



NewsLetter

自治医科大学 地域医療オープン・ラボ

2023
APR
特別号

アミロイド線維中間体を標的にしてアミロイドーシス治療法を模索する

生理学講座生物物理学部門の山本直樹講師、柴山修哉教授は、神戸大学、京都大学、横浜国立大学、および高輝度光科学研究センターとの共同研究において、アミロイドーシスや神経変性疾患に関わるアミロイド線維が中間体を經由して形成される様子を明らかにしました。今回、その研究成果が The Journal of Physical Chemistry B 誌に掲載されましたので、山本氏に研究の背景と意義を伺いました。

論文題目：Tracking the structural development of amyloid precursors in the insulin B chain and the inhibition effect by fibrinogen (インスリン B chain のアミロイド線維中間体における構造発達、およびフィブリノーゲンにおける阻害機構)

論文著者：Naoki Yamamoto, Rintaro Inoue, Yoshiteru Makino, Hiroshi Sekiguchi, Naoya Shibayama, Akira Naito, Masaaki Sugiyama, Eri Chatani

掲載雑誌：The Journal of Physical Chemistry B 2022, 126, 51, 10797-10812

URL:<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jpcb.2c05136>

Q1. アミロイド線維と関連する疾患について

アミロイド線維は、タンパク質が β -sheetを形成しながら線維状に規則正しく連なったタンパク質異常凝集体であり、一度形成されると壊れにくい非常に高い安定性を保持しています(図1)。その安定な構造ゆえに、臓器や組織に沈着すると機能不全を引き起こし、かつ取り除くことが困難なため、一般的に予後不良となります。例えば多発性骨髄腫では、免疫グロブリンの軽鎖が異常産生され、心臓、腎臓、目など様々な臓器に軽鎖由来のアミロイド線維が沈着して機能不全を引き起こす、AL アミロイドーシスを発症します。また、アルツハイマー病においては $A\beta$ ペプチド、パーキンソン病では α シヌクレインなども容易にアミロイド線維を形成することが知られており、これらの神経変性疾患と密接にかかわっていることが示唆されています。

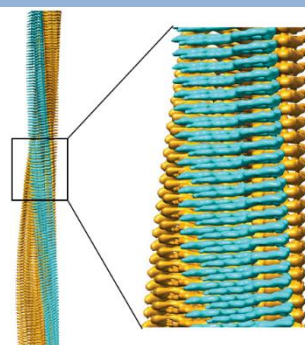


図1.アミロイド線維の一例とその拡大図(右)。タンパク質モノマーが β -sheet構造を形成し、それが線維軸上に連なった構造を形成している。Nature Communications (2019)10:5008より抜粋。

Q2. 治療法の現状について

このような疾患に対処するためには、(i)アミロイド線維形成タンパク質の発現そのものを抑制する、(ii)形成されたアミロイド線維を取り除く、あるいは(iii)アミロイド線維形成を阻害するといっ

た手法が考えられます。まず(i)の発現そのものの抑制としては、例えば前述の多発性骨髄腫の場合、シクロホスファミドなどを用いて形質細胞の増殖を阻害することが有効であり、治療の第一選択とされてきました。また、(ii)のアミロイド線維を取り除く手法としては抗体療法が着目されており、卑近なところでは、 $A\beta$ ペプチドのアミロイド線維をターゲットとしたアデュカヌマブ、およびレカネマブが米国で上市されたあるいはされつつあるのはご存じの通りだと思います。(iii)のアミロイド線維形成阻害としては、対象タンパク質の天然状態を安定化することが有効であるという考えのもと、例えばトランスサイレチン型心アミロイドーシスの場合、ビンダゲルが使用されています。ただ、いずれの治療法も正常細胞への強い毒性、過剰な抗原抗体反応による炎症の惹起、またはいずれは天然状態が不安定化してアミロイド線維が形成されるなど、それぞれ課題が残っており、副作用の少ない、より有効な治療法の開発が望まれています。そのためには、いまだ未解明のアミロイド線維形成機構を明らかにする必要があります。

Q3. モデルペプチドとしてインスリン B chain を用いた中間体の研究について

このような背景において、私たちはアミロイド線維形成のモデルとしてインスリン由来のペプチド、B chain を用いた研究を行ってきました。インスリンはA chain と B chain がジスルフィド結合で架橋されたものをモノマー単位とする6量体タンパク質ですが、ジスルフィド結合を切断することで容易にA chain と B chain に分離することができ、かつそれぞれがアミロイド線維を形成することが知られています。私たちは、B chain が大量かつ安定なアミロイド線維中間体を形成することを先行研究で見出していました(Yamamoto et al, Sci. Rep. 2018, 8, 62)。この研究をさらに発展させた形で、今回の研究では透過型電子顕微鏡(TEM)を用いて中間体がアミロイド線維になる様子の一端をとらえることができました(図2)。ラーメン状の柔軟な中間体が、直線的なアミロイド線維に変化しているのが見て取れると思います。

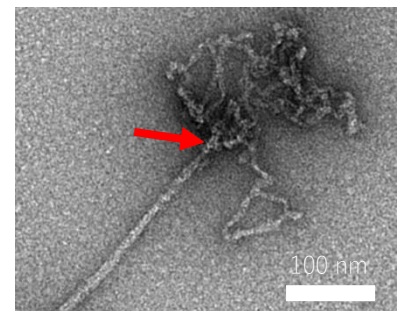


図2. ラーメン状の中間体が直線的なアミロイド線維に変化している様子のTEM画像。赤矢印が中間体が線維に変化していると思われる部分。

Q4. アミロイド線維中間体をターゲットとした治療法について

この中間体からのアミロイド線維形成を阻害する、あるいは中間体を除去することができれば、治療法の開発につながると考えられます。ひとまず前者の可能性を探るために、私たちは様々な物質を添加してアミロイド線維形成阻害の可否を調べ、中でも血漿に存在する血液凝固タンパク質、フィブリノーゲンが比較的強い阻害作用を示すことを見出していました(Yamamoto et al., Biochemistry 2019, 58, 24, 2769-2781)。今回の研究では、フィブリノーゲンが中間体の伸長を阻害することによってアミロイド線維形成を阻害する様子を、TEMをはじめとする種々の手法を用いて明らかにすることができました(図3)。この結果より、中間体からアミロイド線維が形成されるのを阻害する物質を用いることで、アミロイドーシスや神経変性疾患を治療あるいは予防できる可能性が見出されました。

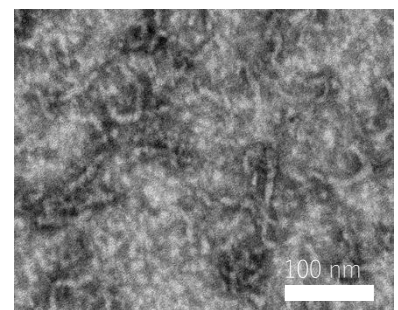


図3. フィブリノーゲンによって伸長が阻害された中間体。

Q5. 今後の研究展開について

今回の結果を踏まえると、実際の疾患においても、アミロイドーシス発症前に原因タンパク質が中間体として患部に蓄積している可能性が考えられます。そこで、疾患に関与しているタンパク質やペプチドについて、まずは試験管内で中間体の性質を明らかにし、アミロイド線維形成を阻害する手法を開発していく予定です。また、より臨床的な視点に立ち、AL アミロイドーシス患者の血液など、臨床検体で実際に中間体が形成されることを確認し、その過程をターゲットにした創薬の手法も模索していきたいと考えています。

謝辞；この研究のターニングポイントになった TEM 画像撮影に際しては、解剖学講座組織学部門の幸喜富博士に多大なるご協力を賜りました。また、分子病態治療研究センター、抗加齢医学研究部の黒尾誠教授が管理する動的光散乱測定装置を使わせていただくことにより、中間体の粒子径や形状を詳細に評価することができました。この場をお借りして感謝申し上げます。なおこのニュースレターの内容執筆にあたっては小山大輔医師（福島県立医科大学血液内科学講座）のご助言をいただきました。

【発行】

自治医科大学大学院医学研究科広報委員会
自治医科大学地域医療オープン・ラボ