

CLAES WICKSTRÖM, odont dr, Malmö Högskola, Malmö

Muciner utgör ramverket i munhålets försvarsbarriär

⦿ Torsdagen den 28 november 2002 försvarade Claes Wickström avhandlingen *"MUC5B from the oral cavity – Identification of 'insoluble' assemblies and putative regulatory proteolytic events"* vid Malmö Högskola för avläggande av odontologie doktorsexamen.

Syftet med avhandlingen var att studera de stora glykoproteiner, så kallade muciner, som utgör ramverket för den skyddande slemfilm som täcker den orala slemhinnan. Det dominerande gelbildande mucinet i saliv är MUC5B. Både dess struktur och interaktioner med andra komponenter i det skyddande nätverket studerades.

Fakultetsopponent var professor Arie van Nieuw Amerongen, Department of Oral Biochemistry, ACTA – Vrije Universiteit, Amsterdam. Huvudhandledare under avhandlingsarbetet har varit professor Ingemar Carlstedt vid Institutionen för cell- och molekylärbiologi, BMC, Lunds universitet.

AUTOREFERAT

GODKÄNT FÖR PUBLICERING 9 JANUARI 2003

Munhålan är en unik miljö med närhet till den yttre världen och med gränser mellan hård- och mjukvävnad. Munslemhinnan utsätts kontinuerligt för mekaniska påfrestningar och skyddas av en slemfilm som härrör från saliven. Slemmet är en gel – ett ”gelé” – som består av långa, flexibla, trådliknande mucinmolekyler som flätats in i varandra. I slemfilmen återfinns en mängd andra komponenter och det är oklart hur detta komplexa nätverk är sammansatt och hur de olika komponenterna interagerar med varandra. Det är inte heller klarlagt hur de stora oligomera mucinerna syntetiseras och modifieras före sekretion samt hur dessa modifieringar influerar försvaret av den orala slemhinnan.

Mucinerna byggs upp av en proteinkedja från vilken kolhydratstrukturer i form av så kallade oligosackarider strålar ut ungefär som borsten i en flaskborste. Kemiskt är mucinerna därför glykoproteiner, men de skiljer ut sig som en speciell grupp genom sin mycket höga molekylvikt och genom att de innehåller så många olika oligosackaridstrukturer. Flera mucinenheter binds samman med svavelbryggor till kedjor som varierar i längd från ungefär en till tio mikrometer. Muciner karakteriseras också av repetitiva sekvenser av aminosyrorna serin-treonin-prolin (STP), där oligosackariderna är bundna till serin och treonin. Två biokemiskt distinkta muciner har isolerats ifrån saliv, MG1 och MG2 (även kallat MUC7) där MG1 huvudsakligen är en produkt av genen MUC5B. Proteinet MUC5B är den gelbildande komponenten i saliv.

Ett MUC5B nätverk som retentionsplats för andra komponenter

Förutom att smörja den orala slemhinnan fungerar ett nätverk av muciner som en retentionsplats för andra komponenter i försvaret av munhålan. MUC5B (MG1) interagerar med icke gelbildande proteiner som sIgA, laktoferrin och lysozym och lokaliserar dessa proteiner till tandytter och slemhinnor. Komplex mellan MG1 och amylas, prolinrika proteiner, stateriner och histatiner har också rapporterats (Iontcheva et al, 1997). Även MUC7 interagerar till viss del med MUC5B (Wickström et al, 2000) vilket är intressant då MUC7 uttrycker en specifik sockerstruktur, sialyl-Le^x, som kan fungera som en ligand för neutrofiler (Prakobphol et al, 1998). MUC7 interagerar också med andra proteiner. Bland annat bildar MUC7 tillsammans med sIgA ett agglutineringskomplex.

Således kan vi föreslå en intressant modell där MUC5B fungerar som en matris för MUC7 och på detta sätt gynna en interaktion mellan bakterier och neutrofiler till exempel vid en slemhinneskada.

Dynamik i nätverket

– selektiv proteolys reglerar egenskaper

Inom ramen för mitt avhandlingsarbete har jag identifierat och studerat strukturen på MUC5B från saliv. En av de mer intressanta observationerna var att en stor del av MUC5B var ”olösligt” i våra vanliga extraktionsmodeller. Upp till 80 procent av MUC5B från submandibularis/sublingualis uppträder som ett ”olösligt” komplex som kräver reduktion av intramolekylära svavelbryggor för att kunna göras lösligt (Wickström et al, 2000). Den biologiska betydelsen av detta helt nya fynd är inte känd, men MUC2 från kolonslemhinna uppvisar samma fenomen (Herrmann et al, 1999). Halsaliv uppvisar en mindre andel ”olösligt” MUC5B, möjligen beroende på att MUC5B från de små körtlarna är ett mer ”lösligt” mucin. Alternativt sker en degradering av ”olösligt” MUC5B ute i munhålan.

Strukturella likheter mellan de gelbildande mucinerna och von Willebrandfaktor (ett väl studerat glykoprotein i koagulationskaskaden) har lett till spekulationer kring likheter i syntesen mellan dessa proteiner. En stor del av den N-terminala änden av von Willebrandfaktorn är involverad i sammansättningen av proteinet. Denna del (propeptiden) klyvs sedan av och utsöndras tillsammans med det färdiga proteinet. Vi identifierade ett proteinfragment från N-terminalen av MUC5B som motsvarar propeptiden från von Willebrandfaktorn (Wickström et al, 2001). Vi kan ännu inte säga om detta fragment influerar syntesen av MUC5B på samma sätt som propeptiden hos von Willebrandfaktorn, men pågående studier syftar till att klarlägga detta.

Vi har dessutom identifierat ytterligare ett N-terminalt proteinfragment från MUC5B från saliv. Klyvningen sker endast i de ”lösliga” mucinerna och inte i det ”olösliga” komplexet vilket tyder på en strukturell skillnad mellan de två populationerna (Wickström et al, 2001). Den makromolekylära strukturen hos de gelbildande mucinerna skulle därmed regleras av selektiv proteolys – ett helt nytt koncept som också influerar synen på dynamiken i det skyddande nätverket.

Kvalitativa skillnader hos muciner i frisk/sjuk munhåla – komplement till kvantitativa studier

Det skyddande nätverket består av ett komplex av proteiner. Dess struktur och funktion är mycket mer intrikat och specifik än vad som tidigare varit känt. Inter-individuella skillnader i mottaglighet för vissa sjukdomar skulle kunna förklaras genom kvalitativa förändringar hos komponenter i detta nätverk, till exempel MUC5B. Skiljer sig till exempel balansen mellan ”lösliga” och ”olösliga” muciner mellan en frisk individ och en muntorr patient? En större kännedom om biosyntes, modifieringar och

interaktioner hos nyckelproteinerna i nätverket kommer att leda till en ökad förståelse för varför försvarsbarriären ibland brister och leder till patologiska tillstånd i munhålan.

1. Iontcheva I, Oppenheim FG, Troxler RF. Human salivary mucin MG1 selectively forms heterotypic complexes with amylase, proline-rich proteins, statherin, and histatins. *J Dent Res* 1997; 76: 734–43.
2. Wickstrom C, Christersson C, Davies JR, Carlstedt I. Macromolecular organization of saliva: identification of 'insoluble' MUC5B assemblies and non-mucin proteins in the gel phase. *Biochem J* 2000; 351: 421–8.
3. Prakobphol A, Thomsson KA, Hansson GC, Rosen SD, Singer MS, Phillips NJ, Medzihradzky KF, Burlingame AL, Leffler H, Fisher SJ. Human low-molecular-weight salivary mucin expresses the sialyl lewisx determinant and has L-selectin ligand activity. *Biochemistry* 1998; 37: 4916–27.
4. Herrmann A, Davies JR, Lindell G, Martensson S, Packer NH, Swallow DM, Carlstedt I. Studies on the "insoluble" glycoprotein complex from human colon. Identification of reduction-insensitive MUC2 oligomers and C-terminal cleavage. *J Biol Chem* 1999; 274: 15828–36.
5. Wickstrom C, Carlstedt I. N-terminal cleavage of the salivary MUC5B mucin. Analogy with the von Willebrand propeptide? *J Biol Chem* 2001; 276: 47116–21.

Adress:

Claes Wickström, BMC, C 13, 221 84 Lund
E-post: medk-cwi@cassandra.net.lu.se