総説

糖脂質と生体膜機能

安藤 進

東京都老人総合研究所

(〒173 東京都板橋区栄町 35-2)

Glycolipids and Their Functions in Biomembranes

Susumu ANDO

Tokyo Metropolitan Institute of Gerontology

(35-2, Sakae-cho, Itabashi-ku, Tokyo, 〒173)

Glycolipids are localized on the outer surface of cell membranes, providing recognition sites for various ligands. Glycolipid contents vary according to cell types, and different sugar chain spectra are developed among different cell types. The specific sugar chains are one of phenotypes of differentiated cells, and at the same time they should play some physiological roles. In the first section of this article, possible roles of glycolipids are discussed in relation to membrane functions, such as membrane surface functions, roles in ontogeny and organogenesis, receptor functions, cell growth regulation, and regulation of membrane-bound enzymes. Description about gangliosides is placed in the second section in special relation to neural functions.

Since gangliosides are specifically distributed among each membrane and are supposed to play different roles, myelin and synaptic plasma membrane which are two representative membrane systems in the central nervous system are dealt for discussion. Finally, a new trend in the ganglioside researches is briefly mentioned, suggesting possible participation of gangliosides in neuronal membrane plasticity.

はじめに

糖脂質は、脂溶性部分に糖の結合した複合脂質のグループに属するものである。脂溶性部分の種類によって、グリセロ糖脂質 (glycoglycerolipid) とスフィンゴ糖脂質 (glycosphingolipid) に大きく分類される。グリセロ糖脂質はもっぱら植物や細菌類に見いだされる。ところが、セミノリピド (sulfated galactosyl acylalkylglycerol) がブタ精巢の主要糖脂質であることが明らかにされるに及び、動物細胞においてもグリセロ糖脂質に何らかの機能があるものと考えられるようになってきた。一方、スフィンゴ糖脂質は動物界において多様に発展をしてきたものである。軟体動物や昆虫においては、構成糖としてグルコース、ガラクトース、マンノース、キシロース、フコース、*N*-アセチルグルコサミン、*N*-アセチルガラクトサミン、グルクロン酸、その他 *O*-メチル糖などが見いだされる。軟骨魚類以上になると、キシロース、マンノースがみられなくなり、代わりにシアル酸 (ノイラミン酸のアシル誘導体) が現れてくる。本

特集「脂質の生命科学」ではヒト及び動物が対象となるので、動物界におけるスフィンゴ糖脂質に絞って話を進めたい。

糖脂質のもつ生物活性はその糖鎖部分にあるとみなされるため、糖脂質は糖鎖構造に基づいて分類される。その糖鎖構造の多様性は驚くべきものであり、それらの基本糖鎖は表-1にまとめられるようなものであるが、代表的な中性及び酸性スフィンゴ糖脂質としては表-2, 3に示されるように広範な種類のものが見いだされている。表-3のシアル酸を含む糖脂質 (ガングリオシド) については、生成系路を考慮した系統図として図-1に示す。現在まで知られている糖脂質の生物活性をまとめてみるとおよそ表-4のようなものとなる。それらの多くは生体膜機能に深くかかわっており、一方生体膜は細胞の代謝恒常性を維持するための情報受容機能と物質輸送の役割を担っている重要な構造物であるので、本小文では生体膜機能への糖脂質の関与について若干の考察をしてみたい。

表-1 スフィンゴ糖脂質の基本糖鎖構造による分類

グループ名	構 造	略号	備 考
Gala	Gal α 1-4 Gal	Ga	
Globo	GalNAc β 1-3 Gal α 1-4 Gal β 1-4 Glc	Gb	
Isoglobo	GalNAc β 1-3 Gal α 1-3 Gal β 1-4 Glc	iGb	
Lacto	(Gal β 1-3 GlcNAc β 1-3) _n Gal β 1-4 Glc	Lc	ラクト系 1 型糖鎖
Neolacto	(Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3) _n Gal β 1-4 Glc	nLc	ラクト系 2 型糖鎖
Ganglio	Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 Gal β 1-4 Glc	Gg	
Muco	(Gal β 1-4) _n Glc	Mc	
Arthro	GalNAc β 1-4 GlcNAc β 1-3 Man β 1-4 Glc	Ar	
Mollu	Fuc α 1-4 GlcNAc β 1-2 Man α 1-3 Man β 1-4 Glc	MI	

表-2 a 代表的な中性スフィンゴ糖脂質

構 造	名 称	略 号	通称名及び抗原性
Gala series			
Gal β 1-1 Cer	Galactosylceramide	GalCer	セレブロシド
Gal α 1-4 Gal β 1-1 Cer	Galabiosylceramide	Ga 2 Cer	
Lacto, neolacto series			
Glc β 1-1 Cer	Glucosylceramide	GlcCer	
Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	Lactosylceramide	LacCer	サイトリピンH
GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	Lactotriaosylceramide	Lc 3 Cer	アミノ CTH
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	Neolactotetraosylceramide	nLc 4 Cer	パラグロボシド
Gal β 1-3 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	Lactotetraosylceramide	Lc 4 Cer	
Gal α 1-3 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	α -Galactosylparagloboside	IV ³ α Gal-nLc 4 Cer	
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	Neolactoheptaosylceramide Lactonorhexaosylceramide	nLc 6 Cer	i 抗原
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-6 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer			I 抗原
Globo, isoglobo series			
Gal α 1-4 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	Globotriaosylceramide	Gb 3 Cer	P ^k 抗原
Gal α 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	Globoisotriaosylceramide	i Gb 3 Cer	
GalNAc β 1-3 Gal α 1-4 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	Globotetraosylceramide	Gb 4 Cer	グロボシド I, サイトリピン K, P 抗原
GalNAc β 1-3 Gal α 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	Globoisotetraosylceramide	iGb 4 Cer	サイトリピン R
Gal β 1-3 GalNAc β 1-3 Gal α 1-4 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer		IV ³ β Gal-Gb 4 Cer	SSEA-3 抗原
GalNAc α 1-3 GalNAc β 1-3 Gal α 1-4 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	α -N-acetylgalactosaminyl Gb 4 Cer	IV ³ α GalNAc-Gb 4 Cer	ホルスマン糖脂質
GalNAc β 1-3 GalNAc β 1-3 Gal α 1-4 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	β -N-acetylgalactosaminyl Gb 4 Cer	IV ³ β GalNAc-Gb 4 Cer	パラホルスマン糖脂質
Ganglio series			
GalNAc β 1-4 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	Gangliotriaosylceramide,	Gg 3 Cer	Tay-Sachs グロボシド, Asialo GM2
Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	Gangliotetraosylceramide	Gg 4 Cer	Asialo GM1

略号: Cer,セラミド; Gal,ガラクトース; Glc,グルコース; Man,マンノース; Fuc,フコース; Xyl,キシロース; GalNAc, N-アセチルガラクトサミン; GlcNAc, N-アセチルグルコサミン; GlcU,グルクロン酸; Me,メチル基; HSO₃, 硫酸基; AEP, アミノエチルホスホネート

表-2 b フコース含有中性スフィンゴ糖脂質

構 造	略 号	抗原性
Lacto series		
GalNAc α 1-3 Gal β 1-3 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer Fuc / α 1,2	IV ³ α GalNAc, IV ² α Fuc-Lc 4 Cer	A 抗原
Gal α 1-3 Gal β 1-3 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer Fuc / α 1,2	IV ³ α Gal, IV ² α Fuc-Lc 4 Cer	B 抗原
Fuc α 1-2 Gal β 1-3 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	IV ² α Fuc-Lc 4 Cer	H 抗原
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-3 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Fuc / α 1,3 -Glc β 1-1 Cer	V ³ α Fuc-Lc 6 Cer	Le ^a 抗原
Fuc α 1-2 Gal β 1-3 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer Fuc / α 1,4	III ⁴ α Fuc, IV ² α Fuc-Lc 4 Cer	Le ^b 抗原
Neolacto series		
GalNAc α 1-3 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer Fuc / α 1,2	IV ³ α GalNAc, IV ² α Fuc-nLc 4 Cer	A 抗原
Gal α 1-3 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer Fuc / α 1,2	IV ³ α Gal, IV ² α Fuc-nLc 4 Cer	B 抗原
Fuc α 1-2 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	IV ² α Fuc-nLc 4 Cer	H 抗原
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer Fuc / α 1,3	III ³ α Fuc-nLc 4 Cer	Le ^x 抗原
Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 Fuc / α 1,3 -Glc β 1-1 Cer	V ³ α Fuc-nLc 6 Cer	SSEA1 抗 (Y 2 糖脂質)
Fuc α 1-2 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Fuc / α 1,3 -Gal β 1-4 Glc β 1-1 Cer	VI ² α Fuc V ³ α Fuc-nLc 6 Cer	Le ^y

1 生体膜の構成

生体膜はいずれも脂質二重層をその骨格としていることは今や常識となっているが、それは 1925 年 Gorter, Grendel によって提出された基本的な脂質二重層の概念に基づいている。それ以後現在に至るまで、多くの証拠によって微細な構造が明らかにされる一方、種々の批判によって修正されながら、重厚なモデルへと発展してきた。生体膜が脂質のみでつくられた人工膜と異なる点は、種々のタンパク質（酵素）を組み込んで機能する構造体になっていることである。凍結切断 (freeze fracture) 法を用いた生体膜の電子顕微鏡所見から、膜内にタンパク分子とみなされる粒子が分散して認められるに至り Singer, Nicolson (1972)¹⁾ によって fluid-mosaic モデルが提案された。この動的なモデルは生体膜機能をかかなりよく説明するものとされている。近年の知見を集約した Robertson のモデル²⁾ を図-2 に示す。

生体膜の主要な構成員はリン脂質とコレステロールであり、微量成分として表-2, 3 にあるような糖脂質が細胞膜表面に分布している。トリアシルグリセリンやコレステロールエステルは本来膜成分には含まれていない。

リン脂質としては、ホスファチジルコリンとスフィンゴミエリンが主に脂質二重層の外層に分布し、ホスファチジエタノールアミン、ホスファチジルセリン、ホスファチジイノシトールなどが多く内層に位置している。これは脂質二重層の非対称性と言われるものである。表-5 に代表的な生体膜として 3 種類を選び、それらの脂質組成を比較して示す。3 者の間の顕著な違いは糖脂質組成にみられる。セレブロシド (GalCer) はミエリンのマーカーになる程明確な局在を示し、グロボシド (Gb4Cer) はヒト赤血球膜に多く存在する。ガングリオシドについてみると、LM1 は赤血球膜の主成分であるが、脳の膜系にはほとんど見いだされない。脳のミエリンでは GM1 がミエリン塩基性タンパク質と複合体を形成しており、シナプス膜にはポリシアログアングリオシドが多く存在して、神経伝達機能への関与が想像されている。

2 生体膜機能と糖脂質

糖脂質は細胞膜外層に分布して、それぞれの細胞の顔をつくらしている。すなわち、細胞間認識や細胞接着、あるいはしゅよう（腫瘍）抗原として主役を演じる。糖脂質の糖鎖は細胞外に突き出しているため、外来物質に対

表-3 酸性スフィンゴ糖脂質

酸性基による分類	代表的糖脂質の構造	分 布	通称名, 略号
硫脂質	$\text{HSO}_3-3 \text{ Gal } \beta 1-1 \text{ Cer}$ $\text{HSO}_3-3 \text{ Gal } \beta 1-4 \text{ Glc } \beta 1-1 \text{ Cer}$ $\text{GalNAc } \beta 1-4 \text{ Gal } \beta 1-4 \text{ Glc } \beta 1-1 \text{ Cer}$ $\text{HSO}_3-3 \text{ GalNAc } \beta 1-4 \text{ Gal } \beta 1-4 \text{ Glc } \beta 1-1 \text{ Cer}$		スルファチド
シアル酸を含む糖脂質 (ガングリオシド)	図-1 を参照		
グルクロン酸を含む糖脂質	$\text{GlcU}-\text{Cer}$ $\text{HSO}_3-3 \text{ GlcU } \beta 1-[3 \text{ Gal } \beta 1-4 \text{ GlcNAc } \beta 1-]_{1 \text{ or } 2} 3 \text{ Gal } \beta 1-4 \text{ Glc } \beta 1-1 \text{ Cer}$ $\text{GlcU4Me } \beta 1-4 \text{ Fuc } \alpha 1-4 (\text{GalNAc } 3\text{Me } \alpha 1-3) \text{ GlcNAc } \beta 1-2 \text{ Man } \alpha 1-3 \text{ Man } \beta 1-4 \text{ Glc } \beta 1-1 \text{ Cer}$ $\text{GlcNAc } \alpha 1-4 \text{ GlcU } \alpha 1-6 (\text{Man } \alpha 1-3) \text{ Inositol-1-O-P}-\text{Cer}$	細菌 <i>Flavobacterium bevorans</i> ほ乳類末しょう(梢)神経 イケチ ヨウガイ精子 植物種子, タバコ葉	SGPG*1 or 2 Lipid IV** Phytoglycolipid
ホスホン酸を含む糖脂質 (Sphingophosphoglycolipid)	$\text{Gal } 6 \text{ AEP } \beta 1-1 \text{ Cer}$ $\text{Gal3Me } \beta 1-3 \text{ GalNAc } \alpha 1-3 \text{ Gal } \beta 1-4 \text{ Glc } \beta 1-1 \text{ Cer}$ $\text{Gal3Me } \beta 1-3 \text{ GalNAc } \alpha 1-3 (\text{Gal } 6 \text{ AEP } \alpha 1-2) \text{ Gal } 6 \text{ AEP } \beta 1-4 \text{ Glc } \beta 1-1 \text{ Cer}$	サザエ アメフラシ アメフラシ	SGL-I*** SGL-II***

略号: AEP, aminoethylphosphonate. 他の略号は表-2を参照. * Sulfated glucuronic acid containing glycolipid (Ariga ら, 1987). ** Hori ら (1983) による. *** Satake ら (1987) による.

表-4 糖脂質の生物学的機能

1. 脂質二重層の流動性の調節 2. 細胞表面マーカーと抗原 血液型活性抗原 リンパ球表面抗原 しゅよう (腫瘍) 抗原 3. 細胞間認識 細胞接触による分裂制御 神経筋接合時の認識 4. 受容体活性 ホルモンに対する受容体 細菌毒素に対する受容体 細菌, ウィルスに対する受容体	5. 細胞分化マーカー 段階特異的はい (胚) 抗原 血液細胞分化マーカー 6. 細胞増殖と分化制御 成長因子調節 神経細胞分化促進 7. 生体膜酵素活性の調節 $\text{Na}^+, \text{K}^+-\text{ATPase}$ 活性調節 アデニレートシクラーゼ活性調節 タンパクリン酸化の調節
---	--

する結合部位を形成し, 細胞情報伝達機構のなかで情報受容機能を担っているものがある。これらの細胞表面機能のほかに, 糖脂質は脂質二重層の物理化学的性質を

えたり, 膜酵素活性の調節にかかわっていることも知られている。

2・1 細胞表面機能

表-5 代表的な細胞膜の脂質組成

	ヒト赤血球膜	脳シナプス膜 ラ ッ ト	脳 ミ エ リ ン	
			マ ウ ス	ラ ッ ト
コレステロール ($\mu\text{g}/\text{mg}$ タンパク)	226	160	667	
総リン脂質 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ タンパク)	660	710	1,300	
コレステロール / リン脂質モル比	0.71	0.47	1.02	
リン脂質組成 (%)				
ホスファチジルコリン	30	42		25
ホスファチジルエタノールアミン	32	35		35
ホスファチジルセリン	11	13		15
ホスファチジルイノシトール	2	4		3
ホスファチジン酸	2			
リゾホスファチジルコリン				
スフィンゴミエリン	24	5		7
中性糖脂質 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ タンパク)				
GalCer	—	—	803	
GlcCer	0.3			
LacCer	2.5			
Gb 3 Cer	1.2			
Gb 4 Cer	11			
酸性糖脂質 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ タンパク)				
スルファチド	—		148	
ガングリオシド	1	45	14	
ガングリオシド組成 (%)				
GM3	35	—	—	
GD3		—	—	
GM1		2	74	
GD1a		45	3	
GD1b		14	5	
GT1b		27	13	
GQ1b		7	—	
LM1	43	—	—	

糖脂質が細胞間の識別に役立っている端的な例は血液型特異性を決めていることである。だ(唾)液などに含まれる血液型物質は糖タンパク性であるが、赤血球などの細胞膜表面に発現される血液型物質は糖脂質性であることが、山川と箱守の二つのグループ及びその他の研究者による長年の研究からわかってきた。表-2 b に ABO と Le 型の抗原糖脂質を示す。これらの細胞表面糖鎖の違いはアロ抗原 (allotype antigen) と言われ個体識別に利用されるが、本来の生物学的意義は不明である。詳細に発展した分化の一つの断面が現れているに過ぎないのかもしれない。

細胞分化 (cell differentiation) によって特定の機能をもった細胞がつくられると、それにふさわしい細胞表面構造が形成される。それは次項に述べる個体発生における細胞集合や臓器形成に役立っているものと想像され

近年の知見を集約した Robertson のモデル²⁾：脂質二重層を構成する脂質の非対称性と、膜内外に存在するタンパク質の非対称性が示されている。細胞表面糖鎖及び膜を貫通するチャンネルも描かれ、脂質極性基の回転運動も表されている。

図-2 生体膜モデル

る。あたかも正常な分化の逆をたどったようにみえるがん(癌)化において、糖鎖の未熟化、あるいははい(胚)発生時にみられる糖鎖の出現などがみとめられる。それらはがん関連抗原、がん胎児性抗原、あるいはしゅよう(腫瘍)抗原と呼ばれる。1980年代に入り糖脂質に対するモノクローナル抗体が多くつくられ、がんの臨床面で特異的抗原の検出法として開発が鋭意進められている。モノクローナル抗体による糖鎖性しゅよう抗原の分析については神奈木、箱守の総説に詳しい³⁾。がん組織の糖鎖抗原としては、2型糖鎖(表-1)にフコースやシアル酸が新たに結合して出現する糖脂質(Le^x, Le^y, シアリル Le^x, ポリフコシル Le^x など)が多くみとめられる。一方、担がん患者の血清には、シアル酸の結合した1型糖鎖を含む抗原(シアリル Le^a, シアリル SSEA-1 など)が現れるので、それらに対するモノクローナル抗体はがんの血清診断に用いられる。血清中のがん糖鎖抗原は大部分糖タンパクとして存在している。それは、1型糖鎖は糖脂質と糖タンパク両方に共通に存在し、血清中には糖タンパク抗原が出現しやすいことによると思われる。

神経外はい葉由来のしゅよう(腫瘍)(メラノーマ、神経芽細胞しゅ、グリオーマなど)においてはガングリオシドが抗原として明らかにされてきた。なかでもメラノーマ関連抗原がよく研究されている。おもしろいことに、化学分析ではGM3とGD3が主成分で、GM2とGD2はむしろ微量成分であるのに、メラノーマ細胞で免疫した場合にはGM2, GD2の方が免疫原性が強いという。いずれにしても、ヒトのメラノーマについてこれら4種のガングリオシドに対するモノクローナル抗体が多種類作製され、がん治療への応用が試みられるまでに研究が進んできた^{3), 4)}。

ヒト細胞由来の抗GD3, 抗GD2抗体をメラノーマ患者に全身投与、あるいはしゅよう(腫瘍)局所内に注入する試みが海外で行われ、かなりの効果が報告されている。特記すべきは、GD3, GD2は脳、網膜、副じん髄質など正常組織にも存在するのに、副作用がみとめられないことである。このことは、化学的に同じ抗原分子であっても、がん細胞上ではその分布密度が高いとか、存在状態が異なっていることなどを想像させる⁵⁾。

2・2 個体発生と臓器形成における役割

糖脂質の糖配列順序は、その細胞に用意された糖転移酵素の特異性によって決まる。酵素タンパクはDNAの情報を直接うけて発現するが、糖鎖はその酵素の基質特異性の規制下に合成される。すなわち、糖脂質は他の脂質と同じように遺伝子の二次的産物である。糖脂質が細胞膜上に機能単位として発現

するには、生成量や膜上での分布などについても制御される必要があろう。そのような間接的で、一見不確実ともおもえるコントロールでありながら、発生の初期はい(胚)では見事に規則だった糖脂質抗原の消長がみられる。それらは発生の段階に特異的に発現される抗原であるところから、stage-specific embryonic antigens (SSEA 抗原群)と呼ばれる⁶⁾。

マウスの初期はいでの糖脂質抗原の発現は、図-3に表されるまでにわかってきた⁶⁾。細胞表面の糖鎖抗原が非常な速さで入れ替わっていることは驚くべきものであるが、それは細胞間相互作用の信号として利用され、初期はいの所定の段階における細胞集合や細胞分化の制御に重要な役割を果たしていると想像される。さらに進んだ発生段階においては、臓器形成の過程で細胞表面の糖鎖の発現に意義が考えられている。ほ乳類の脳形成では、魚類脳の主経路として証明されたC系列ガングリオシドが一時期出現し、出生後消滅する⁸⁾。小幡、平林、筆者らの共同研究によって、胎児脳せき髄の形成期にガングリオシド抗原性のめまぐるしい変化が認められている。魚類脳のガングリオシドがほ乳類脳の胎生期に一過性に出現するには、個体発生は系統発生を繰り返す(recapitulation)との説の一つの例証とおもわれる。

臓器形成の過程で重要なものは細胞の分化と集合である。上に述べたような神経細胞の分化に伴う細胞表面糖脂質のきわだった変化が観察されている一方、特定のガングリオシドの添加が培養神経細胞において神経線維の伸展やシナプス結合などの分化促進作用を現すことが知られてきた⁹⁾。細胞の分化による糖脂質の発現と、糖脂質による分化の調節作用については、血液細胞においても研究が進んでおり、本特集の斉藤政樹氏の総説を参照されたい。特定の細胞同士が相手を認識して接着する機構については、細胞表面糖鎖とそのレセプターの存在が

図-3 初期はい(胚)の分化に伴うラクトシリース及びグロボシリースの糖鎖抗原の分化時期特異的な発現と消退とを示す模式図⁶⁾

考えられる。ニワトリ肝細胞の細胞接着因子として特殊なガングリオシドが見いだされた。それは糖鎖末端のN-アセチルグルコサミンがリン酸化されているフコース含有ガングリオシドと推測されるもので、細胞接着レセプターのリガンドとしてリン酸化ヘキサミンが必要であることを示した点で興味をひいている¹⁰⁾。培養細胞の場合、培養プレート上で接触面をなしている細胞接着領域を単離して、脂質組成の分析が行われている。その部分には糖脂質が存在し、他の細胞膜とは異なる特異な細胞膜のドメインを形成しているようである。メラノーマ細胞の接着領域にはガングリオシド GD2 と GD3 が分布しているという¹¹⁾。細胞接着を促進する細胞外タンパクの代表的なものとしてフィブロネクチンがあるが、それと糖脂質の直接の相互作用はないとされている。しかしフィブロネクチンに対するレセプタータンパクが糖脂質と複合体をつくり、細胞接着のための細胞膜ドメインを形成している可能性も考えられる。

2・3 レセプター機能と細胞増殖の調節

ガングリオシドが細胞表面レセプターの役割をもつとして注目をあびるようになったのは、コレラ毒素がガングリオシド GM1 に特異的に結合して細胞内サイクリック AMP を上昇させることを van Heyningen が示して以来のことである (1971~1976)。コレラ毒素が腸上皮細胞表面 GM1 に結合して持続的にサイクリック AMP 濃度を高めることは、コレラによる下痢をよく説明する。その後、テタヌス毒素にたいして GT1b, GQ1b が、ボツリヌス毒素にたいして GT1b がレセプターになるとの報告があるが、コレラ毒素と GM1 の結合ほど特異性は高くない。ウイルス感染においても、ウイルスがまず宿主の細胞表面に結合することが侵入を始めるまえの必須の段階である。センダイウイルスの場合、脳のガングリオシド (ガングリオテトラオース系) に結合するといわれていたが、Hansson ら¹²⁾の薄層クロマトグラム上での結合実験で赤血球のガングリオシド (ネオラクト系) を認識することが明らかにされた。

ほ乳類の細胞表面のガングリオシドが細菌やウイルスのために用意されているとは考えにくいので、本来生理的に別の役割を与えられているガングリオシドを細菌やウイルスが進化上うまく利用するようになったとみるほうが当たっているかも知れない。とするとガングリオシドの生理的役割はなんであろうか。

甲状腺(腺)刺激ホルモン (TSH, サイロトロピン) のレセプターに対する 2 種類のモノクローナル抗体を用いた研究でもおもしろいことがわかってきた。一つの抗体は、TSH の結合とその後に活性化されるアデニレートシクラーゼを阻害するもので、糖タンパクに対する抗体とみなされた。ところがもう一つの抗体はガングリオシドを認識して、アデニレートシクラーゼの活性化、ヨー

ドの取り込み、甲状腺ホルモン分泌の促進など、TSH 様活性を表すものであった。興味あることは、この甲状腺ホルモン促進作用をもつ抗体がバセドウ病 (Graves 病) の原因となる自己抗体と同じものではないかという点である。特定のポリシアロガングリオシド分子が TSH レセプターの一部を構成していることが考えられるので、その実体の解明が待たれる。

細胞の悪性化 (がん化) において表面糖脂質の変異がみられることは 2・1 で述べたが、それは単にがん化の結果だけでなく、細胞増殖の制御に関与する可能性が指摘され始めている。上皮細胞増殖因子 (epidermal growth factor, EGF) のレセプターは膜貫通タンパクで、3 つの機能的ドメインをもっている。細胞外の EGF 結合ドメイン、膜貫通ドメイン、細胞内のタンパクキナーゼドメインで構成されている。タンパクリン酸化を介する生体膜情報伝達系の一つであるが、その機能が特に GM3 で抑制されることがわかった¹³⁾。GM3 が存在しても EGF の細胞への結合は影響されないが、EGF レセプターのキナーゼ活性が阻害されることが示された。その場合 GM3 がキナーゼ活性の調節に直接かわるのか、あるいはキナーゼ基質側を修飾するのかなど、細胞増殖の情報伝達に GM3 が関与する分子機構は現在一つの大きなトピックスである¹⁴⁾。似たような現象は platelet derived growth factor receptor と GM1 においても知られている。

2・4 膜酵素活性とイオンポンプの調節

膜結合性の酵素や機能性タンパクには疎水性ドメインがあって、脂質二重層にしかるべく納まっている。脂質二重層の大部分の領域においては、脂質分子が水平方向に移動したり (lateral diffusion)、細胞膜内外で転移 (flip-flop transfer) したりしており、その性質は膜の流動性 (membrane fluidity) あるいは微小粘性 (membrane microviscosity) と称せられている。膜タンパク近傍の脂質層はタンパクとの相互作用のため、流動性を減じた特殊な境界領域を形成している。例えば筋小体のカルシウム輸送タンパクは 30 分子のリン脂質でつくられた環のなかに納まっているとされ、それらの脂質は annular lipids と呼ばれる^{15), 16)}。膜タンパク疎水性ドメインは、そのタンパクの活性を現すための立体構造を調節をしたり、刺激に応じて他のタンパクサブユニットと結合したりするうえで重要な部位である。糖脂質がその領域に介在して膜酵素活性を大きく修飾する例が知られている。

脳の膜標品のアデニレートシクラーゼはガングリオシド添加で 50~95 % 活性の上昇がみられた¹⁷⁾。脳ミクロソームから可溶化された ATPase では、 Mg^{2+} -ATPase はガングリオシドで強く活性化されたが、 Na^{+} , K^{+} -ATPase は影響を受けなかったという¹⁸⁾。ところ

が Tettamanti のグループは膜の構造を保った実験系でガングリオシドの効果をみたところ、50 nM 以下という低濃度で、 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性の上昇を観察した¹⁹⁾。高濃度ガングリオシドではむしろ阻害作用がみられたという。最近永田ら²⁰⁾は、植物神経系（自律神経系）に対するガングリオシドの効果をみておもしろい結果を報告している。副交感神経系の節状神経節（下神経節）では Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性とアミノ酸取り込みがガングリオシド添加で著しく促進されるのに、交感神経系の上げい（頸）神経節ではむしろ阻害作用がみられた。膜酵素、特に ATPase 活性は細胞内外のイオン平衡を維持する役目をもつ重要なものであり、イオンの流れに共役した物質輸送や膜の興奮性を保つなどいわば細胞の基本的な生命維持装置である。ガングリオシドはそのような膜タンパク装置の活性を微妙に調節しているところに意義があるのかもしれない。

上に述べたように、同じ働きをする膜酵素であっても組織が違えばガングリオシドの効果が異なる理由は説明されていない。同じ酵素の場合でも異なる膜系では、その微小環境がそれぞれ特殊な仕様で組み立てられているために、同じガングリオシドの添加でもそれらの環境を変える効果がちがってくるのが考えられる。心筋の Na^+ 、 K^+ -ATPase の疎水性ドメインに結合している脂質を分析した報告では、スフィンゴミエリン含量がウバイン感受性のものでは多く、非感受性のものでは少ないという²¹⁾。この心筋の両 ATPase に対するガングリオシドの効果が調べられるとおもしろいであろう。もう一つの重要な点は ATPase のイオンポンプ効率に対するガングリオシドの影響である。ATP 一個を消費したエネルギーで何個のイオンを運ぶかの効率も脂質の微小環境によって影響されるであろう。

いずれにしても糖脂質が脂質二重層でどのように振る舞い、他分子とどう相互作用するのかなどについて知る必要がある。ガングリオシド糖鎖にはシアル酸があるのでイオン性の反発が予想されるが、糖鎖間の凝集 (aggregation, clustering) にも意味がありそうである。スピラベルのガングリオシドを分散させたりボソムにリガンドとしてシアル酸を認識する植物レクチン (wheat germ agglutinin) を作用させたとところレクチンが低濃度の場合にはガングリオシド糖鎖の自由度が増し、レクチン量が増えたとやがて糖鎖の運動は著しく制限されるという二相性の変化がみられた²²⁾。細胞膜ガングリオシドはリガンドとの相互作用のあり方によって離散、集合し、細胞表面現象の調節に関与しているものと想像される。ガングリオシドが脂質層の流動性を調節している例は次節で述べる。

3 神経機能とガングリオシド

脳の中性糖脂質としてもっとも多いのはガラクトセレブロシドで、もっぱらミエリン分画に分布している。他の中性スフィンゴオリゴ糖脂質は脳には極めて微量である²³⁾。酸性糖脂質としてはスルファチド (cerebroside-3-sulfate ester, CSE) が主要成分であるが、これもミエリンに局在している。もう一つの酸性糖脂質はシアル酸を含むガングリオシド (図-1) と称するもので、中枢神経系に多く存在し、かつ各膜系に特徴的なガングリオシド分布を示すことから、神経機能との関連が予想されている。脳の代表的な膜系として、ミエリンとシナプス膜を取り上げ、それぞれにおけるガングリオシド分布の特徴と膜構造、膜機能との関連を考察する。さらに中枢神経系の可塑性とガングリオシドの関係について述べる。

3.1 ミエリンのガングリオシド

脳のミエリン（髄鞘）はオリゴデンドログリアの細胞膜が軸索に巻きついたものなので、ミエリンはオリゴデンドログリアの産生するガングリオシドをもっているはずである。オリゴデンドログリアはニューロンとよく似たモノシアロからポリシアロまでのガングリオシドのスペクトルをもっている。ところがミエリンには圧倒的にモノシアロ分子種が多くなっている。霊長類と鳥類では GM4 と GM1 が主成分をなし、その他のほ乳類では GM1 が大部分を占めている。その理由として Yu ら²⁴⁾は、オリゴデンドログリアから運ばれてくるガングリオシドはプロセッシングを受けてミエリン独自の組成を示すようになると考えている。GM4, GM1 はミエリン塩基性タンパク (MBP) と 1:1 の複合体を作り、ミエリン内在性ノイラミニダーゼの酵素作用から保護されるためと説明された。その複合体はセレブロシド、スルファチドとともにミエリン膜の構築に寄与している²⁵⁾。MBP とガングリオシド結合部位については NMR による解析も進んでいる。

ミエリンの機能は電気的絶縁であるが、個体の老化によってその効率に変化がありはしないか。老齢マウス脳のミエリンでは、タンパクに対する脂質の量比が若齢の 1:2.92 に対して 1:2.45 に減少しており、絶縁性能の低下が示唆されている。加齢によるミエリン脂質の量と組成の偏りは、脂質代謝速度のわずかな変化によってもたらされると考えられる。マウスに重水を投与して、ミエリン各脂質の代謝回転速度を質量分析計を用いる新しい方法で調べたところ、老齢になってもミエリン膜構成成分は活発に入れ替わっていることがわかった²⁶⁾。リン脂質はもっとも活発に取り込まれ急速に消失し、その代謝回転速度は加齢が進んでもほとんど変わらない。コレステロールはミエリンの形成期に活発に取り込まれ

るが、成熟期には代謝回転は遅くなり、それ以後大きな加齢変化はみられない。一方、セレブロシドはミエリン形成期以後もかなり速い代謝回転を行い、その速度は週齢に依存して変化する。ガングリオシドの代謝回転はセレブロシドより速く、加齢とともに二相性の変化がみられる²⁷⁾。ミエリン各構成員は、それぞれ違った速度で代謝回転をしており、かつ加齢に伴う速度調節の変化が個々に異なっているため、ミエリン膜の構造と機能が漸次変わっていくものと想像される。

3・2 シナプス膜におけるガングリオシドの機能

ガングリオシドは一般に生体膜の極微量成分であるが、脳には比較的多く存在している（シアル酸量でおよそ 600 $\mu\text{g/g}$ 組成）。ニューロンのシナプス膜には特にポリシアログガングリオシドの濃度が高い。ポリシアログガングリオシドはカルシウムイオン (Ca^{2+}) と強く結合するので、 Ca^{2+} を介するシナプス機能に関与していると推定されている^{28)・29)}。シナプス膜を含んだ膜標品にガングリオシドを添加した実験では、 Na^+ , K^+ -ATPase 活性がいろいろに影響を受け^{18)・20)}、アデニレートシクラーゼの活性が上昇することも認められている¹⁷⁾。しかし、このようなガングリオシドによる膜酵素の活性修飾が行われる機構はよく分かっていない。膜酵素が精製され、再構成系においてガングリオシドの役割が追求されれば、酵素に対する直接作用が明らかにされるかもしれない。

シナプス膜の加齢変化においても、他の多くの膜系でみられるように膜流動性の低下（膜微小粘度の上昇）がみられる。膜流動性はコレステロール/リン脂質比の上昇によって低下することが知られているが、シナプス膜の場合にはあてはまらないようである。むしろガングリオシドの減少が膜流動性を低下させるという関係が分かってきた³⁰⁾。すなわち、加齢に伴う脂質代謝の変化によってシナプス膜ガングリオシド量が減少し、膜流動性の低下を招く。アセチルコリンの貯えられているシナプス小胞がシナプス膜に融合し、exocytosis によってアセチルコリンを放出するとされているので、シナプス膜の流動性の低下は exocytosis を起こりにくくし、シナプスの神経伝達効率を障害することになろう。老齢脳シナプス膜にガングリオシドを添加して、膜流動性でみた若返りを図-4 に示す。シナプス機能へのガングリオシドの関与のもう一つの証拠を図-5 に示す。シナプトゾームをシアリターゼで処理すると、アセチルコリン放出の低下が示された。ガングリオシドは微量成分であるが、神経膜において有効な fluidizer としての機能が指摘される。

3・3 脳の可塑性とガングリオシド

脳の障害あるいは機能低下の修復を問題にする場合、生理学的には機能回復を、形態学的には再生をみるこ

になる。学習機能を合わせてこれを脳の可塑性 (plasticity) と称する。Purpura ら³¹⁾ は、遺伝性ガングリオシド GM1 蓄積症において巨大神経突起や多数の神経突起が生じていることに着目し、GM1 が神経突起形成を促進する可能性を指摘した。ガングリオシドで誘導される神経突起形成は培養神経細胞においても認められる^{32)・33)}。ガングリオシドのニューロンに対する作用は、分化因子 (differentiation factor)、あるいは生存因子 (survival factor) と考えられている。

ガングリオシドのこのような効果は、個体のレベルでもテストされている。特定の神経経路を切断した動物モデルで、神経機能あるいは神経化学的な指標の回復がガングリオシドで促進されるか注目される場所である。コリン作動性の障害モデルにおいては、アセチルコリン

老齢ラット脳シナプトゾーム (●) と、同じシナプトゾーム分画から抽出した脂質(ガングリオシドは除いた)で作製したリポソーム (○) に若齢ラット脳シナプトゾームから得たガングリオシドを添加して、膜流動性への効果をみた。横軸のガングリオシド量は老齢脳シナプトゾームの値を100として相対値で表した。

図-4 ガングリオシド添加による膜流動性の改善²⁷⁾

図-5 脳シナプトゾームからのアセチルコリン放出に対するシアリダーゼ処理の影響

合成酵素活性, コリンエステラーゼ活性の上昇や学習の改善効果がみられている³⁴⁾。障害によるドーパミン作動性ニューロンの減少もガングリオシド投与で抑えられ, かつ樹状突起の伸長が促進される³⁵⁾。臨床応用では, 末しょう(梢)神経障害(糖尿病性, 尿毒症性, アルコール性など)に対してガングリオシド投与が行われ, 部分的な改善効果が認められている。

ニューロンの可塑性を高めるガングリオシドの作用機作はまだ不明と言わざるを得ないが, 直接作用と間接作用が想像される。直接作用としては, 3・2 で述べた fluidizer としての効果で膜酵素活性, 膜機能の修飾を介してニューロンの可塑性を賦活するか, ガングリオシド自体が trophic factor となることが考えられる。一方間接作用としては, 障害された細胞にガングリオシドが働いて neurotrophic factor を多く産生させ, 周囲のニューロンの分化を促進する可能性も強く唱えられている。この方面の発展には, 臨床応用の原理を確立するためにも, 基礎研究が今後広く促進される必要がある。

おわりに

糖脂質はその構造上の特徴から生体膜の外側に分布し, 細胞の種類によってその存在量が違っているばかりでなく, 異なる糖鎖スペクトルが発現されている。それは分化した細胞の一つの表現型であると同時に, 細胞膜機能の一端を担っているはずである。本稿では, 糖脂質と生体膜機能の関連について, 細胞表面機能, 個体発生と臓器形成における役割, レセプター機能と細胞増殖の調節, 膜酵素活性とイオンポンプの調節の小項目に分けて概説し, 特にガングリオシドについては神経機能とのかかわりが強いので, 別項目にして述べた。ガングリオシドは膜系によって分布も役割も異なるので, ミエリンとシナプス膜に分けて説明し, おわりに膜の可塑性という神秘的な領域であり, ニューロサイエンスの今後の大きな対象とされる現象にもかかわりをもつと思われるガングリオシド研究の新しい側面に触れた。

(昭和63年6月23日受理)

文 献

- 1) S.J. Singer, G.L. Nicolson, *Science*, **175**, 720(1972)
- 2) J.D. Robertson, *J. Cell. Biol.*, **91**, 1895 (1981)
- 3) 神奈木玲児, 箱守仙一郎, 代謝 **23** 巻, 癌' **86**, 141(1986)
- 4) 田井 直, 生化学, **59**, 1031 (1987)
- 5) G.A. Nores, T. Dohi, M. Taniguchi, S. Hakomori, *J. Immunol.*, **139**, 3171 (1987)
- 6) 神奈木玲児, 福士泰夫, 繁田勝美, 細胞工 学, **5**, 648 (1986)
- 7) S. Ando, *Neurochem. Int.*, **5**, 507 (1983)
- 8) H. Rösner, *Brain Res.*, **236**, 49 (1982)
- 9) Y. Nagai, S. Tsuji, J. Nakajima, T. Sakaki, "Gangliosides and Neuronal Plasticity" (G. Tettamantiら編), Liviana Press, Padova, (1986) p. 231
- 10) S. Roseman, *J. Biochem. (Tokyo)*, **97**, 709 (1985)
- 11) D.A. Cheresch, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81**, 5767 (1984)
- 12) G.C. Hansson, *FEBS Lett.*, **170**, 15 (1984)
- 13) E.G. Bremer, S. Hakomori, D.F. Bowen-Pope, E. Raines, R. Ross, *J. Biol. Chem.*, **259**, 6818 (1984)
- 14) 岡田良雄, 細胞工学, **5**, 616 (1986)
- 15) J.P. Bennet, K.A. McGill, G.B. Warren, *Nature*, **274**, 823 (1978)
- 16) T. Yamakawa, Y. Nagai, *Trends Biochem. Sci.*, **3**, 128 (1978)
- 17) C.R. Partington, J.W. Daly, *Molec. Pharmac.*, **15**, 484 (1979)
- 18) R. Caputto, A.H.R. Maccioni, B.I. Caputto, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **74**, 1046 (1977)
- 19) A. Leon, L. Facci, G. Toffano, S. Sonnino, G. Tettamanti, *J. Neurochem.*, **37**, 350 (1981)
- 20) Y. Nagata, M. Ando, M. Iwata, A. Hara, T. Taketomi, *J. Neurochem.*, **49**, 201 (1987)
- 21) T. Matsuda, H. Iwata, *Experientia*, **42**, 405 (1986)
- 22) P.M. Lee, N.V. Ketis, K.R. Barber, C.W.M. Grant, *Biochim. Biophys. Acta*, **601**, 302 (1980)
- 23) T. Abe, W.T. Norton, *J. Neurochem.*, **23**, 1025 (1974)
- 24) H.C. Yohe, R.I. Jacobson, R.K. Yu, *J. Neurosci. Res.*, **9**, 401 (1983)
- 25) P. Morell, W.T. Norton, *Science*, **242**, 74 (1980)
- 26) 安藤 進, 「老化制御研究」(理化学研究所編), 創造, 東京(1985) p. 88
- 27) S. Ando, Y. Tanaka, Y. Ono, K. Kon, "Ganglioside Structure, Function, and Biomedical Potential" (R.W. Ledeen *et al.*, eds), Plenum Press (1984) p.241
- 28) H. Rahmann, W. Probst, M. Mühleisen, *Japan. J. Exp. Med.*, **52**, 275 (1982)
- 29) M. Nishimura, S. Kozaki, G. Sakaguchi, O. Yagasaki, I. Yanagiya, *Life Sci.*, **35**, 2435 (1984)
- 30) S. Ando, Y. Tanaka, K. Kon, "Gangliosides and Neuronal Plasticity" (G. Tettamanti *et al.*, eds) Liviana Press, Padova (1986) p.105
- 31) D.P. Purpura, H.J. Baker, *Brain Res.*, **143**, 13 (1977)
- 32) F.J. Roisen, H. Bartfeld, R. Bagele, G. Yorke, *Science*, **214**, 577 (1981)
- 33) S. Tsuji, M. Arita, Y. Nagai, *J. Biochem.*, **94**, 303 (1983)
- 34) F. Casamenti, L. Bracco, L. Bartolini, G. Pepeu, *Brain Res.*, **338**, 45 (1985)
- 35) G. Toffano, G.E. Savoini, F. Moroni, G. Lombardi, L. Calza, L.F. Agnati, *Brain Res.*, **296**, 233 (1984)