糖質生物学における 研究手段としての阻害剤

高月 昭*

糖蛋白質などの複合糖質は細胞構築物質としてのみならず、発生・分化および細胞認識などの多岐にわたる生物機能を担っており、病態とも深く関わっている。糖質生物学がかかえる重要な課題を解析する手段として、有用な阻害剤の発見が期待されているが、糖蛋白質についてその現状を紹介する。

糖蛋白質、糖脂質やプロテオグリカンなどの複合糖質の多くは細胞表層に存在し、その糖鎖は細胞を覆うのに十分であるといわれている。細胞表層のみならず、細胞内のオルガネラや細胞外にも複合糖質は存在する。このように細胞の主要な構成成分である複合糖質は、細胞構造の構築にとって重要であるばかりでなく、加えて多岐にわたる生物機能をも担っている。現在では、細胞構築物質としてよりも生物機能の観点から多くの研究者の関心が複合糖質に向けられている。このような研究動向の流れから、1988年に“glycobiology (糖質生物学, 糖鎖生物学)”という言葉が提唱されるに至っている⁽¹⁾。

複合糖質の糖鎖合成と生物機能発現の場に至る細胞内転送ならびに生物機能といった、糖質生物学がかかえている多様な問題を解析する有効な手段の一つとして、阻害剤の利用があげられる。本稿では、報告されている阻害剤のうちのいくつかをとり上げて、阻害剤を用いた糖蛋白質の合成と細胞内転送や生物機能の解析の現状を阻害剤の作用を中心に解説する。

糖蛋白質糖鎖の合成と阻害剤

糖蛋白質糖鎖は、アスパラギン残基に *N*-グリコシド結合した糖鎖 (*N*-グリコシド糖鎖) とセリンまたはトレオニンに *O*-グリコシド結合した糖鎖 (*O*-グリコシド糖鎖) に大別できる⁽²⁾。 *N*-グリコシド糖鎖のみを有する糖蛋白質は数多くあるが、*O*-グリコシド糖鎖のみを有する糖蛋白質は例

外的であり、*O*-グリコシド糖鎖を有する糖蛋白質の大部分は *N*-グリコシド糖鎖を併せもつ。 *O*-グリコシド糖鎖合成はゴルジ器官で始まると考えられているが、その詳細は未だ明らかでなく、小胞体を含めゴルジ器官に到達する以前に始まるとする説もある。多くの研究者の関心は *N*-グリコシド糖鎖に向けられているのが現状である。今後は、*O*-グリコシド糖鎖の合成と機能の解析も活発になってくると考えられるが、以下では *N*-グリコシド糖鎖について述べる。

糖蛋白質 *N*-グリコシド糖鎖の合成過程は脂質中間体形成過程と、脂質中間体から *en bloc* に転移されたオリゴ糖鎖のトリミングを含めたプロセスの過程に大別できる。

1. 脂質中間体形成

脂質中間体形成は、UDP-GlcNAc から GlcNAc-1-P がドリコール-1-P に転移されて GlcNAc-PP-ドリコールが形成される反応に始まり、Glc₃Man₉GlcNAc₂-PP-ドリコールの形成で完成する (図 1)^(3,4)。

ドリコール-PP からのドリコール-P 再生を阻害するバシトラシンを除き、脂質中間体形成過程を選択的に阻害することが見いだされた化合物はツニカマイシンが最初である。ツニカマイシンに続いてアンフォマイシンやカスガマイシンなどの抗生物質が脂質中間体の形成過程を阻害することが報告されている^(5~7)。それらの阻害部位を図1に示す。これら阻害剤の脂質中間体形成解析への利用についてはすでに総説^(5~7)もあるので、最も利用されているツニカマイシンの作用について述

Inhibitors as Tools in Glycobiology

* Akira TAKATSUKI, 理化学研究所

図 1 ■ 脂質中間体形成のトポロジーと阻害剤の作用部位

簡略化のため一部省略してある。詳細は文献 4) を参照されたい。Dol: ドリコール, Gn: *N*-アセチルグルコサミン (GlcNAc), M: マンノース (Man), G: グルコース (Glc)

べることをとする。

ツニカマイシン (図 2) は、図 1 に示すように脂質中間体形成の第 1 段階である GlcNAc-PP-ドリコール形成を選択的に阻害するが、その他の糖-脂質形成阻害はほとんど示さない。その作用は UDP-GlcNAc で拮抗されるが、GlcNAc-PP-ドリコールに UDP-GlcNAc から GlcNAc が転移されて GlcNAc₂-PP-ドリコールが形成される過程には作用しない。ツニカマイシン構造中に含まれるアシル基がドリコールを、またウラシル-ツニカミン-GlcNAc が UDP-GlcNAc を、そして全体としてドリコール-P-UDP-GlcNAc

図 2 ■ GlcNAc-PP-ドリコール形成における仮想の反応中間体とツニカマイシンの構造の類似性

反応中間体を模倣していると考えられる。アシル基のない、あるいは、あっても C_4 以下では C_{15} のツニカマイシンの最少有効濃度の 1,000 倍でも

in vitro の GlcNAc-PP-ドリコール形成阻害を示さない。アシル基がないことによって阻害の特異性が失われ、UDP-GlcNAc アナログとして Glc-

NAc 転移反応を非選択的に 阻害 することは、検討した 濃度範囲 では認められない。また、*in vitro* の脂質中間体形成反応には炭素数が 6 以上であれば強い阻害作用を示すが、培養細胞レベルでの糖蛋白質糖鎖合成に対しては炭素数 12 以上で強い阻害作用を示す。これらの結果は、ツニカマイシンの活性発現におけるアシル基の重要性を示すとともに、小胞体での GlcNAc-PP-ドリコールの阻害における膜を貫通したアシル基についた GlcNAc の重要性を示唆しているとも考えられる。

ツニカマイシンの阻害作用は強く、その存在下で合成される糖蛋白質は *N*-グリコシド糖鎖を欠く。したがって、糖鎖が機能を担っているかどうかを検討する最初の手がかりを得るのに非常に好都合であることから、その特異な作用は頻用されるに至っており、ツニカマイシンを用いた報文は 2,000 篇を越える。

2. 糖蛋白質糖鎖のプロセッシング

完成された糖蛋白質 *N*-グリコシド糖鎖は高マンノース型、混成型、複合型に大別される。これら多様な糖鎖の合成は、粗面小胞体でのポリペプチド鎖の翻訳・伸長と並行して脂質中間体から *en bloc* に転移された高マンノース型オリゴ糖鎖が小胞体からゴルジ器官へ転送されゴルジ器官内を移行する過程で種々の修飾を受けて完成する。これら糖鎖トリミングや糖転移の場合はほぼ特定された (図 3)⁽⁸⁾。

2 本の *N*-グリコシド糖鎖を有する水疱性口内炎ウイルス (VSV) の場合、Indiana 株では両者ともに複合型であるが、New Jersey 株では複合型と高マンノース型の糖鎖が各 1 本存在する。この例にみられるように、1 分子のポリペプチド鎖に複数の *N*-グリコシド結合糖鎖を有する糖蛋白質の場合、すべての糖鎖の構造が同じではない例が多くある。また、同じアスパラギン残基に結合

図 3 ■糖蛋白質細胞内転送を反映する *N*-グリコシド糖鎖プロセッシングの局在性とトリミング阻害剤の作用部位
 ■: *N*-アセチルグルコサミン, ●: マンノース, ▲: グルコース, △: フコース, ○: ガラクトース, ◆: シアル酸. DMDP: 2,5-ジヒドロキシメチル-3,4-ジヒドロキシピロリジン

した糖鎖間の構造にも heterogeneity が認められることもよく知られている。糖鎖構造は糖蛋白質に依存すると同時にそれを合成する細胞に依存する面もあり、種や臓器に特異な糖鎖が合成されることは、ウイルス糖蛋白質や遺伝子組換え型インターフェロンなどで示されている⁽⁹⁾。このことは病態を糖鎖構造の変化で追跡する場合、同一種同一臓器の細胞を用いて比較することの重要性を示す。反面、これを利用して細胞を選択することで特定の糖鎖構造を有する糖蛋白質を作らせることも可能であろう。

一連の糖鎖プロセッシング過程に作用する阻害剤として、グルコース残基のトリミングに作用する 1-デオキシノ ジリマイシンやカスタノス ペルミン、マンノシダーゼ I に作用する 1-デオキシマンノジリマイシンやマンノシダーゼ II に作用するスワインソニンが知られている (図 3)^(5-7, 10, 11)。糖転移酵素に関しては、合成糖類似体の阻害活性が報告されている⁽¹²⁾。

糖鎖構造と生物機能相関の解析や糖蛋白質性生理活性物質の生産において、任意の糖鎖構造を創製できることは非常に意義がある。変異がよいか阻害剤がよいか現時点では断を下せないが、上に述べた糖鎖構造の heterogeneity を考慮した場合、非還元末端の糖ほどコントロールすることが難しいことが予想できる。グルコシダーゼ阻害剤存在下に合成される糖鎖は高マンノース型であることが期待される。1-デオキシノジリマイシンやカスタノス ペルミンなどのグルコシダーゼ阻害剤存在下に合成される *N*-グリコシド糖鎖の大部分は高マンノース型であるが、一部複合型糖鎖が合成される。その原因としてこれら阻害剤による阻害が不十分であることも考えられるが、最近、高マンノース型糖鎖に対するエンドグリコシダーゼの存在が示され、一部の高マンノース型糖鎖は本酵素でトリミングを受けて複合型に変換されるものと考えられる。この例に示されるように、特定の酵素を阻害することによって特定の糖鎖構造を作出できるとは限らない場合のあることは留意する必要がある。

病原菌の感染したマメ科牧草 (*Swainsona*) を

摂食したヒツジは神経障害をきたし、マンノシダーゼに似た病気にかかる。その原因物質としてスワインソニンが発見された。この例にみられるように、図 3 に示した阻害剤は本来トリミング酵素阻害剤として見いだされたものではない。糖蛋白質の糖鎖構造と生物機能は、すべてではないにしても、密接な関係がある。したがって、生物応答修飾物質として検索されたものの中にプロセッシング阻害剤が含まれているであろうことは十分に予想されるところである。生物応答修飾物質として単離された物質が糖蛋白質糖鎖プロセッシングも阻害することも認められている (未発表)。マンノシダーゼ II 阻害剤であるスワインソニンが免疫増強作用を示すことも報告されている⁽¹⁴⁾。

これらの例に示されるように、糖蛋白質糖鎖プロセッシング阻害剤は糖鎖構造と機能の関係を解析する上のみならず、生物応答修飾物質としての応用が期待される。しかし、図 3 に示す阻害剤による糖蛋白質糖鎖プロセッシング阻害が報告されて久しいが、新しい阻害剤の報告は少ない。糖鎖構造と生物機能相関の解析や生物応答修飾物質の知見から糖鎖プロセッシング阻害剤の有用性は示されており、糖鎖プロセッシング阻害剤の探索を積極的に推し進める時期にきていると考えられる。

糖鎖のトリミングに関与する酵素として、小胞体に存在するグルコシダーゼ I, II, ならびにマンノシダーゼ, ゴルジ器官に存在するマンノシダーゼ Ia, Ib, II がある。糖転移酵素に至っては、結合様式などを考慮すると数十あるいはそれ以上にのぼる酵素が関与する。糖蛋白質糖鎖構造解析研究の進展と相俟って、今後その数は増え続けるものと思われる。したがって、探索に当たっては標的酵素の選択が重要な課題である。

より選択的な阻害剤を探索するために (部分) 精製した酵素を用いる必要に迫られるが、多くの場合、活性の点で十分な量を確保することが困難であることが予想される。遺伝子工学的手法による大量生産で対応することは現時点では一部の酵素に関してのみ可能であり、今後の進展に期待したい。

トリミング酵素阻害剤 1-デオキシマンノジリ

マイシンは $\text{Man}_6\text{GlcNAc}_2$ を基質としたマンノシダーゼ I の酵素反応は阻害するが、*p*-ニトロフェニル- α -マンノシドを基質とした場合は阻害しない。この例にみられるように、基質の選択なり調製も重要な課題である。

蛋白質は糖鎖のトリミングや糖転移以外に、リン酸化、硫酸化、アシル化などの修飾を受ける。これらのプロセッシングは一部その機構と機能が明らかにされているが⁽¹⁸⁻¹⁹⁾、本稿では割愛する。

糖蛋白質細胞内転送と阻害剤

糖蛋白質は細胞表層や細胞内に局在してその機能を発現する。したがって、糖蛋白質の細胞内転送は生物機能に深く関わってくる。また、細胞内転送の調節による病態改善や細胞内転送を利用したドラッグデリバリーなどの応用も期待できる。

粗面小胞体で合成された糖蛋白質はゴルジ器官を経て細胞表層や細胞内器官に送られる。内から外への流れに加え、レセプターのリサイクリングのような外→内→外の流れや、いったん細胞内に蓄えられた後で外からの刺激に対応して分泌される調節分泌といった多様な局面が含まれる(図4)^(17,18)。これら一連の細胞内転送は小胞の形成と標的器官との融合の繰り返しで進行するが、その

過程で特定の器官に留まったり送られたりする仕分けが行なわれる。仕分けは糖蛋白質の側にあるシグナルと細胞側のレセプターとの間の相互作用で行なわれていると考えられる。リソソームへの転送におけるマンノース-6-リン酸とそのレセプター⁽¹⁹⁾、小胞体への保持に機能するK(酵母ではH)DEL 配列とそのレセプター⁽²⁰⁾などがその代表例である。

転送される側の糖蛋白質がもっている情報に関しては、部位特異的な変異や欠失の導入、キメラ蛋白質の創製など遺伝子工学的手法を用いて解析される⁽²¹⁾。それに比較して、転送する側の装置の解析には常套的手段はない。酵母では分泌変異株を取得して、その遺伝子を特定し遺伝子産物を解析するという研究法がとられている⁽²²⁾。動物細胞でも分泌変異株の取得が試みられてきたが、必ずしも成功していない。多くの糖蛋白質分泌変異株では特定の糖蛋白質のみが阻害を受け、チャイニーズハムスター卵巣(CHO)細胞由来のDS 28-6のみが多面的な分泌欠損を示す。また、これら変異株はその取得が単発的に報告されているのみで深く掘り下げて解析されたものはない。動物細胞は酵母に比較して細胞内膜系が発達しているという利点もある。このような事情を反映して、動物

細胞では *in vitro* の系と阻害剤を用いて解析が進められている⁽²³⁻²⁵⁾。

CHO 由来の 15 B 細胞は糖蛋白質糖鎖プロセッシング酵素 *N*-アセチルグルコサミン転移酵素 I に変異のある株で、複合型糖鎖を合成できない。しかし、細胞内転送は正常で、高マンノース型糖鎖をもった糖蛋白質が分泌される。Rothman らは VSV 感染 15 B 細胞からゴルジ画分を調製し、親株のゴルジ画分と孵置して G 蛋白質への *N*-アセチルグルコサミンの転移を追跡することで、ゴルジ槽間の転送を解析した⁽²⁶⁾。この一

図 4 ■ 多様な糖蛋白質細胞内転送経路
N: 核, ER: 小胞体, Gol: ゴルジ器官, TGN: トランスゴルジ網, SG: 分泌顆粒, Lys: リソソーム, End: エンドソーム, →: 転送の方向, ☆: クラスリン被覆小胞, ○: 非クラスリン被覆小胞, Y: 糖蛋白質, ~: マトリックス糖蛋白質

連の研究に触発されて多くの *in vitro* 系が報告されている。糖蛋白質のプロセッシングは局在化した場で起こるので、細胞内転送の進行を追跡するのに適した指標となる。

Rothman らの初期の研究でも種々の薬剤の阻害作用が検討されたが特異なものではなく、SH 基のアルキル化剤である *N*-エチルマレイミド (NEM) と非加水分解性の ATP を用いて解析が進められた。特に前者の阻害作用から NEM 感受性因子 (NEM sensitive factor : NSF, 小胞融合に関与する蛋白質であることから NEM 感受性融合 (NEM sensitive fusion : NSF) 蛋白質と呼ばれることもある) が見つかった⁽²⁶⁾。本蛋白質はゴルジ槽間の転送のみならず小胞体からゴルジ器官への転送やエンドサイトーシスにも機能していることや、酵母の Sec 18 p との相同性も明らかになった。

NEM の例に示されるように、阻害剤と *in vitro* 系の組合せだけでも細胞内転送の一段面を明らかにすることができる。糖蛋白質細胞内転送過程に作用するものとして、モネンシンやナイジェリシンのようなイオノフォア、クロロキンや塩化アンモニウムのような塩基性物質、バフィロマイシンやフォリマイシンのような液胞型 H^+ -ATP 分解酵素阻害剤、カルボニルシアニド-*m*-クロロフェニルヒドラゾンのような ATP 産生系阻害剤に加え、細胞骨格系に作用するものが知られている^(5,27)。ここでは、最近注目を集めているプレフェルジン A の作用を紹介する。

プレフェルジン A は種々の糸状菌の生産するマクロライド系抗生物質で (図 5)、蛋白質や核酸の合成を阻害するとする報告もあったが、筆者らは生体高分子合成にはほとんど影響することなく糖蛋白質の細胞内転送を阻害することを認めた。また、VSV 感染 BHK 細胞をプレフェルジン A

で処理すると $Man_5GlcNAc_2$ の高マンノース型糖鎖の G 蛋白質が蓄積することから、ゴルジ器官シス部位あるいはそこに至る以前の過程で細胞内転送を阻害すると結論した^(5,28)。

プレフェルジン A 処理後 15 分以内にゴルジ器官は消失し、螢光色素 *N*-[6-{(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino} caproyl] sphingosine (C_6 -NBD-セラミド) や、ゴルジ器官に局在するマンノシダーゼ II に対する単クローン抗体を用いて小胞体様の螢光染色像が観察されることから、小胞体からゴルジ器官へ向かう anterograde な流れと反対の retrograde な流れが示された⁽²⁹⁾。小胞体に転送されたゴルジ器官小胞の小胞体膜との融合の結果としてゴルジ器官で進行するプロセッシングを受けて、エンドグリコシダーゼ H 耐性になる例や、*O*-グリコシル化を受ける例が報告されている。anterograde とは異なり retrograde な転送は微小管に依存しており、ノカダゾールで阻害される。プレフェルジン A の細胞内転送阻害作用は可逆的であり、いったん消失したゴルジ構造はプレフェルジン A 除去後 15 分以内という短時間に再び形成される。M 期にゴルジ器官が消失することはよく知られているが、プレフェルジン A によるゴルジ器官の速やかな消失と再構成は、細胞内構造体の構築とその維持の点からも興味もたれる。

細胞内転送に関与する小胞にはクラスリン被覆小胞と非クラスリン被覆小胞があるが、 β -COP は非クラスリン被覆物質で、その cDNA 塩基配列は β -アダプチンと相同性を示す。ゴルジ器官の消失に先立って β -COP がゴルジ器官から遊離する⁽³⁰⁾。 β -COP の遊離はゴルジ器官表層に存在する β -COP の解離促進によるのではなく、結合=解離のリサイクリングにおいて再結合を妨げられることによる。ゴルジ器官消失のみみられないラットカンガルー培養細胞 (PtK 1) やイヌ腎細胞 (MDCK) のような上皮細胞では β -COP の遊離もみられない。 β -COP の遊離に関係なくプレフェルジン A はトランスゴルジ網とエンドソームの融合を誘起する⁽³¹⁾。 β -COP の解離が起こる細胞ではエンドサイトーシスでとり込まれた糖蛋白

図 5 ■ プレフェルジン A の構造

質のリソソームへの転送が阻害されるのに対し、解離の起こらない細胞では阻害されない。現象的には β -COP の解離に続いて retrograde なゴルジ器官成分の小胞体への転送と融合がみられるが、上に述べた CHO 細胞の分泌温度感受性変異株 DS 26-8 株では β -COP の解離なしでも融合が起り、 β -COP も小胞体へ運ばれる。このことは β -COP の解離が retrograde な転送の原因ではないことを示す。このように、プレフェルジン A の作用部位は一つではない。プレフェルジン A の作用標的は未だ明らかでないが、NSF のように細胞内転送の多様な局面に機能している同一の物質なり反応に作用していることは十分予想される。

細胞内転送における小胞を含めたオルガネラ内腔の酸性化の機能が、クロロキンやモノニンなどの阻害剤や液胞型 ATP 分解酵素の変異株を用いて解析されてきた^(5,92)。液胞型 ATP 分解酵素はリソソームのみならず小胞体、ゴルジ器官、分泌顆粒、エンドソームなどにも見いだされ、病態との関連もいわれている。個々の酵素のクローニングも進行中であるが、まだ小胞体からゴルジ器官に至る細胞内転送との関連で解析された例はない。Sec 18 p と相同性を示す蛋白質が液胞型の ATP 分解酵素活性を示すことは興味をもたれる。糖蛋白質 細胞内転送 阻害剤探索の過程で、 H^+ -ATP 分解酵素阻害剤が選択された。これらはすべて H^+ -ATP 分解酵素の中でも液胞型のみを選択的に阻害し、その中でフォリマイシンはゴルジ器官に至る前の段階で細胞内転送を阻害する。阻害を受ける過程は阻害剤によって異なり、また転送される糖蛋白質によっても阻害の様式が異なることは、各オルガネラに局在する液胞型 ATP 分解酵素あるいはその機能の差異を反映しているとも考えられる。

小胞体に隣接しゴルジ器官への転送に関与する transitional endoplasmic reticulum に既知の H^+ -ATP 分解酵素とは異なる ATP 分解酵素の存在が示されたが、今後も新たな ATP 分解酵素が見いだされてくると予想される。それらの機能を明らかにすることで、細胞内転送機構のみならず病態との関係も一層明確にされることが期待さ

れる。

細胞表層で機能する糖蛋白質は多岐にわたる。それを反映して、医薬開発との関連で細胞表層での機能を標的とした探索も多岐にわたる。しかし、細胞表層に至る細胞内転送の過程を標的にした探索例は少ない。糖蛋白質の細胞表層への転送は自己の複製に関わる基本的な現象であり、それらをすべて停止することは存続に関わる。細胞内転送には多様な局面があるが、その機構は基礎と応用の両面で重要な問題を提起している。筆者らも糖蛋白質細胞内転送阻害剤の探索に着手しているが、今後この分野に多くの関心が寄せられることを期待したい。

糖蛋白質糖鎖機能解析と阻害剤

糖蛋白質の多岐にわたる生物活性に糖蛋白質糖鎖が機能していることが示され、あるいは機能していると考えられている⁽¹⁾。癌化と細胞表層糖鎖構造の変化と、転移、浸潤、抗原性などの生物機能の変化はよく知られている例であるが、その他に von Willebrand 病、嚢胞性線維症、リウマチ性急性関節炎など多様な病態と糖鎖変化が関連づけられている^(1,88)。このような背景のもとに、糖蛋白質あるいはその糖鎖を標的とした治療薬の探索も増えつつある⁽⁸⁴⁾。また、糖蛋白質性の生理活性物質が遺伝子工学的手法で大量生産されるようになったが、糖鎖構造によって生物活性などが異なることから、品質管理の面からも糖鎖構造とその均一性に多大の関心が寄せられている。しかし、生物機能の変化が糖鎖構造そのものによるのか糖鎖構造変化に伴うポリペプチドの構造変化によるのかを区別することが重要であるが、それが困難なことが多いことに注意を払う必要がある。

糖蛋白質糖鎖の合成とプロセッシングの阻害剤を用いて糖鎖を削除したり糖鎖構造を変えることで糖鎖機能の解析が行なわれている。スワインソンによる免疫増強についてはすでに述べたが、その他のいくつかの例を紹介する^(1,5)。

細胞表層あるいは細胞外へ運ばれる蛋白質の多くが糖蛋白質であることから、グリコシル化が細胞内転送に直接に関与していると考えられてい

た。しかし、ツニカマイシン処理で *N*-グリコシル化を阻害しても多くの蛋白質は細胞内転送を阻害されないことから、糖鎖付加が細胞内転送の一次的シグナルである可能性は少ないといえる。しかし、糖鎖は糖蛋白質の立体構造や物性に関連しているので、これらの変化の結果として細胞表面出現の量的な現象が観察されることもある。また、リソソーム酵素のマンノース-6-リン酸のように糖鎖が細胞内転送の仕分けに機能している場合には、ツニカマイシンで *N*-グリコシド糖鎖の合成を阻害すると、誤って細胞表面へ運ばれる。糖鎖がなくても細胞内転送が進行することが認められている蛋白質でも、グルコース残基のトリミングを阻害すると小胞体に留まる例もある。グルコシダーゼ阻害剤はヒト免疫不全ウイルス感染に伴う合胞体形成を抑制することから抗ウイルス剤としての開発が試みられている。グルコシダーゼ阻害剤は浮遊培養細胞の増殖は阻害しないが、それから得られた接着して増殖するようになった変異株の増殖は抑制することも認められている。von Willebrand 因子は内皮細胞への血小板吸着に関与する糖蛋白質であるが、ツニカマイシンで処理すると von Willebrand 病様の変化がみられる。

糖蛋白質糖鎖機能の研究において、任意の糖鎖構造を有する糖蛋白質を任意の場に発現することができることが望まれるが、その研究は緒についたばかりである。上に述べた例にもみられるように、この分野でも阻害剤は有効な手段として用いられており、またより有効な阻害剤が求められている。

*

糖蛋白質の糖鎖合成とプロセッシング、細胞内転送、糖鎖構造と活性の相関研究における阻害剤の利用の現状と今後の展望を概観した。阻害剤がこれらの研究に重要な位置の一つを占めてきたし、その重要性は増すものと考えられる。有効な探索が展開されることによって、糖質生物学の研究に有用な阻害剤が見いだされることであろう。すでに述べたことであるが、それらはさらに医薬など応用への発展が期待され、また糖質機能研究の成

果は局在化やホーミングのシグナルを利用したドラッグデリバリーなど新しい応用の道の開拓につながることも期待される。

文献

- 1) T. W. Rademacher, R. D. Parekh & R. A. Dwek : *Annu. Rev. Biochem.*, **57**, 785 (1988).
- 2) J. Montreuil : *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.*, **37**, 157 (1980).
- 3) R. Kornfeld & S. Kornfeld : *Annu. Rev. Biochem.*, **54**, 631 (1985).
- 4) C. B. Hirschberg & M. D. Snider : *Annu. Rev. Biochem.*, **56**, 63 (1987).
- 5) 高月 昭, 田村孝造 : 蛋白質核酸酵素, **30**, 417 (1985).
- 6) A. D. Elbein : *Annu. Rev. Biochem.*, **56**, 497 (1987).
- 7) R. Datema, S. Olofsson & P. A. Romero : *Pharmac. Ther.*, **33**, 221 (1987).
- 8) J. Roth : *Biochim. Biophys. Acta*, **906**, 405 (1987).
- 9) M. W. C. Hatton, L. Marz & E. Regoeczi : *Trends Biochem. Sci.*, **8**, 287 (1983).
- 10) W. McDowell & R. T. Schwarz : *Biochimie*, **70**, 1535 (1988).
- 11) A. D. Elbein : *FASEB J.*, **5**, 3055 (1991).
- 12) W. Reutter & C. Bauer : *Adv. Enzyme Regul.*, **24**, 405 (1985).
- 13) M. F. G. Schmidt : *Biochim. Biophys. Acta*, **988**, 411 (1989).
- 14) C. Grose : *Annu. Rev. Microbiol.*, **44**, 59 (1990).
- 15) M. G. Low : *Biochim. Biophys. Acta*, **988**, 427 (1989).
- 16) R. A. J. McIlhinney : *Trends Biochem. Sci.*, **15**, 387 (1990).
- 17) S. R. Pfeffer & J. E. Rothman : *Annu. Rev. Biochem.*, **56**, 829 (1987).
- 18) W. Almers : *Annu. Rev. Physiol.*, **52**, 607 (1990).
- 19) S. Kornfeld : *FASEB J.*, **1**, 462 (1987).
- 20) H. R. B. Pelham : *Trends Biochem. Sci.*, **15**, 483 (1990).
- 21) H. Garoff : *Annu. Rev. Cell Biol.*, **1**, 403 (1985).
- 22) R. Schekman : *Annu. Rev. Cell Biol.*, **1**, 115 (1985).
- 23) J. Guenberg & K. E. Howell : *Annu. Rev. Cell Biol.*, **5**, 433 (1989).
- 24) W. E. Walch : *J. Biol. Chem.*, **264**, 16965 (1989).
- 25) Y. Goda & S. R. Pfeffer : *FASEB J.*, **3**, 2488 (1989).
- 26) J. E. Rothman & C. Orci : *FASEB J.*, **4**, 1460 (1990).
- 27) M. H. Mollenhouer, D. J. Morre & L. D. Rowe : *Biochim. Biophys. Acta*, **1031**, 225 (1990).
- 28) A. Takatsuki & G. Tamura : *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 899 (1985).
- 29) J. Armstrong & G. Warren : *Nature*, **344**, 383 (1990).
- 30) S. M. Hurtley : *Trends Biochem. Sci.*, **16**, 165 (1991).
- 31) H. R. B. Pelham : *Cell*, **67**, 449 (1991).
- 32) Q. Al-Awqati : *Annu. Rev. Cell Biol.*, **2**, 179 (1986).
- 33) D. D. Wagner : *Annu. Rev. Cell Biol.*, **6**, 217 (1990).
- 34) K.-A. Karlsson : *Trends Pharmacol. Sci.*, **12**, 265 (1991).