

ガングリオシドのアシル鎖構造による Toll-like receptor 4 活性化制御メカニズム

狩野 裕考¹⁾, 新田 昂大¹⁾, 藤居 真優²⁾, 樺山 一哉²⁾,
下山 敦史²⁾, 深瀬 浩一²⁾, Sandro Sonnino³⁾, 鈴木 明身¹⁾, 井ノ口仁一¹⁾

¹⁾東北医科薬科大学分子生体膜研究所機能病態分子学教室, ²⁾大阪大学大学院理学研究科天然物有機化学研究室
³⁾University of Milan · Department of Medical Biotechnology and Translational Medicine

Acyl-chain structures of gangliosides GM3 species regulate TLR4 signaling

Hirota Kanoh¹⁾, Takahiro Nitta¹⁾, Mayu Fujii²⁾, Kazuya Kabayama²⁾,
Atsushi Shimoyama²⁾, Koichi Fukase²⁾, Sandro Sonnino³⁾, Akemi Suzuki¹⁾, Jin-ichi Inokuchi¹⁾

¹⁾Division of Glycopathology, Institute of Molecular Biomembrane and Glycobiology, Tohoku Medical and Pharmaceutical University

²⁾Department of Chemistry, Graduate School of Science, Osaka University

³⁾Department of Medical Biotechnology and Translational Medicine, University of Milan

Abstract

Innate immune signaling via endogenous TLR4 ligands plays important roles in pathogenesis of metabolic disorders. Recently, we found that ganglioside GM3, one of glycosphingolipids, acts as an endogenous TLR4 modulator. GM3 ganglioside in human serum is comprised of a variety of fatty acids including long-chain (LCFA), very long-chain (VLCFA), and those with modifications such as ω -9 desaturation and α -hydroxylation. VLCFA GM3 synergistically and selectively enhanced TLR4 activation by LPS and HMGB1, and in contrast, LCFA- and unsaturated VLCFA GM3 inhibited TLR4 activation. In metabolic disorders, serum VLCFA GM3 increased, while LCFA GM3 decreased, indicating the proinflammatory shift of GM3 species. VLCFA- and α -hydroxyl GM3 increased in the adipose tissue of obese mice, and the increase was attenuated in TLR4-mutant mice, implying that TLR4 signaling itself is involved in production of VLCFA GM3. Our findings suggest that serum GM3 species modulate TLR4 signaling, and the increase of VLCFA GM3 is a risk factor for TLR4-mediated disease progression.

Endotoxin and Innate Immunity 22 : 1~7, 2019

Key words : Toll-like receptor 4 (TLR4), 慢性炎症, 内因性リガンド, ガングリオシド GM3, スフィンゴ糖脂質

はじめに

自然免疫応答は、病原体に対する宿主防御を介して恒常性の維持に大きく寄与している。一方で、自然免疫応答の慢性持続化、すなわち慢性炎症を生じた場合には、多様な疾患の発症原因となりうる。とくに、Toll-like receptor (TLR) を介した自然免疫応答は、病原体の排除や獲得免疫系の活性化によって生体恒常性の維持に大きく貢献する一方で、がんや自己免疫疾患、メタボリックシンドロームの発症の基盤である慢性炎症の原因となりうるということがわかってきた^{1,2)}。どのようにして、恒常性

維持機構としての自然免疫応答が、疾患発症原因としての慢性炎症反応へと変貌するのか、その分子メカニズムの全容解明と新たな診断法・治療法への応用が大きく期待されている。近年では、その答えの一つとして、生体内で産生される自然免疫応答活性化リガンド、すなわち内因性リガンドによる慢性炎症メカニズムが示唆されている。

われわれは、生体内で産生される糖脂質として、セラミドとシアル酸含有糖鎖から構成されるスフィンゴ糖脂質：ガングリオシドに注目した研究をこれまでに展開してきた。ガングリオシドの生理活性を追求するなかで、

血清中や脂肪組織に含まれるガングリオシド GM3 が、TLR4 に対する内因性モジュレーターとして働き、メタボリックシンドロームにおける慢性炎症の原因の一つとなることを見出した。

本稿では、スフィンゴ糖脂質が慢性炎症の惹起や進行に関与する分子メカニズムに焦点をあて、とくにガングリオシド GM3 の役割と、その脂肪酸（アシル）鎖の構造による TLR4 活性化の制御機構について、最新の知見を交えて概説する。

1. Toll-like receptor 4 を介した自然免疫応答と慢性炎症の分子基盤

Toll-like receptor (TLR) および Toll 受容体は、ヒトやマウスといった脊椎動物からショウジョウバエを含む無脊椎動物に至るまで、進化的に広く保存されている^{3,4)}。TLR はヒトでは 10 種類、マウスでは 13 種類が同定されており、ショウジョウバエでは 9 種類の Toll ホモログが存在する。いずれも、共通の生理学的機能として、病原体感染時における自然免疫活性化の起点を担っている。一方で、TLR および Toll 活性化のメカニズムには明瞭な違いがある。それは、ヒト、マウス系の TLR ホモログは、直接的に病原体由来の外因性リガンドを認識して活性化するのに対して、Toll ホモログは、病原体感染などによって生じた内因性リガンドを認識して活性化する点である。進化的に保存された受容体の活性化メカニズムが大きく異なるという点は生物学的に大変興味深く、かつ、後述するように、外因性および内因性リガンドの双方が TLR 活性化に関与できるという点を分子進化的に暗にほめかしている。

あらためて自然免疫系と疾患との関係に目を向けると、慢性持続的な自然免疫応答の活性化が、がんや自己免疫疾患、メタボリックシンドロームの発症の基盤である慢性炎症の原因となることが明らかとなってきている¹²⁾。とくに、メタボリックシンドロームにおける慢性炎症は、TLR や C-type lectin receptor (CLR) などのパターン認識受容体と、下流の転写因子 NF- κ B の活性化が原因と考えられている^{3~6)}。よく知られているように、TLR4 およびコレプター分子である myeloid differentiation protein-2 (MD-2)、cluster of differentiation 14 (CD14) の複合体は、外因性の病原体関連分子パターン：PAMPs であるリポ多糖 (LPS) をリガンドとして認識する^{3,4)}。LPS は、主にグラム陰性細菌の細胞壁外膜に由来する糖脂質であり、その炎症惹起活性から内毒素：エンドトキシンと呼ばれる。興味深いことに、その由来や測定法については議論が続いているが、肥満およびメタボリックシンドローム患者において、血清中の総エンドトキシン濃度の上昇が報告されている⁷⁾。

一方、TLR4 に作用するリガンドは生体内にも存在することが、近年明らかとなってきている。High-mobility

group box-1 protein (HMGB1) は、本来は核内タンパク質として機能するが、死細胞の染色体や、メタボリックシンドローム時の肥大化脂肪細胞から細胞外へと放出されることで、TLR4 の内因性リガンドとして機能する^{8,9)}。同様に、肥大化脂肪細胞から放出される遊離脂肪酸や、遊離脂肪酸のキャリアータンパク質として機能する fetuin-A は、メタボリックシンドロームにおける TLR4 活性化に関与することが報告されている^{10,11)}。一方で、遊離脂肪酸それ自体は TLR4 リガンドではないという報告もあり、その実体については議論が続いている¹²⁾。加えて、寒冷刺激によって放出される cold-inducible RNA-binding protein (CIRP)、がん転移に関与する S100A8/9 や serum amyloid A (SAA) も、TLR4 活性化を生じる^{13,14)}。これらの内因性リガンドは、細胞・組織の異常に由来する傷害関連分子パターン：DAMPs、または danger signal, alarmin などとして総称されている。

実際のところ、TLR4 ノックアウトマウスでは、糖代謝異常などのメタボリックシンドロームの症状が大きく緩和されている¹⁰⁾。これらを総括すると、メタボリックシンドロームの発症・進行過程では、多様な外因性・内因性リガンドによる TLR4 活性化が重要な役割を果たしているといえる。

2. ガングリオシドの生合成経路と自然免疫応答への関与

スフィンゴ糖脂質とは、セラミドを脂質構造とする糖脂質を主に指す。セラミドは、セリンとパルミトイル CoA をもとに生合成されたスフィンゴイド塩基と、脂肪酸（アシル鎖）がアミド結合した脂質であり、酵母から動物、植物に至るまで広くみられる。このセラミドへの糖および糖鎖の付加によって、さまざまなスフィンゴ糖脂質が生合成される。

近年では、スフィンゴ糖脂質を介した自然免疫応答の活性化・調節機構が急速に明らかとなりつつある。セラミドへのグルコース付加によって生じるグルコシルセラミド GlcCer は、抗原提示細胞である樹状細胞において、CLR の一つである Mincle の活性化を引き起こす¹⁵⁾。Mincle は、肥満時の脂肪組織で発現量が増加しており、さらに *Mincle*-KO マウスでは、メタボリックシンドロームの症状が緩和されることもわかってきている^{5,16)}。続いて、GlcCer へのガラクトース付加で生成するラクトシルセラミド LacCer は、好中球における自然免疫応答に関与する。LacCer は、細胞膜上で互いに集合した脂質クラスター（脂質マイクロドメイン：後述）を形成する。これが抗酸菌細胞壁の糖脂質リポアラビノマンナン認識に関与し、Src ファミリーチロシンキナーゼ Lyn によるシグナル伝達を介して貪食後の食胞成熟と殺菌機構の活性化に大きく寄与する¹⁷⁾。さらに、LacCer へのガラクトース、N-アセチルガラクトサミン付加で生じるグロ

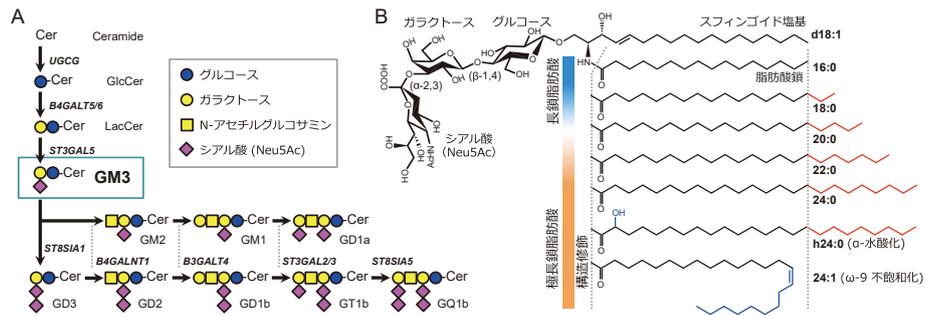


図 1 A: ガングリオシド生成経路, B: 血清 GM3 分子種の脂肪酸鎖長・構造修飾

ボ系スフィンゴ糖脂質 Gb3 および Gb4 は、血管内皮細胞やマクロファージにおける TLR4 活性化制御に関与することが報告されている^{18,19)}。

加えて、LacCer を前駆体とするスフィンゴ糖脂質としてよく知られているのは、シアル酸の付加によって生じるガングリオシドである (図 1A)。GM3 は、LacCer に α 2,3 結合でシアル酸が付加した最もシンプルなガングリオシドであり、ほとんどのガングリオシドの前駆体となる。GM3 は、ヒトおよびマウスの脂肪組織や筋肉、ヒト肝臓および血清中など、末梢組織で主に発現するガングリオシドである^{20~23)}。一方、さらなる糖鎖付加を受けたガングリオシド (GM1, GD1a/b, GT1b, GQ1b など) は、対照的に脳・中枢神経系で発現している。これらのガングリオシドに対する自己抗体の発現は、ギランバレー症候群などの重篤な疾患の原因となりうる²⁴⁾。脂肪細胞における GM3 の発現は、組織マクロファージに由来する炎症性サイトカイン TNF- α や IL-1 β の刺激によって誘導されている^{25,26)}。肥満時には、脂肪組織へのマクロファージ浸潤が生じ、炎症性サイトカイン産生による慢性炎症を介して、インスリン抵抗性を呈することが良く知られている^{1,2)}。食欲抑制ホルモンであるレプチンの欠損によって肥満・メタボリックシンドロームを呈する *ob/ob* マウスや、高脂肪食によって誘導された肥満モデルマウスの脂肪組織ではマクロファージ浸潤・慢性炎症が生じるが、実際に内臓脂肪組織における GM3 の発現量と GM3 合成酵素 (*GM3S*, *St3gal5*) の遺伝子発現を調べると、それらが大幅に亢進している^{25,26)}。一般に、GM3 などのスフィンゴ糖脂質は、細胞膜上で互いに集合したクラスター、すなわち、脂質マイクロドメインと呼ばれるシグナル伝達プラットフォームを形成する²⁰⁾。GM3 の発現によって、細胞膜上におけるインスリン受容体の拡散速度が影響を受け、シグナル伝達効率が大きく制限されることでインスリン抵抗性を生じることが、生細胞分子イメージング法によって示唆されている²⁷⁾。反対に、グルコシルセラミド合成酵素阻害薬である D-PDMP や Genz-123346 を用いて、GM3 の合成を阻害すると、脂肪細胞におけるインスリン抵抗性が解除される^{25,28)}。興味深いのは、*GM3S*-KO マウスにおいては、

全身のインスリン感受性が改善するだけでなく、肥満による慢性炎症も大きく緩和されていることである^{26,29)}。このことは、インスリン抵抗性よりも上流で、GM3 を介した慢性炎症メカニズムが存在することを示唆している。メタボリックシンドロームに関連する TLR4 リガンドには、肥満時に脂肪組織中の発現量や血清中への分泌量が増加する特徴があり、上述のように GM3 もその特徴を満たしている。そこで、実際に GM3 が TLR4 を介して自然免疫応答を活性化する可能性を検討することにした。

3. ガングリオシド分子種の脂肪酸構造を介した TLR4 活性化制御機構

ここで重要なのは、脂肪組織や血清中に存在する GM3 には、同じ糖鎖を持ちながら、異なるセラミド構造を持つ多様な分子種が存在している点である。とくに、スフィンゴシンと脂肪酸からなるセラミド構造のうち、脂肪酸鎖の鎖長 (長鎖脂肪酸 [16:0, 18:0, 20:0]、極長鎖脂肪酸 [22:0, 23:0, 24:0]) と構造修飾 (α -水酸化 [h24:0]、 ω -9 不飽和化 [24:1]) について、それらの組み合わせによる幅広い多様性がみられる (図 1B)。興味深いことに、これらの GM3 分子種の血清中発現パターンが、メタボリックシンドロームの発症過程で変動することはわかってきたが³⁰⁾、一方で各分子種の生理活性とその変動の意義は不明のままであった。

そこで、ヒト末梢血由来単球における自然免疫応答を指標に、代表的な GM3 分子種 (16:0, 18:0, 20:0, 22:0, 24:0, h24:0, 24:1) の生理活性を検討した (図 2A)。その結果、ヒト TLR4/MD-2 複合体を介した炎症性サイトカイン産生に対して、長鎖脂肪酸の GM3 分子種 (16:0, 18:0) は抑制的に作用し、一方、極長鎖脂肪酸の GM3 分子種 (22:0, 24:0, h24:0) は TLR4 活性化を強く促進することがわかった³¹⁾。一方で、極長鎖脂肪酸でも、不飽和化を受けた GM3 分子種 (24:1) は、TLR4 に対して抑制的に作用した。興味深いことに、これらの作用は、LPS や Lipid-A, HMGB1 などの TLR4 リガンドに対して選択的に生じ、そのほかの TLR リガンドに対しては影響を及ぼさないことがわかった。ま

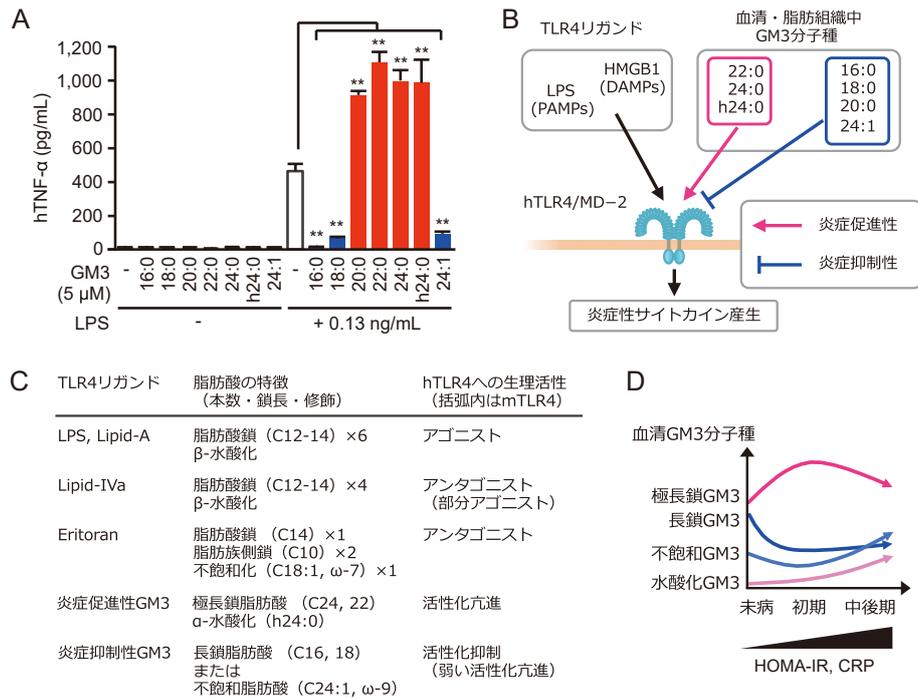


図 2 A : GM3 分子種による TLR4 活性化制御, B : GM3 分子種によるヒト TLR4/MD-2 活性化への作用 (模式図), C : LPS および GM3 分子種の構造活性相関, D : メタボリックシンドローム発症過程における血清 GM3 分子種の挙動 (模式図)

た, GM3 単独では活性化・抑制作用を示さず, TLR4 リガンドの存在下で初めて, 活性化制御を示す点も特徴的であった。これらを総括すると, GM3 分子種は, その脂肪酸構造に依存して炎症抑制性と炎症促進性を併せ持つ, TLR4 選択的な内因性モジュレーターであると考えられる (図 2B)。

加えて, マウス TLR4/MD-2 複合体を介した自然免疫応答に対しても, GM3 分子種の生理活性を検討した。極長鎖脂肪酸の GM3 分子種については, ヒトの場合と同様に TLR4 活性化を強く促進した。一方で, 長鎖脂肪酸や不飽和脂肪酸の GM3 分子種では, ヒト TLR4 に対するような抑制性はみられず, TLR4 活性化を弱く促進した。すなわち, マウス TLR4 に対しては, GM3 分子種全体が炎症促進性を持つこと, その生理活性がアシル鎖長に比例して増大することがわかった。

これまでに, グロボ系スフィンゴ糖脂質 Gb3/Gb4 も, ヒト, マウス TLR4/MD-2 に対して活性化制御を行うことが報告されている¹⁸⁾。とくに, 糖尿病性腎症においては, 極長鎖脂肪酸をもつ Gb3 分子種を介した TLR4/MD-2 の活性化と, それに伴う慢性炎症が示唆された¹⁹⁾。この場合でも, 極長鎖 Gb3 は TLR4 リガンド選択的に活性化の促進を生じた。これらの報告や今回の結果を合わせると, 一部のスフィンゴ糖脂質による脂肪酸鎖長を介した自然免疫応答制御は, TLR4 とその周辺の調節因子に対して選択性を持っていることがうかがえる。

4. LPS と ganglioside 分子種における脂肪酸構造-活性相関の比較

前述した GM3 分子種の生理活性や, ヒトとマウスにおける作用の違いはなぜ生じ, どのようにして TLR4/MD-2 による GM3 認識機構と関係しているのだろうか。LPS が TLR4 リガンドとして作用する場合, 糖鎖構造は TLR4 が, 脂肪酸構造は MD-2 が, それぞれ認識する^{32,33)}。さらに LPS では, 脂肪酸構造の多様性と生理活性の変化について多くの報告がある³⁴⁻³⁹⁾。LPS のコア構造である Lipid-A は, 6 本の脂肪酸を持ち, ヒト・マウスの TLR4/MD-2 に対してともにアゴニストとして作用する (図 2C)。一方, Lipid-A の前駆体である Lipid-IVa は, 4 本の脂肪酸を持ち, ヒト TLR4/MD-2 ではアンタゴニストとして, マウス TLR4/MD-2 では部分アゴニストとして作用する (図 2C)。そして, 上記の生理活性と脂肪酸数の相関性は, MD-2 の生物種に依存しており, マウス TLR4/ヒト MD-2 キメラ複合体に対しては, ヒト TLR4/MD-2 複合体と同様に, Lipid-IVa による抑制効果がみられる。さらに, Lipid-IVa アナログである TLR4 阻害薬 eritoran は, MD-2 への結合を介した阻害効果に関与する不飽和脂肪酸 (18:1, ω7) を持つ⁴⁰⁾ (図 2C)。この二重結合部位で, 不飽和脂肪酸鎖は 180° 反転しつつ MD-2 の疎水性ポケットに結合しており, 見かけの鎖長の短縮と結合力 (疎水性) の増大を同時に達成していると考えられる。

GM3 は、グルコース、ガラクトース、シアル酸からなる糖鎖と、異なる脂肪酸構造を含むセラミド部分を持つ点で、すなわち糖脂質自体の性質で LPS とよく類似している。したがって、MD-2 が GM3 の脂肪酸構造の認識に関与する可能性は十分に考えられる。そこで、マウス TLR4/MD-2 複合体、ヒト TLR4/MD-2 複合体、そしてマウス TLR4/ヒト MD-2 からなるキメラ複合体を用いて、GM3 16:0 の生理活性を比較検討した。その結果、マウス TLR4/ヒト MD-2 キメラ複合体に対しても、ヒト TLR4/MD-2 複合体と同様に、GM3 16:0 は抑制的に作用した。すなわち、脂肪酸構造にもとづく GM3 の生理活性は、MD-2 に依存することがわかった。この結果は、もう一つの重要な側面として、GM3 が脂質膜上から TLR4 を制御する可能性に加え、LPS と同様に糖脂質リガンドとして MD-2 を介して TLR4 に作用する可能性を示唆している。Native-PAGE 法などを用いた TLR4/MD-2 複合体（細胞外ドメイン）と GM3 分子種の相互作用解析によっても、GM3 と TLR4/MD-2 の相互作用や、TLR4/MD-2 複合体の二量体化・多量体化と考えられる分子量の増大が確認できた。上記のような GM3 分子種でみられた生理活性と脂肪酸鎖長・修飾の関係性、MD-2 への依存性は、Lipid-A/IVa や eritoran の場合と良く類似しており（図 2C）、脂質構造の大きさによる TLR4 の活性化制御機構は、糖脂質性のリガンド間において保存されていると考えられる。

5. GM3 分子種の脂肪酸鎖長・構造修飾の変化と疾患発症への関与

では、どのようにして GM3 分子種の脂肪酸構造の変化がメタボリックシンドロームの発症や進行とかわかってくるのだろうか。そこで、メタボリックシンドロームの発症過程における血清 GM3 分子種の発現量を質量分析法によって測定し、その発現変動パターンを解析した（図 2D）。自然免疫応答に対する生理活性をもとに GM3 分子種を分類すると、長鎖 GM3 分子種（16:0, 18:0, 20:0）は炎症抑制性、極長鎖 GM3 分子種（22:0, 24:0, h24:0）は炎症促進性であり、極長鎖不飽和 GM3 分子種（24:1, h24:1）は炎症抑制性と考えられる。その結果、炎症抑制性の GM3 分子種（16:0, 18:0）は、未病の肥満や初期メタボリックシンドロームにおいて急激に減少していた。反対に、炎症促進性の GM3 分子種（22:0, 23:0, 24:0, h24:0）は大きく増加していた。とくに、水酸化極長鎖 GM3 h24:0 は、肥満の指標である BMI、腹囲、そして慢性炎症の指標かつ炎症性サイトカイン IL-6 の代替マーカーである CRP と、強く正の相関を示した。また、より重度の肥満・メタボリックシンドロームでは、肥満時に増加した極長鎖 GM3 が減少に転じ、代わりに不飽和化極長鎖 GM3（22:1, 24:1, h24:1）の発現が増加した。これらを総括すると、肥満やメタボ

リックシンドローム発症初期においては、GM3 分子種の炎症促進性シフトに伴って慢性炎症が生じていると考えられる。重症期では、極長鎖脂肪酸の不飽和化によって、GM3 の炎症促進性を抑える機構が働いていると考えられる。さらに、肥満モデルマウス（*ob/ob* マウス、および高脂肪食負荷マウス）の内臓脂肪組織についても GM3 分子種を解析した。その結果、水酸化極長鎖 GM3 分子種が大きく増加していた。おそらく、ヒト血清中の水酸化極長鎖 GM3 の増加は、内臓脂肪組織における GM3 分子種の変化が反映された可能性がある。これらに加え、内臓脂肪組織における水酸化極長鎖 GM3 の増加は、TLR4 の機能欠損変異体（C3H/HeJ）マウスにおいて緩和されていた。したがって、炎症促進性 GM3 の発現増加は、その受容体である TLR4 を介した炎症性サイトカイン産生に一部依存していると考えられる。

6. GM3 分子種の脂肪酸鎖長・構造修飾の制御メカニズム

ガングリオシドの生合成メカニズムは、スフィンゴイド塩基、脂肪酸、そしてシアル酸を含む糖鎖に至るまで、幅広い生体関連因子の生合成・代謝経路に依存している。それゆえ、GM3 分子種の発現量を制御する分子メカニズムは、極めて複雑であると予想される。GM3 分子種全体の発現量にかかわる GM3 合成酵素（*GM3S*, *St3gal5*）の発現量は、前述のように、組織マクロファージに由来する炎症性サイトカイン TNF- α や IL-1 β の刺激によって制御されている^{25,26}。一方で、脂肪酸鎖長の制御にかかわる因子としては、これまでに脂肪酸伸長酵素 ELOVL が知られている。とくに、*Elovl3*-KO マウスや *Elovl6*-KO マウスでは、肥満によるメタボリックシンドロームの進行が緩和されることが知られている^{42,43}。ELOVL6 は長鎖脂肪酸 16:0 を 18:0 へ、ELOVL3 は 18:0 を 20:0 に伸長する反応を担っており、極長鎖脂肪酸の前駆体の生合成に関与している。野生型と比べて *Elovl6*-KO マウスの脂肪酸組成は、18:0 から 24:0 において減少しており、マウス TLR4 に対する主要な炎症促進性 GM3 分子種が減少している可能性が考えられる。加えて、炎症反応の後期では、脂肪酸の不飽和化が生じ、自然免疫応答の終息に不可欠であることが報告されている⁴⁴。これは、GM3 においても、重症期の不飽和 GM3 の増加として反映されていると考えられる。一方、水酸化修飾は、水酸化による水溶性の増大が血清中への GM3 分泌量に影響する可能性や、 α -酸化経路を介した極長鎖脂肪酸の分解亢進との関連性が考えられる⁴⁵。さらには、肥満時に生じる、セラミド合成酵素 CerS2/6 の発現変化や β -酸化経路の障害も、GM3 分子種のバランスの変化に関与する可能性がある^{46,47}。CerS2/6 には、長鎖脂肪酸と極長鎖脂肪酸の選択性に違いがあり、それらの発現バランスによってセラミドの脂肪酸組成が制御され

うる。これらの分子メカニズムと GM3 分子種変化との関連を解明するには、セラミドから GM3 に至るまでの網羅的な分子種発現解析と遺伝子発現解析が必要であり、今後の進展が期待される。このように、GM3 分子種は複雑な発現メカニズムを有していると思われるが、一方で、多くの因子に依存するという事は、多くの調節点を持つことに他ならない。GM3 分子種の発現調節メカニズムは、さまざまなストレスや脂質代謝の変化を受け取り、それを TLR4 経路の自然免疫応答へと反映させることが可能なシステムであるのかもしれない。その破綻が、恒常性維持機構としての自然免疫応答を、疾患発症原因である慢性炎症へと導くというのは、想像に難くないと思われる。

おわりに

今回、ガングリオシド GM3 と TLR4、そして肥満やメタボリックシンドロームの病態に焦点をあて、ガングリオシドの脂肪酸鎖による自然免疫応答の制御機構について概説した。TLR4 を介した慢性炎症は、多様な炎症性疾患やがんの発症にも深く関与しており、全身を循環する血清 GM3 分子種の発現変動パターンと、さまざまな疾患との関連性が今後示されるかもしれない。一方で、GM3 分子種と LPS が同時に TLR4/MD-2 に作用したときに、どのような活性化複合体を形成し、どのようなシグナル伝達様式をとるのかは不明なままである。加えて、血清中への極長鎖 GM3 分子種の分泌様式や TLR4 への提示メカニズムについても詳細な解析が期待される。今後は、構造生物学的手法や、生細胞イメージング手法を取り入れたアプローチによって、GM3 分子種のアシル鎖構造がどのようにして TLR4/MD-2 複合体に提示・認識され、その活性化制御を行っているのかを解明していきたい。

文 献

- Hotamisligil GS : Inflammation, metaflammation and immunometabolic disorders. *Nature* 542 : 177-185, 2017
- Lumeng CN, Saltiel AR : Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest* 121 : 2111-2117, 2011
- Moresco EM, LaVine D, Beutler B : Toll-like receptors. *Curr Biol* 21 : R488-R493, 2011
- Kawai T, Akira S : Toll-like receptors and their cross-talk with other innate receptors in infection and immunity. *Immunity* 34 : 637-650, 2011
- Tanaka M, Ikeda K, Suganami T, et al. : Macrophage-inducible C-type lectin underlies obesity-induced adipose tissue fibrosis. *Nat Commun* 5 : 4982, 2014
- Baker RG, Hayden MS, Ghosh S : NF- κ B, inflammation, and metabolic disease. *Cell Metab* 13 : 11-22, 2011
- Cani PD, Amar J, Iglesias MA, et al. : Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes* 56 : 1761-1772, 2007
- Harris HE, Andersson U, Pisetsky DS : HMGB1 : A multifunctional alarmin driving autoimmune and inflammatory disease. *Nat Rev Rheumatol* 8 : 195-202, 2012
- Guzmán-Ruiz R, Ortega F, Rodriguez A, et al. : Alarmin high-mobility group B1 (HMGB1) is regulated in human adipocytes in insulin resistance and influences insulin secretion in β -cells. *Int J Obes (Lond)* 38 : 1545-1554, 2014
- Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, et al. : TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest* 116 : 3015-3025, 2006
- Pal D, Dasgupta S, Kundu R, et al. : Fetuin-A acts as an endogenous ligand of TLR4 to promote lipid-induced insulin resistance. *Nat Med* 18 : 1279-1285, 2012
- Lancaster GI, Langley KG, Berglund NA, et al. : Evidence that TLR4 Is Not a Receptor for Saturated Fatty Acids but Mediates Lipid-Induced Inflammation by Reprogramming Macrophage Metabolism. *Cell Metab* 27 : 1096-1110, 2018
- Qiang X, Yang WL, Wu R, et al. : Cold-inducible RNA-binding protein (CIRP) triggers inflammatory responses in hemorrhagic shock and sepsis. *Nat Med* 19 : 1489-1495, 2013
- Hiratsuka S, Watanabe A, Sakurai Y, et al. : The S100A8-serum amyloid A3-TLR4 paracrine cascade establishes a pre-metastatic phase. *Nat Cell Biol* 10 : 1349-1355, 2008
- Nagata M, Izumi Y, Ishikawa E, et al. : Intracellular metabolite β -glucosylceramide is an endogenous Mincle ligand possessing immunostimulatory activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 114 : E3285-E3294, 2017
- Ichioka M, Suganami T, Tsuda N, et al. : Increased expression of macrophage-inducible C-type lectin in adipose tissue of obese mice and humans. *Diabetes* 60 : 819-826, 2011
- Nakayama H, Kurihara H, Morita YS, et al. : Lipoarabinomannan binding to lactosylceramide in lipid rafts is essential for the phagocytosis of mycobacteria by human neutrophils. *Sci Signal* 9 : ra101, 2016
- Kondo Y, Ikeda K, Tokuda N, et al. : TLR4-MD-2 complex is negatively regulated by an endogenous ligand, globotetraosylceramide. *Proc Natl Acad Sci USA* 110 : 4714-4719, 2013
- Nitta T, Kanoh H, Inamori KI, et al. : Globo-series glycosphingolipids enhance Toll-like receptor 4-mediated inflammation and play a pathophysiological role in diabetic nephropathy. *Glycobiology* 29 : 260-268, 2019

- 20) Inokuchi J, Inamori KI, Kabayama K, et al. : Biology of GM3 ganglioside. *Prog Mol Biol Transl Sci* 156 : 151-195, 2018
- 21) Go S, Go S, Veillon L, et al. : Altered expression of ganglioside GM3 molecular species and a potential regulatory role during myoblast differentiation. *J Biol Chem* 292 : 7040-7051, 2017
- 22) Wentworth JM, Naselli G, Ngui K, et al. : GM3 ganglioside and phosphatidylethanolamine-containing lipids are adipose tissue markers of insulin resistance in obese women. *Int J Obes (Lond)* 40 : 706-713, 2016
- 23) Senn HJ, Orth M, Fitzke E, et al. : Gangliosides in normal human serum. Concentration, pattern and transport by lipoproteins. *Eur J Biochem* 181 : 657-662, 1989
- 24) Yuki N, Hartung HP : Guillain-Barré syndrome. *N Engl J Med* 366 : 2294-2304, 2012
- 25) Tagami S, Inokuchi Ji J, Kabayama K, et al. : Ganglioside GM3 participates in the pathological conditions of insulin resistance. *J Biol Chem* 277 : 3085-3092, 2002
- 26) Nagafuku M, Sato T, Sato S, et al. : Control of homeostatic and pathogenic balance in adipose tissue by ganglioside GM3. *Glycobiology* 25 : 303-318, 2015
- 27) Kabayama K, Sato T, Saito K, et al. : Dissociation of the insulin receptor and caveolin-1 complex by ganglioside GM3 in the state of insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 : 13678-13683, 2007
- 28) Zhao H, Przybylska M, Wu IH, et al. : Inhibiting glycosphingolipid synthesis improves glycemic control and insulin sensitivity in animal models of type 2 diabetes. *Diabetes* 56 : 1210-1218, 2007
- 29) Yamashita T, Hashiramoto A, Haluzik M, et al. : Enhanced insulin sensitivity in mice lacking ganglioside GM3. *Proc Natl Acad Sci USA* 100 : 3445-3449, 2003
- 30) Veillon L, Go S, Matsuyama W, et al. : Identification of Ganglioside GM3 Molecular Species in Human Serum Associated with Risk Factors of Metabolic Syndrome. *PLoS One* 10 : e0129645, 2015
- 31) Kanoh H, Nitta T, Go S, et al. : Homeostatic and pathogenic roles of GM3 ganglioside molecular species in TLR4 signaling in obesity. *EMBO J* (in revision)
- 32) Park BS, Song DH, Kim HM, et al. : The structural basis of lipopolysaccharide recognition by the TLR4-MD-2 complex. *Nature* 458 : 1191-1195, 2009
- 33) Ohto U, Fukase K, Miyake K, et al. : Structural basis of species-specific endotoxin sensing by innate immune receptor TLR4/MD-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 109 : 7421-7426, 2012
- 34) Mueller M, Lindner B, Kusumoto S, et al. : Aggregates are the biologically active units of endotoxin. *J Biol Chem* 279 : 26307-26313, 2004
- 35) Akashi S, Nagai Y, Ogata H, et al. : Human MD-2 confers on mouse Toll-like receptor 4 species-specific lipopolysaccharide recognition. *Int Immunol* 13 : 1595-1599, 2001
- 36) Saitoh S, Akashi S, Yamada T, et al. : Lipid A antagonist, lipid IVa, is distinct from lipid A in interaction with Toll-like receptor 4 (TLR4)-MD-2 and ligand-induced TLR4 oligomerization. *Int Immunol* 16 : 961-969, 2004
- 37) Galanos C, Lüderitz O, Rietschel ET, et al. : Synthetic and natural *Escherichia coli* free lipid A express identical endotoxic activities. *Eur J Biochem* 148 : 1-5, 1985
- 38) Wang MH, Feist W, Herzbeck H, et al. : Suppressive effect of lipid A partial structures on lipopolysaccharide or lipid A-induced release of interleukin 1 by human monocytes. *FEMS Microbiol Immunol* 2 : 179-185, 1990
- 39) Galanos C, Lehmann V, Lüderitz O, et al. : Endotoxic properties of chemically synthesized lipid A part structures. Comparison of synthetic lipid A precursor and synthetic analogues with biosynthetic lipid A precursor and free lipid A. *Eur J Biochem* 140 : 221-227, 1984
- 40) Kim HM, Park BS, Kim JI, et al. : Crystal structure of the TLR4-MD-2 complex with bound endotoxin antagonist Eritoran. *Cell* 130 : 906-917, 2007
- 41) Suganami T, Tanimoto-Koyama K, Nishida J, et al. : Role of the Toll-like receptor 4/NF- κ B pathway in saturated fatty acid-induced inflammatory changes in the interaction between adipocytes and macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27 : 84-91, 2007
- 42) Matsuzaka T, Shimano H, Yahagi N, et al. : Crucial role of a long-chain fatty acid elongase, Elovl6, in obesity-induced insulin resistance. *Nat Med* 13 : 1193-1202, 2007
- 43) Zadavec D, Brolinson A, Fisher RM, et al. : Ablation of the very-long-chain fatty acid elongase ELOVL3 in mice leads to constrained lipid storage and resistance to diet-induced obesity. *FASEB J* 24 : 4366-4377, 2010
- 44) Oishi Y, Spann NJ, Link VM, et al. : SREBP1 Contributes to Resolution of Pro-inflammatory TLR4 Signaling by Reprogramming Fatty Acid Metabolism. *Cell Metab* 25 : 412-427, 2017
- 45) Hama H : Fatty acid 2-Hydroxylation in mammalian sphingolipid biology. *Biochim Biophys Acta* 1801 : 405-414, 2010
- 46) Raichur S, Wang ST, Chan PW, et al. : CerS2 haploinsufficiency inhibits β -oxidation and confers susceptibility to diet-induced steatohepatitis and insulin resistance. *Cell Metab* 20 : 687-695, 2014
- 47) Turpin SM, Nicholls HT, Willmes DM, et al. : Obesity-induced CerS6-dependent C16 : 0 ceramide production promotes weight gain and glucose intolerance. *Cell Metab* 20 : 678-686, 2014