

ヒトキトトリオシダーゼはマウスよりも高いキチナーゼ活性・糖転移活性を示す

Human chitotriosidase exhibits higher chitinolytic and transglycosylation activities than those of mouse counterpart

渡邊堯¹⁾, 木村将大¹⁾²⁾, 池尻碧¹⁾, 関根一考¹⁾
指導教員 小山文隆¹⁾

- 1) 工学院大学大学院 工学研究科 化学応用学専攻 生命工学研究室
- 2) 日本学術振興会特別研究員 (DC2)

キーワード : Chit1 (chitotriosidase), GlcNAc (*N*-acetyl-D-glucosamine), アルツハイマー病, キチン, ゴーシェ病

キチンは、*N*-アセチル-D-グルコサミンが β -1,4 結合した重合体で、甲殻類や昆虫の外骨格、真菌の細胞壁の主要な構成成分である。ほ乳類はキチンを合成しないが、キチン分解酵素、キチナーゼを2種類発現している。キトトリオシダーゼ (chitotriosidase, Chit1) はほ乳類で最初に発見されたキチナーゼであり、活性化したマクロファージや好中球で合成される。Chit1 は分子量約 50kDa の分泌タンパク質であり、N 末端側の触媒ドメインと C 末端側のキチン結合ドメインから構成される。Chit1 レベルは、常染色体劣性のリソソーム蓄積症であるゴーシェ病患者の血漿中で、約 1,000 倍上昇する。Chit1 は、ゴーシェ病、慢性閉塞性肺疾患、アルツハイマー病、アテローム性動脈硬化症、2 型糖尿病で発現が上昇する。そのため、Chit1 は炎症性疾患のバイオマーカーとして利用できると考えられている。肺において Chit1 は、主要なキチナーゼであると証明されており、キチンを含む病原体からの防御機構の一部として機能すると考えられている。組換えヒト Chit1 は、Chit1 を欠損したカンジダ症マウスモデルの生存率を改善した。この結果から、ヒト Chit1 は、マウス Chit1 を補償することが示唆された。また、これらの結果は、生体内で肺機能の維持に Chit1 の発現が必要

であることを示唆する。

キチナーゼ遺伝子の解析は、これまでヒトおよびマウスを含むほ乳類において行われてきた。Bussink らは、ほ乳類のキチナーゼおよびキチナーゼ様タンパク質の系統解析を行い、これら遺伝子の選択圧を分析した。その結果、キチナーゼおよびキチナーゼ様タンパク質は機能的制約を伴う、負の自然選択の対象となると報告している。我々は、ヒトとマウスにおける Chit1 の遺伝子発現レベルを調べ、肺の発現がヒトとマウスの間で保存されていることを報告した。しかし、これまでヒトとマウス Chit1 はタンパク質レベルで直接比較されていない。

今回、我々は、両酵素を Protein A との融合タンパク質として大腸菌で発現させ、それらの酵素活性を比較した。

低分子量人工基質を用いた場合、ヒト Chit1 の方が高いキチナーゼ活性を有していた。また、両酵素の糖転移活性はヒト Chit1 の方が高く、キチナーゼ活性よりも大きな活性の違いがみられた。これらの違いは、ヒトとマウスの Chit1 の生体内での機能に違いがあることを示唆する。