基礎老化研究 46（1）; 11－15, 2022

【総説】

腸管上皮細胞が発現する糖鎖を介した腸管恒常性制御機構

後藤　義幸[1, 2]

[1] 千葉大学　真菌医学研究センター　感染免疫分野　微生物・免疫制御プロジェクト

[2] 東京大学　医科学研究所　国際粘膜ワクチン開発研究センター　粘膜共生学分野

要約

腸管上皮細胞は、管腔内に存在する無数の微生物に絶えず曝されており、これら微生物の侵入に対する宿主の第一線の防御バリアとして重要な役割を担っている。腸管上皮細胞は細胞表面に多種多様な糖鎖を発現しており、近年の研究から、糖鎖は宿主と微生物間におけるコミュニケーションツールとして機能することが示されている。例えばα1, 2- フコースは、腸内細菌叢の組成や細菌・真菌・ウイルス感染に対する感受性に影響することが報告されている。興味深いことに、腸管上皮細胞のα1, 2- フコースは、腸内細菌を含む外因性刺激によって一過性に誘導される。その発現誘導・制御には宿主免疫細胞が深く関与しており、腸内細菌、免疫細胞、上皮細胞の三者間相互作用による糖鎖発現・制御機構を明らかにすることで、感染症や炎症性疾患に対する新たな治療戦略の開発に繋がることが期待されている。

キーワード：腸内細菌、上皮細胞、糖鎖、α1, 2- フコース

はじめに

日本では超高齢社会を迎え、COVID-19 をはじめとする病原体感染に対して防御機能が低下している高齢者の割合が増加しており、社会的に大きな課題となっている。高齢者において感染抵抗性が低下する要因として、免疫細胞の老化により、病原体の排除機能が低下していることが主たる原因とされているが、感染の成立過程を考えると、免疫システムのみで説明できるとは限らない。実際、腸管においては、病原性細菌感染に対する防御機構として、腸内細菌叢、上皮細胞層、免疫システムという多層のバリア構造が互いに相互作用しながら機能しており、感染症に対する宿主の抵抗性を理解するためには、防御バリアの構成要素を包括的かつ多面的に理解することが必要となる[1]。

腸管は病原性大腸菌やノロウイルスに代表される病原性微生物や、乳酸菌や大腸菌を含む常在性細菌などの共生微生物に恒常的に曝されており、宿主はこれら無数の微生物に対して、極めて精緻な多層構造の防御システムを備えている。興味深いことに、宿主と微生物間におけるクロストークが腸管恒常性の維持に重要であり、なかでも、腸管を覆う上皮細胞層ならびに免疫システムがクロストークの根幹を形成している[1]。腸管における上皮細胞層は、吸収上皮細胞にくわえ粘液産生細胞である杯細胞、抗菌ペプチドを産生するパネート細胞、寄生虫感染防御に寄与する Tuft 細胞、抗原取り込みに特化した M 細胞、消化管ホルモン産生を行う腸内分泌細胞など、多岐にわたる細胞で構成されており、それらは陰窩部位に存在する上皮幹細胞から分化する[1]。上皮細胞は互いに密着結合により連結され、腸管管腔に存在する微生物に対し、第一線の物理的な防御バリアとして機能するだけでなく、粘液や抗菌ペプチド、ホルモン産生を介した化学的・免疫学的な役割も担っている。

腸管上皮細胞は、その細胞表面に無数の糖鎖を発現していることが知られており、特に管腔面に発現している糖鎖は、管腔内に存在する微生物と直接的に対峙、相互作用する特殊な空間的位置関係にある。これまでに、粘膜上皮細胞上に発現する糖鎖には、様々なウイルスや細菌が結合することが知られているが、糖鎖は病原体の受容体として機能するだけでなく、腸内細菌の資化に利用

連絡先：後藤　義幸

[1] 〒 260-8673　千葉県千葉市中央区亥鼻 1-8-1

[2] 〒 108-8639　東京都港区白金台 4-6-1

TEL：043-226-2490　FAX：043-226-2486

E-mail：y-gotoh@chiba-u.jp

されるため、細菌叢の恒常性維持にも重要な役割を果たしている[2,3]。近年では、上皮細胞が発現する糖鎖におけるα1, 2- フコースの発現誘導・制御機構の研究が進み、特定の腸内細菌が宿主免疫細胞を介して、上皮細胞のα1, 2- フコース発現を誘導することも見出されていることにくわえ[4,5]、感染や炎症性疾患など宿主の疾患の発症・制御に深く関係していることが示唆されている[3,6]。本稿では主として腸管上皮細胞が発現する糖鎖に着目し、微生物との相互作用を通した腸管恒常性制御機構について紹介したい。

腸管上皮細胞が発現する糖鎖と微生物の相互作用

細胞表面に存在するタンパク質や脂質には、様々な糖鎖が付加されており、タンパク質や脂質の機能を修飾している。糖鎖は、細胞内の分子輸送や排除、細胞接着、免疫監視、造血、炎症、細胞間および細胞内シグナル伝達、受容体活性化、エンドサイトーシスなど極めて多様な役割を担っている。そのため糖鎖は、その発現している組織、細胞、修飾するタンパク質ごとに、特異的な機能の修飾に役立っている。

腸管上皮細胞は、上述のように種々の糖鎖を発現しており、生化学的、免疫学的に特徴のある機能を有している。また重要なことに、腸管上皮細胞が発現する糖鎖は、管腔面に存在する微生物と宿主の重要なコミュニケーションツールとして機能している。例えば、病原性細菌である *Salmonella typhimurium* は、M 細胞の細胞表面に発現している糖タンパク質である glycoprotein 2（GP2）にⅠ型繊毛を介して結合する[7]。また、細菌が産生する毒素も、上皮細胞が発現する糖脂質に結合し、宿主に取り込まれる。例えば、*Vibrio cholerae* が産生するコレラ毒素は、上皮細胞が発現する GM1 ガングリオシドに結合し、出血性病原性大腸菌が産生するベロ毒素（Stx1, 2）は、Gb3 糖脂質に結合することが報告されている[8,9]。さらに、ノロウイルスやロタウイルスは、腸管上皮細胞が発現するα1, 2- フコースと結合し、宿主への感染を成立させることが報告されている[10]。

腸管上皮細胞におけるα1, 2- フコース付加

腸管を覆う上皮細胞の糖鎖末端に位置するβガラクトースは、Ⅰ型およびⅡ型フコース転移酵素（fucosyltransferase: Fut1 および 2）によって、α1, 2 部位にフコース（α1, 2- フコース）が付加される[3]。これまでに、消化管のみならず泌尿・生殖器の上皮細胞にもα1, 2- フコースの発現が認められており、特に管腔面における発現が観察される。興味深いことに、腸管では上皮細胞のサブセットによって、α1, 2- フコースの付加様式が異なっており、例えば、M 細胞では Fut1、円柱上皮細胞や杯細胞は Fut2 を介して、α1, 2- フコースが付加される[11]。また、M 細胞では Fut1 を介してα1, 2- フコースが恒常的に発現している一方、円柱上皮細胞や杯細胞は、腸内細菌や病原性細菌、デキストラン硫酸ナトリウムなどの外部環境刺激より、Fut2 を介してα1, 2- フコースを一過性に発現する[11]。Fut2 を欠損したマウスや Fut2 の不活性型変異多型を有するヒトの腸内細菌叢は変化しており、特に *Clostridiales* や *Bifidobacterium* が減少していることが報告されている（図 1）[12,13]。

腸内細菌と免疫細胞による腸管上皮細胞のα1, 2- フコースの発現誘導・制御機構

腸管上皮細胞のうち、M 細胞における Fut1 の発現誘導機構の詳細は、これまでのところ不明である。一方で、円柱上皮細胞と杯細胞における Fut2 の発現誘導機構は、腸内細菌と宿主免疫細胞の観点から、近年研究が進んでいる。例えば、野生型マウスでは小腸、特に回腸部分においてα1, 2- フコースおよび Fut2 の発現が恒常的に観察される一方、無菌マウスや抗生物質処理マウスでは、それらの発現が消失している[14]。また、腸内細菌の一

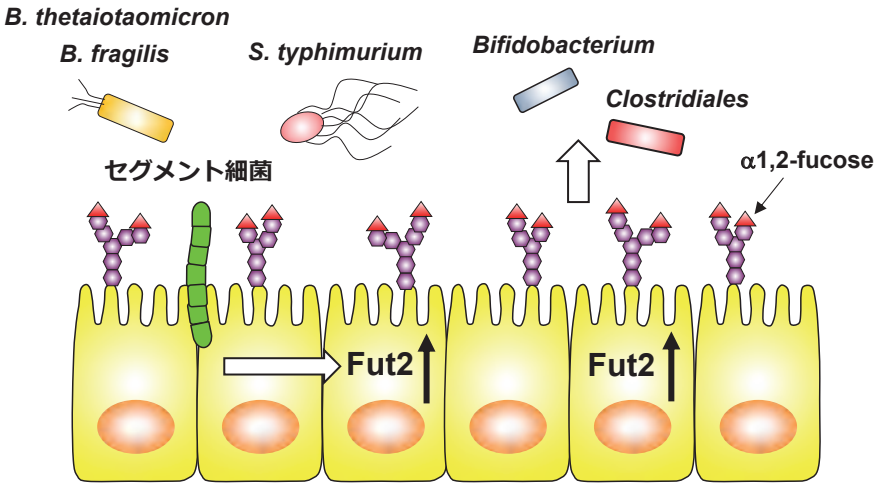

図 1．腸管上皮細胞のα1, 2- フコースと微生物の相互作用
腸内細菌として知られる *Bacteroides thetaiotaomicron* や *Bacteroides fragilis*、セグメント細菌は、腸管上皮細胞の fucosyltransferase 2（Fut2）およびα1, 2- フコース（図中、赤三角形）の発現を誘導する。一方、腸管上皮細胞が発現するα1, 2- フコースは、腸内細菌である *Clostridiaes* や *Bifidobacterium* の恒常性維持に寄与している。

種である *Bacteroides thetaiotaomicron* や *B. fragilis*、セグメント細菌を無菌マウスに定着させると、小腸上皮細胞の Fut2 ならびに α1, 2- フコースの発現が誘導される [14,15]。さらに、病原性細菌である *S. typhimurium* が腸管に定着すると Fut2 ならびに α1, 2- フコースの発現が誘導される [14]。

腸管上皮細胞における α1, 2- フコースの発現には、腸内細菌だけでなく、宿主腸管免疫細胞が必要であることが、筆者らの研究により明らかになっている。例えば、腸管における代表的な自然免疫細胞である 3 型自然リンパ球（group 3 innate lymphoid cells, ILC3）は、腸内細菌からの刺激を受けて IL-22 を産生することで、上皮細胞の α1, 2- フコースの発現を誘導している [14]。これまでに、ILC3 からの IL-22 産生誘導機構としては、細菌構成成分の一つであるリポ多糖（lipopolysaccharide, LPS）が樹状細胞上の Toll-like receptor 4（TLR4）に認識されて IL-23 の産生を促し、ILC3 からの IL-22 の産生を誘導することが報告されている [16]。しかしながら、このシステムでは LPS を有さないグラム陽性細菌であるセグメント細菌による IL-22 産生誘導機構は説明できない。おそらく、種々の細菌構成成分が ILC3 からの IL-22 の産生ならびに腸管上皮細胞の α1, 2- フコースの発現誘導に関与すると考えられているが、現在のところ ILC3 からの IL-22 産生誘導機構の詳細は不明な点が多い。

以上の結果から、自然免疫細胞が上皮細胞の α1, 2- フコースの発現誘導に必要であることが示されている一方で、獲得免疫細胞である CD4 陽性 T 細胞は、抑制性サイトカインである IL-10 を産生し、α1, 2- フコースの発現を抑制することが報告されている [17]。つまり、腸管上皮細胞が発現する α1, 2- フコースは、自然免疫細胞と獲得免疫細胞によって正または負に制御されていると言える。IL-10 による α1, 2- フコースの発現抑制機構の詳細については不明な点が多く、今後の研究の進展が期待される。

感染防御基盤としての上皮細胞糖鎖の役割

前述のように、腸内細菌だけでなく *S. typhimurium* といった病原性細菌も、腸管上皮細胞における Fut2 および α1, 2- フコースの発現を誘導する [14]。また、*S. typhimurium* による α1, 2- フコースの発現誘導には、腸内細菌と同様に ILC3 が必要であることから、腸管上皮細胞が発現する α1, 2- フコースは、これら病原性細菌感染に対する宿主の生体反応の一種であることが考えられる [14]。実際、Fut2 欠損マウスでは腸内細菌叢が変化しており、*C. rodentium* の感染によって誘導される炎症反応を重篤化させることが報告されている [16]。また、Fut2 欠損マウスに *S. typhimurium* を経口投与すると、野生型マウスよりも多くの細菌が腸管組織内に侵入、感染し、宿主に重篤な炎症を惹起する。このことから、腸管上皮細胞が発現する α1, 2- フコースは *S. typhimurium* に対し感染防御効果があり、感染防御を司る因子の一つであることが示唆される [14]。

FUT2 遺伝子多型とヒト病態の関わりについて

腸管上皮細胞における α1, 2- フコースおよび Fut2 の発現は、マウスのみならずヒトの腸管上皮細胞においても観察される。ヒトでは FUT2 遺伝子において様々な多型が存在することが報告されており、特に 428 番目のグアニン（G）がアデニン（A）に置換された FUT2 遺伝子の不活性型変異多型が欧米人において多数報告されて

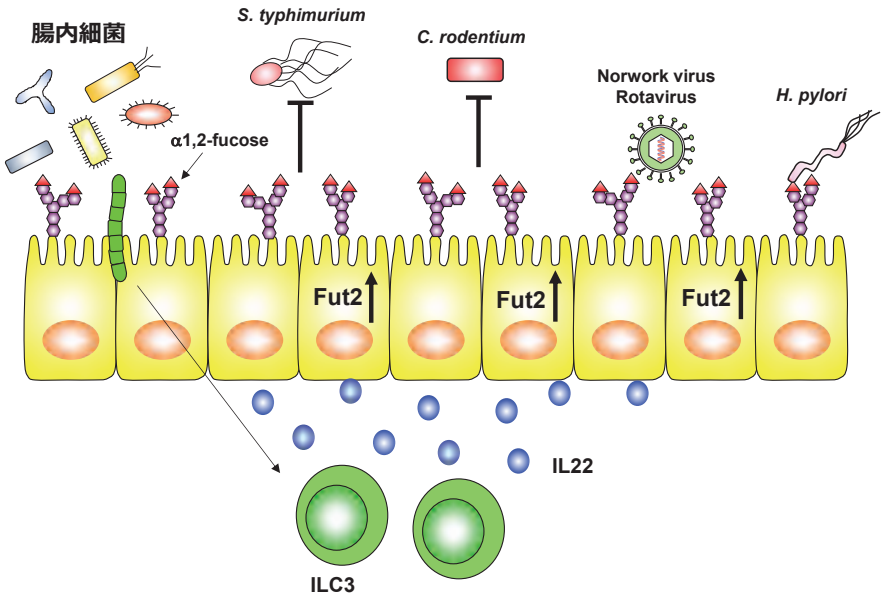

図２．腸管上皮細胞の糖鎖を介した感染症に対する生物学的トレードオフシステム
腸管上皮細胞が発現する α1, 2- フコースは、腸内細菌からの刺激を受けた３型自然リンパ球（group 3 innate lymphoid cells, ILC3）から産生される IL-22 により誘導される。α1, 2- フコースは、病原性細菌である *Salmonella typhimurium* や *Citrobacter rodentium* の感染防御に寄与する一方、*Helicobacter pylori* や Norwork virus、Rotavirus に結合して感染成立に寄与していることから、生物学的なトレードオフシステムの一種であると考えられている。

いる[18]。このFUT2不活性型変異多型をホモ接合にもつと、唾液や消化管粘液中に分泌されるABO（H）血液型抗原の合成に必要となるH type2抗原が欠失するため、non-secretor（非分泌型体質）と呼ばれている。これまでに、このFUT2の不活性型変異多型は、クローン病や原発性硬化性胆管炎、ベーチェット病、I型糖尿病、乾癬などの炎症性疾患をはじめとする様々なヒト疾患との関連が指摘されている[3]。また、このFUT2の不活性型変異多型は、ヒトにおいて感染症の感受性に影響があるとされている。例えば、非分泌型のヒトは、*Neisseria meningitidis* や *Streptococcus pneumoniae*、*Haemophilus influenza*、*Candida albicans* といった病原体の感染に対し感受性を示すことが報告されている一方、*Helicobacter pylori* や Norwork virus、Rotavirus などの病原体に対して、感染抵抗性を示す[3]。これは、腸管上皮細胞のα1, 2-フコースがこれらの病原体の受容体として機能しているためである。そのため、FUT2ならびに腸管上皮細胞が発現するα1, 2-フコースは、微生物感染という観点においては、生物学的なトレードオフシステムの一つとして機能していると考えられる（**図2**）。

おわりに

腸管には無数の微生物が常在し、極めて複雑な生態系が形成されている。この生態系は、動的な平衡状態にあると考えられるが、この恒常性システムは食餌や病原性微生物といった外部から腸内に取り込まれる因子のみならず、宿主の免疫システム、上皮バリア機構により影響を受ける。特に、腸管上皮細胞の表面に発現する糖鎖は、腸内微生物と直接的に対峙することから、腸管局所において、宿主と病原性および共生微生物との相互作用を媒介する生理学的因子として重要である。実際、腸内細菌の中には、糖鎖の加水分解酵素や糖転移酵素など、糖鎖を資化する機能を備えているものもある一方、病原性微生物には、糖鎖に結合することで、宿主への感染を成立させるものも存在する。これら腸管上皮細胞における糖鎖の発現機構や制御機構を明らかにすることは、感染症や炎症性疾患の発症メカニズムの解明のみならず、これらの疾患に対する新たな治療法の開発に繋がることが期待される。

引用文献

1. Goto Y. Epithelial cells as a transmitter of signals from commensal bacteria and host immune cells. Front Immunol. 10: 2057, 2019
2. Comstock LE and Kasper DL. Bacterial glycans: key mediators of diverse host immune responses. Cell. 126: 847-850, 2006
3. Goto Y, Uematsu S and Kiyono H. Epithelial glycosylation in gut homeostasis and inflammation. Nat Immunol. 17: 1244-1251, 2016
4. Goto Y, Obata T, Kunisawa J, et al. Innate lymphoid cells regulate intestinal epithelial fucosylation. Science. 345: 1254009, 2014
5. Pickard JM, Maurice CF, Kinnebrew MA, et al. Rapid fucosylation of intestinal epithelium sustains host-commensal symbiosis in sickness. Nature. 514: 638-641, 2014
6. Miyoshi J, Yajima T, Okamoto S, et al. Ectopic expression of blood type antigens in inflamed mucosa with higher incidence of FUT2 secretor status in colonic Crohn's disease. J Gastroenterol 46: 1056-1063, 2011
7. Hase K, Kawano K, Nochi T, et al. Uptake through glycoprotein 2 of FimH(+)bacteria by M cells initiates mucosal immune response. Nature. 462: 226-230, 2009
8. Aigal S, Claudinon J, and Römer W. Plasma membrane reorganization: A glycolipid gateway for microbes. Biochim. Biophys. Acta. 1853: 858–871, 2015
9. Jacewicz M, Clausen H, Nudelman E, et al. Pathogenesis of shigella diarrhea. XI. Isolation of a shigella toxin-binding glycolipid from rabbit jejunum and HeLa cells and its identification as globotriaosylceramide. J Exp Med. 163: 1391-1404, 1986
10. Marionneau S, Ruvoën N, Le Moullac-Vaidye B, et al. Norwalk virus binds to histo-blood group antigens present on gas¬troduodenal epithelial cells of secretor individuals. Gastroenterology. 122: 1967–1977, 2002.
11. Terahara K, Nochi T, Yoshida M, et al. Distinct fucosylation of M cells and epithelial cells by Fut1 and Fut2, respectively, in response to intestinal environmental stress. Biochem Biophys Res Commun. 404: 822-828, 2011.
12. Kashyap PC, Marcobal A, Ursell LK, et al. Genetically dictated change in host mucus carbohydrate landscape exerts a diet-dependent effect on the gut microbiota. Proc Natl Acad Sci U S A. 110: 17059-17064, 2013
13. Wacklin P, Mäkivuokko H, Alakulppi N, et al. Secretor genotype (FUT2 gene) is strongly associated with the composition of Bifidobacteria in the human intestine. PLoS One. 6: e20113, 2011
14. Goto Y, Obata T, Kunisawa J, et al. Innate lymphoid cells regulate intestinal epithelial cell glycosylation. Science. 345: 1254009, 2014
15. Nanthakumar NN, Meng D, Newburg DS. Glucocorticoids and microbiota regulate ontogeny of intestinal fucosyltransferase 2 requisite for gut homeostasis. Glycobiology. 23: 1131-1141, 2013
16. Pickard JM, Maurice CF, Kinnebrew MA, et al. Rapid fucosylation of intestinal epithelium sustains host-commensal symbiosis in sickness. Nature. 514: 638-641, 2014

17. Goto Y, Lamichhane A, Kamioka M, et al. IL-10-producing CD4(+)T cells negatively regulate fucosylation of epithelial cells in the gut. Sci Rep. 5: 15918, 2015

18. Hoskins LC. The ABO blood group antigens and their secretion by healthy and diseased gastric mucosa. Ann. NY Acad. Sci. 140: 848-865, 1967

Carbohydrate moieties expressed on epithelial cells regulate gut homeostasis

Yoshiyuki Goto [1, 2]

[1] Division of Molecular Immunology, Medical Mycology Research Center, Chiba University

[2] Division of Mucosal Symbiosis, International Research and Development Center for Mucosal Vaccines, Institute of Medical Science, The University of Tokyo

Summary

Intestinal epithelial cells (IECs) are constitutively exposed by countless numbers of microorganisms colonizing in the lumen and play a key role as a first-line defense against the invasion of these microorganisms. IECs express a variety of carbohydrate chains on the cell surface. Recent studies have shown that carbohydrate chains function as a communication tool between the host and microorganisms. It is known that α1, 2-fucosylation of carbohydrate chains on IECs are involved in the composition of intestinal microflora and the susceptibility to bacterial, fungal, and viral infections. Interestingly, α1, 2-fucose expressed on IECs is transiently induced by exogenous stimuli, including gut microbiota. Host immune cells are tightly involved in the induction and regulation of their expression. It is essential to clarify the mechanism of the induction and regulation of carbohydrate chain expression by controlling the tripartite interaction between commensal bacteria, immune cells, and epithelial cells for the development of novel therapeutic strategies against infectious and inflammatory diseases.

Keywords : Commensal bacteria, Epithelial cells, Glycosylation, α1, 2-fucose