

“ホーミングレセプター” L-セレクトインが認識する細胞表面硫酸化糖鎖

内村 健治

今から約50年前にリンパ球のリンパ節へのホーミング現象が発見された。その後、“ホーミングレセプター（受容体）”の存在が明らかにされ、その一つであるリンパ球表面のL-セレクトイン（CD62L）はリンパ節の高内皮細静脈（high endothelial venule: HEV）とよばれる特徴的な血管内皮細胞に発現する細胞表面糖鎖を認識することが明らかとなった。この糖鎖はシアリル6-スルホヒスXとよばれる硫酸化糖鎖であることが明らかにされた。リンパ球が末梢リンパ節内へ血管を介して移入するとき、血管内においてその流速を減速すること（ローリング）がホーミングの第一段階である。このローリングはL-セレクトインとシアリル6-スルホヒスXのタンパク質-糖鎖の分子間相互作用が担う。本稿では、リンパ球のリンパ節ホーミング研究の歴史を踏まえ、L-セレクトインとそのリガンド糖鎖の合成を担う酵素の最近の知見をまとめ紹介する。

1. ホーミングレセプター：概念と歴史

“ホーミングレセプター”の存在は1950年代から60年代の研究結果により最初に提唱された。オックスフォード大学のJames Gowans博士らは齧歯類モデル動物を用い、リンパ球が血管系とリンパ管系を生理条件下で常に行き来している現象を発見した¹⁾。リンパ球の再循環という現象である。血液中のリンパ球は血管からリンパ組織に移入する（“ホーミング”）。輸出リンパ管を通じて同組織から出た後、リンパ球はリンパ管系に入り胸管を経て鎖骨下静脈より再び血管系へと戻る^{2,3)}。この高度に制御された現象の観察から、ホーミングするためのレセプターをリンパ球が保持しているとの仮説が提唱された。一方、これら生理学的な研究と並行して、Gowans博士の指導者であり1945年にノーベル医学生理学賞を受賞したHoward Florey博士らも、電子顕微鏡を使用した組織学的な研究を行いこの仮説を支持する結果を得た^{4,5)}。すなわち、多くのリンパ球がリ

ンパ節内で立方状の血管内皮細胞の層（血管内膜）に接着して、その内膜に選択的に取り込まれていた^{4,5)}（図1）。この特殊化された血管は現在、高内皮細静脈（high endothelial venule: HEV）として知られている。Gowans博士のもとで研究していたBertram Gesner博士はJudith Woodruff博士との研究により、トリプシン処理されたリンパ球が正常に再循環できなくなることを報告した⁶⁾。このことから選択性を担うホーミングレセプターはタンパク質分子であると予想された。Gesner博士らはさらに興味深い報告を行った。リンパ球の再循環がある種の糖鎖分解酵素により負に影響を受けることを発見したのである⁷⁾。糖鎖がリンパ球ホーミングに関わることが示された最初の報告である。選択的にHEV高親和性を示すホーミングレセプターの本体を突き止める研究は、1976年にWoodruff博士およびHugh Stamer博士により報告された*in vitro* アッセイシステムの研究成果により劇的に進んだ。有名な“Stamper-Woodruff アッセイ”である⁸⁾。

2. Stamper-Woodruff アッセイ

リンパ球とHEVとの選択的親和性をずり応力（剪断応力, shear stress）存在下、*in vitro*で観察するアッセイ方法が確立され、ホーミングレセプター研究の分子レベルでのアプローチが容易となった。マウスなどの二次リンパ組織の凍結切片をスライドガラスに取り、リンパ球を含む溶液

名古屋大学大学院医学研究科生化学第一講座（〒466-8550 愛知県名古屋市昭和区鶴舞町65）

Sulfated carbohydrate ligands for L-selectin, a “lymphocyte homing receptor”

Kenji Uchimura (Department of Biochemistry I, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai, Showa, Nagoya, Aichi 466-8550, Japan)

本総説は2011年度奨励賞を受賞した。

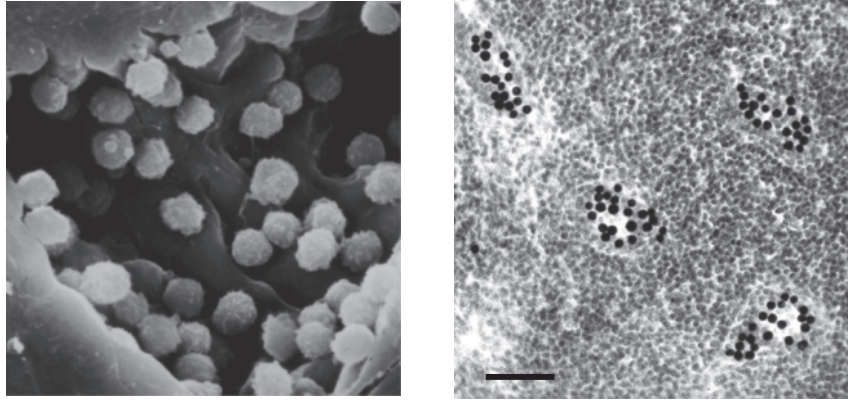


図1 高内皮細静脈に結合するリンパ球および Stamper-Woodruff アッセイ
 マウス末梢リンパ節の高内皮細静脈 (high endothelial venule: HEV) に結合するリンパ球の走査型電子顕微鏡像 (左). リンパ球と HEV との選択的親和性をずり応力 (剪断応力, shear stress) 存在下で観察する *in vitro* Stamper-Woodruff アッセイの結果像 (右). 末梢リンパ節から調製したリンパ球がリンパ節凍結切片の HEV に特異的に結合している結果が観察される (濃染色された細胞). 本方法の確立によりホーミングレセプター研究の分子レベルでのアプローチが容易となった. スケールバー: 50 μm . 本文参照. 写真は Steven Rosen 博士より提供.

を加え, 切片を薄く覆う. スライドガラスを一定速度で回転移動する台の上に置き, 低温条件下で一定時間インキュベートする. その後, 切片をグルタルアルデヒド処理し, トルイジンブルー染色を行う. 以上の操作で, 低温条件およびずり応力存在下で HEV に結合するリンパ球が観察される (図1). 低温で行うことによりインテグリンと細胞接着分子の相互作用に代表されるタンパク質間相互作用を排除できると予想される⁹⁾. つまり, この Stamper-Woodruff アッセイ法は後述するタンパク質と糖鎖の相互作用を選択的に検出するために最適化されたシステムである. このアッセイ法を用いてリンパ球の HEV への結合を阻害するモノクローナル抗体 MEL14 が Eugene Butcher 博士らにより確立された¹⁰⁾. その後, MEL14 抗原分子であるホーミングレセプターが分子クローニングされ¹¹⁾, 現在では L-セレクチン (CD62L) として知られている. また, Stamper-Woodruff アッセイでリンパ球の結合を阻害し HEV を特異的に認識する MECA-79 抗体も発見され¹²⁾, その抗原を担うリガンド分子もクローニングされた¹³⁾.

3. ホーミングの場である HEV

二次リンパ器官である末梢リンパ節には, 静脈から枝分かれし毛細血管とつながる細静脈が髄質および傍皮質部にみられる. 末梢リンパ節の細静脈は内径サイズにより I~V の五つのクラスに分類することができ, マウスの末梢リンパ節は内径約 100 μm から 20 μm になる (図2)¹⁴⁾. クラス I, II は主に髄質, クラス III, IV, V は主に傍皮質部に観察される. 立方状で膨らんだ形の内皮細胞から成る細静脈はクラス III, IV, V である. リンパ球は毛細血管内を通過した後, クラス V, IV および III を順次通過するときにい

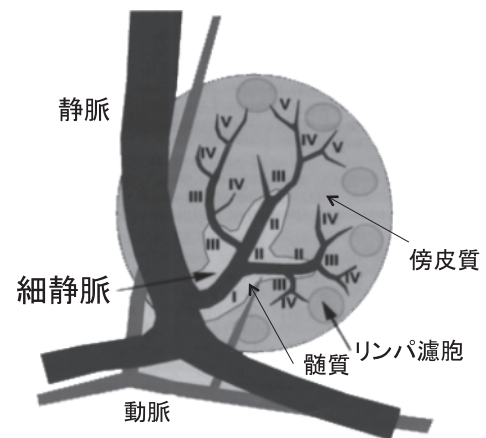


図2 マウス末梢リンパ節細静脈

二次リンパ組織である末梢リンパ節には静脈から枝分かれし毛細血管とつながる細静脈がみられる. マウス末梢リンパ節細静脈は内径サイズにより I~V の五つのクラスに分類され, クラス I, II は主に髄質, クラス III, IV, V は主に傍皮質部に観察される. 高内皮細静脈 (HEV) はクラス III, IV, V で MECA-79 抗体に認識される. 本文参照. 文献 14 より一部改変して引用.

ずれかの細静脈よりリンパ節内へ移入する. これら三つのクラスの細静脈が高内皮細静脈 HEV として分類される. 上述の MECA-79 抗体は主にクラス III, IV, V の細静脈に反応性を示す¹⁵⁾ (図3). この HEV の特性を恒常的に維持する機構を解明するための研究が多くの研究者により遂行された. 1980 年には, ラットの末梢リンパ節の一つである膝窩リンパ節の輸入リンパ管を遮断すると, 当該リンパ節の HEV を構成する内皮細胞が平坦な形に変化し, リンパ球の当該リンパ節へのホーミングが減少することが報告された¹⁶⁾. 輸入リンパ管を遮断すると MECA-79 による反

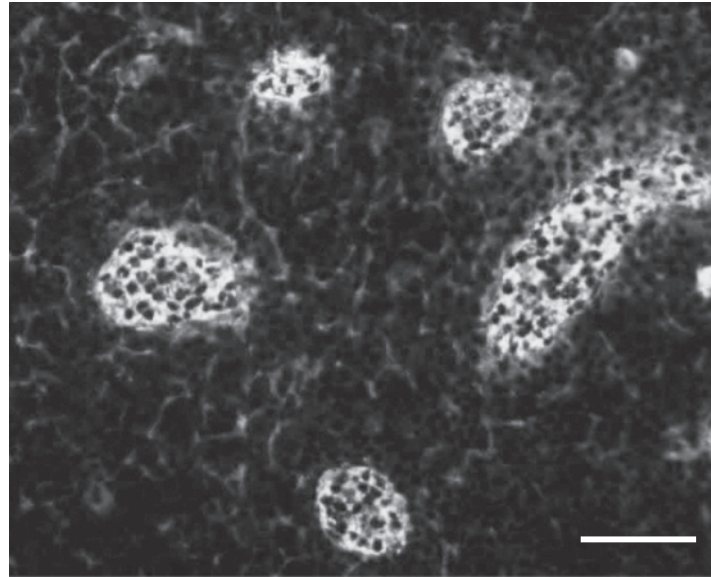


図3 MECA-79抗体で染色されたマウス末梢リンパ節のHEV
成体マウスの末梢リンパ節の凍結切片をMECA-79抗体で染色し蛍光色素Cy3で標識した二次抗体で検出した結果. MECA-79抗体はHEVに発現する硫酸化されたL-セレクチンリガンド糖鎖を認識する(白色). 本文参照. スケールバー: 50 μm .

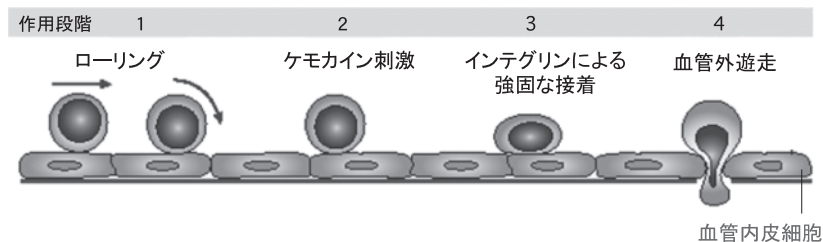


図4 白血球血行性組織内浸潤の多段階モデル
セレクチンとその認識リガンドである細胞表面糖鎖のタンパク質-糖鎖分子相互作用はホーミングの第一段階であるロージングに重要. 本文参照. 文献73より一部改変して引用.

応性も減少することが確認された¹⁷⁾. リンパ液中の因子もしくは細胞がHEVの恒常的な特性の維持に関わることが強く示唆された. リンホトキシン β 受容体を介するシグナリングがリンパ組織の恒常性維持に必要¹⁸⁾であることから, HEVの特性維持におけるリンホトキシン β 受容体の重要性に注目が集まった. HEVを構成する内皮細胞はリンホトキシン β 受容体を発現する¹⁹⁾. Browning博士らはリンホトキシン β 受容体シグナルを拮抗阻害するリンホトキシン β 受容体-免疫グロブリンキメラ分子を使用し, HEVの特性維持にリンホトキシン β 受容体シグナルが必要であることを示した²⁰⁾. HEV様血管の特性維持がリガンドであるリンホトキシン α/β によりコントロールされていること^{21,22)}と合致した結果であった. また, Tリンパ球を欠損したマウスやBリンパ球を欠損したマウスの末梢リンパ節においてもHEVが観察されることから, HEV

の特性維持に必要なリンホトキシン α/β リガンドを発現する細胞は明らかにされなかった²⁰⁾. 近年, Girard博士らはCD11c陽性細胞を特異的に欠失させることができるマウスを作製し, 樹状細胞がHEVの特性を維持させることを明らかにした²³⁾. また, 樹状細胞由来のリンホトキシン α リガンドがHEVに必須であることも示された²³⁾. 別のグループにより同じく樹状細胞のケモカイン受容体CCR7依存性の輸入リンパ管を経由したリンパ節への移入がHEVの維持に必要なことが示された²⁴⁾.

4. ホーミング多段階モデル

リンパ球のリンパ節へのホーミングは1990年代に提唱された多段階の分子シグナルによって厳密に制御されている^{25,26)}(図4). すなわち, 二次リンパ組織のHEV内を流れるリンパ球はセレクチンとその認識リガンドである細胞表

面糖鎖のタンパク質-糖鎖の比較的弱い相互作用を利用し、HEVの内皮細胞上で“ローリング”とよばれる現象をずり応力存在下で示す²⁷⁾。このときリンパ球は流速を減少させる(第一段階)。その後、内皮細胞上に発現提示されたケモカインとローリング細胞に発現するケモカイン受容体が結合し、ローリング細胞に活性化シグナルが入る(第二段階)。このシグナルがローリング細胞上のインテグリンを活性化させ、内皮細胞上の細胞接着分子とのタンパク質-タンパク質の結合を利用し強固な接着を引き起こす(第三段階)。最終的に細胞はずり応力存在下で血管内膜をすり抜けて血管外遊走し組織内へ移入する(第四段階)²⁸⁾。炎症部位への白血球の動員も同様なメカニズムで起こると考えられている。本稿ではこの多段階モデルの最初のステップであるセレクトインとそのリガンド糖鎖について述べる。ケモカインのシグナル機構、インテグリンの活性化および血管内膜通過については他の総説^{29~32)}および最近の報告^{33,34)}を参照されたい。

5. セレクトイン

セレクトインファミリーにはL-セレクトイン(CD62L)、P-セレクトイン(CD62P)、E-セレクトイン(CD62E)の三つのメンバーが存在する(表1)。これらセレクトイン分子はN末端細胞外領域にカルシウム依存性レクチン様ドメインを持つ。L-セレクトインは多くの白血球の細胞表面で発現する。特に上述したナイーブリンパ球の二次リンパ組織へのホーミングに重要である。P-セレクトインは血小板の α 顆粒および内皮細胞のWeibel-Palade小体に存在し、炎症性刺激により数分でそれぞれの細胞表面に発現する。P-セレクトインのリガンドとして多くの白血球に発現されるPSGL-1(CD162)が知られている。P-セレクトインはPSGL-1分子N末端の硫酸化チロシン残基とシアリルルイスX糖鎖³⁵⁾の複合体を認識する³⁶⁾(図5)。E-セレクトインは炎症性サイトカインにより誘導され内皮細胞表面に発現する。E-セレクトインの主な認識決定構造はシアリルルイスX様糖鎖であると考えられる。この糖鎖構造を持つ細胞表面分子は多く報

表1 セレクトインファミリーとその発現様式

分子名	他の文献における命名	遺伝子名	主な発現細胞	細胞表面発現様式
L-セレクトイン(CD62L)	Leu8, gp90MEL, mLHR, TQ-1, Lam-1, Lecam-1	SELL	リンパ球, 単球, 好中球	恒常的に細胞表面に発現。細胞刺激によりADAM17でshedding(切断)される。
P-セレクトイン(CD62P)	PADGEM, GMP-140	SELP	血小板, 血管内皮細胞	ヒスタミンなどにより α 顆粒(血小板), Weibel-Palade小体(血管内皮)内に貯留されたものが数分で細胞表面に発現。サイトカイン刺激により数時間で発現。
E-セレクトイン(CD62E)	ELAM-1	SELE	血管内皮細胞	サイトカイン刺激により数時間で発現。

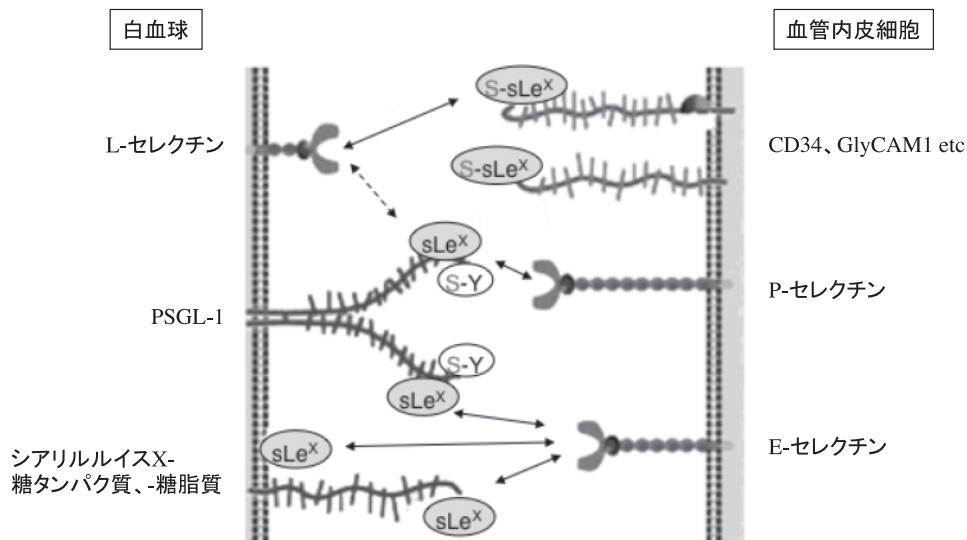


図5 白血球細胞表面および血管内皮細胞表面に発現されるセレクトインとそのリガンド分子。L-セレクトインは糖タンパク質糖鎖の硫酸基修飾されたシアリルルイスX構造(S-sLeX)を認識する⁴¹⁾。P-セレクトインはPSGL-1分子の硫酸化チロシン残基(S-Y)とシアリルルイスX(sLeX)の複合体を認識する。E-セレクトインは主に糖タンパク質や糖脂質糖鎖のシアリルルイスX構造を認識する。文献37より一部改変して引用。

告されており、PSGL-1, CD44, 糖脂質がE-セレクトインリガンド分子として働くことが知られている³⁷⁾(図5)。ナイーブリンパ球は微小絨毛突起(microvillus)を細胞表面に多数保持する(図1)。L-セレクトインはこの突起に高密度に分布している³⁸⁾。微小絨毛突起を介して血管内でのローリングが開始されると血流速度(約4,000 $\mu\text{m}/\text{秒}$)で流れるナイーブリンパ球は血管内で減速(約10~50 $\mu\text{m}/\text{秒}$)する。一方、炎症時に炎症局所へ好中球, 単球または活性化リンパ球が動員される際、それら白血球表面上のPSGL-1分子, シアリルルイスX糖鎖分子と内皮細胞上のP-セレクトイン, E-セレクトインとの間で分子相互作用が起こる(図5)。この他に白血球-白血球の相互作用が生じる場合があり、この現象はP-セレクトインおよびE-セレクトインのリガンドとして働くPSGL-1がさらにL-セレクトインリガンドとしても機能することが示されている³⁹⁾。炎症部位への白血球の動員に関与するP-セレクトインおよびE-セレクトインの作用機序および生理機能は他の総説³²⁾に詳しい。以下にHEVに発現するL-セレクトイン認識糖鎖およびその生合成酵素について詳しく解説する。

6. HEV 発現 L-セレクトインリガンド糖鎖分子

リンパ節 HEV に発現する L-セレクトインリガンド分子には CD34, Podocalyxin, GlyCAM-1, Endomucin, Nepmucin があげられる(総説^{40,41)}を参照)。これらの HEV リガンドは多数の O-結合型糖鎖を保持し、シアル酸や硫酸基で修飾された糖鎖を多く持つことからシアロムチン糖タンパク質ともよばれる。これらの分子の糖鎖に含まれる L-セレクトインの認識構造は、シアル酸、フコース、硫酸基⁴²⁾を含

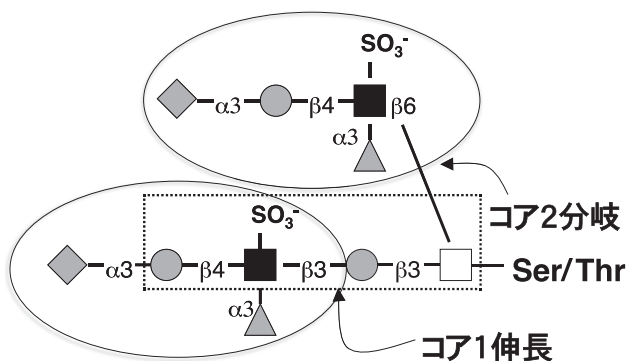


図6 L-セレクトインが認識するシアリル 6-スルホルイス X 糖鎖
シアリルルイス X 構造の N-アセチルグルコサミン残基の 6 位に硫酸基が付加された構造はシアリル 6-スルホルイス X³⁵⁾(丸棒)と呼ばれ、コア 2 分岐鎖およびコア 1 伸長鎖に生合成される。図 6 で示す MECA-79 抗体の抗原決定基は点線で囲まれた部分である⁴³⁾。N-アセチルグルコサミン残基の 6 位の硫酸化は L-セレクトインによる認識および MECA-79 抗体の認識に重要である。灰菱: シアール酸, 灰丸: ガラクトース, 黒四角: N-アセチルグルコサミン, 灰三角: フコース, 白四角: N-アセチルガラクトサミン, SO₃⁻: 硫酸基。

み、ガラクトースおよび N-アセチルグルコサミン (Gal β 1-4GlcNAc, N-アセチルラクトサミン構造)を基本骨格とするシアリル 6-スルホルイス X 構造である⁴¹⁾(図 6)。シアリル 6-スルホルイス X 構造はコア 1 伸長構造およびコア 2 分岐構造の両鎖のキャッピング構造として存在する(図 6)。コア 1 伸長構造上のシアリル 6-スルホルイス X 構造はリンパ節 HEV を特異的に認識する MECA-79 抗体の抗原決定基と重なる(図 6)⁴³⁾。シアリルルイス X を認識せずシアリル 6-スルホルイス X を特異的に認識するモノクローナル抗体 G72, G152⁴⁴⁾や S1, S2⁴⁵⁾, CL40⁴⁶⁾が現在までに作製されている。また, Mitoma, Fukuda 両博士らは HEV の L-セレクトインリガンド構造が N-結合型糖鎖にも存在し得ることをマウスモデルの作製および *ex vivo* での N-結合型糖鎖分解酵素処理方法の確立により示した⁴⁷⁾。

7. L-セレクトインリガンド糖鎖合成に関わる酵素

7-1. コア 1 N-アセチルグルコサミン転移酵素 (Core 1 β 1-3GlcNAcT)

コア 1 構造を伸長させる酵素は O-結合型糖鎖のコア 1 構造に β 1-3 結合で N-アセチルグルコサミンを転移する Core 1 β 1-3GlcNAcT である⁴³⁾。この酵素遺伝子のノックアウトマウスは MECA-79 抗原の発現が消失することから、生体内では唯一この酵素が HEV の L-セレクトインリガンド糖鎖生合成においてコア 1 伸長に関わる酵素であると思われる⁴⁷⁾。

7-2. コア 2 N-アセチルグルコサミン転移酵素 (Core 2 GlcNAcT)

コア 2 分岐を産生する酵素は O-結合型糖鎖のコア 1 構造に β 1-6 結合で N-アセチルグルコサミンを転移する Core 2 GlcNAcT である。Core 2 GlcNAcT は現在までに 3 種報告されているが⁴³⁾, Core 2 GlcNAcT-I が HEV に発現し L-セレクトインリガンド糖鎖の生合成に主に関わることが明らかにされている⁴⁸⁾。Core 2 GlcNAcT-I 遺伝子ノックアウトマウスでは二次リンパ節に発現する GlyCAM-1 の core 2 分岐型の糖鎖がほぼ消失する⁴⁸⁾。

7-3. フコース転移酵素

シアリル 6-スルホルイス X 構造内の N-アセチルグルコサミン残基に α 1-3 結合でフコースを転移する酵素は、FucT-IV および FucT-VII である。FucT-IV および FucT-VII はマウス末梢リンパ節 HEV で発現する¹⁵⁾。FucT-VII 遺伝子欠損マウスではリンパ節へのリンパ球ホーミングがほぼ消失する⁴⁹⁾。生体内 HEV では FucT-VII が主に L-セレクトインリガンド糖鎖の生合成に働いていると思われる^{49,50)}。FucT-IV は末梢リンパ節髄質のクラス I, II の細静脈にも発現しており、これらの細静脈における FucT-IV の機能および生理的意義は興味深い¹⁵⁾。

7-4. シアル酸転移酵素

ガラクトース残基に α 2-3 結合でシアル酸を転移する酵素は ST3Gal-I~ST3Gal-VI の 6 種が報告されている。酵素基質特異性から ST3Gal-IV と ST3Gal-VI が HEV において L-セレクトインリガンド糖鎖の生合成に関与していることが示唆された⁵¹。ST3Gal-IV の遺伝子欠損マウスにおいて HEV における L-セレクトインリガンドの機能が変化し、リンパ球のホーミングが減少することが報告された⁵²。ST3Gal-VI 遺伝子欠損マウスではリンパ球の末梢リンパ節へのホーミングに影響はみられないが、ST3Gal-IV 遺伝子と ST3Gal-VI 遺伝子の両遺伝子欠損マウスでは ST3Gal-IV 遺伝子欠損マウスで観察されたホーミング減少よりも顕著な減少がみられた。このことから、末梢リンパ節 HEV において L-セレクトインリガンド糖鎖のシアル酸合成は ST3Gal-IV と ST3Gal-VI が担い、それらの作用は一部補償されていることが明らかとなった⁵²。

7-5. 硫酸転移酵素

シアリル 6-スルホルイス X 構造の *N*-アセチルグルコサ

ミン残基の 6 位の硫酸化は、*N*-アセチルグルコサミン-6-硫酸転移酵素 (GlcNAc6ST) により担われる (図 7)。ヒトでは 5 種、マウスでは 4 種の GlcNAc6ST が存在する⁴⁰ (表 2)。GlcNAc6ST-1 および GlcNAc6ST-2 はリンパ節の HEV での発現と L-セレクトインリガンド合成能が確認されている^{48,53,54} (図 7)。酵素基質特異性⁵⁵、ゴルジ体内での局在部位の違い⁵⁶および遺伝子欠損マウス HEV での MECA-79 抗体染色パターンの違い^{53,54}から GlcNAc6ST-1 はコア 2 分岐鎖上の GlcNAc 6-硫酸化を効率良く担い、GlcNAc6ST-2 はコア 1 伸長およびコア 2 分岐両鎖の GlcNAc 6-硫酸化を担うことが示唆される。興味深いことに GlcNAc6ST-1 は *N*-結合型糖鎖由来のオリゴ糖に対する酵素活性が強く⁵⁵、生体内で *N*-結合型糖鎖内の GlcNAc 6-硫酸化を担い生理機能を発揮している可能性が示唆される。GlcNAc6ST-1 と GlcNAc6ST-2 の両遺伝子欠損マウスでは、末梢リンパ節へのホーミングが T リンパ球および B リンパ球ともに減少する⁵⁷。生体内ビデオ蛍光顕微鏡を使用した解析より、この両遺伝子欠損マウスのリンパ節の

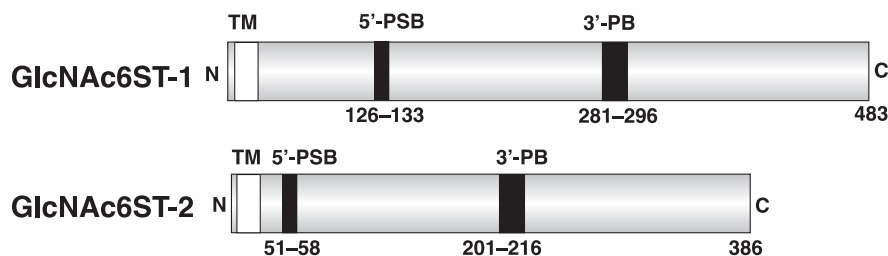


図 7 HEV に発現するヒト *N*-アセチルグルコサミン-6-硫酸転移酵素-1 (GlcNAc6ST-1) および GlcNAc6ST-2

GlcNAc6ST-1⁷⁴ および GlcNAc6ST-2^{75,76} はそれぞれゴルジ体局在酵素で 2 型膜タンパク質である。それぞれ硫酸基供与体である 3'-ホスホアデノシン 5'-ホスホ硫酸 (PAPS) の結合ドメインを保持する。TM: 膜貫通領域, 5'-PSB: 5'-ホスホ硫酸結合ドメイン, 3'-PB: 3'-リン酸結合ドメイン。数字はアミノ酸残基を示す。GlcNAc6ST-1 および GlcNAc6ST-2 は L-セレクトインによる認識に必要な硫酸化を担う。GlcNAc6ST-1 には細胞内領域が 47 アミノ酸残基長い long form が存在する⁷⁷。

表 2 ヒト GlcNAc-Gal-GalNAc6-硫酸転移酵素ファミリー

酵素名	他の文献における酵素名	遺伝子名	基質	HEV における発現	L-セレクトインリガンド合成能
GlcNAc6ST-1	<i>N</i> -アセチルグルコサミン 6-硫酸転移酵素 (GlcNAc6ST)	CHST2	GlcNAc	++	Yes
GlcNAc6ST-2	高内皮細静脈内皮細胞 <i>N</i> -アセチルグルコサミン 6-硫酸転移酵素 (HEC-GlcNAc6ST), L-セレクトインリガンド硫酸転移酵素 (LSST)	CHST4	GlcNAc	+++	Yes
GlcNAc6ST-3	腸管 <i>N</i> -アセチルグルコサミン 6-硫酸転移酵素 (I-GlcNAc6ST)	CHST5	GlcNAc	-	-
GlcNAc6ST-4	コンドロイチン 6-硫酸転移酵素-2 (C6ST-2)	CHST7	GlcNAc, GalNAc	+/-	?
GlcNAc6ST-5	角膜 <i>N</i> -アセチルグルコサミン 6-硫酸転移酵素 (C-GlcNAc6ST)	CHST6	GlcNAc	-	-
KSGal6ST	ケラタン硫酸ガラクトース 6-硫酸転移酵素	CHST1	Gal	+	No
C6ST-1	コンドロイチン 6-硫酸転移酵素 (C6ST)	CHST3	GalNAc, Gal	+/-	No

HEVではリンパ球のローリングは起こるがローリングの速度の減少が不十分であることがわかった⁵⁷。ローリング速度の不十分な減速により次の作用段階であるケモカイン刺激が受け取れず、HEV内での接着不全が起こるものと思われた。GlcNAc6ST-1とGlcNAc6ST-2のHEVにおけるシアリル6-スルホレイスX合成能は、両遺伝子欠損マウスのHEVに含まれる糖鎖構造分析による結果からも確認された⁵⁸。さらに、GlcNAc6ST-1とGlcNAc6ST-2の両遺伝子欠損マウスでは鼻咽頭関連リンパ組織へのリンパ球のホーミングが激減することが報告された⁵⁹。N-アセチラクトサミン構造のガラクトース残基の6位を硫酸化するC6ST-1の遺伝子欠損マウスでは、リンパ球のリンパ節ホーミングの異常はみられなかった⁶⁰。また、同じくガラクトース残基の6位を硫酸化するKSGal6ST(表2)の遺伝子欠損マウスにおいても異常はみられなかった⁶¹。GlcNAc6ST-1とGlcNAc6ST-2の両遺伝子を欠損してもなお残存するリンパ節ホーミングがKSGal6STの硫酸化に依存するの否か、当該3種の遺伝子を欠損したトリプルノックアウトマウスにより検証された。その結果、残存するホーミングがKSGal6STに依存しないことが示された⁶¹。GlcNAc6ST-1, GlcNAc6ST-2両遺伝子欠損マウスにもいまだ残存するホーミング現象が認められる理由は明らかにされていない。今後の研究成果が期待される。

8. L-セレクチンリガンド糖鎖と慢性炎症性疾患

HEVに発現するL-セレクチンリガンド糖鎖および硫酸転移酵素は、関節リウマチの滑膜や喘息における白血球浸潤巣にも発現が認められる(総説を参照⁴⁰)。ピロリ菌感染慢性胃炎⁶²や潰瘍性大腸炎⁶³の粘膜固有層、さらに興味深いことに、胃MALT(粘膜関連リンパ組織型)リンパ腫においてもHEVに発現するL-セレクチンリガンド糖鎖および硫酸転移酵素が観察されている⁶⁴。L-セレクチンとHEVリガンド糖鎖の分子相互作用はリンパ球のリンパ節ホーミングに限らず、慢性炎症性疾患における白血球浸潤巣への白血球動員さらに、悪性腫瘍の病態形成にも関与することが示唆され、新たな治療法開発へ応用が期待されている⁴⁰。

9. おわりに

本稿ではホーミングレセプターL-セレクチンのリガンドとして働く糖鎖についてリンパ球の二次リンパ組織へのホーミングを中心に述べた。セレクチンと糖鎖の相互作用は他の末梢組織ホーミングにも関わる。例えば、皮膚へホーミングするT細胞はP-, E-セレクチンリガンドを細胞表面に発現するが、腸管粘膜組織へ指向性を示すT細胞はこれらのリガンド発現が抑制され、ホーミング特異性が厳密に制御される⁶⁵。生体内を循環する樹状細胞が胸腺

へホーミングする場合にはP-セレクチンが重要である⁶⁶。リンパ球前駆細胞の胸腺へのホーミングにはPSGL-1とP-セレクチンの分子間相互作用が重要であり⁶⁷、ヒトではL-セレクチンも重要であることが示された⁶⁸。実際、HEVに発現するL-セレクチンリガンド硫酸化糖鎖が胸腺の皮髄境界部血管にも観察される⁶⁸。間葉系幹細胞の骨髄へのホーミングにはE-セレクチンリガンド糖鎖が必要である⁶⁹。制御性T細胞がHEVを介してリンパ節へ移入する場合はその細胞表面にL-セレクチンを発現し、炎症部位へ血行性に移入する場合はP-, E-セレクチンリガンドを発現する⁷⁰。また、筆者らのグループは共同でセレクチンリガンド分子として知られるPSGL-1がナイーブT細胞の細胞表面ではケモカインを保持する分子として働くことを報告した⁷¹。このようにセレクチンとその糖鎖リガンドの分子相互作用はリンパ球のリンパ節ホーミングだけでなく、生体内で多面的に機能し組織特異的なホーミングに関与している。末梢組織への血管を介した組織内浸潤とは対照的に、脳や脊髄といった中枢神経組織への白血球の動員の分子機序はいまだ不明な点が多い⁷²。今後のさらなる研究の発展が期待されている。

謝辞

筆者は恩師、また多くの同僚に支えられた研究環境に恵まれています。本稿で取り上げた筆者らの研究は村松喬先生、門松健治先生、Steven Rosen先生、神奈木玲児先生、羽瀨脩躬先生、木全弘治先生との共同研究によるものであり、この場を借りてお礼申し上げます。

文 献

- 1) Gowans, J.L. (1959) *J. Physiol.*, 146, 54-69.
- 2) Gesner, B.M. & Gowans, J.L. (1962) *Br. J. Exp. Pathol.*, 43, 424-430.
- 3) Gowans, J.L. & Knight, E.J. (1964) *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 159, 257-282.
- 4) Marchesi, V.T. & Florey, H.W. (1960) *Q. J. Exp. Physiol. Cogn. Med. Sci.*, 45, 343-348.
- 5) Marchesi, V.T. & Gowans, J.L. (1964) *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.*, 159, 283-290.
- 6) Woodruff, J. & Gesner, B.M. (1968) *Science*, 161, 176-178.
- 7) Gesner, B.M. & Ginsburg, V. (1964) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 52, 750-755.
- 8) Stamper, H.B., Jr. & Woodruff, J.J. (1976) *J. Exp. Med.*, 144, 828-833.
- 9) Spertini, O., Luscinskas, F.W., Kansas, G.S., Munro, J.M., Griffin, J.D., Gimbrone, M.A., Jr., & Tedder, T.F. (1991) *J. Immunol.*, 147, 2565-2573.
- 10) Gallatin, W.M., Weissman, I.L., & Butcher, E.C. (1983) *Nature*, 304, 30-34.
- 11) Lasky, L.A., Singer, M.S., Yednock, T.A., Dowbenko, D., Fennie, C., Rodriguez, H., Nguyen, T., Stachel, S., & Rosen, S.D. (1989) *Cell*, 56, 1045-1055.

- 12) Streeter, P.R., Rouse, B.T., & Butcher, E.C. (1988) *J. Cell Biol.*, **107**, 1853–1862.
- 13) Lasky, L.A., Singer, M.S., Dowbenko, D., Imai, Y., Henzel, W. J., Grimley, C., Fennie, C., Gillett, N., Watson, S.R., & Rosen, S.D. (1992) *Cell*, **69**, 927–938.
- 14) von Andrian, U.H. (1996) *Microcirculation*, **3**, 287–300.
- 15) M'Rini, C., Cheng, G., Schweitzer, C., Cavanagh, L.L., Palframan, R.T., Mempel, T.R., Warnock, R.A., Lowe, J.B., Quackenbush, E.J., & von Andrian, U.H. (2003) *J. Exp. Med.*, **198**, 1301–1312.
- 16) Hendriks, H.R., Eestermans, I.L., & Hoefsmit, E.C. (1980) *Cell Tissue Res.*, **211**, 375–389.
- 17) Mebius, R.E., Streeter, P.R., Breve, J., Duijvestijn, A.M., & Kraal, G. (1991) *J. Cell Biol.*, **115**, 85–95.
- 18) Gommerman, J.L. & Browning, J.L. (2003) *Nat. Rev. Immunol.*, **3**, 642–655.
- 19) Liao, S. & Ruddle, N.H. (2006) *J. Immunol.*, **177**, 3369–3379.
- 20) Browning, J.L., Allaire, N., Ngam-Ek, A., Notidis, E., Hunt, J., Perrin, S., & Fava, R.A. (2005) *Immunity*, **23**, 539–550.
- 21) Luther, S.A., Lopez, T., Bai, W., Hanahan, D., & Cyster, J.G. (2000) *Immunity*, **12**, 471–481.
- 22) Drayton, D.L., Ying, X., Lee, J., Lesslauer, W., & Ruddle, N. H. (2003) *J. Exp. Med.*, **197**, 1153–1163.
- 23) Moussion, C. & Girard, J.P. (2011) *Nature*, **479**, 542–546.
- 24) Wendland, M., Willenzon, S., Kocks, J., Davalos-Misslitz, A.C., Hammerschmidt, S.I., Schumann, K., Kremmer, E., Sixt, M., Hoffmeyer, A., Pabst, O., & Forster, R. (2011) *Immunity*, **35**, 945–957.
- 25) Springer, T.A. (1994) *Cell*, **76**, 301–314.
- 26) Butcher, E.C. & Picker, L.J. (1996) *Science*, **272**, 60–66.
- 27) Finger, E.B., Puri, K.D., Alon, R., Lawrence, M.B., von Andrian, U.H., & Springer, T.A. (1996) *Nature*, **379**, 266–269.
- 28) Cinamon, G., Shinder, V., & Alon, R. (2001) *Nat. Immunol.*, **2**, 515–522.
- 29) Kinashi, T. (2005) *Nat. Rev. Immunol.*, **5**, 546–559.
- 30) Miyasaka, M. & Tanaka, T. (2004) *Nat. Rev. Immunol.*, **4**, 360–370.
- 31) Cyster, J.G. (2005) *Annu. Rev. Immunol.*, **23**, 127–159.
- 32) Ley, K., Laudanna, C., Cybulsky, M.I., & Nourshargh, S. (2007) *Nat. Rev. Immunol.*, **7**, 678–689.
- 33) Kanda, H., Newton, R., Klein, R., Morita, Y., Gunn, M.D., & Rosen, S.D. (2008) *Nat. Immunol.*, **9**, 415–423.
- 34) Zhang, Y., Chen, Y.C., Krummel, M.F., & Rosen, S.D. (2012) *J. Immunol.*, **189**, 3914–3924.
- 35) Kannagi, R. (2002) *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **12**, 599–608.
- 36) Sako, D., Comess, K.M., Barone, K.M., Camphausen, R.T., Cumming, D.A., & Shaw, G.D. (1995) *Cell*, **83**, 323–331.
- 37) Luster, A.D., Alon, R., & von Andrian, U.H. (2005) *Nat. Immunol.*, **6**, 1182–1190.
- 38) von Andrian, U.H., Hasslen, S.R., Nelson, R.D., Erlandsen, S. L., & Butcher, E.C. (1995) *Cell*, **82**, 989–999.
- 39) Sperandio, M., Smith, M.L., Forlow, S.B., Olson, T.S., Xia, L., McEver, R.P., & Ley, K. (2003) *J. Exp. Med.*, **197**, 1355–1363.
- 40) Uchimura, K. & Rosen, S.D. (2006) *Trends Immunol.*, **27**, 559–565.
- 41) Rosen, S.D. (2004) *Annu. Rev. Immunol.*, **22**, 129–156.
- 42) Imai, Y., Lasky, L.A., & Rosen, S.D. (1993) *Nature*, **361**, 555–557.
- 43) Yeh, J.C., Hiraoka, N., Petryniak, B., Nakayama, J., Ellies, L. G., Rabuka, D., Hindsgaul, O., Marth, J.D., Lowe, J.B., & Fukuda, M. (2001) *Cell*, **105**, 957–969.
- 44) Mitsuoka, C., Sawada-Kasugai, M., Ando-Furui, K., Izawa, M., Nakanishi, H., Nakamura, S., Ishida, H., Kiso, M., & Kannagi, R. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 11225–11233.
- 45) Hirakawa, J., Tsuboi, K., Sato, K., Kobayashi, M., Watanabe, S., Takakura, A., Imai, Y., Ito, Y., Fukuda, M., & Kawashima, H. (2010) *J. Biol. Chem.*, **285**, 40864–40878.
- 46) Arata-Kawai, H., Singer, M.S., Bistrup, A., Zante, A., Wang, Y.Q., Ito, Y., Bao, X., Hemmerich, S., Fukuda, M., & Rosen, S.D. (2011) *Am. J. Pathol.*, **178**, 423–433.
- 47) Mitoma, J., Bao, X., Petryniak, B., Schaerli, P., Gauguet, J.M., Yu, S.Y., Kawashima, H., Saito, H., Ohtsubo, K., Marth, J.D., Khoo, K.H., von Andrian, U.H., Lowe, J.B., & Fukuda, M. (2007) *Nat. Immunol.*, **8**, 409–418.
- 48) Hiraoka, N., Kawashima, H., Petryniak, B., Nakayama, J., Mitoma, J., Marth, J.D., Lowe, J.B., & Fukuda, M. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 3058–3067.
- 49) Maly, P., Thall, A., Petryniak, B., Rogers, C.E., Smith, P.L., Marks, R.M., Kelly, R.J., Gersten, K.M., Cheng, G., Saunders, T.L., Camper, S.A., Camphausen, R.T., Sullivan, F.X., Isogai, Y., Hindsgaul, O., von Andrian, U.H., & Lowe, J.B. (1996) *Cell*, **86**, 643–653.
- 50) Homeister, J.W., Thall, A.D., Petryniak, B., Maly, P., Rogers, C.E., Smith, P.L., Kelly, R.J., Gersten, K.M., Askari, S.W., Cheng, G., Smithson, G., Marks, R.M., Misra, A.K., Hindsgaul, O., von Andrian, U.H., & Lowe, J.B. (2001) *Immunity*, **15**, 115–126.
- 51) Sperandio, M. (2006) *FEBS J.*, **273**, 4377–4389.
- 52) Yang, W.H., Nussbaum, C., Grewal, P.K., Marth, J.D., & Sperandio, M. (2012) *Blood*, **120**, 1015–1026.
- 53) Hemmerich, S., Bistrup, A., Singer, M.S., van Zante, A., Lee, J. K., Tsay, D., Peters, M., Carminati, J.L., Brennan, T.J., Carver-Moore, K., Leviten, M., Fuentes, M.E., Ruddle, N.H., & Rosen, S.D. (2001) *Immunity*, **15**, 237–247.
- 54) Uchimura, K., Kadomatsu, K., El-Fasakhany, F.M., Singer, M. S., Izawa, M., Kannagi, R., Takeda, N., Rosen, S.D., & Muramatsu, T. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 35001–35008.
- 55) Uchimura, K., El-Fasakhany, F.M., Hori, M., Hemmerich, S., Blink, S.E., Kansas, G.S., Kanamori, A., Kumamoto, K., Kannagi, R., & Muramatsu, T. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 3979–3984.
- 56) de Graffenried, C.L. & Bertozzi, C.R. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 40282–40295.
- 57) Uchimura, K., Gauguet, J.M., Singer, M.S., Tsay, D., Kannagi, R., Muramatsu, T., von Andrian, U.H., & Rosen, S.D. (2005) *Nat. Immunol.*, **6**, 1105–1113.
- 58) Kawashima, H., Petryniak, B., Hiraoka, N., Mitoma, J., Huckaby, V., Nakayama, J., Uchimura, K., Kadomatsu, K., Muramatsu, T., Lowe, J.B., & Fukuda, M. (2005) *Nat. Immunol.*, **6**, 1096–1104.
- 59) Ohmichi, Y., Hirakawa, J., Imai, Y., Fukuda, M., & Kawashima, H. (2011) *J. Exp. Med.*, **208**, 1015–1025.
- 60) Uchimura, K., Kadomatsu, K., Nishimura, H., Muramatsu, H., Nakamura, E., Kurosawa, N., Habuchi, O., El-Fasakhany, F.M., Yoshikai, Y., & Muramatsu, T. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 1443–1450.
- 61) Patnode, M.L., Yu, S.Y., Cheng, C.W., Ho, M.Y., Tegesjo, L., Sakuma, K., Uchimura, K., Khoo, K.H., Kannagi, R., & Rosen, S.D. (2013) *Glycobiology*, **23**, 381–394.
- 62) Kobayashi, M., Mitoma, J., Nakamura, N., Katsuyama, T., Nakayama, J., & Fukuda, M. (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 17807–17812.
- 63) Suzawa, K., Kobayashi, M., Sakai, Y., Hoshino, H., Watanabe,

- M., Harada, O., Ohtani, H., Fukuda, M., & Nakayama, J. (2007) *Am. J. Gastroenterol.*, **102**, 1499–1509.
- 64) Kobayashi, M., Mitoma, J., Hoshino, H., Yu, S.Y., Shimojo, Y., Suzawa, K., Khoo, K.H., Fukuda, M., & Nakayama, J. (2011) *J. Pathol.*, **224**, 67–77.
- 65) Iwata, M., Hirakiyama, A., Eshima, Y., Kagechika, H., Kato, C., & Song, S.Y. (2004) *Immunity*, **21**, 527–538.
- 66) Bonasio, R., Scimone, M.L., Schaerli, P., Grabie, N., Lichtman, A.H., & von Andrian, U.H. (2006) *Nat. Immunol.*, **7**, 1092–1100.
- 67) Rossi, F.M., Corbel, S.Y., Merzaban, J.S., Carlow, D.A., Gossens, K., Duenas, J., So, L., Yi, L., & Ziltener, H.J. (2005) *Nat. Immunol.*, **6**, 626–634.
- 68) Kohn, L.A., Hao, Q.L., Sasidharan, R., Parekh, C., Ge, S., Zhu, Y., Mikkola, H.K., & Crooks, G.M. (2012) *Nat. Immunol.*, **13**, 963–971.
- 69) Sackstein, R., Merzaban, J.S., Cain, D.W., Dagia, N.M., Spencer, J.A., Lin, C.P., & Wohlgemuth, R. (2008) *Nat. Med.*, **14**, 181–187.
- 70) Huehn, J. & Hamann, A. (2005) *Trends Immunol.*, **26**, 632–636.
- 71) Veerman, K.M., Williams, M.J., Uchimura, K., Singer, M.S., Merzaban, J.S., Naus, S., Carlow, D.A., Owen, P., Riveran-Nieves, J., Rosen, S.D., & Ziltener, H.J. (2007) *Nat. Immunol.*, **8**, 532–539.
- 72) Rossi, B., Angiari, S., Zenaro, E., Budui, S.L., & Constantin, G. (2011) *J. Leukoc. Biol.*, **89**, 539–556.
- 73) von Andrian, U.H. & Mempel, T.R. (2003) *Nat. Rev. Immunol.*, **3**, 867–878.
- 74) Uchimura, K., Muramatsu, H., Kadomatsu, K., Fan, Q.W., Kurosawa, N., Mitsuoka, C., Kannagi, R., Habuchi, O., & Muramatsu, T. (1998) *J. Biol. Chem.*, **273**, 22577–22583.
- 75) Bistrup, A., Bhakta, S., Lee, J.K., Belov, Y.Y., Gunn, M.D., Zuo, F.R., Huang, C.C., Kannagi, R., Rosen, S.D., & Hemmerich, S. (1999) *J. Cell Biol.*, **145**, 899–910.
- 76) Hiraoka, N., Petryniak, B., Nakayama, J., Tsuboi, S., Suzuki, M., Yeh, J.C., Izawa, D., Tanaka, T., Miyasaka, M., Lowe, J. B., & Fukuda, M. (1999) *Immunity*, **11**, 79–89.
- 77) Fujiwara, M., Kobayashi, M., Hoshino, H., Uchimura, K., Nakada, T., Masumoto, J., Sakai, Y., Fukuda, M., & Nakayama, J. (2012) *J. Histochem. Cytochem.*, **60**, 397–407.
-