

25V-am07S

トランスジェニックカイコ繭由来 CTSA の有効性の検討

○日高 朋¹, 西岡 宗一郎², 月本 準¹, 田中 優希¹, 近藤 まり³, 小林 功⁴, 笠嶋 めぐみ⁴, 辻 大輔², 瀬筒 秀樹^{3,4}, 伊藤 孝司^{1,2} (¹徳島大薬, ²徳島大薬院, ³東京大院・新領域, ⁴農研機構)

【目的】 Galactosialidosis (GS) は、リソソーム酵素の一種である Protective protein/cathepsin A (CTSA) の遺伝子変異により発症するリソソーム病 (常染色体劣性遺伝病) である。GS 患者では組織細胞のリソソーム内に末端シアル酸含有糖鎖が過剰蓄積し、中枢神経症状を含む全身症状が現れるが、未だ有効な治療法は開発されていない。近年、トランスジェニックカイコ (Tg カイコ) は、そのタンパク質生産能の高さから有用タンパク質の大量発現系として注目されている。当研究室ではこれまでに、ヒト CTSA を発現する Tg カイコを作製し、その中部絹糸腺から、活性を示す成熟体 CTSA (30/20kDa) の抽出・精製に成功している。ただし成熟体は、血中での安定性が低いことから、本研究では、繭から抽出・精製した前駆体 CTSA の疾患モデルに対する有効性を検討した。

【方法】 繭抽出液から 2 段階 (疎水性及び陽イオン交換) のクロマトグラフィーにより CTSA を精製した。繭から獲得した CTSA を GS モデルマウスの脳室内に投与し、投与 8 日後の脳切片を用いて各種免疫染色を行った。

【結果・考察】 繭からは N 型糖鎖が付加された前駆体 CTSA (50kDa) 約 53 μ g/個を精製でき、活性を示す成熟体への変換も可能であった。また GS モデルマウスにおいて確認されたミクログリアの活性化を、前駆体 CTSA の脳室内投与により、抑制することができた。これはマンノースレセプターを介した細胞内取り込みによるものと考えられる。さらに現在、マンノース 6 リン酸 (M6P) レセプターを介した細胞内取り込みを可能とするために、前駆体 CTSA の N 型糖鎖を末端 M6P 含有糖鎖へと挿げ替える実験も行っており、合わせて報告する予定である。