

Glycosphingolipid-Analyse von menschlichen myeloischen Leukämien

Glycosphingolipid Analysis of Human Myeloid Leukemias

Bernhard Kniep und Peter F. Mühlradt

Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH, Mascheroder Weg 1, D-3300 Braunschweig

Z. Naturforsch. **41c**, 100–102 (1986); received July 3/August 22, 1985

Dedicated to Professor Hans Grisebach on the occasion of his 60th birthday

Differentiation, Glycosphingolipids, Leukemia Cells, High Performance Liquid Chromatography, French-American-British Classification

Neutral glycosphingolipids of human myeloid leukemia cells in different differentiation stages from nine patients were analyzed by high performance liquid chromatography. All cells contained ceramide monohexoside, lactosylceramide and neutral glycosphingolipids of the lacto-series. However, some of the leukemic cells contained neutral glycosphingolipids of the globo-series. Especially myelomonocytic cells (French-American-British or FAB classification M4) and poorly differentiated cells (FAB M0 and M1) were found to contain globo glycosphingolipids. On myeloblast cells, (FAB M2), globo glycosphingolipids were missing or present only in very low amounts. It seemed, therefore, that on myeloid leukemic cells the glycosphingolipid composition may be dependent on their differentiation stage.

Bei akuten myeloischen Leukämien findet man ein oft vermehrtes Vorkommen von Zellen, die den Vorstufen der Granulozyten oder Monozyten ähneln. Die Leukämiezellen sind aber nicht mehr in der Lage, zu reifen Zellen auszudifferenzieren. Man unterteilt die Leukämiezellen je nach ihrer Zugehörigkeit zur granulozytären oder monozytären Reihe aufgrund von vorwiegend morphologischen Kriterien im sogenannten French-American-British (FAB) System in 6 verschiedene Gruppen [1]. Danach werden die undifferenzierten myelischen Leukämien mit M0 klassifiziert. M1 sind unreife, M2 reife Myeloblasten und werden zur granulozytären Reihe gezählt. M3 sind Promyelozyten, die sich sowohl in Granulozyten als auch in Monozyten ausdifferenzieren können. Die M4- und M5-Klasse hat überwiegend (M4) oder völlig (M5) monozytären Charakter.

Menschliche Leukozyten unterscheiden sich voneinander nicht nur morphologisch, sondern auch durch ihren Besitz an Glycosphingolipiden (GSL), einer Substanzklasse, die z. B. Blutgruppenantigenspezifität trägt [2]. Besonders Granulozyten und Monozyten unterscheiden sich dadurch, daß die Granulozyten GSL der lacto-Reihe (Strukturen siehe Legende zu Abb. 1), Monozyten jedoch überwiegend GSL mit einer globo-Struktur besitzen [3, 4]. Da diese Unterschiede bekannt waren, haben wir die Frage

untersucht, ob sich diese Unterschiede auch schon in den Vorstufen der jeweiligen Endzellen feststellen lassen. Wir untersuchten deshalb die GSL der Leukozyten von 9 Patienten mit unterschiedlichen Formen von akuten myeloischen Leukämien.

Zur Analyse wurden die GSL nach Extraktion und Reinigung perbenzoyliert und hochdruckflüssigkeitschromatographisch identifiziert [5, 6]. In Abb. 1B oben ist die Trennung der wichtigsten, möglicherweise vorkommenden GSL dargestellt. GSL der globo-, ganglio- und lacto-Reihe mit drei und vier Kohlenhydratresten können mit dem vorliegenden System getrennt und damit anhand ihrer Retentionszeiten identifiziert werden. In Abb. 1 sind einige GSL-Profile der Leukozyten von Patienten mit M2 (Abb. 1A), M3 (Abb. 1B) und M4 (Abb. 1C) Leukämien dargestellt. Innerhalb dieser Reihe beobachtet man, unter Berücksichtigung der sehr unterschiedlichen, für die Analyse zur Verfügung stehenden Zellmengen, eine relative Zunahme der globo-GSL bei Abnahme der lacto-GSL.

Eine vor kurzem durchgeführte Untersuchung der GSL verschiedener myeloischer Leukämiezelllinien hatte ebenfalls bei zunehmend monozytärem Charakter der Linien eine Zunahme des Gehalts an globo-GSL ergeben [4]. In Abb. 2 sind die prozentualen Anteile von globo- und lacto-Strukturen an den GSL mit drei und vier Kohlenhydratresten aus Leukozyten von 9 Patienten mit akuten myeloischen Leukämien, nach ihrer FAB-Klasse geordnet, dargestellt. Zum Vergleich dazu sind die bei vier myeloischen Zelllinien erhaltenen prozentualen Anteile an globo- und

Reprint requests to Prof. Dr. P. F. Mühlradt.

Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, D-7400 Tübingen
0341-0382/86/0100-0100 \$ 01.30/0

lacto-GSL mit in die Figur aufgenommen [4]. Danach sind die undifferenzierten M0- und M1-Zellen

und die M4/M5-Zellen durch einen wesentlich höheren Anteil an globo-GSL charakterisiert als die granulozytären M2- und die noch zur granulozytären Reihe gezählten M3-Zellen. Dies gilt sowohl für die Linien als auch für die Patientenzellen. Offensichtlich unterscheiden sich, wie die Endzellen Monozyt und Granulozyt, auch die Vorstufen dieser Zellen in ihrem GSL-Spektrum, wobei in der granulozytären Reihe die lacto-Struktur und in der monozytären Reihe die globo-Struktur überwiegt. Die undifferenzierten M0- und die schwach differenzierten M1-Zellen zeigen eine ähnliche globo/lacto-Verteilung wie in der M4/M5-Gruppe. Nach Ball und Fanger scheint es möglich, daß zwischen diesen Gruppen ein entwicklungsgeschichtlicher Zusammenhang besteht [7]. Nach dem Modell dieser Autoren, das auf Stu-

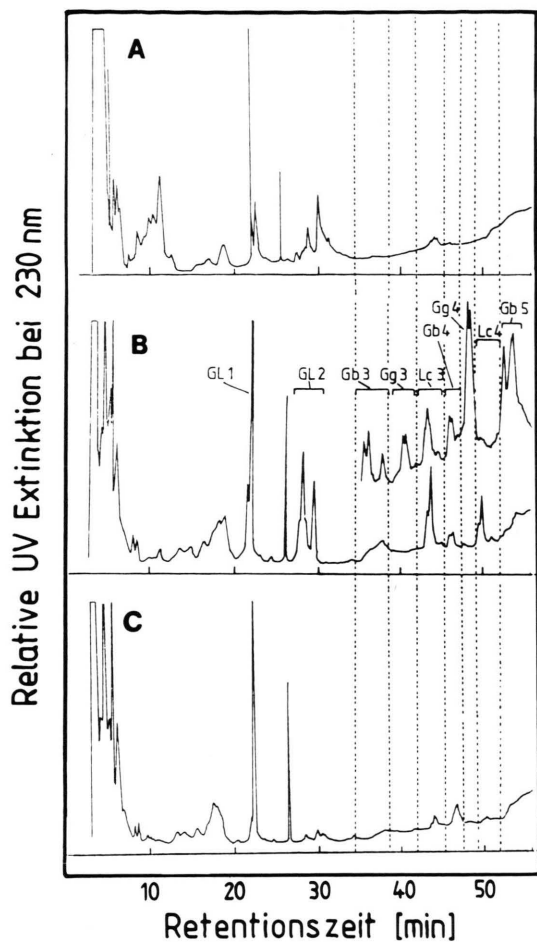


Abb. 1. HPLC-Profile perbenzoylierter Glykosphingolipide aus Leukozyten von Leukämiepatienten. Die senkrechten, gestrichelten Linien sollen die Zuordnung der Retentionszeiten von Probe- und Vergleichssubstanz erleichtern.

A. FAB M2-Patient, GSL aus 2.2×10^6 Zellen

B. unten: FAB M3-Patient, GSL aus 1.8×10^7 Zellen; oben: GLS-Vergleichssubstanzen. Die Abkürzungen bedeuten:

GL1, Monohexosylceramid Glc oder GalCer;

GL2, Lactosylceramid Gal(β 1-4)GlcCer;

Gb3, Globotriaosylceramid Gal(α -1-4)Gal(β 1-4)GlcCer;

Gg3, Gangliotriaosylceramid GalNAc(β -1-4)Gal(β 1-4)GlcCer;

Lc3, Lactotetraosylceramid GlcNAc(β -1-3)Gal(β 1-4)GlcCer;

Gb4, Globotetraosylceramid GalNAc(β 1-3)Gb3;

Gg4, Gangliotetraosylceramid Gal(β 1-3)Gg3;

Lc4, Lactopentaosylceramid Gal(β 1-4)Lc3;

Gb5, Globopentaosylceramid GalNAc(α 1-3)Gb4.

C. FAB M4-Patient, GSL aus 4.5×10^6 Zellen.

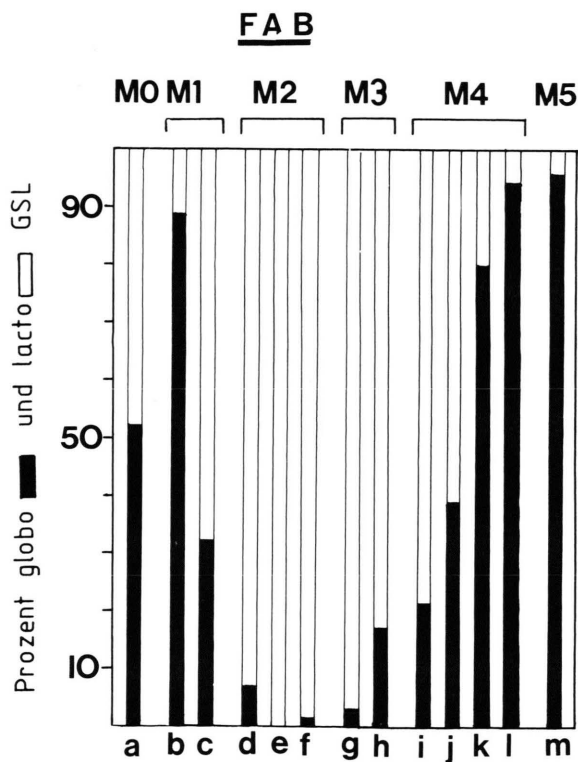


Abb. 2. Prozentuale Verteilung der lacto- und globo-GSL auf Leukozyten von Leukämiepatienten und myeloischen Zelllinien, nach FAB-Klassen geordnet.

Die Berechnung der prozentualen Verteilung erfolgte durch quantitative Auswertung der UV-Signale bei 230 nm [5].

Es bedeuten: a Patient F.S.; b Patient M.S.; c Patient V.; d Patient K.; e Patient E.; f Linie ML-2 [8]; g Linie HL60 [9]; h Patient L.; i Patient H.; j Linie ML-3 [10]; k Patient W.K.; l Patient M.N.; m Linie THP-1-0 [11].

dien der Reaktivität dieser Zellen mit einer Serie zell- und entwicklungsspezifischer monoklonaler Antikörper beruht, sind die M4-Zellen die unmittelbaren gemeinsamen Vorläufer sowohl der granulozytären als auch der monozytären Entwicklungslinie. Die M0/M1-Zellen wären demnach in der Entwicklungsli-

nie zwischen der myelomonozytären Stammzelle und den M4-Zellen einzuordnen.

Wir danken Dr. H. Bodenstein, ehemals Medizinische Hochschule Hannover, für die Patientenproben.

- [1] J. M. Bennett, D. Catovsky, M. Daniel, G. Flandrin, D. A. G. Galton, H. R. Gralnick and C. Saitan, *Br. J. Haematol.* **33**, 451 (1976).
- [2] S. Hakomori and W. W. Young Jr., *Scand. J. Immunol.* **7**, 97 (1978).
- [3] B. A. Macher and J. C. Klock, *J. Biol. Chem.* **255**, 2092 (1980).
- [4] B. Kniep, D. A. Monner, U. Schwuléra, and P. F. Mühlradt, *Eur. J. Biochem.* **149**, 187 (1985).
- [5] M. D. Ulman and R. H. McCluer, *J. Lipid. Res.* **18**, 371 (1977).
- [6] B. Kniep, D. A. Monner, H. Burrichter, V. Diehl and P. F. Mühlradt, *J. Immunol.* **131**, 1591 (1983).
- [7] E. D. Ball and M. W. Fanger, *Blood* **61**, 456 (1983).
- [8] K. Kubata, H. D. Preisler, M. S. Lok, and J. Minowada, *J. Leuk. Res.* **5**, 311 (1981).
- [9] S. J. Collins, R. C. Gallo, and R. E. Gallagher, *Nature* **270**, 347 (1977).
- [10] R. Herrman, T. Han, M. P. Barcos, M. S. Lok, and E. S. Henderson, *Cancer* **46**, 1383 (1980).
- [11] S. Tsuchiya, M. Yamabe, Y. Yamaguchi, Y. Kobayashi, T. Konno, and K. Tada: *Int. J. Cancer* **26**, 171 (1980).