糖脂質の意味

鈴木 明身

Akemi Suzuki, (財) 東京都臨床医学総合研究所

1. はじめに

分子量高々600~3000の糖脂質が本誌「高分子」に登場することになるなど、筆者が糖脂質を扱い始めた10~15年前には予想もできなかったことである。糖脂質が、物質として扱う研究者以外の多くの人々の関心を引くようになったのは、ほんのここ3~4年のことで、そのきっかけは、シアトルにおられる箱守仙一郎教授が癌化した細胞で糖脂質の構造の変化が起きていることを明らかにし、次いでこの変化を捕らえる試薬(モノクローナル抗体)が開発され、それが実際に臨床の場で診断や治療にまで応用され得ることが示されたことが大きな要因だといえる¹⁾。もう一つは、東京大学の永井克孝教授らが、脳にある糖脂質の一つを癌化した培養神経芽細胞に振りかけると、神経芽細胞から神経突起が延長してくることを見つけたことも見逃せない²⁾。このような展開がもたらされるまで、1951年にわが国で山川民夫がウマの赤血球からヘマトシドと命名された糖脂質を取りだして以来およそ35年、1935年に独のErnst KlenkがGM2とよばれる糖脂質を発見して以来50年、もう少し遡ると1884年にセレブロシドと彼が命名した最も簡単な構造の糖脂質を発見し、歴史上で初めて糖脂質の存在を示したThudichum以来およそ100年の歳月が流れたことになる³⁾。

糖脂質が「高分子」に登場してきても良いと思われる理由は、他の膜脂質や膜結合性のタンパク質との相互作用を抜きにして、その機能を論じることができないからにはほかならない。疎水性結合や、イオン結合、水素結合など、共有結合以外のinteractionsが、ある機能体を形造るのに重要な意味があることは論を待たず、糖脂質を含んで形造られた複合体は高分子によく似た性質や特徴をもつことになる。膜中でのこのような複合体の構造と機能発現の機序についての解析は始

められたばかりの難しい問題である。糖脂質の主なものはセラミド(長鎖塩基と脂肪酸が酸アミド結合したもの)とよばれる疎水性部分と糖鎖とから成り、このセラミドによって糖脂質は膜中に存在することが可能になり、膜成分として機能することになる。一方、糖鎖構造の特徴は多様性にある(図1)。おそらく、少ない要素の結合によってこれほど多様な構造を造れるものは糖鎖を除いて生物界に存在しないのではないかと思われる。今、例えばガラクトースとグルコースを組み合わせると、Gal-Glcの結合で α または β 1-2, 1-3, 1-4, 1-6の8種Glc-Galの結合で同じく8種、還元末端は次の要素との結合のために残しておくとしても、16種の構造が造りだせる。糖脂質の中にはGlc-Galの配列がこれまでにみつかっていないことから、現実には前者Gal-Glcの8種が哺乳動物の組織や、細胞で発現されるチャンスがあることになる。糖鎖を造っている構成単糖として、他にN-アセチルガラクトサミン(GalNAc)、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)、フコース、シアル酸(NeuAcまたはNeuGc)、グルクロン酸、まれにマンノース、糖鎖を修飾する官能基として硫酸エステル、アセチルなどがあり、これらの組み合わせで、でき上がっている糖脂質の数はこれまで構造を同定されているもので200を超えると思われる。

もう一つ大切な特徴は糖鎖の発現が変わることである。

鈴木明身 (財) 東京都臨床医学総合研究所 (113 東京都文京区本駒込3-18-22) 生体膜研究部門・室長、医博
昭和46年信州大医学部卒、52年東大医学系大学院修了、55年東大医学部助手、57年より東京都臨床医学総合研究所。専門は糖脂質の生化学。＜趣味＞読書

Glycolipid as A Significant Molecule

基本的に糖鎖部分とセラミドから成る。GM1とよばれる糖脂質を例に示した。

図1 糖脂質の構造

2. 糖鎖発現の変化

われわれの身体あるいは生物の多くは1個の受精卵からでき上がることはご存じのとおりである。今、成熟した動物の臓器の糖脂質を調べてみると1個体内で、臓器によって異なった糖脂質組成・成分を示すことがわかる。特殊な機能を営むために分化して形成された臓器間で糖脂質の組成・成分が異なることはごく自然なことかもしれない。しかし、出発は唯1個の細胞であるので、この現象を産み出すためには、1個の細胞から由来した多数の細胞間で、細胞のもっている(発現する)糖脂質が異なっていてはならない。すなわち、ある分化の段階で、それまで合成していた糖脂質糖鎖の合成を細胞が止めてしまうこと、また、同時にあるいは個別に、必要であれば新しい糖鎖の合成系を動かすことができることの二つが必要になる。すでに現象として、受精卵が分裂して分化していく際に細胞表面の糖鎖が変化することは Solter の研究や Willison の研究で明らかにされている¹⁾。細胞表面のこれらの糖鎖の変化が初期発生や臓器分化の際に重要な役割を担っているとする、もう一つ大切なのは、糖鎖構造の変化をシグナルとして認識するシステムが存在することである。今このシステムがどのようなものか、糖脂質を認識する分子についての知見はほとんどないが、糖タンパク質を認識するものについては解析され始めている。箱守教授のグループはマウスの受精してから48時間目の胚に Gal β 1-4 (Fuc α 1-3) GlcNAc β 1-構造 (SSEA-1, stage specific embryonic antigen-1 構造とよばれている) を認識するモノクローナル抗体を注入して、注入された胚はそれ以上の分化の起こらないことを示した。この実験は解釈の難しい実験で、いろいろな可能性が指摘でき、本当に

上記の糖鎖構造が必要不可欠であることを示すには別の実験系が必要とされる。しかし、今、細胞表面での糖脂質糖鎖の変化が、初期発生や臓器形成の過程で細胞の分化の方向性を決定できるシグナルとして機能しているかどうか、われわれにとっては大きな問題である。

3. 私たちのアプローチ⁴⁾

以上述べたことが、これからお話する私たちの研究の背景となっている。糖脂質の糖鎖が非常に多様であることはお話ししたが、この現象を作りだしているマシナリーはどのようなものか、これが私たちの研究の課題である。この現象は、DNA $\rightarrow$ mRNA $\rightarrow$ タンパク

合成といった経路を取って引き起こされている、あるいは環境の変化 $\rightarrow$ 糖鎖合成系の活性化、不活性化といった DNA のレベルを介さない経路を取って引き起こされている、両方の可能性があると思われる。このように現象のレベルでもまだ複雑で、整理されていない問題に対して、どうアプローチすべきかが問題になる。そこで私たちは、遺伝学的手法で、すなわち、かけ合わせ実験(交配実験)で、確かに遺伝する形質の違いを出発点とすることにした。

今、同種の動物(私たちはマウスを使う)のある臓器で個体間に糖脂質発現に差のあるとき(=第一の仮定)、二者を交配してその雑種第一代を得、分析して、その糖脂質の発現が優性の形質か劣性の形質かを見る。次にこの F₁ を劣性の形質を示す片親と同じ形質をもつ個体にかける(戻し交配)。この戻し交配マウスで、糖脂質を発現するものと非発現のものとの数がおおよそ1:1に分離するとき(=第二の仮定)、私たちはこの糖脂質の発現が、メンデルの法則に従って遺伝支配されているということが出来る(図2)。メンデルの法則というのは両者の形質を示す個体間で、互いに、その形質を発現するに必要な遺伝子のうち、

図2 交配実験で示されるメンデルの法則

図3 マウス肝臓でのガングリオシド発現の多型

唯一つの遺伝子が異なっている場合の遺伝様式といい替えることができる。大切なのは唯一つの遺伝子の違いという考え方で、ここで一つの遺伝子がマーク（目印）されたことになる。このことが上記のようなまだ整理されていない現象を扱うとき、とても大事な、先の展望が得られる展開だと私たちは考えている。次に発現が遺伝支配を受けている糖脂質の糖鎖構造を明らかにすることによって、この遺伝子の支配する因子が、どの糖鎖発現に関与するのかが明らかにでき、これまで調べられている染色体マーカーとの連鎖を調べることで、問題の遺伝子がどの染色体上のどの位置にあるかもアプローチすることができる。次に明らかにされなければならないのはこの遺伝子が何をコードするのか、次にどのような遺伝情報の違いによって発現、非発現が決定されるのかといったことである。このような考え方で研究を進めようとするとき、上記の二つの仮定を満足する系がなくてはならない。

私たちの研究室の橋本はマウスの肝臓のシアル酸をもった糖脂質（＝ガングリオシドとよぶ、E. Klenk の命名で、神経細胞に多いことに由来している；Ganglion は神経細胞の集まった節をさす。）が、マウスの系統によって異なっていることを見いだした。多くの遺伝学者、免疫学者の気の遠くなるような計画と努力によって、マウスは実験動物の一つとして整備されて、生物科学に多くの貢献をはたしてきた。その代表的なものは免疫応答を支配する遺伝子がマウスの第17染色体上 *H-2* とよばれる遺伝子座の遺伝子複合体であることが示され、また *H-2* のコードする分子が次々と明らかにされ、その機能解明に偉力を発揮したことがあげられる。このような事情のためにマウスを実験動物として使う研究者は、兄妹交配を繰り返す（20代以上；このことですべての形質についてホモ接合体が確立されると考えられている。 $(1/2)^{20} = 0.00007\%$ ：異なる染色体上の遺伝子についてホモで

ない確率）ことで種々の近交系マウスを作り上げた。

上記の発見以後、彼は国立遺伝研の森脇教授の御協力を得て先生の維持しておられる近交系マウスの肝ガングリオシドを調べた。その結果、近交系マウスは三つのグループに分けられることがわかった（図3）。そこで、ガングリオシド発現の異なるグループ間で、すなわち第1のグループの WHT/Ht マウスと第2のグループの BALB/c マウスとで、また第2のグループの C57 BL/10（B10と略記）と第3のグループの SWR とで、各々交配実験を行った。WHT/Ht と BALB/c との交配では BALB/c の形質が優性であること、得られた F_1 を劣性マウスである WHT/Ht に戻し交配すると、得られたマウスは BALB/c タイプと WHT/Ht タイプの二つに分離し、その数比はおおよそ 1:1 に近いことがわかった。このことは WHT/Ht は BALB/c に対して、常染色体性の単一遺伝子の変異のために BALB/c が発現するガングリオシドを発現できないと結論することができる。次に、WHT/Ht のもっているガングリオシドと BALB/c のもっているガングリオシドの構造を調べることによってこのマークされた単一遺伝子がどの糖鎖構造発現にかかわっているか、解析した。構造は図3に示すものであることがわかり、構造を比較すると、直ちに、WHT/Ht の欠損する能力は GM3（NeuGc α 2-3 Gal β 1-4 Glc β 1-Ceramide）から GM2（GalNAc β 1-4（NeuGc α 2-3）Gal β 1-4 Glc β 1-Ceramide）を作る能力であることが予想できる。そこで、GM3→GM2を作る *N*-アセチルガラクトサミン転移酵素活性を測定しました。図4に示す結果が得られ、GM2発現を欠く個体は常にこの転移酵素活性を欠損することが明らかになった。また F_1 は BALB/c の 1/2 の活性を示すことから、遺伝子の量が活性に反映されていることが示された。この系を使って、私たちが次にアプローチしなくてはならないことはこの遺伝子が何をコードしているのか、変異マウスの遺伝情報にはどのような変化があるのかを明らかにすることである。このために、現在 *N*-アセチルガラクトサミン転移酵素の精製を試みている。もう一つの課題はこの遺伝子がどの常染色体上にあるかを解析することであるが、今まで種々の染色体マーカーを使って調べたが、まだどの染色体上にあるか決定できていない。

一方、B10 と SWR を使って同様の交配実験を行い、 F_1 は SWR と同じタイプのガングリオシドを発現することから SWR の形質が優性であること、 F_1 を B10 に戻し交配すると、SWR タイプと B10 タイプの二つのタイプが出現し、その数比が 1:1 になることが確認された。これらのことから、B10 は SWR

GM2 合成酵素：N-アセチルガラクトサミン転移酵素活性と GM2 発現の関係。●はマウス 1 匹を示す。

図 4 GM2 発現についての解析

に比して SWR の発現しているガングリオシドを造りだすために必要な常染色体性の単一遺伝子に何らかの変異をもっていることが示された。SWR と B10 の発現しているガングリオシドの構造を解析して、図 3 の結果が得られ、この場合は、GM2→GM1 を合成するガラクトース転移酵素の活性発現に原因が求められることが予想される。そこで、転移酵素の活性を測定したところ、B10 の活性は SWR の 1/3 であることがわかり、GM1 の発現と酵素活性との間には、対応関係のあることが明らかになった。しかし、GM1 が発現されない B10 でなぜ 1/3 の活性が残るかは今後の問題である。SWR が GM1 で止まらずにもう一つ糖鎖が伸張した GD1a ガングリオシドも同時に発現していることに気づかれると思うが、このことは、私たちが GM1 で止まる、すなわち GM1→GD1a にできない変異マウスをまだみつけないことを示すものか、または、GM3 を造る N-グリコシルノイラミン酸 (NeuGc) 転移酵素があるいは GM1 を GD1a にしてしまうのか、この点は今後の問題である。この GM1 発現にかかわる遺伝子は幸運にも第 17 染色体上の H-2 の近傍にマップされた。今、SWR と B10 との F₁ を B10 に戻し交配して GM1 の発現、非発現と SWR のみがつく H-2 遺伝子産物を抗体を使って検出する。どちらも発現は遺伝支配を受けていて、戻し交配マウスは SWR タイプ [GM1(+), H-2^q(+)] が半数、B10 タイプ [GM1(-), H-2^q(-)] が半数出現する。ごくまれに、両遺伝子間で交差が起きた結果出現する表現型 [GM1(+), H-2^q(-)] または [GM1(-), H-2^q(+)] が出現するが、その頻度は 758 匹中 7 匹であった。このことから、GM1 発現をコントロールしている遺伝子は H-2 遺伝子座か

ら 1cM (1% の組替え率を 1cM (センチモルガン) の距離にあると定義する) 隔たった位置にあることが明らかになった。次の課題はこの遺伝子が何をコードしているのか、遺伝情報はどうなっているのか明らかにすることである。

4. おわりに

読者の方々はこのような研究がどんな意味をもつか、疑問に思われることと思う。しかし、癌化、発生分化、臓器形成に際して糖脂質の発現とその変化がどのような機能を担うにしても、最も基本になるのは糖脂質発現を制御している代謝と代謝機構にあり、もし、糖脂質が機能するのであれば、その分子の消長を決定している機構の理解は不可欠である。その機構は遺伝情報が直接支配する因子によって構成されているはずで、たとえ DNA→mRNA→タンパク合成の系を経ない糖鎖の変化も、遺伝情報が支配する因子の仲介によって引き起こされていると考えることができる。遺伝情報によって規定されている因子について解析し、それらが染色体上でどのような配置になっているかを知ることが、基本的で初歩的な問題である。もちろん糖脂質の機能を知るためには、機能を測定できる系を使って解析しなくてはならない。この方向の研究と、私たちの行っているような研究は平行して進められなければならないと思う。

科学は unity に関するものであることは間違いない。糖脂質についてもその発現制御システムは、どの細胞、どの生物体でも共通であることは疑いない。一方で、発現されて、機能するであろう糖脂質の糖鎖はある場合に、個体差があるわけである。この individuality として捉えられる現象が、機能とどう結びつか興味ある問題である。同じように感染の機会があっても、癌にかかっても、経過や治癒が個体間で千差万別であったり、感じ方や、考え方、行動のパターンに個性があったりすることが、もしかすると、糖脂質の糖鎖の diversity に原因がある、と考えるのは行き過ぎであろうか。

文 献

- 1) J.N. Kanfer, S.-I. Hakomori: Sphingolipid Biochemistry, Handbook of Lipid Research Vol. 3, Plenum Press (1983)
- 2) 永井克孝編: 細胞工学, 5, 7 糖脂質と細胞生物学 (1986)
- 3) 山川民夫: 糖脂質物語, 講談社学術文庫 (1981)
- 4) 鈴木明身, 橋本康弘: 生化学, 58, 375 (1986)