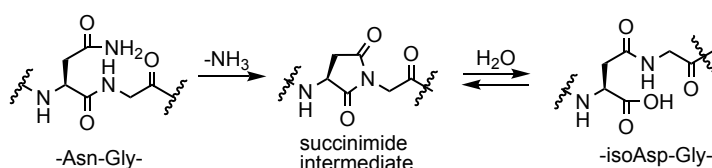
## ❖ 用語説明

### ※ 1 透析アミロイドーシス

長期透析患者において  $\beta_2$ -ミクログロブリンが体内に蓄積し、関節や骨などにアミロイドが沈着することで発症する難治性疾患。

### ※ 2 iso アスパラギン酸 (isoAsp) 化

アスパラギン残基の側鎖カルボニル基が隣接する C 末側アミノ酸残基の主鎖アミド窒素による求核攻撃を受け、スクシンイミド中間体を形成する。その後、この中間体が加水分解されることでペプチド結合の位置が側鎖側へ移り、イソアスパラギン酸 (isoAsp) が生成される現象である(次頁の図参照)。加水分解の際にアスパラギン残基の側鎖アミド基はカルボキシ基へ変換されるため、アスパラギン残基は Asp または isoAsp 残基へと変換される。



### ※ 3 病原性変異体 $\Delta$ N6

透析アミロイドーシス患者のアミロイド沈着物から見出される  $\beta_2$ -ミクログロブリン ( $\beta_2\text{m}$ ) の N 末端 6 残基欠失体である。通常型  $\beta_2\text{m}$  よりも高いアミロイド形成能を示し、病態形成への関与が示唆されている。

## ❖ 参考 URL

北條裕信教授 研究者総覧 URL

<https://rd.iai.osaka-u.ac.jp/ja/53e13c7bd4c6fbde.html>