細胞分化と細胞膜複合糖質

——赤血球の分化と膜糖タンパク質の変化——

福 田 道 子 ・ 福 田 穰

La Jolla Cancer Research Foundation, 10901 North Torrey Pines Road, La Jolla, California 92037

Cell Differentiation and Cell Surface Glycoconjugates—Changes of Membrane Glycoproteins in Differentiation of Erythroid Cells

Michiko Fukuda Ph. D. and Minoru Fukuda, Ph. D.

The human erythrocyte membrane is best characterized biomembrane in terms of its structure and function on a molecular bases. The membrane glycoproteins can be classified into two groups, which are sialoglycoproteins and polylactosaminylglycoproteins. The former includes glycophorin A, B and C, and the latter includes Band 3, Band 4.5 and glucose transporter. These two classes of glycoproteins differ from each other in carbohydrate structure, in the modes of orientation in lipid bilayer, and in their functions.

The cell surface glycoproteins are significantly changed during the course of erythroid differentiation. The characterization of glycoprotein by cell surface labeling and endo- β -galactosidase treatment revealed the following stage-specific membrane glycoproteins: Gp 80 for the progenitor cells, Gp 95 for proerythroblasts, and Gp 105 for erythroblasts. Considerable evidences suggests that the microenvironment, including cell to cell interactions, play a role in controlling the differentiation of haematopoietic cells. The possibility that of specific surface glycoproteins are involved in cellular recognition is also discussed.

Key words: Band 3 ; Band 4.5 ; Glucose transporter ; Endo- β -galactosidase ; Lactosaminoglycan

1. ヒト成熟赤血球の細胞膜複合糖質
2. ラクトサミノグリカンとエンド- β -ガラクトシダーゼ

3. 赤血球の分化過程における細胞膜複合糖質の変化
 4. 赤血球の分化と細胞間相互作用
 5. おわりに
-

細胞の分化とは、ある細胞が特定の遺伝子産物を生産することで特徴づけられ、そのように変化した細胞の性質が不可逆的な状態に固定されることと言えらる。赤血球の分化を例にとると、多能性をもった血液幹細胞がなんかの機構で「赤血球になる細胞」へと方向づけられ、細胞分裂をくり返ししながら形態と機能を変え、大量のヘモグロビンを生産し、核を細胞外に放出することで分化を終了する。

血液細胞は、各細胞の形態も機能も多様で、したがってそれらの分化過程も複雑であるのかかわらず、これまでに多くの研究者が、細胞分化の研究対象として、血

液細胞をとりあげてきた。その理由として以下のことが挙げられる。①造血細胞は、成体中でも常に分化と成熟を続けている若い細胞であり、その分化過程を解明することは、胚発生における細胞分化過程を明らかにすること共通している。②白血球細胞のいくつかは、未分化な血液細胞の状態にとどまっていると考えられ、それらの細胞は分化途中の血液細胞を反映するモデルとして扱える。③白血病や再生不良性貧血など、血球細胞の分化と増殖に関係の深い病気の原因追求と治療の要求がある。ここでは、血液細胞の中でも赤血球の分化を中心に、細胞膜糖タンパク質の変化について述べたい。なお、顆粒

球系やリンパ球系細胞の膜糖タンパク質については、他の総説を参照されたい^{1,2)}。

赤血球膜は、生体膜の中で最も解析のすすんだ膜系であり、現在までに細胞膜構成タンパク質、脂質成分の構造研究をはじめ、能動輸送にみられるような膜の機能、血液型など細胞表面の抗原性等に関して基礎的な知識が蓄積されている。細胞分化と細胞表面膜が、どのようなかわりをもつのかを研究するにあたって、少なくとも、その最終産物である赤血球膜について研究がすすんでいることは大きな利点といえよう。以下では、赤血球膜の複合糖質と、赤血球分化過程での細胞膜糖タンパク質の変化について解説し、血液細胞の分化過程において細胞膜複合糖質の果たす役割について考察したい。

1. ヒト成熟赤血球の細胞膜複合糖質

成熟した赤血球は、無核で、細胞内膜系も消失しているので、膜構造をとっているものは細胞膜だけである。したがって、赤血球を低張液で処理し、遠心するだけでほぼ均一な細胞膜が調製できる。このように赤血球膜は、容易にかつ大量に得られるので、細胞膜一般のモデルとしてきわめてよく研究されてきた。赤血球膜のタンパク質全般に関しては、いくつかすぐれた総説^{3,4)}もあるもので、ここでは主に糖タンパク質について述べることにしたい。

赤血球膜に存在する糖タンパク質は、大きく分けて2種類に分類される。その第一は、シアロ糖タンパク質で、それらは、赤血球膜タンパク質を SDS ゲル電気泳動で分離したあと、過ヨウ素酸-シッフ染色をすると、赤色のバンドとして検出される。この検出法は、シアロ酸の C₇~C₉ にシスグリコール構造があり、過ヨウ素酸で酸化されやすいことと、シアロ糖タンパクがシアロ酸を含む糖鎖を多数結合していることによっている。シアロ糖タンパクには、グリコフォリン A, B および C と呼ばれる3つの分子があり⁵⁾、それらの分子の重合体が与える見かけの分子量に応じて、PAS-1, 2, 3 および -4 とも表わす⁶⁾ (Fig. 1)。

シアロ糖タンパク質群のうち70%以上を占めるグリコフォリン A は、131 残基のアミノ酸と 12~14 本の Ser/Thr 結合型 (O-グリコシド型) 糖鎖および 1 本の Asn 結合型 (N-グリコシド型) 糖鎖からなり、糖含量は 60% にも及ぶ^{7,8)}。グリコフォリン A の分子はその N 端部分を外側に、C 端部分を内側にして細胞膜をつらぬいたかっこうで存在している (Fig. 2)。N 端部分には糖鎖が結合していて、アミノ酸残基も親水性のものが多く、73

Fig. 1 ヒト成熟赤血球膜の糖タンパク質

SDS-ゲル電気泳動による分析 1, 2 はクマシーブルーによるタンパク質の染色、他はフルオログラフィを示す。ゲル 3, 4 はガラクトースオキシダーゼ/ $\text{NaB}[\text{H}]_4$ 法で、ゲル 5, 6 は過ヨウ素酸/ $\text{NaB}[\text{H}]_4$ で標識した。ゲル 1, 2 はゲル 3, 4 をフルオログラフィする前にタンパク質染色でみたもの。ゲル 1, 3, 5 はエンド- β -ガラクトシダーゼ処理前、ゲル 2, 4, 6 は酵素処理後。ガラクトースオキシダーゼ法がバンド 3 とバンド 4.5 を主に標識し、過ヨウ素酸法は、シアロ糖タンパク質を標識する。エンド- β -ガラクトシダーゼは、バンド 3 やバンド 4.5 の糖鎖に作用するが、シアロ糖タンパクには作用しない。

グリコフォリン バンド 3

Fig. 2 ヒト赤血球膜糖タンパク質の存在様式

グリコフォリン A とバンド 3 の場合を模式的に示した。小さい白丸は糖残基を表わす。

残基目から約20残基は非極性アミノ酸からなる疎水性部で、脂質2重層内で疎水結合に関与している。C端側は親水性アミノ酸とプロリンを多く含む。分子の中ほどの疎水性領域をはさむ位置に、それぞれヒスチジンと塩基性アミノ酸に豊む小領域があり、これらは脂質2重層のリン酸基とのイオン結合にあずかっていると推定される。

グリコフォリンAのN端付近のアミノ酸配列は、MN式血液型を決定している^{9,10}。すなわち、M型活性は、N端がSerで5残基目にGlyを、N型活性は、N端がLeuで5残基目はGluである。なお、MN型活性は、赤血球をシアリダーゼ処理すると失われるので、糖鎖が型活性を担っていると考えられたこともあったがM型およびN型由来の糖鎖には違いが見出されない。MN型活性の発現には、シアル酸をもった糖鎖によって維持される糖ペプチドの高次構造が重要であると推定されている¹¹。

グリコフォリンBは、Ss式血液型をになっている¹²。グリコフォリンBは、N端から25残基まではN型由来のグリコフォリンAと同一だが、26番目からは全く異なったアミノ酸配列をもつ¹⁰。Ss式血液型活性は、28番目のアミノ酸がS型ではMet、s型ではThrで、やはりペプチド部分によって決定されている¹³。グリコフォリンBの糖鎖は、グリコフォリンAに含まれるSer/Thr結合型糖鎖と類似のものと考えられている。アフリカのある地域にはSs型形質を欠くS-s-の人が多いことが知られているが、これらの場合、グリコフォリンBの糖鎖が欠損している¹⁴。Ss型活性も、糖鎖の存在が発現に必要なのであろう。なおUu式血液型もシアロ糖タンパクと関係があるらしいが詳細はわかっていない¹⁵。

グリコフォリンは膜タンパクの中で、はじめて一次構造が決定され、糖鎖構造も解明されているが、生物学的機能については明らかでない。上記でのべたような血液型を担っているが、例えばグリコフォリンAを欠損しているEn(a-)の人でも、臨床的には正常で、疾患との相関も見出されていない¹⁶。

赤血球膜糖タンパク質の第二の群に属するものは、バンド3とバンド4.5である。バンド3は、陰イオン透過に関与することが知られている。バンド4.5は、いろいろな成分の混合で、例えば、バンド3が膜内のプロテアーゼの作用で切断されるとその断片はバンド4.5付近に電気泳動されることが知られている¹⁷。しかし、ここでは、バンド4.5の主成分と思われるグルコース輸送タンパクについて述べる。

バンド3は、赤血球膜の20%近くを占める主要タンパ

ク質で、SDSゲル電気泳動で特徴的なブロードなバンドを与える(Fig. 1)。バンド3の糖含量は、5~7%と、比較的低いが、その糖鎖は、不均一で、長鎖のものが多^{18~21}。現在までの解析では、ペプチド部分は均一で、糖部分が不均一なためにブロードなバンドとして挙動すると考えられている。バンド3のアミノ酸は非極性のものが多く、ペプチド鎖のかんりの部分は、脂質2重層の中に埋めこまれている。膜内でのペプチドの在り方は、グリコフォリンとは異なっていて、ペプチド鎖は4~5回脂質2重層を行き来して折りたたまれ、N端は細胞質側に、C端は細胞の外側に露出している^{18,22~24}。C端に近いところにAsn結合型糖鎖が1本ついている。このようなバンド3の脂質2重層内での配向は、その生合成に際して膜へくみこまれる様式が、グリコフォリンとは異なっていることを示唆している。

バンド3に結合している糖鎖は、分子量7,000~2,000ダルトンの間に分布するが、特に長鎖のものは、今まで知られていた鎖タンパク質糖鎖とは異なっている¹⁹。従来、糖タンパク糖鎖は、O-グリコシド型とN-グリコシド型が知られ、N-グリコシド型糖鎖には、さらに高マンノース型(マンノース5~9残基およびN-アセチルグルコサミン2~4残基よりなる)と複合型(マンノース3残基、N-アセチルグルコサミン2残基のコア構造にガラクトース、N-アセチルグルコサミン、フコース、シアル酸が付加したもの)が見出されていた²⁵。バンド3の糖鎖はラクトサミノグリカンと我々は名づけているが、その側鎖はガラクトースとN-アセチルグルコサミンのくり返し構造でできている点に特徴がある(Fig. 3)¹⁹。バンド3のラクトサミノグリカンは、ABO式およびIi式血液型を担っている^{26~28}。またバンド3のタンパク部分はRh式血液型活性があるという報告もあるが、まだ最終的な終論には至っていない^{29,30}。

グルコース輸送タンパクは、バンド3と同様にSDSゲル電気泳動でブロードなバンドとして挙動する³¹。精製したグルコース輸送タンパクに、エンド-β-ガラクトシダーゼ(後述)をはたらかせて、糖鎖部分を除くとよりシャープなバンドとなり、分子量は46,000ダルトンに近づく³²。そこでブロードなバンドを与える原因は、糖鎖部分の不均一性にあると考えられている。グルコース輸送タンパクの糖鎖もラクトサミノグリカン構造をもっている³²。グルコース輸送の阻害剤であるサイトカラシンBとの結合を目安に精製したグルコース輸送タンパクに対する抗体は、バンド3とは交叉反応しないので、両者は、おのおの別の遺伝子の産物と考えられる³³。以上

Fig. 3 ヒト赤血球膜糖タンパク質に存在する糖鎖構造^{19,25)}

A バンド3に結合するラクトサミノグリカン

B グリコフォリンに結合する O-グリコシド結合型糖鎖

のべたように、バンド3とグルコース輸送タンパクは、どちらも物質輸送に関与しており、かつラクトサミノグリカンに結合している点で類似している。グルコース輸送タンパクの膜内での配向などは明らかでないが、バンド3と共通した3次構造をとっているのかもしれない。

2. ラクトサミノグリカンとエンド-β-ガラクトシダーゼ

ラクトサミノグリカンは長鎖の糖タンパク質糖鎖で、ガラクトースと N-アセチルグルコサミンのくり返し構造をしている。バンド3、グルコース輸送タンパクの他にマウスや人の奇型腫細胞表面糖タンパク質、顆粒球系細胞の膜などにラクトサミノグリカンは見出されている^{19,32,34~37)}。ラクトサミノグリカンにみられるくり返し構造は、血液型活性をもつラクトシリーの糖脂質にも存在している³⁸⁾。ヒト赤血球には、ラクトシリーに属する糖残基およそ30からなる多糖脂質があることが報告されている³⁹⁾。したがって、ラクトサミノグリカンの側鎖はこれらラクトシリーの糖脂質糖鎖と共通しているとも言える。

ラクトサミノグリカンとラクトシリーに属する長鎖の糖脂質は、いずれも血液型 Ii 活性や ABH 活性を担っている。他に P₁ 型活性⁴⁰⁾、胚発生の初期に特異的な SSEA-1 抗原や F9 抗原もラクトシリーの構造で発現されることが示されている^{34,40)}。これらの抗原性は、細胞の分化あるいはガン化に際して変化することが観察されており^{41,42)}、分化やガン化に伴う細胞膜の変化との関連が注目される。

Fig. 4 エンド-β-ガラクトシダーゼの基質特異性^{44~48)}

エンド-β-ガラクトシダーゼ (*E. freundii*) はこの図で示すように直鎖のラクトサミノグリカン構造を加水分解する。最近、ヒト赤血球から得られた x₂-糖脂質の加水分解様式から GalNAcβ1→3Galβ1→4GlcNAcβ1→4GlcNAcβ1→R 構造にも酵素は作用することがわかったので⁴⁸⁾、この酵素の最小要求基質構造は GlcNAc (or GalNAc) β1→3Galβ1→4GlcNAc (or Glc) と表わせる。Ii はおのおの I-抗原、i-抗原構造を示す。

糖鎖がラクトサミノグリカンに属するか否かは *Escherichia freundii* の生産する、エンド-β-ガラクトシダーゼで加水分解されるか否かで判断されてきた^{19,27,34~37)}。現在エンド-β-ガラクトシダーゼとして広く応用されているこの酵素はもととムコ多糖の一種であるケラタン硫酸分解酵素として発見された⁴³⁾。Fig. 4 に示すように、ケラタン硫酸は、Galβ1→4GlcNAcβ1→3のくり返し構造に硫酸基が付いたポリマーである。我々は、血液型活性糖タンパク質 (卵巣腫瘍由来) や大腸ムチン、人乳オリゴ糖、赤血球の血液型活性糖脂質なども上記の

2 糖単位を持つことに注目して、エンド- β -ガラクトシダーゼを作用させたところ、いずれの物質も加水分解されることがわかった^{44~46)}。この酵素は $R \rightarrow \text{GlcNAc} (\text{GalNAc})\beta 1 \rightarrow 3 \text{ Gal } \beta 1 \rightarrow 4 \text{ GlcNAc}$ (または Glc) の構造があれば、 β -ガラクトシド結合を加水分解し、オリゴ糖を生じる。さらに、ラクトサミノグリカンに分枝構造 (Fig. 4 参照) があるとエンド- β -ガラクトシダーゼは作用しないことも明らかになった^{19,27,41)}。このような基質特異性を応用して、糖脂質、オリゴ糖の構造決定さらに、ラクトサミノグリカンの構造研究に、エンドガラクトシダーゼは利用されている^{19,34,35,47~50)}。

次に、細胞の表面に露出している糖鎖に直接エンド- β -ガラクトシダーゼを作用させて、細胞表面の性質を変える試薬となり得るか興味をもたれる。そこで赤血球をモデルとして、抗原性の変化、糖タンパク質と糖脂質の変化、および遊離してきたオリゴ糖について調べた結果から、本酵素が直接細胞表面糖鎖に働く様式についてのべる²⁷⁾。

赤血球をエンド- β -ガラクトシダーゼを含む等張液で処理した後、様々な抗血清や抗糖脂質抗体による凝集性を観察すると以下ようになる。① Li 活性の消失、② ABH 活性の減少、③ アミノ CTH と同じ末端、 $\text{GlcNAc } \beta 1 \rightarrow 3 \text{ Gal } \beta \rightarrow$ の増加、④ グロボシド構造は不変である。このような結果は、エンド- β -ガラクトシダーゼの基質特異性から一般に期待されることでもある。

それでは、このような抗原性の変化が、細胞膜複合糖質のどのような分子の変化に起因するのであろうか。ガラクトースオキシダーゼ/ $\text{NaB} [^3\text{H}]_4$ 法⁵¹⁾ および過ヨウ素酸/ $\text{NaB} [^3\text{H}]$ 法⁵²⁾ で、それぞれ細胞表面に露出している糖鎖のガラクトースおよびシアル酸末端を特異的に標識し、それからエンド- β -ガラクトシダーゼで $[^3\text{H}]$ -標識の赤血球を処理し、細胞膜を取り、タンパク質は SDS-ゲル電気泳動で、糖脂質は薄層クロマトグラフィで分析した。Fig. 1 に示すように、ガラクトースオキシダーゼ法で標識した糖タンパク (バンド 3 とバンド 4.5) はエンド- β -ガラクトシダーゼでよく分解されるのに対して、過ヨウ素酸で標識した糖タンパク (PAS-1, 2, 3 および 4) の糖鎖は分解を受けないことがわかる。バンド 3 に結合している糖鎖とシアロ糖タンパク質の糖鎖は構造的に異なっている (Fig. 3 参照) のでこの方法は、糖タンパク質糖鎖の構造に関する情報を与えると同時にその担体タンパク質の同定を可能にする方法であるといえる。一方、糖脂質の分析 (Fig. 5) が示すことは、ラクト

Fig. 5 赤血球膜表面の糖脂質に対するエンド- β -ガラクトシダーゼの作用²⁷⁾

赤血球表面をガラクトースオキシダーゼ/ $\text{NaB} [^3\text{H}]_4$ 法 (A) および過ヨウ素酸/ $\text{NaB} [^3\text{H}]_4$ 法でのおおの標識し、エンド- β -ガラクトシダーゼ処理をしてから膜を調製し、中性糖脂質 (A) と酸性糖脂質 (B) について薄層クロマトグラフィで分析した。H₂-糖脂質など直鎖のラクトシリース構造をもつものは酵素の作用をうけるが、H₃-糖脂質など分枝構造をもつものは、酸素の作用をうけない。また、パラグロボシドなど短鎖のものは、ラクトシリース構造であるが細胞表面にあっては酵素作用をうけない。グロボシドやヘマトシドはおおのグロボシリースおよびガングリオシリースの構造をしているので、エンド- β -ガラクトシダーゼは加水分解しない。

シリースの構造をもつものでも、細胞表面では長鎖でない酵素作用をうけない。例えばパラグロボシドや H₁-糖脂質は、界面活性剤を含む溶液の中ではエンド- β -ガラクトシダーゼの作用でオリゴ糖とグルコシルセラミドになるが、細胞表面でこの酵素の加水分解作用をうけるのは、H₂-糖脂質など長鎖のものだけである。これは、セラミド部分が脂質 2 重層に埋まっているので一番内側のガラクトシド結合には酵素が近づけないためと思われる。

エンド- β -ガラクトシダーゼは細胞表面の糖鎖 (バンド 3, バンド 4.5 そして長鎖の糖脂質) を加水分解し

Fig. 6 赤血球の分化・成熟

幹細胞は同定し得ないので、想像図である。

てオリゴ糖を遊離させる。このオリゴ糖を分析すれば、ラクトサミノグリカンがどんな構造をしているか推定できる。正常人の成人の赤血球は I-型を示し、胎児あるいは新生児は i-型であることが知られている。Ii-型活性をもつ糖脂質およびバンド 3 糖鎖の構造研究により、i-型は直鎖のラクトサミン構造、I-型は分枝したラクトサミン構造により、それぞれ決定されていることが明らかにされた^{53,54)}。エンド- β -ガラクトシダーゼにより細胞表面から遊りしてくるオリゴ糖のパターンは、i-型赤血球からは低分子のオリゴ糖のみであるのに対し、I-型からは様々な大きさのオリゴ糖が見出される。エンド- β -ガラクトシダーゼは分枝は残したまま直鎖部分を切断するので (Fig. 4)、様々な大きさのオリゴ糖が分解産物として生ずる 事実 は Ii 抗原構造の解析とエンド- β -ガラクトシダーゼの基質特異性の両者から期待される結果でもある。

Ii 式血液型活性は、従来糖脂質にあると言われていた。事実、抗 Ii 抗体や抗 AB 抗体を用いて、可溶化した膜から抗原抗体複合体をとってくると主に糖脂質が回収される。一方、化学量から見ると糖タンパク質糖鎖の占める割合は、これら糖脂質にくらべ圧倒的に多い。現在までのところ、ラクトサミノグリカンを結合する糖タンパク質を糖鎖抗原としての性質をもとに単離することはむづかしく、今後に残された課題である。

3. 赤血球の分化過程における細胞膜複合糖質の変化

Fig. 6 に赤血球系細胞の分化、成熟過程を示した。赤血球系の細胞として、骨髄中で形態的にも同定できるのは前赤芽球で、それ以前の赤芽球前駆細胞や血液幹細胞の存在は、それぞれ赤芽球コロニー形成能や、脾コロニー形成能の活性をみることでその存在を検出すること

はできるが、細胞そのものを区別してとり出すことはできない。前赤芽球は、エリスロポエチンというホルモンに感受性を示し、分裂と増殖をくり返ししながら、次第に形が変わっていく。まず細胞質中にリボソームが増えてきてさかんにヘモグロビン合成がはじまるため好塩基性となる。さらにヘモグロビン合成がすすむと細胞全体が赤味をおびてくる (多染性)。その後はリボソームの数はピークをすぎて減少し始めるが、ヘモグロビンは蓄積されるので正染性となり、そのころから核は濃縮しはじめる。核が細胞外へ放出されて無核のしかもまだポリソームの残っている状態 (網赤血球) を経て最終的にはポリソームも消え、ヘモグロビン合成もやめた状態の赤血球になる。前赤芽球から赤血球までは 3~4 回の分裂で、赤血球の大きさは前赤芽球にくらべて 1/8 に減少する。

このような赤血球分化において細胞膜複合糖質を調べる場合、各段階の細胞が得られれば望ましいが、現段階ではその系が得られていない。我々は、赤芽球をあらわすものとして、エリスロポエチン存在下で培養して得られる赤芽球コロニーを集めて用いた。また、前赤芽球の段階をあらわすものとして、ヘミンや酪酸でヘモグロビン合成を誘導することが示され、赤芽球系白血病細胞であると考えられている K562 細胞を用いた。

i) 赤芽球の細胞表面糖タンパク質

赤芽球に相当する細胞は、*in vitro* の培養で得ることができる⁵⁵⁾。すなわち、骨髄や末末血に存在する赤芽球コロニー形成細胞 (CFU-E) や赤芽球コロニー群形成細胞 (BFU-E) とよばれる前赤芽球の段階にある細胞にエリスロポエチンを作用させ、分化を誘導する。形成された赤芽球コロニーを集め、赤血球膜の糖タンパク質を分析した方法 (細胞表面標識とエンド- β -ガラクトシダーゼ) にならって細胞膜糖タンパク質をしらべた (Fig. 7)。結果を要約すると以下のようになる³⁷⁾。①グリコフォリ

Fig. 7 赤芽球の細胞表面糖タンパク質のゲル電気泳動³⁷⁾

1, 6 はそれぞれヒト新生児の成熟赤血球をガラクトースオキシダーゼ法と過ヨウ素酸法で標識したもの。2, 3 はガラクトースオキシダーゼで、4, 5 は過ヨウ素酸で標識した培養赤芽球。

ンAが主要な糖タンパク質として検出される、②バンド3やバンド4.5の量はごく微量である、③ラクトサミノグリカンの量は成熟赤血球にくらべてはるかに少ない、④赤血球にはない GP 105 や GP 95 が存在する。

ラクトサミノグリカンの構造は、新生児の血液（ぎ帯血）を用いて形成された赤芽球は直鎖（i-型）であるのに対し、成人の血液由来のそれでは分枝（I-型）構造を示した。この結果は、赤血球の分化過程でのラクトサミノグリカンの分枝は、未分化→分化の系列よりも、胎児→成人という発達段階に応じて発現されてくるといえる。これに対し、ラクトサミノグリカンの量は、未分化→分化の過程で徐々に増加し、特に最終段階の赤血球になる時に急速に増えてくる。ラクトサミノグリカンの量は、バンド3やバンド4.5の量と比例しているように思える。この糖鎖を合成する糖転移酵素の発現がバンド3などのタンパク質合成と軌を一にただけなのか、糖転移酵素が存在しても適当なタンパク質受容体がないとラクトサミノグリカンが合成されないのか、現段階で結論はできない。

ii) 前赤芽球の細胞表面糖タンパク質

K562 細胞は、顆粒球系の白血病細胞とされていたが、Gahmberg ら⁵⁶⁾ がヘモグロビンが誘導合成され、かつグリコフォリンAが検出されることを見出して以来、赤血球系の白血病細胞として様々な角度から性質が調べ

Fig. 8 K562 細胞の表面糖タンパク質のゲル電気泳動⁶¹⁾

1 と 8 はそれぞれヒト成人成熟赤血球をガラクトースオキシダーゼ法と過ヨウ素酸法で標識したもの。2～7 は K562 細胞の表面糖タンパク質を示す。2, 3 はガラクトースオキシダーゼ法、4, 5 は過ヨウ素酸法、6, 7 は [³H]-グルコサミンをとり込ませた。2, 4, 6 はエンド-β-ガラクトシダーゼ処理前、3, 5, 7 は酵素処理後の K562 細胞から抽出された膜糖タンパク質を示す。

られた。K562 細胞は、胎児型ヘモグロビンを誘導合成することその細胞表面マーカーから前赤芽球の段階にあると考えられるが⁵⁷⁻⁵⁹⁾、顆粒球系細胞の表面マーカーも見出され⁶⁰⁾、幹細胞に近い状態では、細胞表面マーカーも完全に分離していないと考えられる。

我々は、K562 細胞の表面糖タンパク質を、前述した方法で分析した⁶¹⁾ (Fig. 8)。その結果は以下のように要約される。①ガラクトースオキシダーゼで標識される糖タンパク質は微量で、シアル酸を末端に結合する糖鎖の方が多い。②ラクトサミノグリカンも微量である。③バンド3やバンド4.5は存在しない、④Gp 105 や Gp 95 が存在する、⑤グリコフォリンAがわずかにある、⑥ラクトサミノグリカンは直鎖構造（i-型）をとる。

さらに K562 細胞にガン化のプロモーターとして知られる TPA(12-O-tetradecanoyl-phorbol-13-acetate) を作用させると、浮遊細胞である K562 はプラスチックの培養器に付着するようになり、形態的にも広がって平たくなり、いかにも幹細胞らしくなったように思える (Fig. 9)。細胞表面糖タンパク質を分析した結果 (Fig. 10) も、より未分化な方向へと変化していくことが示された⁶²⁾。すなわち K562 にわずかにあり赤血球になるまで徐々に

Fig. 9 がん化のプロモーター TPA 存在下で培養した K562 細胞の形態変化⁶²⁾

A : K562 細胞, B : パネル A の矢印で示す細胞の拡大図, C : TPA 処理後の K562 細胞, D : パネル C の矢印の細胞の拡大図, E : TPA 処理後にみ出される 付着性の細胞, F : TPA のアナログ (4 α -PDD プロモーター効果はない) で処理した細胞.

増える傾向にあるグリコフォリンは消失する. Gp 105 は赤芽球で最大値をとると考えられるがそれも消失する. Gp 95 は TPA で変化はみられず存在しつづける. 新しい糖タンパク質 Gp 80 が出現する. Gp 105 は成熟

赤血球にもわずかだが検出されるのでこれらの結果は, 幹細胞に近い段階から 赤血球になるまでに Gp 80, Gp 95, Gp 105, グリコフォリンの順で発現してくることを示している (Fig. 11). このような膜糖タンパク質パター

Fig. 10 K562 細胞の表面糖タンパク質に対する TPA の効果⁶²⁾

1. (OM, TPA), 2. (10^{-9} M TPA), 3. (10^{-8} M TPA), 4. (10^{-7} M TPA), 5. (10^{-6} M TPA), 各々に示した TPA 濃度の存在下で K562 細胞を培養し, 細胞表面糖タンパク質を過ヨウ素酸法で標識してみたもの, 三角の印は, Gp 80 を示す.

Fig. 11 ヒト赤血球の分化過程における細胞表面糖タンパク質及びラクトサミノグリカンの消長.

ンは, 不十分ながら各段階の細胞表面を特徴づけるパラメーターといえる.

バンド3やバンド4.5は赤芽球以降, 赤血球分化の最終段階で急速に合成される. 前述したように, バンドは

陰イオン透過作用を担っており, ヘモグロビンが炭酸化されたときその CO_3^- を Cl^- と交換する機能を果たす. バンド4.5 (グルコース輸送タンパク) も, 核のない赤血球が血流中で120日間も生きつづけるためには, グルコースを利用した解糖系のエネルギーが必要で, そのためが増えてくるのであろう.

4. 赤血球の分化と細胞間相互作用

今まで述べてきた赤血球の分化過程は, 成人の骨髄中で毎日くり返されている. 血球細胞の分化は, 胚発生の段階から成人まで, 特定の造血部位で選択的に起こっている. 血球分化は, 造血組織の基質を構成する細胞群との相互作用ぬきでは理解し得ない.

血液幹細胞は胚の卵黄嚢に発生する. その時期は人の場合3週間目にはその存在を確認することができ, おそらく最初の造血幹細胞の発生は受精後3日目くらいとも想像されている⁶³⁾. 発生がすすむと, 卵黄嚢の中に赤芽球系コロニーが形成され, 血島として観望されるようになる. この時期には, 顆粒やマクロファージになる前駆細胞も存在しているが, それらの分化は抑制されているらしい⁶⁴⁾. 発生がさらにすすみ, 循環系ができてくると, 造血細胞は循環系を通して移動し, 次々に体内の造血組織に着床し, 条件に応じて様々な血液細胞にそれぞれ分化する. 胎児期の主な造血の場は肝臓であり, 成人では骨髄である. すなわち, 肝, 脾, 骨髄などの組織は, 赤血球や顆粒球分化に, 胸腺はリンパ球分化に最も都合のよい環境を提供していることになる.

卵黄嚢に発生する赤芽球コロニーは, 外胚葉性の外皮内細胞と, 胚葉性の内皮細胞にはさまれた中胚葉細胞層に出現する. この際, 内皮細胞の存在により赤芽球分化が促進されることが知られている^{65, 66)}. たとえば, 卵黄嚢から内皮細胞を除いてしまうと赤芽球コロニーができにくくなる. また, 内皮細胞との直接接触を少なくするような処理 (他の細胞を混入させるなど) をするとやはりコロニーの生育がわるくなる. 赤芽球の分化には, 内皮細胞に囲まれた環境あるいは内皮細胞との直接接触が効果をもつと考えられる.

卵黄嚢でつくられる赤芽球コロニーは, 単一のクローンから増殖したものではなく, いくつかの前駆細胞が集ってから増殖し, コロニーの形をとる⁶⁶⁾. すなわち赤芽球の前駆細胞は, 互いに相手を認識して集まり, 集まることによって発育しやすい条件をつくり, 赤芽球になると思われる. 赤芽球コロニーは血島ともいわれるように顆粒球コロニーやマクロファージのコロニーと違って緊

密に集まっている。このようなコロニーの性質をうらづけるかのように、赤芽球の細胞どうしを凝集させる物質の存在が示されている⁶⁷⁾。これは赤芽球の表面に存在するタンパク質で、ガラクトースを末端にもつ糖鎖を認識して凝集を起こす「レクチン」である。赤芽球は、成熟するにつれて、細胞相互の粘性性を失うが、この凝集物質も次第に減少し、網内細胞になるころには消失してしまう。このような凝集活性物質が消失することにより、あるいは、赤血球細胞表面の糖タンパク質に変化が起こり、末梢血液中に遊離しやすいようになると考えられる。

最近、骨髓細胞を *in vitro* で長期培養することが可能になり、造血の場と、血液細胞分化の関連を研究する実験モデルとして注目される。フラスコ内に移された骨髓細胞は、まずプラスチックに付着性の細胞群を形成する。そして、それら基質をなす細胞群から、赤血球、マクロファージ、顆粒球など、が数カ月間にわたって生産・遊離されてくる。この場合、造血細胞の保持と分化に、骨髓由来の細網内皮系細胞による基質形成が不可欠である。基質をなす細胞には、食食能をもつ単核細胞、内皮細胞、大型の脂肪細胞などがみられ、それらの細胞のタイプに従って、選択的な血液細胞の分化がみられる⁶⁹⁾。

ここで述べたように、造血組織での細胞間相互作用が血球分化を促すのは様々な事実から支持されるが、その実体について、ホルモンのような液性因子の局在、細胞同志を凝集させる物質の存在、他の細胞との直接接触、あるいは細胞間マトリックスを介しての間接的接触による三次元的構造の維持など、近い将来具体的に明らかにされるであろう。すでに述べたように、赤血球の分化過程では、それぞれの分化段階に特異的な細胞表面糖タンパク質が存在する。これらの糖タンパク質もこれら造血微細環境との関連でとらえなおしていくならば、細胞膜複合糖質の機能も明らかになっていくと期待される。

5. おわりに

自然の生物現象にみられる細胞間相互作用に、細胞表面糖鎖が関与しているのではないかという期待は、糖が少ない残基数で最も多くの特異構造をとり得るということに根拠をおいている。単細胞生物では、バラバラにしたカイメンの再集合や酵母の接合の際に表面糖鎖が特異性を決定している例が知られている^{70,71)}。酵母細胞には、雄株と雌株があり、栄養状態がわるくなると接合するが、互いに性別を見分ける分子は細胞表面の糖タンパク質で、マンノースからなる糖鎖構造の違いが性別を決定している⁷¹⁾。多細胞生物では、糖構造を認識して細胞どうしを

凝集させる活性をもつタンパク質(動物レクチン)が多数報告されているが⁷²⁾、真に生理的状态で糖鎖認識物質として機能しているかどうかという点になるとむしろ否定的である。例えば、筋原細胞が筋肉細胞に分化する際には、細胞接着につづいて細胞触合が起こる。筋原細胞には、ガラクトースを認識するレクチンがあるので、細胞間認識に関与していると考えられたが、現在では細胞融合の現象とは関連がないとされている⁷³⁾。他の例をあげると、視神経が視葉細胞と連結する際に、視葉細胞の網膜上の位置によって視神経との接着に選択がみられる⁷⁴⁾。この現象は、視葉細胞の表面にあるレセプターの量の違いとされている。網膜上の位置によって分布の違う細胞表面物質として、ガラクトースを末端にもつ糖脂質が候補にあげられ、認識する分子として糖残基転移酵素や動物レクチンの可能性が考えられている⁷⁵⁾。一方、Nirenberg のグループは、細胞の位置によって分布を異にする細胞表面物質に対するモノクローナル抗体をつくり、神経細胞の認識と関連のありそうな細胞表面物質を見出した⁷⁶⁾。しかしこの抗体で認識される分子に糖は関与していない。

哺乳動物の初期胚には F9 抗原と呼ばれる細胞表面特異抗原が存在し、その抗原性はフコースを含むラクトサミノグリカン構造をもつ糖鎖であることが知られている^{34,77)}。同様にマウス初期胚に特有のモノクローナル抗体で認識される抗原(SSEA-1)⁷⁸⁾ が Gal β 1 $\rightarrow$ 4 (Fuc α 1 $\rightarrow$ 3) GlcNAc β 1 $\rightarrow$ 構造をとることがわかり、フコース残基の重要性が注目された⁴⁰⁾。一方、そのような細胞には、フコースを認識するレクチン活性をもつタンパク質が存在している⁷⁹⁾。このようなレクチン活性をもっている分子が実際に初期胚で F9 抗原などの糖鎖を認識して細胞同志の接着の機能を果たしているかは未だ明確でない。このように細胞表面糖鎖は「細胞の顔」として認識される分子としての役割を期待されてきたのにかわらず、多細胞生物で細胞分化や細胞相互活用において特異性を発揮している例は確立していない。ラクトサミノグリカンは細胞表面糖鎖として存在し、特異な抗原性を示す。その意味で細胞表面が他の細胞との相互作用にあずかり、特異性が糖鎖により決定されているとしたら、ラクトサミノグリカンはそのような役割を果たす可能性の最もつよい分子ということになるであろう。

文 献

- 1) 福田 穰, 福田道子: 細胞認識と動物レクチン, 大沢利昭編, 講談社サイエンティフィック (1982)

- 2) Fukuda, M., Fukuda, M. N.: *J. Supramol. Str. and Cellular Biochem.*, **17**, 313-324 (1981)
- 3) 横山一成, 辻 勉, 大沢利昭: 蛋白質・核酸・酵素 **27**, 985 (1982)
- 4) Marchesi, V. T., Furthmayr, G., Tomita, M.: *Ann. Rev. Biochem.*, **45**, 667 (1976)
- 5) Furthmayr, H.: *J. Supramol. Struct.*, **9**, 79 (1978)
- 6) Fairbanks, G., Steck, T. L., Wallach, D. F. H.: *Biochemistry*, **10**, 2606 (1971)
- 7) Tomita, M., Marchesi, V. T.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **72**, 2964 (1975)
- 8) Tomita, M., Furthmayr, H., Marchesi, V. T.: *Biochemistry*, **17**, 4756 (1978)
- 9) Waśniowska, K., Drzeniek, Z., Lisowska, E.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **76**, 385 (1977)
- 10) Furthmayr, H.: *Nature* **271**, 519 (1978)
- 11) Prohaska, R., Koerner, T. A. W., Armitage, I. M., Furthmayr, H.: *J. Biol. Chem.*, **256**, 5781 (1981)
- 12) Hamaguchi, H., Cleave, H.: *Biochem. Biophys. Acta*, **278**, 271 (1972)
- 13) Dahr, W., Beyreuther, K., Steinbach, H., Gielen, W., Kruger, J., Hoppe-Seylers, Z.: *Physiol. Chem.*, **361**, 895 (1980)
- 14) Tanner, M. J. A., Anstee, D. J., Judson, P. A.: *Biochem. J.*, **165**, 157 (1977)
- 15) Lowe, R. F., Moores, P. P.: *Human Heredity*, **22**, 344 (1972)
- 16) Gahmberg, C. G., Myllyla, G., Leikola, J., Pirkola, A., Nording S.: *J. Biol. Chem.*, **251**, 6108 (1976)
- 17) Tarone, G., Hamasaki, N., Fukuda, M., Marchesi, V. T.: *J. Memb. Biol.*, **48**, 1 (1979)
- 18) Fukuda, M., Eshdat, Y., Tarone, G., Marchesi, V. T.: *J. Biol. Chem.*, **253**, 2419 (1978)
- 29) Fukuda, M., Fukuda, M. N., Hakomori, S.: *J. Biol. Chem.*, **254**, 3700 (1979)
- 10) Tsuji, T., Irimura, T., Osawa, T.: *J. Biol. Chem.*, **256**, 10497 (1981)
- 21) Gahmberg, C. G., Myllyla, G., Leikola, J., Pirkola, A., Nording, S.: *J. Biol. Chem.*, **251**, 610 (1976)
- 22) Steck, T. L., Koziarz, J. J., Singh, M. K., Reddy, G., Köhler, H.: *Biochemistry*, **17**, 1216 (1978)
- 23) Drickamer, L. K.: *J. Biol. Chem.*, **251**, 5115 (1976)
- 24) Jenkins, R. E., Tanner, M. J. A.: *Biochem. J.*, **161**, 139 (1977)
- 25) Kornfeld, R., Kornfeld, S.: *Ann. Rev. Biochem.*, **45**, 217 (1976)
- 26) Child, R. A., Feizi, T., Fukuda, M., Hakomori, S.: *Biochem. J.*, **173**, 333 (1978)
- 27) Fukuda, M. N., Fukuda, M., Hakomori, S.: *J. Biol. Chem.*, **254**, 5458 (1979)
- 28) Finne, J., Krusius, T., Rauvala, H., Kekomäki, R., Myllylä, G.: *FEBS Lett.*, **89**, 111 (1978)
- 29) Victoriä, E. J., Mahan, L. C., Masouredis, S. P.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **78**, 2898 (1981)
- 30) Moore, S., Woodrow, C. F., McClelland, D. B.: *Nature*, **295**, 529 (1982)
- 31) Kasahara, M., Hinkle, P. C.: *J. Biol. Chem.*, **252**, 7384 (1977)
- 32) Gorga, F. R., Baldwin, S. A. and Lienhard, G. E.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **91**, 955 (1979)
- 33) Baldwin, S. A., Lienhard, G. E.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **94**, 1401 (1980)
- 34) Muramatsu, T., Gachelin, G., Damonville, M., Delarbre, C., Jacob, F.: *Cell*, **18**, 183 (1979)
- 35) Muramatsu, H., Muramatsu, T., Avner, P.: *Cancer Res.*, **42**, 1749 (1982)
- 36) Fukuda, M., Koeffler, H. P., Minowada, J.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **78**, 6299 (1981)
- 37) Fukuda, M., Fukuda, M. N., Papayannopoulou, T., Hakomori, S.: *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **77**, 3474 (1980)
- 38) Hakomori, S.: *Seminors in Hematology*, **18**, 39 (1981)
- 39) Kościelak, J., Miller-Podraza, H., Krauze, R., Piasek, A.: *Eur. J. Biochem.*, **71**, 9 (1976)
- 40) Gooi, H. C., Feizi, T., Kapadia, A., Knowles, B. B., Solter, D., Evans, M. J.: *Nature*, **292**, 156 (1981)
- 41) Kapadia, A., Feizi, T., Evans, M. J.: *Expl. Cell. Res.*, **131**, 185 (1981)
- 42) Feizi, T., Tuberville, C., Westwood, J. H.: *Lancet*, **2**, 391 (1975)
- 43) 北御門 学, 上野 亮二: 日本水産学会誌, **36**, 1175 (1970)
- 44) Fukuda, M. N., Matsumura, G.: *Biochem. Biophys. Res. Chem.*, **64**, 464 (1975)
- 45) Fukuda, M. N., Matsumura, G.: *J. Biol. Chem.*, **251**, 6218 (1976)
- 46) Fukuda, M. N., Watanabe, K., Hakomori, S.: *J. Biol. Chem.*, **253**, 6814 (1978)
- 47) Fukuda, M. N., Hakomori, S.: *J. Biol. Chem.*, **257**, 446 (1982)
- 48) Kannagi, R., Fukuda, M. N., Hakomori, S.: *J. Biol. Chem.*, **257**, 4438 (1982)
- 49) Watanabe, K., Powell, M., Hakomori, S.: *J. Biol. Chem.*, **253**, 8962 (1978)
- 50) Hounsell, E. F., Fukuda, M., Powell, M. E., Feizi, T., Hakomori: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **92**, 1143 (1980)
- 51) Gahmberg, C. G., Hakomori, S.: *J. Biol. Chem.*, **248**, 4311 (1973)
- 52) Liao, T. -H., Gallop, P. M., Blumenfeld, O. O.: *J. Biol. Chem.*, **248**, 8247 (1973)
- 53) Nieman, H., Watanabe, K., Hakomori, S., Child, R. A., Feizi, T.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **81**, 1286 (1978)
- 54) Watanabe, K., Hakomori, S., Child, R. A., Feizi, T.: *J. Biol. Chem.*, **254**, 3221 (1979)
- 55) Papayannopoulon, T., Nakamoto, B., Buckley, J. Kuruchi, S., Stamatoyannopoulos, G.: *Science*,

- 199, 1349 (1978)
- 56) Andersson, L. C., Jokinen, M., Gahnberg, C. G.: *Nature*, **278**, 364 (1979)
- 57) Andersson, L. C., Nilsson, K., Gahnberg, C. G.: *Int. J. Cancer*, **23**, 143 (1979)
- 58) Benz, E. J., Murnane, M. J., Tonkonow, B. L., Berman, B. W., Mazur, E. M., Cavallero, C., Jenko, T., Snyder, E. L., Forcet, B. G., Hoffman, R.: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **77**, 3509 (1980)
- 59) Yurchenco, P. D., Furthmayr, H.: *J. Supramol. Struct.*, **13**, 255 (1980)
- 60) Marie, J. P., Izaguirre, C. A., Civin, C. I., Mirro, J. McCulloch, E. A.: *Blood*, **58**, 708 (1981)
- 61) Fukuda, M.: *Nature*, **285**, 405 (1980)
- 62) Fukuda, M.: *Cancer Res.*, **41**, 4621 (1981)
- 63) Metcalf, D., Moore, M. A. S.: "Frontiers of Biology", **24**, 1, NorthHolland, Amsterdam, London(1971)
- 64) Trentin, J. J.: Regulation of Hemopoiesis, ed by Gordon, A. S. p161, Appleton-Century-Crofts, New York (1970)
- 65) Miura, Y., Wilt, F. H.: *Develop. Biol.*, **19**, 201 (1969)
- 66) Miura, Y., Wilt, F. H.: *Expl. Cell. Res.*, **59**, 217 (1970)
- 67) Harrison, L. F., Chesterton, C. J.: *Nature*, **286**, 502 (1980)
- 68) Trentin, J. J.: "Reguration of Hematopoiesis" ed. by Gordon, A. S. 161, Appleton-Century-Crofts, New York (1970)
- 69) Dexter, T. M., Allen, T. P., Lajtha, L. G.: *J. Cell Physiol.*, **91**, 335 (1977)
- 70) Müller, W. E. G., Zahn, R. K., Kurelec, B., Müller, I., Uhlenbruck, G. Vaith, P.: *J. Biol. Chem.*, **254**, 1280 (1979)
- 71) Yen, P. H., Ballou, C. E.: *Biochemistry*, **13**, 2428(1974)
- 72) Simpson, D. L., Thorne, D. R., Loh, H. H.: *Life Science*, **22**, 727 (1978)
- 73) Den, H., Chin, J. H.: *J. Biol. Chem.*, **256**, 8069 (1981)
- 74) Sperry, R. W.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **50**, 703 (1963)
- 75) Marchase, R. B.: *J. Cell Biol.*, **75**, 237 (1977)
- 76) Trisler, D. G., Schneider, M. D., Nirenberg, M.: *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **78**, 2145 (1981)
- 77) Muramatsu, T., Gashelin, G., Nicolas, J. F., Condomine, H., Jakob, H. Jacob, F.: *Proc. Natl. Acad.*
- 78) Solter, D., Knowles, B. B.: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **75**, 5565 (1978)
- 79) Grabel, L. B., Glabe, C. G., Singer, M. S., Martin, G. R., Rosen, S. D.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **102**: 1165 (1981)

第6回 生体膜と薬物の相互作用シンポジウム 予告

と き: 昭和58年11月24日(木), 25日(金)
 ところ: 京大会館(京都市左京区吉田河原町15-9
 Tel. (075) 751-8311)

主 催: 日本薬学会

協 賛: 日本膜学会, 他

内 容:

- 1) 「薬物」とは広義に解釈し, また生体膜に関連してモデル膜や再構成膜も含めますので, できるだけ広い分野の方々の御参加を期待します。膜に関連した免疫学的研究も歓迎します。
- 2) 講演を(A) 20分+討論約10分と(B) 12分+討論3分の2種類に分け, 前者は総説的内容で討論に重点を置くもの, 後者は一般演題とします。(A)(B)の区分は, 講演申込者の御希望を尊重したうえ, 委員会で決定させていただきます。

- 3) 申し込みを受けた講演のうち, 関連の深い内容のものが多数ある場合は, それらを一群にまとめ, 総合的に運営することも考えております。

講演申込方法

1. ハガキに演題, 所属, 氏名, 連絡先, および講演(A)か(B)の希望を御記入の上, 下記連絡先宛にお申し込み下さい。
2. 講演申込締切は7月23日(土)です。
3. 講演要旨集原稿(1596字詰2~4枚)の用紙は, 講演申し込みの方に8月上旬にお送りします。
4. 講演要旨集原稿の締切は9月30日(金)です。

連絡先: 〒606 京都市左京区吉田下阿達町

京都大学薬学部生物化学教室 山科 郁 男

Tel. (075) 751-2111 内線4552