

上気道における防御機構

竹内万彦* 間島雄一* 坂倉康夫*

Lecture key notes

- ① 鼻粘膜には MUC 1, MUC 2, MUC 4, MUC 5 AC, MUC 5 B, MUC 7, MUC 8 が発現している。
- ② LPS, 好中球エラスターゼの投与により糖添加酵素遺伝子が変化を受け、ムチンの糖鎖は変化する。
- ③ 鼻粘膜の上皮内には V δ 1 をもつ $\gamma\delta$ T 細胞が多く存在する。
- ④ 鼻粘膜の上皮内 $\gamma\delta$ T 細胞はストレスにより上皮細胞上に誘導される MHC 様分子を認識するほか、鼻アレルギーの発症にも関与しているものと思われる。

はじめに

上気道の防御機構には、種々の要素が関与するが、ここでは、気道粘液の主要構成成分であるムチンと粘膜上皮内に存在する上皮内リンパ球、とくに $\gamma\delta$ T 細胞について述べる。

1. ムチンとそのコア蛋白の遺伝子


糖蛋白であるムチンは、感染や環境からの刺激から粘膜を保護する役目をする気道粘液の主要成分である。粘液は繊毛によりベルトコンベア式に輸送され、異物や細菌などの除去をおこなっている。ムチンの生化学的特徴として、アミノ酸の組成でプロリン、スレオニン、セリンが全体の 20~55% を占め、とくにこれらのアミノ酸に富んだ領域のスレオニン、セリンに O-グリコシド型の結合により糖鎖がつく¹⁾。この糖鎖の付加は細胞内のゴルジ体でおこなわれるが、これに先立ってムチンのコア蛋白がつくられる(図①)。これには、まず核内でムチ

ン遺伝子から転写されて pre-mRNA がつくられ、スプライシングがおこなわれて mRNA ができる。ムチンの mRNA は粗面小胞体に運ばれ、ここで蛋白質に翻訳され、N-グルコシド型の糖鎖の付加がおこなわれる。N-グルコシド型の糖鎖の付加はコア蛋白の非くり返し構造におこなわれ、つぎにゴルジ体でくり返し構造のスレオニン、セリン残基に O-グリコシド型の結合により糖鎖が付加される。

ムチンのコア蛋白をコードする遺伝子は MUC genes とよばれ、ヒトでは現在のところ MUC 1, MUC 2, MUC 3, MUC 4, MUC 5 AC, MUC 5 B, MUC 6, MUC 7, MUC 8 の 9 種類が知られている(表①)²⁾。このうち、全長の cDNA がクローニングされているのは、MUC 1, MUC 2, MUC 7 のみであるが、染色体上の位置はすべて明らかにされており、MUC 2, MUC 5 AC, MUC 5 B, MUC 6 は 11 p 15.5 に存在し、テロメア側からセントロメア側に向かい MUC 6, MUC 2, MUC 5 AC, MUC 5 B の順にならんでいて、クラスターを形成

キーワード

ムチン遺伝子/糖転移酵素遺伝子/上皮内リンパ球/ $\gamma\delta$ T 細胞/鼻アレルギー

※キーワードの使われ方は
にて示しています。

* TAKEUCHI Kazuhiko, MAJIMA Yuichi, SAKAKURA Yasuo/三重大学医学部耳鼻咽喉科

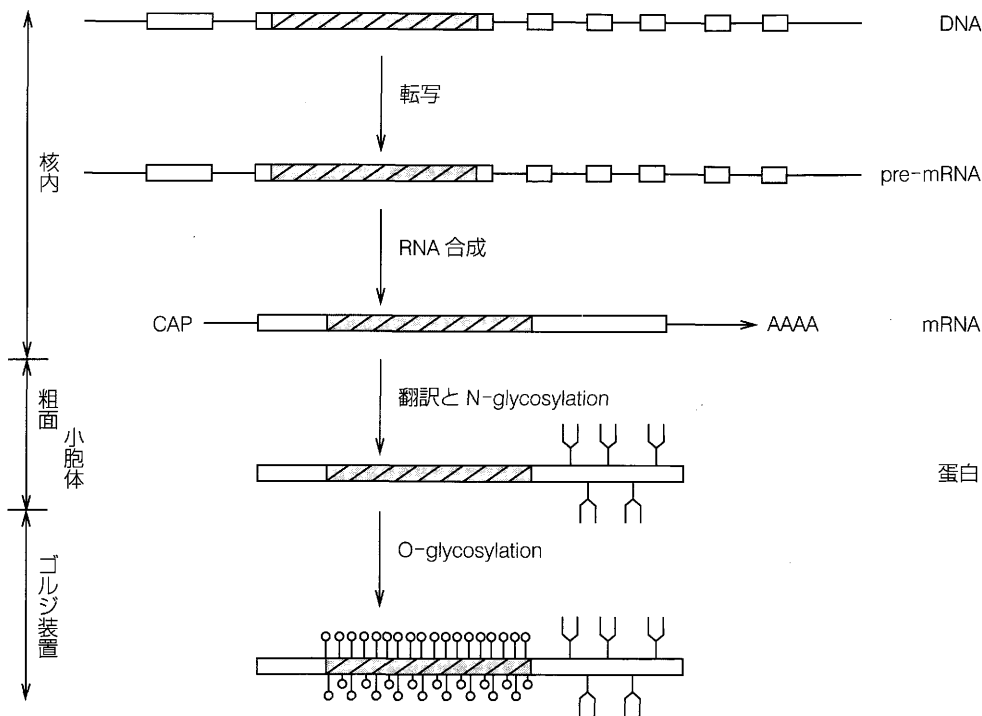


図1 ムチンの合成の模式図

斜線部はくり返し配列を示す。核内でムチンのコア蛋白の mRNA がつくられ、粗面小胞体で蛋白に翻訳される。ゴルジ装置にて糖転移酵素のはたらきでO-グリコシド結合にてくり返し配列のセリンやスレオニン残基に糖鎖が転移される。

している²⁾。ムチン遺伝子の特徴の一つにその長さがあげられる。MUC 2 の転写物 (mRNA) は約 100 個のくり返し配列 (tandem repeats) をもち、15 kb である。MUC 1 の転写物は、4.4 kb で 40 個のくり返し配列をもつ。MUC 3, MUC 4, MUC 5 AC, MUC 5 B, MUC 6, MUC 8 の mRNA の長さは、ノーザンプロットの解析結果から考えて 9.5 kb 以上で、おそらく MUC 2 と同等と思われる²⁾。

2. 鼻粘膜におけるムチン遺伝子と糖鎖転移酵素遺伝子の発現

前述したムチン遺伝子発現の局在については、表1に示すとおりであり、MUC 3 と MUC 6 を除くすべてのムチン遺伝子が鼻粘膜で発現していることが *in situ* ハイブリダイゼーション³⁾や、鼻茸の培養上皮細胞と手術時に得られた鼻粘膜の RT-PCR により確認されている (未発表資料)。Aust ら³⁾は *in situ* ハイブリダイゼーションにて詳細な検討をおこない、正常および血管運動性鼻

炎の鼻粘膜ではムチン mRNA の局在に本質的な差異はみられず、MUC 1 と MUC 4 は粘膜表面の多くの種類の細胞にびまん性に発現し、MUC 2 と MUC 5 AC はおそらく杯細胞と思われる上皮のかざられた細胞に発現し、MUC 5 B と MUC 7 はおもに粘膜下腺に発現していたと報告している。

これらの MUC 遺伝子のなかでどれが一番多く発現しているかということ、鼻茸では MUC 5 AC の発現量は MUC 2 のそれより約 4 倍高く、MUC 1 のそれより 12 倍も高いとの報告がある⁴⁾。われわれがノーザンプロットで検討したところ、MUC 5 B, MUC 5 AC, MUC 4, MUC 2 の順で発現が多かった⁵⁾。鼻粘膜において、MUC 5 AC は MUC 1 や MUC 2 の 10 倍から 13 倍発現している⁶⁾との報告もあり、鼻粘膜においては MUC 5 AC や MUC 5 B が主たるムチンのコア蛋白であり、MUC 1 や MUC 2 は発現はみられるもののその量は多くないといえる。

炎症や感染などの病態下ではムチン遺伝子の発現が増

表① ヒトムチン遺伝子

	染色体上の位置	おもな発現部	鼻粘膜での発現
Muc1	1q21	上皮全般	+
Muc2	11p15.5	小腸, 大腸	+
Muc3	7q22	大腸	-
Muc4	3q29	気道, 大腸	+
Muc5AC	11p15.5	気道, 胃	+
Muc5B	11p15.5	気道, 顎下腺	+
Muc6	11p15.5	胃, 小腸, 胆のう	-
Muc7	4	唾液腺	+
Muc8	12q24.3	気道	+

加したり, 発現様式が変化したりすることが予想される。下気道では, 正常の気管支上皮ではあまり多く発現していない MUC 2 が TNF- α ⁷⁾ や *Pseudomonas aeruginosa* のリポポリサッカライド (LPS)⁸⁾ により増加することが知られている。しかし鼻粘膜においては正常と病態下でムチンの遺伝子発現が変化するとのもらかな報告はなく, 健常者, 鼻炎患者, cystic fibrosis の患者の三群で MUC 1, MUC 2, MUC 5 の発現量に差は見られなかった⁷⁾ との報告がみられる。アレルギー性鼻炎と慢性副鼻腔炎とのあいだにも発現するムチン遺伝子の種類や量に差異はみられなかった⁵⁾。

ムチン遺伝子の発現の病態下での変化については不明な点が多いが, 糖鎖については病態下で変化がみられるとの報告がみられる。cystic fibrosis 患者のムチンでは硫酸ムコ多糖が増加し, この結果, cystic fibrosis の患者では細菌に対する接着能が健常者とくらべて変化している可能性がある⁹⁾。O-グリカンの末端糖の glycosylation の変化は気道粘液の物理的および生物学的性質を変化させる可能性があり, 末端糖の変化は糖鎖を付加させる遺伝子発現の変化によると考え, われわれは, 鼻茸の培養細胞を用いて, LPS, 好中球エラスターゼなどの投与が

フコシルトランスフェラーゼとシアリルトランスフェラーゼの mRNA の発現に及ぼす影響について検討した。具体的には, 慢性副鼻腔炎患者の鼻茸の上皮細胞を培養し, 無刺激群と LPS 投与群, ヒト好中球エラスターゼ投与群, LPS+2%血清投与群の4群につき, MUC 1~7 および3種のシアリルトランスフェラーゼと4種のフコシルトランスフェラーゼにつき, mRNA レベルを検討した。その結果, ムチン遺伝子の発現は LPS 投与群において, 上昇傾向がみられたが, 有意の上昇ではなかった。一方, 糖添加酵素遺伝子については Fuc-T IV, VI, ST-4 は LPS+2%血清投与群およびヒト好中球エラスターゼ投与群で有意に発現が亢進していた。ST-3 O は LPS+2%血清投与群で亢進していたが, ST-3 N は亢進していなかった(未発表資料)。よってこの実験系においては LPS+2%血清投与, およびヒト好中球エラスターゼ投与の刺激により, ムチンのコア蛋白質 mRNA の発現は変化を受けないが, 糖添加酵素遺伝子は変化を受け, その結果ムチンの糖鎖が変化している可能性がある。

3. 上皮内 $\gamma\delta$ T 細胞の特徴

上皮内リンパ球は外界からの異物などにまず接触し免疫反応をおこしているものと考えられてきた。Okuda ら¹⁰⁾は上皮内リンパ球をフローサイトメトリーで検討し、CD 4⁻CD 8⁻細胞、CD 8⁺細胞、CD 4⁺細胞、CD 4⁺8⁺細胞の順に多く、CD 8⁺細胞中では cytotoxic T 細胞が多く、CD 4⁺細胞中では helper T 細胞が多いと報告している。

T 細胞は抗原を認識する T 細胞レセプターにより、 $\alpha\beta$ T 細胞と $\gamma\delta$ T 細胞に分けられるが、 $\gamma\delta$ T 細胞の特徴としてつぎの要素があげられる¹¹⁾¹²⁾。① $\alpha\beta$ T 細胞レセプターと同様、V (D) J の再構成によりレセプター分子が形成される。② 各種上皮内に resident cell として多く存在する。③ $\alpha\beta$ T 細胞レセプターのような MHC 拘束性がない。④ 微生物の一部や heat shock proteins を認識するものがある。⑤ 感染症や自己免疫疾患、サルコイドーシスなどで増加する。ヒト、マウスにおいて、各種上皮内の $\gamma\delta$ T 細胞はかたよった $\gamma\delta$ レセプターレパトワをもつことが知られるようになった。ヒトの各臓器別の $\gamma\delta$ T 細胞レセプターレパトワを表②にまとめた。このうち腸管の $\gamma\delta$ T 細胞レセプター¹⁴⁾については最もよく知られており、① 各個人に特有な dominant な $\gamma\delta$ T 細胞の VDJ の配列がみられ、それは末梢血の T 細胞のレパトワとは overlap しない。② 一年後の検討でもレパトワは変化しないので、おそらく安定したものだろう

—などの特徴がある。われわれも健常者の下鼻甲介擦過片から RNA を抽出し、RT-PCR で $\gamma\delta$ T 細胞レパトワを検討した結果、 γ 鎖では V γ 1, V γ 3 が多く用いられ、 δ 鎖では V δ 1 が多く使用され、V δ 1 は J δ 1 に再構成されていた¹⁶⁾。また、一個体内では、V δ 1 転写物の VDJ 領域の塩基配列には予想に反して多様性がみられたが、各個人に特有な dominant な VDJ 配列が存在した(未発表資料)。

$\gamma\delta$ T 細胞の機能は何であろうか。V γ 2/V δ 2 T 細胞は、体内を循環し、可溶性の非ペプチド抗原を認識することにより、細菌感染に反応している¹⁷⁾。V δ 1 細胞が何を認識しているかは長いあいだ不明であったが、最近、Groh ら¹⁸⁾は、V δ 1 細胞が、ストレスにより腸管の上皮細胞上に誘導される MHC class I 関連分子である MICA とそれに深い関係のある MICB を認識していることをつきとめた。 $\gamma\delta$ T 細胞は早くから粘膜の監視の役目をしているとの推測が立てられていたが、この V δ 1 細胞は上皮細胞が傷害や感染を受けたとき、成長因子などを産生し、粘膜のホメオスターシスを保つものと思われる。なお、MICA と MICB は MHC によりコードされるが、これらの V δ 1 T 細胞による認識は MHC 非拘束性である。健常者の鼻粘膜にみられた V δ 1 T 細胞も同様のはたらきをもつものと思われる。

$\gamma\delta$ T 細胞のもうひとつの機能として、アレルギー反応の助長あるいは抑制が考えられている。Ferrick ら¹⁹⁾は、刺激される病原体の種類によって $\gamma\delta$ T 細胞は INF- γ

表② ヒト $\gamma\delta$ T 細胞レセプター

部位	レセプターレパトワ (頻度)	文献
末梢血	V γ 2J γ 1.2/V δ 2J δ 1 (75%)	13
腸管	V δ 1J δ 1 (70%)	14
皮膚	V δ 2J δ 1	15
鼻粘膜	V δ 1J δ 1	16

あるいはIL-4を産生し、それぞれTh1あるいはTh2の反応を誘導することを明らかにした。また、卵白アルブミン寛容マウスから得られた $\gamma\delta$ T細胞は、Th2依存のIgE抗体産生を選択的に抑制するとの報告もみられる²⁰⁾。Pawankarら²¹⁾は、通年性アレルギー性鼻炎患者と感染性鼻炎患者の鼻粘膜中の $\gamma\delta$ T細胞を比較検討し、前者では後者にくらべて有意に $\gamma\delta$ T細胞数が増加しており、通年性アレルギー性鼻炎患者のV γ 1/V δ 1陽性T細胞の60%以上がCD45RO+のいわゆるmemory cellであったと報告している。さらに、通年性アレルギー性鼻炎患者の鼻粘膜中の $\gamma\delta$ T細胞の相当数がIL-4とIL-5を産生し、INF- γ をほとんど産生しないことから、アレルギー性鼻炎患者では、Th-2型のサイトカインを産生する特殊な $\gamma\delta$ T細胞が鼻粘膜でオリゴクローナルに増加しているのだろうと考えられる。

おわりに

今回、ムチンと上皮内リンパ球という一見関連が薄いと思われる2者について述べた。ムチンはさまざまな刺激により杯細胞や粘膜下腺細胞から分泌されるものであり、上皮内リンパ球は粘膜内にあり、粘膜の免疫の監視をおこなっている。上皮内リンパ球は上皮細胞がストレスを受けたときなどに応答し、成長因子やサイトカインを産生するが、その結果、粘液産生細胞が刺激を受け、粘液を産生し、気道の恒常性を維持するように一連の防御機能としてはたらいっているものと考えられる。

文 献

- 1) Kaliner M *et al* : Human respiratory mucus. *J Allergy Clin Immunol* **73** : 318-323, 1984
- 2) Rose MC *et al* : Airway mucin genes and gene products. *Airway mucus : Basic mechanisms and clinical perspectives*, Birkhauser Verlag, Basel, 1997, pp 41-66
- 3) Aust MR *et al* : Mucin mRNA expression in normal and vasomotor inferior turbinates. *Am J Rhinology* **11** : 293-302, 1997
- 4) Voynow JA *et al* : Quantitation of mucin mRNA in respiratory and intestinal epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* **11** : 742-750, 1994
- 5) Yuta A : Mucin gene expression in the nose and maxillary sinus in Men. *Mie Medical Journal* **45** : 29-38, 1995
- 6) Voynow JA *et al* : Comparison of mucin gene expression in CF and control nasal epithelial cells (manuscript submitted)
- 7) Levine SJ *et al* : Tumor necrosis factor- α induces mucin hypersecretion and MUC-2 gene expression by human airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* **12** : 196-204, 1995
- 8) Li J-D *et al* : Transcriptional activation of mucin by *Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide in the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Proc Natl Acad Sci USA* **94** : 967-972, 1997
- 9) Devarj N *et al* : Differential binding of *Pseudomonas aeruginosa* to normal and cystic fibrosis tracheobronchial mucins. *Glycobiology* **4** : 307-315, 1994
- 10) Okuda M *et al* : Flow cytometric analysis of intraepithelial lymphocytes in the human nasal mucosa. *Allergy* **47** : 255-259, 1992
- 11) 島田真路 : 上皮内 $\gamma\delta$ T細胞の存在意義, *臨床免疫* **25** : 823-828, 1993
- 12) Porcelli S *et al* : Biology of the human $\gamma\delta$ T-cell receptor. *Immunol Rev* **120** : 137-183, 1991
- 13) Beldjord K *et al* : Peripheral selection of V δ 1⁺ cells with restricted T cell receptor δ gene junctional repertoire in the peripheral blood of healthy donors. *J Exp Med* **178** : 121-127, 1993
- 14) Chower Y *et al* : The V δ 1 T cell receptor repertoire in human small intestine and colon. *J Exp Med* **180** : 183-190, 1994
- 15) Ueyama K *et al* : Evidence for clonal selection of γ/δ T cells in response to a human pathogen. *J Exp Med* **174** : 683-692, 1991
- 16) Takeuchi K *et al* : Analysis of $\gamma\delta$ T cell receptor repertoire in the human nasal mucosa. *J Allergy Clin Immunol* **99** : 251-253, 1997
- 17) Tanaka Y *et al* : Nonpeptide ligands for human gamma delta T cells. *Proc Natl Acad Sci USA*. **91** (17) : 8175-8179, 1994
- 18) Groh V *et al* : Recognition of stress-induced MHC molecules by intestinal epithelial $\gamma\delta$ T cells. *Science* **279** : 1737-1740, 1998
- 19) Ferrick DA *et al* : Differential production of interferon- γ and interleukin-4 in response to Th1 and Th2 stimulating pathogens by $\gamma\delta$ T cell *in vivo*. *Nature* **373** : 255-257, 1995
- 20) McMenamin C *et al* : Regulation of IgE responses to

inhaled antigen in mice by antigen-specific $\gamma\delta$ T cells.
Science **265** : 1869-1871, 1994

21) Pawankar RU *et al* : Phenotypic and molecular char-

acteristics of nasal mucosal $\gamma\delta$ T cells in allergic and
infectious rhinitis. *Am J Respir Crit Care Med* **153** :
1655-65, 1996