

Chitinase, Chitinase-like Protein과 알레르기 염증

연세대학교 의과대학 소아과학교실

손 명 현

=Abstract=

Chitinase, Chitinase-like Protein and Allergic Inflammation

Myunghyun Sohn, M.D., Ph.D.

Department of Pediatrics, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Chitin, the second most abundant polysaccharide in nature after cellulose, consist exoskeleton of lower organisms such as fungi, crustaceans and insects except mammals. Mammalian chitinase and chitinase-like proteins (CLPs) are a family of mediators increasingly associated with infection, T cell-mediated inflammation, wound healing, allergy and asthma. Although our current knowledge of the function of mammalian chitinases and CLPs is very limited, important information can be deduced from research carried out in lower organisms, and in different immunopathological conditions. It is most striking that both chitinases and CLPs are up-regulated in T-helper type 2 (Th2)-driven conditions, and the first evidence is now emerging that these proteins may accentuate Th2 reactivity, and possibly contribute to the repair process that follows inflammation. In addition, regulatory SNPs in CHI3L1 were associated with asthma, atopy, and immunemediated diseases. In this review, recent findings on the role of chitinase and CLPs in allergic inflammation will be highlighted and the genetic studies in the genes encoding CHI3L1 will be discussed. [Pediatr Allergy Respir Dis(Korea) 2009;19:329-334]

Key Words : Chitinase, Chitinase-like protein, Allergy

서 론

Chitin은 cellulose에 이어 자연계에 두 번째로 풍부한 다당류로 N-acetylglucosamine으로 구성되어 있다.^{1,2)} 이는 세균이나 곰팡이의 세포벽, 게나 새우 등의 갑각류 껍질, 그리고 집먼지 진드기나 바퀴 같은 절지동물의 외골격 등 많은 하등 생

물의 주요 구성성분을 이루고 있으며 외부 환경으로부터 유기체를 보호하는 역할을 하게 된다.^{3,4)} 이렇게 풍부하게 존재함에도 불구하고 chitin은 분해 세균이나 부생 식물에 의해 대부분이 효과적으로 분해되고 재활용되기에 환경계에 축적되지 않는다.⁵⁾ 또한 일부 chitin 유도체들은 독성이나 알레르기성이 없고 생체에 거부 반응을 일으키지 않는다고 알려져 있어 인공 피부, 콘택트렌즈나 수술용 봉합재료의 원료로 많이 사용되고 있다.⁶⁾ 그러나, 동물 실험에서 chitin은 염증 유도 작용과 항염증 작용을 모두 가지는 것으로 증명되고 있다. 구강이나 비강내로 전달되는 chitin은 항원 유도성 Th2 염증을 억제하기도 하지만, 폐에 단독적으로

이 논문은 2009년도 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 기초연구사업임 (2009-0075056).

접수: 2009년 11월 15일, 승인: 2009년 12월 10일

책임저자: 손명현, 서울시 서대문구 성산로 250

연세대학교 의과대학 소아과학교실

Tel: 02) 2228-2062, Fax: 02)393-9118

E-mail: mhsohn@yuhs.ac

노출될 때 염증을 일으킬 수도 있다. 이러한 모순적인 결과들은 환경내 chitin 노출과 알레르기 질환의 병인 사이의 복합적인 상호작용이 존재함을 의미한다.¹⁾

Chitinase

Chitinase는 chitin을 분해하는 능력을 특징으로 하는 가수분해효소로서 하등 생물에서 유기체내 chitin의 항상성을 조절하고 주위 환경에 존재하는 chitin을 분해하는 기능에 대하여 많은 연구가 이루어져 왔다.⁷⁾ 최근의 연구들은 포유동물에서 기능적인 chitinase 유전자와 함께 chitin에 결합하는 단백질 신호를 가지지만 분해하지는 못하는 chitinase-like 유전자들의 존재를 규명하였다.^{8, 9)} 동물과 인체에서의 많은 연구 결과들은 chitinase와 chitinase-like protein (CLP)가 chitin을 분해하여 상호작용을 일으키거나 독립적으로 면역 반응을 조절하여 선천면역반응의 강력한 조절자 역할을 할 수 있음을 보여 주고 있다.¹⁰⁾

Chitinase, chitinase-like protein과 알레르기 염증

알레르기 염증의 병인과 관련되어 연구되어 온 포유류 chitinase들은 chitin 분해 능력을 가진 chitotriosidase (CHIT1), acid mammalian chitinase (AMCase)와 chitin과 결합할 수는 있지만 분해할 수 없는 chitinase-like protein인 chitinase 3-like 1 (CHI3L1, YKL-40, human cartilage gp-39) 등이 있다. CHIT1과 AMCase는 유사한 효소 활성도를 가지며 chitin 중합체를 다양한 크기의 올리고당으로 분해하고 chitin 중합체의 말단으로부터 글루코사민 단당류를 유도할 수 있다.¹¹⁾ AMCase는 대략 2.0의 pH에서 가장 높은 chitin 분해 활성도를 가지는데 비해, CHIT1은 4.0-5.0의 pH에서 가장 활발하게 작용한다.¹²⁾ 이 효소들의 chitin 분해 능력은 형광표지된 chitin을 기질로 사

용하는 chitinase activity bioassay로 측정된다.¹³⁾

1. Acid mammalian chitinase (AMCase)

알레르기 염증과 chitinase군 사이의 첫 번째 연관성은 천식 동물 모델에서 AMCase의 역할에 관한 연구에서 시작되었다. Zhu 등은 기도에서 IL-13을 과발현하는 마우스 모델의 폐에서 AMCase가 과도하게 발현되며 자발적인 Th2 염증이 유도된다는 것을 보고하였고, 비특이적인 chitinase 억제제인 allosamidin에 의해 이 Th2 염증이 억제되는 것을 관찰하였다.¹⁴⁾ 또한, Reese 등은 다른 Th2 염증 모델에서 AMCase가 폐의 chitin 전달에 의한 염증반응을 하향조절한다고 보고하였다.¹⁵⁾ 이 연구들은 AMCase가 복합적인 기능을 가지며 IL-13과 관련된 염증 유도 작용을 가지지만 폐의 chitin 유도성 Th2 염증 반응을 조절할 수 있다는 것을 의미한다.

2. Chitotriosidase (CHIT1)

Chitin 분해 능력을 가진 다른 chitinase인 chitotriosidase (CHIT1)는 사람의 혈청이나 혈장에서 병의 유무와 상관없이 잘 측정된다. 말초의 chitinase 활성도는 주로 CHIT1에 기인하기에, 혈청이나 혈장에서의 chitinase 활성도 측정은 CHIT1 단백질 측정을 대신하여 사용된다. Chitinase 활성도는 lysosomal storage disease인 Gaucher's disease에서 현저하게 증가되어 있으며 효소 보충 요법의 반응 표지자로 사용된다.¹⁶⁾ CHIT1 활성도는 또한 thalassemia, 동맥경화증, 관상 동맥 질환에서 증가하며,¹⁷⁻²⁰⁾ sarcoidosis나 간질성 폐섬유화 환자의 기관지폐포세척액에서도 증가되어 있다.²¹⁾ 최근, Seibold 등은 흡연자의 기도 내에서 증가하는 주요 chitinase가 CHIT1임을 증명하였다.²²⁾

3. Chitinase 3-like 1 (CHI3L1)

Chitinase-like protein인 chitinase 3-like 1 (CHI3L1, YKL-40)은 마우스 지방암 세포에서 처

음 발견되어 breast regression protein 39 (BRP-39)으로 명명되었다. CHI3L1은 chitin에 결합하지만, CHIT1이나 AMCCase와 달리 chitin과 독립된 내인성 기능을 가진다. 인체에서 CHI3L1은 많은 장기의 항상성 유지에 중요한 역할을 한다. CHI3L1은 monocyte, macrophage, neutrophil, 배양된 chondrocyte 및 synovial cell에서 생성되어 세포 증식 및 생존에 관여하고, 피부, lung fibroblast와 synoviocyte에 mitogenic effect를 가진다.⁷⁾ CHIT1과 유사하게 CHI3L1은 건강한 사람의 인체 내에 존재하며 여러 질병 상태에서 증가한다. CHI3L1치의 증가는 폐암,²³⁾ 유방암,²⁴⁾ 흑색종²⁵⁾ 등의 악성종양이나 화농성 수막염,²⁶⁾ 지역사회폐렴²⁷⁾ 등의 염증 및 류머티스성 관절염, 골관절염에서 관찰된다.²⁸⁾ CHI3L1치는 류머티스성 관절염이나 골관절염에서 질병의 활성도와 상관관계를 보이며, 간경화증이나 류머티스성 관절염에서 조직 개형과도 상관관계를 가진다.²⁹⁾ 최근 BRP-39 knockout mice를 이용한 연구에서 난백 감작 및 자극 시에 Th2 염증이 감소하고 염증 세포의 apoptosis가 증가함이 보고 되었다.³⁰⁾ 이런 표현형은 knockout mice의 기도 내에 YKL-40를 과발현시켰을 때 회복되는 것으로 미루어 YKL-40/BRP-39이 중요한 면역 조절자로서의 역할을 가짐을 시사한다. 또한 Chupp 등은 천식 환자의 혈청 내에 CHI3L1가 증가되어 있으며 질환의 중증도와 상관관계를 가진다는 사실을 보고하였다.³¹⁾ 혈청 내의 CHI3L1치는 기도 생검 조직의 CHI3L1발현과 양의 상관관계를 가지며 기저막 비후 및 1초간 노력성 호기량 (FEV1)과는 음의 상관 관계를 보였다. 이러한 결과들은 CHI3L1이 천식의 병인 기전에 중요한 역할을 한다는 것을 의미한다.

Chitinase 3-like 1 (CHI3L1)의 유전학적 연구

CHI3L1 유전자는 chromosome 1q32.1에 위치하며 10개의 exon을 가지고 있다. 이 유전자의 하

나 이상의 polymorphism과 YKL치 및 질병 표현형과의 관련성들이 보고되고 있는데, 주로 promoter 부위의 세가지 single-nucleotide polymorphisms (SNPs)인 -131C/G (rs4950928),³²⁻³⁴⁾ -247C/T (rs10399805)와³⁵⁾ -329G/A (rs10399931)이³⁶⁾ YKL-40의 혈청치와 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 특히 -131C/G와 -247C/T의 두 promoter SNPs은 YKL-40 혈청치 감소와 함께 luciferase assay에서 transcription이 감소되는 기능적 변화도 관찰된다.^{32, 35)} 이 두 SNPs은 아프리카인에서는 연관불평형상태(linkage disequilibrium)를 보이지만($r^2=0.46$), 한국인이나 유럽인에서는 연관불평형상태를 보이지 않는다. 첫 번째 SNP인 -131G allele은 중국인에서 정신분열병의 위험도와 관련이 있고,³²⁾ 유럽인과 백인 미국인에서 천식이나 기관지 과민성의 감소와 관련되며,³⁴⁾ 유럽인에서 C형 간염에 의한 간섬유화의 중증도 증가와도 연관성이 보고되었다.³³⁾ 그러나 한국인 어린이나³⁵⁾ 백인 미국인 어린이에서는³⁷⁾ 천식과의 관련성은 보이지 않았다. 또한 -247T allele은 본 저자의 연구에서 한국인 어린이의 혈청 YKL-40치와 총 IgE치의 증가 및 아토피 발현과 유의한 상관관계를 보였으며,³⁵⁾ 유럽인과 백인 미국인에서도 YKL-40치와 관련을 보였다.³⁴⁾ 하지만, 네덜란드인과³⁶⁾ 중국인에서는³²⁾ YKL-40치와 관계가 없었다. 세 번째 promoter SNP인 -329G/A는 유럽인과 아프리카인에서 -131C/G SNP과 연관불평형상태를 보이며, Kruit 등은 -329A allele이 낮은 YKL-40치와 연관되지만 sarcoidosis 발현과는 관련이 없다고 보고하였다.³⁶⁾

결 론

Chitinase와 chitinase-like protein은 염증 질환에 기여하는 새로운 조절자로서의 기능을 가지고 있는 것으로 규명되고 있다. 기능적인 연구와 유전학적 연구 모두 CHI3L1이나 AMCCase가 알레르기 질환의 병인 기전에 관여함을 시사한다. 또한

CHI3L1 유전자에서 적어도 두 개의 기능적인 promoter 변이들이 혈청 YKL-40치뿐만 아니라 알레르기 질환 및 다른 면역 관련 질환의 발현과도 관련이 있는 것으로 보고되고 있다. 알레르기 질환 및 염증 질환의 병인기전에서 chitin, chitinase 및 chitinase-like protein의 정확한 생물학적 기능을 이해하기 위해 앞으로 알레르기 면역 반응과 조직 개형에서 chitin과 chitinase 및 chitinase-like protein의 상호작용이나 근본적인 신호전달 등이 규명되어야 할 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

- 1) Lee CG, Da Silva CA, Lee JY, Hartl D, Elias JA. Chitin regulation of immune responses: an old molecule with new roles. *Curr Opin Immunol* 2008;20:684-9.
- 2) Wills-Karp M, Karp CL. Chitin checking--novel insights into asthma. *N Engl J Med* 2004;351:1455-7.
- 3) Fuhrman JA, Piessens WF. Chitin synthesis and sheath morphogenesis in *Brugia malayi* microfilariae. *Mol Biochem Parasitol* 1985;17:93-104.
- 4) Vogan CL, Costa-Ramos C, Rowley AF. Shell disease syndrome in the edible crab, *Cancer pagurus*: isolation, characterization and pathogenicity of chitinolytic bacteria. *Microbiology* 2002;148:743-54.
- 5) Burton OT, Zacccone P. The potential role of chitin in allergic reactions. *Trends Immunol* 2007;28:419-22.
- 6) Muzzarelli RA. Human enzymatic activities related to the therapeutic administration of chitin derivatives. *Cell Mol Life Sci* 1997;53:131-40.
- 7) Ober C, Chupp GL. The chitinase and chitinase-like proteins: a review of genetic and functional studies in asthma and immune-mediated diseases. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009;9:401-8.
- 8) Renkema GH, Boot RG, Strijland A, Donker-Koopman WE, van den Berg M, Muijsers AO, et al. Synthesis, sorting, and processing into distinct isoforms of human macrophage chitotriosidase. *Eur J Biochem* 1997;244:279-85.
- 9) Renkema GH, Boot RG, Au FL, Donker-Koopman WE, Strijland A, Muijsers AO, et al. Chitotriosidase, a chitinase, and the 39-kDa human cartilage glycoprotein, a chitin-binding lectin, are homologues of family 18 glycosyl hydrolases secreted by human macrophages. *Eur J Biochem* 1998;251:504-9.
- 10) Lee CG. Chitin, chitinases and chitinase-like proteins in allergic inflammation and tissue remodeling. *Yonsei Med J* 2009;50:22-30.
- 11) Yan Z, Lambert NC, Guthrie KA, Porter AJ, Loubiere LS, Madeleine MM, et al. Male microchimerism in women without sons: quantitative assessment and correlation with pregnancy history. *Am J Med* 2005;118:899-906.
- 12) Boot RG, Blommaert EF, Swart E, Ghauharali-van der Vlugt K, Bijl N, Moe C, et al. Identification of a novel acidic mammalian chitinase distinct from chitotriosidase. *J Biol Chem* 2001;276:6770-8.
- 13) Aguilera B, Ghauharali-van der Vlugt K, Helmond MT, Out JM, Donker-Koopman WE, Groener JE, et al. Transglycosidase activity of chitotriosidase: improved enzymatic assay for the human macrophage chitinase. *J Biol Chem* 2003;278:40911-6.
- 14) Zhu Z, Zheng T, Homer RJ, Kim YK, Chen NY, Cohn L, et al. Acidic mammalian chitinase in asthmatic Th2 inflammation and IL-13 pathway activation. *Science* 2004; 304:1678-82.
- 15) Reese TA, Liang HE, Tager AM, Luster AD, Van Rooijen N, Voehringer D, et al. Chitin induces accumulation in tissue of innate immune cells associated with allergy. *Nature* 2007;447:92-6.
- 16) Schoonhoven A, Rudensky B, Elstein D, Zimran A, Hollak CE, Groener JE, et al. Monitoring of Gaucher patients with a novel chitotriosidase assay. *Clin Chim Acta* 2007;381:136-9.
- 17) Lalaker A, Nkrumah L, Lee WK, Ramanathan M, Lane AP. Chitin stimulates expression of acidic mammalian chitinase and eotaxin-3 by

- human sinonasal epithelial cells in vitro. *Am J Rhinol Allergy* 2009;23:8-14.
- 18) Kurt I, Abasli D, Cihan M, Serdar MA, Olgun A, Saruhan E, et al. Chitotriosidase levels in healthy elderly subjects. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1100:185-8.
- 19) Artieda M, Cenarro A, Ganan A, Jerico I, Gonzalvo C, Casado JM, et al. Serum chitotriosidase activity is increased in subjects with atherosclerosis disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23:1645-52.
- 20) Artieda M, Cenarro A, Ganan A, Lukic A, Moreno E, Puzo J, et al. Serum chitotriosidase activity, a marker of activated macrophages, predicts new cardiovascular events independently of C-reactive protein. *Cardiology* 2007; 108:297-306.
- 21) Grosso S, Margollicci MA, Bargagli E, Buccoliero QR, Perrone A, Galimberti D, et al. Serum levels of chitotriosidase as a marker of disease activity and clinical stage in sarcoidosis. *Scand J Clin Lab Invest* 2004;64:57-62.
- 22) Seibold MA, Donnelly S, Solon M, Innes A, Woodruff PG, Boot RG, et al. Chitotriosidase is the primary active chitinase in the human lung and is modulated by genotype and smoking habit. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122:944-50 e3.
- 23) Junker N, Johansen JS, Andersen CB, Kristjansen PE. Expression of YKL-40 by peritumoral macrophages in human small cell lung cancer. *Lung Cancer* 2005;48:223-31.
- 24) Johansen JS, Cintoni C, Jorgensen M, Kamby C, Price PA. Serum YKL-40: a new potential marker of prognosis and location of metastases of patients with recurrent breast cancer. *Eur J Cancer* 1995; 31A:1437-42.
- 25) Schmidt K, Kraft HG, Parson W, Utermann G. Genetics of the Lp(a)/apo(a) system in an autochthonous Black African population from the Gabon. *Eur J Hum Genet* 2006; 14:190-201.
- 26) Kronborg G, Ostergaard C, Weis N, Nielsen H, Obel N, Pedersen SS, et al. Serum level of YKL-40 is elevated in patients with *Streptococcus pneumoniae* bacteremia and is associated with the outcome of the disease. *Scand J Infect Dis* 2002; 34:323-6.
- 27) Nordenbaek C, Johansen JS, Junker P, Borregaard N, Sorensen O, Price PA. YKL-40, a matrix protein of specific granules in neutrophils, is elevated in serum of patients with community-acquired pneumonia requiring hospitalization. *J Infect Dis* 1999;180:1722-6.
- 28) Volck B, Johansen JS, Stoltenberg M, Garbarsch C, Price PA, Ostergaard M, et al. Studies on YKL-40 in knee joints of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Involvement of YKL-40 in the joint pathology. *Osteoarthritis Cartilage* 2001;9:203-14.
- 29) Fontana RJ, Goodman ZD, Dienstag JL, Bonkovsky HL, Naishadham D, Sterling RK, et al. Relationship of serum fibrosis markers with liver fibrosis stage and collagen content in patients with advanced chronic hepatitis C. *Hepatology* 2008;47:789-98.
- 30) Lee CG, Hartl D, Lee GR, Koller B, Matsuura H, Da Silva CA, et al. Role of breast regression protein 39 (BRP-39)/chitinase 3-like-1 in Th2 and IL-13-induced tissue responses and apoptosis. *J Exp Med* 2009;206:1149-66.
- 31) Chupp GL, Lee CG, Jarjour N, Shim YM, Holm CT, He S, et al. A chitinase-like protein in the lung and circulation of patients with severe asthma. *N Engl J Med* 2007;357:2016-27.
- 32) Zhao X, Tang R, Gao B, Shi Y, Zhou J, Guo S, et al. Functional variants in the promoter region of Chitinase 3-like 1 (CHI3L1) and susceptibility to schizophrenia. *Am J Hum Genet* 2007;80:12-8.
- 33) Berres ML, Papen S, Pauels K, Schmitz P, Zaldivar MM, Hellerbrand C, et al. A functional variation in CHI3L1 is associated with severity of liver fibrosis and YKL-40 serum levels in chronic hepatitis C infection. *J Hepatol* 2009;50:370-6.
- 34) Ober C, Tan Z, Sun Y, Possick JD, Pan L, Nicolae R, et al. Effect of variation in CHI3L1 on serum YKL-40 level, risk of asthma, and lung function. *N Engl J Med* 2008;358:1682-91.
- 35) Sohn MH, Lee JH, Kim KW, Kim SW, Lee SH, Kim KE, et al. Genetic variation in the promoter region of chitinase 3-like 1 is associated with atopy. *Am J Respir Crit Care Med*

- 2009;179:449-56.
- 36) Kruit A, Grutters JC, Ruven HJ, van Moorsel CC, van den Bosch JM. A CHI3L1 gene polymorphism is associated with serum levels of YKL-40, a novel sarcoidosis marker. *Respir Med* 2007;101:1563-71.
- 37) Himes BE, Hunninghake GM, Baurley JW, Rafaels NM, Sleiman P, Strachan DP, et al. Genome-wide association analysis identifies PDE4D as an asthma-susceptibility gene. *Am J Hum Genet* 2009;84:581-93.