

D-アミノ酸で評価する太陽紫外線による 皮膚タンパク質の損傷と老化

藤井紀子

京都大学原子炉実験所

【背景と目的】

生体を構成するタンパク質はすべてL-アミノ酸から構成されているが、近年、加齢に伴って眼の水晶体、脳、動脈壁、歯、軟骨、皮膚等の代謝の遅い組織のタンパク質中で、本来生体内には存在しないはずのD-アスパラギン酸(D-Asp)が増加することが明らかとなってきた。L-アミノ酸から構成されているタンパク質中でL-アミノ酸の光学異性体であるD-アミノ酸が生成されれば、タンパク質の立体構造は大きく変化し、不溶化、凝集が生じ、機能低下を引き起こすと考えられる。上記の組織ではこの様な一連の変化によって白内障、アルツハイマー病、動脈硬化が惹起されたものと考えられている。筆者らは水晶体主要構成成分であるα-クリスタリン中でAsp残基が著しくD-体化し、同時に異性化(L-Asp → D-Asp)している部位を発見し、この反転反応がなぜ、生じるのかを詳細に検討した。その結果、1)タンパク質中のAspの隣接残基が立体障害の少ないアミノ酸であるとき、Asp残基が5員環イミドを経由して反転する。2)タンパク質自身の立体構造がD-Aspを誘導する反応場を形成しているという機構が明らかとなった。この結果は条件さえ整えば他の組織でも容易にD-アミノ酸が生成されることを示している。申請者らは老化した皮膚に、D-Aspが多量に蓄積され、紫外線照射部位で特にその傾向が著しいことを見いだした。免疫組織染色の結果、D-Asp含有タンパク質がエラスチンである可能性を示唆したので、エラスチン中に含まれるAsp残基周辺と同一配列のペプチドを3種類(1)Exson 6:GVADAAAA, 2)Exson 26-1:REGDPSSS, 3)Exson 26-2:AGADEGVR)合成し、そのペプチドを用いてAsp残基のラセミ化反応のキネティクスを解析し、皮膚のエラスチン中のAsp残基がヒトの一生の期間にラセミ化するかどうかを検討した。

【結果と考察】

3種類のペプチド中のAsp残基のラセミ化反応の活性化エネルギーはexon 6では29.0 kcal/mol、exon 26A-1では26.2 kcal/mol、exon 26A-2では25.7 kcal/molであった。ヒトの体温37℃でのAsp残基のラセミ化反応速度定数 k_{37} はexon 6では、 $0.71 \times 10^{-4} \text{ day}^{-1}$ 、exon 26A-1では $1.17 \times 10^{-4} \text{ day}^{-1}$ 、exon 26A-2では $1.52 \times 10^{-4} \text{ day}^{-1}$ と算出され、exon 26A-2での速度定数 k_{37} はexon 6での速度定数 k_{37} の約2倍の値を示した。さらに、各ペプチド中でのAsp残基のD/L比がヒトの体温(37℃)で1.0(0.99)に達する時間は、exon 6で101年、exon 26A-1で約61年、exon 26A-2で47年かかることが明らかになった。皮膚中のエラスチンに存在するAspのラセ

ミ化反応が、本研究の合成ペプチドと同じように起こっているのならば、エラスチン中の Asp 残基は、ヒトの一生の間に重大なラセミ化反応を起こしうるのに十分な反応速度を有していることになる。エラスチン中の Asp 残基は非常にラセミ化しやすい事が明らかとなった。

以上のことから、我々は、D-Asp が老化や紫外線による皮膚のダメージを知る上での分子マーカー(指標)として応用できるのではないかと考えている。