

炎症性腸疾患好発部位におけるフコシル化糖鎖の発現

菅原 大介

杏林大学医学部解剖学教室

【背景と目的】

潰瘍性大腸炎（UC）とクローン病（CD）は、近年患者数が増加する慢性・難治性の炎症性腸疾患（IBD）である。遺伝的素因に加え、腸内細菌などの環境因子、免疫系の異常、これらのバランスの破綻が病因として考えられる。IBD病変は腸管の特定部位に好発するが、その分子背景も含め、発病に至る分子メカニズムは多くは不明である。

タンパク質の糖鎖修飾の1つであるフコシル化糖鎖はIBDへの関与が強く予想されている¹⁾。先に筆者らは、*Burkholderia cenocepacia*由来のレクチンであるrBC2LCNが認識するフコシル糖鎖（Fucα1, 2Galβ1, 3-を非還元末端にもつ、Hタイプ-1/-3）が、腸管陰窩底のニッチ細胞に特異な発現をすることを見出した²⁾。ニッチ細胞は、幹細胞周囲の微小環境（ニッチ）を構成し、幹細胞の増殖・分裂の制御に深く関与する。このようなニッチ細胞における特異な発現から、rBC2LCNが認識するフコシル化糖鎖はニッチ細胞において重要な役割を演じることが考えられたが、IBDとの関連は未検討であった。そこで本研究では、UC病変が大腸の特定部位に好発する分子背景として、大腸の近位部～遠位部におけるフコシル化糖鎖の発現の差異が関係するか、マウスをモデルとして検討した。

【研究成果】

まず、マウス大腸を結腸から直腸まで近位～遠位軸方向に4つに分けて凍結切片を作成し、rBC2LCNによるレクチン染色を行った。陰窩底においてrBC2LCNに反応する上皮細胞に着目し、大腸各部位における差異を検討した。大腸では、rBC2LCNに反応する上皮細胞はc-Kitを発現することからニッチ細胞であると考えられた。しかし、rBC2LCNは全てのc-Kit陽性細胞に反応せず、一部のc-Kit陽性細胞のみに反応した（図1）。さらにrBC2LCNに反応

するc-Kit陽性細胞数は大腸の部位により異なることが分かった。rBC2LCNに反応するc-Kit陽性細胞数は、結腸近位部では少なく、結腸中位部において反応する細胞数は増加した。一方、結腸遠位部においてその細胞数は減り、さらに直腸ではrBC2LCNに反応するc-Kit陽性細胞は確認できなかった。また、腸管の内腔に面した上皮細胞に対するrBC2LCNの反応は、結腸近位部では検出されなかったが、遠位部では刷子縁に対する反応が上昇し、直腸においてはその反応はより顕著であった。

Hタイプ-1/-3と、それら以外のフコシル化糖鎖（Hタイプ-2, Lewis Xやα1, 6コアフコース）の発現を比較するため、UEA-I, AALといったrBC2LCN以外のレクチン（表1）を用いて同様に大腸でのレクチン染色を行った。これらのレクチンは杯細胞の分泌顆粒と内腔に面した上皮細胞の刷子縁に反応したが、いずれのレクチンも大腸の近位～遠位軸に沿った顕著な違いは見出だせなかった。

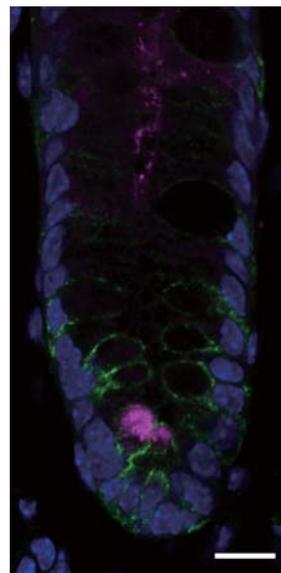


図1 マウス結腸遠位部の陰窩底におけるrBC2LCNの反応
rBC2LCN(マゼンタ)と抗c-Kit抗体(緑)による蛍光二重染色。c-Kitを発現する細胞のうち、一部の細胞がrBC2LCNに反応した。TO-PRO3による核染色を青で示す。スケールバー：20 μm。

表1 検討に用いたレクチンと認識する糖鎖構造

レクチンの由来	略称	認識する糖鎖構造
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	BC2LCN	Fuca1, 2Galβ1, 3-
<i>Ulex europaeus</i>	UEA-I	Fuca1, 2Galβ1, 4-
<i>Aleuria aurantia</i>	AAL	α1,6 コアフコース Fuca1, 2Gal β 1,4- Galβ1, 4 (Fuca1, 3) GlcNAc- Galβ1, 3 (Fuca1, 4) GlcNAc-

【考察と展望】

本研究から、rBC2LCNは大腸陰窩底において一部のニッチ細胞に反応し、その反応性は大腸の部位により異なることが明らかとなった。rBC2LCNが認識するフコシル糖鎖は、大腸近位～遠位軸に沿って発現パターンが変化するユニークな糖鎖であった。

UCが好発する結腸遠位部～直腸部と、結腸近中部の間においてrBC2LCNの反応性が異なる点は、UCとの関連を考える上で興味深い結果であった。腸管上皮が産生するフコシル化糖鎖は、腸管の機能において重要な役割を演じる。例えば、粘膜バリアとして感染性微生物の排除に機能し、腸管免疫の制御や腸内細菌叢の維持にも深く関与する³⁻⁵⁾。本研究から、フコシル化糖鎖の発現の違いにより微生物感染や免疫応答に違いが生じ、結腸遠位部や直腸がUCを発症しやすい環境となっていることが考えられる。

また、一部のニッチ細胞のみがrBC2LCNが認識する糖鎖を発現していた。糖鎖は細胞の状況を反映し、鋭敏に変化する。ニッチ細胞が均一な細胞集団ではなく、分化・成熟度、活性化状態や老化といった細胞の状況や状態の異なる細胞集団であることが示唆された。大腸においてrBC2LCNが認識する糖鎖はニッチ細胞が産生する分泌顆粒状の構造

に含まれた。小腸ではニッチ細胞のオートファジー不全とCDの関連が指摘され、CD患者における分泌顆粒の減少が報告されている⁶⁾。このような大腸ニッチ細胞における分泌顆粒状の構造物の生理学的機能は不明であるが、小腸ニッチ細胞と同様に、分泌物の増加・減少や細胞内への過剰な蓄積がIBDに関連することも考えられる。

以上のように、腸管上皮細胞、特にニッチ細胞に発現する糖鎖とその異常に着目することでIBD、さらにニッチ細胞の機能やニッチ細胞による幹細胞制御に関する新たな知見につながると期待される。

参考文献

- 1) McGovern DP et al., *Hum Mol Genet.* 19: 3468-3476, 2010.
- 2) Sugahara D et al., *Glycobiology.* 27: 246-253, 2017.
- 3) Goto Y et al., *Sicence.* 345: 1254009, 2014.
- 4) Pham TAN et al., *Cell Host Microbe.* 16: 504-516, 2014.
- 5) Pickard JM et al., *Nature.* 514: 638-641, 2014.
- 6) Cardwell K et al., *Nature.* 456: 259-263, 2008.

List of publications

- 1) *Glycobiology* 27: 246-253, 2017.
Daisuke Sugahara, Yuka Kobayashi, Yoshihiro Akimoto, Hayato Kawakami
Mouse intestinal niche cells express a distinct α 1,2-fucosylated glycan recognized by a lectin from *Burkholderia cenocepacia*.

講演記録

- 1) 菅原大介, 福富俊之, 秋元義弘, 川上速人: マウス腸管上皮細胞を区別する糖鎖関連分子マーカーの探索, 第57回日本組織細胞化学会総会・学術集会, 三鷹, 平成28年9月3-4日.
- 2) 菅原大介, 福富俊之, 秋元義弘, 川上速人: マウス腸管ニッチ細胞におけるフコシル化糖鎖発現, 第89回日本生化学会大会, 仙台, 平成28年9月25-27日.
- 3) 菅原大介, 秋元義弘, 川上速人: マウス腸管におけるFuca1, 2Galβ1, 3-フコシル化糖鎖の発現分布, 第36回日本糖質学会年会, 旭川, 平成29年7月19-21日.