血液細胞および神経系組織における糖脂質の多様な役割

武 富 保

信州大学医学部附属心脈管病研究施設生化学部門 ☎ 390 長野県松本市旭 3-1-1

Heterogenous biological roles of glycosphingolipids both in various kinds of blood cells and in the nervous tissues

Tamotsu Taketomi

Department of Lipid Biochemistry, Institute of Cardiovascular Diseases,
Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Nagano 390, Japan

General review on the recent progress of glycosphingolipids was described both in various kinds of blood cells and in the nervous tissues. First, the cell membrane glycosphingolipids were summarized and discussed as important markers for the maturation and differentiation from immature blood cells to mature myeloid and lymphoid cells, erythrocytes and platelets, as specific ligands to some selectins for cell-cell recognition and as roles of immunological responses.

Second, the biological significance of myelin lipids, particularly cerebroside and sulfatide, changes of neuronal gangliosides in the development of neuronal cells, abnormal gangliosides in the brain tumors and biological activities of gangliosides were mentioned.

Key word : Membrane glycosphingolipids of leukocytes, erythrocytes and platelets, cell maturation and differentiation, myelin lipids, neuronal gangliosides

1. はじめに

筆者はこれまで糖脂質の研究に長年従事して来たが、この分野の歴史を振り返って見て、初めは谷間の溪流に思われた分野が、やがては、生化学全般の進歩・発展に伴い、また、科学技術の開発がもたらした大型分析機器の導入によって、小中規模の河川へと広がり、ついには、遠々と流れる大河へとなって来ている姿を今日、見ることができるのは大変慶賀すべきことのように思っている。

大河になれば、それだけ護岸工事も浚渫作業も大事なことであり、また、河川の利用法も色々と国土保全や自然環境保護とともに考察されなければならない。

それだけに、この分野はこれからますます色々と新

しい角度から大小様々の規模で研究されるに値するものであることを確信している。

この分野の草創から発展に至る貴重な歴史の資料として、山川民夫著「糖脂質物語」を紹介したい¹⁾。

糖脂質は言うまでもなく、脊椎動物ではほとんどがスフィンゴ糖脂質 (Glycosphingolipids, GSLs) で、スフィンゴシン塩基のアミノ基に脂肪酸が酸アミド結合した疎水性のセラミドに親水性のオリゴ糖がグリコシド結合したものである。この糖脂質のセラミド部分が細胞膜脂質二重層の中に埋めこまれ、オリゴ糖部分を細胞外表層に向け存在する。このオリゴ糖鎖の構造だけでも 250 種以上あり、この 10 年間だけでも、その半分以上が新たに発見されたものである。糖脂質は動物種や細胞や組織に特異的なパターンを示し、細胞の識別マーカーの役割

表 1. 本稿に掲載された糖脂質の構造

糖脂質	構 造
GlcCer	Glc β 1-1 Cer
LacCer	Gal β 1-4 GlcCer
Gb3	Gal α 1-4 Gal β 1-4 GlcCer
Gb4	GalNAc β 1-3 Gal α 1-4 Gal β 1-4 GlcCer
Forssman	GalNAc α 1-3 GalNAc β 1-3 Gal α 1-4 Gal β 1-4 GlcCer
Lc3	GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
Lc4	Gal β 1-3 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
Le ^a	Gal β 1-3 (Fuc α 1-4) GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
Le ^b	Fuc α 1-2 Gal β 1-3 (Fuc α 1-4) GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
H	Fuc α 1-2 Gal β 1-3 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
A	GalNAc α 1-3 (Fuc α 1-2) Gal β 1-3 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
B	Gal α 1-3 (Fuc α 1-2) Gal β 1-3 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
nLc4	Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
nLc6, i	(Gal β 1-4 GlcNAc) ₂ β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
H 2,	Fuc α 1-2 (Gal β 1-4 GlcNAc) ₂ β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
H 1	Fuc α 1-2 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
A ^a	GalNAc α 1-3 (Fuc α 1-2) Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
B-I	Gal α 1-3 (Fuc α 1-2) Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
P 1	Gal α 1-4 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
Le ^a	Gal β 1-4 (Fuc α 1-3) GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
Gg3	GalNAc β 1-4 Gal β 1-4 GlcCer
Gg4	Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 Gal β 1-4 GlcCer
GM3	NeuAc α 2-3 Gal β 1-4 GlcCer
GD3	NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3 Gal β 1-4 GlcCer
GM2	Gal NAc β 1-4 (NeuAc α 2-3) Gal β 1-4 GlcCer
GalCer	Gal β 1-1 Cer
S 3 GalCer	HSO ₄ -3 Gal β 1-1 Cer
GM4	NeuAc α 2-3 Gal β 1-1 Cer
SA α 2/3 nLc4	NeuAc α 2-3 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
SA α 2/6 nLc4	NeuAc α 2-6 Gal β 1-4 GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
SA α 2/3 nLc6	NeuAc α 2-3 (Gal β 1-4 GlcNAc) ₂ β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
SA α 2/6 nLc6	NeuAc α 2-6 (Gal β 1-4 GlcNAc) ₂ β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
SALe ^a	NeuAc α 2-3 Gal β 1-4 (Fuc α 1-3) GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
SALe ^a	NeuAc α 2-3 Gal β 1-3 (Fuc α 1-4) GlcNAc β 1-3 Gal β 1-4 GlcCer
GM1b	NeuAc α 2-3 Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 Gal β 1-4 GlcCer
GD1c	NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3 Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 Gal β 1-4 GlcCer
GM1	Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 (NeuAc 2-3) Gal β 1-4 GlcCer
GD1a	NeuAc α 2-3 Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 (NeuAc 2-3) Gal β 1-4 GlcCer
GT1a	NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3 Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 (NeuAc 2-3) Gal β 1-4 GlcCer
GD2	GalNAc β 1-4 (NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3) Gal β 1-4 GlcCer
GD1b	Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 (NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3) Gal β 1-4 GlcCer
GT1b	NeuAc α 2-3 Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 (NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3) Gal β 1-4 GlcCer
GQ1b	NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3 Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 (NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3) Gal β 1-4 GlcCer
GT3	NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3 Gal β 1-4 GlcCer
GT2	GalNAc β 1-4 (NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3) Gal β 1-4 GlcCer
GT1c	Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 (NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3) Gal β 1-4 GlcCer
GQ1c	NeuAc α 2-3 Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 (NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3) Gal β 1-4 GlcCer
GP1c	NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3 Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 (NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-8 NeuAc α 2-3) Gal β 1-4 GlcCer
FucGM1	Fuc α 1-2 Gal β 1-3 GalNAc β 1-4 (NeuAc α 2-3) Gal β 1-4 GlcCer

Cer：セラミド，Glc：グルコース，Gal：ガラクトース，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，Fuc：フコース，NeuAc：N-アセチルノイラミン酸(シアル酸)，HSO₄：硫酸

図1. 赤血球膜の抗原活性糖脂質

などを果している。これら糖脂質の構造決定に当っては、FAB-MS（高速原子衝撃質量分析）、NMR（ ^3H や ^{13}C の核磁気共鳴測定）、メチル化糖分析、エキソ型とエンド型グリコシダーゼ処理、構造確定した各種糖脂質および糖質に対するモノクロナル抗体の使用などによっている。これら研究法の詳細については、日本生化学会編新生化学実験講座4、脂質Ⅲ、糖脂質を参考にし頂くとして²⁾、本稿では割愛することにしたい。

筆者は大規模とまでは言えないが、小中規模で私共の研究室で比較的最近行われた研究のデータを基にして、この分野ですでに新しく認められ、また提唱されている知見などを加えて、糖脂質の生化学的研究の新展開を総説できれば幸いだと思っている。もちろん、紙数にも限りがあるので詳細については参考文献やその他の総説などに当たってもらいたい。本稿の内容を理解するためには、各種糖脂質の名称と構造を知って置くことは重要なことであるので本稿に掲載される糖脂質はすべて表1に纏めることとする。

2. 血液細胞の育成・分化と細胞膜糖脂質

糖脂質の研究は後述する神経系組織についてもっとも早くから行われたが、わが国の前述した山川らの赤血球膜糖脂質の研究によって血液細胞についても比較的早くから取り上げられている。今日では、これら血液細胞成分は未熟な骨髓幹細胞から多方向性に育成・分化を繰返して、成熟した赤血球、白血球、血小板からなることはよく知られている。これら血液細胞の種類と、さらに、各細胞の育成・分化の度合の違いによって細胞膜糖脂質の組成パターンに特異性や変化が見られることは糖脂質の生物学的意義や機能の面からも大変注目されることである。

2.1 赤血球膜の糖脂質

赤血球膜の糖脂質は全脂質の約10%前後で、動物の

種類によって量と質において特異性を示す。Globo系中性糖脂質のうち Globotetraosylceramide (Gb4, グロボシド) や Forssman 糖脂質を主体とするもの、また、シアル酸含有糖脂質（ガングリオシド）の GM3（ヘマトシド）や GD3 を主体とするものなどさまざまである。その他、複雑なフコース含有 Lacto 系および Neolacto 系糖脂質（フコリド）が同定され、これらは ABH, Lewis, P, I などの血液型抗原活性を示すだけに多くの研究者の注目を惹いていることは言うまでもない。これら複雑な抗原活性を示す赤血球膜糖脂質の構造と一連の代謝関連経路を示したものが図1である。なお、赤血球膜糖脂質の詳細については他にもすでに沢山総説があるのでそれらに譲りたい¹⁻³⁾。

2.2 白血球の糖脂質

最近、白血球細胞の分化、成熟度、あるいは免疫担当細胞のそれらと関連して、白血球のリンパ球や顆粒球の細胞表面マーカーとしての細胞膜糖脂質のさまざまな発現が大変関心が持たれるようになり、データも得られて来ている。私どもの最近の研究として⁴⁾、ヒトの骨髓性およびリンパ性白血病患者の血液より血液成分分離装置により分離した検体、つまり、慢性骨髓性白血病、急性骨髓性白血病、急性単球性白血病 (FAB 分類 M 5a, 単芽球; M 5b, 前単球, 単球), 慢性骨髄単球性白血病の各細胞の中性糖脂質と酸性ガングリオシドの分析結果が表2に示されている。

ここから解ることは、骨髓性白血病細胞の糖脂質は Neolacto 系の中性糖脂質とガングリオシドの他に GM 3 を含んだ。慢性骨髓性白血病細胞は急性のそれより中性糖脂質が著増するが、ガングリオシド含量には有意な差がほとんど認められないことが注目された。慢性と急性骨髓性白血病細胞の糖脂質組成にも変化が認められ、急性では糖脂質の糖鎖の単純なものが相対的に多く、慢性になると糖鎖の長いものが相対的に増加する傾向が認められた。

表2にはまた急性リンパ性白血病細胞の非-T, 非-B細胞とT細胞の糖脂質含量と組成が示されているが、その含量は急性骨髓性白血病細胞のそれに比してさらに少なく、中性糖脂質は GlcCer と LacCer がほとんどで、ガングリオシドは GM3 および GD3 で、Neolacto 系の中性糖脂質もガングリオシドもほとんど認められず、リンパ性と骨髓性細胞の顕著な差異が糖脂質組成で見られることが注目された。

表 2. ヒト白血病細胞の中性糖脂質とガングリオシドの含量及び組成

中性糖脂質含量 ($\mu\text{mol/g}$ タンパク質)		組成 (mol %)					
		GlcCer	GalCer	LacCer	Lc3	Gb4	nLc4
CML I	19.7	5.0	—	84.2	2.5	—	8.3
CML II	16.9	5.2	0.6	80.8	3.1	—	10.3
CML III	21.2	5.1	0.5	82.0	2.3	—	10.1
AML (M 1)	2.9	26.8	2.4	62.6	tr	—	8.2
AMoL (M 5a)	3.3	12.6	5.1	73.2	3.1	tr	5.9
AMoL (M 5b)	2.7	55.5	1.7	37.0	tr	—	5.8
CMMoL	2.0	27.0	1.4	60.4	tr	—	11.2
ALL (L 1) N	0.8	18.2	—	81.8	—	—	—
ALL (L 2) T I	0.6	54.7	7.9	37.4	—	—	—
ALL (L 2) T II	0.4	54.1	—	45.9	—	—	—

ガングリオシド含量 ($\mu\text{mol/g}$ タンパク質)		組成 (mol %)						
		GM3	GD3	SA α 2/3 nLc4	SA α 2/6 nLc4	SA α 2/6 nLc6	SA α 2/6 nLc6	Others
CML I	1.05	20.3	—	21.6	36.5	16.5	4.1	1.1
CML II	0.62	30.9	—	15.3	36.0	12.4	3.5	1.8
CML III	1.41	24.2	—	16.4	37.3	15.8	4.2	2.1
AML (M 1)	1.01	80.2	—	8.8	6.5	3.5	—	1.1
AMoL (M 5a)	1.89	54.2	—	36.1	4.7	2.9	—	2.1
AMoL (M 5b)	1.92	67.2	—	22.0	5.8	2.6	tr	2.4
CMMoL	1.36	84.8	—	7.9	4.3	1.6	tr	1.4
ALL (L 1) N	0.51	100.0	—	—	—	—	—	—
ALL (L 2) T I	1.01	100.0	—	—	—	—	—	—
ALL (L 2) T II	0.60	45.4	52.4	1.1	tr	—	—	1.2

CML：慢性骨髄性白血病，AML：急性骨髄性白血病，AMoL：急性単球性白血病，CMMoL：慢性単球骨髄性白血病，ALL (L 1) N：急性リンパ性白血病（非 T 非 B 細胞），ALL (L 2) T：急性リンパ性白血病（T 細胞）

では、リンパ性細胞の B 細胞についてはどうか。このことについて、ごく最近、Wiels らはヒトの B 細胞系の成育・分化と糖脂質組成と含量に変化が認められることを報告している⁵⁾。それによると、Pro-B 細胞では Neolacto 系の中性糖脂質とガングリオシドが認められるが、そのガングリオシドのシアル酸が NeuAc α 2 $\rightarrow$ 6 Gal 結合である。

Pre-B 細胞では Neolacto 系ガングリオシドのシアル酸が NeuAc α 2 $\rightarrow$ 3 Gal 結合で、この他に GM3 のガングリオシドを含んだ。これら前駆 B 細胞に対して、活性化した B 細胞では Globo 系の中性糖脂質と GM3 のガングリオシドのみで、Neolacto 系中性糖脂質とガングリオシドが消失しているのが注目された。さらに、B 細胞から形質細胞への分化が進むと、Globo 系中性

糖脂質にはそれ程変化は見られないが、GM3 から GM2 への糖鎖延長がガングリオシドで認められた。なお、EB ウイルスによる Burkitt リンパ腫細胞では活性化 B 細胞と同様に Globo 系中性糖脂質として Globotriaosylceramide (Gb3) と Gb4 が認められる他に GM3 のガングリオシドも認められた。骨髄性白血病細胞は Pro-B 細胞の NeuAc α 2 $\rightarrow$ 6 Gal 結合を含む Neolacto 系ガングリオシドと Pre-B 細胞の NeuAc α 2 $\rightarrow$ 3 Gal 結合を含む Neolacto 系ガングリオシドを共有したが、急性リンパ性白血病の非-T、非-B 細胞と T 細胞は GM3 および GD3 のみで、Neolacto 系ガングリオシドをほとんど含まなかった。

この点からも、リンパ性 T 細胞と B 細胞が明らかに区別されることが示された。

図 2. HL-60 細胞のガングリオシドによる分化誘導能

n : 好中球の前駆細胞
m : マクロファージの前駆細胞
nLcs : Neolacto 系ガングリオシド

表 4. ヒト血小板の糖脂質組成 (%)

	GlcCer	LacCer	Gb3	Gb4	GM3
患者	3.6	32.6	12.3	27.0	24.5

斎藤らはヒト骨髓性白血病細胞, 例えば, HL-60 細胞系や新鮮な細胞のガングリオシドのパターンが分化段階のみでなく, 分化の方向性によって変化することを報告した^{6, 7)}. Dimethylsulfoxide (DMSO) やレチノイン酸 (RA) で誘導される HL-60 細胞の顆粒球への分化で, NeuAc α 2 $\rightarrow$ 3 Gal 結合を含む Neolacto 系ガングリオシドの直列に N-acetylactosamine 繰り返し構造を有するものが特徴的に増加し, 他方 GM3 は減少した. 対照的に, HL-60 細胞が TPA (12-o-tetradecanoylphorbol 13-acetate) によって単球/マクロファージへ分化するとき, GM3 の増加と Neolacto 系ガングリオシドの減少が同時に観察された. 細胞分化の過程におけるガングリオシドの増量の生物学的意義を明らかにするために HL-60 細胞の培地に GM3 を添加して見ると, この細胞は単球/マクロファージに分化することが形態学的にも, 機能の面でも確認された. この細胞増殖は GM3 の用量依存的に阻害され, 50 μ M GM3 では完全に阻害された. 他方, HL-60 細胞の培地に Neolacto 系ガングリオシドを添加すると顆粒球に分化した. 以上のような結果より HL-60 細胞の分化能とガングリオシドの分化誘導能を図示したのが図 2 である.

表 3. モルモット血小板, 巨核球の糖脂質組成 (%)

	血小板	巨核球
GlcCer	15.3 $\pm$ 1.5	34.5 $\pm$ 1.6
LacCer	31.5 $\pm$ 3.2	33.3 $\pm$ 0.3
Gg3	53.1 $\pm$ 1.4	32.1 $\pm$ 1.9
	(平均値 $\pm$ SD)	

2.3 血小板の糖脂質

最近, Schick らは血小板の糖脂質は巨核球の糖脂質が決定することをモルモットを用いた実験によって示している⁸⁾. モルモットの巨核球と血小板の糖脂質組成は表 3 に示されている. 筆者ら⁹⁾ は本態性血小板増多症患者から血小板を血液成分分離装置で分離し, 洗浄後, 顕微鏡下でほとんど 100% の血小板を確認した. この血小板より常法により糖脂質を抽出, 分析した結果は表 4 の通りである. 表 3 と表 4 から判るように血小板の糖脂質は動物の種差によって明瞭に違っている. モルモットの血小板の糖脂質は Ganglio 系中性糖脂質で, Gg3 (asialo GM2) が圧倒的に多量を占めたが, モルモットの赤血球では 91% 以上がやはり同じ Gg3 で相互にかなり類似した糖脂質であることが示された. 同じことはヒトの血小板と赤血球の糖脂質においても見られた. しかしながら, ヒトの場合は Globo 系中性糖脂質からなることである.

最近, 慢性特発性血小板減少性紫斑病の患者血清中に糖脂質に対する抗体が見出されている¹⁰⁾. とくに, これらの抗体は血小板に微量存在するスルファチドと反応するが, この抗体はカルジオリピンとも交叉反応を示すので同定には慎重を要する. また, これら抗体には血小板にやはり微量存在する Neolacto 系ガングリオシドや GD3 とも反応するのではないかと推察されている. 赤血球にも抗原活性を示す微量の糖脂質が沢山知られているので血小板の糖脂質についても当然考えられることである. 一般には血小板の糖タンパク質抗原についてはよく知られているが, 血小板減少を惹起する因子として, このような糖脂質抗原に対する抗体を考慮することも必要なことである.

2.4 血液細胞分化と糖脂質についての考察

図 3 は前述のヒトの各種血液細胞の糖脂質組成から判断して, 血液細胞の成熟・分化と細胞膜糖脂質の分布との関連性を一つに纏めて見たものである. 図 3 に見られ

図3. 血液細胞の成熟・分化と細胞膜糖脂質

るように Wintrobe ら¹¹⁾ はヒトの形態学的には未分化の状態の骨髄性幹細胞から骨髄芽球や単芽球が由来し、リンパ性幹細胞からリンパ芽球が由来することを示しているが、これら細胞の分化は骨髄性およびリンパ性白血病細胞の糖脂質組成からより一層明らかになる。骨髄性細胞でも未熟な骨髄芽球ほど GM3 が多く、Neolacto 系ガングリオシドが少なく、成熟の顆粒球ほど GM3 が少なく、Neolacto 系ガングリオシドが多い。他方、単芽球、前単球、単球では成熟度に関係なく GM3 が 50% 以上と比較的多く、Neolacto 系ガングリオシドでは SAα2/3nLc4 が主体をなしている。

骨髄性細胞でも顆粒球と単球への分化の方向性によって糖脂質組成に変化が明らかに認められることは興味深いことである。リンパ性幹細胞からの T 細胞、B 細胞、非-T、非-B 細胞への分化によっても糖脂質組成の変化が明らかに認められる。T 細胞サブ集団抗原として知られる CDw60 は GD3, SAα2/3nLc4, SAα2/3nLc6

のようなガングリオシドの糖鎖構造によるものとされているが、T 細胞の糖脂質組成からして果して SAα2/3nLc4, SAα2/3nLc6 が存在するかは疑問であるが、GD3 に対するモノクロナル抗体が T 細胞を増殖させることが知られているので、GD3/CDw60 抗原が T 細胞膜の重要な調節分子ではないかと示唆されている。B 細胞の分化と糖脂質組成の変化はとくに注目される。前駆 B 細胞と未熟 B 細胞には Neolacto 系の中性糖脂質とガングリオシドが見られるが、シアル酸の結合が違っている。もっとも両者のガングリオシドは骨髄性細胞には共存している。成熟 B 細胞や活性化 B 細胞になるとどうして Neolacto 系糖脂質が消失して Glolo 系糖脂質になるのかは大変不思議なことであるが興味を惹くところでもある。そして、成熟した B 細胞が必ずしも複雑な糖脂質を含むものではないことも注目される。もっとも形質細胞では B 細胞と違って GM2 を発現している。最近、扁桃胚中心に Gb3/CD 77 抗原含有のリンパ球が局在

していることが分かって、胚中心のリンパ球による抗原の選択が行われるとき、この Gb3/CD 77⁺リンパ球は消滅する運命にある。つまりアポトシス (apoptosis) を受けるのではないが、このことによって高親和性抗体を産生できない B 細胞が除去される。抗体産生の B 細胞は Gb3 を素早く Gb4 産生に切り換えて生存するのではないと推察される。B 細胞の分化過程で Neolacto 系糖脂質から Globo 系糖脂質の切り換えをこのようなアポトシスの機序で考えるのも仮説として興味あることである。

このようにして糖脂質を白血球の分化抗原として考えると、糖脂質が新たに機能的にもきわめて重要なものであることが認識される。

骨髄性幹細胞からさらに違った方向へ、それぞれ成熟・分化した赤血球と血小板は生理学的機能は全く違っていて、それぞれにきわめて重要な役割を果たしていることは言うまでもないが、主要な糖脂質組成は質的に類似性が見られる、一方抗原活性を有する微量の特異的な糖脂質には明らかな違いがみられる。両者の成熟度による糖脂質組成の変化は余り見られないようである。

2.5 細胞接着分子(セレクトイン, Selectin) ファミリーのリガンド (Ligand) として白血球に見られる糖脂質

細菌感染によって炎症が起ると、循環中の白血球は血管壁を通過してその部位に達している。このような場合、血管内皮細胞は活性化されて 1 種の細胞接着分子である脊椎動物のレクチン様構造をした糖結合タンパク質 (*E*-セレクトイン) を細胞表面に分泌する。そして、この *E*-セレクトインを介して白血球が血管壁に接着するとき、白血球表層の糖脂質の糖鎖部分がリガンドの役割を果たしていることが明らかになった¹²⁾。ヒト骨髄性白血病細胞からこの微量の糖脂質が単離され、常法により sialyl Lewis X (SALe^x) と同定された。なお、この糖脂質は TLC 上で、*E*-セレクトインの決定されたアミノ酸配列をコードする cDNA のプラスミドの移入により放射活性を帯びた COS 細胞と特異的に結合することも確かめられた。この *E*-セレクトインは白血球を血管内皮細胞に接着させることから ELAM-1 (Endothelial-Leukocyte Adhesion Molecule 1) とも呼ばれている。他方、この *E*-セレクトインのリガンドの役割を果たす SALe^x は白血球表面マーカーの分化抗原として CD 65 と同じである。なお、SALe^x も *E*-セレクトインのリガンドとなることが

確かめられた¹³⁾。

つぎに、活性化血小板が白血球と接着するような場合、活性化された血小板はその α -顆粒から外表層に細胞接着タンパク質の 1 種である *P*-セレクトインを放出し、この *P*-セレクトインに白血球表層の糖脂質の糖鎖部分がリガンドの役割を果たしていることが分かった¹⁴⁾。そして、血小板と白血球の接着が lacto-*N*-fucopentaose III によって特異的に阻害されることから、Le^x が白血球表層でリガンドとして、血小板の *P*-セレクトインと結合することが見出されている。この *P*-セレクトインは PADGEM (Platelet Activation-Dependent Granule-External Membrane) タンパク質、GMP (Granule Membrane Protein)-140 とも呼ばれている。

そして、Le^x は白血球表面マーカーの分化抗原 CD 15 と見なされている。また、*P*-セレクトインは顆粒球や乳癌細胞に微量存在するスルファチドをリガンドとして結合するという報告もある¹⁵⁾。以上のような細胞接着分子のリガンドとして糖脂質が細胞表層に存在することなどが明らかにされて来ると、糖脂質の生物学的意義はますます関心が充まるものと思われる。

2.6 免疫担当細胞と糖脂質

糖脂質の抗原性の問題については筆者らも以前から携わって来たが¹⁶⁾、これまでも述べられているように一般に広くこの問題は受け入れられている。ここでは免疫担当細胞と糖脂質の関連性をこれまで報告されているものについて少し触れたい。抗 asialo GM1 (Gg4) 抗体は胎児マウス胸腺や一部の単球と、また、NK 細胞とも強く反応し、その認識される抗原は分化抗原の性質をもっているのではないかと考えられている。ヒツジ赤血球に対するマウスの *in vitro* での抗体産生系で、サブレッサー T 細胞には Gg4, Gb4, Forssman が存在し、ヘルパー T 細胞にはこれらの糖脂質はなく、GM1 が存在することが知られている。マクロファージに微量存在する Fucosyl GM1 はマクロファージの遊走阻止因子のレセプターの役割をしているのではないかと考えられている¹⁷⁾。白血球で産生されるインターフェロンは活性化 B 細胞に作用して抗体産生細胞への分化を促進する。また、キラー T 細胞・NK 細胞の細胞傷害活性を増強する。このインターフェロンが作用する細胞表層のレセプターとしての役割をそこに局在するガングリオシドが果たしているのではないかと考えられて来ている¹⁸⁾。癌細胞から放出される (Shedding) ガングリオシドは

免疫抑制効果をもつ可能性が示唆されている¹⁹⁾。

たとえば, YAC-1 リンパ腫細胞が *in vitro* で培養されるか, *in vivo* の腹水に注入されるとガングリオシドを合成し, 放出する。そして, この腹水から単離されたガングリオシドはマウスのリンパ球の Con A 誘導による細胞増殖応答を阻害することが見られている。癌細胞はガングリオシドを放出して, 免疫系によって排除されるのを防いでいるのではないかと考えられている。最近, 植物凝集素 PHA で誘導されたヒトのリンパ球の分裂増殖および Con A で誘導されたサブレッサー T 細胞活性に及ぼす GM3 とその分解物の効果が検討されている²⁰⁾。GM3 の分解物の Neuraminyllactosylsphingosine (NeuLacSph) と Neuraminyllactosylceramide (NeuLacCer) は FAB-MS で同定された。

この2つの分解物は分裂促進因子で誘導されたリンパ球の分裂増殖の強力な阻害剤であることが分かったが, GM3 とアセチル化した NeuLacSph は効果を示さなかった。

他方, GM3 と NeuLacSph のみは Con A で誘導されたサブレッサー T 細胞活性をさらに亢進させることができた。したがって, GM3 とその分解物のリンパ球の分裂増殖やサブレッサー T 細胞活性に及ぼす効果は別々の機序によるものであり, GM3 の N-脱アシル化はリンパ球の分裂増殖の阻害に必須の段階であることが示唆された。免疫担当細胞と糖脂質の問題は前述した B 細胞の分化と糖脂質代謝とも深い関連があり, ますまです詳細に今後なっていくものと期待される。

3. 神経系組織における糖脂質の役割

今日では, 哺乳動物のほとんどすべての臓器組織の生体膜糖脂質について研究がなされて来ているといっても過言ではない。そして, 種々の興味ある知見も得られて来ているが, 紙数にも限りがあるので筆者の関心のある神経系組織で特に述べて置かなければならないことについて簡潔に纏めて見ることとする。

3.1 ミエリン鞘の糖脂質

哺乳動物の胎生期から出生後にかけての発育急成長期に脳のミエリン形成は盛んで, その後, 脳の成長に伴ってミエリン膜も発達する。ミエリン膜は中枢および末梢神経の軸索の周りをラセン状に多重層のラメラ構造を形成する。この特殊な膜は絶縁体としての役割を果し, 軸

索に沿った神経ニューロンのインパルスの早い速度の跳躍伝導が可能なのはそのためである。ミエリン膜の組成は多くの点で非典型的である。タンパク質含量は少なく, 20% 程度で, 脂質成分は多量の糖脂質を含み, 主としてセレブロジ (GalCer) が 24%, スルファチド (S 3 GalCer) が 4% で, コレステロールが約 28% と多く, その他が種々のリン脂質である。ミエリン膜の脂質組成は絶縁体の役割を反映している。ミエリン膜のセレブロシドが流動性を示す転移温度が 67°C と哺乳動物の体温よりはるかに高い。したがって, ミエリン膜セレブロシドの存在は膜構造を固定化し, 同時にイオン透過性を低下させる。

哺乳動物の体温では純粋なセレブロシドはゲル状態にあるので, 一般には膜として機能できないので, 高含量のコレステロールが中等度の流動性を与えて, 膜の流動性が変らないようにしている。哺乳動物のミエリンのセレブロシドは酸アミド結合した 2-ヒドロキシ脂肪酸の分子種と非ヒドロキシ脂肪酸の分子種が一般に 6/4 の比率である。

この 2-ヒドロキシル基はアミド基のプロトンやスフィンゴシン塩基や糖のヒドロキシル基と水素結合のネットワークを形成して, さらに膜の安定化をもたらすものと考えられている。セレブロシドの 2-ヒドロキシ脂肪酸の存在は非ヒドロキシ脂肪酸含有セレブロシドがきわめて結晶化し易いのを防ぐ働きをしている。この結晶化は準安定な水和・脱水のサイクルと関連していて, 水和によるミエリン膜の変化はきわめて破壊的であると考えられている²¹⁾。セレブロシドとホスファチジルコリンの混合分散は通常余り見られない形態, つまり, 小さな球状多重層リポゾームと長い多重層細管を示す。このリポゾームの屈曲を増大させるセレブロシドはミエリン鞘のラセン状に巻いた膜の形成や維持に関与しているものと考えられる²²⁾。スルファチドはミエリン鞘の微細構造で鞘細胞の形質膜の内葉同士が融合して主線 (Major dense line) をなすところに局在する塩基性タンパク質と結合していると考えられる。また, 外葉同士は融合せずわずかな間隙 (Intrapertid line) には膜脂質層に埋もれたプロテオリピドのペプチドの一部が局在している。ミエリン膜のセレブロシドやスルファチドの代謝異常による重篤な脱髄性神経疾患を呈するロイコジストロフィーはヒトや動物モデルでよく知られているところである。また, 種々の病因によって惹起される脱髄性神経疾患において広くミエリン膜のセレブドロシドや

図4. 脳ガングリオシドの生合成経路の仮説

図5. 神経細胞の発生と発達段階におけるガングリオシドのマーカの発現

スルファチドの著減やこれらの構成脂肪酸組成の変動が見られることも明らかにされている。

これらについては文献について当て欲しい^{23, 24)}。

3.2 神経細胞 (ニューロン) のガングリオシド

今日、とくに、脳ガングリオシドの生理的機能の役割について大きな関心が寄せられている²⁵⁾。永井らは生理活性ガングリオシド (Bioactive gangliosides) とさえ呼んでいる²⁶⁾。

ニューロンは細胞質を囲んでいくつもの樹状突起をもった細胞体と、そこから長くのびた1本の軸索からできている。神経線維の先端は無髄となつて他の神経の細胞体や樹状突起、または標的細胞に接してシナプスをつくりネットワークを形成して脳をはじめ身体全体に分布する。

ガングリオシドは樹状突起や軸索では小胞をなして神経細胞体とシナプス終末間を順行性や逆行性に比較的早く輸送されて、向神経性のフィードバック制御系を維持しているものと考えられている。ガングリオシドの全生合成 (図4) はニューロンの核周部のゴルジ装置で行われるが、神経線維終末では生合成も分解も行われないとされている。しかしながら、*in vitro* や *in vivo* の実験結果では部分的な合成や分解が行われうることが示されている。ガングリオシドは系統発生的には下等な無脊椎動物には存在しないが、ウニと脊椎動物に見出されている。

脊椎動物の神経系の構築や機能が系統発生的に進歩するにしたがつて、ガングリオシドの濃度も上昇している。変温動物では脳1g当り100~800 μ gのシアル酸含量であり、保温動物の鳥類や哺乳類では400~1500 μ gである。脳の各領域 (たとえば、前脳、中脳、脳幹、小脳、脊髄) のガングリオシドの濃度は一般的傾向として旧脳領域ほど減少している。脳ガングリオシドはシアロ・オリゴ糖

図 6. ヒト脳腫瘍の主要ガングリオシドの組成パターン
(下線は脳実質以外の腫瘍)

とセラミド部分の違った約 50 種類が脊椎動物で見出されている。変温動物の脳ガングリオシドは LacCer, Gg 3, Gg4 の糖コアに多数分子のシアル酸が結合したものが多く、保温動物では Gg4 にシアル酸が数個結合した GM1, GD1a, GD1b, GT1b が主要なものである。個体発生にあっては、脳ガングリオシド生成は劇的に変化し、神経分化の時期と相関しているのが注目される (図 5)。ニューロンやその前駆細胞の分裂増殖期には、比較的単純な GD3 によって代表され、複雑なガングリオシドは見られない。細胞移動と分化の時期には総ガングリオシド生成が数倍に亢進し、GD1a と GT1b が著増し、C 経路のポリシアログアングリオシドは減少する。ミエリン形成の開始時期には、GM1 と GM4 の増加と蓄積が見られる。後期の発達は成熟期にまで続き、オリゴデンドログリア細胞の増生によって再び GD3 の上昇が見られる。老年期には、GD1a が連続的に減少し、相対的にポリシアログアングリオシドの割合が高くなり、ニューロン膜の極性や安定性にも影響を及ぼすものと考えられる²⁵⁾。

脳ガングリオシドの代謝異常とくに神経細胞のリソソームの糖鎖分解酵素の欠損および異常によるガングリオシド蓄積症としての神経疾患もヒトや動物モデルでよく知られているので文献に当たって欲しい^{23, 24)}。このようなガングリオシドの代謝異常を通してガングリオシドの機能的役割をさらに知ることができるのである。私どもは最近ヒトの脳腫瘍の分類とガングリオシド組成変化を追求している²⁷⁾。脳腫瘍は全般的にガングリオシドの糖鎖不全が見られ、正常脳と違って GM3 と GD3

の占める比率がきわめて高いことが特徴であり、腫瘍の種類によって GM3 と GD3 とその他のガングリオシドの比率が違っている (図 6)。マウスなどの神経芽腫や神経膠腫のガングリオシドについても同様な変化が認められている。マウスの神経芽腫細胞を培養して、ガングリオシドの由来するもっとも単純な GlcCer の合成酵素である UDP-グルコース：セラミド・グルコース転移酵素の阻害剤である PDMP (1-Phenyl-2-decanoylamino-3-morpholino-1-propanol) を添和すると細胞の増殖は抑制され、ガングリオシドの生合成も阻害されることが分かった。無血清培地での神経芽腫細胞は神経突起をのびすが、PDMP を加えるとその神経突起伸張は抑制されるが、GM1 の添加で再び突起伸張が出現する興味ある現象が見られている²⁸⁾。種々の神経芽腫細胞が Ca^{2+} との関連で、天然の脳ガングリオシドのある特定の種類によって神経突起伸張をうながすことなどは多くすでに報告されている²⁹⁾。ガングリオシドが神経系でも細胞間認識、分化および特異的細胞機能に関与していることはすでに明らかにされて来ているが、これらの一層明確な詳細な機序については今後の神経科学の各分野からの活発な研究を俟たなければならないだろう。

文 献

- 1) 山川民夫：糖脂質物語，講談社学術文庫 (1981)
- 2) 日本生化学会編：新生化学実験講座 4, 脂質 III, 糖脂質，東京化学同人 (1990)
- 3) 箱守仙一郎：Scientific American 7, サイエンス (日本版) pp. 71-83 (1986)
- 4) M. Kyogashima, K. Uemura, T. Taketomi : Jpn J Cancer Res (Gann), 78, 1229-1237 (1987)
- 5) J. Wiels, M. Mangeney, C. Tetaud, T. Tursz : International Immunol. 3, 1289-1300 (1991)
- 6) H. Nojiri, F. Takaku, Y. Terui, Y. Miura, M. Saito : Proc Natl Acad Sci, USA, 83, 782-786 (1986)
- 7) H. Nojiri, S. Kitagawa, N. Nakamura, K. Kirito, Y. Emoto, M. Saito : J Biol Cell, 263, 7443-7446 (1988)
- 8) P. K. Schick, X. He : J Lipid Res, 31, 1645-1654 (1990)
- 9) M. Kyogashima, T. Taketomi : Jpn J Exp Med, 56, 113-118 (1986)
- 10) H. H. D. M. van Vliet, M. C. Kappers-Klunne, J. W. B. van der Hel, J. Abels : British J Haemat, 67, 103-110 (1987)
- 11) M. M. Wintrobe, G. R. Lee, D. R. Boggs, T. C. Bithell, J. Foerster, J. W. Athens, J. N.

- Lukens : "Clinical Hematology", 8 th Ed. pp. 35-74, Lea & Febiger (1981)
- 12) M. Tiemeyer, S. J. Swiedler, M. Moreland, H. Schweingruber, P. Hirtzer, B. K. Brandley : *Proc Natl Acad Sci, USA*, **88**, 1138-1142 (1991)
- 13) E. L. Berg, M. K. Robinson, O. Mansson, E. C. Butcher, J. L. Magnani : *J Biol Chem*, **266**, 14869-14872 (1991)
- 14) E. Larsen, T. Palabrica, S. Sajer, G. E. Gilbert, D. D. Wagner, B. C. Furie, B. Furie : *Cell*, **63**, 467-474 (1990)
- 15) A. Aruffo, W. Kolanus, G. Walz, P. Fredman, B. Seed : *Cell*, **67**, 35-44 (1991)
- 16) 武富 保, 原 厚 : *代謝* **11**, 44-56 (1974)
- 17) D. Y. Liu, K. D. Petschek, H. G. Remold, J. R. David : *J Biol Chem*, **257**, 159-16 (1982)
- 18) F. Besancon, H. Ankel, S. Basu : *Nature*, **259**, 576-578 (1976)
- 19) S. Ladish, B. Gillard, C. Wong, L. Ulsh : *Cancer Res*, **43**, 3808-3813 (1983)
- 20) E. V. Dyatlovitsakaya, A. B. Koroleva, V. S. Suskova, B. V. Rozynov, L. D. Bergelson : *Eur J Biochem*, **199**, 643-646 (1991)
- 21) W. Curatolo : *Biochemistry*, **21**, 1761-1764 (1982)
- 22) W. Curatolo, L. J. Neuringer : *J Biol Chem*, **261**, 17177-17182 (1986)
- 23) 武富 保, 脂質代謝異常, 講談社サイエンティフィク (1983)
- 24) 玉井洋一, 神経生化学下, 蛋白質・核酸・酵素, **29**, 1735-1758 (1984)
- 25) H. Rahmann, H. Wiegandt : *Cell to Cell Signals in Plants and Animals* (Ed. V. Neuhoff, J. Friend), Springer-Verlag (1991)
- 26) Y. Nagai, S. Tsuji, J. Nakajima, T. Sasaki : *Natural and Biological Activities* (Ed. H. I-mura, T. Goto, T. Murachi, T. Nakajima) pp. 153-165, University of Tokyo Press (1986)
- 27) 杉山英子, 武富 保, *神経化学* **30**, 118-119 (1991)
- 28) K. Uemura, E. Sugiyama, T. Taketomi : *J Biochem*, **110**, 96-102 (1991)
- 29) G. Wu, R. W. Ledeen, *J Neurochem*, **56**, 95-104 (1991)

(受付 1992 年 2 月 7 日)