

綜 説

多機能性分子・硫酸化糖脂質の機能と制御

中 嶋 岳 郎^{1)*} 田 中 直 樹²⁾³⁾

- 1) 信州大学医学部医学教育研修センター
- 2) 信州大学医学部国際医学研究推進学教室
- 3) 信州大学医学部国際交流推進室

Function and Regulation of the Multifunctional Molecules Sulfated Glycolipids

Takero NAKAJIMA¹⁾ and Naoki TANAKA²⁾³⁾

- 1) *Center for Medical Education and Training, Shinshu University School of Medicine*
- 2) *Department of Global Medical Research Promotion, Shinshu University Graduate School of Medicine*
- 3) *International Relations Office, Shinshu University School of Medicine*

Key words: sulfated glycolipid, sulfatide, seminolipid

硫酸化糖脂質, スルファチド, セミノリピド

I はじめに

脂質は3大栄養素の一つであり、ヒトを含めすべての生物が生きるために必須の成分である。脂質は生物体内において、主に4つのはたらきをすることが知られている。即ち、長期貯蔵燃料（アシルグリセロール、主にTG）、細胞とオルガネラを形作る生体膜の構成成分（リン脂質、糖脂質、コレステロール）、生体のはたらきを調節するホルモン・生理活性物質の合成材料（コレステロール、脂肪酸）、および皮膚など体表面におけるバリア形成（ワックス、アシルセラミド）といった役割が知られており、このうち生体膜成分としての役割は脂質の最も根源的なはたらきといえる。

脂質は水に溶けない物質であるが、生体膜を構成する膜脂質は水にもあぶらにも溶ける特徴（両親媒性）をもつ。これは分子内に親水性基（リンや糖など）と疎水性基（脂肪鎖）を併せ持つからであり、生体膜中では親水性基を外側、疎水性基を内側に向けて、脂質二重層を形成している。この形は膜構造を強固にして、膜内外の環境を区分し、それぞれの空間が独立した機能を発揮することに役立っている。

生体膜脂質の主役は「リン脂質」であり、それに比べて存在量が少ない「糖脂質」はマイナーな分子とみ

なされる。しかし、血液型抗原に代表されるように、糖脂質は細胞膜の外表面に発現して、細胞外タンパク質と相互作用する¹⁾。また、糖脂質の生体内発現量は臓器や細胞によって大きく異なる（臓器特異性、細胞特異的）。さらに、糖脂質代謝酵素の異常によって生じる遺伝性疾患（ライソソーム病）が複数存在する²⁾。このように、糖脂質はユニークで生理的に大変重要な役割をもつため、興味深い研究対象として様々な基礎的および臨床学的研究が進められてきた。本稿では、筆者らが研究対象としてきた硫酸化糖脂質に焦点をあて、その機能と制御に関する知見を紹介する。

II 硫酸化糖脂質の化学・生物学的性質

A 化学的性質

硫酸化糖脂質は糖脂質に硫酸基が共有結合した化合物である。硫酸は非常に強い酸性を示す分子であるため、硫酸化糖脂質の硫酸基部分は生理的環境では常にマイナスに荷電している。この性質から、硫酸化糖脂質は細胞膜に負電荷を付与し、細胞外あるいは細胞膜上のタンパク質の正電荷部分との間で静電結合により相互作用すると考えられている。硫酸化糖脂質には、スルファチド sulfatide とセミノリピド seminolipid という2種類の分子群が存在する（図1）³⁾。スルファチド（スルホガラクトシルセラミド）はスフィンゴ脂質の一種である。スフィンゴ脂質とは、分子内にスフィンゴイド塩基（図1A、点線で囲んだ構造）をも

* Corresponding author: 中嶋岳郎 〒390-8621
松本市旭3-1-1 信州大学医学部医学教育研修センター
E-mail: nakat@shinshu-u.ac.jp

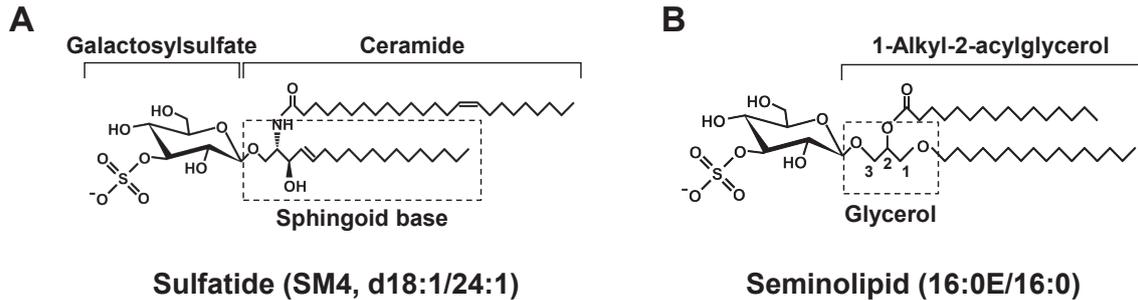


図1 硫酸化糖脂質の化学構造

硫酸化糖脂質は脂肪酸・糖・硫酸基の3つの成分から構成される。硫酸基はガラクトースの3番目の炭素の水酸基に結合しており、生理的環境では陰性荷電している。

(A) スフィンゴ糖脂質であるスルファチドは、スフィンゴイド塩基(点線で囲んだ構造)に脂肪酸が結合したセラミドを脂肪酸成分としてもつ。糖成分には主としてガラクトース1分子をもち、この形のスルファチドはSM4とよばれる。図示した分子は、哺乳動物脳の主要なスルファチド分子種である(d18:1, スフィンゴイド塩基の組成: 24:1, 脂肪酸の組成)。このほかにも脂肪酸の鎖長・不飽和度・水酸基数, および糖鎖の種類が異なる多種多様な分子種が存在する。

(B) グリセロ糖脂質であるセミノリピドは、脂肪酸成分としてグリセリン骨格(点線で囲んだ構造, 番号は炭素番号)のC1にアルキルエーテル, C2にアシルエステルをもつ。糖成分はC3にガラクトース1分子が結合している。図示した分子は、パルミチン酸(16:0)とそのアルキルエーテル(16:0E)から成る分子種であり、精巢中セミノリピドの大部分を占める。

つ脂質分子群の総称である。代表的な分子として、スフィンゴイド塩基に脂肪酸が結合したセラミド(図1A参照), セラミドにコリンリン酸が結合したスフィンゴミエリン, またシアル酸含有糖脂質であるガングリオシドなどがよく知られている。スルファチドはセラミドに硫酸化ガラクトースが結合した構造を基本形とする(図1A)。一方, セミノリピド(スルホガラクトシルアルキルアシルグリセロール)は基本骨格にグリセリンをもつグリセロ脂質である。グリセリン骨格(図1B, 点線で囲んだ構造)に脂肪酸2分子がそれぞれエーテル結合とエステル結合でつながり, 親水性基として硫酸化ガラクトースが結合した構造をとる(図1B)。なお, スルファチドとセミノリピドいずれの分子においても, 硫酸基はガラクトースの3番目の炭素の水酸基に結合している。

また, スルファチドは結合している糖の数によって分類され, 最も単純な形はガラクトースを1つもつ分子であり, これはガラクトシルスルファチド(SM4またはSM4s)とよばれる。医学系教科書に登場するスルファチドはSM4のことであり, 生体内で最も主要なスルファチド分子である。また, ラクトース(グルコースとガラクトースが結合した二糖)をもつスルファチドをラクトシルスルファチド(SM3)とよび, SM3にアミノ糖誘導体N-アセチルガラクトサミン(GalNAc)が結合した分子をSM2, SM2にガラクトースが結合

した分子をSM1としている。このSMOの表記法はガングリオシドの表記法に倣って行われたものであり, Sは硫酸基, Mはモノ(mono-)を意味し, 分子内に硫酸基を1つもつことを表している³⁾。分子内に硫酸基を2つもつ分子種はSBO(Bはbis-, 2つの意味)と表記される。一方, セミノリピドには糖鎖として硫酸化ガラクトースを1つもつ分子(SM4g)がよく知られている。

B 代謝・合成系

生体内に存在するスルファチドはすべて生合成されたものである。食事として摂取された分子は消化過程で加水分解される。生合成系は主に3つに分類され, いずれもスルファチドの基本骨格を構成するセラミドを産生することが共通する(図2)⁴⁾⁵⁾。1つ目はデノボ合成(あるいは新生合成)経路で, アミノ酸のセリンと活性脂肪酸のパルミトイル-CoAが縮合した後, 3反応を経てセラミドが合成される。この一連の反応は小胞体でおこる。2つ目は存在量が多いスフィンゴミエリンを分解してセラミドを回収する経路である。3つ目はスルファチドあるいは他のスフィンゴ脂質を分解してセラミドを調達する経路で, サルベージ経路とよばれており, スフィンゴ脂質生合成の50~90%を占めると推定されている⁵⁾。このようにして産生されたセラミドには, ガラクトシルセラミド合成酵素(CGT)の作用によりガラクトースが結合し, 続いて

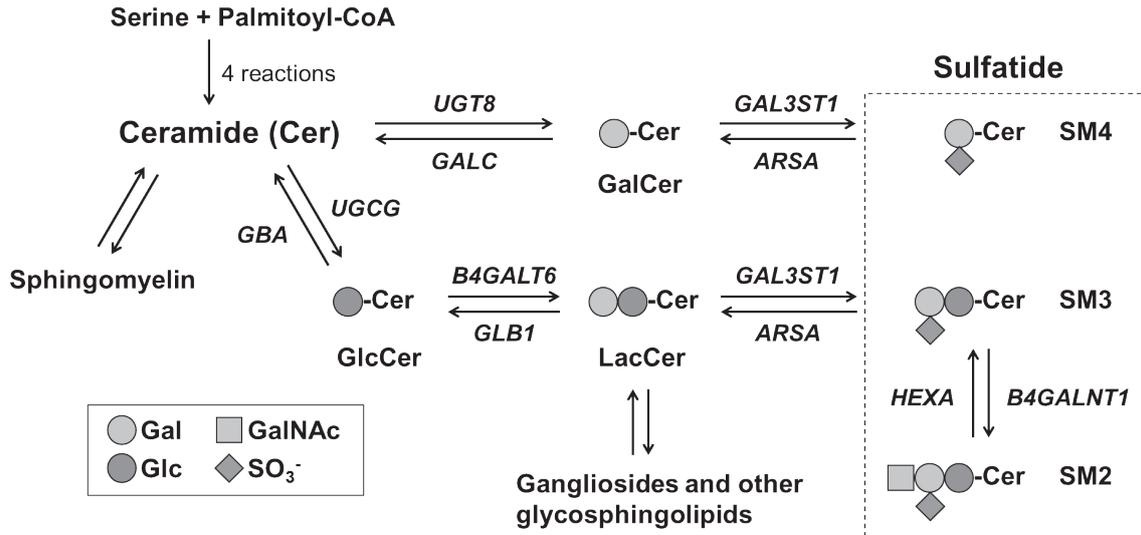


図2 スルファチド代謝経路

スルファチドはセラミドに糖、次いで硫酸基が転移することにより合成される。ガラクトシル系とラクトシル系で糖転移反応を触媒する酵素は異なるが、硫酸転移反応は1種類の酵素（GAL3ST1遺伝子産物）が担う。スルファチドの分解は合成経路と逆方向に進み、一連の反応はライソソームで行われる。セラミドは、セリンとパルミトイル-CoAを出発物質としたデノボ合成系、スフィンゴミエリンの加水分解、及びスフィンゴ糖脂質の加水分解により生成される。図中の斜体表記は、反応を担う酵素をコードするヒト遺伝子を示す。GalCer, ガラクトシルセラミド；GlcCer, グルコシルセラミド；LacCer, ラクトシルセラミド。

ガラクトシルセラミド硫酸転移酵素（CST）の作用により硫酸基が転移してSM4スルファチドが合成される。一方、セラミドにグルコースが結合し、続いてガラクトースが結合すると、ラクトースをもつラクトシルセラミドが形成される。その後、CST作用により硫酸基が転移するとSM3となり、さらに糖転移反応が進めばSM2, SM1と合成されていく⁶⁾。もしラクトシルセラミドにシアル酸が結合すればガングリオシド（GM3）となり、その後の糖鎖伸長はスルファチドの場合と同様に進む。スルファチドとガングリオシドの糖鎖伸長にはたらく糖転移酵素は重複している。また、上記の合成系において、CGTは小胞体膜に局在するが、ラクトシルセラミド系列の糖脂質合成に関わる糖転移酵素群とCSTはゴルジ膜に局在する。この局在性の違いが、ガラクトシルとラクトシル、どちらの系列でセラミドを利用するかの選別に関わると考えられる（図3）。

セミノリピドも生体内で合成されたものが利用される。本分子はエーテル脂質であり、解糖から生じたジヒドロキシアセトンリン酸を出発物質として、グリセリン骨格の1番目の炭素（C1）のアルキル化、次いでC2のアシル化を経て、1-アルキル-2-アシルグリセロールが合成される（図1B参照）。その後はスルファチド合成系と同じ酵素の作用により、CGTを介したC3

のガラクトシル化、次いでCSTによるガラクトースの硫酸化が生じて、セミノリピドが合成される⁷⁾⁸⁾。

C 代謝・分解系

硫酸化糖脂質の分解反応はいずれもリソソームで行われる。分解は合成とは逆の順番で進み、例えばSM4の場合、はじめに脱硫酸されて、続いてガラクトースが除かれ、セラミドに至る。ラクトシル系列のSM2の場合には、脱GalNAc、脱硫酸、脱ガラクトース、脱グルコースの順番で反応が進み、セラミドに至る⁶⁾。ガングリオシドや糖タンパク質の場合も、糖鎖の異化は合成とは逆方向に進む²⁾⁶⁾。また、これらの異化系酵素が作用を発現するには、それぞれの酵素に特異的なアクセサリタンパク質が必要であり、例えばスルファチドの脱硫酸にはたらくアリルスルファターゼA（ARSA）が機能するには、サポシンBタンパク質が必要である²⁾。従って、一つの異化系酵素の異常、あるいはその酵素作用に必要なアクセサリタンパク質の異常によって、それ以降の反応が進まなくなり、未分解あるいは分解途中の物質が蓄積する。機能異常をおこした酵素・アクセサリ分子が複数の糖鎖分子の代謝を兼ねている場合には、その影響は深刻である。このように糖脂質と糖タンパク質の代謝は非常に厳密に制御されており、その異常は生体機能、さらには生命に大きな影響をもたらす。

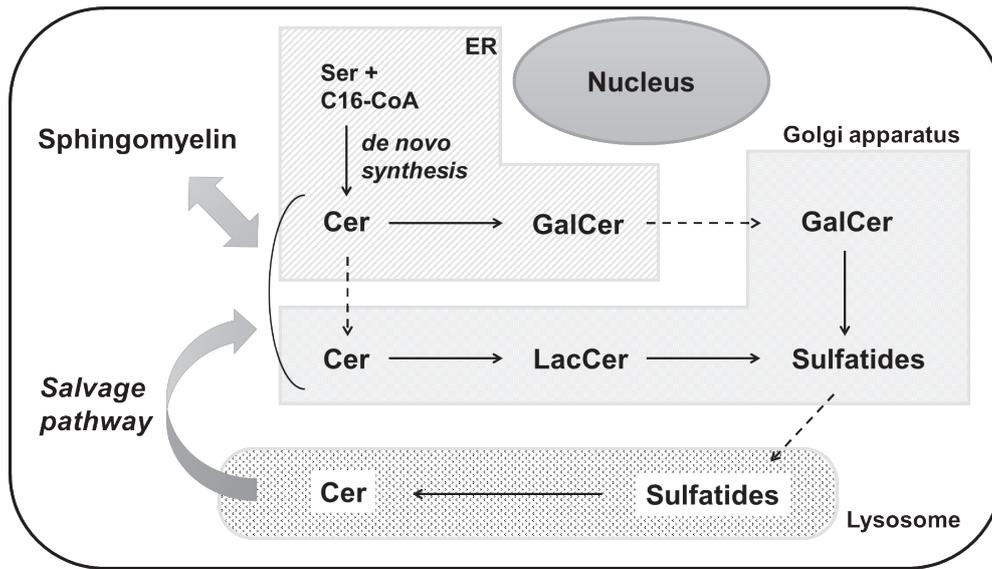


図3 スルファチド代謝の細胞内局在

小胞体 (ER) のデノボ合成で生じたセラミド (Cer) は、ガラクトースが転移されてガラクトシルセラミド (GalCer) に変換された後、ゴルジ体へ運ばれて硫酸転移を受け SM4 スルファチドを生成する。セラミドが ER からゴルジ体へ運ばれると、ラクトシルセラミド (LacCer) が合成され、SM3 等のラクトシルスルファチドが合成される。スルファチドの分解はリソソームで行われ、生じたセラミド (および図示していないがセラミドから生じるスフィンゴシン) は再びスフィンゴ脂質合成に再利用される (サルベージ経路)。また、スフィンゴミエリンの加水分解から生じたセラミドも再利用される。Ser, セリン; C16-CoA, パルミトイル-CoA。

D 生体内分布

スルファチドは脳 (主に白質)、腎臓 (主に遠位尿細管) などに豊富に発現することが知られている³⁾⁹⁾。また、血液中にもその存在が認められており、血小板やリポタンパク質にみられる¹⁰⁾。セミノリピドは精巣特異的な分子であり、精母細胞から精子に分化する過程で強い発現がみられる⁸⁾。このような局在性は、硫酸化糖脂質の産生・分解に直接関わる CST・ARSA の発現分布とはあまり一致していない。例えばマウスの場合、CST をコードする *Gal3st1* 遺伝子の発現は、脳や腎臓よりも胃で非常に強く認められるが、*Arsa* 遺伝子の発現レベルはこれらの臓器で同程度である。一方、硫酸化糖脂質の前駆体化合物を合成する CGT をコードする *Ugt8a* 遺伝子の臓器発現パターンは、硫酸化糖脂質の分布とよく一致している。このことから、硫酸化糖脂質の生体内分布および発現レベルは、主として前駆物質の供給量によって制御されると考えられている¹¹⁾。

III 脳での役割

A スルファチドはミエリン構成細胞に発現する

脳は生体内で最も多量にスルファチドを含有する臓器であり、ここからスルファチドが初めて見いだされ

た。当初, J.L.W.Thundichum によって脳中にイオウを含む脂質として報告され, 1933年に G.Blix によりガラクトシルセラミドの硫酸エステルであることが報告されたが, 最終的な構造は1962年山川らによって決定されたことが知られている³⁾⁹⁾。脳ではスルファチドは主に白質中に含まれ, ヒト脳白質中に含まれる全脂質の約4~5% (乾燥重量) を占めており, そのほとんどは SM4 である。スルファチドはミエリン構成細胞の細胞膜を構成する主要成分の一つとして, 中枢神経系ではオリゴデンドロサイトに, 末梢神経系ではシュワン細胞に発現している。オリゴデンドロサイトのマーカー分子の一つである O4 抗原はスルファチドのことである¹²⁾。スルファチドはミエリン脂質のひとつであり, ミエリン形成期に顕著な増加がみられる¹³⁾。これはその他のミエリン構成脂質およびタンパク質も同様である¹⁴⁾。

B スルファチド欠損マウスは神経症状を呈する

Gal3st1 遺伝子をノックアウトしたマウスは, 生体内のスルファチドを完全に欠失することから, 硫酸転移酵素 CST はスルファチド合成を直接的に担う唯一の酵素であることが示された¹⁵⁾。*Gal3st1* 欠損マウスは外観上は正常に生まれ, 1年以上生存するが, 生後6週頃から対麻痺様症状を発症し, 進行性のふるえ,

運動失調などを呈する。光学顕微鏡所見では脳内のミエリン構造は保持されており、ミエリン結合糖タンパク質 (Mag), ミエリン塩基性タンパク質 (Mbp), プロテオリピドタンパク質 (Plp) などのミエリンタンパク質の mRNA 発現量に変化はみられないが、電子顕微鏡所見では、ランビエ絞輪においてミエリン膜と軸索膜の接着障害が生じていることが明らかにされている¹⁵⁾。

C スルファチドはミエリン膜と軸索膜の接着に関する

ミエリンは神経軸索を渦巻き状に重層する膜系の構造物であり、絶縁体として神経興奮伝導を支えることが知られている。有髄神経線維のミエリンとミエリンの間の軸索がむき出しになっている部分をランビエ絞輪とよび、ここを伝導パルスが飛び飛びに伝わることによって (跳躍伝導), 細胞体からのシグナルが超高速で末端に伝わる。ランビエ絞輪では、ミエリン膜が軸索膜と強固に接着しており (この部分はパラノード部とよばれる), この接着構造によって、ランビエ絞輪部とミエリン内腔の傍パラノード部が適切に仕切られ、それぞれの場所に特異的なタンパク質が集積することが可能になる¹⁶⁾。例えば、ランビエ絞輪部には Na⁺チャネルが、傍パラノード部には K⁺チャネルがそれぞれ集積する¹⁷⁾。これらの結果、神経興奮伝導が正常に伝わると考えられている。パラノード部の接着に関わる因子として Caspr, Contactin などが知られているが、これらの欠損マウスでは神経伝導障害を生じることが報告されている¹⁶⁾。

*Gal3st1*欠損マウスでは、中枢および末梢有髄神経の軸索において、ランビエ絞輪周辺の Na⁺チャネルおよび K⁺チャネルの局在・集積の異常が生じていることが報告されている¹⁸⁾。また、脳およびミエリン抽出物の解析から、*Gal3st1*欠損マウスではミエリン膜と軸索膜の接着に関わる Mag および neurofascin 155 (Nf155) タンパク質の発現量が顕著に減少していることが報告されている¹⁹⁾²⁰⁾。また、スルファチドの減少と神経伝導機能の低下に相関があることも報告されている²¹⁾。これらの知見から、ミエリン膜に発現するスルファチドは、ミエリン膜と軸索膜の接着に関わるタンパク質を安定化して、ミエリンと軸索の接着を維持するようにはたらくことが示唆されており (図4), この作用の結果、イオンチャネルが適切に集積されて、神経興奮伝導が正常に行われる可能性が考えられる²⁰⁾。

D スルファチドと認知症

アルツハイマー病患者の死後脳の解析から、脳内スルファチドはアルツハイマー病の超早期から減少する可能性が報告された²²⁾。軽度認知障害を呈する患者の脳灰白質および白質に含まれるスルファチド含有量は、認知機能に異常が認められない健常人脳の含有量のそれぞれ10%および40%程度であり、著しく減少していることが判明した。一方、ガラクトシルセラミド、スフィンゴミエリン、ホスファチジルコリンといった脳主要脂質の含有量に顕著な変化はなく、スルファチド代謝が特異的に影響を受けている可能性が示唆された²²⁾。また、脳脊髄液中のスルファチド含量の低下も報告されている⁴⁾。さらに、認知機能の低下はみられないが、アルツハイマー病の病理学的特徴がみられる前臨床期患者において、健常者脳との比較から、脳内スルファチドが減少していることが報告されている²³⁾。

また、アルツハイマー病のモデルマウスを用いた検討からも、本疾患とスルファチド代謝異常の関連が示唆されている。アルツハイマー病発症の強力なリスク因子として知られるヒト *APOE4* アレルを導入したマウスでは、脳内のスルファチド含量が減少することが報告されている²⁴⁾。また、アミロイド前駆タンパク質の変異体を導入した家族性アルツハイマー病マウスモデル・tgArcSwe マウスでは、脳内に蓄積したアミロイドβ斑近傍においてスルファチドが枯渇していることが質量分析イメージングにより示されている²⁵⁾。この報告では、ミエリンに特徴的なスルファチド分子種が枯渇していることが示されており、アミロイドβ蓄積に伴いミエリン変性が生じていることが示唆される。さらに最近、CreERT システムを用いて成獣マウスの *Gal3st1* 発現をオリゴデンドロサイト特異的にノックアウトし、ミエリン形成完了後の中枢神経においてスルファチドの欠損が脳機能に与える影響を検討した研究が報告された²⁶⁾。この研究では、3~4か月齢のマウスを用いてノックアウト処置し、1年ほど飼育した結果、脳内炎症や軽度認知障害、またアルツハイマー病リスク遺伝子 (*ApoE*, *Trem2* など) の発現増加が生じることが示された。以上から、成人脳内のスルファチド低下はアルツハイマー型認知症の発症あるいは進展に何らかの影響を与える可能性が示唆される。しかし、この仮説に否定的な研究報告もあり⁴⁾、スルファチドと認知症との関連性の解明に向けて、さらなる検討が必要である。

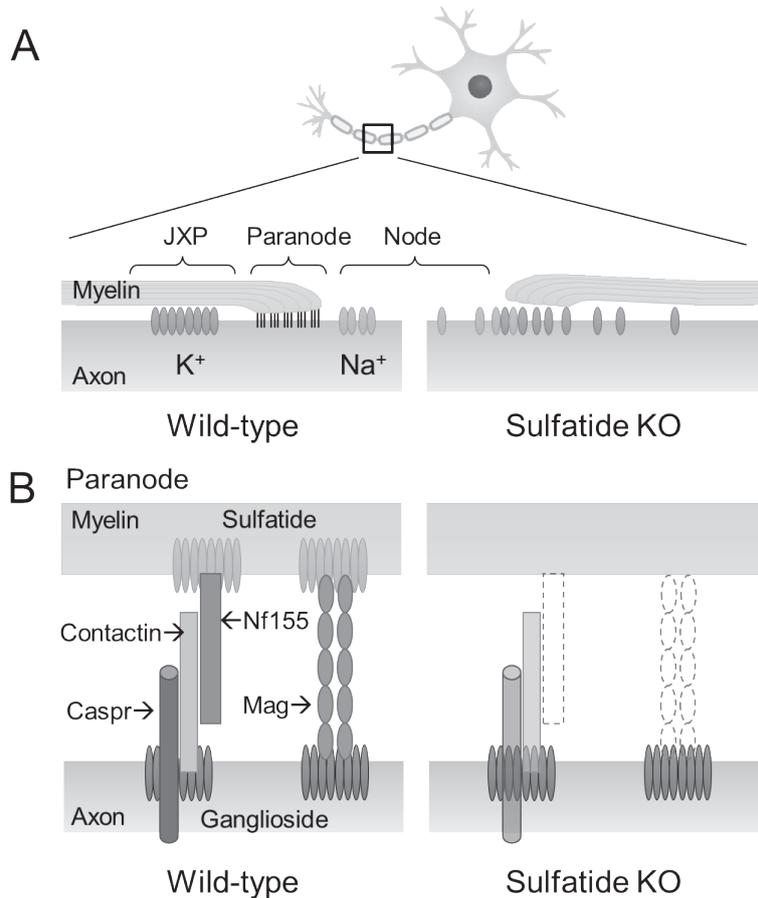


図4 中枢神経系におけるスルファチドの機能

(A) スルファチドは有髄神経軸索のランビエ絞輪・パラノード部において、ミエリン膜と軸索膜の接着に寄与する。スルファチド欠損マウス (*Gal3st1* KO) では、この接着が適切におこらず、Na およびK イオンチャネルの局在・集積に異常が生じる。Node, 絞輪部; JXP, 傍パラノード部。(文献7を参考に作図)

(B) パラノード部では、スルファチドはMag, Nf155などのタンパク質の発現を安定化して、ミエリン膜と軸索膜の接着に寄与する。スルファチド欠損マウスでは、これらのタンパク質発現量は顕著に減少するため、ミエリン膜と軸索膜が強く接着できないことが示唆されている。(文献20を参考に作図)

IV 腎臓における役割

A スルファチドは尿中へのアンモニア排出に関与する

腎臓は脳の次にスルファチドを多く含む臓器である³⁾。特に髄質に多量に含まれ、ヘンレループの細い上行脚～集合管に至る上皮細胞によく発現しているが、近位尿細管および糸球体にはみられない²⁷⁾。腎に発現するスルファチド分子種は9割弱がSM4であり、残りの1割強をラクトシル系列のSM3やSB1aが占める。腎のスルファチドはNa⁺/K⁺-ATPaseなどのNa⁺分泌を促進する作用が示唆されていたが³⁾⁹⁾、スルファチドを完全欠損する*Gal3st1*全身欠損マウスおよび*Ugt8a*全身欠損マウスでは腎臓に病理学的異常はみられず¹⁵⁾²⁸⁾、腎スルファチドの存在意義は不明であった。しかし、これらの遺伝子改変マウスでは神経症状が強

く生じていることや、代償反応としてラクトシル系列のスフィンゴ糖脂質の産生が亢進することなどから、腎におけるスルファチド欠損の影響が明瞭な表現型として現れていない可能性が懸念されていた。近年、腎臓特異的にスルファチドならびにラクトシル系糖脂質を欠失させたマウスが開発され、このマウスモデルを用いた解析から、腎スルファチドが尿中へのアンモニア排出を促して、体液の恒常性維持に寄与する知見が新たに報告された²⁹⁾。この報告では、腎スルファチド欠損マウスは、普通食飼育において尿中アンモニア濃度の減少と共に、尿中pHの低下を呈した。血中pHおよび重炭酸イオンは正常レベルに保たれていたが、塩酸食負荷によりアシドーシスを誘導すると、コントロールマウスよりも血中pHおよび重炭酸イオン値は顕著に低下し、尿中pHおよびNH₄⁺濃度の低下も顕

著であった。また、腎髄質内層のアンモニア蓄積量がコントロールに比べて約3割減少していた。通常、腎髄質内層ではアンモニアが高濃度に蓄積しており、これが駆動力となって集合管細胞から尿中へアンモニアが分泌される³⁰⁾。しかし、腎スルファチド欠損マウスではこのしくみが十分にはたらかないため、尿が酸性化し、過剰な酸負荷に対応できないことが示唆された。腎髄質内層にはスルファチドが高濃度に含まれており、スルファチドのマイナス電荷がNH₄⁺と強く相互作用することによって、大量のアンモニア分子を髄質内層に保持するという、腎スルファチドに特有の機能が示唆された²⁹⁾。

V 精巣における役割

A セミノリピドは精子形成に必須である

セミノリピドは精巣に発現する糖脂質の90%以上を占めており、特に精母細胞に強い発現が認められ、精子細胞、精子へと分化した後もその発現はみられる⁸⁾。*Gal3st1*欠損マウスは精巣中のセミノリピドを完全に欠いており、精母細胞の減数分裂が第一減数分裂前期で停止する³¹⁾。その結果、精子は形成されず、雄性不妊を呈することが報告されている¹⁵⁾。また、精子の頭部に発現するセミノリピドは、精子が卵子へ進入する過程で重要な役割を担うことが示唆されている⁸⁾。さらに近年、乏精子症患者の精子中ではセミノリピドが顕著に減少していることが報告され³²⁾、セミノリピドの低下と雄性不妊症の関連が臨床的にも分かりつつある。

B セミノリピド分解異常は精子形成を障害する

セミノリピドは精子形成に必須であるが、加齢によって減少することが報告されている³³⁾。また、セミノリピド分解酵素遺伝子*Arsa*の発現量は加齢に伴い増加することが報告されている³⁴⁾。これらの変化は、加齢に伴う生殖能力の低下と関連するよう思えるが、*Arsa*欠損マウスの精子は、形態異常を示し、その産生量は野生型マウスの半分ほどであり、受精能はほとんどないことが報告されている³⁵⁾。*Arsa*欠損マウスでは生殖細胞を栄養・保護するセルトリ細胞内にセミノリピドが蓄積しており、これが原因となって細胞障害ならびに細胞死を生じることにより、正常な精子分化が阻害されることが示唆されている。精母細胞が精子へ分化する過程では、セルトリ細胞が不要あるいは異常な生殖細胞を貪食・除去して、異常精子が形成されるのを防いでいる⁸⁾。不要・異常な細胞が出現する

頻度は加齢が進むにつれて増加することから、精巣の*Arsa*発現が加齢依存性に増加するのは、除去が必要な生殖細胞の増加に対応した現象であることが推測される。

VI 血液凝固系への作用

A 凝固促進作用

スルファチドは血小板の膜表面にも発現している¹⁰⁾。血管内皮が損傷すると、損傷部に活性化した血小板が接着・凝集して、血液凝固反応が始まる。この過程では、活性化した血小板表面に発現するP-selectinが血小板どうしの連結に重要な役割を果たす。スルファチドはP-selectinの生理的リガンドであり、血小板膜上に発現するスルファチドは隣りあう血小板上のP-selectinと強く相互作用し、血小板どうしの連結を促進して、凝固反応を加速させるはたらきが知られている³⁶⁾。

B 抗凝固作用

一方、スルファチドは血清リポタンパク質中の主要なスフィンゴ糖脂質であることが知られている¹⁰⁾。これらは血清試料中に回収されるので、血清スルファチドとよばれる。当初血清スルファチドは、ヒトに類似したリポタンパク質代謝動態を示すウサギ血清中に見いだされ、その後複数の哺乳動物血清中にも含まれることが明らかにされた³⁷⁾³⁸⁾。ウサギ血清のリポタンパク質画分を用いた解析において、リポタンパク質に含まれるスルファチドの分子種組成は肝臓のそれとよく一致していることが明らかにされており、血清スルファチドは肝臓由来であることが示唆される。実際、家族性高コレステロール血症のウサギモデルであるWHHLウサギでは、高LDLコレステロール血症を示すとともに、血清スルファチドの著しい増加を示す³⁷⁾。また、WHHLウサギの大動脈組織中には血清由来スルファチドが顕著に蓄積するが、正常ウサギの大動脈組織にはスルファチドは検出されない³⁹⁾。一方、精製したスルファチドをウサギやマウスの静脈内に注射すると、止血時間が遅延することが示されている⁴⁰⁾⁴¹⁾。また、試験管レベルの試験において、精製スルファチドがフィブリノーゲンやトロンビンなどの幾つかの凝固因子と結合して、凝固反応を阻害することが報告されている³⁸⁾⁴¹⁾。これらのことから、血清スルファチドは生体内で抗凝固因子として作用する可能性が考えられている。WHHLウサギは著しいコレステロール蓄積と動脈硬化病変を示すが血栓障害はほとんどみられ

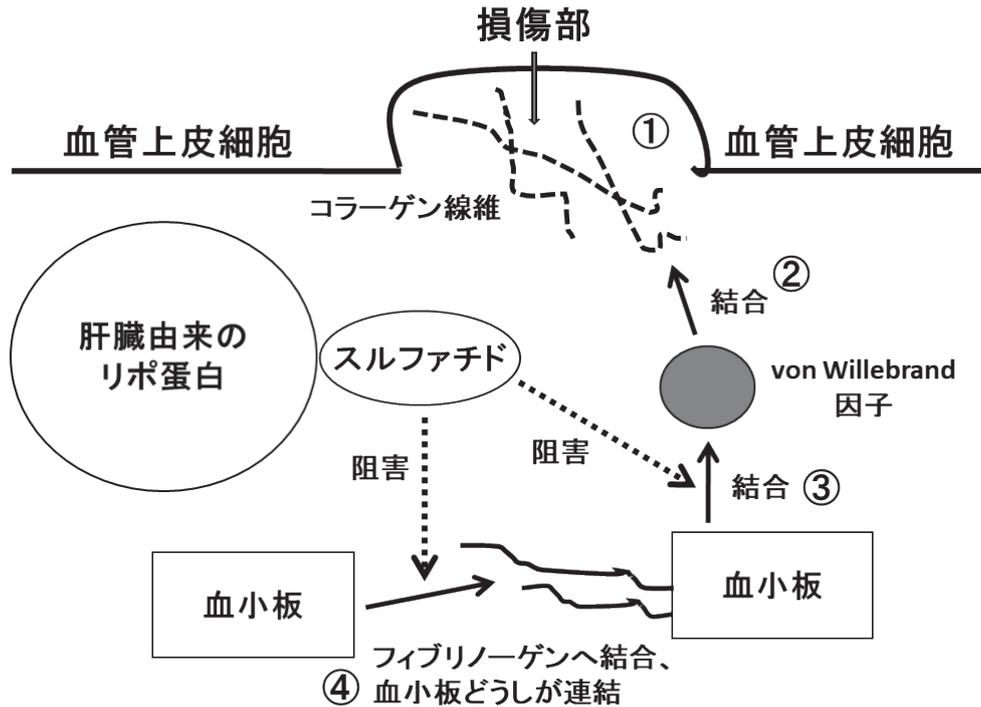


図5 血清スルファチドの血栓形成阻害作用のメカニズム

血管内皮が損傷しコラーゲン繊維が露出すると (①), von Willebrand 因子が結合し (②), それを介して血小板が接着する (③)。血小板はフィブリンノーゲンや、血小板膜上に発現する P-selectin およびスルファチドなどの分子を介して、血小板どうしが粘着・連結する (④)。一方、リポタンパク質に含まれる血清スルファチドは、血小板膜上のスルファチドと競合して、血小板どうしの粘着・連結を阻害する。また、図示していないが、スルファチドはフィブリンの生成も阻害する。

ないことが知られており、過剰蓄積した血清スルファチドが血栓の形成を防いでいる可能性が示唆されている⁴⁰⁾。

以上の血清スルファチドに関する知見は、主として筆者らの共同研究グループによって開拓されたものであり、血清スルファチドの抗凝固作用に関して図5に示す機序が想定されている。筆者らと同グループは信州大学腎臓内科との共同研究において、ヒト血清に適用可能なハイスループット定量分析系を確立し⁴²⁾、末期腎不全患者では健常者に比べて血清スルファチド値が顕著に低下していること、また心血管病の既往者では非既往者に比べて血清スルファチド値がより低いことを見だし、血清スルファチド低下と心血管病の関連性を初めて報告した⁴³⁾。また、血清スルファチドが酸化ストレスの影響を受けて低下することが血液透析患者⁴⁴⁾⁴⁵⁾、および急性・慢性腎障害マウスモデルの検討から示唆されている⁴⁶⁾⁴⁷⁾。また最近、指定難病である ANCA 関連血管炎の患者検体を用いた検討から、血清スルファチドが腎糸球体障害の発生予測に有効である可能性が新たに見いだされた⁴⁸⁾。血清スルファチ

ドは心血管障害や腎障害を反映するバイオマーカーとして有用である可能性があり、現在慢性腎臓病ならびに全身性血管炎の患者血清を用いた検討が進められている。

Ⅶ おわりに

硫酸化糖脂質の存在がよく知られている臓器・細胞系における主要な役割を紹介した。このほかに、スルファチドが炎症性免疫細胞のリガンドとしてはたらく知見、がん転移に関与する知見、またインフルエンザウイルスの増殖に寄与する知見なども報告されている⁹⁾⁴⁹⁾⁻⁵¹⁾。このように、硫酸化糖脂質は発現する細胞・臓器に応じて多様な機能を示すことから、多機能性分子とみなされている。その機能性は主にタンパク質との相互作用を介して、タンパク質の機能を調整することにより発揮されると考えられるが、その詳細な作用メカニズムは現在も不明である。硫酸化糖脂質には糖鎖と脂肪鎖の種類・組み合わせが異なる多種多様な分子種が存在しており、これらの代謝には複数の酵素が関わる。そのため、タンパク質のように単一の分

子種のみをターゲットにして、欠失あるいは過剰発現させたりすることができない。加えて、分子を特異的に標識することができないため、細胞や生体内での分布・代謝・他分子との相互作用の動態を詳しく追跡することができず、その作用メカニズムを研究する上で大きな障壁となっている。これらの糖脂質特有の課題は、今後の科学技術の発展により解決されることが望まれる。

また、硫酸化糖脂質の機能に関する知見は増えている一方、そのはたらきを制御する分子に関する知見はほとんど知られていない。本分子の作用を実臨床等で有効に活用するには、その制御メカニズムに関する知見も大変重要になる。この点に関して、筆者らは核内受容体 PPAR α が硫酸化糖脂質の産生を促進することを過去に報告した⁵²⁾。抗高脂血症薬であるフィブラート薬物は PPAR α アゴニストであり、マウスへのフィブラート投与は肝臓などの *Gal3st1* 発現レベルを顕著に上昇することを見いだした。また最近の研究から、硫酸化糖脂質の産生を促進する新たな低分子化合物を見いだしつつある。今後は、これらの化合物がヒトに

おいても同様の作用を示すかを検討すると共に、新たな硫酸化糖脂質モデュレーターの探索を進めたいと考えている。

硫酸化糖脂質に関する研究は、その発見から100年以上に亘り行われてきた。特に1980~2000年代に精力的な研究報告がなされ、現在の知識基盤が構築された。しかし、現在でもその生理機能や病態との関連性や制御機構など、不明な点はまだ数多く残されており、今後の研究によりこれらが明らかになることを期待したい。

謝 辞

本稿の執筆の機会を与えてくださった委員・関係者の皆様に深謝申し上げます。また、日頃より研究等業務を行うにあたり様々なご支援とご配慮をいただいている信州大学医学部内科学第二教室、分子薬理学教室、遺伝医学教室、医学教育研修センター、および国際医学研究推進学教室の先生方・スタッフの皆様方に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 岩森正男：糖脂質の構造と機能. 生化学 88 : 354-368, 2016
- 2) 松田純子：スフィンゴ脂質活性化タンパク質—サポシナー—の生理機能と疾患. 生化学 89 : 808-819, 2017
- 3) Ishizuka I: Chemistry and functional distribution of sulfoglycolipids. *Prog Lipid Res* 36 : 245-319, 1997
- 4) Blomqvist M, Zetterberg H, Blennow K, Månsson JE: Sulfatide in health and disease. The evaluation of sulfatide in cerebrospinal fluid as a possible biomarker for neurodegeneration. *Mol Cell Neurosci* 116 : 103670, 2021
- 5) 北谷和之, 浅野智志, 橋本真由美, 谷口 真, 岡崎俊朗：セラミドを中心としたスフィンゴ脂質代謝. 生化学 83 : 495-505, 2011
- 6) Sandhoff R, Hepbildikler ST, Jennemann R, et al: Kidney sulfatides in mouse models of inherited glycosphingolipid disorders: determination by nano-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Biol Chem* 277 : 20386-20398, 2002
- 7) Honke K: Biosynthesis and biological function of sulfoglycolipids. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 89 : 129-138, 2013
- 8) Tanphaichitr N, Kongmanas K, Faull KF, et al: Properties, metabolism and roles of sulfogalactosylglycerolipid in male reproduction. *Prog Lipid Res* 72 : 18-41, 2018
- 9) Takahashi T, Suzuki T: Role of sulfatide in normal and pathological cells and tissues. *J Lipid Res* 53 : 1437-1450, 2012
- 10) Kyogashima M: The role of sulfatide in thrombogenesis and haemostasis. *Arch Biochem Biophys* 426 : 157-162, 2004
- 11) Honke K, Zhang Y, Cheng X, Kotani N, Taniguchi N: Biological roles of sulfoglycolipids and pathophysiology of their deficiency. *Glycoconj J* 21 : 59-62, 2004
- 12) Hirahara Y, Wakabayashi T, Mori T, et al: Sulfatide species with various fatty acid chains in oligodendrocytes at different developmental stages determined by imaging mass spectrometry. *J Neurochem* 140 : 435-450, 2017
- 13) Hirahara Y, Bansal R, Honke K, Ikenaka K, Wada Y: Sulfatide is a negative regulator of oligodendrocyte differen-

- tiation : development in sulfatide-null mice. *Glia* 45 : 269-277, 2004
- 14) Baumann N, Pham-Dinh D : Biology of oligodendrocyte and myelin in the mammalian central nervous system. *Physiol Rev* 81 : 871-927, 2001
 - 15) Honke K, Hirahara Y, Dupree J, et al : Paranodal junction formation and spermatogenesis require sulfoglycolipids. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99 : 4227-4232, 2002
 - 16) Poliak S, Peles E : The local differentiation of myelinated axons at nodes of Ranvier. *Nat Rev Neurosci* 4 : 968-980, 2003
 - 17) Rasband MN : Clustered K^+ channel complexes in axons. *Neurosci Lett* 486 : 101-106, 2010
 - 18) Ishibashi T, Dupree JL, Ikenaka K, et al : A myelin galactolipid, sulfatide, is essential for maintenance of ion channels on myelinated axon but not essential for initial cluster formation. *J Neurosci* 22 : 6507-6514, 2002
 - 19) Palavicini JP, Wang C, Chen L, et al : Novel molecular insights into the critical role of sulfatide in myelin maintenance/function. *J Neurochem* 139 : 40-54, 2016
 - 20) McGonigal R, Barrie JA, Yao D, et al : Glial Sulfatides and Neuronal Complex Gangliosides Are Functionally Interdependent in Maintaining Myelinating Axon Integrity. *J Neurosci* 39 : 63-77, 2019
 - 21) Hayashi A, Kaneko N, Tomihira C, Baba H : Sulfatide decrease in myelin influences formation of the paranodal axo-glial junction and conduction velocity in the sciatic nerve. *Glia* 61 : 466-474, 2013
 - 22) Han X, M Holtzman D, McKeel DW Jr, Kelley J, Morris JC : Substantial sulfatide deficiency and ceramide elevation in very early Alzheimer's disease : potential role in disease pathogenesis. *J Neurochem* 82 : 809-818, 2002
 - 23) Cheng H, Wang M, Li JL, Cairns NJ, Han X : Specific changes of sulfatide levels in individuals with pre-clinical Alzheimer's disease : an early event in disease pathogenesis. *J Neurochem* 127 : 733-738, 2013
 - 24) Han X, Cheng H, Fryer JD, Fagan AM, Holtzman DM : Novel role for apolipoprotein E in the central nervous system. Modulation of sulfatide content. *J Biol Chem* 278 : 8043-8051, 2003
 - 25) Kaya I, Zetterberg H, Blennow K, Hanrieder J : Shedding Light on the Molecular Pathology of Amyloid Plaques in Transgenic Alzheimer's Disease Mice Using Multimodal MALDI Imaging Mass Spectrometry. *ACS Chem Neurosci* 9 : 1802-1817, 2018
 - 26) Qiu S, Palavicini JP, Wang J, et al : Adult-onset CNS myelin sulfatide deficiency is sufficient to cause Alzheimer's disease-like neuroinflammation and cognitive impairment. *Mol Neurodegener* 16 : 64, 2021
 - 27) Lüllmann-Rauch R, Matzner U, Franken S, Hartmann D, Gieselmann V : Lysosomal sulfoglycolipid storage in the kidneys of mice deficient for arylsulfatase A (ASA) and of double-knockout mice deficient for ASA and galactosylceramide synthase. *Histochem Cell Biol* 116 : 161-169, 2001
 - 28) Tadano-Aritomi K, Hikita T, Fujimoto H, Suzuki K, Motegi K, Ishizuka I : Kidney lipids in galactosylceramide synthase-deficient mice. Absence of galactosylsulfatide and compensatory increase in more polar sulfoglycolipids. *J Lipid Res* 41 : 1237-1243, 2000
 - 29) Stettner P, Bourgeois S, Marsching C, et al : Sulfatides are required for renal adaptation to chronic metabolic acidosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110 : 9998-10003, 2013
 - 30) Harris AN, Skankar M, Melanmed M, Battle D : An Update on Kidney Ammonium Transport Along the Nephron. *Adv Kidney Dis Health* 30 : 189-196, 2023
 - 31) Zhang Y, Hayashi Y, Cheng X, et al : Testis-specific sulfoglycolipid, seminolipid, is essential for germ cell function in spermatogenesis. *Glycobiology* 15 : 649-654, 2005
 - 32) Lopalco P, Vitale R, Cho YS, Totaro P, Corcelli A, Lobasso S : Alteration of Cholesterol Sulfate/Seminolipid Ratio in Semen Lipid Profile of Men With Oligoasthenozoospermia. *Front Physiol* 10 : 1344, 2019
 - 33) Ueno K, Ishizuka I, Yamakawa T : Glycolipid composition of human testis at different ages and the stereochemical configuration of seminolipid. *Biochim Biophys Acta* 487 : 61-73, 1977
 - 34) Cardoso-Moreira M, Halbert J, Valloton D, et al : Gene expression across mammalian organ development. *Nature*

571 : 505-509, 2019

- 35) Xu H, Kongmanas K, Kadunganattil S, et al: Arylsulfatase A deficiency causes seminolipid accumulation and a lysosomal storage disorder in Sertoli cells. *J Lipid Res* 52 : 2187-2197, 2011
- 36) Merten M, Thiagarajan P : Role for sulfatides in platelet aggregation. *Circulation* 104 : 2955-2960, 2001
- 37) Hara A, Taketomi T : Occurrence of Sulfatide as a Major Glycosphingolipid in WHHL Rabbit Serum Lipoproteins. *J Biochem* 102 : 83-92, 1987
- 38) Zhu X, Hara A, Taketomi T : The Existence of Galactosylceramide I3-Sulfate in Serums of Various Mammals and Its Anticoagulant Activity. *J Biochem* 110 : 241-245, 1991
- 39) Hara A, Taketomi T : Characterization and Changes of Glycosphingolipids in the Aorta of the Watanabe Hereditary Hyperlipidemic Rabbit. *J Biochem* 109 : 904-908, 1991
- 40) Hara A, Kutsukake Y, Uemura K, Taketomi T : Anticoagulant Activity of Sulfatide and Its Anti-Thrombotic Effect in Rabbit. *J Biochem* 113 : 781-785, 1993
- 41) Hara A, Uemura K, Taketomi T : Sulfatide prolongs blood-coagulation time and bleeding time by forming a complex with fibrinogen. *Glycoconj J* 13 : 187-194, 1996
- 42) Li G, Hu R, Kamijo Y, et al : Establishment of a quantitative, qualitative, and high-throughput analysis of sulfatides from small amounts of sera by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. *Anal Biochem* 362 : 1-7, 2007
- 43) Hu R, Li G, Kamijo Y, et al : Serum sulfatides as a novel biomarker for cardiovascular disease in patients with end-stage renal failure. *Glycoconj J* 24 : 565-571, 2007
- 44) Wang L, Kamijo Y, Matsumoto A, et al : Kidney transplantation recovers the reduction level of serum sulfatide in ESRD patients via processes correlated to oxidative stress and platelet count. *Glycoconj J* 28 : 125-135, 2011
- 45) Kamijo Y, Wang L, Matsumoto A, et al : Long-term improvement of oxidative stress via kidney transplantation ameliorates serum sulfatide levels. *Clin Exp Nephrol* 16 : 959-967, 2012
- 46) Li G, Hu R, Kamijo Y, et al : Kidney dysfunction induced by protein overload nephropathy reduces serum sulfatide levels in mice. *Nephrology* 14 : 658-662, 2009
- 47) Yamada Y, Harada M, Hashimoto K, et al : Impact of chronic kidney dysfunction on serum Sulfatides and its metabolic pathway in mice. *Glycoconj J* 36 : 1-11, 2019
- 48) Harada M, Nakajima T, Yamada Y, et al : Serum sulfatide levels as a biomarker of active glomerular lesion in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis : a single center pilot study. *J Clin Med* 11 : 762, 2022
- 49) Arrenberg P, Maricic I, Kumar V : Sulfatide-mediated activation of type II natural killer T cells prevents hepatic ischemic reperfusion injury in mice. *Gastroenterology* 140 : 646-655, 2011
- 50) Dong YW, Wang R, Cai QQ, et al : Sulfatide epigenetically regulates miR-223 and promotes the migration of human hepatocellular carcinoma cells. *J Hepatol* 60 : 792-801, 2014
- 51) Takahashi T, Murakami K, Nagakura M, et al : Sulfatide is required for efficient replication of influenza A virus. *J Virol* 82 : 5940-5950, 2008
- 52) Nakajima T, Kamijo Y, Yuzhe H, et al : Peroxisome proliferator-activated receptor α mediates enhancement of gene expression of cerebroside sulfotransferase in several murine organs. *Glycoconj J* 30 : 553-560, 2013

(R 5. 4. 24 受稿)