



HAL
open science

Contribution of Sulfated Glycosaminoglycans to the Pathology of Amyloidosis

Kazuchika Nishitsuji, Kenji Uchimura

► **To cite this version:**

Kazuchika Nishitsuji, Kenji Uchimura. Contribution of Sulfated Glycosaminoglycans to the Pathology of Amyloidosis. trends in glycoscience and glycotecnology, 2021, trends in glycoscience and glycotecnology, 33 (196), pp.E141-E145. 10.4052/tigg.2105.1e . hal-04008678

HAL Id: hal-04008678

<https://hal.univ-lille.fr/hal-04008678>

Submitted on 28 Feb 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Contribution of Sulfated Glycosaminoglycans to the Pathology of Amyloidosis

Kazuchika Nishitsuji¹; Kenji Uchimura²

¹Department of Biochemistry, School of Medicine, Wakayama Medical University, 811-1 Kimiidera, Wakayama 641-8509, Japan

²Unité de Glycobiologie Structurale et Fonctionnelle, UMR 8576 CNRS, Université de Lille, 59655 Villeneuve d'Ascq, France

FAX: 81-73-441-0628, E-mail: nishit@wakayama-med.ac.jp

(Received date on MM DD, YYYY, accepted date on MM DD, YYYY)

Key Words: protein misfolding disease, amyloidosis, amyloid, glycosaminoglycan, heparan sulfate

Abstract

Intracellular or extracellular deposition of highly ordered fibrillar aggregates is a characteristic of protein misfolding diseases. Proteins can aggregate alone *in vitro*; however, deposits of fibrillar aggregates *in vivo* contain a number of proteinaceous and non-protein components in addition to the major protein that forms the aggregates. These components are thought to play critical roles in the pathology of protein misfolding diseases. Among these components, glycosaminoglycans (GAGs), which are heteropolysaccharides that occur in all mammalian tissues, are modified by sulfation that determines specific interactions between GAGs and their protein ligands. This review summarizes our current understanding of how sulfated GAGs contribute to the pathology of protein misfolding diseases, with a particular focus on amyloidosis.

A. Introduction

Proteins usually exist in properly folded native states that are biologically active. A single polypeptide can adopt an astronomical number of possible conformations, and the driving force for protein folding is the search for a conformation with lower free energy than the current conformation (1). When a protein fails to maintain its native conformation or when the folding process is prone to error, the protein begins to aggregate. Protein aggregation is a common feature of all proteins, and protein aggregates are even more stable than are proteins in the native state (2). Therefore, protein misfolding and protein aggregation cause a broad range of diseases called protein misfolding diseases or protein conformational diseases (3), in which insoluble protein aggregates deposit in or around organs such as the liver, spleen, and brain (4-6). More than 50 human diseases have been reportedly associated with deposition of protein aggregates (7).

Protein misfolding diseases are largely grouped into the following categories: first, conditions with neurodegenerative features in which protein aggregation occurs in the brain [e.g., polyglutamine expansion diseases including Huntington's disease and spinocerebellar ataxias; diseases with α -synuclein inclusions such as Parkinson's disease; prion diseases; and Alzheimer's disease (AD) with amyloid β (A β) deposits and tau tangles] (7, 8). The second category comprises systemic or localized amyloidoses in which intractable thread-like amyloid fibrils deposit in a single tissue or organ or multiple tissues and organs. Such protein aggregates include those of light chains of immunoglobulins in AL amyloidosis; serum amyloid protein A

(SAA) in AA amyloidosis; β_2 -microglobulin in dialysis-related amyloidosis; apolipoproteins A-I, A-II, A-IV, C-II, and C-III in systemic amyloidoses; transthyretin (TTR) in ATTR amyloidosis; and islet amyloid polypeptide in type 2 diabetes (7). In addition, tumor protein p53 (TP53, best known as p53), which is mutated in more than 50% of human cancer cases, misfolds and forms p53 aggregates in human cancer tissues and *in vitro* (9). p53 aggregates have certain characteristics of amyloid such as a cross- β structure and binding affinity for amyloidophilic dyes (10). p53 is now listed in Amyloid Nomenclature 2020 as an amyloid fibril protein (11).

B. Amyloidosis

The term "amyloid" was first introduced by Virchow in 1854 (12). Because he believed that the white waxy deposits in organs in chronic inflammatory diseases were carbohydrates, he named the deposits "amyloid," derived from the Latin *amylum* and Greek *amylon*, which mean starch. Today, the deposits are known to be proteinaceous, as Friedrich and Kekule (13) showed. Although amyloidogenic proteins do not share any sequences, nor are they structurally homologous, different types of amyloid do share certain characteristics in common, including a cross- β structure and specific binding to amyloidophilic dyes including thioflavin and Congo red (14, 15). Another common feature of *in vivo* amyloid deposits in almost all types of amyloidosis is the presence of sulfated glycosaminoglycans (GAGs). Although amyloidogenic proteins can aggregate by themselves *in vitro*, *in vivo* amyloid deposits contain many protein and non-protein components in addition to the amyloidogenic proteins. TTR fibrils that are deposited *in vivo* may be different from those that

77 are formed by the same TTR protein *in vitro* (16). Chemically
78 synthesized A β is at least 100 times less bioactive in inducing
79 cerebral amyloidosis in recipient mice compared with A β
80 aggregates derived from brains of AD model mice (17). These
81 findings clearly suggest the presence of unidentified *in vivo*
82 cofactors of amyloid deposition and propagation in addition to
83 proteins that form amyloid. Snow and colleagues reported that
84 many types of amyloid deposits in tissues contained GAGs (18-
85 21), and GAGs have now been recognized as common non-
86 protein components of amyloid deposits in systemic and
87 localized amyloidoses (reviewed in (22)).

88 C. GAGs

89 GAGs are long, linear non-branched polysaccharide chains
90 that are widely expressed in the body. Major GAGs exist as types
91 of proteoglycans in which one or more GAG chains are
92 covalently attached to a core protein. GAGs consist of repeating
93 disaccharide units and can be modified by *N*- and *O*-sulfation and
94 epimerization, which provide the structural diversity of GAG
95 chains. On the basis of the structures of the repeating disaccharide
96 units, GAGs can be divided into several classes including
97 hyaluronic acid; heparan sulfate (HS) and heparin; chondroitin
98 sulfate and dermatan sulfate; and keratan sulfate. The structural
99 diversity of GAGs is quite important for the specific type of
100 binding of GAGs and its protein ligands, because protein ligands
101 bind to GAGs via electrostatic interactions between the positive
102 charges of the residues of the ligands and the negative charges of
103 the sulfate and carboxyl groups of the GAG chains. Thus, that
104 disease-associated aggregate-prone proteins such as A β , tau, and
105 prion contain similar cationic motifs that may be involved in
106 binding to the negative charges of GAGs is noteworthy (23-25).
107 Although amyloidogenic proteins do not share any obvious
108 structural or sequence homologies, a GAG-binding property may
109 be a feature common to all amyloidogenic proteins.

110 C-1. GAGs as Cofactors of Protein Aggregation 111 and Amyloid Formation

112 Proteins can aggregate by themselves *in vitro*. In addition to
113 an aging-related decrease in the protein quality control system
114 that may trigger protein aggregation in sporadic amyloidoses (26),
115 several extrinsic factors including high protein concentrations,
116 elevated temperature, and amino acid substitutions can enhance
117 the aggregation tendency of proteins. Components of *in vivo*
118 amyloid deposits are also thought to be crucial for protein
119 aggregation. Among GAGs, HS and heparin, which is a structural
120 analogue of highly sulfated domains of HS (HS S-domains),
121 reportedly facilitate amyloid formation by various
122 amyloidogenic proteins associated with neuropathic and non-
123 neuropathic amyloidoses (22, 27). For a protein to aggregate, it
124 must be at least partially unfolded. HS and heparin can accelerate
125 the conformational conversion of a protein from its native state
126 to an unfolded and amyloidogenic monomer (28). HS and
127 heparin also act as a scaffold for aggregation by increasing the
128 local protein concentration and changing the conformation or
129 orientation of protein molecules (29). As expected from the fact
130 that the patterns and degrees of sulfation modification of GAGs
131 are critical for specific interactions of GAGs and their protein

132 ligands, sulfation modification is a critical determinant of the
133 enhancement of protein aggregation by GAGs. Sulfated moieties
134 of GAGs including HS and heparin reportedly promote amyloid
135 aggregation and deposition by electrostatically interacting with
136 amyloidogenic proteins and peptides including A β , TTR, SAA,
137 immunoglobulin light chain, mutant apolipoprotein A-I, and
138 PrP^C (30-37).

139 C-2. GAGs as Cell Surface Receptors for Protein 140 Aggregates

141 GAGs at the cell surface may act as receptors for protein
142 aggregates that cells can then internalize. For example, HS is a
143 primary receptor for PrP^{Sc} at the cell surface (38-41) and is
144 essential for conversion of PrP^C to its pathogenic form PrP^{Sc} after
145 PrP^C internalization. We previously showed that HS at the cell
146 surface mediated cellular uptake of A β , TTR fibrils, and tumor
147 suppressor p53 fibrils (35, 42-44); this finding supports cell-
148 surface GAGs, especially HS, serving as common receptors for
149 protein aggregates. The fates of internalized amyloidogenic
150 proteins or aggregates depend on the types of cells that are
151 involved and the types of protein aggregates. HS may mediate
152 the cytotoxicity of protein aggregates (35, 43, 45), cellular
153 degradation (42), and propagation of aggregates (44, 46).

154 D. HS S-domains and the Extracellular Sulfatases 155 Sulfs

156 The highly sulfated domains of HS, *i.e.*, the HS S-domains
157 mentioned above, consist of clusters of a trisulfated disaccharide,
158 [-IdoA(2-OSO₃)-GlcNSO₃(6-OSO₃)-], and are a selective
159 docking site for specific interactions between HS and its ligands
160 (47, 48). A unique characteristic of these HS S-domains is post-
161 synthetic degradation by the extracellular endosulfatases Sulf-1
162 and Sulf-2. Unlike other intracellular sulfatases, Sulf-1 and Sulf-
163 2 catalyze selective 6-*O*-desulfation of HS S-domains on the cell
164 surface (49). Thus, HS S-domains are GAG subdomains that can
165 be selectively and post-synthetically modified at cell surfaces.
166 These Sulfs have now been well established as regulating many
167 signaling pathways of growth factors (47, 50-55). In the next
168 section, we discuss the roles of HS S-domains in amyloidosis
169 based on our current findings.

170 D-1. HS S-domains and Amyloidosis

171 By using the phage-derived antibody that specifically
172 recognizes HS S-domains (56), we demonstrated that HS S-
173 domains accumulated in tissue amyloid deposits of patients with
174 AD or ATTR amyloidosis (35, 57). We also showed that
175 enhancement of TTR aggregation by HS required HS S-domains,
176 which strongly suggested that HS S-domains serve as scaffolding
177 for TTR aggregation. By using Chinese hamster ovary cells
178 whose HS S-domains were eliminated by means of the stable
179 expression of human Sulf-2 (58), we also showed that HS S-
180 domains mediated the cytotoxicity of protein aggregates by
181 acting as docking sites for protein aggregates and HS (35, 43).
182 p53 mutant cancers have been reported as constituting a novel
183 class of protein misfolding diseases (11), and p53 aggregates are
184 thought to propagate from one cell to neighboring cells, as other

185 protein aggregates do (26). We recently demonstrated that HS S-
 186 domains are a component of p53 amyloid deposits in p53 mutant
 187 ovarian cancer (44). We also showed that release of p53 fibrils
 188 by p53 mutant cancer cells depended on cell GAGs. HS S-
 189 domain-mediated cellular uptake of cancer cell-derived p53
 190 fibrils was required for subsequent release of the fibrils. The p53
 191 fibrils taken up by the cells disrupted the apoptotic function of
 192 wild-type p53 in recipient cells. Our findings thus suggest an
 193 important role of HS S-domains as a mediator of amyloidosis
 194 pathology (Fig. 1). These results also suggest that enzymatic
 195 remodeling of HS S-domains by Sulfs is a potential strategy for
 196 targeting multiple processes related to amyloidosis including
 197 formation, cytotoxicity, and prion-like behavior of protein
 198 aggregates (46, 59).

199 E. Concluding Remarks

200 In this paper, we reviewed recent our current understanding
 201 of the involvement of GAGs in protein misfolding diseases. GAG
 202 synthesis and modification are strictly regulated in each tissue
 203 and organ. Analysis of the expression profiles of the enzymes that
 204 are involved in the synthesis and extracellular remodeling of
 205 GAGs in protein misfolding diseases constitutes a future
 206 challenge. Because the locations of GAGs in tissues and organs
 207 depend on core proteins, identification of the core proteins of
 208 proteoglycans in various amyloid deposits is also necessary.

209 F. Acknowledgment

210 We would like to thank our collaborators, Dr. Yukio Ando
 211 at Nagasaki International University, Dr. Taro Yamashita at
 212 Kumamoto University, Dr. Mineyuki Mizuguchi at the
 213 University of Toyama, Dr. Hiroyuki Saito at Kyoto
 214 Pharmaceutical University, Dr. Toshinori Shimanouchi at
 215 Okayama University, and Drs. Midori Ikezaki, Naoyuki Iwahashi
 216 and Kazuhiko Ino at Wakayama Medical University. We also
 217 thank Dr. Shuji Mizumoto for providing us an opportunity to
 218 write this review. K.N. would like to thank Dr. Yoshito Ihara for
 219 his continuous encouragement. This work was partially
 220 supported by Grants-in-Aid from the Ministry of Education,
 221 Culture, Sports, Science and Technology / Japan Society for the
 222 Promotion of Science (15K19488, 17K16123, and 20K09605 to
 223 K.N.) and a grant from the Mizutani Foundation (210084 to
 224 K.U.).

225 References

226 1. Hartl, F.U. (2017) *Annu Rev Biochem* **86**,21-26
 227 2. Dobson, C.M. (1999) *Trends Biochem Sci* **24**,329-332
 228 3. Dobson, C.M. (2003) *Nature* **426**,884-890
 229 4. Tan, S.Y. and M.B. Pepys (1994) *Histopathology* **25**,403-414
 230 5. Kelly, J.W. (1998) *Curr Opin Struct Biol* **8**,101-106
 231 6. Lansbury, P.T., Jr. (1999) *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**,3342-3344
 232 7. Chiti, F. and C.M. Dobson (2006) *Annu Rev Biochem* **75**,333-366

233 8. Perutz, M.F. (1999) *Trends Biochem Sci* **24**,58-63
 234 9. Silva, J.L., et al. (2014) *Trends Biochem Sci* **39**,260-267
 235 10. Navalkar, A., et al. (2020) *Biochemistry* **59**,146-155
 236 11. Benson, M.D., et al. (2020) *Amyloid* **27**,217-222
 237 12. Virchow, R. (1854) *Virchows Arch Pathol Anat Physiol* **6**,416-426
 238 13. Friedrich, N. and A. Kekule (1859) *Virchows Arch Pathol Anat*
 239 *Physiol.* **16**,50-65
 240 14. Eanes, E.D. and G.G. Glenner (1968) *J Histochem Cytochem*
 241 **16**,673-677
 242 15. Astbury, W.T., et al. (1935) *Biochem J* **29**,2351-2360
 243 16. Schmidt, M., et al. (2019) *Nat Commun* **10**,5008
 244 17. Stohr, J., et al. (2012) *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**,11025-11030
 245 18. Snow, A.D. and R. Kisilevsky (1985) *Lab Invest* **53**,37-44
 246 19. Snow, A.D., et al. (1987) *Lab Invest* **56**,665-675
 247 20. Snow, A.D., et al. (1987) *Lab Invest* **56**,120-123
 248 21. Snow, A.D., et al. (1987) *Hum Pathol* **18**,506-510
 249 22. Nishitsuji, K. and K. Uchimura (2017) *Glycoconj J* **34**,453-466
 250 23. McLaurin, J. and P.E. Fraser (2000) *Eur J Biochem* **267**,6353-6361
 251 24. Lindahl, U. and L. Kjellen (2013) *J Intern Med* **273**,555-571
 252 25. Dudas, B. and K. Semeniken (2012) *Handb Exp Pharmacol* **325**-
 253 **343**
 254 26. Vaquer-Alicea, J. and M.I. Diamond (2019) *Annu Rev Biochem*
 255 **88**,785-810
 256 27. Nishitsuji, K. (2018) *Glycoconjugate Journal* **35**,387-396
 257 28. Motamedi-Shad, N., et al. (2009) *J Biol Chem* **284**,29921-29934
 258 29. Motamedi-Shad, N., et al. (2009) *J Biochem* **146**,805-814
 259 30. Takase, H., et al. (2016) *Amyloid* **23**,67-75
 260 31. Aguilera, J.J., et al. (2014) *Biochimie* **104**,70-80
 261 32. Valle-Delgado, J.J., et al. (2010) *Faseb j* **24**,4250-4261
 262 33. Ren, R., et al. (2010) *J Biol Chem* **285**,37672-37682
 263 34. Lawson, V.A., et al. (2010) *PLoS One* **5**,e12351
 264 35. Kameyama, H., et al. (2019) *Am J Pathol* **189**,308-319
 265 36. Castillo, G.M., et al. (1999) *J Neurochem* **72**,1681-1687
 266 37. Mikawa, S., et al. (2016) *FEBS Lett* **590**,3492-3500
 267 38. Horonchik, L., et al. (2005) *J Biol Chem* **280**,17062-17067
 268 39. Hijazi, N., et al. (2005) *J Biol Chem* **280**,17057-17061
 269 40. Shyng, S.L., et al. (1995) *J Biol Chem* **270**,30221-30229
 270 41. Hooper, N.M. (2011) *J Neurochem* **116**,721-725
 271 42. Nishitsuji, K., et al. (2011) *J Biol Chem* **286**,6393-6401
 272 43. Kuwabara, K., et al. (2015) *J Biol Chem* **290**,24210-24221
 273 44. Iwahashi, N., et al. (2020) *Proc Natl Acad Sci U S A* **117**,33225-
 274 **33234**
 275 45. Sandwall, E., et al. (2010) *Glycobiology* **20**,533-541
 276 46. Iwahashi, N., et al. (2021) *Mol Cell Oncol* **8**,1892444
 277 47. Rosen, S.D. and H. Lemjabbar-Alaoui (2010) *Expert Opin Ther*
 278 *Targets* **14**,935-949
 279 48. Bishop, J.R., et al. (2007) *Nature* **446**,1030-1037
 280 49. Morimoto-Tomita, M., et al. (2002) *J Biol Chem* **277**,49175-49185
 281 50. Dhoot, G.K., et al. (2001) *Science* **293**,1663-1666
 282 51. Ai, X., et al. (2003) *J Cell Biol* **162**,341-351
 283 52. Viviano, B.L., et al. (2004) *J Biol Chem* **279**,5604-5611
 284 53. Lai, J.P., et al. (2008) *Hepatology* **47**,1211-1222
 285 54. Phillips, J.J., et al. (2012) *J Clin Invest* **122**,911-922
 286 55. Hammond, E., et al. (2014) *Front Oncol* **4**,195
 287 56. Dennissen, M.A., et al. (2002) *J Biol Chem* **277**,10982-10986
 288 57. Hosono-Fukao, T., et al. (2012) *Am J Pathol* **180**,2056-2067
 289 58. Hossain, M.M., et al. (2010) *Glycobiology* **20**,175-186
 290 59. Nishitsuji, K., et al. (2016) *Neural Regen Res* **11**,408-409
 291 60. Kameyama, H., et al. (2016) *Sci Rep* **6**,30391

293

Information of the Authors



894 **Kazuchika Nishitsuji** : Associate Professor at the Department of Biochemistry, Wakayama Medical
895 University. He graduated from Kyoto University (in 2001), and completed his Master's degree (in 2004)
896 under the supervision of Prof. Tetsuro Handa. He received his Ph.D. degree in medicine from Osaka
897 City University under the supervision of Prof. Hiroshi Mori at the Department of Neuroscience (in 2008).
898 He performed his postdoctoral training at the Department of Alzheimer's Disease Research, National
899 Center for Geriatrics and Gerontology under direction of Dr. Makoto Michikawa (2008 – 2011). He
900 became Assistant Professor at the Department of Molecular Pathology (2013-2017) and then at the
901 Department of Pathology and Laboratory Medicine (2018) at Tokushima University.

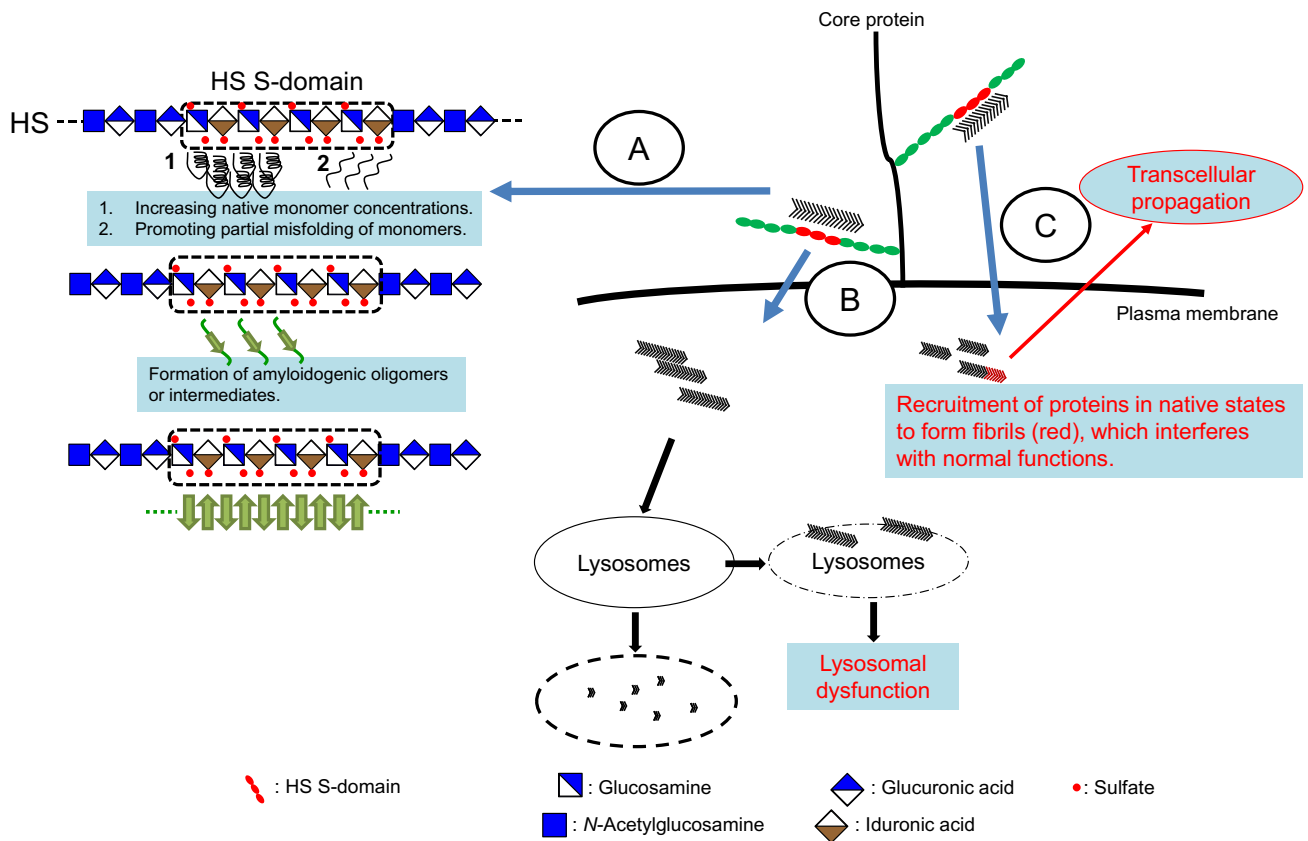
902

903



904 **Kenji Uchimura** : Research Director CNRS at the Unit of Glycobiology Structure and Functions,
905 University of Lille, France. He received his Ph.D. degree in medical science from Nagoya University
906 Graduate School of Medicine in 1999 (Prof. Takashi Muramatsu). He was a JSPS research fellow at
907 Nagoya University (1999 – 2001) and then a postdoctoral fellow at Department of Anatomy, University
908 California San Francisco (supervised by Prof. Steven D. Rosen, 2001- 2006). He became a section chief
909 at Department of Alzheimer's Disease Research, National Center for Geriatrics and Gerontology (2006-
910 2011) and then research associate professor at Nagoya University Graduate School of Medicine (Prof.
911 Kenji Kadomatsu, 2011-2018). His research interest is structure and functions of sulfated glycans in
912 inflammation and neurodegeneration.

913



314

315 **Fig. 1. Functional implications of HS S-domains in the pathology of amyloidosis.** HS S-domains cause an increase in local concentrations of
 316 native monomers and/or facilitate partial misfolding and formation of amyloidogenic monomers, thereby acting as scaffolds for aggregation (A). If
 317 native monomers do not interact with HS S-domains, these domains can enhance fibril formation by interacting with amyloidogenic oligomers and
 318 intermediates (35). HS S-domains act as receptors for protein aggregates (B, C). The fates of the internalized protein aggregates and recipient cells
 319 will depend on the types of amyloids and types of cells. Amyloid fibrils can be toxic to cells (B). For example, after being internalized by cells,
 320 protein aggregates may be degraded by lysosomes or may overwhelm lysosomes, which eventually leads to lysosomal dysfunction (43, 60). Cancer
 321 cells release p53 aggregates in a sulfated GAG-dependent manner (C). Recipient cells take up p53 aggregates via the HS S-domains, and p53
 322 aggregates may be re-released to propagate or may interfere with the functions of wild-type p53, possibly by recruiting wild-type p53 proteins (44,
 323 46).

324

325

アミロイドーシス病態における硫酸化グリコサミノグリカン糖鎖の役割

西辻和親¹; 内村健治²

¹和歌山県立医科大学医学部生化学講座 〒641-8509、和歌山県和歌山市

²リール大学糖鎖生物学構造機能研究所 仏国立科学研究センターユニット 8576 59655 ヴィルヌーブダスク、フランス

FAX: 81-73-441-0628, E-mail: nishit@wakayama-med.ac.jp

(受付日: ●●年●●月●●日, 受理日: ●●年●●月●●日)

キーワード: タンパク質ミスフォールディング病; アミロイドーシス; アミロイド; グリコサミノグリカン; ヘパラン硫酸

要約

タンパク質ミスフォールディング病では規則的な線維状構造を持つタンパク質凝集体が細胞内外に沈着する。タンパク質は試験管内において単独で凝集可能であるが、生体における線維状凝集体の沈着物はタンパク質凝集体そのものに加え、様々なタンパク質性あるいは非タンパク質性の構成物を含有する。このような非タンパク質性の構成物はタンパク質ミスフォールディング病の病態に深く関与する。グリコサミノグリカン (GAG) は非タンパク質性の構成物の一つとして観察される。GAG は哺乳類におけるほぼ全ての臓器で認められるヘテロ多糖である。GAG は硫酸化修飾を受け、その度合いやパターンが GAG-タンパク質リガンド間の相互作用における特異性の決定因子となる。本総説では、タンパク質ミスフォールディング病の最も多い形態であるアミロイドーシス病態に硫酸化 GAG 糖鎖がどのように関与するのかについて、最近の知見に基づき概説する。

A. はじめに

タンパク質は通常、正常に折り畳まれた生物学的に活性である構造を形成している。一つのポリペプチド鎖がとることのできる構造は天文学的な数であるが、タンパク質の正常な折り畳み (フォールディング) の駆動力はより自由エネルギーの低い構造の探求である (1)。タンパク質が天然構造を維持することができない、あるいはフォールディングがうまくできない場合、タンパク質が凝集を始めることになる。タンパク質の凝集能は全てのタンパク質に共通した性質であり (2)、タンパク質凝集体は天然構造よりもエネルギー的に安定にもなり得る (3)。従って、タンパク質のミスフォールディングやそれに伴う凝集は、脳、肝臓、脾臓といった様々な臓器に不溶性の凝集体が沈着するタンパク質ミスフォールディング病あるいはコンフォメーション病と呼ばれる多くの疾患の原因となる (4-6)。現在では 50 を超える疾患がタンパク質凝集体の異常な沈着を伴うことが分かっている (7)。

タンパク質ミスフォールディング病は大きく 3 つに分類できる。すなわち、タンパク質凝集体が脳に沈着する神経変性を伴う病態 (ハンチントン病などのポリグルタミン病、 α -シヌクレインが細胞質内封入体として蓄積するパーキンソン病、筋萎縮性側索硬化症、アルツハイマー病など)、全身諸臓器にアミロイドが沈着する全身性アミロイドーシス (AL アミロイドーシス, AA アミロイドーシス, トランスサイレチン (TTR) 関連アミロイドーシス, 透析アミロ

イドーシスなど)、特定の臓器にのみ沈着が見られる限局性アミロイドーシス (内分泌性アミロイドーシスなど) である (7)。これに加え、近年、がん抑制遺伝子 *TP53* 産物である *p53* が試験管内やヒトのある種の癌で凝集体を形成していることが分かってきた (8)。このような *p53* 凝集体はクロス β 構造やアミロイド結合性化合物への親和性など他のアミロイドと共通する性質を示しており (9)、国際アミロイドーシス学会による Amyloid Nomenclature 2020 でもアミロイド形成タンパク質の一つとして触れられている (10)。

B. アミロイドーシス

アミロイドーシスはクロス β 構造と呼ばれる特徴的な構造をとるアミロイド線維が種々の臓器に沈着することにより機能障害を引き起こす疾患群であり、ドイツの病理学者 Virchow により提唱された (11)。Virchow はアミロイドーシスの組織標本がヨード染色により紫色に染まることを発見した。そこで Virchow はこのような組織沈着物が多糖体であると考え、デンブンを意味するラテン語 “*amylum*” やギリシャ語 “*amylon*” からこれらを「デンブン様物質」すなわち「アミロイド (amyloid)」と命名した。その後の研究により、アミロイドの主成分はタンパク質がナイロン様に重合して線維を形成したものであることが分かっている (12)。アミロイドーシスの確定診断は生検によるものであり、病理学的にはアミロイドはコンゴレッド染色で橙赤色に染まり、偏光顕微鏡下で緑色に強く輝く複屈折を呈する物質と定義される。

395 アミロイド形成タンパク質間では特定のアミノ酸配列
396 や構造を共有することはないが、形成されたアミロイドは
397 前述のようにクロスβ構造、チオフラビンやコンゴレッド
398 などの色素への親和性といった共通する性質を有する (12,
399 13)。特筆すべきは硫酸化グリコサミノグリカン (GAG)
400 が生体におけるほぼ全てのアミロイド沈着物に共通する構
401 成成分であることである。興味深いことに、例えば試験管
402 内で形成された TTR 線維と生体内で沈着する TTR 線維は
403 異なる構造を持っていること (14)、AD モデルマウス脳か
404 ら抽出した Aβ 沈着物は合成 Aβ ペプチドのみで形成した
405 線維に比べ、マウス脳に注入した場合の脳アミロイドーシ
406 ス誘導能はるかに高いこと (15)が報告されている。これ
407 らは生体内でアミロイドの形成、沈着、伝播等に未知の補
408 助因子が存在することを強く示唆している。1980 年代に
409 Snow らが様々なアミロイド沈着物が GAG を含むことを報
410 告して以来 (16-19)、現在では GAG は全身性、限局性のア
411 ミロイドーシスにおけるアミロイド沈着物の非タンパク質
412 成分であることが広く認識されている (20, 21)。

413 C. グリコサミノグリカン (GAG)

414 GAG は全身の組織や臓器で発現が認められる直鎖状
415 の多糖であり、主にコアタンパク質と共有結合したプロテ
416 オグリカン型として存在している。GAG はエピマー化、N
417 位やO位の硫酸化といった修飾を受けた二糖繰返し単位か
418 ら成るが、その構造によりヒアルロン酸、ヘパリン/ヘパ
419 ラン硫酸 (HS)、コンドロイチン硫酸/デルマトン硫酸、
420 ケラタン硫酸に分類される。GAG とタンパク質リガンド
421 間の特異的な相互作用には GAG 糖鎖の硫酸基やカルボキ
422 シ基の負電荷とタンパク質リガンド側の正電荷による静電
423 的相互作用の寄与が大きい。GAG 構造の多様性はプロ
424 テオグリカンの生物機能の決定に重要である。興味深い
425 ことに、Aβ、タウタンパク質、プリオンタンパク質とい
426 ったタンパク質ミスフォールディング病に関連する凝集タ
427 ンパク質は GAG との相互作用に関与すると考えられるカ
428 チオン性モチーフを含む (23-25)。従って、アミロイド形
429 成タンパク質は構造や配列において相同性を有することは
430 ないが、GAG 親和性を共通の性質とする可能性がある。

431 C-1. タンパク質凝集とアミロイド形成の促進因子 432 としての GAG

433 加齢に伴うタンパク質品質管理システム機能の低下は
434 孤発性アミロイドーシスの発症の原因の一つであるが (26)、
435 アミロイド形成タンパク質の濃度上昇、高温、アミノ酸置
436 換といった様々な外的要因もタンパク質の凝集を促すこと
437 が知られている。生体内のアミロイド沈着物は脂質、核酸、
438 GAG などの非タンパク質性の構成成分を含むが、このよ
439 うな生体分子は上記の外的要因に加え、生体内におけるタ
440 ンパク質の凝集に大きく影響すると考えられる。GAG の
441 中でも HS と HS 多硫酸化ドメイン (HS S-ドメイン) の構
442 造アナログであるヘパリンは様々なアミロイドーシスにお

443 けるアミロイド形成タンパク質の凝集、例えば、Aβ やタ
444 ウ、PrP^C、血清アミロイド A 蛋白 (SAA、AA アミロイド
445 ーシス)、アミリン (II 型糖尿病関連アミロイドーシス)、
446 免疫グロブリン L 鎖 (AL アミロイドーシス)、β₂ミクロ
447 グロブリン (透析アミロイドーシス)、TTR 関連アミロイ
448 ドーシス等の凝集体/アミロイド形成を促進することが報
449 告されている (21, 22)。凝集するためにはタンパク質は少
450 なくとも部分的にアンフォールドされなければならない。
451 HS/ヘパリンはタンパク質の天然状態からアンフォールド
452 されたアミロイド形成性が亢進した状態への変換を促進す
453 ることができる (27)。また、HS/ヘパリンはアミロイド形
454 成タンパク質の局所濃度や構造、配向性を変えることによ
455 り凝集の際の足場として働く可能性も示唆されている (28)。
456 GAG 糖鎖の硫酸化修飾の度合いやパターンがタンパク質
457 リガンドとの特異性の決定に重要であることから予想さ
458 れるように、硫酸化修飾は GAG のタンパク質凝集促進能
459 にも重要である。HS/ヘパリンなどの GAG は静電的相互作
460 用を通して多くのアミロイド形成タンパク質、例えば、
461 Aβ、TTR、SAA、免疫グロブリン軽鎖、変異型アポリポ
462 タンパク質 A1、PrP^C などのアミロイド形成や沈着を促進
463 する (29-36)。

464 C-2. タンパク質凝集体の受容体としての GAG

465 細胞表面の GAG はタンパク質凝集体が細胞に取り込
466 まれる際の受容体として機能する。例えば、HS は PrP^{Sc} の
467 細胞表面における主要な受容体であり (37-40)、従って取
468 り込まれた後の PrP^C から PrP^{Sc} への変換に重要である。
469 我々は HS が Aβ、TTR 線維、アポリポタンパク質 A1 線
470 維、p53 線維の受容体として機能することを示してきたが
471 (34, 41-43)、これは細胞表面の GAG、特に HS が様々なタ
472 ンパク質凝集体に共通する受容体である可能性を示唆して
473 いる。アミロイド形成タンパク質やそれらの凝集体が取り
474 込まれた後どうなるのかは凝集体の種類や取り込んだ細胞
475 の種類に依存する。HS はタンパク質凝集体の細胞毒性を
476 仲介することもあるが (34, 42, 44)、アストロサイトに取り
477 込まれた場合、ライソゾームを介した分解が促進されるこ
478 ともある (41)。あるいは後述するように、HS を介した細
479 胞による取り込みは p53 タンパク質凝集体の伝播に必要で
480 ある (43, 45)。

481 D. HS S-ドメインと細胞外スルファターゼ Sulf

482 HS S-ドメインは HS 糖鎖内で形成される多硫酸化され
483 たドメインであり、2、6、N 位が硫酸化された二糖繰返し
484 単位[-IdoA(2-OSO₃)-GlcNSO₃(6-OSO₃)-]で構成される。HS
485 S-ドメインは HS とリガンド間の特異的なドッキング部位
486 の一つである (46, 47)。HS S-ドメインの特徴の一つとして、
487 細胞外エンドスルファターゼ Sulf により生合成後に分解を
488 受けることが挙げられる。他の細胞内スルファターゼと異
489 なり、Sulf は HS S-ドメインの 6 位を細胞外において選択
490 的に脱硫酸化する (48)。従って HS S-ドメインは、生合成

491 後細胞外において更に修飾を受ける非常に珍しい特徴を保
492 持した GAG サブドメインと言える。現在、Sulf が HS S-ド
493 メインの脱硫酸化を介して多くの成長因子のシグナル伝達
494 を制御することが明らかにされている(46, 49-54)。本項で
495 は、HS S-ドメインのアミロイドーシス病態における役割
496 について我々の最近の知見に基づき紹介する。

497 D-1. HS S-ドメインとアミロイドーシス

498 オランダの研究グループが報告した HS S-ドメインを
499 特異的に認識するファージディスプレイ本鎖抗体を用い
500 ることにより (55)、培養細胞のみならず、マウス組織やヒ
501 ト病理検体における HS S-ドメインの発現解析が可能とな
502 った。我々はファージディスプレイ抗 HS S-ドメイン抗体
503 を用い、AD 患者脳や AD モデルマウス脳、遺伝性 TTR ア
504 ミロイドーシス患者人組織において HS S-ドメインがアミ
505 ロイドと共に沈着していることを報告した (34, 56)。これ
506 を基に、我々は HS/ヘパリンによる TTR の凝集促進には
507 HS S-ドメインが足場として働くことが必要であることを
508 見出した (34)。また、我々は以前、ヒト Sulf-2 を安定発現
509 させることによりチャイニーズハムスター卵巣細胞におい
510 て HS S-ドメインを選択的に減少させることに成功した
511 (57)。この細胞を用い、我々は変異型アポリポタンパク質
512 A1 や TTR の凝集体は細胞表面の HS S-ドメインを介して
513 細胞に取り込まれることにより毒性を発揮することを報告
514 した (34, 42)。

515 近年、p53 が神経変性疾患で見られるようなアミロイ
516 ド様凝集体を形成することが報告され、国際アミロイドー
517 シス学会によるアミロイド命名法においても言及された
518 (10)。このような p53 凝集体は異常型プリオンタンパク質
519 等と同様に細胞間を伝播すると考えられるが (26)、そこに
520 どのような分子が介在するかは不明である。我々は最近、
521 HS S-ドメインが p53 変異型卵巣癌における細胞外 p53 沈
522 着物に含まれていることを報告した (43)。さらに、R248W
523 変異型 p53 や R280K 変異型 p53 を発現している癌細胞株
524 が GAG 依存的に p53 凝集体を細胞外に放出することも分
525 かった。興味深いことに、神経細胞による病原性タウの放
526 出も GAG 依存的であることが報告されている (58)。癌細
527 胞から細胞外に放出された p53 凝集体は近傍の細胞に HS
528 S-ドメイン依存的に取り込まれた後、取り込んだ細胞から
529 更に細胞外に放出された。また、取り込まれた p53 凝集体
530 は受け手細胞側の野生型 p53 の機能に障害をもたらすこと
531 も分かった。我々の一連の研究は、HS S-ドメインが様々
532 なアミロイドーシスに共通するアミロイドーシス病態のメ
533 ディエーターであることを強く示唆している (図 1)。ま
534 た、Sulf による HS S-ドメインの酵素的リモデリングがア
535 ミロイドーシス発症における複数のプロセス、すなわち凝
536 集体の形成、細胞毒性の発揮、プリオン様伝播などを標的
537 にした新たな治療戦略となる可能性も提起された (45, 59)。

538 E. 結語

539 本総説ではタンパク質ミスフォールディング病病態に
540 おける GAG の役割について近年の研究成果を基に概説し
541 た。GAG 生合成や硫酸化修飾は各組織/臓器において厳密
542 に制御されている。従って、GAG の生合成や修飾に関わ
543 る酵素や Sulf の病態における発現パターンを詳細に解析す
544 ることにより、タンパク質ミスフォールディング病に
545 GAG がどのように関わっていくのかについて我々の理解
546 を更に深めることになる。また、GAG の組織/臓器分布
547 はそのコアタンパク質に依存する。これまで述べてきたタ
548 ンパク質ミスフォールディング病に関わる GAG、特に HS
549 S-ドメインのコアタンパク質の同定も今後の検討課題であ
550 る。

551 F. 謝辞

552 ここで紹介した研究を共に行いました長崎国際大学・
553 安東由喜雄博士、熊本大学・山下太郎博士、富山大学・水
554 口峰之博士、京都薬科大学・斎藤博幸博士、岡山大学・島
555 内寿徳博士、和歌山県立医科大学・池崎みどり博士、岩橋
556 尚幸博士、井篁一彦博士に感謝申し上げます。本総説執筆
557 のお声掛けを頂きました名城大学・水本秀二博士に改めて
558 感謝申し上げます。日頃多くの激励を頂いております和歌
559 山県立医科大学・井原義人博士に感謝いたします。本総説
560 の執筆にあたり科研費・若手研究及(B)および基盤研究(C)
561 (15K19488、17K16123、20K09605)ならびに水谷糖質科
562 学振興財団の支援を受けました。

563 参考文献

- 564 1. Hartl, F.U. (2017) *Annu Rev Biochem* **86**,21-26
- 565 2. Dobson, C.M. (2003) *Nature* **426**,884-890
- 566 3. Dobson, C.M. (1999) *Trends Biochem Sci* **24**,329-332
- 567 4. Tan, S.Y. and M.B. Pepys (1994) *Histopathology* **25**,403-414
- 568 5. Kelly, J.W. (1998) *Curr Opin Struct Biol* **8**,101-106
- 569 6. Lansbury, P.T., Jr. (1999) *Proc Natl Acad Sci U S A* **96**,3342-3344
- 570
- 571 7. Chiti, F. and C.M. Dobson (2006) *Annu Rev Biochem* **75**,333-366
- 572
- 573 8. Silva, J.L., et al. (2014) *Trends Biochem Sci* **39**,260-267
- 574 9. Navalkar, A., et al. (2020) *Biochemistry* **59**,146-155
- 575 10. Benson, M.D., et al. (2020) *Amyloid* **27**,217-222
- 576 11. Virchow, R. (1854) *Virchows Arch Pathol Anat Physiol* **6**,416-426
- 577
- 578 12. Friedrich, N. and A. Kekule (1859) *Virchows Arch Pathol Anat Physiol.* **16**,50-65
- 579
- 580 13. Eanes, E.D. and G.G. Glenner (1968) *J Histochem Cytochem* **16**,673-677
- 581
- 582 14. Astbury, W.T., et al. (1935) *Biochem J* **29**,2351-2360 2351
- 583 15. Schmidt, M., et al. (2019) *Nat Commun* **10**,5008
- 584 16. Stohr, J., et al. (2012) *Proc Natl Acad Sci U S A* **109**,11025-11030
- 585
- 586 17. Snow, A.D. and R. Kisilevsky (1985) *Lab Invest* **53**,37-44
- 587 18. Snow, A.D., et al. (1987) *Lab Invest* **56**,665-675
- 588 19. Snow, A.D., et al. (1987) *Lab Invest* **56**,120-123
- 589 20. Snow, A.D., et al. (1987) *Hum Pathol* **18**,506-510
- 590 21. Nishitsuji, K. and K. Uchimura (2017) *Glycoconj J* **34**,453-466
- 591
- 592 22. Nishitsuji, K. (2018) *Glycoconjugate Journal* **35**,387-396
- 593 23. McLaurin, J. and P.E. Fraser (2000) *Eur J Biochem* **267**,6353-6361
- 594
- 595 24. Lindahl, U. and L. Kjellen (2013) *J Intern Med* **273**,555-571
- 596 25. Dudas, B. and K. Semeniken (2012) *Handb Exp Pharmacol* **325**-343
- 597

- 598 26. Vaquer-Alicea, J. and M.I. Diamond (2019) *Annu Rev Biochem* **88**,785-810
- 599
- 600 27. Motamedi-Shad, N., et al. (2009) *J Biol Chem* **284**,29921-29934
- 601
- 602 28. Motamedi-Shad, N., et al. (2009) *J Biochem* **146**,805-814
- 603 29. Takase, H., et al. (2016) *Amyloid* **23**,67-75
- 604 30. Aguilera, J.J., et al. (2014) *Biochimie* **104**,70-80
- 605 31. Valle-Delgado, J.J., et al. (2010) *Faseb j* **24**,4250-4261
- 606 32. Ren, R., et al. (2010) *J Biol Chem* **285**,37672-37682
- 607 33. Lawson, V.A., et al. (2010) *PLoS One* **5**,e12351
- 608 34. Kameyama, H., et al. (2019) *Am J Pathol* **189**,308-319
- 609 35. Castillo, G.M., et al. (1999) *J Neurochem* **72**,1681-1687
- 610 36. Mikawa, S., et al. (2016) *FEBS Lett* **590**,3492-3500
- 611 37. Horonchik, L., et al. (2005) *J Biol Chem* **280**,17062-17067
- 612 38. Hijazi, N., et al. (2005) *J Biol Chem* **280**,17057-17061
- 613 39. Shyng, S.L., et al. (1995) *J Biol Chem* **270**,30221-30229
- 614 40. Hooper, N.M. (2011) *J Neurochem* **116**,721-725
- 615 41. Nishitsuji, K., et al. (2011) *J Biol Chem* **286**,6393-6401
- 616 42. Kuwabara, K., et al. (2015) *J Biol Chem* **290**,24210-24221
- 617 43. Iwahashi, N., et al. (2020) *Proc Natl Acad Sci U S A* **117**,33225-33234
- 618
- 619 44. Sandwall, E., et al. (2010) *Glycobiology* **20**,533-541
- 620 45. Iwahashi, N., et al. (2021) *Mol Cell Oncol* **8**,1892444
- 621 46. Rosen, S.D. and H. Lemjabbar-Alaoui (2010) *Expert Opin Ther Targets* **14**,935-949
- 622
- 623 47. Bishop, J.R., et al. (2007) *Nature* **446**,1030-1037
- 624 48. Morimoto-Tomita, M., et al. (2002) *J Biol Chem* **277**,49175-49185
- 625
- 626 49. Dhoot, G.K., et al. (2001) *Science* **293**,1663-1666
- 627 50. Ai, X., et al. (2003) *J Cell Biol* **162**,341-351
- 628 51. Viviano, B.L., et al. (2004) *J Biol Chem* **279**,5604-5611
- 629 52. Lai, J.P., et al. (2008) *Hepatology* **47**,1211-1222
- 630 53. Phillips, J.J., et al. (2012) *J Clin Invest* **122**,911-922
- 631 54. Hammond, E., et al. (2014) *Front Oncol* **4**,195
- 632 55. Dennissen, M.A., et al. (2002) *J Biol Chem* **277**,10982-10986
- 633 56. Hosono-Fukao, T., et al. (2012) *Am J Pathol* **180**,2056-2067
- 634 57. Hossain, M.M., et al. (2010) *Glycobiology* **20**,175-186
- 635 58. Katsinelos, T., et al. (2018) *Cell Rep* **23**,2039-2055
- 636 59. Nishitsuji, K., et al. (2016) *Neural Regen Res* **11**,408-409
- 637 60. Kameyama, H., et al. (2016) *Sci Rep* **6**,30391
- 638



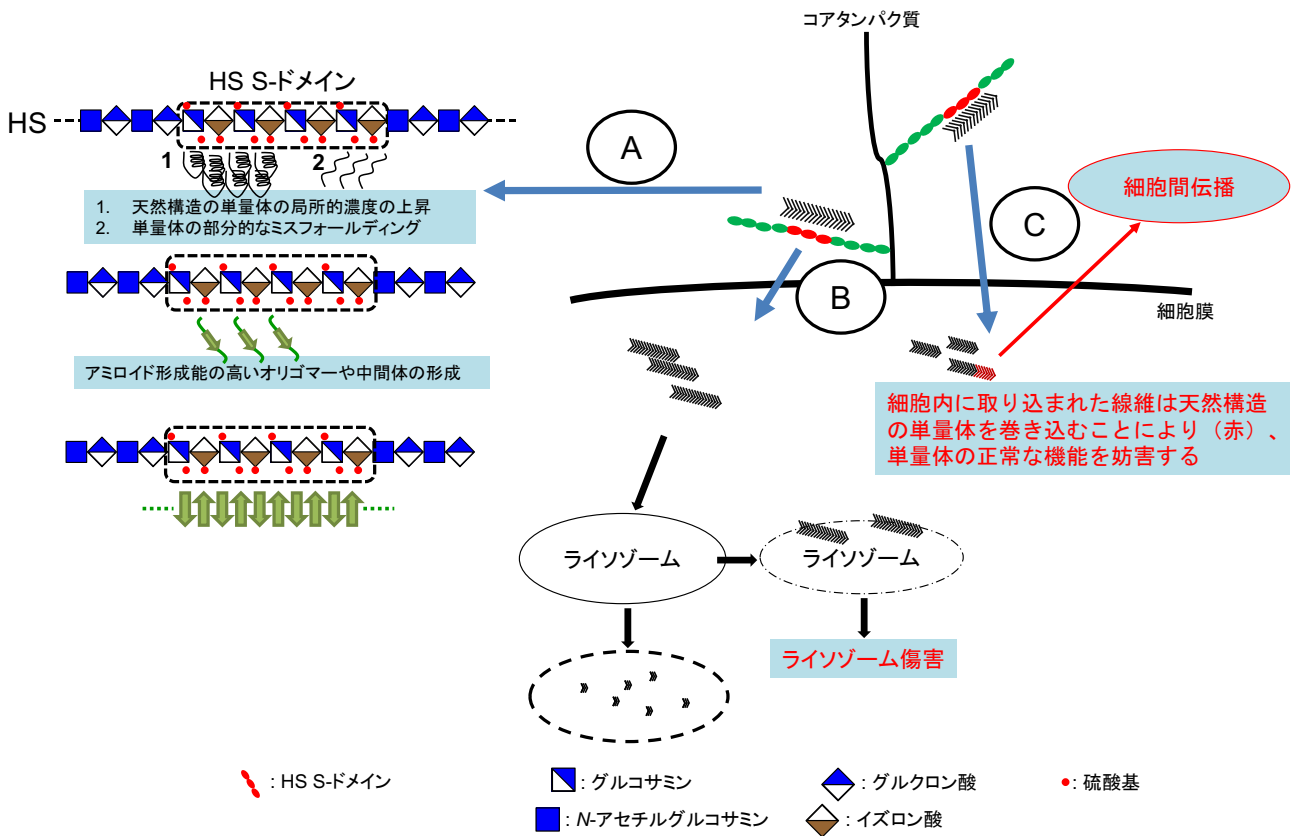
著者情報

539 西辻 和親: 和歌山県立医科大学医学部生化学講座・講師。京都大学薬学部卒業(2001
540 年)、京都大学大学院薬学研究科修士課程修了(製剤機能解析学、半田哲郎教授)。2008年、
541 森啓教授(大阪市立大学大学院医学研究科、脳神経科学)の指導の元、大阪市立大学で博士
542 号(医学)を取得。2008年から2011年まで国立長寿医療研究センター研究所、アルツハイマ
543 ー病研究部で道川誠部長の指導の元、ポストドクトラルトレーニングを受けた。2013年から
544 2017年まで徳島大学大学院医歯薬学研究部・病態病理学分野・助教、2018年1月から5月ま
545 で同・疾患病理学分野・助教。2018年6月から現職。
546



著者情報

547 内村 健治: フランス国立科学研究センター(CNRS)研究ディレクター。1999年名古屋大
548 学大学院医学研究科博士課程修了(第一生化学;村松喬教授)。博士(医学)。2001年より米国
549 カリフォルニア大学サンフランシスコ校医学部解剖学免疫部門(Steven D. Rosen 教授)。日本
550 学術振興会特別研究員 DC1, PD, 海外特別研究員。2006年より国立長寿医療研究センター研究
551 所室長。2011年より名古屋大学大学院医学研究科特任准教授(生物化学講座;門松健治教授)。
552 2018年より現職(リール大学糖鎖生物学構造機能研究所)。
553
554



655

656

657

658 **図1. 図1 アミロイドーシス病態における HS S-ドメインの機能.** HS S-ドメインは、アミロイド形成タンパク質の局所濃度の上昇、
659 変性の亢進、アミロイド形成能が高い単量体の形成などを通し、タンパク質凝集の際の足場として働く(A)。正常状態の単量体が
660 HS S-ドメインと相互作用しない場合でも HS S-ドメインはオリゴマーあるいは線維化の中間体と相互作用することにより、線維化
661 を促進することができる(34)。HS S-ドメインはタンパク質凝集体の受容体として機能する(B, C)。タンパク質凝集体を取り込まれ
662 てからどうなるのかはタンパク質凝集体と受け手細胞の種類に依る。多くのアミロイドーシスで確立されているように、アミロイド
663 は細胞に対して毒性を発揮する(B)。例えば、変異型アポリポタンパク質 A1 線維の場合、細胞に取り込まれたアミロイドはライ
664 ソゾームへ運ばれて分解を受けるが、ライソゾームが破綻した場合、ライソゾームの機能不全とそれに伴う細胞障害が起こる(42,
665 60)。また、癌細胞は p53 凝集体を GAG 依存的に細胞外に放出することができる(C)。近傍の細胞は HS S-ドメインを介して p53 凝
666 集体を受け取るが、受け取った p53 凝集体は更に受け手細胞から放出される。また p53 凝集体は受け手細胞側の野生型 p53 の適切
667 な機能を妨げる(43, 45)。