

Mini Review

気道炎症の発症・増悪に関与する粘液中糖鎖の役割とその発現調節機構

石橋祐二^{1,2,*}, 谷口彰良¹⁾

¹⁾文部科学省管轄 独立行政法人 物質・材料研究機構 生体材料センター 細胞センシンググループ

²⁾杏林製薬株式会社 研究センター 研究一部 薬理研究グループ

*連絡先: 石橋祐二, 文部科学省管轄 独立行政法人 物質・材料研究機構 生体材料センター 細胞センシンググループ,
〒305-0044 茨城県つくば市並木 1-1, e-mail: yuuji.ishibashi@mb.kyorin-pharm.co.jp

Expression and Role of Sugar Chains on Airway Mucins, Especially in Induction and Exacerbation of Airway Inflammation

One of the fundamental features associated with inflammatory respiratory disease is the change in sugar chains' contents on airway mucins. This change has been related to an unfavorable change in mucin's viscoelasticity, and resulting in the impairment of mucociliary transport, vulnerability to viral/bacterial infection -- sugar chains playing a important role in adhesion of some viruses and bacteria to epithelium -- and inflammatory cell infiltration in the airway. Thus, we review and discuss recent studies on the topic, including our own data available, in terms of expression and role of sugar chains on mucins.

In brief, airway mucins from patients with inflammatory respiratory disease show increased levels of sialyl-Lewis x epitopes on mucin cores. The expression of the sialyl-Lewis x epitopes is regulated by a number of glycosyltransferases, and tumor necrosis factor- α is reported to up-regulate the expression of these glycosyltransferases. Recently, we found that inhibitors of phosphatidylinositol-phospholipase C (PI-PLC) can block this up-regulation of the glycosyltransferases. This suggests that a PI-PLC inhibitor might reverse the inflammatory damages in the airway where sialyl-Lewis x epitopes have been overexpressed on mucin cores.

From viewpoints of drug treatment, we briefly refer to the estimated mechanism(s) of carbocysteine, a mucoregulant drug, in relation to the sugar-chain topic in this short review.

Rec.12/11/2006, Acc.2/20/2007, pp177-183

Yuji Ishibashi^{1,2,*}, and Akiyoshi Taniguchi¹⁾

¹⁾Cell-Sensing Group, Biomaterials Center, National Institute for Materials Science

²⁾Pharmacology, Research Department I, Research Center, Kyorin Pharmaceutical co., Ltd

Key words airway inflammation, mucins, sialyl-Lewis x, glycosyltransferase, carbocysteine

はじめに

気道液中のゲル層の主体を成すムチンは、ウイルスや細菌をはじめとする外来異物の侵入を防ぐバリアー機構の他に、これらを捕捉して咽頭方向へ押し出し排除する重要な

役割を担っている^{1,2)}。また、気道感染・炎症時にはムチン量が生理的範囲内で増加し、侵入したウイルス・細菌をより容易に補足しやすくする閉じ込め作用とともに好中球による細菌の殺傷作用等といった気道の防御作用を発揮しや

すい環境を作り出す³⁾。ところが、気管支喘息にみられるような慢性的な炎症が気道に誘発されるとムチンを産生する杯細胞数の増加・過形成が起こり、ムチン量も連動して異常な過剰分泌を引き起こす³⁾。

一方、気道炎症時にはムチン中の糖鎖含量も変化することが知られ、それに伴う粘弾性異常が起こり、ウイルス・細菌の易感染性および好中球の組織浸潤能を誘発させる。したがって、気道炎症でみられる気道液中の糖鎖変化は、多くの呼吸器疾患の発症や増悪と深く結びついていると思われる。

そこで本稿では、気道粘液ムチンの糖鎖部分に焦点を絞り、気道炎症時におけるシアル酸及びフコースを中心とした糖鎖変化と呼吸器疾患の発症や増悪との関連性について、最近の知見に対する考察を試みたい。また、気道における糖鎖の発現調節機構の解明を試みた我々の研究成績の一部と、この機構に及ぼす薬物の作用を紹介する。

気道ムチン中の糖鎖が粘液の粘弾性を支配し、その変化は気道炎症を悪化させる

気道粘液ムチンは、気道領域に炎症反応が誘発されるとその粘弾性が変化して線毛運動による粘液輸送系に障害を及ぼすことが知られている(図1)。この機序については、気道ムチン中のシアル酸やフコース等の糖鎖含量が変化したこと起因していると考えられている^{1,4,5)}。したがって、

粘液の停滞に伴って気道ムチン中に捕捉されているウイルスや細菌は、気道から排除されにくくなり、長時間気道内に存在する。停滞したウイルスや細菌は、その後このムチンを棲家として増殖し、気道内に炎症反応を誘発させ、線毛細胞の脱落やリモデリング等の組織障害を発生させる^{1,4)}。当然ながら、ウイルスや細菌自体は、粘液の停滞とそれに伴う気道細胞障害(炎症性細胞脱離等)によってさらに生体内へ侵入しやすくなる。

一方我々は、気道ムチン中の糖含量を変化させるモデルを作製し、ムチンの糖鎖変化が気道粘液の輸送能を障害して組織障害を誘発するかどうか調べた。すなわち、300ppmの亜硫酸(SO_2)ガスを動物に数日間曝露させると気管支肺胞洗浄液(BALF)中のシアル酸およびフコース含量が増加して、粘液線毛輸送能の低下に伴う炎症細胞の浸潤、線毛細胞の脱落および杯細胞の過形成が誘発された^{6,7,8)}。気道粘液中のシアル酸やフコース含量を正常レベルまで修復(調整)するカルボシステイン(S-CMC)を先の SO_2 ガス曝露動物に投与するとBALF中のシアル酸およびフコース含量の増加を抑制した^{6,7)}。それに伴って、粘液線毛輸送能低下の改善、気道炎症の緩解(炎症細胞の浸潤抑制)、線毛細胞脱落の抑制および杯細胞過形成の抑制が確認されている^{6,7,8)}。

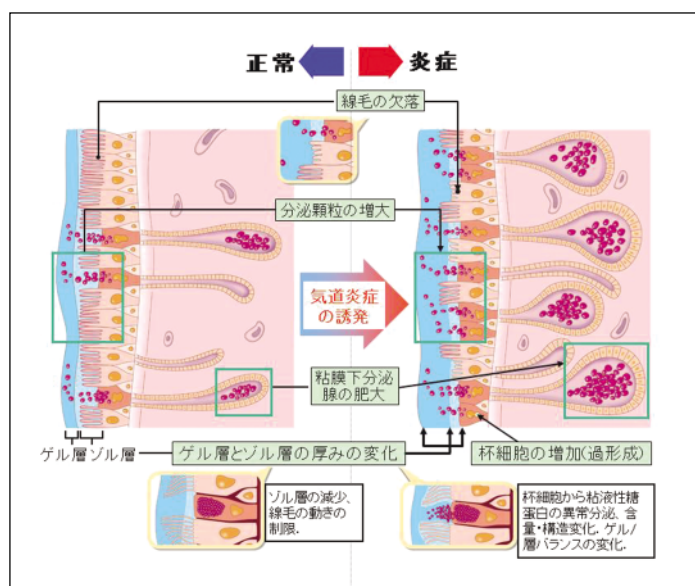


図1 気道炎症と気道粘膜・粘液線毛輸送系

気道内で炎症(気道炎症)が発症すると杯細胞は過形成化して、そこから分泌されるムチン量およびシアル酸/フコース含量は変化する。その結果、粘液の粘弾性やゲル/ゾル層の厚みも変化して粘液線毛輸送系の排泄機能に支障を来す。線毛細胞の脱落も起きる。

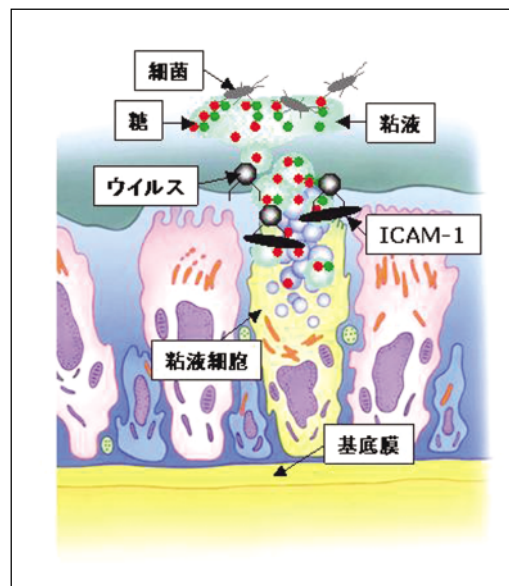


図2 ウイルスと細菌の上皮細胞への付着(感染)

ライノウイルスは接着分子ICAM-1と、インフルエンザ菌などの細菌はシアル酸等の糖鎖と結合して生体内へ侵入する。

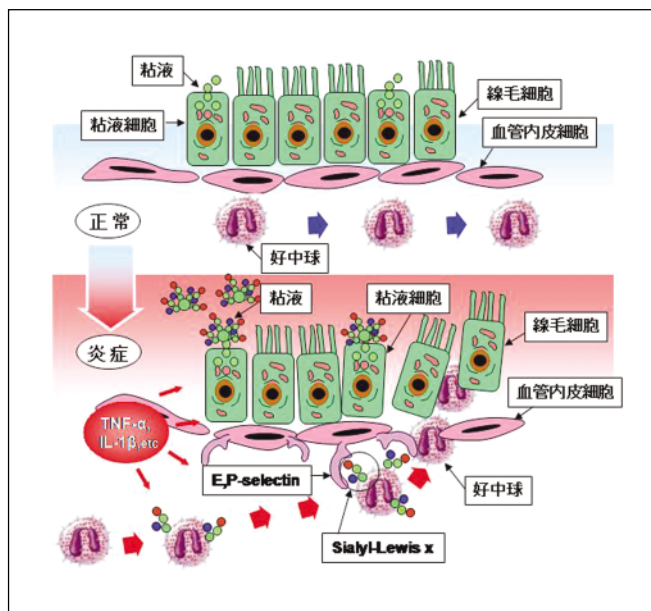


図3 好中球の組織浸潤機構におけるsialyl-Lewis xの役割

好中球が血管外の組織へ浸潤するためには、炎症反応によって発現した好中球の膜状sialyl-Lewis xと内皮細胞の接着分子(E-およびP-selectin)の結合が重要な働きをもっている。

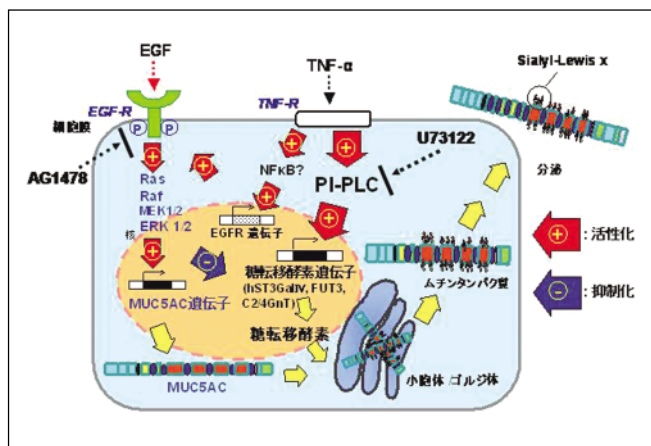


図5 MUC5ACおよびsialyl-Lewis xの発現メカニズム
MUC5ACはEpidermal growth factor(EGF)receptorの活性化に伴うチロシンリン酸化経路を経て生合成される。AG1478(チロシンリン酸化インヒビター)は、MUC5AC遺伝子の発現を抑制する。

Sialyl-Lewis xはPI-PLCの活性化を介し、糖転移酵素遺伝子が発現後、MUC5AC等のムチン上へ付加される。U73122(PI-PLCインヒビター)は糖転移酵素遺伝子の発現を抑制する。一方、MUC5ACの生合成経路が活性化されるとsialyl-Lewis xの合成は逆に抑制される。

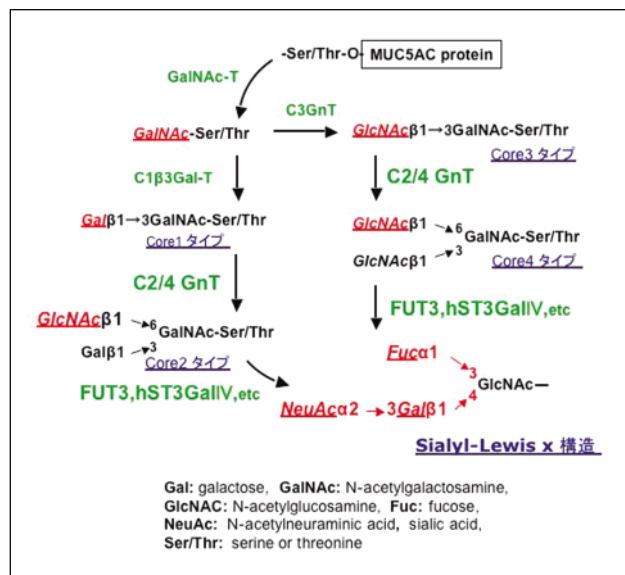


図4 Sialyl-Lewis xの生合成機構

Sialyl-Lewis xはcore1および2経路もしくはcore3および4経路を介して生合成される。これらの生合成にはC2/4GnT酵素が重要な役割を果たしている。また、主に末端へ結合しているシアル酸およびフコースは、hST3GalIVおよびFUT3のような糖転移酵素によって付加される。

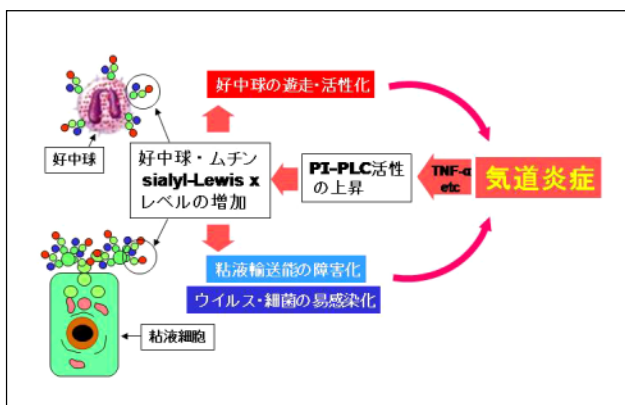


図6 気道炎症に伴う好中球および粘液ムチン中sialyl-Lewis xの発現と気道炎症の増悪機序

気道炎症の発症時には好中球および気道粘液ムチンのsialyl-Lewis xが変化(増加)する。その結果、好中球の活性化、気道粘液の停滞、ウイルスや細菌の易感染化等を招き、気道炎症のさらなる増悪を誘導する。

ウイルスや細菌の感染部位は粘液中の糖鎖と関連がある

ウイルス感染はウイルスとその受容体との接着・結合により始まる。この過程の多くが糖鎖を介する反応であると考えられる^{9,10}。例えば、インフルエンザウイルスは細胞膜上に存在するシアル酸を含んだ糖鎖と付着・結合することが知られている^{9,11}。また、感冒発症の原因ウイルスの一つとされるライノウイルスも、宿主細胞に発現する糖タンパク質の接着分子intercellular adhesion molecule(ICAM-1)へ付着・結合することが知られている(図2)^{9,10,12}。このICAM-1は、免疫グロブリンに類似した5つのドメイン(D)構造を有し、そのうちのD1と呼ばれる部位にライノウイルスは結合する¹³。しかし、このD1部位とライノウイルスの結合に関する詳細な糖鎖情報は今のところ見当たらない。ただし、糖鎖合成阻害薬(N-linked glycosylation阻害薬)は、ICAM-1の生合成を抑制する報告がある¹³。これと関連して、安田および山谷らの研究グループは、S-CMCがライノウイルスの付着部位であるICAM-1発現を抑制することによって、ライノウイルス感染を抑制できるという興味深いデータを報告している¹⁴。これらのことから、粘液ムチン中の糖鎖は、ウイルスの感染部位に深く関与していることが推察される。

また、インフルエンザ菌、肺炎球菌およびモラクセラ・カタラーリス菌等による慢性気道感染症の発症時にみられる繰り返し感染の原因菌も、気道上皮へ付着する部位がシアル酸やフコースを含む高分子糖タンパク質(あるいは脂質)である可能性を、永武らの研究グループは指摘している(図2)¹⁵。さらに、永武らはインフルエンザ菌、肺炎球菌およびモラクセラ・カタラーリス菌と気道上皮間の付着をS-CMCが抑制すると報告している¹⁵⁻¹⁷。

S-CMCの有するこれらの付着抑制作用は、ウイルスや細菌の付着部位である粘液中の糖鎖合成に作用を及ぼした結果と推定される。

好中球は膜上糖鎖と血管内皮細胞の接着分子を介して組織内へ浸潤する

血管内の好中球が血管外へ浸潤(遊走)するためには、第一に好中球が血管内皮へ接着する必要がある。好中球と内皮細胞の接着機構の一つとして、神奈木およびPolleyらは好中球膜上の糖鎖(sialyl-Lewis x他:詳細は後述)と内皮細胞側の接着分子(E-およびP-selectin等)の結合(接着)が重要であると指摘している^{18,19}。この反応は炎症反応時にみられ、その仕組みは炎症反応によって産生されたinterleukin(IL)-1 β やtumor necrosis factor(TNF)- α 等が内皮細胞側のE-およびP-selectinとともに好中球側のsialyl-Lewis x他を発現誘導させることである(図3)。すなわち、

気道炎症時における好中球上の糖鎖発現は、好中球の組織浸潤に対して、直接的に関与していると考えられる。

糖鎖発現は糖鎖関連酵素群によって制御されている

糖鎖の発現は様々な段階で複雑に制御されているが、主にその合成・分解は糖鎖関連酵素群によって規定されていると考えられる。しかし、糖鎖含量変化が糖鎖関連酵素群の異常によって引き起こることを実験的に検証した詳細な*in vivo*データは、見当たらない。

そこで我々は、気管支炎を誘発させる動物モデルとして汎用されるSO₂ガス曝露ラットを用い、肺中の糖転移酵素活性の変化を測定した。その結果、SO₂ガス曝露により、ラット肺中のシアル酸合成酵素(シアリルトランスフェラーゼ)活性は正常時と比較して上昇し、逆にシアル酸分解酵素(シアリダーゼ)活性は低下するデータを得た²⁰。同時に我々は、フコース合成酵素(フコシルトランスフェラーゼ)活性の上昇とフコース分解酵素(フコシダーゼ)活性の低下も確認した²⁰。これらのことから、先述したSO₂ガス曝露によって誘発されたBALF中シアル酸およびフコース含量の増加は、それぞれシアル酸およびフコースに関連した糖鎖関連酵素活性の変化に基づいた反応の結果と考えられる。

一方、シアル酸およびフコース含量を正常化するS-CMCは、SO₂ガス曝露によるこれら糖鎖関連酵素活性の変化を正常レベルへと回復させることも我々は確認している²⁰。

Sialyl-Lewis x発現に関与する糖転移酵素群

O-結合型(ムチン型)のsialyl-Lewis x [NeuAc α 2,3Gal β 1,4(Fuc α 1,3)GlcNAc-](図4)は、core1,2もしくはcore3,4と呼ばれる糖鎖上の末端部にシアル酸およびフコースを有した構造をしている²¹。また、このsialyl-Lewis xの発現量は慢性気管支炎、気管支喘息およびcystic fibrosis等の呼吸器疾患患者で増加していることも知られている^{22,23}。

我々は、sialyl-Lewis xの生合成に関与すると考えられるシアル酸転移酵素の一つであるhST3GalIVおよびフコース転移酵素の一つであるFUT3に加え、core2とcore4構造の合成に関与すると考えられるN-アセチルグルコサミン転移酵素(C2/4GnT)遺伝子の発現パターンに着目(図4)した実験を行った。気道炎症誘発物質のTNF- α を用いてヒト気道上皮ガン細胞株(NCI-H292)に刺激を与えたところ、先述の糖転移酵素のmRNAs発現に上昇がみられ、これらによって生合成されるsialyl-Lewis xの抗原量も増加した²⁴。

これらの我々の結果から、呼吸器疾患のような気道炎症

時にみられる気道粘液の sialyl-Lewis x の発現量の増加は、hST3GalIV, FUT3 および C2/4GnT の発現上昇が関与していると考えられる。

糖転移酵素 (hST3GalIV, FUT3 および C2/4GnT) 遺伝子の発現調節機構

呼吸器疾患時に変化する粘液中ムチンの基本 (コア) となる部分は、MUC5AC といわれている²⁵⁾。したがって、呼吸器疾患時に増加する sialyl-Lewis x 他多くの糖鎖は、MUC5AC 上に存在 (結合) していると推察される。MUC5AC の発現調節機構は、既に Nadel²⁶⁾ および武山ら²⁷⁾ を中心とした研究結果が報告されている。それによると、TNF- α 刺激によって杯細胞上に epidermal growth factor (EGF) receptor が発現誘導され、そのリガンドである EGF や transforming growth factor (TGF)- α および活性酸素等の刺激に応じて、EGF receptor-MAP キナーゼ系が活性化される。その後、MUC5AC mRNA 発現の上昇が起こり、MUC5AC は合成されるという (図5)。EGF や TGF- α に加え、IL-13 も EGF receptor を直接活性化させることを Kondo らは報告している²⁸⁾。また、二次的ではあるが IL-13 刺激によって産生した TGF- α が EGF receptor を活性化することも Kuperman らは報告している²⁹⁾。そこで我々は、この MUC5AC mRNA の発現を上昇させる EGF receptor-MAP キナーゼ系の活性化時における hST3GalIV, FUT3 および C2/4GnT mRNAs 発現量の変化について、正常細胞と同様な EGF receptor-MAP キナーゼ系を有するヒト気道肺ガン細胞株 (NCI-H292) を用い調べた。その結果、sialyl-Lewis x の生合成に関与すると考えられるこれら糖転移酵素群の mRNAs 発現は、EGF receptor-MAP キナーゼ系の活性化で抑制された²⁴⁾。この成績は、当該伝達系の活性化で MUC5AC が生合成される機構と比較して相反することを示している (図5)。

一方、TNF- α 刺激による遺伝子発現の上昇機構は多彩で転写因子の NF- κ B やホスファチジルイノシトールホスホリパーゼ (PI-PL) C 系等多くのシグナル伝達系が関与することを Chen らは報告している³⁰⁾。しかし、我々は糖転移酵素の hST3GalIV のプロモーター上には NF- κ B の結合サイトが存在しないことを確認している^{31,32)}。さらに、PI-PLC インヒビター (U73122) が糖転移酵素 mRNAs の発現上昇を抑制するデータを我々は有している²⁴⁾。したがって、sialyl-Lewis x の発現レベル調節には PI-PLC 系が中心的に働いている可能性があると考えられる (図5)。

さらに我々は、S-CMC が TNF- α 刺激で上昇する NCI-H292 細胞の hST3GalIV, FUT3 および C2/4GnT mRNAs 発現増加を抑制するとともに sialyl-Lewis x 抗原量の増加を抑えることを報告している³³⁾。同時に、S-CMC は上皮細胞

中の PI-PLC 活性を抑制する³³⁾ことを我々は確認していることから、糖転移酵素遺伝子群の発現増加に対する S-CMC の抑制作用は、PI-PLC 活性の抑制に起因した結果であると推測できる。

おわりに

気道炎症によって、粘液ムチン中のシアル酸やフコースを含む sialyl-Lewis x 等の糖鎖含量は通常増加する。これらの糖鎖変化が呼吸器疾患の誘発や増悪を招く。特に、気道粘液中 sialyl-Lewis x の発現レベルは、細胞内の PI-PLC 系と EGF receptor-MAP キナーゼ系の両者を介して制御され、糖転移酵素 (hST3GalIV, FUT3, C2/4GnT) によって生合成されると我々は考えている。

好中球の遊走活性化時においても、PI-PLC (PLC- γ 2) 系の関与は指摘されている^{34,35)}。今日、気道炎症時における好中球の sialyl-Lewis x の発現機構について、前述の上皮細胞由来と同様 PI-PLC が関与するか否かの情報は無い。血球系細胞における sialyl-Lewis x の生合成は上皮細胞と異なり、FUT7 の関与が知られている³⁶⁾。しかしながら、好中球上の sialyl-Lewis x の合成経路は、上皮細胞同様、core2 構造を介した反応系である³⁷⁾という報告から、C2/4GnT 等上皮細胞由来の粘液中 sialyl-Lewis x と類似した糖転移酵素群によって制御されている可能性が極めて高いと思われる。

以上のことを総合して考えると、気道炎症時には気道上皮および好中球の PI-PLC 系が活性化して、粘液や好中球の糖鎖 (sialyl-Lewis x 他) 変化が誘発される (図6)。その結果、気道粘液の粘弾性変化、ウイルスや細菌の易感染性および好中球の活性化等が誘引されて、気道炎症の増悪化を招くと思われる。

S-CMC は上皮細胞および好中球両者の PI-PLC 活性を抑制する^{33,38)}ことが判明している。したがって、S-CMC は PI-PLC 活性の抑制を介した sialyl-Lewis x 発現を制御し、粘液の粘弾性変化、好中球の浸潤、ウイルス・細菌の付着等を抑制する去痰薬と推察される。

最後に、本稿にて述べたこれらの知見は、各種呼吸器疾患 (気道炎症) 時において未だ不明な糖鎖発現調節の機構解明や気道粘液中糖鎖含量を制御する新薬の創製、S-CMC のような既存薬物の作用態度 (機序) を調べる上で有益な情報の一つとして役立つものと思われる。

謝 辞

本研究実施にあたり、ご指導頂いた岡野光夫教授 (東京女子医科大学・先端生命医科学研究所)、井上義雄教授 (東邦大学・薬学部) および小室正勝研究所長 (杏林製薬株式会社・研究センター) に感謝致します。

文 献

- 1) Girod S, Zahm JM, Plotkowski C, Beck G, Puchelle E: Role of the physiochemical properties of mucus in the protection of the respiratory epithelium. *Eur Respir J*, 5: 477-487, 1992.
- 2) 滝沢敏夫, 川上雅彦: 気管支/粘液線毛輸送系の形態と機能. *Mebio*, 2: 21-41, 1985.
- 3) Ordonez CL, Khashayar R, Wong HH, Ferrando R, Wu R, Hyde DM, Hotchkiss JA, Zhang Y, Novikov A: Mild and moderate asthma is associated with airway goblet cell hyperplasia and abnormalities in mucin gene expression. *Am J Respir Crit Care Med*, 163: 517-523, 2001.
- 4) Kobayashi H, Yamaguchi K, Inoue H, Tomichi N: Relation between the sialic acid/fucose ratio in airway secretions and the degree of airway remodeling in bronchial asthma — reversibility of airflow limitation by beta-agonists and airway remodeling in bronchial asthma. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi*, 34: 54-58, 1996.
- 5) 三上正志: 痰と去痰薬をめぐる最近の話題—基礎から臨床まで: 喀痰の物理化学的性状と排痰障害 2. *Pharma Medica*, 24: 66-70, 2006.
- 6) 石橋祐二, 倉田龍一, 北村嘉章, 建入徳栄, 草嶋久生, 百々研次郎: 各種呼吸器疾患モデルにおけるカルボシステインと塩酸ブロムヘキシンの併用効果. *薬理と治療*, 27: 41-47, 1999.
- 7) 石橋祐二, 岡村孝夫, 益本吉廣, 建入徳栄, 百々研次郎: 二酸化硫黄ガス曝露によるラット気道炎症に対するカルボシステインの効果. *日本呼吸器学会雑誌*, 39: 17-23, 2001.
- 8) Sueyoshi S, Miyata Y, Masumoto Y, Ishibashi Y, Matsuzawa S, Harano N, Tsuru K, Imai S: Reduced airway inflammation and remodeling in parallel with Mucin5AC protein expression decreased by S-carboxymethylcysteine, a mucoregulant, in the airways of rats exposed to sulfur dioxide. *Int Arch Allergy Immunol*, 134: 273-280, 2004.
- 9) 鈴木康夫: 接着分子の構造と機能—接着分子としての糖鎖. *Mebio*, 10: 32-42, 1993.
- 10) Greve JM, Davis G, Meyer AM, Forte CP, Yost SC, Marlor CW, Kamarck ME, McClelland A: The major human rhinovirus receptor is ICAM-1. *Cell*, 56: 839-847, 1989.
- 11) 鈴木康夫: インフルエンザ感染. *医学のあゆみ*, 207: 319-322, 2003.
- 12) Casasnovas JM, Springer TA: Pathway of rhinovirus disruption by soluble intercellular adhesion molecule 1(ICAM-1): an intermediate in which ICAM-1 is bound and RNA is released. *J Virol*, 68: 5882-5889, 1994.
- 13) 藤田 浩: 血管内皮細胞と凝固線溶系の分子生物学—血栓形成, 抗血栓の分子機構-接着因子ICAM-1, ELAM-1の分子生物学-分子構造, 血管内皮細胞における発現と機能—. *日本臨床*, 51: 1643-1649, 1993.
- 14) Yasuda H, Yamaya M, Sasaki T, Inoue D, Nakayama K, Yamada M, Asada M, Yoshida M, Suzuki T, Nishimura H, Sasaki H: Carbocysteine inhibits rhinovirus infection in human tracheal epithelial cells. *Eur Respir J*, 28: 51-58, 2006.
- 15) Zheng CH, Ahmed K, Rikitomi N, Martinez G, Nagatake T: The effects of S-carboxymethylcysteine and N-acetylcysteine on the adherence of *Moraxella catarrhalis* to human pharyngeal epithelial cells. *Microbiol Immunol*, 43: 107-113, 1999.
- 16) Ndour CT, Ahmed K, Nakagawa T, Nakano Y, Ichinose A, Tarhan G, Aikawa M, Nagatake T: Modulating effects of mucoregulating drugs on the attachment of *Haemophilus influenzae*. *Microb Pathog*, 30: 121-127, 2001.
- 17) Cakan G, Turkoz M, Turan T, Ahmed K, Nagatake T: S-carboxymethylcysteine inhibits the attachment of *Streptococcus pneumoniae* to human pharyngeal epithelial cells. *Microb Pathog*, 34: 261-265, 2003.
- 18) 神奈木怜児, 大森勝之, 木村尚子, 殷 軍, 宮崎敬子: 感染・炎症と糖鎖-炎症とリンパ球ホーミングにおける糖鎖の役割. *医学のあゆみ*, 207: 337-342, 2003.
- 19) Polley MJ, Phillips ML, Wayner E, Nudelman E, Singhal AK, Hakomori S, Paulson JC: CD62 and endothelial cell-leukocyte adhesion molecule 1(ELAM-1) recognize the same carbohydrate ligand, sialyl-Lewis x. *Proc Natl Acad Sci USA*, 88: 6224-6228, 1991.
- 20) Ishibashi Y, Kobayashi F, Idesawa A, Taniguchi A, Matsuzawa S: Effects of carbocysteine on altered activities of glycosidase and glycosyltransferase and expression of Muc5ac in SO₂-exposed rats. *Eur J Pharmacol*, 487: 7-15, 2004.
- 21) Schwientek T, Nomoto M, Lavery SB, Merckx G, van Kessel AG, Bennett EP, Hollingsworth MA, Clausen H: Control of O-glycan branch formation. Molecular cloning of human cDNA encoding a novel β 1,6-N-acetylglucosaminyltransferase forming core 2 and core 4. *J Biol Chem*, 274: 4504-4512, 1999.
- 22) Davril M, Degroote S, Humbert P, Galabert C, Dumur V, Lafitte JJ, Lamblin G, Roussel P: The sialylation on bronchial mucins secreted by patients suffering from cystic fibrosis or from chronic bronchitis is related to the severity of airway infection. *Glycobiology*, 9: 311-321, 1999.
- 23) Van Halbeek H, Strang AM, Ltermite M, Rahmoune H, Lamblin G: Structures of monosialyl oligosaccharides iso-

- lated from the respiratory mucins of a non-secretor (O,Lea+b-) patients suffering from chronic bronchitis. Characterization of a novel type of mucin carbohydrate core structure. *Glycobiology*, 4: 203-219, 1994.
- 24) Ishibashi Y, Inouye Y, Okano T, Taniguchi A: Regulation of sialyl-Lewis x epitope expression by TNF- α and EGF in an airway carcinoma cell line. *Glycoconj J*, 22: 53-62, 2005.
 - 25) Voynow JA, Gendler SJ, Rose MC: Regulation of mucin genes in chronic inflammatory airways diseases. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 34: 661-665, 2006.
 - 26) Nadel JA: Role of epidermal growth factor receptor activation in regulating mucin synthesis. *Respir Res*, 2: 85-89, 2001.
 - 27) Takeyama K, Dabbagh K, Lee HM, Agusti C, Lausier JA, Ueki IF, Grattan KM, Nadel JA: Epidermal growth factor system regulates mucin production in airways. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96: 3081-3086, 1999.
 - 28) Kondo M, Tamaoki J, Takeyama K, Nakata J, Nagai A: Interleukin-13 induces goblet cell differentiation in primary cell culture from guinea pig tracheal epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 27: 536-541, 2002.
 - 29) Kuperman DA, Huang X, Koth LL, Chang GH, Dolganov GM, Zhu Z, Elias JA, Sheppard D, Erle DJ: Direct effects of interleukin-13 on epithelial cells cause airway hyperactivity and mucus overproduction in asthma. *Nat Med*, 8: 885-889, 2002.
 - 30) Chen CC, Sun YT, Chen JJ, Chiu KT: TNF- α -induced cyclooxygenase-2 expression in human lung epithelial cells: Involvement of the phospholipase C- γ 2, protein kinase C- α , tyrosine kinase, NF- κ B-inducing kinase, and I- κ B kinase 1/2 pathway. *J Immunol*, 165: 2719-2728, 2000.
 - 31) Taniguchi A, Matsumoto K: Epithelial-cell-specific transcriptional regulation of human Gal β 1,3GalNAc/Gal β 1,4GlcNAc α 2,3-sialyl-transferase (hST3Gal IV) gene. *Biochem. Biophys Res Commun*, 257: 516-522, 1999.
 - 32) Taniguchi A, Hioki M, Matsumoto K: Transcriptional regulation of human Gal β 1,3GalNAc/Gal β 1,4GlcNAc α 2,3-sialyl-transferase (hST3Gal IV) gene in testis and ovary cell lines. *Biochem Biophys Res Commun*, 301: 764-768, 2003.
 - 33) Ishibashi Y, Imai S, Inouye Y, Okano T, Taniguchi A: Effects of carbocysteine on sialyl-Lewis x expression in an airway carcinoma cell line stimulated with tumor necrosis factor- α . *Eur J Pharmacol*, 530: 223-228, 2006.
 - 34) Hellberg C, Molony L, Zheng L, Andersson T: Ca²⁺ signaling mechanism of the beta 2 integrin on neutrophils: involvement of phospholipase C gamma 2 and Ins(1,4,5)P₃. *Biochem J*, 317: 403-409, 1996.
 - 35) Cicchetti G, Allen PG, Glogauer M: Chemotactic signaling pathways in neutrophils: from receptor to actin assembly. *Crit Rev Oral Biol Med*, 13: 220-228, 2002.
 - 36) Sasaki K, Kurata K, Funayama K, Nagata M, Watanabe E, Ohta S, Hanai N, Nishi T: Expression cloning of a novel alpha 1,3-fucosyltransferase that is involved in biosynthesis of the sialyl Lewis x carbohydrate determinants in leukocytes. *J Biol Chem*, 269: 14730-14737, 1994.
 - 37) Ellies LG, Tsuboi S, Petryniak B, Lowe JB, Fukuda M, Marth JD: Core 2 oligosaccharide biosynthesis between selectin ligands essential for leukocyte homing and infiltration. *Immunity*, 9: 881-890, 1998.
 - 38) Ishii Y, Kimura T, Morishima Y, Mochizuki M, Nomura A, Sakamoto T, Uchida Y, Sekizawa K: S-carboxymethylcysteine inhibits neutrophil activation mediated by N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine. *Eur J Pharmacol*, 449: 183-189, 2002.