

ーグランザイム 3 のカテプシン C による活性化ー

当研究室の平田(幸)らは、NK 細胞や細胞障害性 T リンパ球に含まれるプロテアーゼの一種であるグランザイム 3 に対する抗体を作成し、その結果を Microbiol Immunol 誌(2010 年 54 巻、98-104 ページ)において公表しました。

免疫担当細胞である NK 細胞や細胞障害性 T リンパ球 (CTL)は、細胞内に顆粒内の成分を放出することにより、標的細胞であるウイルス感染細胞や腫瘍細胞など殺傷すると考えられており、グランザイム 3 はその顆粒内の成分の一つです。ヒトでは 5 種類 (A、B、3、H、M)のグランザイムが同定されていますが、グランザイム 3 は NK 細胞にはほとんど存在せず、主に CTL に存在していることを当研究室で明らかにしました。

ファミリー蛋白であるグランザイム A や B が NK 細胞と CTL 両者に分布することや、グランザイム B とグランザイム 3 がほとんど共存していないことから、グランザイム 3 は他のグランザイムとは異なる役割を持っていると考えられます。しかしながら、現在までグランザイム 3 に関する報告はごく少数に留まります。その理由として、グランザイム 3 自体を CTL などから得るのが困難であることや、酵素活性やグランザイム 3 蛋白を測定する方法がほとんど無いことが挙げられます。

そこで、今回グランザイム 3 の活性測定法および ELISA 法を確立するために、ヒトのグランザイム 3 を遺伝子組み換え技術を用いて大腸菌に作らせ、さらに、これを用いグランザイム 3 に対する抗体を作成しました。

グランザイム A や B は細胞内では酵素活性のない前駆体型として蓄積され、顆粒内で活性型へと変換されることが報告されており、遺伝子の構造からグランザイム 3 も同様であると考えられます。これまでに作製したグランザイム 3 は活性型なので、新たに前駆体型を作製しました。また、大腸菌で作らせたグランザイム 3 前駆体はヒトの生体内に存在するグランザイム 3 と同じ立体構造か否かを検討するために、大腸菌で作らせたグランザイム 3 前駆体にカテプシン C を反応させ、その活性化を検討しました。その方法として、前駆体型と活性型では分子量が異なることを利用し、カテプシン C を反応させた後の分子量を電気泳動で比較することにより、活性化の判定を行いました(図、Gr3;活性型グランザイム 3、pro-Gr3;グランザイム 3 前駆体)。

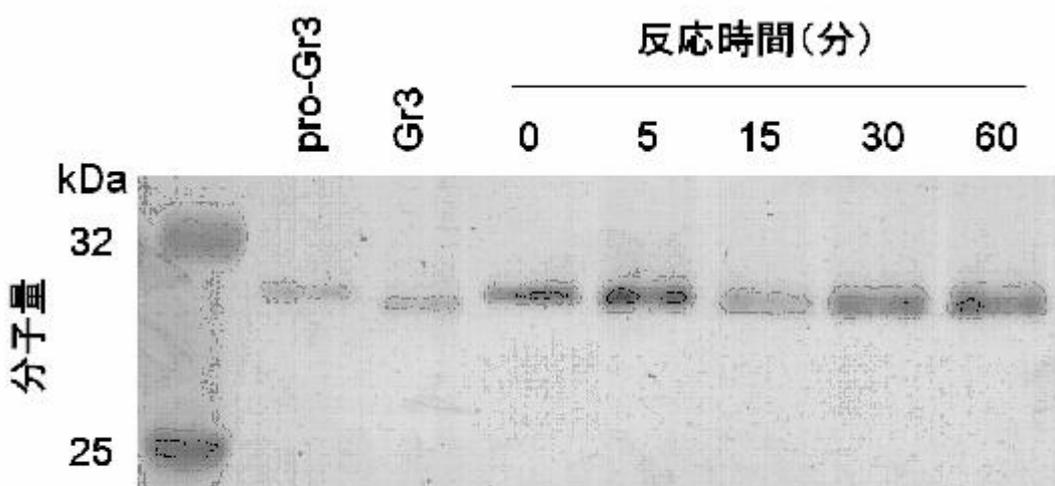


図 カテプシンCによる前駆体グランザイム3の分子量変化

その結果、カテプシンとの反応時間が 15 分以上で活性型と同じ大きさに変化しました。従って、大腸菌で作製したグランザイム 3 の前駆体型は、カテプシン C により活性型へと変換可能であり、ヒトの体内にあるグランザイム 3 前駆体と同様の立体構造であると 考えられました。

今後は、これまでに作成した活性型グランザイム 3 やその抗体、さらに今回作成に成功したグランザイム 3 前駆体を用いて、細胞内外でのグランザイム 3 の存在量や存在形式などを解析するとともに、免疫や病態との関連について更なる検討を行う 予定です。

(原著)

Hirata Y, Inagaki H, Kawada T. Recombinant human progranzyme 3 expressed in Escherichia coli for analysis of its activation mechanism. *Microbiol Immunol* 2010; 54: 98-104. [[PubMed](#)]