

AMCoR

Asahikawa Medical College Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

分子消化器病 (2004.06) 1巻2号:149~155.

消化管粘膜免疫の分子機構を探る
—自然免疫と獲得免疫のクロストーク—
自然免疫においてMBLはどのような役割を果たすのか?

若宮伸隆

自然免疫において MBL はどのような 役割を果たすのか？

若宮伸隆*

KEY WORDS

MBL, コレクチン, 補体, 微生物, 多量体構造

SUMMARY

動物レクチンはカルシウム依存性レクチン(C型レクチン)と非依存性レクチンの2つに大別できる。コレクチンは内部構造にC型レクチンとコラーゲン様構造をもつ蛋白質の総称であり、その代表的な蛋白質としてマンナン結合レクチン(mannan-binding lectin: MBL)が知られている。MBLは、ヒトにおいてその遺伝子のSNP(single nucleotide polymorphism)による欠損症がおり、そのために易感染性を呈する家系の存在が明らかになっている。in vitroの実験系と疫学的な研究により、最近明らかになった自然免疫にかかわるMBLの機能や役割について概説する。

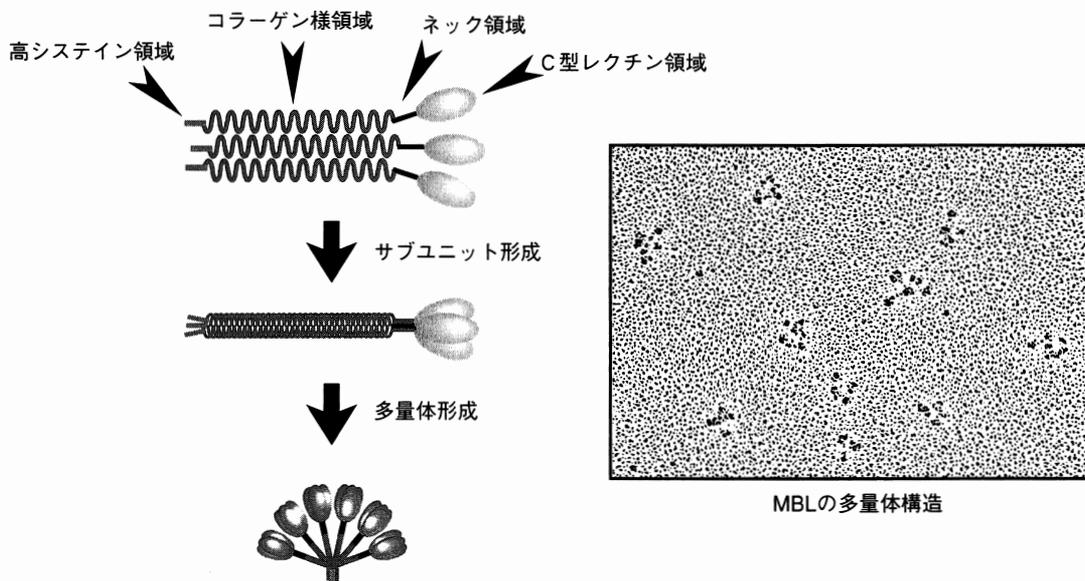
はじめに

近年の免疫学領域への分子生物学の導入により、T、Bリンパ球、免疫グロブリンなどを中心とする特異性の高い認識システムである獲得免疫の機構が明らかにされた。しかし、実際の生体ではそれらの特異免疫ばかりではなく自然免疫[マクロファージ、NK細胞、補体系、コレクチン、抗菌ペプチド defensin、Toll-like receptor (TLR)を介する免疫システム]が感染症に対する基礎免疫を担っている可能性が再評価されている。われわれの最近の研究も加えて、コレクチンで最も研究が進んでいるマンナン結合レクチン(mannan-binding lectin: MBL)を中心に、その自然免疫における役割について概説する。

MBL分子の構造について

MBLは、植物レクチンに対応する動物レクチンの一部として、1980年京都大学の川堺らにより動物血清レクチンの一種としてマンナン結合蛋白質(mannan-bind-

* WAKAMIYA Nobutaka/旭川医科大学微生物学講座



図① コレクチンの構造と多量体構造

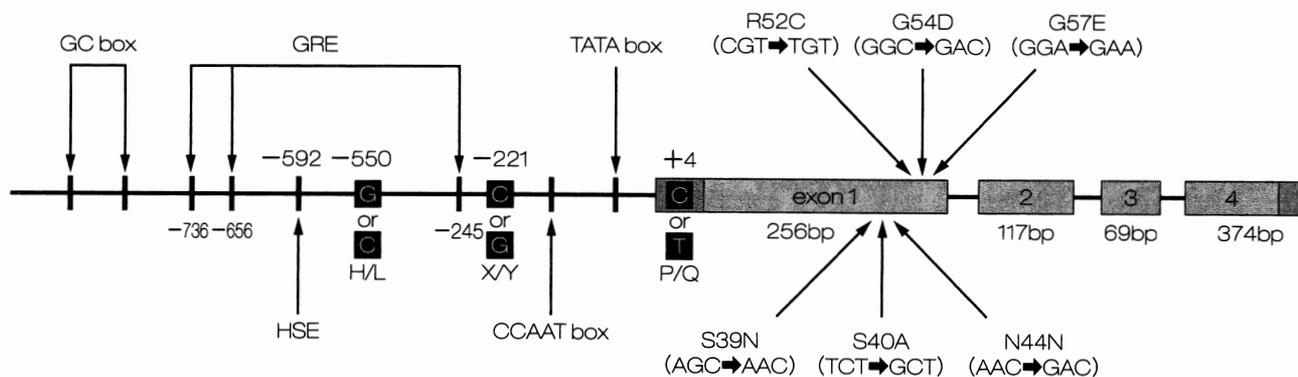
コレクチンはN末端側から高システイン領域、コラーゲン様領域、ネック領域、C型レクチン領域から構成される。3本がネック領域の α ヘリックスにおける疎水性結合により束ねられ、コラーゲン様領域によって3重らせん構造となりサブユニットを形成する。このサブユニットが2~6個、高システイン領域においてジスルフィド結合することにより多量体を形成する。電子顕微鏡観察によるMBLの多量体構造。
(日本臨床検査医学会中国四国支部会誌 17, 2002より改変引用)

ing protein: MBP) (別名 mannan-binding lectin マンナン結合レクチン, 本稿では MBL を用いる)として報告された¹⁾。その後, このような内部にコラーゲン様構造とカルシウム依存性のレクチン(C型レクチン)をもつ蛋白質のグループをコレクチン (collectin=collagen+lectin) と名づけられた²⁾。コレクチンは, 現在その遺伝子構造が明らかになり6つのグループに分類されることが提唱されている。①マンナン結合レクチングループ (mannan-binding lectin: MBL)¹⁾, ②サーファクタント蛋白Aグループ (surfactant protein A: SP-A)³⁾, ③サーファクタント蛋白Dグループ (surfactant protein D: SP-D)⁴⁾, ④CL-L1グループ (collectin liver-1)⁵⁾, ⑤CL-P1グループ (collectin placenta-1)⁶⁾, ⑥CL-K1グループ (collectin kidney-1) (未発表)が存在する。コレクチン分子は, 30~45 kDaの3本のポリペプチドがネック領域の疎水性アミノ酸と隣接するコラーゲン様領域によりヘリックス構造を形成する(図①)。また, 結晶解析のデータより3つのC型レクチン領域が1つの結合面を形づくることによりさらに総合的な結合力を増加させていると理解されている。このサブユニットが基本

単位となり, MBLでは, 2~6量体でブーケ様のユニークなオリゴマー構造をとることが電子顕微鏡での観察から明らかになっている(図①)。

MBLの遺伝子多型と易感染性の関連性は?

1989年に, Turnerら⁷⁾により小児においてオプソニン不全としての易感染症とMBL欠損との関連が報告され, 引き続きN末端領域やコラーゲン様領域の遺伝子の点変異にもとづくアミノ酸置換 (major variant コドン R 52 C, G 57 E, G 54 Dと新しく発見された minor variant コドン S 39 N, S 40 A, N 44 N)(図②)が明らかにされた。この遺伝子変異は民族によって偏りがみられ, 地域における病原因子によるバイアスや太古の民族移動と分布がよく一致している。これらの変異とともに血中濃度に重要な役割を果たしているのは, MBL遺伝子のプロモーター領域 (H/L, X/Y, P/Q)の一塩基変異による遺伝子多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) であると考えられている。これらの領域も民族間で異なっていることが報告されている。現在MBLの血中濃度は, コラーゲン領域の遺伝子点変異とプロモ-



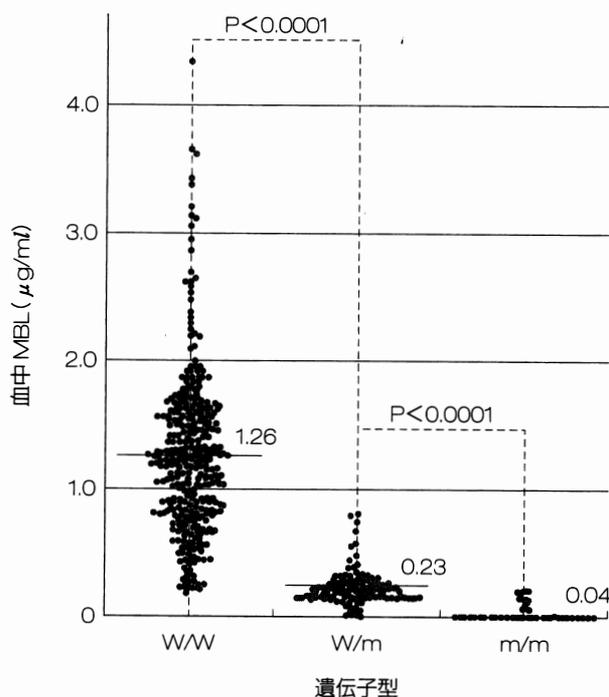
図② MBL のゲノム構造と SNPs

MBL の血中濃度に重要な役割を果たすプロモーター領域 (H/L, X/Y, P/Q) および ORF (コドン 52, 54, 57) における SNPs.
(蛋白質 核酸 酵素 45, 2000 より改変引用)

ター領域の SNP の組み合わせにより決定していると考えられている⁸⁾。MBL 欠損症は家族内集積が認められることより、家系調査の結果 MBL 遺伝子のコラーゲン領域の点変異と欠損症が高くリンクしており、成人においても易感染性を呈することが明らかになっている。われわれは日本人における MBL の血中濃度とその遺伝子変異について健康人ボランティアを募り、測定してみた。その結果日本人における遺伝子変異の比率 (N=479) は、Wild/Wild (W/W) (70.8%), W/mutation (W/m) (22.5%), m/m (6.7%) であり、遺伝子変異はすべてコドン 54 にのみ認められた (図③)⁹⁾。血中濃度はそれぞれのグループで、W/W (1.26 $\mu\text{g/ml}$), W/m (0.23 $\mu\text{g/ml}$), m/m (0.04 $\mu\text{g/ml}$) であった。この変異のパターンは中国人、エスキモーらの日本民族の祖先のパターンと類似している。

MBL の生理機能とその役割とは何か?

自然免疫の大きな特徴として、物質を高い特異性で認識するのではなく一定のくり返しパターンをもったものを異物として認識することが推測されている。このパターン認識による免疫監視経路のうちの1つとして現在急速に研究が展開されているものに Toll-like receptor (TLR) がある¹⁰⁾。この分子は細菌のリポ多糖、非メチル化 CpG モチーフ含有 DNA, リポ蛋白質, フラジェリンなどを認識して細胞内へシグナル伝達をおこない、サイトカインの分泌などの細胞応答を誘導する受容体型分子である。一方コレクチンは、微生物表面に多く存在する



図③ 日本人の健康人における MBL のコドン 54 の遺伝子型と血中濃度の分布

日本人健康人ボランティア 479 人 (17~89 歳の男性 177 人, 女性 302 人) の MBL のコドン 54 の遺伝子型と血中濃度の関係をグラフで示した。
(Keshi H *et al*, 2000⁹⁾より改変引用)

糖鎖をパターン認識し、直接的にエフェクターとして基礎免疫にかかわっていると考えられている。また、MBL は補体の活性化を導く能力があり糖認識領域で異物と結合し、これに蛋白質分解酵素であるマンナン結合レクチン関連セリンプロテアーゼ (MASP)¹¹⁾などが結合し補体を活性化するものであり、藤田、川上らの日本人によ

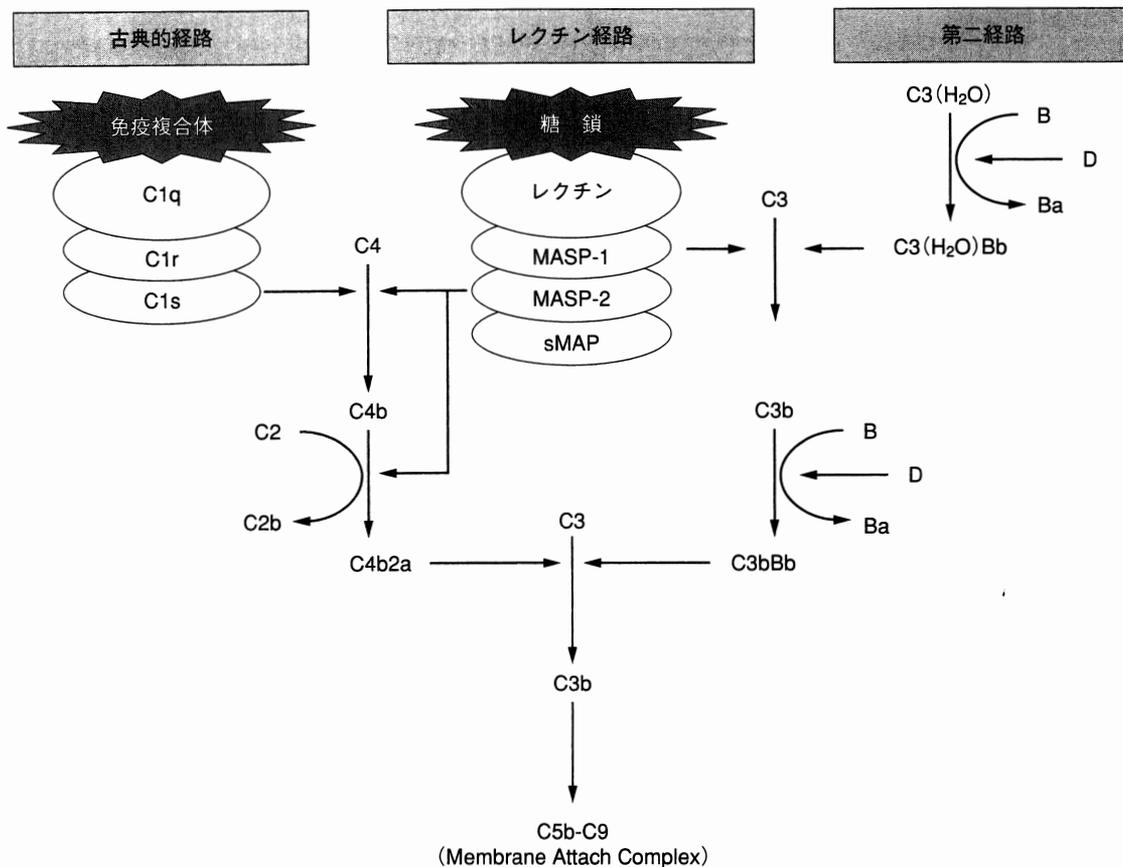


図4 補体活性化経路とその分子機構
 補体活性化経路には、古典経路、第二経路、最近新たに見出された MBL が関与するレクチン経路がある。
 [Surgery Frontier 8 (3), 2001 より改変引用]

てその存在が明らかにされている。本経路は、抗体を用いる古典経路や血清因子からはじまる第2経路とともに、現在レクチン経路(第3経路)と命名されている(図4)。この経路では補体第3因子(C3)、第4因子(C4)を介する経路とともに活性化できることが証明されており、藤田らによってホヤなどの原索動物にすでに MASP の存在が明らかになっており、補体系の重要な律速因子であると考えられている。一方 MBL は、異物と結合してオプソニンとしてはたらき白血球などに異物を取り込ませ処理できると考えられている。異物取り込みの際の細胞側のレセプターについてはさまざまな報告があるが、現在のところ補体レセプター-CR1、C1qR などが有力候補と考えられている。オプソニンとともに重要なのは、原始的な凝集活性である。これは、レクチンの多価の結合手による結合で単に凝集塊を形成するだけでなく、異物としての密度を高めることで物理的に排除しやすい大

きに整えるものである。また、川崎、志田らは、ヒト MBL をワクチニアウイルスに組み込んだ治療用ウイルスベクターを開発し、担癌マウスの癌局部に注射することによって癌を縮小できるというユニークな現象を見出している¹²⁾。本活性は MASP 結合活性のない MBL においても、抗腫瘍活性が変化しないために、補体系の関与はなく第3の細胞の関与が予測され、抗微生物とは別の抗癌という新しい可能性を示している。

つぎに、個々の微生物に対する役割について、くわしく説明する。グラム陰性菌では、MBL は細菌表面のリポ多糖(lipopolysaccharide : LPS)上の糖鎖構造を認識すると考えられている。実際にサルモネラ菌と MBL を用いた研究によれば、MBL の結合は smooth 型の LPS をもつ菌株に対してはみられないが O 抗原を欠いた rough 型の LPS に対してはみられるとの報告がある¹³⁾。また MBL は淋菌 LPS へは結合するが、これにシ

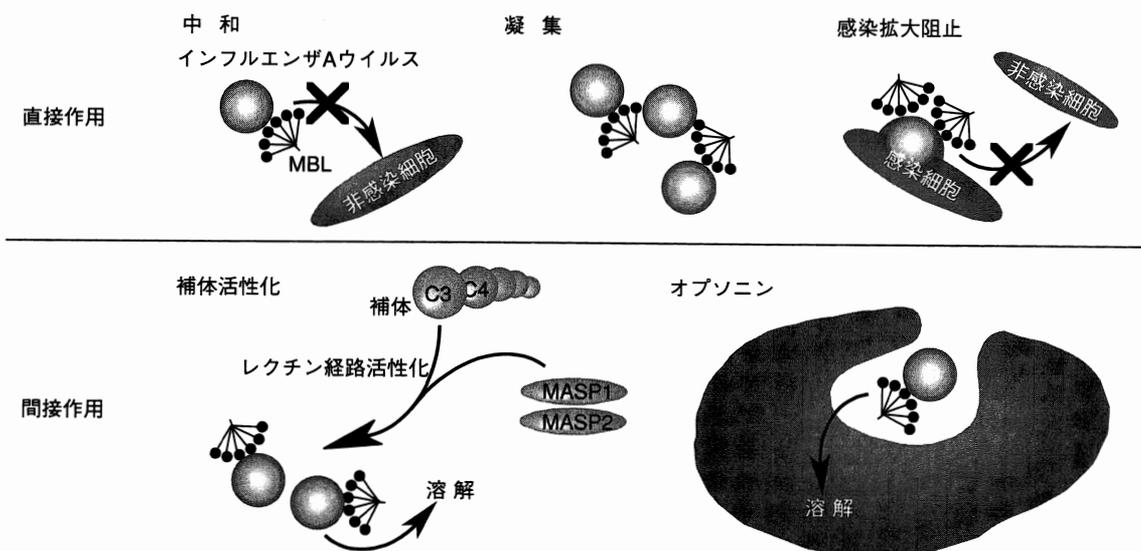


図5 コレクチンの生体防御(自然免疫)機能
異物との直接作用として、中和、凝集、感染拡大阻止作用があり、間接作用として、補体活性化作用およびオプソニンとしての役割がある。
(日本臨床検査医学会中国四国支部会誌 17, 2002 より改変引用)

アル酸が付加すると結合が著しく低下することも報告されている。さらにこれらの菌の変異体あるいは糖鎖関連遺伝子ノックアウト株を用いた詳細な研究により MBL の結合部位が LPS のコア領域であることが明らかとなっている。

一方、グラム陽性菌上の標的はリボマンナンまたはグルコース置換型のリポテイコ酸であることが報告されている。グラム陰性、陽性どちらの細菌においても莢膜を有する菌株にくらべて莢膜をもたないものに対する MBL の結合が高い傾向を示している。さらに、Nethらによりさまざまな病原細菌に対する MBL の結合と補体の菌体上への沈着が観察されており *glycosyltransferase* 遺伝子を欠損したプルセラ菌に対して MBL は補体のカスケードを活性化させ殺菌的にはたらくことが報告されている。これらの細菌とは性質を異にするものとして、結核菌が属する抗酸菌があげられる。この細菌の表面にはリポアラビノマンナンとアラビノガラクトタンとよばれる多糖構造およびフェノール性糖脂質、コードファクター (trehalose-dimycolate) とよばれる長鎖脂肪酸と糖の複合体が存在する。MBL はこれらのうちリポアラビノマンナンに強く結合する。しかし、結核菌を含む抗酸菌感染においてはむしろ逆の現象が想定される。つまり、抗酸菌感染において MBL は感染防御ではなくむしろ感

染の助長にはたらいっている可能性がある。このことは結核性髄膜炎に罹患していないグループが罹患したグループにくらべて MBL の 54 番目のアミノ酸変異率が高かったことからもうかがわれる。つまり、MBL の生体内濃度が低いグループが結核性髄膜炎に罹患しにくいものと推測されている。

ウイルス感染症とコレクチンのかわりに関しては、多岐のウイルスにわたって報告されているが、ここではインフルエンザ A ウイルスを中心にウイルス感染制御メカニズムについて述べる。インフルエンザ A ウイルスの赤血球凝集阻止 (HI) 活性を担う物質として α , β , γ の 3 種の血清内因性インヒビターの存在が知られていた。われわれは β インヒビターの本体がコレクチンであることを明らかにし¹⁴⁾、組換え MBL を用いて補体の関与なしに、インフルエンザ A ウイルスに直接に中和を起し、感染拡大阻止活性を明らかにした¹⁵⁾。MBL がインフルエンザ A ウイルスに対して中和活性を有するのみでなくオプソニンとしてはたらくことや補体依存的にインフルエンザ A ウイルスが溶解されるメカニズムも明らかになっている。このほかにも MBL やコレクチンが感染防御効果あるいは病状進展阻止能を発揮する可能性が考えられるウイルス感染症は、エイズウイルス、RS ウイルス、アデノウイルス、B, C 型肝炎ウイルス(慢性活

動性肝炎あるいは肝癌への移行)などの報告がある。

細菌, ウイルスにくらべてカビ, 原虫, 寄生虫などの真核病原体とコレクチンの関連に関する報告はそれほど多くない。マラリアにおいては MBL の血中濃度および 54, 57 番目のアミノ酸置換(この部位の変異により MBL の血中濃度は低下する)と病状の重篤さに相関があることが報告されている¹⁶⁾。

感染症以外では, 欧米人に多い遺伝病の 1 つである嚢胞性繊維症 (cystic fibrosis) の患者において, MBL 遺伝子変異のある人は, 肺での感染症を重症化させ長期生存率を悪化させることが報告されており, MBL 補充療法が肺感染症予防に利用できる可能性を指摘している¹⁷⁾。デンマークの Jensenius ら¹⁸⁾が, 易感染性を訴えていた MBL 欠損患者への補充療法による, 症状の好転を報告している。その後 Jensenius や Turner のグループは, 小児の悪性疾患の発熱や有病期間に MBL が重要な役割をするとして, γ グロブリン, G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor) につぐ第 3 の免疫補充薬として MBL を治療薬として利用しようとする報告があいついでいる¹⁹⁾²⁰⁾。

おわりに

現在考えられている自然免疫におけるコレクチンの役割をまとめた(図 5)。2002 年国際レクチン会議(コペンハーゲン)で, コレクチンのセッションが開かれた。方向性としては, MBL がどう病態に関与するのではなく, どのような病態に, どのようなかたちで治療薬として投与されるかを探る時期に移ってきた印象を受けた。2004 年 5 月に同学会は日本で開かれ, さらに進展した MBL 研究の報告が予想され, わが国の研究者のより一層の貢献が期待される。



文 献

- 1) Kozutsumi Y, Kawasaki T, Yamashina I : Isolation and characterization of a mannan-binding protein from rabbit serum. *Biochem Biophys Res Commun* **95** : 658-664, 1980
- 2) Malhotra R, Haurum J, Thiel S *et al* : Interaction of C1q receptor with lung surfactant protein A. *Eur J Immunol* **22** : 1437-1445, 1992
- 3) White RT, Damm D, Miller J *et al* : Isolation and characterization of the human pulmonary surfactant apoprotein gene. *Nature* **317** : 361-363, 1985
- 4) Persson A, Chang D, Rust K *et al* : Purification and biochemical characterization of CP4 (SP-D), a collagenous surfactant-associated protein. *Biochemistry* **28** : 6361-6367, 1989
- 5) Ohtani K, Suzuki Y, Eda S *et al* : Molecular cloning of a novel human collectin from liver (CL-L1). *J Biol Chem* **274** : 13681-13689, 1999
- 6) Ohtani K, Suzuki Y, Eda S *et al* : The membrane-type collectin CL-P1 is a scavenger receptor on vascular endothelial cells. *J Biol Chem* **276** : 44222-44228, 2001
- 7) Super M, Thiel S, Lu J *et al* : Association of low levels of mannan-binding protein with a common defect of opsonisation. *Lancet* **ii** : 1236-1239, 1989
- 8) Madsen HO, Garred P, Thiel S *et al* : Interplay between promoter and structural gene variants control basal serum level of mannan-binding protein. *J Immunol* **155** : 3013-3020, 1995
- 9) Keshi H, Ohtani K, Sakamoto T *et al* : Mannan-binding lectin gene polymorphisms and plasma levels in Japanese. *医学のあゆみ* **194** : 957-958, 2000
- 10) Akira S, Takeda K, Kaisho T : Toll-like receptors : critical proteins linking innate and acquired immunity. *Nat Immunol* **2** : 675-680, 2001
- 11) Matsushita M, Fujita T : Activation of the classical complement pathway by mannose-binding protein in association with a novel C1s-like serine protease. *J Exp Med* **176** : 1497-1502, 1992
- 12) Ma Y, Uemura K, Oka S *et al* : Antitumor activity of mannan-binding protein *in vivo* as revealed by a virus expression system : mannan-binding protein dependent cell-mediated cytotoxicity. *Proc Natl Acad Sci USA* **96** : 371-375, 1999
- 13) Devyatyarova-Johnson M, Rees IH, Robertson BD *et al* : The lipopolysaccharide structures of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Neisseria gonorrhoeae* determine the attachment of human mannose-binding lectin to intact organisms. *Infect Immun* **68** : 3894-3899, 2000
- 14) Wakamiya N, Okuno Y, Sasao F *et al* : Isolation and characterization of conglutinin as an influenza A virus inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun* **187** : 1270-

- 1278, 1992
- 15) Kase T, Suzuki Y, Kawai T *et al* : Human mannan-binding lectin inhibits the infection of influenza A virus without complement. *Immunology* **97** : 385-392, 1999
- 16) Luty AJ, Kun JF, Kremsner PG : Mannose-binding lectin plasma levels and gene polymorphisms in Plasmodium falciparum malaria. *J Infect Dis* **178** : 1221-1224, 1998
- 17) Garred P, Pressler T, Madsen HO *et al* : Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. *J Clin Invest* **104** : 431-437, 1999
- 18) Valdimarsson H, Stefansson M, Vikingsdottir T *et al* : Reconstitution of opsonizing activity by infusion of mannan-binding lectin (MBL) to MBL-deficient humans. *Scand J Immunol* **48** : 116-123, 1998
- 19) Neth O, Hann I, Turner MW *et al* : Deficiency of man-
- nose-binding lectin and burden of infection in children with malignancy : a prospective study. *Lancet* **358** : 614-618, 2001
- 20) Peterslund NA, Koch C, Jensenius JC *et al* : Association between deficiency of mannose-binding lectin and severe infections after chemotherapy. *Lancet* **358** : 637-638, 2001

わかみや・のぶたか

若宮伸隆 旭川医科大学微生物学講座教授
大阪府生まれ。

1980年、弘前大学医学部卒業、1986年、大阪大学大学院医学系研究科修了、1988年、大阪大学微生物病研究所助手、2000年、旭川医科大学微生物学講座教授、現在に至る。専門は、生化学、微生物学。研究テーマは、コレクチン分子の機能解析と医学への応用。趣味は、大阪ではソフトボール、現在(旭川)ではスキー。
