総 説

脂 質 の 生 命 科 学

細胞の分化と糖脂質の役割

斎 藤 政 樹

自治医科大学血液医学研究部門造血発生

(〒329-04 栃木県河内郡南河内町薬師寺)

Biological Functions of Sialoglycosphingolipids (Gangliosides)
as Differentiation-Inducers as well as Differentiation-
Markers in Human Hematopoietic Cells

Masaki SAITO

Division of Hemopoiesis, Institute of Hematology, Jichi Medical School

(3311-1 Yakushiji, Minami-kawachi-machi, Kawachi-gun, Tochigi-ken, 〒329-04)

Glycosphingolipids(GSLs), which are amphipathic molecules composed of both hydrophobic and hydrophilic moieties and synthesized by a group of Golgi enzymes, glycosyltransferases, are located almost exclusively on the outer leaflet of plasma membranes of mammalian cells in general, and have become known to show unexpectedly vast molecular heterogeneity due to the recent uncovering of extremely minor constituents by means of remarkable development of analytical methods, which include the immunochemical analyses using monoclonal antibodies highly progressed in recent years. Furthermore, GSLs have been considered to be involved in cellular interactions and cell growth regulations, changing characteristically their composition and biosynthesis during cell development, differentiation, and oncogenic transformation although they constitute only a small portion of the cell surface glycoconjugates. In addition, acidic GSLs, gangliosides, have been recently shown to exhibit special receptor-functions for exogenous, bioactive factors such as bacterial toxins, hormones, and interferons. GSLs are classified into three major molecular series, *i.e.* globo-, lacto-, and ganglio-type, according to their carbohydrate structures, and various cells and tissues have characteristic compositions and structural specificities as to their GSLs. We and other investigators have recently found that human and murine hematopoietic malignant cells show ganglioside profiles characteristic of their cell lineages and differentiation-stages, serving as complementary differentiation-markers for both normal and malignant hematopoietic cells, and further, discovered that particular ganglioside molecules themselves, which specifically increase during differentiation along particular cell lineages induced by a variety of chemical agents, exhibit remarkably potent differentiation-inducing and growth-inhibitory activities on human myelogenous leukemia cells. On the basis of these recent findings, some important biological functions of GSLs, especially sialoglycolipids, will be discussed in special reference to cell differentiation.

はじめに

元来、細胞膜を構成する微量成分として、その分子構造の研究が中心であった糖脂質は、近年の分析手段の目

覚ましい発達による超微量成分の発見・構造決定と相まって、その生物学的機能という動的側面の研究が脚光を浴び、従来の研究の流れにインパクトを与えつつ、大きな研究転換の時期に差し掛かっているように見える。

糖脂質は親水基と疎水基からなる両親媒性分子で、複合糖質に分類される一分子群である。糖残基の貯蔵形態としての側面も持ち、遺伝子で直接コードされる一連の特異的糖転移酵素によって生成される。分子群内に見られる糖鎖の多様性が特に注目され、表面膜の受容体機能、細胞間相互認識への介在、特異的抗原構造の形成と言った細胞社会学的生理機能を担っていると考えられるが、その実体解明は今後の緊急課題となっている。本稿ではシアロスフィンゴ糖脂質、ガングリオシド、特定分子種のヒト骨髓性白血病細胞の分化誘導・増殖抑制作用を中心に細胞分化と脱分化、及びこれらに関連した糖脂質研究の現況を概説し、糖脂質の動的な生物・医学的意義の一端を考察したい。

1 血球分化

かりゅう(顆粒)球、単球、赤血球、血小板、リンパ球など各系統の血球は一定の寿命を有し、かつ数的、質的に恒常性が保たれている。それは造血組織で常に活発な各種血球の産生(増殖と分化)が行われ恒常的供給が維持されているからである。このためには各種血球への分化能を持ち、自己複製可能な「造血幹細胞」の存在が理論的に必要で、既に1920年代からその存在が主張されていた。この幹細胞の増殖・分化と基本的にかかわる種々の液性因子が知られ、最近その大部分が遺伝子クローニングされている(図-1)。造血幹細胞は「未分化単核細胞で成熟を伴わない自己複製が可能、かつ特定条

件下で各種血球へ分化・成熟できる細胞¹⁾」と定義されるが、現在でもなお単一の単核細胞を取り出して、それを造血幹細胞であると断定することは不可能に近い。幹細胞の自己複製か分化かの決定機序には幾つかの仮説がある。造血微小環境で分化が誘導される Deterministic model²⁾、分化がある一定の序列で進行するカスケード・モデル³⁾、自己複製か分化かの決定は推計学的確率のみによるとする Stochastic model¹⁾(図-2)等が提唱されている。造血幹細胞・単細胞培養法の最近の進歩によって、多能性幹細胞が段階的、推計学的に分化能の多様性を減弱させ、最終的に単一系統の成熟血球へ分化すること、従ってこの過程で分化能の多様性において様々な段階の前駆細胞が存在することが *in vitro* で実証¹⁾されるようになり、Stochastic model 説が信頼性を獲得しつつある。しかしながらこの正常血球の分化過程での物質的変化、例えば糖脂質変化など、を生化学的レベルで検索同定することは、方法論的な制約から現状では至難の業である。従って、様々な血球系の細胞株を樹立して分化を誘導し、その過程でできるだけ均一な細胞集団を充分量採集して生化学的分析を行い、正常血球分化における変化を推定する事が多い。糖脂質研究の現状も同様である。

2 糖脂質の化学構造、その構築と機能

動物細胞の代表的糖脂質、スフィンゴ糖脂質、の基本構造は長鎖塩基スフィンゴシンに脂肪酸が酸アミド結合

図-1 血球の系統分化・成熟と造血因子

図-2 造血系細胞分化の Stochastic model¹⁾

したセラミド基が様々な糖鎖と縮合したグリコシドである(図-3 A)。スフィンゴシン塩基、脂肪酸、糖鎖構造の種類により多様な分子種群が形成され、スフィンゴシン塩基として4-スフィンゲニンが最も多く見いだされる。構成脂肪酸は炭素数16~24が主体で、起源により炭素数20以上の長鎖酸が多いもの、ヒドロキシル基を持つ α -ヒドロキシ酸が多い分子種等が見いだされる。糖脂質の溶解性等の物理・化学的性質は糖鎖長が伸長し糖鎖構造が複雑化するに従い、セラミド基よりむしろ糖鎖構造に依存する。従って、糖脂質分類は糖鎖構造や糖鎖長(糖残基数)に基づくことが一般的で(図-3 B)、糖残基の置換基の種類により中性糖脂質、硫脂質(硫酸基を含む糖脂質)、ガングリオシド(シアル酸を含む糖脂質)と3大別される。フコースを含む糖脂質をフコリピドと別称することも多い。特に最近では糖残基数20~50の極めて長い糖鎖を持つ糖脂質が分離され注目されている⁴⁾。糖鎖の基本的骨組み構造(構成単糖の種類、配列順序、結合炭素位、アノマー構造等)に基づいてグロボ系、ラクト系、ムコ系、ガングリオ系、ガラ系に分類され、各分子種系には特徴ある3糖構造が共通基本構造として含まれる(図-3 B)。更に次のような糖鎖構造上の特徴が列挙される：(1) グロボ系は一般にフコース、Gal, シアル酸などの糖残基付加は認められない；(2) ラクト系は多様な糖残基、シアル酸、フコース、 α - β -ガラクトースの付加が観察され、同時にN-アセチルラ

クトサミン (Gal β 1 $\rightarrow$ 3,4 GlcNAc β 1 $\rightarrow$ 3,6) を基本とする直鎖又は分岐鎖の「繰返し構造」が存在し最も多彩な分子種群を形成している。シアル酸残基を含むラクト系分子種は、アミノ糖を含まない短糖鎖ガングリオシドGM₃と共に、非神経系組織の主要ガングリオシドとなっており、フコースを含むラクト系分子種は主要な血液型物質である；(3) ガングリオ系糖脂質は一般にシアル酸残基を含む(シアリル化)。シアリル化されていない分子種もまれに存在し、特異的な表面抗原を形成している。フコース残基を含むガングリオ系分子種も少数ながら見いだされている。

糖脂質は主に表面膜脂質二重層外側分子層に非対称性に局在する普遍的な膜微量構成成分であり、多種多様な動物細胞から分離された表面膜にあまねく存在し、その量は内膜系に比べ遙かに多い。しかし中枢神経系を別にすれば細胞総脂質の数パーセントを超えることはなく、リン脂質に比べ遙かに微量な膜構成成分である。疎水基セラミドを脂質二重層に埋め込み親水基糖鎖を細胞外側に配向した非対称性局在様式は表面膜に構造上の剛性 Rigidity を与え、細胞形態を維持する上でも合目的的である¹⁾。セラミドは安定な水素結合を形成するための水素受容基 (amide carbonyl 基) と水素供与基 (hydroxyl 基) とを合わせ持ち、水素受容基 (ester carbonyl 基) のみを有するグリセリド glycerides (代表的なリン脂質の疎水基) に比べ、より構造上の安定性を賦与す

分類は IUPAC-IUB の命名委員会の提唱 [IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature: Lipids (1977) 12, 455] に基づいている。この命名法では糖鎖部分を Ose で表し, globo 系 4 糖鎖を Globotetraose (GbOse_4 と略記) と呼び, これにセラミド (Cer と略記) が結合した糖脂質 Globotetraosylceramide は図中に記したように, GbOse_4Cer または Gb_4Cer と略記することができる。4 糖鎖構造 Tetraglycosylceramide を基本に, これより糖鎖の短い糖脂質は Globotriaosylceramide (GbOse_3Cer または Gb_3Cer と記す。別名 Ceramide triglycoside), Gangliotriaosylceramide (GgOse_3Cer または Gg_3Cer と記す。別名 Asialoganglioside GM_2) などと呼ばれる。一方, 4 糖鎖構造より長い糖鎖を持つ糖脂質は, この誘導体と見なし, 付加される糖残基がセラミド側から何番目 (ローマ数字で表記) の糖残基の何番目 (アラビア数字でローマ数字の右肩に表記) の炭素位に, どのようにアノマー結合しているかを次のように表記する。例えば, Forssman 抗原 ($\text{GalNAc}\alpha 1\rightarrow 3\text{GalNAc}\beta 1\rightarrow 3\text{Gal}\alpha 1\rightarrow 4\text{Gal}\beta 1\rightarrow 4\text{Glc}\beta 1\rightarrow 1\text{Cer}$) は $\text{IV}^3\alpha\text{GalNAc-Gb}_4\text{Cer}$ または Gb_4Cer と略記される。また Ganglioside GM_1 は $\text{II}^3\alpha\text{NeuAc-Gg}_4\text{Cer}$, Fucolipid の Le^5 抗原は $\text{III}^4\alpha\text{Fuc-Lc}_4\text{Cer}$ と略記される。ガングリオシドについては, 従来からの慣用名 Ganglioside GM_3 , GM_2 , GM_1 等が使われる場合が依然として多い。

図-3 スフィンゴ糖脂質の基本構造と糖鎖構造に基づく分子群の分類

ることができる⁴⁾。糖鎖の細胞外側への配向はこの構造を介して外界の刺激が細胞内へ伝達され, 様々な生物反応が引き起こされることを意味している。細胞の抗原性, 免疫原性等, いわば「細胞の顔」を決定し特徴づけているのがこの糖鎖構造であり, 細胞間認識機構やその他細胞社会学的に重要な諸機能を担っていると考えられるゆえんである。

3 細胞増殖制御と分化に関与する糖脂質

レクチンでリンパ球を刺激すると糖脂質特定分子種の生合成が増大, 糖脂質パターン (糖脂質分子の種類と各含量の総称) が特異的に変化し, T, B 両リンパ球の相互認識が可能となる⁵⁾。正常線維芽細胞株では細胞が増殖,

細胞同士が接触すると「接触阻害」が起こるが, その直前にある種の糖脂質生合成が増大する⁶⁾。これは糖脂質の生合成や局在が細胞周期に密接に関連していることを示唆する。しゅよう (腫瘍) 細胞では細胞接触による糖脂質生合成増大「Glycolipid contact response」は生じないが, この性質が直ちに造しゅよう性と直結するものではない⁶⁾。

短鎖脂肪酸, 特に酪酸はしゅよう細胞の飽和濃度を下げ, 接触阻害を回復させる分化誘導因子として作用し, この時ガングリオシド GM_3 合成酵素の活性化と GM_3 合成量の著増が生ずる⁷⁾。発がんプロモーター TPA ($12\text{-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate}$) もヒト黒色しゅ細胞の分化誘導因子として作用し, メラニン合

成と共にガングリオシド GM₃ 合成を増大させる⁸⁾。脂溶性ビタミンA誘導体レチノイドも強力な分化誘導剤で、しゅよう細胞の増殖動態と接触阻害を正常に回復させ、同時にガングリオシド合成に関する Glycolipid contact response を回復させる⁹⁾。

4 悪性転換（がん化）と糖脂質

発がんウイルスや化学発がん剤で悪性転換した多種類の細胞とヒトがんなど自然発生のがん細胞に共通して観察される糖脂質変化がある。この変化は悪性転換に関連した最も共通性の高い形質発現の一つと考えられ、基本的には2種類に分類される：(1) より複雑な糖鎖をもつ糖脂質合成が阻止され、その前駆体が蓄積する変化、(2) 悪性転換前にはなかった新しい糖脂質合成が誘導される変化、である。又、「発がん原因物質と標的細胞の種類の組み合わせ」に依存する様々な糖脂質組成・代謝変化が観察される。第(2)の変化で生ずる新しい糖脂質は一括して「がん関連抗原」と総称され、フォルスマン抗原陰性組織由来のしゅように発現するフォルスマン糖脂質合成、O又はB血液型のヒトのしゅようにおけるA型抗原出現、p血液型のヒトのしゅようにおけるP₁抗原出現、ヒトがんにおけるフコシルセラミド出現、ラット肝がんにおける種々のフコリピドの出現等が知られている⁶⁾。N-2-fluorenylacetylacetamide による肝がん発生初期過程でジシアロガングリオシド合成経路 (GM₃→GD₃→GD_{1b}→GT) が高度に障害されモノシアロガングリオシド合成経路 (GM₃→GM₁→GD_{1a}) が活性化¹⁰⁾される結果、GD₃、GD_{1b}、GT が激減し、GM₁、GD_{1a} が蓄積する変化は第(1)の糖脂質変化に属する⁶⁾。

造しゅよう性の高いL細胞亜株では造しゅよう性の低い親株に比べ長糖鎖中性糖脂質、ガングリオシド GM₃ が減少/欠損し、これらの糖脂質レベルが悪性度を反映すると言われる⁶⁾。悪性度の高い自由細胞型ラット腹水肝がんでは悪性度の低い島形成型に比べ、グロボシド、ガングリオシド GM₃ 及びこれらの合成酵素が欠損している¹¹⁾。Kirsten 肉しゅウイルスで悪性転換したマウス 3T3 細胞の悪性度（転移性）はガングリオ系中性糖脂質アミノ CTH の含有量と膜表面に「露出されているか隠べい(蔽)されているか」に密接に関連している¹²⁾。

5 外来性糖脂質及び抗糖脂質抗体の生理活性

培養系に添加された糖脂質は de novo 合成された分子のように細胞膜に局在、機能を発揮する。例えば Le^{a-} 赤血球を Le^a 糖脂質とインキュベートすると、Le^{a+} 赤血球に変換する。糖タンパク抗原物質はこのよう表面抗原の変換をもたらすことはできない⁶⁾。このような外来性に糖脂質を細胞に与える方法は細胞の増殖・分化に関連したその生理的、病理的機能を探る上で重

要であり、完全無血清培養法を適用すると、この機能は、より顕著にしかも各分子に特異的な活性として認められる。外来性ガングリオシド分子の多くはセラミド基を表面膜脂質二重層に埋め込んだ安定した分子配向をとると考えられるが、de novo 合成された分子に比べシアリダーゼで水解されやすく¹³⁾、トリプシン処理で除去されることもある⁶⁾。ハムスター NIL 細胞をグロボシドとインキュベートすると細胞膜中のこの糖脂質レベルが2倍以上になり、その結果細胞の基質接着性は増大し、悪性転換細胞 NIL_{py} ではその形態が正常細胞に類似するようになり、細胞周期上 G₁ 期が2倍に延長する⁶⁾。ガングリオシド GM₁、GD_{1b}、GT_{1b} 等を 3T3 細胞及び悪性転換変異株 3T3_{SV40} の培養系に加えると両細胞の増殖速度と飽和濃度が共に抑制される¹³⁾。又、NIL 細胞の無血清培養系で線維芽細胞増殖因子リセプターの機能を制御するガングリオシド分子は GM₁ ではなく GM₃ であること¹⁴⁾が解明され、特定の生理活性を有する糖脂質分子種の同定も可能となった。この研究方法是最近の「ガングリオシドによるヒト白血病細胞分化誘導」発見^{15)・16)}の基本ともなり、またフィブロネクチン等グリコカリックス層の物質にも適用されて増殖、運動、形態等がこれらによっても修飾されることが明らかになった⁶⁾。

糖脂質機能を外来性に探るもう一つの方法は特異抗体を培養系に加えて、細胞機能・形態変化を追うることである⁶⁾。NIL 細胞と BALB/C 線維芽細胞の増殖期に抗 GM₃ 抗体を添加すると増殖が著明に抑制され、GM₃ 合成が1.5倍に増大する。細胞濃度の飽和状態あるいは悪性転換細胞に対して抗 GM₃ 抗体の作用は認められないので、この作用は接触阻害誘導に類似した反応である⁶⁾。抗 GM₃、抗 GM₁ 抗体によって Astrocytoma 細胞の増殖抑制、アデニルシクラーゼ活性上昇、グアニルシクラーゼ活性低下が観察される⁶⁾。BALB/C 線維芽細胞を抗 GM₁ 抗体で処理すると発がんウイルスによる悪性転換が阻止され、ラットじん臓 NRK 細胞をあらかじめ抗 GM₃ 抗体と反応させておくと、トリ肉しゅ(腫)ウイルス LA 23、LA 25 によるがん化が完全に阻止される⁶⁾。

6 血球分化と糖脂質

血球の糖脂質研究は既に25年以上の歴史をもち、特にヒト赤血球に関しては数十種に及ぶ分子種が分離・同定されている。白血球についても血球分離装置での大量細胞採取法の採用で急速な研究進展が見られ、既に20種以上の分子構造が明らかにされた。糖脂質パターンは一般に細胞の種類、組織・臓器別、動物種あるいは亜種、株ごとに特徴があり、発生・分化の段階でも異なる「Fingerprint」である。ヒト血球についても、赤血球、

図-4(a) 赤血球系の糖脂質

図-4(c) リンパ球系の糖脂質；()内, []内の構造は未証明

性により異なった細胞系統を相互識別して、ヒト白血病鑑別診断等へ応用されている¹⁷⁾。

しかし、正常血球分化過程での糖脂質パターンについては赤血球分化段階の極く一部での変化(i-i 抗原変換など)を別にすればほとんど不明である。造血幹細胞及び様々の分化段階の前駆細胞を同定し、化学的分析に耐え得る充分量の均一細胞集団を収集することが技術的に不可能だからである。すなわち、現在の造血幹細胞測定方法は骨髓やひ(脾)臓から単核細胞を分離し、これを(1)放射線処理で造血能を完全に破壊した動物に注入、ひ臓に血液細胞コロニーを形成させる方法(CFU-S 測定法)¹⁾、あるいは(2)様々の造血因子存在下に半固形培地で培養、種々の血球の組み合わせから成るコロニーを形成させる方法(CFU-C, -E, -GEMM, BFU-E等の測定法)¹⁾によって、そのコロニー構成細胞を分析して、増殖・分化能の異なる様々な前駆細胞の存在を推定する方法である。構成細胞の多様性から Totipotent, Multipotent, Oligo-/Uni-potent など、幹細胞の「Commitment」の程度を推測するのが現研究段階である¹⁸⁾。細胞性がん原遺伝子 Protooncogene の研究から近い将来、造血幹細胞及び各分化段階の前駆細胞、おのおのを固有の分化段階で増殖させる遺伝子操作が可能になれば、糖脂質を始めとする種々の微量膜構成成分の正常分化過程での「特徴的分子構築と機能」が明らかにになるものと期待される。

6・1 血液型物質としての糖脂質

ABH(O), Lewis 血液型物質の構造研究は 1950~1960 年代初めにかけて Morgan, Watkins, Kabat らにより盛んに行われ、型抗原特異性は糖鎖の構成単糖と結合様式に依存すること、特異的結合を形成する糖転移酵素が第一次遺伝的支配を受けていること、等が判明した。しかし当時の研究は主に分泌型の糖タンパクやオリゴサッカリドについてなされたもので、血液型抗原と称しながら赤血球(膜)そのものに関する研究成果はほとんど見当たらない。その後、研究の流れはヒト赤血球膜上の型抗原物質に向けられ、分離・精製後の収率は極めて低いが、基本的には水不溶性の膜内物質であると考えられるようになった。ここに抗原決定基の「キャリアー」としてスフィンゴ糖脂質が登場することになった。糖鎖分解酵素処理、メチル化法、質量分析法等を利用した糖脂質の構造研究により ABH, Lewis, Ii 式などの血液型抗原の分子構造が明確になったばかりでなく、構造上の多様性や免疫原性等も明らかになった。更に細胞表面標識法、膜内構成因子融解法、膜糖タンパクのレクチンによるアフィニティ・クロマト分析法、エクソ及びエンドグリコシダーゼの発見と応用等、諸々の生体膜化学分析法の目覚ましい発達により次々と様々な膜構成因子が同定された。最近に至って ABH, Lewis, P, Ii 式血液型抗原決定基は糖脂質として赤血球膜上に表現される(表-1)のみでなく、膜糖タンパク Band 3, Band 4.5

表-1 赤血球における血液型・物質（抗原）としての糖脂質

ヒト赤血球

(I) ABO式血液型

<H(O)型糖脂質>

<A型糖脂質>

<B型糖脂質>

等にも存在する糖脂質・糖タンパク共通抗原であることが明白となった⁶⁾。異好性抗原の Forssman 抗原, Hanganuzieu-Deicher 抗原なども糖脂質であることが実証されているが、同時に糖タンパク糖鎖にもこれらの抗原決定群が見いだされることが多い。特に非還元末端糖鎖が特異性の高い抗原性を示すことは末端糖鎖部分による特異的血球凝集反応阻止や最近の単クローン抗体作製実験などの結果から明白である。また糖脂質糖鎖は糖タンパク糖鎖に比べ抗原性が高く、一般にその糖鎖に対する抗体ができやすい。これは分子中に占める糖鎖の割合（三糖鎖構造で約 50%）が高いこと、キャリア部

分に対する抗体産生の難易（キャリアタンパク部分に比べセラミド部分に対しては抗体ができにくいこと）等と関連していると考えられる。過免疫することにより既に自己が有する糖鎖構造に対する抗体が産生される現象も、この事実と関連した糖脂質抗原の特徴の一つである。

6・2 赤血球分化と糖脂質パターン

は乳類の成熟赤血球は脱核し内膜系も消失しているので、低張液処理、遠心操作でほぼ均一な細胞膜の大量調製が可能である。従って、膜系微量構成成分である糖脂質についても構造解析を中心に詳細な研究がなされ、グロボ系、ネオラクト系糖脂質の存在が明らかにされた⁶⁾。

正常赤血球全分化過程における糖脂質パターンを化学的レベルで解析することは現研究段階では不可能であるが、胎児、新生児、成人の各赤血球の表面抗原分析を行って、分化の比較的終末に近い過程の糖脂質・糖タンパク糖鎖の特徴的变化が明らかにされた：(1) 抗グロボシド抗体による凝集性は胎児赤血球が新生児/成人赤血球に比べ遙かに高い。これはグロボシド糖鎖の構造変化に由来するのではなく、膜表面に露出した糖鎖が分化過程で隠ぺいされる「masking」現象に基づく⁶⁾；(2) $i \rightarrow I$ 抗原変換はヘモグロビンFからAへの合成切り換え時期に一致する¹⁹⁾；(3) 胎児赤血球では抗 i 抗体による凝集性が高く、 i 抗原は Lacto-*N*-nor-hexaosylceramide に代表される直鎖 *N*-アセチルラクトサミン繰返し構造の糖脂質で、抗 I 抗体による凝集性の高い成人赤血球には Lacto-*N*-isooctaosylceramide に代表される分岐鎖構造の糖脂質が I 抗原として存在する²⁰⁾；(4) 膜糖タンパク Band 3, Band 4.5 も I, i 抗原決定基を有する⁶⁾；(5) I, i 抗原は糖鎖分解酵素エンド β ガラクトシダーゼで水解され抗原活性を失うが、直鎖 i 抗原は分岐鎖 I 抗原に比べより水解されやすく、両抗原を相対的に区別できる⁶⁾；(6) i 抗原は出生後、著減し、 I 抗原は出生後1年間に増加して成人赤血球のレベルに達する。 I, i 抗原発現様式が自己免疫性溶血性貧血患者血清中に見いだされる抗 I 及び抗 i 単クローン自然抗体を武器として詳細に解析されてきた経緯は大変興味深い。赤血球分化に関連した分岐糖鎖形成現象は Branching enzyme 誘導によって生ずるが、これは ABH 血液型抗原についても観察される⁶⁾。 H 型抗原の分岐糖鎖構造は成人赤血球に比べ胎児赤血球でより少なく、 A, B 型抗原についても2分岐鎖構造が胎児赤血球には欠けている⁶⁾。

6・3 白血球系細胞の糖脂質パターン

近年、各血球成分の分離採取技術の進歩、成分輸血という臨床上の必要性から発達した連続遠心白血球分離装置の出現によって、かなり均一な大量のかりゅう球、リンパ球、血小板等の分離採取が可能となり、それらの糖脂質、糖タンパクについて次々と新しい化学構造が決定されるようになった。

Macher と Klock は正常人末しょう(梢)血より化学構造分析に耐え得る充分量 ($10^{10} \sim 10^{11}$ 個) の、95%以上の純度をもつ好中性かりゅう球画分を分離し²¹⁾、総脂質抽出、中性と酸性脂質の分離、シリカゲル・カラムでの精製後、高性能薄層²¹⁾又は高速液体²²⁾クロマトで糖脂質画分を単離した。これを質量分析、メチル化分析、エンド/エクソ・グリコシダーゼ水解、等を組み合わせて構造解析し、好中球糖脂質の特徴を明らかにした：(1) 主要中性糖脂質は CDH とパラグロボシド、その他 CMH (セラミド・モノヘキシシド)、ガラ系 CDH (ジガラクトシルセラミド) が存在し、アミノ CTH

が10%程度存在する²¹⁾。更に糖残基数10程度までの直鎖型 *N*-アセチルラクトサミン骨格の中性糖脂質を有し、大部分は1,2個のフコースを結合して $Le^x[Gal\beta 1 \rightarrow 4(Fuc\alpha 1 \rightarrow 3)GlcNAc \rightarrow R]$ 構造をとる²²⁾；(2) ガングリオシドは直鎖型 *N*-アセチルラクトサミン骨格の非還元末端にシアル酸が $\alpha 2 \rightarrow 3/2 \rightarrow 6$ 結合した分子構造をとる(ネオラクト系構造)。微量成分としてシアル Le^x 構造の分子種も存在する²²⁾；(3) 各糖脂質は薄層クロマト上2本のバンド対を成し、一方が $C_{16:0}$ 。他方が $C_{24:1}$ の脂肪酸を持ち、前者の分子種が主体を成す。セラミド部分は長鎖塩基として $d_{18:1}$ のスフィンゴシンを持つ。

リンパ球の糖脂質に関してはヒトへんとうせん(扁桃腺)T, B 両リンパ球で4種類の中性糖脂質 CMH, CDH, CTH, グロボシドが証明され²³⁾、更に末しょう血リンパ球でも同定された²⁴⁾。かりゅう球に比べ中性糖脂質含量は、細胞当たり10~15倍、細胞表面積当たり3~4倍多い。両細胞系とも CDH が主成分(全中性糖脂質の65~70%)であるが、第2主成分(約20%)は好中球でパラグロボシド、リンパ球では CMH である。従ってリンパ球では3糖鎖、4糖鎖分子種は10%以下である。分化過程でかりゅう球系統ではネオラクト系とガラ系、リンパ球系統ではグロボ系の中性糖脂質が主成分を構成する。T, B 両リンパ球共に4糖鎖分子としてグロボ系(グロボシド)とネオラクト系(パラグロボシド)両者をおのおの1%, 3%程度含有しているが、Bリンパ球の糖脂質含量はTリンパ球の10~12倍である²⁵⁾。又、T, B おのおのの細胞集団内での中性糖脂質発現の定性的多様性が免疫学的に示されている。セラミド基はすべての中性糖脂質に共通で、長鎖塩基は $d_{18:1}$ の4-スフィンゲニン、脂肪酸は $C_{16:0}$, $C_{24:0}$, $C_{24:1}$ から成る²⁴⁾。ガングリオシド組成²⁶⁾では GM_3 が主成分であるが、微量のネオラクト系又はラクト系糖鎖構造の分子種も存在し、定性的にはかりゅう球に似るが定量的には異なる。

マクロファージの糖脂質については：(1) マクロファージ遊走阻止因子 MIF に対する反応性を高める分子種が存在する；(2) この分子種においてはシアル酸と共にフコース残基が重要である；(3) この分子種そのものが MIF 受容体である；(4) モルモット腹こう(腔)マクロファージから精製されたこの糖脂質がフコガングリオシドであること²⁷⁾等が判明し、更にラット肉芽しゅ(腫)や腹こうマクロファージから精製、構造決定されたフコリピド $Gal\alpha 1 \rightarrow 3(Fuc\alpha 1 \rightarrow 2)Gal\beta 1 \rightarrow 3GalNAc\beta 1 \rightarrow 3Gal\beta 1 \rightarrow 4Glc-Cer$ が MIF 阻害作用を持つ MIF 受容体そのものであると予想された²⁸⁾。結局 MIF はフコース残基を持つガングリオ系糖鎖と反応し、ラクト系糖鎖とは反応しないこと、フコース残基の結合

様式を識別しないこと²⁸⁾、又フコガングリオシドと類似構造の「ガングリオタンパク」がMIF受容体である可能性もあること⁶⁾が明らかになった。

6・4 血小板の糖脂質パターン

ヒト血小板の糖脂質研究は比較的少ない。トリプシン処理血小板の総脂質からリン脂質(65%),中性脂質(25%),スフィンゴ糖脂質(10%)が分離され、中性糖脂質4分子種,CMH(全中性糖脂質の3%),CDH(64%),CTH(17%),グロボシド(16%),酸性糖脂質ガングリオシドGM₃(全糖脂質の15%)が同定されている^{29)・30)}。主要構成脂肪酸はC_{20:0},C_{22:0},C_{24:0},C_{24:1},長鎖塩基は主として4-スフィンゲニン(75~85%),微量成分として4-スフィンガニン(5~8%)が含まれる。一方、遊離セラミドCeramideが血小板に特徴的に存在し³⁰⁾、その含量が予想以上に多量(全脂質の1.3%,全スフィンゴ糖脂質の55%)であることが判明した²⁹⁾。遊離セラミドの脂肪酸組成は中性糖脂質やガングリオシドGM₃のそれとは明らかに異なり、血小板をタンパク分解酵素で処理するとガングリオシドGM₃抽出量は増加するが、遊離セラミド抽出量は不変であること等から遊離セラミドは中性糖脂質やガングリオシドGM₃の単なる分解産物ではなく、血小板を他の血球成分から区別する特徴的なマーカーとなる²⁹⁾。血小板総脂質の0.5%に相当するガングリオシドの90%はガングリオシドGM₃,5%はシアロパラグロボシド又はガングリオシドGM₁,2%はガングリオシドGD₃と構造不明の2分子種に相当する³¹⁾。

7 白血病細胞分化と糖脂質

7・1 白血病幹細胞(L-CFC)と白血病細胞分化

McCullochら³²⁾は急性骨髄性白血病について「白血病幹細胞 Leukemic Colony-Forming Cell (L-CFC)」の概念を提唱し、分裂能力の高いL-CFCから他の大部分の白血病細胞は補給されているとした。従ってL-CFCを根絶することが白血病治療には肝要である。一見均一な白血病細胞集団の中でL-CFCは細胞電気泳動法等で特定の亜集団として識別可能であり、自己複製と共に一部は分裂能を失って分化する。また、分化段階や自己複製能等からL-CFCに多様性が認められ、そのコロニー構成細胞の形態には白血病病型による特徴がある³³⁾。この現象は「L-CFCが病型に関連する細胞系統へ分化しやすい傾向を既に有している」ことを示す。一方、白血病細胞はしばしば「Lineage infidelity」と呼ばれる表現形質異常を呈する³⁴⁾。これは未分化細胞が基本的に有する多様な分化能あるいはしゅよう(腫瘍)細胞における遺伝子発現の調節異常を反映していると考えられる。

7・2 白血病細胞の糖脂質パターン

白血病は病態から慢性と急性に2大別され、前者は成熟かりゅう球へ分化し得る慢性骨髄性白血病CMLと、成熟リンパ球様細胞に富む慢性リンパ球性白血病CLL、後者はリンパ球系初期分化が認められる急性リンパ球性白血病ALL、骨髄・単球系への初期分化が証明できる急性非リンパ性白血病ANLLに分類される。すべての白血病細胞に中性糖脂質CMHとCDHが認められるが、急性白血病細胞のCDH量は正常白血球や慢性白血病細胞に比べ1/2~1/20に著減している。総脂質中の糖脂質含量も急性白血病細胞で0.5~4.9%,正常白血球で8.9~12.6%,CML細胞で11.4~20.4%と、未分化細胞で減少している。ALL細胞の中性糖脂質総量及び比較的長糖鎖のCTH,グロボシド,パラグロボシド含量がANLL細胞に比べ非常に低い。ALL,ANLL両白血病細胞の4糖鎖中性糖脂質はグロボ系,ネオラクト系で、ガングリオ系分子種は見いだされない³⁵⁾。ALL細胞ではグロボ系(グロボシド),ANLL細胞ではネオラクト系(パラグロボシド)が必ず表現されることは正常成熟リンパ球,かりゅう球,おのおのの主要4糖鎖中性糖脂質の表現形に対応しており、細胞系統に特徴的な糖鎖系列がしゅよう細胞でも既にその初期分化過程で表現されるものと考えられる。一般に、急性白血病細胞の中性糖脂質は80~90%がCMH,CDHであるが、急性前骨髄球性白血病APL細胞のみは例外でCTH(40%),グロボシド(19%),パラグロボシド(6%)の含量が目立って高く、4糖鎖分子種の主成分がグロボ系という特徴が見られる。

B細胞性CLL細胞の中性糖脂質は多様性を示すが、グロボ系分子種が主成分で、5~10%がネオラクト系である。一方、CML細胞の中性糖脂質パターンはネオラクト系が主体で、少量のガラ系が含まれ正常かりゅう球のそれに類似する³⁶⁾。従って中性糖脂質パターンは骨髄性myeloidかりんパ性lymphoidかの識別マーカーとなる。細胞起源が問題となっていた慢性のHairy細胞性白血病の構成細胞がグロボ系主体の中性糖脂質パターンを示すこと³⁷⁾からリンパ性起源であると考えられている。

ALL細胞ガングリオシド含量(2.6±0.9 μg 脂質結合型シアル酸/10⁸細胞)はANLL細胞のそれ(4.9±2.6 μg)の約1/2で、正常リンパ球のガングリオシド含量(2.5±0.5 μg)が正常かりゅう球のそれ(3.8±1.5 μg)に比べ有意に低い現象に対応している³⁸⁾。ガングリオシド含量ではANLL細胞と正常かりゅう球との間に有意差はないが、そのパターンに明りょうな差異がある。かりゅう球では長糖鎖ネオラクト系ガングリオシド分子種が主成分であるが、ANLL細胞では短糖鎖ガングリオシドGM₃が主成分となり、長糖鎖ネオラクト系分子種は微量成分となっている^{17)・39)}。ALL細胞と正常リンパ球のガングリオシド・パターンの間には明

りような差異はなく、ガングリオシド GM が両者で主成分である。

CML の成熟かりゅう球のガングリオシド含量は正常成熟かりゅう球に比べ有意に低い³⁹⁾。これはガングリオシド GM₃ 含量の減少によるもので、他のガングリオシド分子種含量に変化はない。また、CML 細胞では分化・成熟度に並行してガングリオシド総量の増加、ネオラクト系長糖鎖分子種の増加が見られる。このガングリオシド組成変化は HL-60 細胞のかりゅう球系分化でも認められる³⁹⁾。CML 細胞からガングリオシド 3 分子種、GM₃、SPG、シアリル・ノルヘキサオシルセラミド SnHC が同定された。SnHC には i 抗原活性が存在する。正常かりゅう球に特異的なシアリルネオラクト・トリアオシルセラミド SnLTC²⁶⁾ も少量ではあるが CML 細胞に見いだされている⁴⁰⁾。

近年著者らや⁴¹⁾ Rosenfelder ら⁴²⁾によって、多数のヒト白血病・リンパしゅ細胞株の糖脂質、特にガングリオシド・パターンが血球分化との関連で詳細に解析され、細胞系統・分化段階に特徴的なパターンが見いだされた。すなわち同一細胞系統内や同一分化段階内の多様性と、異なる細胞系統間及び分化段階間における特異的差異が明らかにされ、ガングリオシド・パターンから細胞系統起源を推定することも可能である。

K 562 と HL-60 両株は 2 細胞系統以上への分化能を有し、分化の分岐機構研究に好都合である。前者は CML 急性転化症例から樹立された骨髓性未分化細胞⁴³⁾であるが、赤血球系分化能が報告されて以来にわかに注目されるようになった。巨核球系分化現象も見いだされ、現在では血液幹細胞の性格を持つと見なされている⁴⁴⁾。成熟赤血球と比較すると、細胞当たり中性糖脂質含量は約 7 倍、ガングリオシド含量は約 140 倍で、糖脂質パターンは全く異なる⁴⁵⁾。赤血球の主要中性糖脂質グロボシドと第 3 成分 CTH の両グロボ系分子種は見いだされず、CMH が主要中性糖脂質、第 2 成分 CDH は赤血球と共通、ネオラクト系のパラグロボシドが微量成分として存在する。ガングリオシド組成ではガングリオ系がネオラクト系より遙かに多く、赤血球のその丁度逆関係で、赤血球にはほとんど見いだされないガングリオシド GD_{1a} が主成分を成す。中性糖脂質 / ガングリオシド相対比が赤血球では 15 : 1、K 562 細胞では 1 : 1 と大きく異なる。糖脂質パターンは K 562 細胞赤血球系分化の有用なマーカーとなり得る⁴⁵⁾。

HL-60 細胞は Collins ら⁴⁶⁾ が APL 細胞から樹立した明りょうな分化能を持つ初めてのヒト白血病細胞株で、ヒト白血病細胞分化研究の飛躍的進展の契機となった⁴⁷⁾。その後この細胞は好中球系分化のみでなく、単球マクロファージ系及び好酸球系へも分化し得る 2 方向性⁴⁸⁾ (図-5) あるいは 3 方向性⁴⁹⁾ 分化能を持つことが

- (A) 無処理対照 HL-60 細胞 (Cytospin smear, ライト・ギムザ染色)
- (B) 1.3% DMSO 処理 6 d 後 : かりゅう球系分化
- (C) 4 nM TPA 処理 3 d 後 : 単球マクロファージ系分化
- (D) 無処理対照 HL-60 細胞 (位相差顕微鏡像)
- (E) 4 nM TPA 処理 24 h 後 : マクロファージ様接着細胞の出現

図-5 HL-60 の細胞の 2 方向性分化^{16), 47)}

明らかとなり、相異なる血球系統への分化方向決定機構研究のための格好の実験モデルである。又これは正常造血幹細胞の分化の振り分けと基本的に同じ現象が白血病細胞でも生じることを示唆する。糖脂質に関しても HL-60 細胞の分化方向に依存した特異的組成変化が認められ、特にガングリオシド・パターンの著変が注目される⁵⁰⁾。しかし正常成熟かりゅう球の主要ガングリオシドの 1 分子種が成熟かりゅう球へ分化した HL-60 細胞で微量成分のままである事実^{39), 50)} は、この細胞の *in vitro* 分化の不全性を意味している^{39), 47), 50)}。

7.3 白血病細胞の分化過程における糖脂質パターンの特徴的变化

HL-60 のかりゅう球系分化では長糖鎖ネオラクト系分子種が増加しガングリオ系分子種が減少する、一方、単球マクロファージ分化では前者の分子種が減少、後者の分子種が増加する^{50), 51)}。特にガングリオシド GM₃ の増大は単球マクロファージ系分化に極めて特徴的で、他の骨髓性細胞株 ML-1、KG-1、K 562 や単芽球性細胞株 U 937 の分化でも共通している (図-6)⁵²⁾。また、生体内でのかりゅう球系分化モデルである CML 慢性期細胞を分化段階で分画すると、分化度に従い「長糖鎖ネオラクト系分子種増大、短糖鎖ガングリオ系分子種 GM₃ 減少」^{39), 52)} が観察される。すなわち造血系細胞の糖脂質パターンは細胞の分化度だけでなく分化方向に

(A) HL-60細胞の2方向性分化で活性化されると推定される複合糖脂質合成経路

(B) 種々の骨髄性白血病細胞株の単球マクロファージ系分化において活性化される糖脂質合成経路

(注) 矢印の太さは活性化の程度を表す。

図-6 分化の方向性に依存して活性化される糖脂質合成経路^{62), 64)}

依存して特徴的に変化することが一般的で、分化段階及び細胞系統に特異性の高い分化マーカーになり得る^{40), 50)}。また特徴的な糖脂質パターンは糖脂質代謝に関与する酵素活性変化を反映する：例えば HL-60 細胞の単球マクロファージ系分化でガングリオシド GM₃ 合成酵素 (CMP-トランスフェラーゼシアル酸: CDH シアリルトランスフェラーゼ) 活性が上昇, GM₃ 水解酵素 (シアリダーゼ) 活性が低下し, かりゅう球分化でシアリダーゼが活性化される現象⁵³⁾ は特徴的なガングリオシド・パターンの分析結果を裏付けている。すなわち, 単球マクロファージ系分化ではガングリオ系ガングリオシド合成経路が活性化され, かりゅう球系分化では長糖鎖ネオラクト系ガングリオシド合成経路が活性化される (図-6)。一般的に, 分化方向決定の際にスフィンゴ糖脂質合成系は特定の分子種合成経路に移移する⁵¹⁾ のである。

8 ガングリオシドの細胞分化誘導能

8.1 ガングリオシド GM₃ による単球・マクロファージ系分化誘導

図-7 外因性ガングリオシド GM による HL-60(A) 及び U937(B) 細胞の単球系分化誘導 (細胞増殖抑制)。

ヒト骨髄性白血病細胞の単球マクロファージ系分化誘導^{50), 52), 54)} で特異的に増加するガングリオシド GM₃ は種々の動物細胞にあまねく存在するシアロ糖脂質分子で, 血球系では単核細胞 (単球, リンパ球等) や赤血球の主要糖脂質成分を形成する。精製したガングリオシド GM₃ を無血清培養系の HL-60 及び U 937 細胞に与えると特異性の高い増殖抑制 (図-7) と明りょうな単球マクロファージ系分化が形態的に認められ^{15), 16), 55)} (図-8 B, F), 同時に単球マクロファージに特異的でありゅう球との鑑別に用いられるフッ化ナトリウム感受性の α-ナフチルブチレートエステラーゼ活性の誘導が明りょうに認められた (図-8 D, H)。更に成熟単球に特異的な表面抗原が誘導され, 食食能も増大する。GM₃ による増殖抑制, 分化誘導は新鮮白血病細胞の一次培養においても共通して認められる⁵⁶⁾。ガングリオ系ガングリオシド GM₁, GM₂, GD_{1a}, GD_{1b}, GT_{1b}, 遊離シアル酸では分化現象は全く起こらず, むしろ無血清培養系では増殖が活性化される^{16), 51)} (図-7)。

8.2 シアロ糖脂質糖鎖構造と白血病細胞分化方向決定

著者らはかりゅう球系分化で特徴的に増加する N-アセチルラクトサミン直鎖構造の長糖鎖ネオラクト系ガングリオシドに着目し, この分子種を外来性に与えることにより, HL-60 細胞がかりゅう球系成熟細胞に分化する現象を最近発見した⁵⁷⁾。使用した CML 慢性期かりゅう球のガングリオシド混合物は 96% がネオラクト系分子種で構成され, 正常好中球に近似したガングリオシド組成を示し³⁹⁾, しかも HL-60 かりゅう系分化で特徴的に増加するガングリオシド分子種がすべて含まれている。このガングリオシド標品によって, HL-60 細胞は著明に増殖抑制され形態的に明りょうな成熟かりゅう

上図

ガングリオシド GM_3 による HL-60 細胞の分化誘導に観察される形態学的 (A, B) 及び細胞化学的 (C, D) 変化。50 μM GM_3 添加, 6 d 培養し (B, D), 無処理対照群 (A, C) と比較した。A, B は (ライト・ギームザ) 染色標本, C, D は非特異性エステラーゼ (α -Naphthyl butyrate esterase) 活性染色標本。

下図

ガングリオシド GM_3 による U 937 細胞の分化誘導に観察される形態学的 (E, F) 及び細胞化学的 (G, H) 変化。50 μM GM_3 添加, 6 d 培養し (F, H), 無処理対照群 (E, G) と比較した。E, F は (ライト・ギームザ) 染色標本, G, H は非特異性エステラーゼ (α -Naphthyl butyrate esterase) 活性染色標本。

図-8 ガングリオシド GM_3 による HL-60 及び U 937 細胞の分化誘導^{15), 16), 51)}。

う球へ分化する⁵⁷⁾。すなわち骨髄性白血病細胞の分化方向決定におけるガングリオシド糖鎖構造特異性の第一義的意義が強く示唆される (図-9)。

8.3 神経細胞及びじん細胞に対するガングリオシドの分化誘導能

ガングリオシドの細胞分化誘導能に関しては永井・辻らの極めて重要な発見がある^{58), 59)}。Tay-Sachs 病の動物モデルにおけるガングリオシドの蓄積した巨大な神経細胞の存在とその細胞から出た極めて多くのかつ巨大な神経突起の発見に端を発したガングリオシドと神経機能の関連は彼らの「超微量のガングリオシド GQ_{1b}

によるヒト神経芽細胞 (株) における神経突起の数と長さの増大」という発見によって新しい展開を見せている。またじん臓上皮細胞由来の細胞株 MDCK のドーム形成がガングリオシド GM_3 や GD_3 によって増大する現象⁶⁰⁾もガングリオシドの分化誘導能の一つの発見と考えられる。

9 分化誘導機構及び分化誘導能を有する糖脂質類縁体の将来性

ガングリオシド GM_3 , 長糖鎖ネオラクト系ガングリオシド, それぞれによって引き起こされる HL-60 細胞のタンパク質リン酸化反応は化学誘導剤での単球マクロファージ系, かりゅう球系のおのの分化で観察されるタンパク質リン酸化パターンに一致する⁵⁷⁾。これは表面膜ガングリオシドの特異的分子種構築変化により引き起こされるシグナル伝達の細胞系統特異性を反映していると考えられる。また特定シアロ糖脂質分子種の分化誘導能は白血病細胞を分化に必須な糖脂質分子種構築の発現不全と考え、その不全状態を外来性に補填すること (糖脂質による細胞膜修飾) により、特定系統の成熟細胞へ分化誘導し得るという新しい病態生理 (図-9) を意味しているとも考えられる。これは新鮮白血病細胞⁵⁶⁾や細胞株 K 562⁶¹⁾を使った実験結果からも支持される。最も注目すべきことは分化進行中に量的に増大するシアロ糖脂質分子種それ自体が分化誘導能を有しているという発見であり、この事実は前述したガングリオシド GQ_{1b} の神経細胞分化誘導能についての辻・永井らの発見^{58), 59)}と共に、いまだその生理活性について不明な点の多い膜分子群「糖脂質」が極めて重要かつ生理的意義の深い活性を担っていることを実証したものと考えられる。

分化誘導機序として一般に、(1) 細胞膜リン脂質代謝変化、特にメチル化抑制によるリン脂質分子構築変化、(2) 細胞内骨格・収縮タンパク質の変化 (リン酸化と脱

RA: レチノイン酸, DMSO: ジメチルスルホキシド, TPA: フォールボールエステル, Lact-Gg: ネオラクト系ガングリオシド, GM_3 : ガングリオシド GM_3 。

図-9 HL-60 の 2 方向性分化現象でのガングリオシド分子種構成の特徴的变化 (A) と外因性ガングリオシドによる分化誘導 (B)⁵⁷⁾

リン酸化), (3) 遺伝子情報発現機序の修飾(核酸合成及びタンパク合成の調節)等が提唱され, また様々な分化調節機序が唱えられている。強力な分化誘導剤 TPA のリセプターは Ca^{2+} で活性化されるタンパクリン酸化酵素 C (C-キナーゼ) で, この活性発現にはリン脂質ホスファチジルセリンとジアシルグリセリンが重要な役割を担い, 細胞形態維持, 接着性等に関与する細胞骨格タンパクが C-キナーゼの基質になっていることが判明し, 白血病細胞分化の際の形態変化が機能変化と共に分子レベル解明されつつある。また, 細胞の生存に基本的な役割を持ついくつかの細胞性がん原遺伝子 Protooncogene の発現抑制が分化誘導機序に密接に関連している事実^{6,2)}が報告されてから数年を経る。しかしその本体解明は今後に残された大きな課題である。

シアロ糖脂質ガングリオシドは生理的物質ながら, 既知の生物学的反応修飾物質 BRM とは全く異なり, 表面膜活性を持ち特異な作用機序が想定される新しい分化誘導物質である。著者らは, 最近, 分化誘導剤レチノイン酸 RA に耐性となった HL-60 変異株 (RA^r-HL-60) ではネオラクト系長糖鎖ガングリオシド分子種が親株に比べ著減していること, 一方, このネオラクト系ガングリオシドを外来性に耐性株に与えると分化が誘導されることを発見した^{6,3)}。この現象は薬剤耐性白血病をガングリオシドで治療し得る可能性を示唆し, シアロ糖脂質及びその有機合成類似体の臨床薬剤としての開発の将来性を約束するものと考えたい。

最近, 小川ら^{6,4)}により完全有機合成されたガングリオシド GM₃ に天然体と同様な分化誘導活性が見いだされた^{6,5)}。現在では, より高級なガングリオシド分子 (例えば SPG) の有機合成も可能となっており, また有機合成された多種類の脂質性シアロ糖化合物を検索したところ, 一種のネオグリコリピド (自然界に存在しない糖脂質), シアロコレステロール, に強力な分化誘導活性が見いだされた^{6,6)}。生体毒性も低いことから有効な抗白血病剤になり得ると期待される。

おわりに

すべての動物細胞に存在する糖脂質は生命の基本的機能を担い, またその欠損が悪性転換のような細胞社会学的異常行動に結びつく糖脂質はなんらかの明確な生理的機能を持っているものと考えられる。糖脂質を介する生体膜現象の多くは膜タンパク系との相互作用の上であり, 真の糖脂質の生理機能解明には, より広い観点からの解析が必要である。糖脂質は直接に表面膜脂質二重層に侵入, 局在することができるので, 糖タンパクに比べ「情報伝達」には, より適しているが, 一方, 外界のリガンドと反応するには糖タンパク糖鎖の方が, より優れているとも考えられる。従って糖タンパクから糖脂質へ

の2段階相互作用のような生理機構が考えやすいようにも思われる。生物・医学的観点からこの一連の研究を更に推し進め, 糖脂質分子群の生理機能の本態を究明し, 医学上の応用性を追究することが期待される。

謝 辞

本総説中の当造血発生講座の研究内容に関しては中心的役割を演じた講座助手 野尻久雄博士を始めとする当教室のメンバー, 並びに本研究を支援して下さいた恩師, 東大医学部教授 永井克孝, 高久史磨両先生に紙面を借りて深謝致します。(昭和63年7月28日受理)

文 献

- 1) M. Ogawa, P.N. Pharr, T. Suda, "Hemopoietic Stem Cell Physiology", Alan R. Liss, New York (1985), p. 11
- 2) J.J. Tretin, "Regulation of Hematopoiesis", Appleton Century Crofts, New York (1970), p.161
- 3) N.A. Nicola, G.R. Johnson, *Blood*, **60**, 1019 (1982)
- 4) S. Hakomori, "Sphingolipid Biochemistry", Plenum Press, New York (1983), p. 1
- 5) G. Rosenfelder, R.V.W. Van Eijk, P.F. Muhlradt, *Eur. J. Biochem.*, **97**, 229 (1979)
- 6) S. Hakomori, "Sphingolipid Biochemistry", Plenum Press, New York (1983), p. 327
- 7) J.L. Simmons, P.H. Fishman, E. Freese, R.O. Brady, *J. Cell Biol.*, **66**, 414 (1975)
- 8) E. Huberman, C. Heckman, R. Langenbach, *Cancer Res.*, **39**, 2618 (1979)
- 9) L.M. Patt, K. Itaya, S. Hakomori, *Nature*, **273**, 379 (1978)
- 10) W.D. Merritt, D.J. Morre, T.W. Keenan, *J. Natl. Cancer Inst.*, **60**, 1329 (1978)
- 11) T. Taki, Y. Hirabayashi, Y. Ishiwata, M. Matsumoto, K. Kojima, *Biochim. Biophys. Acta*, **572**, 113(1979)
- 12) G. Yogeeswaran, B.S. Stein, *J. Natl. Cancer Inst.*, **65**, 967 (1980)
- 13) T.W. Keenan, E. Schmid, W.W. Franke, H. Wiegandt, *Exp. Cell Res.*, **92**, 259 (1975)
- 14) E.G. Bremer, S. Hakomori, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **106**, 711 (1982)
- 15) M. Saito, Y. Terui, H. Nojiri, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **132**, 223 (1985)
- 16) H. Nojiri, F. Takaku, Y. Terui, Y. Miura, M. Saito, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 782 (1986)
- 17) Y. Terui, H. Nojiri, M. Ohta, Y. Miura, M. Saito, *Cancer Res.*, (1988) (投稿中) "A clinical application of ganglioside patterns of leukemic cells in differential diagnosis of human acute myelogenous and lymphoid leukemias, and of myeloid and lymphoid blastic crises of human chronic myelogenous leukemia"
- 18) 斎藤政樹, 代謝, **23**, 81 (1986)
- 19) A. Maniatis, T. Papayannopoulou, J.F. Bertles, *Blood*, **54**, 159 (1979)
- 20) K. Watanabe, S. Hakomori, R.A. Childs, T. Feizi, *J. Biol. Chem.*, **254**, 3221 (1979)

- 21) B.A. Macher, J.C. Klock, *J. Biol. Chem.*, **255**, 2092 (1980)
- 22) M.N. Fukuda, A. Dell, J.E. Oates, P. Wu, J.C. Klock, M. Fukuda, *J. Biol. Chem.*, **260**, 1067 (1985)
- 23) K.E. Stein, D.M. Marcus, *Biochemistry*, **16**, 5285 (1977)
- 24) W.M.F. Lee, J.C. Klock, B.A. Macher, *Biochemistry*, **20**, 3810 (1981)
- 25) G.A. Schwarting, *Biochem. J.*, **189**, 407 (1980)
- 26) B.A. Macher, J.C. Klock, M.N. Fukuda, M. Fukuda, *J. Biol. Chem.*, **256**, 1968 (1981)
- 27) D.Y. Liu, K.D. Petschek, H.G. Remold, J.R. David, *J. Biol. Chem.*, **257**, 159 (1982)
- 28) T. Miura, S. Hanada, T. Yamakawa, *J. Biochem.*, **86**, 773 (1979)
- 29) R.V.P. Tao, C.C. Sweeley, G.A. Jamieson, *J. Lipid Res.*, **14**, 16 (1973)
- 30) W. Krivit, S. Hammarstrom, *J. Lipid Res.*, **13**, 525 (1972)
- 31) A.J. Marcus, H.L. Ullman, L.B. Safier, *J. Clin. Invest.*, **51**, 2602 (1972)
- 32) E.A. McCulloch, A.F. Howatson, R.N. Buick, M.D. Mindan, C.A. Izaguirre, *Blood Cells*, **5**, 261 (1979)
- 33) K. Ozawa, Y. Miura, T. Suda, K. Motoyoshi, F. Takaku, *Cancer Res.*, **43**, 2334 (1983)
- 34) E.A. McCulloch, *Blood*, **62**, 1 (1983)
- 35) W.M.F. Lee, M.A. Westrick, J.C. Klock, B.A. Macher, *Biochim. Biophys. Acta*, **711**, 166 (1982)
- 36) J.C. Klock, J.L. D'Angona, B.A. Macher, *J. Lipid Res.*, **22**, 1079 (1981)
- 37) W.M.F. Lee, J.C. Klock, B.A. Macher, *Biochemistry*, **20**, 6505 (1981)
- 38) A. Tsuboyama, F. Takaku, S. Sakamoto, Y. Kano, T. Ariga, T. Miyatake, *Br. J. Cancer*, **42**, 908 (1980)
- 39) H. Nojiri, F. Takaku, M. Ohta, Y. Miura, M. Saito, *Cancer Res.*, **45**, 6100 (1985)
- 40) M.A. Westrick, W.M.F. Lee, B.A. Macher, *Cancer Res.*, **43**, 5890 (1983)
- 41) M. Saito, H. Nojiri, F. Takaku, J. Minowada, "New Vistas in Glycolipid Research", Plenum Press, New York (1982), p. 369
- 42) G. Rosenfelder, A. Ziegler, P. Wernet, D.G. Braun, *J. Natl. Cancer Inst.*, **68**, 203 (1982)
- 43) B.B. Luzzio, C.B. Luzzio, *Leukemia Res.*, **3**, 363 (1979)
- 44) B.B. Luzzio, C.B. Luzzio, E.G. Bamberger, A.S. Feliu, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **166**, 546 (1981)
- 45) A. Suzuki, R.A. Karol, S.K. Kundu, D.M. Marcus, *Int. J. Cancer*, **28**, 271 (1981)
- 46) S.J. Collins, R.C. Gallo, R.E. Gallagher, *Nature*, **270**, 347 (1977)
- 47) 斎藤政樹, "癌細胞の分化誘導と制癌", ソフトサイエンス社, 東京 (1985) p. 123
- 48) J.A. Fontana, D.A. Colbert, A.B. Deisseroth, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **78**, 3863 (1981)
- 49) S.A. Fischkoff, A. Pollak, G.J. Gleich, J.R. Testa, S. Misawa, T.J. Reber, *J. Exp. Med.*, **160**, 179 (1984)
- 50) H. Nojiri, F. Takaku, T. Tetsuka, K. Motoyoshi, Y. Miura, M. Saito, *Blood*, **64**, 534 (1984)
- 51) M. Saito, H. Nojiri, Y. Miura, "Experimental Hematology Today-1985", Springer-Verlag, New York (1986) p. 64
- 52) H. Nojiri, F. Takaku, Y. Miura, M. Saito, *J. Natl. Cancer Inst.*, (1988) (投稿中) "Common and consistent changes of sialoglycosphingolipid patterns during macrophage-like cell differentiation of various human myeloid leukemia cell lines induced with tumor promoters, 12-O-tetradecanoyl phorbol 13-acetate (TPA) and teleocidin B"
- 53) H. Nojiri, F. Takaku, T. Tetsuka, M. Saito, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **104**, 1239 (1982)
- 54) T. Momoi, J. Yokota, *J. Natl. Cancer Inst.*, **70**, 229 (1983)
- 55) H. Senoo, T. Momoi, *Biosci. Rep.*, **5**, 517 (1985)
- 56) M. Ohta, H. Nojiri, Y. Miura, M. Saito, *Cancer Res.*, (1988) (投稿中) "Differentiation of leukemic cells in primary cultures from human acute myelocytic leukemia induced with ganglioside GM₃"
- 57) H. Nojiri, S. Kitagawa, M. Nakamura, K. Kirito, Y. Enomoto, M. Saito, *J. Biol. Chem.*, **263**, 7443 (1988)
- 58) S. Tsuji, M. Arita, Y. Nagai, *J. Biochem.*, **94**, 303 (1983)
- 59) S. Tsuji, J. Nakajima, T. Sasaki, Y. Nagai, *J. Biochem.*, **97**, 969 (1985)
- 60) N. Rodrig, T. Osanai, M. Iwamori, Y. Nagai, *FEBS Lett.*, **221**, 315 (1987)
- 61) K. Kirito, H. Nojiri, M. Saito, *J. Natl. Cancer Inst.*, (1988) (投稿中) "Multi-lineage differentiation of human myelogenous leukemia cell line K 562 cells induced with ganglioside GM₃"
- 62) J.M. Bishop, *Ann. Rev. Biochem.*, **52**, 301 (1983)
- 63) S. Kitagawa, H. Nojiri, M. Nakamura, R.E. Gallagher, M. Saito, *J. Biol. Chem.*, (1988) (投稿中) "Human promyelocytic leukemia cell line HL-60 cells resistant to differentiation-induction by retinoic acid: Hyposialylation of glycosphingolipids and granulocytic differentiation by neolacto-series gangliosides"
- 64) M. Sugimoto, T. Ogawa, *Glycoconjugate J.*, **2**, 5 (1985)
- 65) M. Saito, H. Nojiri, Y. Nagai, T. Ogawa, *Japan. J. Cancer Res.*, (1988) (投稿中) "Differentiation of human promyelocytic leukemia cell line HL-60 cells along the monocyte-macrophage lineage when induced with a synthetic glycosphingolipid structurally corresponded to natural ganglioside GM₃"
- 66) M. Saito, H. Nojiri, H. Ogino, M. Akashi, M. Ito, H. Ogura, Y. Nagai, S. Kitagawa, *J. Biol. Chem.*, (1988) (投稿中) "Granulocytic differentiation of human promyelocytic leukemia cell line HL-60 cells induced by a neoglycolipid, α -sialocholesterol, but not by a stereoisomer, β -sialocholesterol"