Gangliosides as Modulators of Synaptic Transmission and Long-Term Neuronal Adaptation

Hinrich RAHMANN

Institute of Zoology, University of Stuttgart-Hohenheim, D-7000
Stuttgart 70 (Hohenheim), Fed. Rep. Germany, FAX: 49-711-459-3450

INTRODUCTION

Gangliosides (= amphiphilic sialic acid-containing glycosphingolipids) are components of all plasma membranes and as such ubiquitous in vertebrate tissues. They are especially abundant and complex in neuronal membranes, where they are anchored in the outer leaflet of the membrane bilayer by their hydrophobic ceramide moiety, while exposing their negatively charged hydrophilic and spacious sialooligosaccharide chain into the extracellular space (Fig. 1). More than 100 different ganglioside species have been identified since Ernst Klenk discovered them in 1935 (for review comp. 1), differing with respect to the chain length, sequence and the number and linkage of sialic acids to the sugar residues. Together with neutral glycolipids, glycoproteins and glycosaminoglycans, gangliosides comprise the glycocalyx of the cell surface of deuterostomian animals (= echinoderms and chordates, including the vertebrates, 2). In contrast in Protostomia (= lower invertebrates, like worms, arthropods, molluscs etc.), animals which are devoid of sialic acids, it appears as though sialic acids may be replaced by other sugars, e.g. by glucuronic acid (mussels, flies) or aminophosphonic acid (snails, 3).

Over the past few years, several thousands of articles on gangliosides have been published demonstrating their structure, physical and chemical properties, occurrence in the animal kingdom, organ and cellular distribu-

tion and metabolism (for review comp. 4-7). The possible functional role of these "sphinx-like" glycosphingolipids in biological processes, however, remains still obscure. The results of research on gangliosides obtained so far have shed light not only on possible functional roles of these lipids with regard to participation in cell recognition, cell-to-cell contact formation, receptor binding and modulation, immunological phenomena, bio-signal transduction etc., but have also unexpectedly opened up a whole new field of possible therapeutic applications of gangliosides in case of various neuropathies of different etiology (8,9). With regard to this, recently significant correlations especially between cell growth, cellular differentiation, oncogenic transformation and tumor progression on the one side, and profound changes in ganglioside composition and biosynthesis, on the other side, have been demonstrated (for review comp. 10-12).

Concerning neuronal cell systems exogenously applied gangliosides were found to stimulate rather than inhibit cell growth, and to have neuritogenic and neuronotrophic properties, capable of influencing not only proliferation and differentiation of nerve cells in vitro, but also neuronal maintenance, survival, and repair in vivo (13). However, since some of the latter studies are still partly contradictory (14), this aspect will not be discussed here, as this special field of research is growing rapidly and has been

シナプス伝達と長期神経適応の調節因子としてのガングリオシド

Hinrich RAHMANN

1. 序章

ガングリオシドすなわち両親媒性のシアル酸含有スフィンゴ糖脂質は、すべての細胞質膜の構成要素であり、そのようにして脊椎動物の組織に偏在する。それは二重膜構造の外側の膜にその疎水性のセラミドにより挿入され、陰性の電荷を持つ親水性の大きなシアロオリゴ糖鎖を細胞の外側に露出しており、特に神経系の膜に多量に存在し、しかも複雑な構造をとっている(Fig.1)。ガングリオシドの種類は糖鎖の長さや配列、そしてシアル酸の数や糖鎖への結合様式の違いによって区別されるが、1935年にErnst Klenkが発見して以来100を超えるガングリオシドが同定されている。中性の糖脂質、糖蛋白質やグリコサミノグリカンとともにガングリオシドは第2胚門の動物(=棘皮動物門と脊索動物、脊椎動物を含む)の細胞膜の複合糖質を構成している(2)。これに対して原口動物(=ミミズのような虫、節足動物、軟体動物などの下等な無脊椎動物)は、シアル酸を持たないが、シアル酸はグル

クロン酸(ムラサキガイ、ハエ)やアミノホスホン酸(ナメコジ、3)のようなほかの糖で置き換えられているようである。

過去数年間に数千のガングリオシドに関する文献が、その構造、物理的・化学的性質、動物界における発現、組織と細胞における分布や代謝について述べている(総説は4-7参照)。しかしながら、生物学的な過程におけるこれら“スフィンクスのように謎めいた”スフィンゴ糖脂質の機能的役割はまだはっきりしていない。これまでに得られたガングリオシドに関する研究の結果は、細胞認識や細胞間の結合、受容体への結合やその調節、免疫学的現象、生物情報伝達などへの関与といったこれら脂質の機能的役割の可能性に光を当てただけでなく、意外にも、異なった病因による種々の神経病の症例においてガングリオシドが治療目的に使用できうというまったく新しい分野を開拓した(8,9)。このことに関しては、最近特に細胞増殖、細胞分化、癌化や腫瘍の増殖といった現象と、ガングリオシドの

Fig. 1. Scheme of synaptic terminal with ganglioside cluster in the outer membrane surface; enlargement: molecular scheme of the membrane including the arrangement of differently polar gangliosides, integral proteins, carrier- and channel proteins and the enzyme neuraminidase, cleaving sialic acids.

reviewed several times (8,9,14). Our knowledge of the possible functional role of endogenous gangliosides in the cellular metabolism, up to now, is still unsatisfactory.

Focussing particularly on the nervous system the present article will try to summarize the current knowledge regarding the possible functional role of gangliosides in neuronal events. With regard to this it has to be emphasized that almost every stage of neuronal activity, especially electro-responsiveness, can be modified significantly by changes in the extracellular calcium concentration. While intracellular Ca^{2+} (μM concentration) within the synaptic terminal was found to act as a secondary messenger for triggering the metabolic reactions of the cell, extracellular Ca^{2+} (mM concentration) is assumed to function as a primary messenger, enabling the internalization of external signals, which in case of neurons means the internalization of the electrically coded information from the pre- to the postsynaptic terminal. It is supposed that changes in the physico-chemical properties of the synaptic membranes are responsible for the short-term event of synaptic transmission of informations as for long-term adaptation processes (e.g. thermal adaptation, regeneration, information storage, 15-20).

On this background the present review will refer to a survey of some major physiological, bio-electrical, biochemical and physicochemical peculiarities of brain gangliosides. In addition a working hypothesis on the possible involvement of brain gangliosides as modulators of synaptic transmission and long-term neuronal adaptive processes will be discussed (comp. 15-20).

2. Synopsis of physiological, bio-

electrical, biochemical and physico-chemical peculiarities of brain gangliosides

Since the number of publication in the various fields of scientific activities of ganglioside research is to some extent overwhelmingly large, in this presentation the discussion of results is focused mainly on those topics which are of special significance for the interpretation of the possible functional role of gangliosides in synaptic transmission and storage of information within the nervous system.

2.1. Physiological peculiarities of brain gangliosides

For an understanding of the physiological functions of gangliosides in nerve cells it may prove important to have detailed knowledge about the occurrence of these glycosphingolipids among the animal kingdom as well as the ontogenetic development including genetic mutants.

2.1.1. Phylogenetic and ecophysiological aspects (for review comp. 2,6,18,21-23)

The brain gangliosides vary significantly in concentration and composition (e.g. degree of sialylation = polarity), depending on the phylogenetic level of nervous organization and the ecophysiological adaptation of the vertebrates to their temperature environment. In lower ectothermic, cold-blooded vertebrates (fish, amphibians, reptiles) the content varies between 100 and 800 μg sialic acid/g fresh wt. of brain; in endothermic, warm-blooded birds and mammals it ranges between 400 and 1500 μg . (Concomitantly a significant decrease in the content of neuronal sialo-glycoproteins is observed). Comparing the ganglioside content from single brain structures (e.g. forebrain, midbrain, brain stem, cerebellum, spinal cord), a general

Fig. 2. Molecular structure of the di-sialogangliosides GD_{1a} and major pathways (a,b,c) of ganglioside biosynthesis.

Fig. 3. Thinlayer chromatograms of brain gangliosides of 8 differently evolved vertebrates: decrease in number of fractions and polarity from fish to mammals.

which continues to adulthood, is preceded by a second, smaller rise of GD₃, probably due to oligodendroglial cell proliferation.

- Finally, during the phase of senescence, a continuous decrease of GD_{1a}, and by this a relative higher proportion of polysialogangliosides, may contribute to a change in the polarity (= rigidity) of the neuronal membranes.

These data revealing significant changes in the biosynthesis of individual ganglioside species during neurogenesis support the assumption that these glycosphingolipids contribute functionally to the various phases of nerve cell differentiation.

2.1.3. Neurological abnormalities of brain gangliosides (for review comp. 34-37)

Many neurological mutations affect specific stages of nervous system development. Attempts had been made to correlate alterations of differentiation of nerve cells during neurogenesis to abnormalities of gangliosides. Concerning this aspect laboratory rodents, especially mice, are useful models for such kind of investigations: In Jimpy mice mutant, being affected in myelin formation, the content of ganglioside-bound sialic acid is reduced. In the Quaking mutant, which is characterized by a major defect in myelin compaction, a pool of GM₁ is particularly linked to myelin. The Trembler mutant affects mainly the peripheral nerves; it is associated with abnormal Schwann cell proliferation. The biosynthesis of GD₃, which in normal cases is indicative for cell proliferation, in this mutant has not been evidenced. GT_{1a} has been found to be significantly reduced in mice mutations resulting in Purkinje cell degenerations in the cerebellum.

Similar as in humans, also in

mice (and cat), lysosomal storage diseases (= gangliosidosis), resembling in some cases Niemann-Pick disease were detected, in which abnormal accumulations of GM₂, GM₁ or GM₃ took place (comp. Fig. 2).

In summary these results concerning abnormalities in the biosynthesis of brain gangliosides (mutants in mice, gangliosidosis in humans) also clearly show that any disturbances in the formation of individual ganglioside species induce significant dysfunctions of neuronal processes.

2.2 Bio-electrical peculiarities of brain gangliosides (for review comp. 18)

As early as 1963 McIlwain (38) demonstrated that exogenously applied gangliosides can restore the excitability of brain slices to electrical pulses. Since then especially Ca²⁺-ganglioside-complexes are assumed to be essentially involved in the properties of excitation, transmission and storage of neuronal information. Several experiments have been carried out investigating the influence of neuraminidase and other compounds which might interfere with sialic acids and thereby change the bio-electrical activities of neurons. Results were obtained from single cell and summation potential measurements in vivo from spinal cord of frogs, optic tract of goldfish and from hippocampal and striatal slices of the rat and guinea pig. Especially the latter experiments revealed partly contradictory results, but it was concluded, that gangliosides play a functional role as neuromodulators for synaptic transmission possibly by modulating the activity of postsynaptic receptors.

In addition to these experiments the influence of exogenously administered gangliosides and other lipids on the electro-responsiveness of Aplysia

Fig. 4. Three-dimensional arrangement of brain gangliosides of about 100 representatives of vertebrates out of 6 classes with different temperature requirements. Plotting of relative composition of differently polar gangliosides containing 3, less than three, and more than 3 negatively charged sialic acid residues. Antarctic icefish possesses the most polar brain ganglioside pattern.

Fig. 5. Scheme of the marker function of brain gangliosides for the determination of the various developmental stages of neurogenesis (for nomenclature of gangliosides comp. Fig. 2)

neurons has been investigated using voltage clamp techniques (39,40). Although Aplysia neurons themselves are devoid of sialic acid (and by this of gangliosides) very peculiar and immediate electrical responses following short-term applications (0.1 to 2.5 sec) of gangliosides were found like depolarization of the membrane, desensitization following subsequent stimulation pulses, induction of biphasic responses from initial short outward to long-lasting inward current etc. These short-term responses could be interpreted as an expression of great functional affinity of gangliosides to the electro-responsiveness of biological membranes, which probably might be due to a specific interaction of the lipid with membrane carrier proteins.

Summarizing, from these data it can be concluded that gangliosides obviously interfere somehow with the electro-responsiveness of neuronal membranes, even in those cases, in which these compounds naturally do not exist.

2.3. Biochemical peculiarities of brain gangliosides (for review comp. 20)

The discovery of neuritogenic and/or neuronotropic properties of exogenous gangliosides for neuronal differentiation had been of great importance especially with regard to the question whether or not exogenously administered gangliosides might have beneficial effects on human neuropathia. It had been proven that exogenously added gangliosides can insert spontaneously into the cell membrane and behave in a manner that is indistinguishable from the membrane's natural gangliosides (37). When being administered directly to retina ganglion cells in situ a tritiated GM₁ becomes incorporated into the cells,

undergoes axonal transport to the synaptic terminals in the optic lobe, where it becomes incorporated into GD_{1a} (41).

On this background it is of utmost importance that exogenous gangliosides indeed possess specific trigger or modulatory properties for various functional membrane proteins (channel proteins, ionic pumps, receptors) in synapses. Thus different gangliosides species were shown to act as modulators for the process of protein-phosphorylation insofar as they influence the activity of protein kinase C (42-45), Ca/calmodulin II (46,47), Ca/gangliosides (42,48,49), tyrosine kinase (50), Ca/phosphatase (calcineurin) (51), CaM/phosphodiesterase (51), cAMP/kinase (52) and adenylate cyclase (53,54). Furthermore, gangliosides modulate the activity of different neuronal ATPases, like Na⁺/K⁺-ATPase, Ca²⁺-Mg²⁺-ATPase and Ca²⁺-ATPase (for review comp. 20). In the mammalian brain, for instance, the Ca²⁺-ATPase of synaptosomal fractions becomes most significantly activated by the addition of various gangliosides.

Summing up these biochemical data, it can be concluded that gangliosides can be regarded as to play a crucial role as trigger or modulatory substances for neuronal, especially synaptic membrane-bound processes like transmission and storage of information (see below).

2.4. Physico-chemical peculiarities of brain gangliosides (for review comp. 52-62)

While intracellular calcium in combination with Ca²⁺-binding molecules acts as a second messenger, the initiation of the electrochemical process of synaptic transmission requires first of all primary messenger systems at the outer membranes surface by which the influx of calcium from its extracellu-

性が高いものからなっており、50%のガングリオシドが4-7個のシアル酸残基を有している。より高度に進化した恒温動物である鳥類や哺乳類の脳のガングリオシドは、比較的少種類の、ほとんどがガングリオテトラオースをコア構造にもつ、より極性の低い種類 (GM1, GD1a, GD1b, GT1b) から構成されている (Fig. 3, 4)。これに加えて、系統発生的により新しい脊椎動物 (たとえば、哺乳類においては、嚙歯類や食虫類にたいして霊長類) では、ガングリオシドの脳各部位における分布状態を比較するとガングリオシド種の数が増加していることが見い出された。

脊椎動物の温度順応 (季節的温度変化に対する気候順応や実験的に仕組まれた温度の変化に対する馴化) の研究から「**環境温度が下がるほど脳ガングリオシドのシアル酸付加 (= 極性) の程度が高くなる**」という法則が生まれた。部分的にはこの傾向は、より高い温度に適応した動物の脳のガングリオシドの膜結合性シアリダーゼに対する感受性の変化によってもたらされていることが見い出された。

要約すると、脊椎動物が系統発生的及び生態生理学的に適応していくなかで脳ガングリオシド濃度や組成が大きく変化するという事実は、神経系をより効率的に構築した結果としてこれらの脂質が選択されたのであるという仮説を支持するものである。

2.1.2. 個体発生的見地 (総説は25-33参照)

脊椎動物の個体発生の間、脳のガングリオシド形成に劇的な変化が生じる。それは、神経の分化 (= 神経発生) のいろいろな段階と関連しうる。個々のガングリオシドが神経細胞の発育のある特定の段階と関連して発現されるという事実に限って言えば、ガングリオシドは神経分化の程度を示すマーカー物質であるといえる (Fig. 5):

- 神経やその前駆細胞が**増殖期**にあるときは、GD3 (とGD2) が主で、より複雑なガングリオシドは存在しないという、比較的単純なガングリオシド組成を特徴としている。
- 細胞の**移動と分化の時期**には、GD3は急激に減少してその代わり主にC合成系に属す

るポリシアロガングリオシド (GT1c, GQ1c, GP1c, G^H, G^S, Fig. 2参照) が主として合成される。

- **神経繊維の増殖とシナプス形成の時期**には総ガングリオシドの生合成が数倍に増加するのであるが、GD1aとGT1bが急激に増えるのが特徴的である。これと同時に、C合成経路のポリシアロガングリオシドの発現は減少する。

- **ミエリン形成**がはじまるとGM1とGM4が増加してくる。この成体期に続く最後の発育期には、おそらく乏枝神経膠細胞の増殖によるとみられるGD3の2度目の小さな増加がみられる。

- 最後に**老化期**においては、GD1aの継続的な減少とそのためポリシアロガングリオシドの割合が相対的に増加する。このことによって、神経膜の極性 (= 剛性) が変化するのかもしれない。

神経発生において各ガングリオシド種の生合成が有意に変化することを明らかにしたこれらのデータは、これらのスフィンゴ糖脂質が神経細胞の分化のさまざまな時期において機能に関わっているという仮説を支持するものである。

2.1.3. 脳ガングリオシドの神経学的異常 (総説は34-37参照)

多くの神経学的変異が特定の神経系の発育の段階に影響を及ぼす。神経発生における神経細胞の分化が変異することとガングリオシドに異常があることを関係づけるいくつかの試みがなされた。この点からは、実験用の嚙歯類、特にマウスがこの種の観察には有効なモデルとなる: **Jumpy mice mutant**ではミエリンの形成に異常があるのだが、ガングリオシド結合性のシアル酸量が減少している。

Quaking mutantではミエリンのコンパクションに重大な欠陥があるのであるが、GM1がミエリンに結合して蓄積している。**Trembler mutant**は主に末梢神経の異常であるが、シュワン細胞の異常増殖が関連している。正常な場合には細胞の増殖を示すGD3の生合成は、この変異体では認められない。小脳のプルキニ

lar storage sites ($\text{Ca}^{2+}=10^{-3}$ M) into the synaptoplasm ($\text{Ca}^{2+} = 10^{-7}$ M) is induced. Recently Rahmann and coworkers (63-65) could show by means of electro-spectroscopic imaging (ESI) and the application of gold-labeled monoclonal antibodies the distinct localization of extracellular calcium stores particularly within the synaptic cleft, of a high-affinity Ca^{2+} -ATPase at the inner membranes of the very local zone of synaptic contact, and of ganglioside epitopes in a clusters arrangement at the outer leaflet of synaptic terminal membranes. This adds to the notion, that calcium indeed plays a central role in nerve related biological functions of the gangliosides.

This is one of the reasons, why the interest of research during the last few years has been focused more and more on the investigation of any specific physico-chemical peculiarities of gangliosides in their interaction with calcium which do not exist in other membrane lipids. The aim of this kind of research is to contribute to the elucidation of physico-chemical mechanisms demonstrating the possible functional involvement of gangliosides as neuromodulators.

From different physico-chemical studies analyzing the behavior of gangliosides in liposomes, in mono- and in bilayers as artificial and simple semi-membrane systems the following major results were obtained: The binding of calcium with gangliosides in bilayer (PC/G) is relative loosely (association constant $K_{\text{ass}} 10^2/\text{M}$), while in micellar configuration and at low ionic strength a higher binding had been observed ($K_{\text{ass}} 10^4/\text{M}$). In liposomes and in micelles the calcium binding is discontinuous (break in the binding curve!).

In monolayer experiments pure gangliosides in comparison to phospho-

lipids exhibit a higher compressibility and stability of the film, and a much higher negative head group potential. The addition of calcium induces a monolayer condensation, a significant rise of the film stability, a change of the molecular conformation and an alteration of electric properties (head group potential).

Mixed gangliosides - peptide (ion carrier valinomycin) monolayers show a higher miscibility and stronger molecular interaction than phospholipids and a formation of specific ganglioside-peptide complexes (molecular cavity effect). The addition of calcium induces phase separation and/or aggregate formation between ganglioside and peptide. - In mixed ganglioside - gramicidin (= ion channel) bilayers an increased conductance of ion channels by gangliosides depending on the degree of sialylation can be stated.

In a polarography study the desorption potentials of ganglioside monolayers were measured revealing that the addition of calcium but not of magnesium stabilized the ganglioside film against its destruction induced by higher electrical field strength (cathodic shift).

Summarizing, the various physico-chemical approaches reveal very peculiar properties of gangliosides especially in connection with calcium, which are almost unknown from other membrane lipids. These results can be taken as evidence for the assumption that gangliosides might fulfill peculiar functions in synaptic membranes, particularly with regard to alterations of their electro-responsiveness.

3. Model of the involvement of brain gangliosides as modulators for synaptic transmission and long-term neuronal adaptive processes (for review comp. 6,16-21)

On the background of the physio-

エ細胞の変性をきたす変異マウスではGT1aが有意に減少していることが見いだされた。

ヒトと同じく、マウス（とネコ）でもいくつかの例でNiemann-Pick病に似通ったリソゾーム蓄積症（ガングリオシドーシス）が見いだされた。この場合GM2, GM1, またはGM3が異常に蓄積していた（Fig. 2参照）。

要約すると、脳ガングリオシドの生合成異常（変異マウス、ヒトのガングリオシドーシス）に関するこれらの結果は、個々のガングリオシド種の合成が阻害されれば神経作用に何らかの機能障害が起こることを明らかにしている。

Fig. 6. Scheme of synaptic terminals indicating the localization of gangliosides, calcium and membrane-bound functional proteins. a-c: modulation of a voltage-dependent Ca^{2+} -channel by gangliosides

logical, biochemical and physico-chemical data concerning peculiar properties of brain gangliosides their possible functional role in the short-term process of synaptic transmission and in long-lasting neuronal adaptive events can be discussed already quite precisely. This is due to the fact that on the one side by means of newly developed electronmicroscopic techniques a precise ultrastructural localization of calcium, of a high-affinity Ca^{2+} -ATPase and of gangliosides in clustered form within the very local zone of synaptic contact had been shown. On the other side by mean of physico-chemical investigations with mono- and bilayers as artificial semi-membrane systems distinct effects of calcium on lipid - peptide-interactions (phase separation effect) had been demonstrated (Fig. 6). On this basis the following phases of ganglioside involvement in synaptic events can be discussed (Fig. 7 and 8):

- During neuronal maturation and differentiation (neurogenesis) significant changes in content and composition of brain gangliosides occur indicating that these lipids fulfill specific tasks concerning neuronal cell-to-cell recognition, cell-to-cell contact and fiber growth.
- Before formation of definite synapses, during which nerve fiber terminals establish loose contacts only, Ca^{2+} -ganglioside-complexes are assumed to be arranged in the outer membrane leaflets of the fiber terminals in a still disordered form (Fig. 7,1). The membranes are kept rigid by these complexes, and by this are "tightened" for substance permeation (Fig. 8a).
- Following first functional activation (= transmission) local changes in ion concentration and/or changes

in the electrical field strength at the outer membrane surface can cause an ordered arrangement of the gangliosides by means of conformational changes of the Ca^{2+} -ganglioside-complexes and a release of Ca^{2+} from the negative sialic acid binding sites of gangliosides. The voltage dependent influx of calcium into the synapse fulfills the function of a primary messenger for the internalization of the electrically coded information. By the release of calcium from the ganglioside binding sites the very local zone of synaptic membrane becomes more fluid, causing an alteration of membrane permeability for calcium (Fig. 8b). The intrasynaptic calcium now can induce second messenger cascades, thus triggering the transmitter release (Fig. 8c-e), and by this the activation of the postsynaptic membrane. Here gangliosides were found to modulate receptor molecules and due to this the depolarization of the postsynaptic membrane.

- Finally during repolarization the resting potential is being restored by the re-organization of ion-balance by activation of ion pumps, enzymatic degradation and/or reuptake of parts of the transmitter. Ca^{2+} is pumped out from the synaptoplasm by means of the ganglioside-modulated, membrane-bound Ca^{2+} -ATPase. At the cell surface calcium induce phase separation between gangliosides and the ion-channel proteins and by this tightening the membrane for a new transmission cycle (Fig. 6a-c, 8f).
- In case of long-term neuronal events, like memory formation, the formation of short-term memory following intensive neuronal stimulation might be induced by the modulation of membrane-bound func-

Fig. 7. Functional scheme of the long-term neuronal adaptation by means of molecular facilitation in synapses with gangliosides (for details comp. text and Fig. 8)

Fig. 8. Functional model of the involvement of gangliosides in synaptic transmission at the very local zone of the presynaptic membrane (comp. Fig. 1)

tional proteins in the pre- and postsynaptic terminals such as protein kinases, ATPases, adenylate-cyclase and receptors (Fig. 6).

- Formation of intermediate memory might occur by activation of second messenger systems within both synaptic terminals and the onset of a molecular feed-back to the nerve cell bodies on the basis of the retrograde neuronal transport (Fig. 7,3).
- The formation of long-term memory will occur following repeated stimulation and subsequent supply of synaptic membrane with modified compounds being necessary for synapse stabilization and greater efficacy of membrane-bound functional molecules. The substances are being delivered to synaptic terminals by activation of effector and regulator genes within the perikaryon following anterograde transport of newly synthesized compounds from cell bodies to synaptic terminals. Thus the formation of a modulated zone of synaptic contact represents the structural basis of a facilitated pathway between interacting neurons.

In warm- versus cold-blooded vertebrates the "cocktail" of gangliosides being used as modulators for synaptic membrane-bound functional proteins is being composed by ganglioside species, thus guaranteeing homoviscosity of the very local zone of the membrane in adaptation to different environmental temperatures: comp. chapter 2.1.1.)

References

1. Yamakawa, T. (1987) in NATO ASI Series **H7**, Gangliosides and modulation of neuronal functions, Rahmann, H. (ed.), pp 3-15, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg
2. Hilbig, R., and Rahmann, H. (1987) in NATO ASI Series **H7**, Gangliosides and modulation of neuronal functions, Rahmann, H. (ed.), pp 333-350, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg
3. Dennis, R.D., Geyer, R., Egge, H., Peter-Katalinic, J., Keller, M., Menges, H., and Wiegandt, H. (1987) in NATO ASI Series **H7**, Gangliosides and modulation of neuronal functions, Rahmann, H. (ed.), pp 351-358, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg
4. Rahmann, H. (ed.): Gangliosides and Neuronal Functions. NATO ASI Series **H7**, pp 650, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg
5. Ando, S. (1983) *Neurochem. Intern.* **5**, 507-537
6. Rahmann, H. (1983) *Neurochem. Intern.* **5**, 539-547
7. Rahmann, H., and Wiegandt, H. (1990) NATO ASI Series (in press)
8. Mahadik, S.P., and Karpiak, S.K. (1988) *Drug Dev. Res.* **15**, 337-360
9. Massarotti, M., Marchesan, R., Matano, A.M.R., Petterson, P., and Rovigatti, A. (1988) *J. Kuwait Med. Assoc.* **22**, 225-235
10. Nakamura, M., and Saito, M. (1990) *TIGG* **2**, 33-39
11. Spiegel, S., and Buckley, N.E. (1990) *TIGG* **2**, 100-105
12. Taki, T., and Handa, S. (1990) *TIGG* **2**, 182-188
13. Ledeen, R.W. (1984) *J. Neurosci. Res.* **12**, 147-159
14. Mandel, P. (1987) in NATO ASI Series **H7**, Gangliosides and modulation of neuronal functions, Rahmann, H. (ed.), pp 601-611, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg
15. Rahmann, H. (1976) *Neurobiologie*, pp 273, UTB-Verlag, Eugen Ulmer, Stuttgart

2.2. 脳ガングリオシドの生物電气的特性 (総説は18参照)

1963年にMcIlwainは、外から加えたガングリオシドが脳の薄片の電気パルスに対する興奮性を回復させることを示した(38)。それ以来、とくに Ca^{2+} -ガングリオシド複合体が、興奮や伝達、神経情報の蓄積においてひとつの要素となっていると考えられている。シアリダーゼやシアル酸に干渉するようなほかの物質を用いて、ニューロンの生物電气的活動に変化が起きるかどうかをみるいくつかの実験が行われた。1個の細胞、カエルの脊髄、キンギョの視索のようなin vivoの電位測定、ラットやモルモットの海馬や線維束の薄片を用いた実験等から結果が得られた。特に後者の実験では部分的に矛盾した結果が出たが、ガングリオシドが、おそらく後シナプス受容体の活動を調節することによって、神経調節因子として機能的な役割を果たしていることが結論された。

これらの実験に加えて、外から加えたガングリオシドや他の脂質がナメクジのニューロンの電気反応性にどのように影響するかが、Voltage clamp法によって観察された(39, 40)。ナメクジのニューロン自体はシアル酸を欠いている(当然ガングリオシドも欠く)にもかかわらず、ガングリオシドをごく短時間付加しただけで、非常に特徴的な素早い反応がみられた。それはまるで、膜の脱分極、後続のパルス刺激に対する非反応性、初期の短い外向きの電流に続いて持続的な内向きの電流を生じる等々という二相性の反応の生成そのものであった。これらの短時間の反応は、ガングリオシドが生体膜の電気反応性に対して機能的に大きく関与していると解釈させうるものであろう。そしてそれは恐らくガングリオシドと膜の輸送蛋白質との特異的な反応によっているのであろう。

要約すると、これらのデータからガングリオシドは、それが自然には存在しない系においてさえも、明らかに神経細胞膜の電気反応性に何らかの形で関わっていることが結論された。

2.3. 脳ガングリオシドの生化学的特性(総説

は20参照)

神経の分化において外から加えたガングリオシドが軸索の伸長作用や、もしくは神経栄養因子としての性質を有しているという発見は、特に、外部より投与したガングリオシドがヒトの神経疾患に有益な効果があるのかどうかという問題に関して非常に重要なことであった。外から与えられたガングリオシドが自動的に細胞膜に取り込まれ、膜に元々あるガングリオシドと区別がつかない状態となることが証明されている(37)。トリチウム標識したGM1を網膜の神経節に直接投与すると、それは細胞に取り込まれ、軸索輸送によって二対体のシナプス末端まで到達し、そこでGD1aとなる(41)。

こうした背景があるので、外から加えたガングリオシドがシナプスにおいていろいろな機能を持つ膜蛋白質(チャンネル蛋白質、イオンポンプ、受容体)に対して特異的な引き金としての作用や調節作用を実際に持っていたという事実は極めて重要である。こうして、種々のガングリオシド種がプロテインキナーゼC(42-45)、Ca/カルモジュリン II(46, 47)、Ca/ガングリオシド(42, 48, 49)、チロシンキナーゼ(50)、Ca/フォスファターゼ(カルシニユリン)(51)、cAMP/キナーゼ(52)、アデニレートサイクラーゼ(53, 54)の活性に影響を及ぼすという限りにおいては、これらガングリオシドが蛋白質リン酸化の調節因子として働くということが示された。さらに、ガングリオシドは、 $\text{Na}^+/\text{K}^+-\text{ATPase}$ 、 $\text{Ca}^{2+}-\text{Mg}^{2+}-\text{ATPase}$ や $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$ の様な種々の神経性のATPaseの活性を調節する(総説は20参照)。たとえば、哺乳類の脳では、シナプトゾーム画分の $\text{Ca}^{2+}-\text{ATPase}$ が種々のガングリオシドの添加によって最も効果的に活性化される。

これら生化学的情報を要約すると、ガングリオシドは神経系、特に、伝達や情報の蓄積といったシナプス膜上で進む過程に対して引き金または調節因子として決定的な役割を演じているといえよう。

2.4. 脳ガングリオシドの物理化学的特性(総

TIGG Vol.2 No.8 (1990)
MINIREVIEW (TIGG-11/02/90-MR-2)

16. Rahmann, H., Rösner, H., and Breer, H. (1976) *J. Theor. Biol.* **57**, 231-237
17. Rahmann, H., Probst, W., and Mühleisen, M. (1982) *Japan J. Exper. Med.* **52**, 275-286
18. Rahmann, H. (1987) in *NATO ASI Series H7, Gangliosides and modulation of neuronal functions*, Rahmann, H. (ed.), pp 501-521, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg
19. Rahmann, H., and Rahmann, M. (1988) *Das Gedächtnis - Neurobiologische Grundlagen*, pp 320, J.F. Bergmann-Verlag, München
20. Rahmann, H., (1989) in *Progress in Zoology 37, Fundamentals of memory formation: Neuronal plasticity and brain function*, Rahmann, H. (ed.), pp 349-368, G. Fischer-Verlag, Stuttgart-New York
21. Rahmann, H. (1983) in *Neuronal Transmission and Memory*, Caputto, R., and Marsan, C.A. (eds.) pp 159-177, Raven Press, New York
22. Rahmann, H. (1987) in: *Life in Water and on Land*, Dejours, P., Bolis, L., Taylor, C.R., and Weibel, E.R. (eds.) pp 433-446, Liviana-Press, Padova
23. Rahmann, H., and Hilbig, R. (1989) in: *Thermal Physiology*, Mercer, J.B. (ed.) pp 615-621, Elsevier Sci. Publ., Amsterdam-New York-Oxford
24. Rahmann, H., Hilbig, R., Körtje, K.H., and Beitingner, H. (1959) in: *Living in the Cold II*, Malan, A., Cauguilhem, B. (eds.), Colloque INSERM pp 193-201, John Libbey EUROTEXT, London-Paris
25. Suzuki, K. (1965) *J. Neurochem.* **12**, 969-979
26. Rösner, H. (1975) *J. Neurochem.* **24**, 815-816
27. Breer, H., and Rahmann, H. (1977) *Roux's Arch. Dev. Biol.* **181**, 65-72
28. Hilbig, R., Rösner, H., Merz, G., Segler-Stahl, K., and Rahmann, H. (1982) *Roux's Arch. Dev. Biol.* **191**, 281-284
29. Hilbig, R., Lauke, G., and Rahmann, H. (1983/84) *Dev. Neurosci.* **6**, 260-270
30. Rösner, H. (1982) *Brain Res.* **236**, 49-61
31. Seybold, U., and Rahmann, H. (1985) *Dev. Brain Res.* **17**, 201-208
32. Seybold, V., and Rahmann, H. (1985) *Roux's Arch. Dev. Biol.* **194**, 166-172
33. Rösner, H., and Rahmann, H. (1987) in: *NATO ASI Series H7, Gangliosides and modulation of neuronal functions*, Rahmann, H. (ed.), pp 373-390, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg
34. Suzuki, K. (1987) in *NATO ASI Series H7, Gangliosides and modulation of neuronal functions*, Rahmann, H. (ed.), pp 531-546, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg
35. Baumann, N.A., Harpin, M.L., Baron van Evercooren, A., Iwamori, M., and Maurin, Y. (1987) in *NATO ASI Series H7, Rahmann, H. (ed.)*, pp 391-407, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg
36. Fredman, P. (1987), in *NATO ASI Series H7, Rahmann, H. (ed.)*, pp 435-444, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg
37. Sandhoff, K., and Schwarzmann, G. (1989), in *Progress in Zoology 37, Fundamentals of Memory Formation: Neuronal Plasticity and Brain Function*, Rahmann, H. (ed.), pp 229-239, G. Fischer-Verlag, Stuttgart-New York
38. McIlwain, H. (1963) *Chemical exploration of the brain: a study*

説は、52-62参照)

細胞内のカルシウムは Ca^{2+} -結合性の分子と結合することによって第2番目のメッセンジャーとして働くが、シナプス伝達の電気化学的過程の開始には、まずカルシウムをその細胞外の貯蔵部位($\text{Ca}^{2+}=10^{-3}\text{M}$)からシナプス細胞質($\text{Ca}^{2+}=10^{-7}\text{M}$)に流入させる膜の外側表面にある第1番目のメッセンジャー機構が必要である。最近Rahmannらは(63-65)、electro-spectroscopic imaging(ESI)の手法と金で標識したモノクローナル抗体を用いて、細胞外のカルシウム貯蔵箇所は特にシナプス裂のなかに、高親和性 Ca^{2+} -ATPaseはシナプス接合の極めて限局された部位の内側の膜に、ガングリオシドのエピトープは塊となってシナプス末端の膜の外側に各々局在していることを示した。このことは、カルシウムがガングリオシドの生物学的機能において実際に中心的な役割を担っているという概念を付加する。

このことが、個々数年間の研究がガングリオシドの他の膜の脂質にはないカルシウムとの反応性という物理化学的特性の観察に注がれた一つの理由である。この種の研究の目的は、ガングリオシドの神経調節因子としての機能の発現の物理化学的な機構を説明することにある。

人工的な単純な膜系としてのリポソーム、単層膜及び2層膜におけるガングリオシドの挙動を調べる物理化学的な研究から次のような主な結果が得られた。カルシウムとガングリオシドの結合は2層膜内(PC/G)では比較的弱い(結合定数 $K_a \cdot 10^2/\text{M}$)が、ミセル形状をとり低イオン強度の下ではより強い結合が観察された($K_a \cdot 10^4/\text{M}$)。リポソームやミセル中ではカルシウムの結合は非連続的である(結合曲線がとぎれる!)。

単層膜の実験において、精製されたガングリオシドは、リン脂質に比較して高い膜の圧縮性と安定性を示し、非常に高い陰性頭部基電位を示した。カルシウムを加えると、単層膜の凝結、膜の安定性の上昇、分子形態の変化と電気特性(頭部基電位)の変化をもたらした。

ガングリオシド-ペプチド(イオンキャリアーであるバリノマイシン)の混合単層膜は、リン脂質に比べて高いmiscibility(混合され易さ)と強い分子間の相互作用を示し、特異的なガングリオシド-ペプチド複合体を形成する(分子空洞効果)。カルシウムを加えると相分離と、または、ガングリオシドとペプチドの間で凝集塊を形成する。ガングリオシド-グラミシジン(=イオンチャンネル)の混合2層膜においてはシアル酸の付加の度合に応じてイオンチャンネルの伝導度が増加する。

ボーラログラフィーによってガングリオシド単層膜のdesorption potentialを測定することによって、カルシウムがガングリオシド膜に、高い電場強度(陰極シフト)による破壊作用に対する安定性を与え、マグネシウムにはその効果がないことが明らかにされた。

要約すると、さまざまな物理化学的手法によって、ガングリオシドの特に他の膜脂質では殆どみられないカルシウムとの協調という非常に特徴的な性質が明らかになった。これらの結果は、ガングリオシドが特にシナプス膜の電気反応性を変化させるということに関しては、そこで独特の機能を果たしているという仮説を証明しているといえよう。

3. 脳ガングリオシドのシナプス伝達及び長期神経適応過程に対する調節因子としてのモデル(総説は6, 16-21参照)

脳ガングリオシドの特性に関する生理学的、生化学的、物理化学的データを背景として、そのシナプス伝達の短時間の過程及び長期に及ぶ神経適応の過程における機能的役割に関してはすでにかなり正確に論ずることができる。それは一方では、新たに開発された電子顕微鏡の技法によって得られた、カルシウム、高親和性 Ca^{2+} -ATPaseとガングリオシドがシナプス接合の極めて限定的な部位に固まって存在しているという正確なデータに負うものである。他方では、単層膜や2層膜などの人工的な膜系を用いた物理化学的観測によって、カルシウムの脂質-蛋白質相互作用に対する独特の効果(相分離効果)が示されたことに負っ

- of cerebral excitability and ion movement. Elsevier Amsterdam
39. Büsselberg, D., Evans, M.L., Carpenter, D.O., and Rahmann, H. (1989) *Membr. Biochem.* **8**, 19-26
  40. Büsselberg, D., Carpenter, D.O., Sugita, M., Araki, S., Satake, M., and Rahmann, H. (1990) *Biomed. Res.* **11**, 77-86
  41. Willibald, C.J., Rösner, H., Schwarzmann, G., Sandhoff, K., and Rahmann, H. (1988) *Neurosci. Res.* **5**, 361-379
  42. Yu, R.K., Koerner, T.A.W., Demou, P.C., Scarsdale, J.N., and Prestegard, J.M. (1984) *Adv. Med. Biol.* **174**, 87-102
  43. Momoi, T. (1986) *Biophys. Biochem. Res. Commun.* **138**, 865-871
  44. Kreutter, D., Kim, J.H., Goldenring, J.R., Rasmussen, H., Ukoma-du, C., DeLorenzo, R.Z., and Yu, R.K. *J. Biol. Chem.* **262**, 1633-1637
  45. Kim, J.Y.H., Goldenring, J.R., DeLorenzo, R.J., and Yu, R.K. (1986) *J. Neurosci. Res.* **15**, 159-166
  46. Goldenring, J.R., Otis, L.C., Yu, R.K., and DeLorenzo, R.J. (1985) *J. Neurochem.* **44**, 1229-1234
  47. Fukunaga, K., Miyamoto, E., and Soderling, T.R. (1990) *J. Neurochem.* **54**, 102-109
  48. Nagai, Y., and Tsuji, S. (1988) in: *New Trends in Ganglioside Research: Neurochemical and Neuroregenerative Aspects*, Ledeen, R.W., Hogan, E.L., Tettamanti, G., Yates, A.J., and Yu, R.K. (eds.) pp 329-350, Liviana Press, Padova
  49. Chan, K.F.J. (1988) *J. Biol. Chem.* **263**, 568-574
  50. Bremer, E.G., Hakomori, S., Bowen-Pope, D.H., Raines E., and Ross, R. (1984) *J. Biol. Chem.* **259**, 6818-6825
  51. Yates, A.J., Markowitz, D.L., Doreen, L., Stephens, R.E., Pearl, D.K., and Ronald, L. (1988) *Exp. Neurol.* **47**, 119-127
  52. Yates, A.J., Waltert, J.D., Wood, C.L., and Johnson, J.D. (1989) *J. Neurochem.* **53**, 162-167
  53. Partington, C.R., and Daily, J.W. (1979) *Mol. Pharmacol.* **15**, 484-491
  54. Berry-Kravis, E., and Dawson, G. (1985) *J. Neurochem.* **45**, 1739-1747
  55. Maggio, B., Sturtevant, J.M., and Yu, R.K. (1987) *BBA* **901**, 173-182
  56. Maggio, B., Cumar, F.A., and Caputto, R. (1981), *BBA* **650**, 69-87
  57. Probst, W., Möbius, D. and Rahmann, H. (1984) *Cell. Molec. Neurobiol.* **4**, 157-176
  58. Probst, W., and Rahmann, H. (1987) in *NATO ASI Series H7, Gangliosides and Modulation of Neuronal Functions*, Rahmann, H. (ed.), pp 139-154, Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg
  59. Beitinger, H., Probst, W., Möbius, D., and Rahmann, H. (1987) *J. Biochem.* **102**, 963-966
  60. Schifferer, F., Beitinger, H., Rahmann, H., and Möbius, D. (1988) *FEBS Lett.* **233**, 158-162
  61. Beitinger, H. Vogel, V., Möbius, D., and Rahmann, H. (1989), *BBA* **984**, 293-300
  62. Wörner, M., Greiner, G., Rau, H., and Rahmann, H. (1988) *Ber. Bunsenges. Phys. Chem.* **92**, 582-589
  63. Seybold, V., Rösner, H., Greis, C., Beck, E., and Rahmann, H. (1989) *J. Neurochem.* **52**, 1958-1961
  64. Körtje, K.H., Freihöfer, D., and Rahmann, H. (1990) *J. Histochem. Cytochem.* **38**, 895-900
  65. Körtje, K.H., Freihöfer, D., and Rahmann, H. (1990) *Ultramicroscopy* **32**, 12-17

ている (Fig. 6)。これに基づいて、シナプスの活動におけるガングリオシドの関わりについて次に考察していきたい (Fig. 7, 8)。

- **神経の成熟及び分化期 (神経繊維発生)** においては脳ガングリオシドの含有量と組成に有意な変化がみられ、このことは、ガングリオシドが神経系の細胞間認識、細胞間接着及び繊維の成長に関して特異的な役目を果たしていることを示している。

- **明確なシナプスを形成する前の段階**、この間は神経繊維の末端は緩く接合し合っているに過ぎないが、 Ca^{2+} -ガングリオシド-複合体は、まだ無秩序な形態をとって繊維末端の膜の外側表面に集められていると考えられる (Fig. 1, 7)。膜はこれら複合体によって強く保たれ、これによって物質は膜を透過しにくくなっている (Fig. 8a)。

- **最初の機能的活性化 (=伝達)** に続く、外側の膜の表面におけるイオン濃度の局所的な変化や、または、電場強度の変化は、 Ca^{2+} -ガングリオシド-複合体の形態の変化や Ca^{2+} のガングリオシド結合部位である陰性シアル酸からの放出によってガングリオシドの定められた配列を引き起こす。カルシウムのシナプスへの電圧依存性の流入が、電氣的に符号化された情報の内面化のための第一番目のメッセンジャーとしての機能を果たす。ガングリオシドの結合部位からのカルシウムの放出によって、シナプス膜の非常に局所的な部位の流動性が増し、カルシウムに対する膜の透過性に変化を起こす (Fig. 8b)。シナプス内のカルシウムはそこで第二番目のメッセンジャーのカスケードを動かし、そうして伝達物質放出の引き金が引かれ (Fig. 8c-e)、そしてこのことによって、シナプス後膜の活性化が起こる。ここではガングリオシドは受容体分子を調節し、こうしてシナプス後膜の脱分極を調節していることが見い出されている。

- **最後に再分極の段階**では、イオンポンプの活性化、伝達物質の酵素的分解や、または、再摂取によってイオン平衡の再構築が行わ

れ静止電位が再現される。 Ca^{2+} はガングリオシドによって調節されている膜結合性の Ca^{2+} -ATPase によってシナプスの細胞質から汲出される。細胞表面においては、カルシウムがガングリオシドとイオンチャンネル蛋白質の間の相分離を引き起こし、このことによって次の伝達サイクルに備えて膜を堅くする (Fig. 6a-c, 8f)。

- **記憶の形成のような長期の神経作用**に関しては、強い神経刺激に続く短期間の記憶は、蛋白質リン酸化酵素、ATPase、アデニレートサイクラーゼや受容体のような前シナプス及び後シナプス末端の膜結合性の機能的蛋白質を調節することによって引き起こされるのであろう (Fig. 6)。

- **中期間の記憶の形成**は、シナプス両末端における第二番目のメッセンジャー系の活性化及び、逆行性の神経伝達に基づく神経細胞への分子的フィードバックの開始によって起こるのであろう (Fig. 7, 3)。

- **長期間の記憶の形成**は、刺激の繰り返しと、それに続いてシナプスを安定化するために必要な物質及び、より強力な作用を持つ膜結合性の機能的蛋白質をシナプス膜に供給することにより行われるのであろう。それら物質は、核周囲部で作用物質と調節物質の遺伝子が活性化されることにより合成され、続いて、新しく合成された物質は、細胞体から前方輸送されてシナプス末端に集められる。このように、シナプス接合の調節部位の形成は、ニューロン間の相互作用を容易にするための構造的な基礎となっている。

温血及び冷血脊椎動物を比較すると、シナプス膜結合性機能的蛋白質の調節因子として使われているガングリオシドの組成は、異なる環境温度に適応する上で膜の極めて局所的な部位の粘性を均一に保つことが可能なように、適切に構成されている (2.1.1. 章参照)。

三菱化成生命科学研究所・複合糖質研究室
東 秀好 訳

trend can be registered indicating a decrease of the concentration from the phylogenetically younger regions (forebrain) to the older structures (spinal cord).

The brain ganglioside composition in the cold-blooded lower vertebrates consists mainly of a larger number of polar fraction components based on lactose-, gangliotriose- or gangliotetraose- carbohydrate core (Fig. 2). Concerning this, in antarctic icefish the brain ganglioside composition had been shown to consist of the most polar pattern among the animal kingdom and being composed of about 50% of ganglioside species containing 4 to 7 sialic acid residues. In the higher evolved warm-blooded birds and mammals the brain ganglioside pattern is being composed mainly of a smaller number of less polar species (GM₁, GD_{1a}, GD_{1b}, GT_{1b}) mostly from the gangliotetraose-family (Fig. 3,4). In addition to this, in phylogenetically younger vertebrates (e.g. primates among the mammals versus rodents or insectivores) a trend to a topographic, that means to a brain region-specific diversity of the ganglioside pattern, combined with a reduction in the number of individual ganglioside species was found.

Following thermal adaptation of vertebrates (acclimatization) to seasonal temperature changes or acclimation to experimentally induced temperature alterations) a general rule had been elaborated (2,20,22-24), indicating "the lower the environmental temperature is, the higher is the degree of sialylation (= polarity) of brain gangliosides". This trend had been found to be partly due to alterations in the sensitivity of brain gangliosides of warm- versus cold adapted animals towards membrane-bound sialidases.

In summary the large diversities

in concentration and composition of brain gangliosides during phylogenetic development and ecophysiological adaptation of the vertebrates speaks in favor of the assumption of a consequent and functional selection of these lipids parallel to that of a more efficient organization of the nervous system.

2.1.2. Ontogenetic aspects (for review comp. 25-33)

During ontogenetic development of vertebrates, dramatic changes in the formation of brain gangliosides occur, which can be correlated with the various stages of neuronal differentiation (= neurogenesis). Gangliosides can serve as marker compounds for the level of neuronal differentiation insofar as the expression of individual ganglioside species is correlated with characteristic stages of nerve cell development (Fig. 5):

- The phase of proliferation of neuronal and precursor cells is characterized by a relative simple set of gangliosides, predominantly of GD₃ (and GD₂), and by the absence of more complex ganglioside species.
- The period of cell migration and differentiation is correlated with a drastic decrease in GD₃ but a major biosynthesis of polar polysialogangliosides belonging predominantly to the c-pathway of biosynthesis (GT_{1c}, GQ_{1c}, GP_{1c}, G^{"H"}, G^{"S"}, comp. Fig. 2).
- The phase of fiber growth and synapse formation, during which the total ganglioside biosynthesis is enhanced several-fold, is characterized by a sharp rise of GD_{1a} and GT_{1b}; simultaneously the expression of c-pathway polysialogangliosides decreases.
- The onset of myelination induces an increased accumulation of GM₁ and GM₄. This last developmental phase,

組成や生合成の大きな変化とのあいだに有意な関係があることが示されている（総説は10-12を参照）。

神経細胞系に関しては、外から加えたガングリオシドが細胞増殖を阻害するよりはむしろ増強し、*in vitro*で神経細胞を増殖させたり分化させたりするばかりではなく、*in vivo*で神経の維持や生存、修復を促進するような軸索生成能や神経栄養素様の性質を持つことが見い出された(13)。しかしながら、後者の研究にはまだ部分的に矛盾したものもあるので、そしてまた特にこの研究分野は急激に成長しており幾度か総説も書かれているので(8, 9, 14)、この面からはここでは論じないことにする。現在までのところ、内在性のガングリオシドの細胞代謝における機能的な役割に関するわれわれの知識はまだ満足できるものではない。

特に神経系に焦点を当てて本論文では神経系におけるガングリオシドの機能的役割に関する最新の知見について要約してみたいと思う。この点に関しては神経活動のほとんどすべての段階は、特に電気反応性は、細胞外のカルシウム濃度の変化によって修飾され得ることを強調しなければならない。シナプス末端の細胞内カルシウムイオン濃度(μM レベル)は細胞の代謝反応を開始させる第2番目のメッセンジャーとして働くことが見つけられた一方で、細胞外カルシウムイオン濃度(mM レベル)は外部からの信号を内部にもたすことができる第1番目のメッセンジャーとして機能していると推測されている。それは、神経の場合では、電気信号化された情報を前シナプス末端から後シナプス末端に内面化(internalization)することを意味する。長期適応の過程(たとえば、温度適応、再生、情報の蓄積、15-20)に関する限りでは、シナプス膜の物理化学的な性状の変化は情報の短期のシナプス伝達に関係していると考えられる。

こうした背景から、本総説では脳ガングリオシドの主な生理学的、生物電氣的、生化学的、物理化学的特性の概観について言及したい。さらに、シナプス伝達と長期神経適応の

過程の調節因子として脳ガングリオシドが関わっているという作業仮説に関しても論じたい(15-20参照)。

2. 脳ガングリオシドの生理学的、生物電氣的、生化学的、物理化学的特性の概要

ガングリオシド研究の活動の種々の分野における発表論文の数が圧倒的に多いので、本論文ではシナプス伝達と神経系内での情報の蓄積におけるガングリオシドの役割を理解するために特に意味がある論題にしばって結果を考察する。

2.1. 脳ガングリオシドの生理学的特性

神経細胞におけるガングリオシドの生理学的機能を理解するためには、これらスフィンゴ糖脂質の動物界および遺伝的変異体を含む個体発生における発現に関して詳細な知見を得ることが重要であると考ええる。

2.1.1. 系統発生的及び生態生理学的見地(総説は2, 6, 18, 21-23を参照)

脳のガングリオシドの濃度と構成(たとえば、シアル酸付加の程度=極性)は、神経の組織化の系統発生的程度と脊椎動物の温度環境に対する生態生理学的適応によって大きく変化する。下等な変温動物(魚類、両生類、爬虫類)では、その含有量は100ないし800 μg シアル酸/ g 新鮮脳重量であり、恒温動物のそれは400ないし1500 μg である。(これに付随して神経系のシアロ糖蛋白質の含有量が減少することが観察されている。)ひとつの脳のなか(すなわち、前脳、中脳、脳幹、小脳、脊髄)でガングリオシドの含有量を比較すれば、全体としての傾向は、濃度は系統発生的に新しい部位(前脳)から古い部位(脊髄)に向かって降下しているといえる。

下等な変温脊椎動物における脳のガングリオシドは、ラクトース-、ガングリオトリオース-、ガングリオテトラオース-のコア構造を基礎にした多種類の極性の構成成分から主として構築されている(Fig. 2)。このことに関しては、南極海に棲む魚類(ice fish)においては脳のガングリオシドは動物界では最も極