

生体防御と脂質 — 脂肪酸, 糖脂質, リン脂質と免疫機能— Role of Bacterial Lipids in Defense Mechanisms – Fatty Acids, Glycolipids and Phospholipids in Immune Functions –



熊沢義雄

(株)Vino Science Japan
〒213-0012 川崎市高津区坂戸 3-2-1 KSP 西棟 413-G
いわき明星大学薬学部

Yoshio KUMAZAWA

Vino Science Japan Inc.
413-G, West-Build. Kanagawa Science Park (KSP)
3-2-1 Sakado, Takatsu-ku, Kawasaki 213-0012, JAPAN
Faculty of Pharmacy, Iwaki Meisei University

論文要旨：細菌の脂質に対する自然免疫は生体防御の最前線であり、種々の細胞を活性化する。グラム陰性菌の外膜成分であるリポ多糖(LPS)はToll様受容体/MD2複合体を介してマクロファージや他の細胞群を活性化する。LPSやアンタゴニストの受容体への結合が細胞活性化の重要なステップである。*Sphingomonas* 細菌のスフィンゴ糖脂質(GSL)は、LPSに代わる膜成分であり、ナチュラルキラーT(NKT)細胞の自然リガンドである。GSLはCD1d分子に結合した形でNKT細胞に提示される。*S. yanoikuyae* から調製したGSL-7は最も活性のある自然リガンドであり、防御機能を亢進する。 α -galactosylceramideで処理してからLPS刺激をすると、NKT細胞の活性化が起こり、ショック死が誘導される。ミコプラズマの脂質では、trehalose dimycolate(TDM)がTLR2を介して強力にマクロファージを活性化し、炎症性サイトカイン産生を誘導する。マンノース結合 phosphatidylinositol である lipomannan や lipoarabinomannan はマクロファージに発現したTLR2だけでなくマンノース受容体に結合する。Glycopeptidolipid (GPL) は *Mycobacterium avium* complex の血清型特異的成分である。4型GPLはマクロファージの貪食におけるファゴソーム/リソソーム(PL)融合を阻害する。本稿では細菌の脂質と種々の細胞との相互作用について述べる。

Abstract: Innate immunity against bacterial lipids is the front line of defense mechanisms and induces activation of various cells. Lipopolysaccharides (LPS), the component of the outer membrane of gram-negative bacteria, activate macrophages and other cells via the Toll-like receptor 4 (TLR4)/MD2 complex. Binding of different LPS and antagonists to the receptor is the key step for cell activation. Glycosphingolipids (GSL), the membrane component of *Sphingomonas* bacteria instead of LPS, are the natural ligand of natural killer T (NKT) cells that are stimulated by presentation as a complex of GSL and CD1d molecule. GSL-7, prepared from *S. yanoikuyae*, is the most potent natural ligand and heightens ability of defense mechanisms. Treatment with α -galactosylceramide before LPS challenge results in development of fetal shock through the activation of NKT cells. Among mycobacterial lipids, trehalose dimycolate (TDM) strongly activates macrophages to induce production of inflammatory cytokines via TLR2. Lipomannan and lipoarabinomannan, mannose-binding phosphatidylinositol, bind to not only TLR2 but also the mannose receptor expressed on macrophages. Glycopeptidolipids (GPL) are the sero-type specific component of *Mycobacterium avium* complex (MAC). Sero-type 4 GPL, but not sero-type 9 GSL, inhibits the phagosome/lysosome (PL)-fusion during phagocytosis of macrophages. Here, interaction of bacterial lipids with various cells will discuss.

Key words: toll-like receptor (TLR), lipopolysaccharide (LPS), glycosphingolipid (GSL), trehalose dimycolate (TDM), glycopeptidolipid (GPL)

1 はじめに

脂質二重膜からなる生体膜の外側は親水性であり、種々の受容体が脂質二重膜に埋め込まれた状態で存在している。リガンドが受容体に結合することにより、リガンド/受容体が複数集積し脂質ラフトを形成した後、シグナルが細胞内に伝達される。一方、細菌の細胞壁も種々の脂質で構成されており、細菌由来の脂質成分が細胞の受容体に結合することもよく知られている。たとえば、グラム陰性菌の外膜に存在するリポ多糖 (lipopolysaccharide, LPS) は、エンドトキシン (endotoxin, 内毒素) と呼ばれ、マクロファージ、顆粒球、マスト細胞、B細胞、T細胞に作用する。LPSはマクロファージなどの細胞に発現した Toll-like receptor 4 (TLR4) に結合し、サイトカイン産生のシグナルを与える。LPSは補体成分など他の液性因子の防御システムも活性化する。環境細菌の *Sphingomonas* 属細菌はグラム陰性菌であるが、細胞壁には LPS ではなくスフィンゴ糖脂質の glycosphingolipid (GSL) が存在する。化学合成された α -galactosylceramide (α -GalCer) は強力な natural killer T (NKT) 細胞のリガンドである。GSL や α -GalCer は主要組織適合遺伝子 (MHC) のクラス I に類似した CD1 分子の 1 つである CD1d に結合し、NKT 細胞の受容体に抗原提示される。 α -GalCer の研究からスフィンゴシンの炭素数が活性発現に大きく関与していることが知られており、GSL でも認められている。

結核菌の表層には、ミコール酸 (mycolic acid) という抗酸菌に特有な超高級脂肪酸が存在する。ミコール酸がトレハロースに結合した trehalose 6,6'-dimycolate (TDM) は結核菌の病原性と密接に関連している。TDM は TLR2 を介してマクロファージなどを活性化する。また TDM はヒト CD1b 分子を介して T 細胞に提示される。マウスでは CD1b 分子が遺伝的に欠損しているために TDM が T 細胞に抗原提示されない。したがって、マウスでは TDM に特異的な T 細胞応答が生じず、自然免疫系の細胞群の活性化だけが起こる。結核菌以外の糖脂質も生体防御系に作用することが知られている。本稿では、菌体由来の脂質成分が防御に関わる細胞の受容体に結合し、シグナルを伝達することによりサイトカイン産生を誘導する。これがどのように生体防御に関与するかについて概説する。

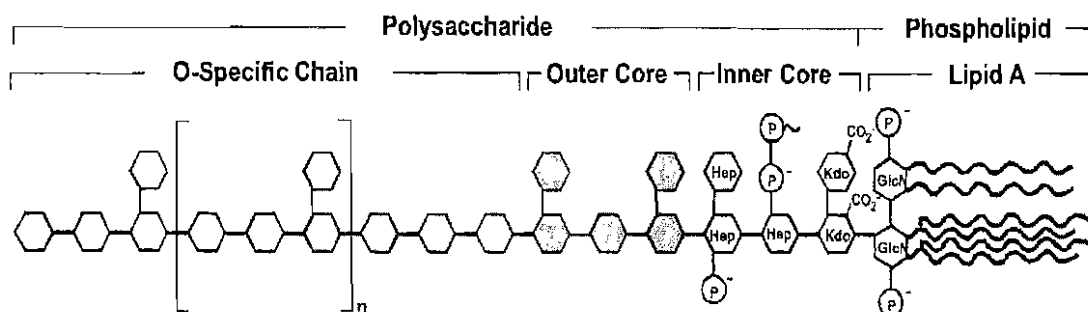
2 LPS による細胞の活性化

グラム陰性菌の細胞壁の外膜に存在するエンドトキシンは、O 特異多糖、コア多糖およびリピド A からなるリポ多糖 (LPS) である¹⁾。活性中心はリピド A (lipid

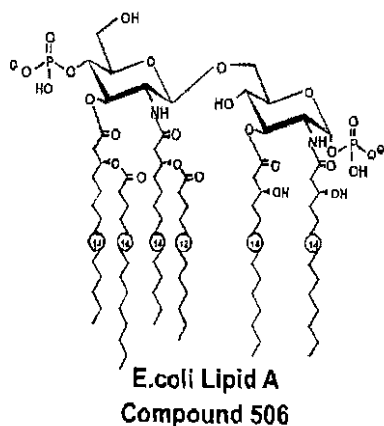
A) と呼ばれるリン脂質部位であり、グルコサミン 2 分子が結合したジサッカリドのアミノ基と水酸基に脂肪酸が、1 位と 4' 位の水酸基にリン酸が結合した基本構造をもつリン脂質である (Fig. 1)。高熱菌 *Aquifex pyrophilus* のリピド A はリン酸基がガラクトロン酸に置換しており通常のリピド A と異なる²⁾。リピド A はマクロファージなどに発現した膜型 CD14 に結合するが、脂肪酸の種類や数は菌種によって異なり活性も異なる。芝哲夫、楠本正一両教授はリピド A の化学合成を、また、長谷川明、木曾真両教授はリピド A の部分構造類縁体を多数合成し、多くの研究者が化学合成リピド A や類縁体を用いて先駆的研究を行った。われわれもそれらを用いて構造活性相関を調べたところ、構成脂肪酸がラウリン酸 (C12) やミリスチン酸 (C14) のとき活性は強いが、パルミチン酸 (C16) になると著しく低下すること、大腸菌リピド A よりも C16 側鎖をもつサルモネラ型リピド A の方が低い活性を示すことから、構成脂肪酸の炭素鎖長が活性発現に重要であることが分かった^{3,4)}。リピド A の生合成中間体 (Ia, リピド IV_A) やその合成標品 406 (側鎖アシル基を持たない直鎖アシル基 (C14) だけをもつ化合物) はマウスのマクロファージにはアゴニストとして作用するが、ヒトのマクロファージにはアンタゴニストとして作用する⁵⁾。これはマウスとヒトでは MD-2 分子の構造が異なるためである。大西、室井らは TLR4/MD-2/CD14 などの細胞膜成分のうち、MD-2 が機能するためには MD-2 のグリコシル化が必要であり、TLR4 が細胞膜状に発現するためにもグリコシル化が必要であること、さらに、MD-2 非発現細胞では、細胞膜上の CD14 分子に LPS が結合した場合、MD-2 の関与なしに TLR4-CD14 複合体形成が行われ、その複合体は可溶性 MD-2 によって活性化されることを報告した⁶⁻⁹⁾。近年のヒト MD-2 の結晶構造解析から、2 つの β シートに挟まれた疎水性の空洞にリガンドであるリピド IV_A が埋め込まれるため、アンタゴニストとしてリピド A の結合をブロックする (Fig. 2)¹⁰⁾。リピド A が TLR4/MD-2/CD14 複合体に結合すると TLR4 の多量体形成が認められるが、アンタゴニストはこれを阻害することも明らかとなっている。*Rhodobacter sphaeroides* のリピド A の構造を元にして強力なアンタゴニスト E5531 が合成された (Fig. 1)^{11,12)}。脂肪酸の鎖長や側鎖脂肪酸といった脂質部分が TLR4/MD2 複合体への結合、それに続くシグナルのスイッチ・オンやオフに重要であることが明らかとなった。敗血症の治療薬開発が期待されている。

LPS は O 特異多糖、コア多糖およびリピド A からなるリポ多糖であるが、種々の糖鎖の生合成中間体を含む

リポ多糖 (LPS)



リポドA (agonist)



リポドA類縁体 (antagonist)

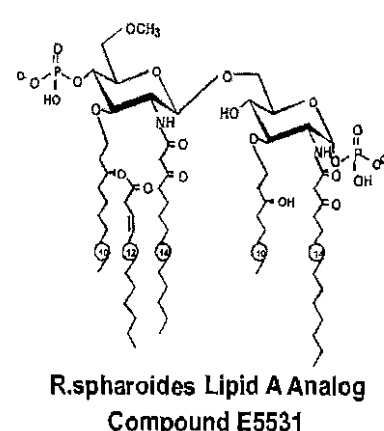
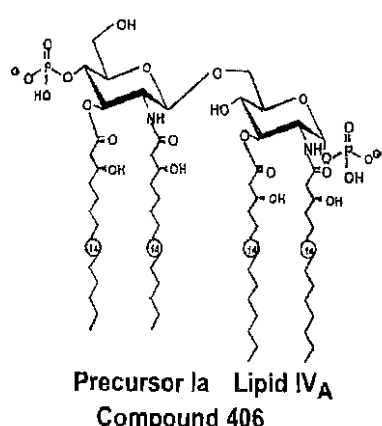
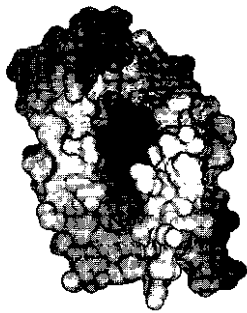


Fig. 1 リポ多糖 (LPS), 大腸菌リポドA, およびリポドA 類縁体の構造

混合物である (Fig. 3)。完全長 LPS と最小単位のコア多糖-リポドA からなる最小 LPS の活性を比較すると、最小 LPS (Re-LPS) に高い活性が認められ、完全長 LPS (S-LPS) の活性は著しく低いものであった¹³⁾。血液中の LPS は LPS 結合タンパク質 (LBP) に捕捉され、細胞表面に発現した膜型 CD14 あるいは可溶性 CD14 (sCD14) に結合する。LPS/CD14 複合体が TLR4/MD2 複合体に結合することによりシグナルが伝達される。TLR4/MD2 複合体を解したシグナル伝達は、MyD88 依存経路と非依存経路に分けられる (Fig. 4)。MyD88 依存経路では、NF- κ B が活性化され、腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor α , TNF- α) などのサイトカイン産生が起こる。MyD88 非依存経路の活性化によりインターフェロン β (IFN- β) が誘導される。刺激を受けたヒト単球上ではラフトが形成され CD14, TLR4 に加えて CD11b (CR 3), CD18, CD55 (DAF), CD36, CD81, CD16a, CD32, CD62 が会合することが知られている。ま

た、リポドA が TLR4/MD2/CD14 複合体に結合すると、CD14 依存的に細胞内に取り込まれることも分かった。Kaneko らはフラボノイドの quercetin と luteolin がシグナル伝達だけでなくラフト形成も抑制することを示した¹⁴⁾。井上らは LPS をリボソームに取り込んでマクロファージを刺激すると、LPS は細胞内に取り込まれ、MyD88 非依存経路のみを活性化するという現象を認めている¹⁵⁾。細胞内の LPS は Nod-like receptor (NLR) によっても認識される¹⁶⁾。NLR は中央に nucleotide-binding oligomerization domain (NOD) をもつ細胞内タンパク質であり、Nod1 はムラミルジペプチド (MDP) を Nod2 はジアミノピメリン酸を含む部分を認識する。Nod1 は非血球系細胞に発現し、環境残留性成分に反応する。Nod2 はマクロファージや好中球に発現し、病原菌の除去に役立っている。Nod1 や Nod2 は生体防御において補助的な役割を果たしているにすぎないが、その機能低下型遺伝子多型ではクローン病やアレル

ヒトMD2の三次元構造



ヒトMD2/リポドA複合体の三次元構造

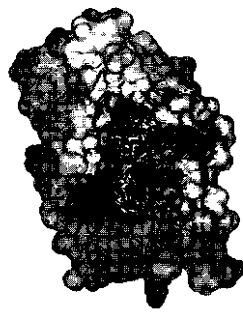


Fig. 2 ヒトMD2の3次元構造, およびヒトMD2/リポドIV_A複合体の3次元構造 (Ohtaら, *Science* (2007) を一部改変)

(左): ヒトMD2自体の3次元構造: 中央部に疎水性の深い大きなポケットがあり, 左上と右下部位が親水性部分, ポケットの内側にミスチン酸が埋め込まれる。

(右): ヒトMD2/リポドIV_A複合体の3次元構造: 中央部分のポケットにリポドIV_Aが結合している。脂肪酸4分枝が完全に埋め込まれている。

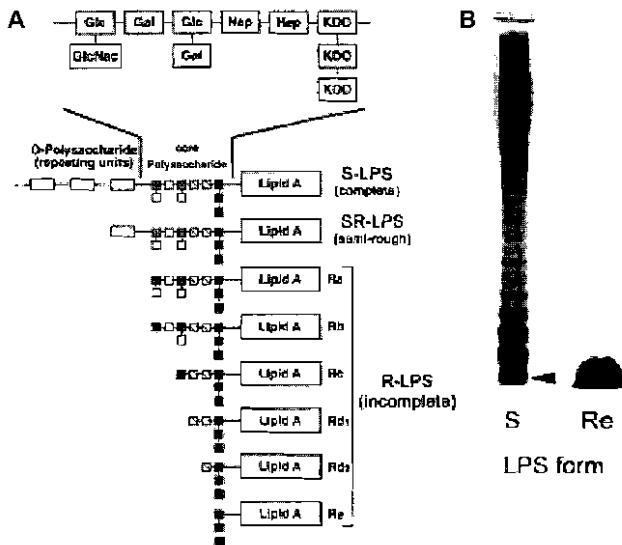


Fig. 3 リポ多糖の構造模式図と電気泳動パターン (Huber *et al.*, *Eur. J. Immunol* (2006) を一部改変)

(A): Smooth型-LPS (S-LPS) と種々の Rough型 LPS (R-LPS) の構造。S-LPSはO特異多糖-コア多糖-リポドAからなる。R-LPSで糖鎖が最も短いのがRe-LPSである。(B): S-LPSの電気泳動パターンでは, 糖鎖の生合成の色々な段階でラダー状のパターンとなる。糖鎖が最も短いRe-LPSは原点近くに認められる。HuberらはRe-LPSがTLR4/MD2を介してマクロファージを活性化するが, S-LPSの作用は弱いことを示した。

ギーと関連性があることが示唆されるようになった¹⁷⁾。

LPSは微量で発熱などの生体反応を惹起し, 種々の細胞に作用することで生体防御機構を活性化する。しかし, LPSが大量に遊離し, 全身の細胞を刺激することに

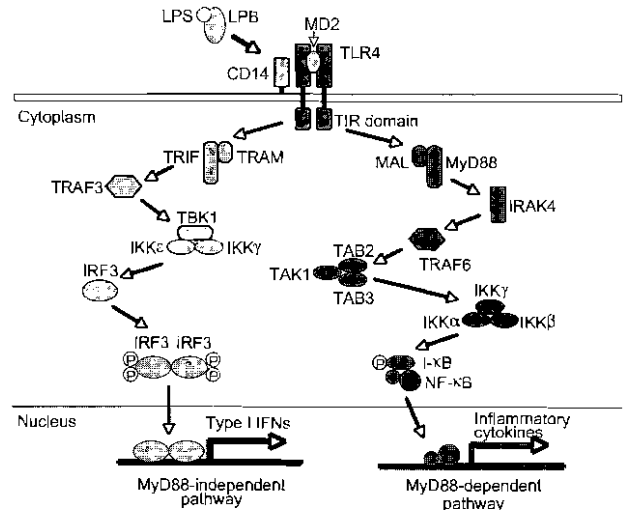


Fig. 4 TLR4/MD2を介したシグナル伝達経路

I-κB, Inhibitor of NF-κB; IKK, IκB kinase; IRAK, IL-1 receptor-associated kinase; IRF, IFN-regulatory factor; LPB, LPS-binding protein; MAL, MyD88-adaptor-like protein; MyD88, myeloid differentiation primary-response gene 88; NF-κB, nuclear factor-κB; TAB, TAK1-binding protein; TAK, TGFβ-activated kinase; TBK, TANK (TRAF-family-member-associated NF-κB activity)-binding kinase; TIR, Toll/IL-1 receptor; TLR, Toll-like receptor; TRAF, TNF-receptor-associated factor; TRAM, TRIF-related adaptor molecule; TRIF, TIR-domain-containing adaptor protein inducing IFNβ.

より, 過剰量のTNF-αが全身的に放出されるとサイトカイン嵐が生じる。あらゆる場所で嵐の威力が発揮されると, 全身的に炎症が誘導され, 播種性血管内凝固, 全身性炎症応答症候群 (SIRS), 多臓器不全が起こり, 最終的には敗血症性ショックとなる。

3 スフィンゴ糖脂質による細胞の活性化

海綿から分離された糖脂質をもとにα-galactosylceramide (α-GalCer) が化学合成された。α-GalCerはナチュラルキラーT (NKT) 細胞の強力なリガンドであり, がん治療, アレルギーなど免疫学的な治療への適用が検討されている。NKT細胞は通常のT細胞と異なり, 限られた抗原分子を認識する自然免疫に属するT細胞群である。樹状細胞に発現した主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) のクラスIに類似したCD1d分子に糖脂質 (α-GalCer) が結合する。NKT細胞はinvariant TCRα鎖 (マウスではVα14-Jα18, ヒトではVα24-Jα18) で糖脂質/CD1d複合体を認識し, IL-4やインターフェロンγ (IFN-γ) といったサイトカインを産生する。通常のCD4⁺T細胞はそのサイトカイン産生性から, ヘルパーT細胞1型 (Th1) とヘルパーT細胞2型 (Th2) に分けられる。Th1はIFN-γなどのサイトカ

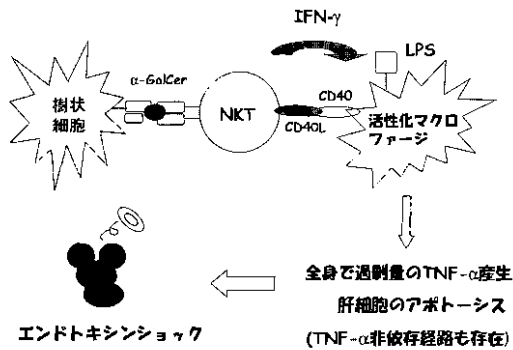


Fig. 5 NKT 細胞活性化を介した新たなエンドトキシンショックモデル
α-GalCer によって NKT 細胞が活性化され、IFN-γ と CD40L によってマクロファージが活性化される。この状態で感染によって LPS 刺激を受けると全身で大量の TNF-α が産生され、ショックが誘導される。また、TNF-α 非依存経路も存在する。

インを産生し、Th2 は IL-4 などのサイトカインを産生する。NKT 細胞は限られたリガンドである α-GalCer を認識する（あるいは α-GalCer で刺激される）と、Th1 と Th2 の双方のサイトカインを産生することができる。NKT 細胞の強力なリガンドである α-GalCer のセラミドと脂肪酸の炭素鎖長を短くした OCH は NKT 細胞を刺激し優先的に IL-4 を産生させる。すなわち、α-GalCer のセラミドと脂肪酸の炭素数を変化させることにより細胞の認識とその後の応答が異なることが明らかにされた。OCH は IL-12 産生を抑制し、その結果として IFN-γ 産生も抑制される。すなわち、OCH は Th2 へのシフトを誘導することができるので、免疫状態が Th1 にシフトしたために生じる自己免疫疾患の改善に役立つことが予想できる。また、ワクチンへの応用も考えられている¹⁸⁾。

α-GalCer は強力な NKT 細胞のリガンドであり、投与するとサイトカインが産生され、免疫系が活性化される。したがって、α-GalCer 投与により IFN-γ 産生が起こるとマクロファージが活性化される。一般に *M. bovis* BCG 生菌、*P. acnes* 死菌などで感作されると IFN-γ 産生が誘導され、マクロファージなど免疫系が強力に賦活化される。このような状態になった動物に LPS を投与すると多量の TNF-α が産生され、7 時間～2 日以内にショックで死亡する。いわゆるエンドトキシンショックが誘導される。滝本らは α-GalCer も同じように免疫系を強力に賦活することに着目し、マウスを α-GalCer で前感作し次いでネズミチフス菌 (*Salmonella typhimurium* aroA) で感染すると、あるいは LPS を投与すると TNF-α 依存的にショック死が誘導されることを見出した¹⁹⁾。この現象は横地らのグループも認めており²⁰⁾、新しいショックモデルとなることが示唆された。

井上らは α-GalCer で前感作し LPS 投与で誘導されるショック死が LPS を投与する前にエリスロマイシン誘導体で処理することによりブロックできることを見出している²¹⁾。α-GalCer に関する総説は多く出されているので参照されたい。

環境土壌細菌である *Sphingomonas* 属細菌の細胞壁はグラム陰性菌であるが、細胞壁構成成分が LPS ではなく、スフィンゴ糖脂質 (glycosphingolipid, GSL) に置き換わっている。Kawahara らは *Sphingomonas* 属細菌のスフィンゴ糖脂質について長年研究してきた。2006 年、米国の 2 つの研究グループは、*Sphingomonas* 属細菌由来の GSL が NKT 細胞の天然のリガンドであることを Nature 誌に発表した^{22, 23)}。われわれはそれより以前から、川原らと紀文フードケミファが調製した種々の GSL を用いて免疫系に作用することを検討しており、GSL が TLR4 を刺激するだけでなく、NKT 細胞のリガンドであり、抗がん性、抗ウイルス性を有する物質であることを発見し、特許出願していた。GSL-1 (*S. paucimobilis*), GSL-6 と GSL-7 (*S. yanoikuyae*), GSL-8 と GSL-9 (*S. wittichii*), GSL-10 と GSL-11 (*P. macrogoltabidus*), および GSL-12 と GSL-13 (*S. terrae*) の 9 種類の化学組成と生物活性を比較した。GSL-1, GSL-8, GSL-10, GSL-12 の構成糖はグルクロン酸 (GlcA) であり、GSL-7, GSL-9, GSL-11, GSL-13 の構成糖はガラクトン酸 (GalA) である (Fig. 6)。滝本らは α-GlcACer 型 GSL と α-GalACer 型 GSL の NKT 細胞の活性化活性を比較し、α-GlcACer 型 GSL の方が活性化能は高いことを示した²⁴⁾。ジヒドロスフィンゴシンは C18:0, C20:1, C21 cyclopropane の 3 種類であり、その組成比は菌種により異なっていた。*S. yanoikuyae* 由来の GSL-7 (α-GalACer 型 GSL) の組成比は C18:0 (9.3%), C20:1 (24.5%), C21 cyclopropane (66.2%) であった。*S. terrae* 由来の GSL-13 (α-GalACer 型 GSL) の組成比は C18:0 (not detectable), C20:1 (74.0%), C21 cyclopropane (26.0%) であった。久保田らは GSL-7 と GSL-13 の活性を比較し、C21 cyclopropane が多い GSL-7 の NKT 細胞、NK 細胞、樹状細胞、マクロファージに対する作用は、C20:1 が多い GSL-13 のものより高いことを示した²⁵⁾。これらの結果は C20:1 よりも C21 cyclopropane の方が NKT 細胞の活性化に適しており、ジヒドロスフィンゴシンの組成比が菌種により異なるので *Sphingomonas* 属細菌の免疫系に及ぼす作用も菌種により異なることが示された。Kinjyo らも C21 cyclopropane をもつ GSL の作用について報告した²⁶⁾。

GSL は水に溶けないので免疫系の細胞と接触させるた

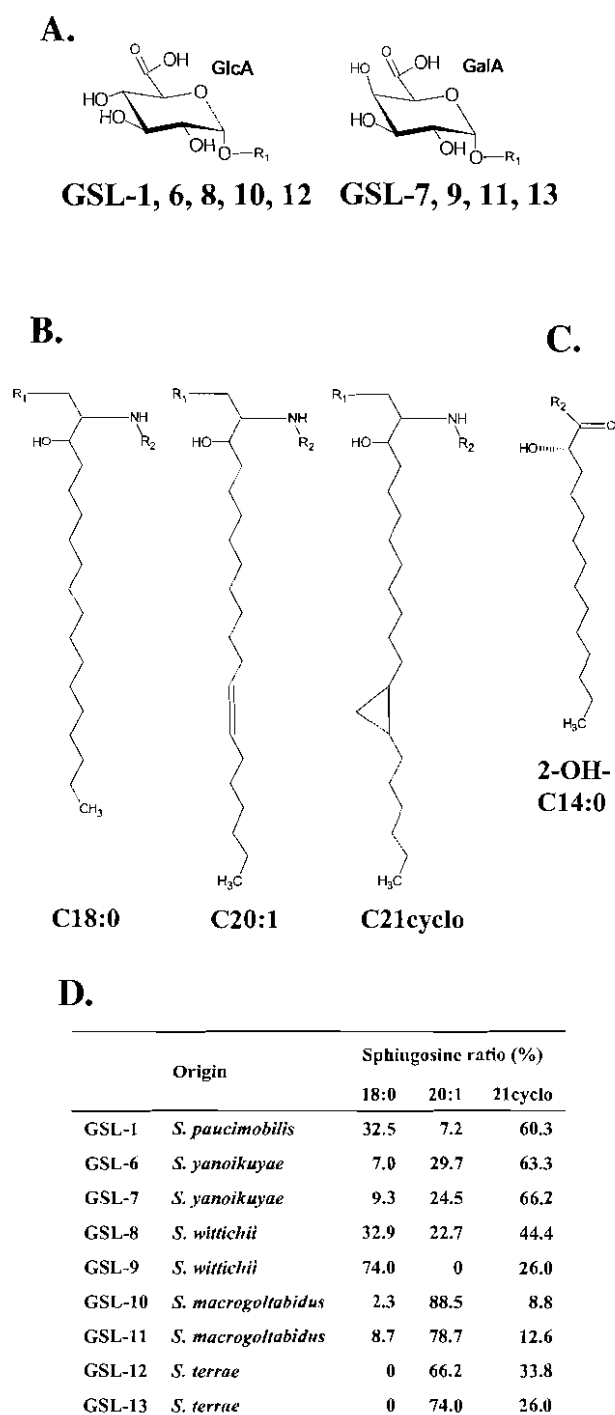


Fig. 6 *Sphingomonas* 属細菌由来の GSL の構造
(A): 糖鎖構造, (B): セラミド構造, (C): 主な脂肪酸,
(D): スフィンゴシンの組成比

めには適当な溶媒で可溶化することが必要である。井上らは、ラメラ構造をもつリポソームに GSL-7 を組み込み、NKT 細胞の活性を IFN- γ 産生を指標にして調べた (Fig. 7)。pH 感受性の 1,2-dioleoyl-sn-glycero-3-phosphatidyl-ethanolamine (DOPE) と 1,2-dioleoyl-3-trimethylammonium-propane (DOTAP) で作製した

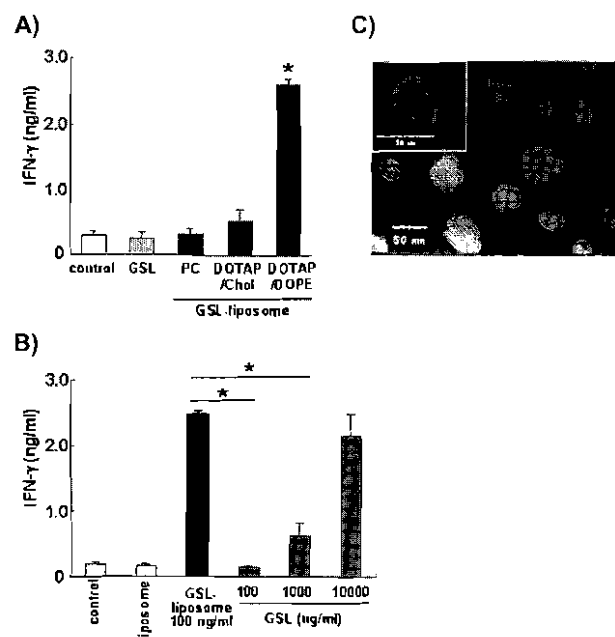


Fig. 7 pH 感受性リポソーム/スフィンゴ糖脂質 (GSL) による NKT 細胞の活性化
(A): 異なるリポソームによる IFN- γ 産生の違い,
(B): 用量依存性, (C): 電顕写真

リポソームは、溶媒で可溶化したものより、また DOPE とコレステロールで作製したリポソームより著しく活性が高いこと、リポソーム型 GSL は細胞に取り込まれてから late endosome で壊され、NKT 細胞や樹状細胞を活性化することが示された²⁷⁾。GSL-7 などスフィンゴ糖脂質は NKT 細胞、NK 細胞、樹状細胞、マクロファージなどの免疫系の細胞を活性化することにより免疫機能を高めることができる。これらの糖脂質は B16-F10 メラノーマ腫瘍の増殖を抑制すること、マウスサイトメガロウイルスに対する抵抗性を付与することから、スフィンゴ糖脂質は化粧品の単なる素材として利用するだけでなく、機能性のある糖脂質として利用できるものと考えている。

4 結核菌糖脂質による細胞の活性化

結核は今なお世界で最も多くの人が罹患している感染症である。日本では結核は過去の感染症とみなされた時期もあったが、欧米先進国と比べて結核の発症率が高いこと、すべての抗結核薬に耐性を示す「スーパー結核菌」も出現したこと、BCG 生菌による予防接種が成人の肺結核の予防に結びつかないことなど、いくつかの問題が浮き上がり、結核への対応が求められている。結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) とは別に、MAC (*Mycobacterium avium-intracellulare* complex) と呼ばれる抗酸菌による感染症もある。HIV に感染すると CD4 T 細胞が減少し、やがて AIDS を発症する。HIV

感染により CD4 T 細胞が減少すると、CD4 T が防御応答に重要な役割を果たしている疾患に感染しやすくなる。その代表例が結核であり、AIDS 発症と共に結核の罹患率が上昇する。さらに、MAC 感染症も免疫力の低下に伴って発症するようになる。

結核菌は細胞壁に多量の脂質を含み、酸に抵抗性を示すことから抗酸菌といわれ、細胞内で増殖する典型的な細胞内寄生細菌である。通常の細菌であればマクロファージなどの食細胞に取り込まれると、取り込んだ食胞 (phagosome, P) と殺菌作用のあるリソソーム (lysosome, L) との融合 (P-L fusion) が起こり、殺菌・消化される。結核菌の強毒株表層にはマンノースが糖脂質の表面に発現しているため、マンノース結合レクチンが結核菌に結合した後に食細胞に取り込まれるか、結核菌表層のマンノースを直接マクロファージ表面のマンノース受容体が認識し、結核菌を細胞内に取り込む。すなわち、結核菌はマクロファージに積極的に取り込まれる仕組みをもっている。それは結核菌表層に存在するリポアラビノマンナン (lipoarabinomannan, LAM) などの糖脂質が、マクロファージの細胞質で起こる P-L 融合を阻止するため、結核菌はマクロファージが持つ殺菌機構から回避することができ食胞内の酸性化を防御する。また、酸性になっても酸に抵抗性を示すので快適な住居に住む状態となり結核菌は食胞内で増殖する。LAM は phosphatidylinositol にアラビノマンナン結合したものでありリン脂質の 1 種である。末端にマンノースが結合した Man-LAM は強毒株に認められ、マンノースが食細胞への侵入に重要な役割を果たしているのもよく理解できる。phosphatidylinositol にマンナンが結合した lipomannan (LM) は TLR2 を介してマクロファージを活性化する。ヒトマクロファージが TLR を介して活性化されるとビタミン D 受容体や Vitamin D-1-hydroxylase 遺伝子が活性化され、抗菌ペプチドであるカテリシジンの発現を促進し細胞内の結核菌を殺菌する²⁸⁾。アフリカ系米国人は 25-hydroxyvitamin D レベルが低いので、カテリシジン mRNA の生合成が低下し、結核感染に感受性となる。結核が蔓延していた時代に結核を発症すると紫外線の多い高原のサナトリウムで治療したのも理に適ったことだったといえよう。

結核菌にはミコール酸という高等動物に存在しない脂肪酸が存在し、ミコール酸含有脂質が結核菌の病原性と深く関わっている。 α 位に長鎖アルキル分枝 (C12~24) をもち、主鎖は著しく長い炭素鎖 (C70~90) をもつ脂肪酸であり、二重結合、メチル側鎖やメトキシ基、カルボニル基、シクロプロパン環、分子内エステルなどが付加した構造をもち、分子種は菌種によって異なっている

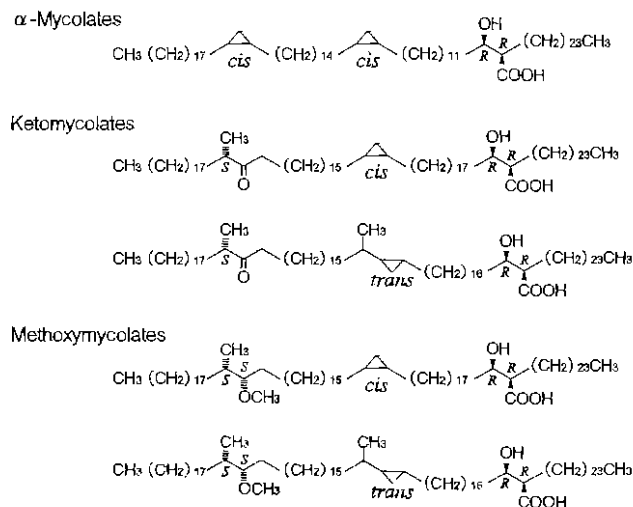


Fig. 8 代表的なミコール酸の構造

TDM (trehalose dimycolate)

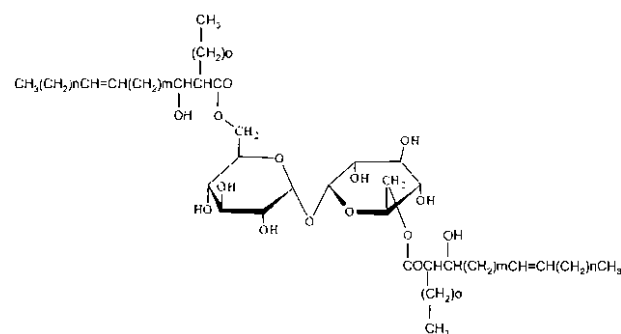


Fig. 9 Trehalose dimycolate (TDM) の構造

(Fig. 8)。結核菌や BCG では α -ミコール酸、ケトミコール酸、メトキシミコール酸であり、MAC 群では α -ミコール酸、ケトミコール酸、ジエステルミコール酸である。結核菌のワックス成分として複数のメチル側鎖をもつミコセロジン酸 (mycocerosic acid) がある。他にも多メチル分枝脂肪酸が存在し、フェノール糖脂質やスルホリピドなどの構成脂肪酸となっている。また、C19 メチル分枝脂肪酸であるツベルクロステアリン酸も存在する。コード・ファクターと呼ばれる TDM は細胞壁表層に存在するミコール酸含有糖脂質であり、肉芽腫形成など病原性と密接に関連し、免疫系の細胞に作用することがよく知られている。TDM はマウスに致死毒性を示すが、非病原性のミコバクテリア、*Nocardia*, *Rhodococcus* にも存在する (Fig. 9)。*Nocardia*, *Rhodococcus* 属細菌のミコール酸炭素鎖は C30~C60 位であり、結核菌のミコール酸の炭素鎖の C80~C90 と比べると短い。Yano らは TDM がアジュバント活性、マクロファージ活性化能、抗腫瘍性、非特異的感染抵抗性の誘導、血管新生作用、TNF- α や IFN- γ などのサイトカイン産生など多くの免疫薬理活性を示すことを示し

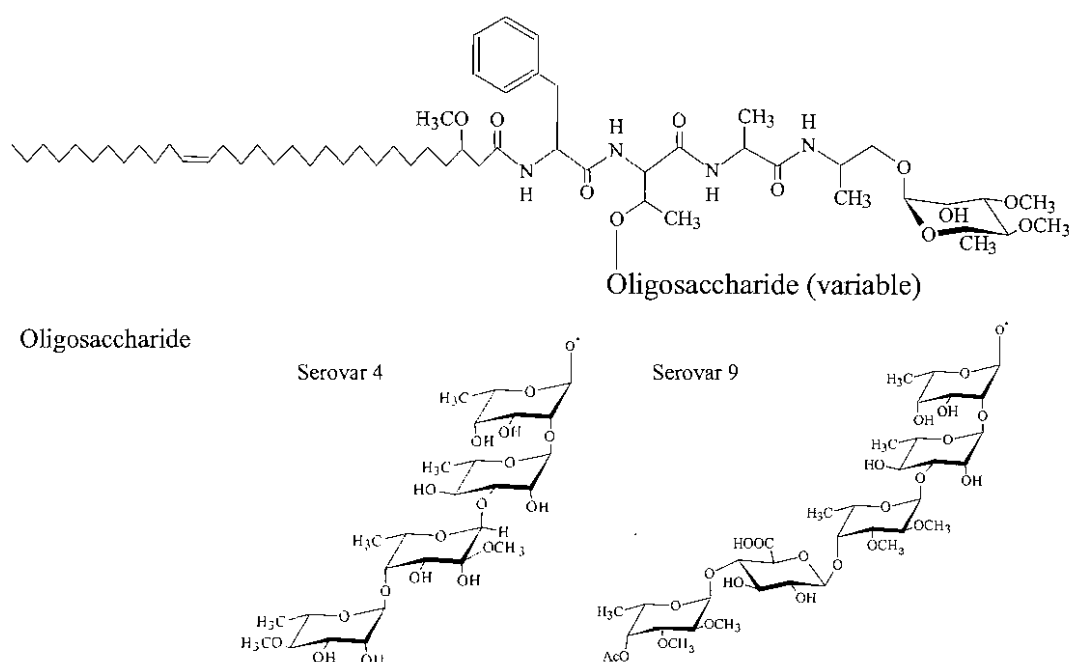


Fig. 10 Glycopeptidolipid (GPL) の構造

た。また、Yano らは、活動性結核患者では TDM に対する抗体が産生されることから、結核の診断に糖脂質に対する抗体価を測定することを提唱し、糖脂質に対する抗体産生から血清診断が可能であることを示した^{29,30)}。TDM はマウスの自然免疫系を刺激することができるが、前述のようにマウスには CD1b 分子が存在しないためヒトで認められている TDM に対する T 細胞応答が誘導されない。したがって、マウスでは TDM に対する抗体応答は認められず、TDM で誘導される肺肉芽腫は T 細胞が関与しないので、TNF- α 依存性の一過性のものである³¹⁾。また TDM はマウス TLR2 を介してマクロファージなどの細胞群で認識されサイトカイン産生を誘導する³²⁾。TDM をビーズにコートして投与しても肉芽腫形成が誘導される。ヒト CD1b トランスジェニックマウスが作製できれば今まで認められなかった糖脂質に対する T 細胞応答が誘導されうる。われわれは CD1b が存在するモルモットのサイトカイン IL-12 と IFN- γ の組換え体を作製し、それぞれに対する単クローン性抗体を作製し、ELISA による測定系を作製した。今までモルモットは結核のモデル動物であったが、解析するツールがほとんどなかったのでこれらを利用して糖脂質に対する免疫応答の解析が可能となった。

非結核性抗酸菌である MAC には glycopeptidolipid (GPL) と呼ばれる糖脂質が存在し、糖鎖の違いによって血清型が決められる (Fig. 10)。血清型 4 型菌は AIDS 末期の合併症としてしばしば感染する。マクロファージの貪食に及ぼす GPL の作用を調べるため、GPL をブド

ウ球菌にコートし、ツベルクリン反応陽性の健常人の末梢血単球を用いてその作用について比較した。4 型菌 GPL は P-L 融合を阻止したが、9 型菌 GPL は抑制しなかった。抗 CD3 抗体による T 細胞応答も 4 型菌 GPL は抑制したが、9 型菌 GPL の作用は弱かった³³⁾。したがって、AIDS 末期における MAC 合併症はさらに生体防御能を抑制させることが示唆された。Shimada らは 4 型菌 GPL から糖鎖を除去すると抑制作用は消失すること、補体レセプターを介した貪食は抑制しないが、マンノース受容体を介した貪食を抑制すること、P-L 融合における early endosome antigen 1 と Ca²⁺/calmodulin kinase II が GPL に抑制されることを明らかにした³⁴⁾。

5 おわりに

代表的な細菌糖脂質と生体との関わりについて述べたが、微生物と人間との関わりほんの一部に過ぎない。哺乳動物の細胞内の出来事で、タイトルの「生体防御と油脂 — 脂肪酸、糖脂質、リン脂質と免疫機能 —」に関連するアラキドン酸カスケード、T 細胞や B 細胞の細胞内シグナル伝達における diacylglycerol (DAG) などにも取り扱う事柄であるが、ここでは省略した。マクロファージが TLR を介して微生物由来の糖脂質やリン脂質によって活性化され、種々のサイトカインを産生し、自然免疫に関与している。逆に抑制的に働く脂質の存在も知られている。アゴニストの糖脂質とアンタゴニスト間の細胞受容体への結合と多重化の違いについてもホットな領域である。本稿が生体防御と脂質の理解に多少な

りとも役立てば幸いである。

文 献

- 1) A.J. Ulmer, E.Th. Rietschel, U. Zähringer & H. Heine, *Trends Glycosci. Glycotech.*, 14 (76), 53-68 (2002).
- 2) B.M. Plötz, B. Lindner, K.O. Stetter & O. Holst, *J. Biol. Chem.*, 275 (15), 11222-8 (2000).
- 3) J.Y. Homma, M. Matsuura & Y. Kumazawa, *Drugs of the Future*, 14 (7), 645-65 (1989).
- 4) J.Y. Homma, M. Matsuura & Y. Kumazawa, *Endotoxin* (H. Friedman *et al.* ed.). Plenum Publishing Co., pp.101-19 (1990).
- 5) H. Loppnow, H. Brade, I. Durrbaum *et al.*, *J. Immunol.*, 142 (9), 3229-38 (1989).
- 6) T. Ohnishi, M. Muroi & K. Tanamoto, *J. Immunol.*, 167 (6), 3354-9 (2001).
- 7) M. Muroi, T. Ohnishi & K. Tanamoto, *Infect. Immun.*, 70 (7), 3546-50 (2002).
- 8) T. Ohnishi, M. Muroi & K. Tanamoto, *Clin. Diagn. Lab. Immunol.*, 10 (3), 405-10 (2003).
- 9) M. Muroi & K. Tanamoto, *J. Biol. Chem.*, 281 (9), 5484-91 (2006).
- 10) U. Ohta, K. Fukase, K. Miyake & Y. Sato, *Science*, 316 (5831), 1632-4 (2007).
- 11) T. Kawara, J.R. Bristol *et al.*, *Prog. Clin. Biol. Res.*, 392, 499-509 (1995).
- 12) W.J. Christ, O. Asano *et al.*, *Science*, 268 (5207), 80-3 (1995).
- 13) M. Huber, C. Kalis, S. Keck *et al.*, *Eur. J. Immunol.*, 36 (3), 701-11 (2006).
- 14) M. Kaneko, H. Takimoto, T. Sugiyama *et al.*, *Immunopharm. Immunotox.*, 30, 867-82 (2008).
- 15) J. Inoue, S. Watanabe *et al.* 論文投稿中
- 16) J.H. Park, Y.G. Kim, M. Show *et al.*, *J. Immunol.*, 179 (1), 514-21 (2007).
- 17) M. Hasegawa, Y. Fujimoto, P.C. Lucas *et al.*, *EMBO J.*, 27 (2), 373-83 (2008).
- 18) V. Cweundolo, J.D. Silk, S.H. Masri, M. Salio, *Nature Rev. Immunol.*, 9 (1), 28-38 (2009).
- 19) 滝本博明, 熊沢義雄, NKT 細胞の活性化とエンドトキシンショック エンドトキシン研究 8 自然免疫の最前線, 日本エンドトキシン研究会他編集, 医学図書出版, pp.41-9 (2006).
- 20) H. Ito, N. Koide, F. Hassan *et al.*, *Lab. Invest.*, 86 (3), 254-62 (2006).
- 21) J. Inoue *et al.* 論文投稿中
- 22) J. Mattner, K.L. Debord, N. Ismail *et al.*, *Nature*, 434 (7032), 525-9 (2005).
- 23) Y. Kinjo, D. Wu *et al.*, *Nature*, 434 (7032), 520-5 (2005).
- 24) H. Takimoto *et al.* 論文投稿中
- 25) M. Kubota, H. Takimoto, M. Kaneko, J. Inoue & Y. Kumazawa, *Immunopharm. Immunotox.* in press.
- 26) Y. Kinjo, B. Pei, S. Bufali *et al.*, *Chem. Biol.*, 15 (7), 654-64 (2008).
- 27) J. Inoue, R. Ideue, D. Takahashi, M. Kubota & Y. Kumazawa, *J. Controlled Release*, 133 (1), 18-23 (2009).
- 28) P.T. Liu, S. Stenger, H. Li *et al.*, *Science*, 311 (5768), 1770-3 (2006).
- 29) Y. Fujita, T. Doi, R. Maekawa, M. Ito & I. Yano, *J. Med. Microbiol.*, 55 (pt 2), 189-99 (2006).
- 30) Y. Fujita, T. Doi, K. Sato & I. Yano, *Microbiol.*, 151 (pt 6), 2065-74 (2005).
- 31) H. Takimoto, H. Maruyama, K. Shimada, R. Yakabe, I. Yano & Y. Kumazawa, *Clin. Exp. Immunol.*, 44 (1), 134-41 (2006).
- 32) H. Takimoto *et al.* 論文投稿中
- 33) H. Kano, T. Doi, Y. Fujita, H. Takimoto, I. Yano & Y. Kumazawa, *Biol. Pharm. Bull.*, 28 (2), 335-9 (2005).
- 34) K. Shimada, H. Takimoto, I. Yano & Y. Kumazawa, *Microbiol. Immunol.*, 50 (3), 243-51 (2006).