

Proteinfaltungskrankheiten

Strukturbiologie der systemischen Amyloidosen

CHRISTIAN HAUPT, MATTHIAS SCHMIDT, MARCUS FÄNDRICH
INSTITUT FÜR PROTEINBIOCHEMIE, UNIVERSITÄT ULM

Systemic amyloidosis refers to a group of diseases that are caused by the misfolding of proteins and their deposition as amyloid fibrils in various organs. Here we present an overview of the progress made in the understanding of the biochemical and structural characteristics of the pathogenic agents of these diseases, obtained by using cryo-electron microscopy. The observed structures provided insights in the molecular etiology of the diseases and helped to shed light on the mechanism of misfolding in the affected patients.

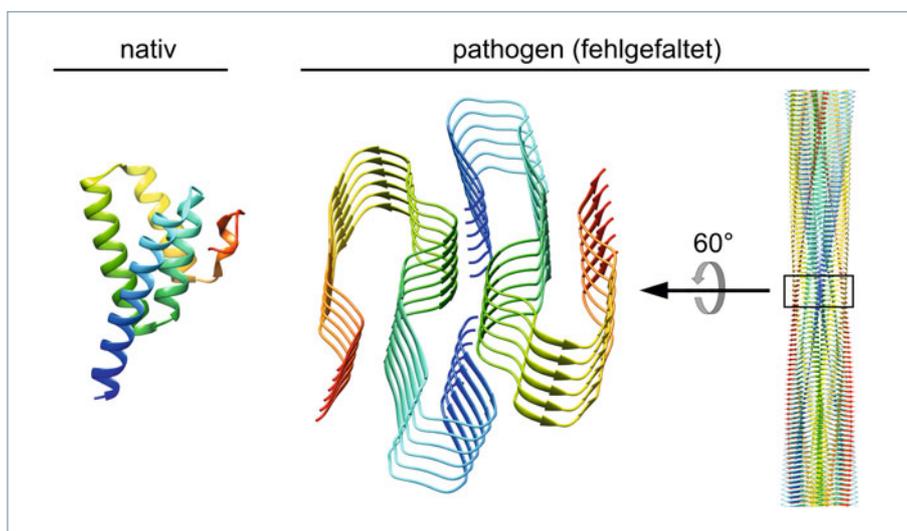
DOI: 10.1007/s12268-024-2083-3
© Die Autoren 2024

■ Die systemischen Amyloidosen sind Krankheiten, die auf der Fehlfaltung von Proteinen zu Amyloidfibrillen beruhen. Amyloidfibrillen sind lineare Polypeptidaggregate, deren zentrales Strukturelement die Kreuz- β -Struktur ist. Im Gegensatz zu den weitaus bekannten lokalen Amyloiderkrankungen des Gehirns – wie der Alzheimer-Krankheit – definieren sich die systemischen Amyloidosen durch die Unterschiedlichkeit des Ablagerungsorts der Fibrillen vom Syntheseort des Vorläuferproteins. In der syste-

mischen AL-Amyloidose wird das Vorläuferprotein – eine Immunglobulin-Leichtkette – beispielsweise im Knochenmark gebildet, während die Ablagerungen vor allem Herz, Niere und Leber betreffen. Über 40 verschiedene Amyloiderkrankungen werden aktuell auf der Grundlage unterschiedlicher Vorläuferproteine unterschieden [1]. Am Beispiel der systemischen AA-Amyloidose, die durch Fehlfaltung des Serum-Amyloid A(SAA)-Proteins entsteht, soll hier ein Überblick über den Fortschritt im Verständnis der bio-

chemischen Grundlagen von Amyloiderkrankungen gegeben werden.

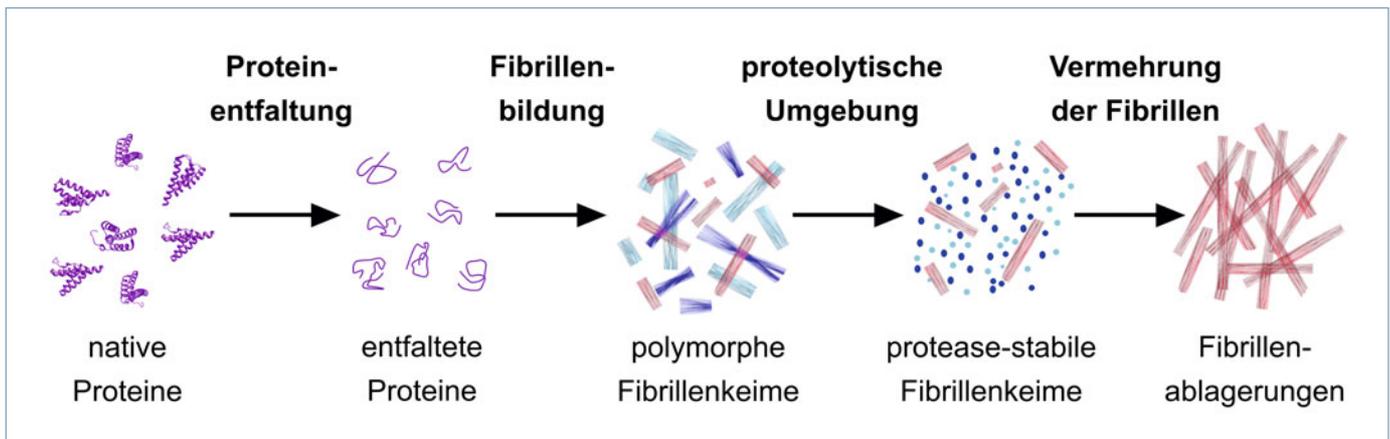
Die systemische AA-Amyloidose ist eine heutzutage eher unbekannt Krankheit. Vor 100 Jahren war sie aber mutmaßlich die verbreitetste Proteinfaltungskrankheit weltweit. Sie tritt als Komplikation starker Entzündungskrankheiten auf, wie Tuberkulose, Lepra oder rheumatoider Arthritis. Historische, medizinische Präparate dieser vormals weit verbreiteten Erkrankungen zeigen, dass die betroffenen Patient:innen oft auch an der AA-Amyloidose litten [2]. Entzündungen führen zu einem sehr deutlichen Anstieg der SAA-Konzentration im Blut, wodurch die Aggregation des Proteins – eine konzentrationsabhängige Reaktion – stark begünstigt wird. Die abgelagerten Amyloidfibrillen schädigen das betroffene Gewebe, was in der Niere letztendlich zu Nierenversagen führen kann. Im Menschen unterscheidet man zwei Formen der Krankheit, die sich im hauptsächlichsten Ablagerungsort in der Niere (vaskulär und glomerulär) und anderen Eigenschaften unterscheiden [2]. Die systemische AA-Amyloidose tritt aber nicht nur im Menschen auf, sondern kommt in einer Reihe von Vogel- und Säugerarten vor – sowohl in der freien Natur als auch in Gefangenschaft.



Aufklärung der Struktur des pathogenen Agens

Bis vor wenigen Jahren war nur wenig über die genaue Struktur der pathogenen Agenzien von Proteinfaltungskrankheiten bekannt, da traditionelle strukturelle Methoden ihre molekulare Struktur nicht aufklären konnten. Dies änderte sich erst mit der Fortentwicklung der Kryo-Elektronenmikroskopie. Die dabei gewonnenen Strukturen zeigten, dass sich die fibrilläre Faltung eines Proteins extrem von seiner nativen Konformation unterscheiden kann (**Abb. 1**). Natives SAA-Protein ist beispielsweise ein α -helikales Protein, während die fibrilläre Form β -Faltblatt-Struktur aufweist [3]. Das bedeutet, dass der native Zustand vollständig entfaltet werden muss, um ein Aggregat bil-

▲ **Abb. 1:** Strukturdarstellung von nativ gefaltetem und fehlgefaltetem Serum-Amyloid A-Protein (SAA). Die Abbildung basiert auf den Proteindatenbankeinträgen 4IP8 [8] und 6MST [3].



▲ **Abb. 2:** Schematische Darstellung des proteolytischen Selektionsmechanismus pathogener Amyloidfibrillen.

den zu können. Die Strukturdaten erklärten somit frühere Beobachtungen, dass die Bildung von Amyloidfibrillen oft unter Bedingungen stattfindet, in denen der native Proteinzustand weniger stabil ist.

Es konnte außerdem gezeigt werden, dass die beiden Varianten der systemischen AA-Amyloidose im Menschen mit unterschiedlichen Fibrillenstrukturen einhergehen [4]. Ob diese Strukturen auch kausal für die verschiedenen Krankheitsbilder verantwortlich sind, ist zwar derzeit unbekannt, doch wurden ähnliche Beobachtungen (d. h. verschiedene Fibrillenstrukturen in unterschiedlichen Krankheitsvarianten) in mehreren Amyloiderkrankungen gemacht. Nicht immer liegt in einem Patienten oder einem Tier nur eine einzige Fibrillenstruktur vor. Stattdessen gibt es ein gewisses Maß an struktureller Varianz, genannt Polymorphismus [4–6]. Interessanterweise findet man aber strukturell gleichartige Fibrillen in verschiedenen Organen desselben Patienten oder Tiers [5] sowie in unterschiedlichen Tieren oder Patienten mit der gleichen Krankheitsvariante [5, 6].

Amyloidfibrillen, die aus dem Gewebe aufgereinigt wurden, unterscheiden sich in der Regel strukturell von jenen Fibrillen, die aus dem gleichen Vorläuferprotein *in vitro* gebildet werden können [6]. Eine Ausnahme sind hierbei Fibrillen, die *in vitro* in Anwesenheit gewebsextrahierter Fibrillen als Keime gebildet werden [7]. Dies bedeutet insgesamt, dass nur bestimmte Fibrillenstrukturen krankheitsrelevant sind. Die gleiche Schlussfolgerung erhielt man auch durch die Untersuchung von Amyloid-Resistenzen in der Maus. So sind einige Mausstämme in Folge einer veränderten SAA-Sequenz gegenüber der AA-Amyloidose resistent. Die betreffen-

den SAA-Proteine können zwar *in vitro* sehr wohl Amyloidfibrillen bilden, allerdings sind diese nicht mit der speziellen Struktur der pathogenen Amyloidfibrillen kompatibel [3]. Das bedeutet, dass die betreffenden Mausstämme keine Krankheit ausbilden, weil die exprimierten SAA-Varianten nicht in der Lage sind, eine bestimmte, aber pathogen relevante Struktur anzunehmen.

Warum können aber nur bestimmte Fibrillenstrukturen im Körper pathogen wirken? Eine mögliche Erklärung dafür entstand aus der Beobachtung, dass *in vitro* gebildete Fibrillen deutlich weniger stabil gegenüber proteolytischem Verdau sind als jene Fibrillen, die im Gewebe abgelagert sind [6]. Daraus entwickelte sich die Vorstellung, dass Aggregationsphänomene im Körper nur dann zu einer Krankheit führen, wenn dabei Strukturen entstehen, die gegenüber den körpereigenen Abbausystemen besonders stabil sind (proteolytischer Selektionsmechanismus). Nur solche Fibrillenstrukturen haben die Möglichkeit, sich im Körper anzusammeln und auszubreiten (**Abb. 2**).

Vergleicht man die Struktur von AA-Amyloidfibrillen aus der Maus und im Menschen, so fällt auf, dass sich die Strukturen in vielen Eigenschaften unterscheiden [3]. Murines SAA unterscheidet sich aber nur in geringem Maße von der Sequenz des humanen Proteins (Sequenzidentität 73 %; Sequenzähnlichkeit 83 %) und im Zuge der nativen Proteinfaltung führen murines und humanes SAA zu homologen Strukturen. Die Fibrillenbildung ist also sehr viel empfindlicher für sequenzielle Änderungen als die Faltung von globulären Proteinen und es ist somit sehr viel schwieriger, die Faltung von pathogenen Amyloidstrukturen korrekt vorherzusagen als die Struktur von globulären Proteinen.

Ausblick

Während die systemische AA-Amyloidose heutzutage eine nur noch nachgeordnete Rolle in westlichen Zivilisationen spielt – die Behandlung von Entzündungsreaktion ist in der Regel so erfolgreich, dass die Krankheit nicht ausbrechen kann –, nahm sie dennoch seit Jahrzehnten eine besondere Stellung als Modellsystem für die andere Proteinfaltungskrankheiten ein. Dies trifft vor allem für die systemischen Amyloidosen zu, die sich in den letzten Jahren eines stark steigenden medizinischen Interesses erfreuen, da in den letzten Jahrzehnten mittlerweile mehrere Möglichkeiten direkt und therapeutisch in den Krankheitsprozess einzugreifen. Die dabei angewendeten Interventionsstrategien beruhen auf Stabilisierung der physiologisch relevanten, nativ gefalteten Struktur des Vorläuferproteins oder der allgemeinen Reduktion der Produktion des Vorläuferproteins im Körper. Die jetzt verfügbaren Strukturinformationen über die zugrunde liegenden pathogenen Agenzien eröffnen jetzt die Möglichkeit, das pathogene Agens als Zielstruktur effektiver zu nutzen. ■

Literatur

- [1] Buxbaum JN, Dispenziera A, Eisenberg DS et al. (2022) Amyloid nomenclature 2022: update, novel proteins, and recommendations by the International Society of Amyloidosis (ISA). Nomenclature Committee Amyloid 29: 213–219
- [2] Westermark GT, Fändrich M, Westermark P (2015) AA amyloidosis: pathogenesis and targeted therapy. *Annu Rev Pathol* 10: 321–344
- [3] Liberta F, Loerch S, Rennegarbe M et al. (2019) Cryo-EM fibril structures from systemic AA amyloidosis reveal the species complementarity of pathological amyloids. *Nat Commun* 10: 1104
- [4] Banerjee S, Baur J, Daniel C et al. (2022) Amyloid fibril structure from the vascular variant of systemic AA amyloidosis. *Nat Commun* 13: 7261
- [5] Annamalai K, Liberta F, Vielberg MT et al. (2017) Common Fibril Structures Imply Systemically Conserved Protein Misfolding Pathways *In Vivo*. *Angew Chem Int Ed Engl* 56: 7510–7514

- [6] Bansal A, Schmidt M, Rennegarbe M et al. (2021) AA amyloid fibrils from diseased tissue are structurally different from in vitro formed SAA fibrils. *Nat Commun* 12: 1013
- [7] Heerde T, Rennegarbe M, Biedermann A et al. (2022) Cryo-EM demonstrates the in vitro proliferation of an ex vivo amyloid fibril morphology by seeding. *Nat Commun* 13: 85
- [8] Lu J, Yu Y, Zhu I et al. (2014) Structural mechanism of serum amyloid A-mediated inflammatory amyloidosis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 111: 5189–5194

Funding note: Open Access funding enabled and organized by Projekt DEAL.
Open Access: Dieser Artikel wird unter der Creative Commons Namensnennung 4.0 International Lizenz veröffentlicht, welche die Nutzung, Vervielfältigung, Bearbeitung, Verbreitung und Wiedergabe in jeglichem Medium und Format erlaubt, sofern Sie den/die ursprünglichen Autor(en) und die Quelle ordnungsgemäß nennen, einen Link zur Creative Commons Lizenz beifügen und angeben, ob Änderungen vorgenommen wurden. Die in diesem Artikel enthaltenen Bilder und sonstiges Drittmaterial unterliegen ebenfalls der genannten Creative Commons Lizenz, sofern sich aus der Abbildungslegende nichts anderes ergibt. Sofern das betreffende Material nicht unter der genannten Creative Commons Lizenz steht und die betreffende Handlung nicht nach gesetzlichen Vorschriften erlaubt ist, ist für die oben aufgeführten Weiterverwendungen des Materials die Einwilligung des jeweiligen Rechteinhabers einzuholen. Weitere Details zur Lizenz entnehmen Sie bitte der Lizenzinformation auf <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.de>.

Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Marcus Fändrich
 Universität Ulm
 Institut für Proteinbiochemie
 Helmholtzstraße 8/1
 D-89081 Ulm
marcus.faendrich@uni-ulm.de

AUTOREN



Christian Haupt

1999–2006 Biologiestudium, Universität Jena. 2006–2011 Promovend, Universität Jena, Leibniz-Institut für Alternsforschung (Jena) und Max-Planck-Forschungsstelle für Enzymologie der Proteinfaltung (Halle/Saale). 2011–2012 PostDoc am Leibniz-HKI (Jena). Seit 2012 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Proteinbiochemie der Universität Ulm. Foto: Universität Ulm.



Matthias Schmidt

1998–2003 Biochemiestudium, Universität Jena. 2007 Promotion in Biochemie, Universität Jena. 2007 Postdoc am Leibniz-Institut für Alternsforschung, Jena. 2007–2009 Postdoc an der Max-Planck-Forschungsstelle für Enzymologie der Proteinfaltung (Halle/Saale). 2009–2013 PostDoc an der Brandeis University, Waltham, MA, USA. Seit 2013 wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Proteinbiochemie der Universität Ulm. Foto: Universität Ulm.



Marcus Fändrich

1993–1998 Biologiestudium, Universität Heidelberg. 1998–2002 Promovend, Universität Oxford, UK. 2002–2007 Postdoc und Arbeitsgruppenleiter, Leibniz-Institut für Alternsforschung (Jena). 2008–2012 Arbeitsgruppenleiter, Max-Planck-Forschungsstelle für Enzymologie der Proteinfaltung, Halle/Saale. Seit 2012 Professor und Institutsleiter an der Universität Ulm. Foto: Universität Ulm.