グリコシダーゼ阻害活性を有する糖類似アルカロイド：生物活性ならびに臨床応用への展望

浅野 直樹*

Glycosidase-Inhibiting Glycomimetic Alkaloids: Biological Activities and Therapeutic Perspectives

Naoki Asano*

Alkaloids mimicking the structures of sugars inhibit glycosidases because of a structural resemblance to the sugar moiety of the natural substrate. Glycosidases are involved in a wide range of important biological processes, such as intestinal digestion, post-translational processing of glycoproteins and the lysosomal catabolism of glycoconjugates. The realization that alkaloidal glycomimetics might have enormous therapeutic potential in many diseases such as viral infection, cancer and diabetes led to increasing interest and demand for these compounds. The usefulness of alkaloidal glycomimetics might not be restricted to the inhibition of glycosidases since a number of different competitive inhibitors, all known to stabilize proteins in their native conformation, are effective in rescuing the processing defect of the mutant enzyme protein. These compounds, which we call "chemical chaperones", also may prove to be effective in correcting a number of other protein folding abnormalities in human genetic diseases.

Key words: alkaloidal glycomimetics, glycosidase inhibition, antidiabetes, antiviral, anticancer, lysosomal storage disease, chemical chaperone

はじめに

糖の構造を擬態(mimic)するアルカロイドが植物界や微生物界に広く分布していることが明らかになってきた。このような糖類似アルカロイドは天然基質の糖部分の構造とよく似ているため、様々な糖加水分解酵素(グリコシダーゼ)を阻害する。グリコシダーゼは小腸での糖質消化、細胞内での糖蛋白質糖鎖生成における糖鎖プロセッシングおよび細胞内小器官のリソソームにおける複合糖質代謝など、非常に重要な生物学的プロセスに関与している。1980年前後から、これらの重要な生物学的プロセスを阻害する化合物を医薬品として利用する試みや、真核細胞表層に存在する糖脂質や糖蛋白質の生理学的機能の解明を目的として、阻害剤による糖鎖構造を改変する試みが活発に行われるようになった。このような背景のもとで、より活性が強く、またより特異性の高いグリコシダーゼ阻害剤の探索が世界中で行われ、今までに数多くの阻害剤が植物および微生物起源から見いだされている。これらの阻害剤は1988年に提唱された"Glycobiology"¹⁾の飛躍的な発展に大いに寄与した。グ

リコシダーゼ阻害剤の歴史は1965年頃から現在までをIV期に分けることができると思う。第I期：古典的グリコシダーゼ阻害剤ノジリマイシンの発見と酵素学研究への応用；第II期： α -グルコシダーゼ阻害剤の糖尿病治療薬としての臨床応用；第III期：糖蛋白質糖鎖プロセッシング・グリコシダーゼ阻害剤による糖鎖の生理的意義の解明および抗ウイルス・癌転移抑制への応用；第IV期：グルコシルセラミド(GlcCer)合成酵素(糖転移酵素)阻害剤による先天的なスフィンゴ糖脂質(GSL)蓄積症の症状改善、リソソーム・グリコシダーゼ阻害剤による先天的GSL蓄積症の分子治療(化学シャペロン療法)への応用。この総説では、以上のような歴史の流れの下で、天然からの糖類似アルカロイドの単離、さらに誘導体を含めた生物活性ならびに臨床応用への現況と展望について述べる。

1. α -グルコシダーゼ阻害剤

1.1 単離

グリコシダーゼ阻害活性を有する糖類似アルカロイドについて話をすると、ノジリマイシン(1)抜きでは語れない。1966年、ノジリマイシンは *Streptomyces roseochromogenes* R-468 の培養液から抗生物質として初めて単離された²⁾。ノジリマイシンは比較的不安定なため、重亜硫酸塩またはNaBH₄が白金触媒による還元反応によりデオキシノジリマイシン(DNJ)(2)として保

* 北陸大学薬学部

* Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokuriku University

管される³⁾。ノジリマイシンは抗生物質としての実用的価値はなかったが、 α -および β -グルコシダーゼの強力な阻害剤として今でも酵素学研究に使用されている。DNJは後に桑属の植物の葉および根皮から単離され、モラノリンとも呼ばれた⁴⁾。DNJは*Bacillus*属や*Streptomyces*属の細菌の培養液中からも単離されている^{5,6)}。DNJは2-, 3-, 4-O- α -グルコシド、2-, 3-, 4-, 6-O- β -グルコシド、2-, 6-O- α -ガラクトシドさらにN-メチル体としても桑に含まれていることを筆者らは見いだしている^{7,8)}。桑はまた、DNJの2-デオキシ体であるファゴミン(3)も産生する。1974年、ファゴミンはソバ(*Fagopyrum esculentum*)種子中の非蛋白性アミノ酸の探索過程で見いだされ、新ピペリジンアルカロイドとして報告されている⁹⁾。南アフリカ原産のマメ科植物の*Xanthocercis zambesiaca*にはファゴミンやその3-および4-O- β -グルコシドが高い含有量で含まれている^{10,11)}。1988年にはDNJの α -1-C-ヒドロキシメチル体のホモノジリマイシン(HNJ)(4)が中南米原産のトウダイグサ科の*Omphalea diandra*から単離された¹²⁾。しかしながら、メリル・ダウ社の研究者はHNJが天然から単離される以前に経口糖尿病治療薬MDL 25637(HNJの7-O- β -グルコシド)の合成原料としてすでにHNJを化学合成していた¹³⁾。その後HNJとMDL 25637は園芸植物のアグラオネマ(*Aglaonema treubii*)やヒヤシンス(*Hyacinthus orientalis*)からも単離された^{14,15)}。

1976年、 β -フルクトフラノースの構造を擬態した2*R*, 5*R*-bis(dihydroxymethyl)-3*R*, 4*R*-dihydropyrrolidine(DMDP)(5)がマメ科の*Derris elliptica*¹⁶⁾から単離されたが、その後様々な植物から見いだされている¹⁷⁾。DMDPから1個ヒドロキシメチル基が除かれたD-AB1と略称されている1, 4-dideoxy-1, 4-imino-D-arabinitol(6)も最初熱帯アフリカ原産のマメ科*Angylocalyx*属の植物から単離されたが、今やDMDPと同様、様々な植物から見いだされている¹⁷⁾。ポリヒドロキシピロリン・アルカロイドのネクトリシン(7)はカビ*Nectricia ludica* F4490の培養液から免疫修飾物質として単離されている¹⁸⁾。

オーストラリアの熱帯雨林には一属一種のマメ科の大木*Castanospermum australe*が生育している。豆の莢の長さは10–35 cmに及び、中には大きな栗のような豆が3–5個入っている。家畜はしばしばこの豆を食べ、特に未熟な豆は重篤な胃腸障害を引き起こし、死に至ることもある。原住民のアボリジニーは豆を水でさらした後、食用にしている。1981年にこの植物の豆から新規インドリチジンアルカロイドのカスタノスペルミン(CAS)(8)が単離された¹⁹⁾。この植物はインドリチジンアルカロイドの他にピロリチジンアルカロイドのオー

ストラリン(9)²⁰⁾と7-エピオーストラリン(10)²¹⁾も産生する。*Casuarina equisetifolia*の樹皮は、西サモアでは乳癌治療の目的で処方されている。この樹皮には10のC-6 α 位に水酸基がもう1つ配位したカシュアリン(11)とその6-O- α -グルコシドが含まれていた^{22,23)}。

バイエル社は糖尿病治療薬開発に向けて1960年代の末頃から小腸スクラーゼの阻害剤の探索を行ってきた。その結果、*Actinoplanes* strain SE 50の培養液から擬似四糖のアカルボース(12)を見いだした²⁴⁾。アカルボースはtrihydroxy(hydroxymethyl)cyclohexeneと4-amino-4, 6-dideoxy-D-glucopyranoseがアリル位でイミノ基を介して結合した母核アカルビオシンを有している。類似の構造は農業用抗生物質のバリダマイシンにも見いだされる²⁵⁾。後にカルバグルコシルアミンのバリダミン(13)、バリエナミン(14)、バリオラミン(15)がバリダマイシン生産菌の培養液中から α -グルコシダーゼ阻害剤として単離された²⁶⁾。

1.2 生物活性ならびに臨床応用

小腸の刷子縁部分には多種類のグリコシダーゼが存在し、糖類の消化を行っている。従って、これらのグリコシダーゼを阻害することは炭水化物の吸収を抑制することになるであろう。桑葉は中国では伝統的に“Xiao-ke”(糖尿病)の治療に用いられてきた。DNJの桑からの発見は、桑抽出エキ스는食後の血糖値の上昇を抑制するという経験によってもたらされたものであった。DNJは*in vitro*では極めて強力な α -グルコシダーゼ阻害活性を示したにもかかわらず、*in vivo*での有効性は緩和であった²⁷⁾。そこで*in vivo*での活性増加を期待して数多くのDNJ誘導体が合成され、その中からミグリトール(BAY m 1099)(16)、エミグリテート(BAY o 1248)(17)、MDL 25637(18)、MDL 73945(19)が*in vivo*で有効な化合物として選択された。ミグリトールとエミグリテートの食後血糖上昇を50%抑制する阻害剤用量(ED₅₀)は、それぞれ0.24 mgと0.16 mg/kg body wt.であった²⁸⁾。両化合物は*in vivo*での持続性効果が特徴である。MDL 25637とMDL 73945の場合、負荷するスクロースと阻害剤を同時に投与するより、スクロース投与の30–60分前に阻害剤を投与する方が、より有効であるように見える。

アカルボースはブタ小腸スクラーゼに対し0.5 μ Mという50%阻害濃度(IC₅₀)を有する強力な阻害剤であり、ラットや健康なボランティアを使った糖負荷試験においても食後の高血糖を抑制し、それに伴ってインスリンの分泌量も減少した²⁸⁾。アカルボース(商品名：グルコバイ)は糖尿病治療薬として1990年に上市された。武田薬品工業の堀井らは、バリオラミンの*in vitro*での α -グルコシダーゼ阻害活性を高めるために、数多くのN-置

Fig. 1 Structures of naturally occurring α -glucosidase inhibitors.

Fig. 2 Structures of chemically synthesized antidiabetic agents.

換誘導体を合成し、非常にシンプルな誘導体 AO-128 (一般名: ボグリボース) を選び出した²⁹⁾。ボグリボース (20) はバリオラミンとジヒドロキシアセトンの還元的アミノ化反応によって得られる。バリオラミンはブタのマルターゼとスクラーゼに対し、それぞれ 2.2 μ M, 0.049 μ M という IC₅₀ 値を有する強力な阻害剤であるが、ボグリボースはさらに強力で、マルターゼに対して 0.015 μ M, スクラーゼに対しては 0.0046 μ M という IC₅₀ 値を示す。ボグリボース (商品名: ベイスン) も今や日本で上市され、インスリン非依存型糖尿病 (NIDDM) に対し優れた治療成績をあげている。

糖鎖生物学はこの 20 年間で飛躍的に進歩発展し、糖蛋白質糖鎖の構造と機能に関する情報が蓄積してきた。現在明らかになっている糖鎖の働きには 2 つある。1 つは糖鎖そのものが直接機能している場合で、ある反応の引き金を引いたり、受容体として情報の受け取りに関与する。また、蛋白質のタグ (荷札) の役割を糖鎖が担い、特定の場所にその蛋白質が間違いなく到達できるようにしている。細胞内には未成熟な蛋白分子や異常蛋白分子

が目的の場所に送られないようにする品質管理機構が存在することが最近わかってきた。さらに糖鎖構造が次の成熟過程へ移行するためのシグナルになっていることも明らかになってきた。糖鎖のもう 1 つの役割は、それ自身は機能分子ではないが、糖鎖に結合している蛋白質や脂質を安定化させ、十分にその機能が発揮できるよう助けることである。蛋白質や脂質が血流にのって移動するとき、様々な酵素や障害と直面するが、糖鎖がそれらをしっかりと保護している。

小胞体上で合成される多くの蛋白質に付加される N 型糖鎖は、細胞内を移行する際に複雑なプロセッシングを受ける。小胞体で合成された蛋白質は膜を通過して内腔に現れた時点で Asn-X-Thr/Ser の Asn 残基にコア糖鎖 (Glc₃Man₉GlcNAc₂) の付加を受ける。そしてすべてのグルコースと一部のマンノースが α -グルコシダーゼ I と II, および α -マンノシダーゼの作用によって除かれた後、小胞体からゴルジ装置に移行する。DNJ, HNJ, CAS は α -グルコシダーゼ I と II の阻害剤であるが、DNJ と HNJ は α -グルコシダーゼ II をより強く阻害する³⁰⁻³²⁾。DNJ や HNJ の N-アルキル化はその特異性を α -グルコシダーゼ II から I へシフトさせる^{32,33)}。CAS は DNJ より有効な α -グルコシダーゼ I の阻害剤であるが、これは CAS の 1 位水酸基 (DNJ の 6 位水酸基に相当) が 5 員環の閉環によりピペリジン環に対して axial 位に固定配位されることによると考えられている (図 4)³⁴⁾。X 線結晶解析は、DNJ の 6 位水酸基 (HNJ では 1 位水酸基) は結晶構造においてはピペリジン環に対して equatorial であり、NH...O 6 (HNJ では NH...O 1) 分子内相互作用が C 6-O 6 (HNJ では C 1-O 1) コンフォメーションを安定化することを明らかにした^{34,35)}。DNJ や HNJ の N-アルキル化はこの分子内相互作用を破壊 (これが α -グルコシダーゼ I に対する力価を高める主要因だと考えられている) する結果、DNJ の 6 位 (HNJ では 1 位) 水酸基は優位コンフォメーションとして axial 配位となる³⁶⁻³⁸⁾。

インフルエンザウイルス感染 MDCK 細胞を CAS (1 μ g/ml) または DMDP (250 μ g/ml) で処理すると、Glc₃Man₇₋₉GlcNAc₂ の糖鎖を持ったウイルス糖蛋白質が形成される。しかし、このような条件下でもウイルス粒子の形成は認められ、感染性ならびに感染価でみたウイルス産生量は対照と差が認められなかった。また、DMDP 存在下で合成されるコンプレックス型糖鎖と高マンノース型糖鎖の割合は 250 μ g/ml で 17:83 であったことから、DMDP もまた細胞レベルでは α -グルコシダーゼ I を阻害すると結論された。IEC-6 小腸細胞を DNJ (5 mM) で処理すると、糖蛋白質の糖鎖構造はコン

Fig. 3 Reactions involved in the processing of the oligosaccharide chains of the N-linked glycoproteins. Glc=glucose, Man=mannose, Gal=galactose, NeuNAc=N-acetylneuraminic acid (sialic acid), GlcNAc=N-acetylglucosamine.

Fig. 4 Preferred conformation of DNJ, CAS, Bu-DNJ, and Me-HNJ.

プレックス型から末端にグルコースが結合した高マンノース型へシフトするが³⁰⁾, Asn へのオリゴ糖供与体 $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2\text{-PP-dolichol}$ の形成をも阻害することが報告されている³⁹⁾。一方, 同細胞を 2 mM の *N*-メチル-DNJ (Me-DNJ) で処理しても, 形成されるリピド中間体は対照細胞と同じ $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2\text{-PP-dolichol}$ であり, 産生量も対照と変わりがなかった。インフルエンザウイルス感染 MDCK 細胞を 100 $\mu\text{g/ml}$ の *N*-メチル-HNJ (Me-HNJ) で処理すると形成されるウイルス糖蛋白質の糖鎖構造は $\text{Glc}_3\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ であった³²⁾。HNJ 処理でも同様な結果が得られたが, *in vitro* の α -グルコシダーゼ I 阻害活性と同様 *in vivo* においても HNJ の阻害効果は Me-HNJ のものより低かった。HNJ の 7-*O*- β -グルコシドである MDL 25637 は *in vitro* では α -グルコシダーゼ II の阻害剤であるが, *in vivo* においても MDL 25637 処理で形成されるインフルエンザウイルス糖蛋白質の糖鎖構造は α -グルコシダーゼ II 阻害に由来する $\text{Glc}_2\text{Man}_9\text{GlcNAc}_2$ であった⁴⁰⁾。

多くの動物ウイルスは 1 種類あるいは数種類の糖蛋白質からなるエンベロープ (外被) を有している。ウイルスは宿主細胞の蛋白合成装置をそっくり借用して自分の蛋白質を合成するわけである。ヒト免疫不全ウイルス (HIV) の外被糖蛋白質 gp 120 は非常に糖鎖に富んでいる。gp 120 には 24 箇所の *N*-型糖鎖結合部位を持ち, 分子量の約半分は糖鎖部分による⁴¹⁾。糖鎖形成にはプロセシング α -グルコシダーゼが必須であることから, α -グルコシダーゼ阻害剤は HIV の正常な外被糖蛋白質形成を阻害する抗 HIV 剤になるかもしれないと考えられた。1987 年, イギリス⁴²⁾, アメリカ⁴³⁾, オランダ⁴⁴⁾ のグループがほぼ同時期に α -グルコシダーゼ I の阻害剤である CAS が抗 HIV 活性を示すという論文を発表した。マリオン・メリル・ダウ研究所のグループは様々な CAS 誘導体を合成し, 6-*O*-ブタノイル誘導体 (MDL 28574)

が CAS より優れた抗 HIV 活性を示すことを見いだした⁴⁵⁾。*N*-ブチル-DNJ (Bu-DNJ) も抗 HIV 活性を示すが, その効果は CAS や MDL 28574 よりも弱い。HIV-1 が感染したヘルパー T 細胞は非感染の T 細胞と融合して多核巨細胞 (syncytia) を形成するが, その多核巨細胞形成を 50% 阻害する濃度で MDL 28574, CAS, Bu-DNJ, DNJ の抗 HIV 活性を比較すると, それぞれ 1.1, 29, 56, 560 μM であった⁴⁶⁾。MDL 28574 は単純ヘルペスに対する治療薬として⁴⁷⁾, また Bu-DNJ や *N*-ノニル-DNJ は B 型および C 型肝炎ウイルスに対する治療薬としての可能性も探られている^{48,49)}。

細胞表面に存在する複合糖質の糖鎖部分が腫瘍細胞の転移拡大に重要な役割を果しているという実験結果がすでに数多く得られている。CAS と Me-DNJ は腫瘍細胞の接着能を弱めたり, 転移細胞の血小板凝集を阻害することにより癌転移抑制作用を示すことが知られている^{50,51)}。ヌードマウスにおける腫瘍細胞の増殖および血管新生におよぼす CAS の影響についても調べられている。EHS-BAM 腫瘍細胞をヌードマウスに接種後 29 日目から CAS (2.5 mg/日/マウス) を 5 日間にわたって腹腔内投与し, 処置後 13 日目に腫瘍細胞の増殖を測定したところ, 腫瘍細胞の増殖は対照より約 50% も抑制されていた⁵²⁾。また, CAS 処理された C 57/BL マウスを使った *in vivo* での血管新生形成も同様に抑制された。免疫抑制因子の添加で増殖が低下したリンパ球を, マイトジェンのコンカナバリン A (Con A) と免疫活性物質のネクトリシン共存下で培養すると, 低下したリンパ球の増殖は正常レベルまで回復した。またネクトリシンは免疫抑制マウスのヒツジ赤血球に対する抗体産生能をも正常レベルまで回復させた¹⁸⁾。

2. α -マンノシダーゼ阻害剤

2.1 単 離

オーストラリアの牧草地に自生するマメ科の植物 *Swainsona canescens* を摂食した家畜に, リソソーム α -マンノシダーゼ欠損症のマンノシドーシスによく似た神経障害が見られることがある⁵³⁾。1979 年にその毒性原因物質としてインドリチジンアルカロイドのスウェインソニン (SWA) (21) が単離された⁵⁴⁾。アメリカ西部において家畜に“ロコ中毒症”を引き起こすロコ草 (*Astragalus* 属および *Oxytropis* 属の植物) にも SWA が含まれている⁵⁵⁾。*C. australe* は CAS とともにその 6-エピ体 (22) も産生し, その 6 員環部分の立体配位はマンノースと同じで, ヒトの中性 α -マンノシダーゼの優れた阻害剤である⁵⁶⁾。デオキシマンノジリマイシン (DMJ) (23) は西インド諸島や熱帯アメリカに生育しているマメ科の *Lonchocarpus sericeus* の種子から最初単離された⁵⁷⁾ が, その後 HNJ 産生植物の *O. diandra*¹²⁾

や熱帯アフリカの森林地帯に生育するマメ科の *Angylocalyx pynaertii*⁵⁸⁾ から単離された。DMJ は DNJ の高生産株としてすでに報告されている⁵⁹⁾ *Streptomyces lavendulae* GC-148 の培養液からも単離されている⁶⁰⁾。 *S. subbrutillus* ATCC 27467 は培養液中に DNJ と DMJ の両方を産生するが、マンノジリマイシンが DMJ 生合成の中間体と考えられている⁶¹⁾。またこの生物においては、マンノジリマイシンのエピ化によりノジリマイシンが生成し、ノジリマイシンからさらに DNJ が生合成されると推測されている。熱帯アフリカ原産のマメ科 *Angylocalyx* 属の植物から単離された D-AB 1⁶²⁾ は、プロセシング α -グルコシダーゼ II の阻害剤であると同時に、ゴルジ α -マンノシダーゼ I と II の優れた阻害剤でもある⁶³⁾。これは D-AB 1 の立体構造がグルコシルカチオンとマンノシルカチオン(それぞれ α -グルコシダーゼと α -マンノシダーゼの加水分解反応における遷移状態中間体と考えられている)の両方の立体構造に類似していることによるのだろう。 *Kitasatosporia kifunense* 9482 の培養液から単離されたキフネンシン(24)はナタマメ α -マンノシダーゼの弱い阻害剤 ($IC_{50}=100 \mu M$) として単離されたが⁶⁴⁾、後に植物のゴルジ α -マンノシダーゼ II に対する阻害活性のない、 α -マンノシダーゼ I に特異的な阻害剤 ($IC_{50}=0.02 \mu M$) であることがわかった⁶⁵⁾。

Fig. 5 Structures of naturally occurring α -mannosidase inhibitors.

2.2 生物活性ならびに臨床応用

インドリチジンアルカロイドの SWA の長期間の摂取が、家畜にヒトの先天的なリソソーム蓄積症のマンノシドーシス様の症状を引き起こす^{53,66)} ことはすでに述べた。マンノシドーシスはリソソーム α -マンノシダーゼの欠損により、高マンノースオリゴ糖が細胞内に蓄積されたり、尿中に排泄されたりすることが特徴である。SWA はリソソーム指向性の化合物であり、培養ヒト正常線維芽細胞のリソソーム内に急速に蓄積し、リソソーム α -マンノシダーゼを阻害する⁶⁷⁾。SWA は形質膜を自由に通過し、一度リソソーム内に入ると内部が酸性 pH

のためにプロトン化を受け、濃縮されるため、摂取される濃度が低くても上記のような障害を起こすと言われている。SWA は糖蛋白質糖鎖プロセシングを阻害することが見いだされた最初の化合物である。SWA はラット肝臓ゴルジ α -マンノシダーゼ II の強力な阻害剤 ($IC_{50}=0.2 \mu M$) であるが、ゴルジ α -マンノシダーゼ I は阻害しない⁶⁸⁾。SWA は小胞体 α -マンノシダーゼも小胞体由来の可溶性 α -マンノシダーゼも阻害しない⁶⁹⁾。SWA 存在下で動物細胞を培養すると、中性オリゴ糖に特徴的なオリゴマンノース核 ($Man_5GlcNAc_2$) を持った糖鎖とコンプレックス型糖鎖に特徴的な NeuNAc-Gal-GlcNAc 構造を持った糖鎖からなるハイブリッド型の糖蛋白質が形成される。同じ方法で水疱性口内炎ウイルス (VSV) の G 蛋白質の糖鎖構造もコンプレックス型からハイブリッド型に変えられた⁷⁰⁾。同様な SWA の効果はフィブロネクチンの N 型糖鎖においても観察されている⁷¹⁾。DMJ はゴルジ α -マンノシダーゼ I の強い阻害剤 ($IC_{50}=1 \mu M$)⁷²⁾ であり、インフルエンザウイルス感染 MDCK 細胞を $10 \mu g/ml$ (あるいはそれ以上の濃度の) DMJ で処理するとコンプレックス型糖鎖の合成は阻害され、形成されるウイルス糖蛋白質の糖鎖構造のほとんどは $Man_9GlcNAc_2$ になる⁷³⁾。キフネンシンもゴルジ α -マンノシダーゼ I の特異的な阻害剤であり、 $1 \mu g/ml$ (あるいはそれ以上の濃度でインフルエンザウイルス感染 MDCK 細胞を処理すると、形成されるウイルス糖蛋白質の糖鎖構造は完全に $Man_9GlcNAc_2$ になる⁷⁴⁾。培養細胞におけるプロセシング α -マンノシダーゼ I の阻害はハイブリドーマ細胞による免疫グロブリン IgD と IgM の分泌にはなんら影響を与えなかった⁷²⁾。また初代肝細胞による α_1 -酸性糖蛋白質と α_1 -アンチトリプシンの分泌にも影響を与えなかった⁷⁵⁾。

B 16-F 10 ネズミ・メラノーマ (黒色腫) 細胞を $3 \mu g/ml$ の SWA で処理した後、処理細胞を同質遺伝子型 C 57 BL/6 マウスに静注すると、コロニー形成は 80% 以上も阻害された⁷⁶⁾。この劇的な転移増殖阻害にもかかわらず、この SWA 処理は B 16-F 10 の生育や皮下移植後の細胞の腫瘍形成能には影響を与えなかった。さらに、SWA 処理された放射能標識 B 16-F 10 細胞は対照細胞よりも速やかに肺から排除された。これは、SWA が標的臓器における腫瘍細胞の停留を阻止する能力を持っているということを暗示している。MDAY-D 2 (リンパ系の腫瘍細胞) あるいは B 16-F 10 を 48 時間 SWA ($0.3 \mu g/ml$) 処理した後、マウスの尾静脈より腫瘍細胞を接種すると腫瘍細胞の肺転移能が低下した。また、マウスの飲料水への SWA ($2.5 \mu g/ml$) 添加は、B 16-F 10 メラノーマ細胞の肺転移能をさらに低下させた⁷⁷⁾。SWA 単独では *in vitro* で腫瘍細胞の増殖を阻害しなかったが、

α/β -インターフェロンの増殖抑制効果を *in vitro* および *in vivo* で高めた⁷⁷⁾。SWA とインターフェロン α -2 は *in vitro* および *in vivo* でヒト H 29 大腸癌細胞の増殖を相乗的に抑制した⁷⁸⁾。また、SWA は既存の免疫系の抗腫瘍活性を高めるという証拠も多く提示されている。SWA 投与によって、2 日後の脾細胞の数は 32% 増加し、それに伴って脾臓のナチュラルキラー (NK) 細胞の活性が 2-3 倍増加した。しかしながら、NK 細胞を除去したマウスでは SWA は何ら転移抑制効果を示さなかった⁷⁹⁾。SWA 処理は T-細胞の抗原やマイトジェンの Con A に対する免疫応答を高めたが、 α -グルコシダーゼ阻害剤の CAS では逆に T-細胞の抗原に対する免疫応答を阻害した⁸⁰⁾。SWA に関しては、リンパ球のインターロイキン-2 (IL-2) 受容体発現の促進⁸¹⁾、マクロファージの腫瘍破壊活性の誘導、IL-1 分泌の誘導作用なども報告されている⁸²⁾。

3. その他のグリコシダーゼ阻害剤

プロセシング・グリコシダーゼだけが癌治療に適した標的酵素ではない。数種類のグリコシダーゼレベルが腫瘍細胞内や腫瘍間質液中で上昇することが証明されている。*N*-アセチル-D-グルコサミンの擬態物質として化学合成された 2-アセタミド-1, 5-イミノ-1, 2, 5-トリデオキシ-D-グルコサミン (25) はホ乳動物由来の β -*N*-アセチルグルコサミニダーゼの強力な阻害剤である⁸³⁾ と同時に、ヒト卵巣癌細胞内および分泌型の β -*N*-アセチルグルコサミニダーゼ・アイソザイムの拮抗阻害剤でもある⁸⁴⁾。イミダゾール環と融合した *N*-アセチル-D-ガラクトサミン誘導体であり、*Streptomyces amakusaensis* の培養液から単離されたナグスタチン (26) も β -*N*-アセチルグルコサミニダーゼの強力な拮抗阻害剤である⁸⁵⁾。また、ナグスタチンの脱側鎖誘導体 (27) とそのグルコ類縁体 (28) はナグスタチンより優れた阻害剤である⁸⁶⁾。ナグスタチンは正常マウスの免疫応答能を高め、腫瘍マウスにおいても低下した免疫応答能を活性化した⁸⁵⁾。 β -グルクロニダーゼは制癌治療に対する、もう 1 つの標的酵素であるかもしれない。化学的に合成された D-グルカロ- δ -ラクタム・ナトリウム塩 (ND 2001) (29) は 0.1 mM で 98.5% の阻害率を有する β -グルクロニダーゼの強力な阻害剤であり、メラノーマ B 16 肺転移モデルマウスを使った実験で、強力な転移抑制効果を示した⁸⁷⁾。10 μ g/ml での転移阻害率は 91.8% であった。 β -グルクロニダーゼも蛋白分解酵素と同様、B 16 メラノーマの癌転移に対して重要な役割を果しているという報告がある^{88,89)}。

このように糖類似アルカロイドは特異性が高く、効力も強く、しかも安定な化合物であるため、もしこのような化合物が正しく標的へと向けることができれば、極めて

Fig. 6 Structures of β -*N*-acetylglucosaminidase and β -glucuronidase inhibitors.

て魅力的な制癌剤になるであろう。

4. リソソーム蓄積症に対する新治療法

スフィンゴ糖脂質 (GSL) 蓄積症は、重篤時には死に至る比較的まれな先天性疾病である。リソソーム蓄積症に対する治療法としては、酵素補充療法、遺伝子治療、骨髓移植などが考えられる。今までに成功している唯一の治療法はゴーシェ病 I 型患者に対する酵素補充療法である。この病気はグルコセレブロシダーゼ遺伝子の異常により酵素活性の低下が起こり、その結果、基質であるグルコシルセラミド (GlcCer) が肝臓、脾臓、骨髓などに蓄積し、肝脾腫や骨痛などを引き起こす。補充療法に使われている酵素は、胎盤由来の精製酵素の糖鎖を高マンノース型にすることで、基質であるグルコシルセラミドが蓄積している網内系に効率よく取り込まれるようにしてある。この修飾型酵素は米国 Genzyme 社からセレデースの商品名で販売されており、良好な治療成績を収めている。しかしながら、“世界で最も高価な治療薬”とウォール・ストリート・ジャーナルに書かれたように、体重 20 kg の患者に投与すると仮定すると、年間の費用は約 2400 万円になるため、この治療を受けることができる患者は限られてくるだろう。そのため新たな治療法の開発が急がれている。

GSL 蓄積症に広く応用が可能であるかもしれない新しい試みがある。基質の生合成が続く限り、リソソーム内に異常な基質の蓄積が進行する。もしも GSL の生合成を阻害することによって、リソソームへの基質の流入を抑制することができれば、症状を改善したり、発症を遅らせたりすることが可能になるであろう。しかしながら、このアプローチはリソソーム内に酵素活性が残存していることを前提としている。Bu-DNJ は抗 HIV 剤と

して開発された物質であるが、GlcCerを合成するグルコース転移酵素の特異的な阻害剤であることが発見された⁹⁰⁾。多くのGSLはGlcCerを原料として生合成される。正常マウスにBu-DNJを経口的に投与すると、多くの臓器でGSLの減少が見られた。しかも投与されたマウスには何ら明瞭な病理所見は見られなかった⁹¹⁾。タイ・ザックス病マウスにBu-DNJを投与すると脳内のG_{M2}ガングリオシドの蓄積が阻止され、蓄積がみられたニューロンの数も、また細胞内に蓄積されたガングリオシド量も著しく減少した⁹²⁾。N-ブチルデオキシガラクトノジリマイシン(Bu-DGJ)もGSL生合成の強力な阻害剤である⁹³⁾。Bu-DNJはN-結合糖鎖のプロセッシングやグルコセレブロシダーゼを阻害する効果が見られたが、Bu-DGJにはそのような効果は見られず、Bu-DGJは極めて特異性の高い阻害剤であることがわかった。Bu-DNJとBu-DGJはそれぞれ20 μM, 41 μMというIC₅₀値を持った穏やかな転移酵素の阻害剤ではあるが、経口投与が可能で毒性が低いことから、これらの化合物の発見は、GSL蓄積症の治療法開発に大きく寄与したと言えるであろう。

Fig. 7 Degradation of selected glycosphingolipids (GSLs) in the lysosomes of the cells. The names of individual hereditary diseases are given in boldface (in box). Cer=ceramide, GalNAc=N-acetylgalactosamine.

ここにもう1つ、すべてのリソソーム蓄積症に応用可能と思われる全く新しい分子治療法へのアプローチがある。先天的な遺伝病の多くは重要な機能を持つ蛋白質の点突然変異や部分的欠失が原因で起こる遺伝病といえ

る。これらの変異によってその蛋白分子は正しく折りたたまれなくなり、機能が減退したり異常な凝集体を形成するようになる。小胞体には新生蛋白分子の折りたたみ(folding)状態を絶えずモニターする品質管理機構が存在することが最近明らかになってきた。この品質管理機構には様々な分子シャペロンが関与し、品質管理からふり落とされた異常蛋白分子はゴルジ装置へ送られることなく小胞体に留められ、最終的には分解過程へ送られると考えられている。最近、変異蛋白質であっても分子シャペロンが過剰にあれば正常に機能することがわかってきた⁹⁴⁾。このコンセプトと同じように、コンフォメーションが不安定だったり、正しい折りたたみ構造ができないような変異蛋白質に対し、コンフォメーションの安定化を促したり、正しい折りたたみ構造の形成を促すような化合物を外から加えられることによって、変異蛋白質を救出できるのではないかと考えられた。このような役割を果たす化合物を“化学シャペロン”と呼んでいる。

ファブリー病はリソソーム酵素であるα-ガラクトシダーゼA(α-Gal A)の遺伝的活性低下に起因するGSL蓄積症である⁹⁵⁾。本疾患はX染色体劣性の遺伝形式をとり、その臨床症状から大きく2種類に分類されている。1つは古典的ファブリー病で、学童期に痛みや知覚異常により発症し、全身にGSLの蓄積が認められ、年齢が進むと心臓や腎臓および血管系が障害を受ける。これに対し、亜型ファブリー病(心ファブリー病)は、50歳以降に心障害により発症し、他の症状を全く示さない。また、亜型では正常の約5%の残存活性が認められるのに対し、古典型では全く認められないことから、こうした残存活性の有無が臨床症状の違いを引き起こしていると考えられている。ファブリー病に対する根本的な治療法はまだ確立されていない。Fanら⁹⁶⁾は最近、今までの治療法とは全く異なる新しい治療法“化学シャペロン療法”を提唱した。変異酵素の合成基質に対するKm, Vmaxは正常酵素と変わりはないが、熱安定性と中性付近でのpH安定性が低下していた。そこで、まずファブリー病亜型患者の酵素活性の低下が小胞体での失活に起因していることから、中性で酵素の安定性を高める化合物の検索が行われた。植物α-ガラクトシダーゼの強力な拮抗阻害剤であるデオキシガラクトノジリマイシン⁹⁷⁾(DGJ)(30)(図8)が*in vitro*における変異酵素の安定性を高め、培養患者細胞においても顕著な活性上昇を示すことが見いだされた。そこで亜型ファブリー病の標的臓器である心臓での効果を調べるため、亜型患者由来の変異cDNAを導入したトランスジェニックマウス(TgMマウス)が作成された。このマウスにDGJを1週間経口投与したところ、心臓、腎臓、脾臓、肝臓で活性上昇を認め、特に心臓では30 mg/kg body wt./dayの

Fig. 8 Structure of 1-deoxygalactonojirimycin (DGJ).

投与量で無処置の18倍の活性上昇が認められた。このDGJのTgMマウスに対する効果は毒性面を含めて現在詳細に検討されている。また活性上昇のメカニズムについても検討されているが、上昇した活性がリソソームに局在していることから、DGJが酵素の小胞体→ゴルジ装置→リソソームへの速やかな輸送に関与したと予想される。また活性上昇を引き起こす程度の濃度では、リソソーム内の酵素は十分に働ける状態にあり、DGJはリソソームに到達する以前に酵素から離れていることが予想された。このように、ある種の変異を持った酵素の細胞内安定性を高めるために、化学シャペロンとして拮抗阻害剤を使用することは極めて意義があると考えられる。 α -Gal A阻害剤の少量投与は触媒中心以外に変異のあるファブリー病患者に対する新しい分子治療法になる可能性があると思われる。

(1999年11月4日受理)

文 献

- 1) T. W. Rademacher, R. D. Parekh, R. A. Dwek, *Annu. Rev. Biochem.*, **57**, 785 (1988)
- 2) S. Inoue, T. Tsuruoka, T. Niida, *J. Antibiot.*, **19**, 288 (1966)
- 3) S. Inoue, T. Tsuruoka, T. Ito, T. Niida, *Tetrahedron*, **24**, 2125 (1968)
- 4) 八木政広, 河野辰彦, 青柳良明, 村井博, 農化, **50**, 571 (1976)
- 5) D. D. Schmidt, W. Frommer, L. Müller, E. Truscheit, *Naturwissenschaften*, **66**, 584 (1979)
- 6) S. Murao, S. Miyata, *Agric. Biol. Chem.*, **44**, 219 (1980)
- 7) N. Asano, E. Tomioka, H. Kizu, K. Matsui, *Carbohydr. Res.*, **253**, 235 (1994)
- 8) N. Asano, K. Oseki, E. Tomioka, H. Kizu, K. Matsui, *Carbohydr. Res.*, **259**, 243 (1994)
- 9) M. Koyama, S. Sakamura, *Agric. Biol. Chem.*, **38**, 1111 (1974)
- 10) S. V. Evans, A. R. Hayman, L. E. Fellows, T. K. M. Shing, A. E. Derome, G. W. J. Fleet, *Tetrahedron Lett.*, **26**, 1465 (1985)
- 11) A. Kato, N. Asano, H. Kizu, K. Matsui, A. A. Watson, R. J. Nash, *J. Nat. Prod.*, **60**, 312 (1997)
- 12) G. C. Kite, L. E. Fellows, G. W. J. Fleet, P. S. Liu, A. M. Scofield, N. G. Smith, *Tetrahedron Lett.*, **29**, 6483 (1988)
- 13) P. S. Liu, *J. Org. Chem.*, **52**, 4717 (1987)
- 14) N. Asano, M. Nishida, H. Kizu, K. Matsui, A. A. Watson, R. J. Nash, *J. Nat. Prod.*, **60**, 98 (1997)
- 15) N. Asano, A. Kato, M. Miyauchi, H. Kizu, Y. Kameda, A. A. Watson, R. J. Nash, G. W. J. Fleet, *J. Nat. Prod.*, **61**, 625 (1998)
- 16) A. Welter, J. Jadot, G. Dardenne, M. Marlier, J. Casimir, *Phytochemistry*, **15**, 747 (1976)
- 17) R. J. Nash, N. Asano, A. A. Watson, In "Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives", Vol. 11, ed. by S. W. Pelletier, Elsevier, Oxford, p 345 (1996)
- 18) T. Shibata, O. Nakayama, Y. Tsurumi, M. Okuhara, H. Tera-no, M. Kohsaka, *J. Antibiot.*, **41**, 296 (1988)
- 19) L. D. Hohenschutz, E. A. Bell, P. J. Jewess, D. P. Leworthy, R. J. Pryce, E. Arnold, J. Clardy, *Phytochemistry*, **20**, 811 (1981)
- 20) R. J. Molyneux, M. Benson, R. Y. Wong, J. E. Tropea, A. D. Elbein, *J. Nat. Prod.*, **51**, 1198 (1988)
- 21) R. J. Nash, L. E. Fellows, J. V. Dring, G. W. J. Fleet, A. Girdhar, N. G. Ramsden, J. M. Peach, M. P. Hegarty, A. M. Scofield, *Phytochemistry*, **29**, 111 (1990)
- 22) R. J. Nash, P. I. Thomas, R. D. Waigh, G. W. J. Fleet, M. R. Wormard, P. M. deQ. Lilley, D. J. Watkin, *Tetrahedron Lett.*, **35**, 7849 (1994)
- 23) M. R. Wormard, R. J. Nash, A. A. Watson, B. K. Bhadoria, R. Langford, M. Sims, G. W. J. Fleet, *Carbohydr. Lett.*, **2**, 169 (1996)
- 24) D. D. Schmid, W. Frommer, L. Müller, B. Junge, W. Wingen-der, E. Truscheit, *Naturwissenschaften*, **64**, 535 (1977)
- 25) T. Iwasa, H. Yamamoto, M. Shibata, *J. Antibiot.*, **23**, 595 (1970)
- 26) Y. Kameda, N. Asano, M. Yoshikawa, M. Takeuchi, T. Yamaguchi, K. Matsui, S. Horii, H. Fukase, *J. Antibiot.*, **37**, 1301 (1984)
- 27) B. Junge, M. Matzke, J. Stoltefuss, In "Handbook of Experimental Pharmacology", Vol. 119, eds. by J. Kuhlmann, W. Puls, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, p 411 (1996)
- 28) W. Puls, In "Handbook of Experimental Pharmacology", Vol. 119, eds. by J. Kuhlmann, W. Puls, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, p 497 (1996)
- 29) S. Horii, H. Fukase, T. Matsuo, Y. Kameda, N. Asano, K. Matsui, *J. Med. Chem.*, **29**, 1038 (1986)
- 30) B. Saunier, R. D. Kilker, J. S. Tkacz Jr., A. Quaroni, A. Herscovics, *J. Biol. Chem.*, **257**, 14155 (1982)
- 31) T. Szumilo, G. P. Kaushal, A. D. Elbein, *Arch. Biochem. Biophys.*, **247**, 261 (1986)
- 32) Y. Zeng, Y. T. Pan, N. Asano, R. J. Nash, *Glycobiology*, **7**, 297 (1997)
- 33) J. Schweden, C. Borgmann, G. Legler, E. Bause, *Arch. Biochem. Biophys.*, **248**, 335 (1986)
- 34) A. Hempel, N. Camerman, D. Mastropaolo, A. Camerman, *J. Med. Chem.*, **36**, 4082 (1993)
- 35) N. Asano, M. Nishida, A. Kato, H. Kizu, K. Matsui, Y. Shimada, T. Itoh, M. Baba, A. A. Watson, R. J. Nash, P. M. de Q. Lilley, D. J. Watkin, G. W. J. Fleet, *J. Med. Chem.*, **41**, 2565 (1998)
- 36) Y. T. Pan, H. Hori, R. Saul, B. A. Sanford, R. J. Molyneux, A. D. Elbein, *Biochemistry*, **22**, 3975 (1983)
- 37) H. Hori, Y. T. Pan, R. J. Molyneux, A. D. Elbein, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **82**, 93 (1985)
- 38) A. D. Elbein, M. Mitchell, B. A. Sanford, L. E. Fellows, S. V. Evans, *J. Biol. Chem.*, **259**, 12409 (1984)
- 39) P. A. Romero, P. Friedlander, A. Herscovics, *FEBS Lett.*, **183**, 29 (1985)
- 40) G. P. Kaushal, Y. T. Pan, J. E. Tropea, M. Mitchell, P. Liu, A. D. Elbein, *J. Biol. Chem.*, **263**, 17278 (1988)
- 41) L. Ratner, W. Haseltine, R. Patarca, K. J. Livak, B. Starchich, S. F. Josephs, E. R. Doran, J. A. Rafalski, E. A. Whitehorn, K. Baumeister, L. Ivanoff, S. R. Petteway Jr., M. L. Pearson, J. A. Lautenberger, T. S. Papas, J. Ghayeb, N. T. Chang, R. C. Gallo, F. Wong-Staal, *Nature*, **313**, 277 (1985)
- 42) A. S. Tysms, E. M. Berrie, T. A. Ryder, R. J. Nash, M. P. Hegarty, D. L. Taylor, M. A. Mobberley, J. M. Davis, E. A. Bell, D. J. Jeffries, D. Taylor-Robinson, L. E. Fellows, *Lancet*, **ii**, 1025 (1987)
- 43) B. D. Walker, M. Kowalski, W. C. Goh, K. Kozarsky, M. Krieger, C. Rosen, L. Rohrschneider, W. A. Haseltine, J. Sodroski, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 8120 (1987)

- 44) R. A. Gruters, J. J. Neefjes, M. Tersmette, R. E. Y. de Goede, A. Tulp, H. G. Huisman, F. Miedema, H. L. Ploegh, *Nature*, **330**, 74 (1987)
- 45) P. S. Sunkara, D. L. Taylor, M. S. Kang, T. L. Bowlin, P. S. Liu, A. S. Tyms, A. Sjoerdsma, *Lancet*, **ii**, 1206 (1989)
- 46) D. L. Taylor, P. S. Sunkara, P. S. Liu, M. S. Kang, T. L. Bowlin, A. S. Tyms, *AIDS*, **5**, 693 (1991)
- 47) C. G. Bridges, S. P. Ahmed, M. S. Kang, R. J. Nash, E. A. Porter, A. S. Tyms, *Glycobiology*, **5**, 249 (1995)
- 48) T. M. Block, X. Lu, F. M. Platt, G. R. Foster, W. H. Gerlich, B. S. Blumberg, R. A. Dwek, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 2235 (1994)
- 49) A. Mehta, N. Zitzmann, P. M. Rudd, T. M. Block, R. A. Dwek, *FEBS Lett.*, **430**, 17 (1998)
- 50) M. J. Humphries, K. Matsumoto, S. K. White, K. Olden, *Cancer Res.*, **46**, 5215 (1986)
- 51) M. A. Spearman, J. M. Ballon, J. M. Gerrard, A. H. Greenberg, J. A. Wright, *Cancer Lett.*, **60**, 185 (1991)
- 52) R. Pili, J. Chang, R. A. Partis, R. A. Mueller, F. J. Chrest, A. Passaniti, *Cancer Res.*, **55**, 2920 (1995)
- 53) P. R. Dorling, C. R. Huxtable, P. Vogel, *Neuropathol. Appl. Neurobiol.*, **4**, 285 (1978)
- 54) S. M. Colegate, P. R. Dorling, C. R. Huxtable, *Aust. J. Chem.*, **32**, 2257 (1979)
- 55) R. J. Molyneux, L. F. James, *Science*, **216**, 190 (1982)
- 56) B. Winchester, I. Cenci di Bello, A. C. Richardson, R. J. Nash, L. E. Fellows, N. G. Ramsden, G. W. J. Fleet, *Biochem. J.*, **269**, 227 (1990)
- 57) L. E. Fellows, E. A. Bell, D. G. Lynn, F. Pilkievicz, I. Miura, K. Nakanishi, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1979**, 977
- 58) R. J. Molyneux, Y. T. Pan, J. E. Tropea, A. D. Elbein, C. H. Lawyer, D. J. Hughes, G. W. J. Fleet, *J. Nat. Prod.*, **56**, 1356 (1993)
- 59) Y. Ezure, S. Murao, K. Miyazaki, M. Kawamata, *Agric. Biol. Chem.*, **49**, 1119 (1985)
- 60) Y. Ezure, N. Ojima, K. Konno, K. Miyazaki, N. Yamada, M. Sugiyama, *J. Antibiot.*, **41**, 1142 (1988)
- 61) D. J. Hardick, D. W. Hutchinson, S. J. Trew, E. M. H. Wellington, *Tetrahedron Lett.*, **48**, 6285 (1992)
- 62) R. J. Nash, E. A. Bell, J. M. Williams, *Phytochemistry*, **24**, 1620 (1985)
- 63) N. Asano, K. Oseki, H. Kizu, K. Matsui, *J. Med. Chem.*, **37**, 3701 (1994)
- 64) H. Kayakiri, S. Takase, T. Shibata, M. Okamoto, H. Terano, M. Hashimoto, T. Tada, S. Koda, *J. Org. Chem.*, **54**, 4015 (1989)
- 65) A. D. Elbein, J. E. Tropea, M. Mitchell, G. P. Kaushal, *J. Biol. Chem.*, **265**, 15599 (1990)
- 66) P. R. Dorling, C. R. Huxtable, S. M. Colegate, *Biochem. J.*, **191**, 649 (1980)
- 67) K. Chotai, C. Jennings, B. Winchester, *J. Cell. Biochem.*, **21**, 107 (1983)
- 68) D. P. R. Tulsiani, T. M. Harris, O. Touster, *J. Biol. Chem.*, **257**, 7936 (1982)
- 69) J. Bishoff, R. Kornfeld, *J. Biol. Chem.*, **261**, 4758 (1986)
- 70) M. S. Kang, A. D. Elbein, *J. Virol.*, **46**, 60 (1983)
- 71) R. G. Arumughan, M. L. Tanzer, *J. Biol. Chem.*, **258**, 11883 (1983)
- 72) U. Fuhrmann, E. Bause, G. Legler, H. Ploegh, *Nature*, **307**, 755 (1984)
- 73) A. D. Elbein, G. Legler, A. Tlustý, W. McDowell, R. Schwarz, *Arch. Biochem. Biophys.*, **235**, 579 (1984)
- 74) A. D. Elbein, J. E. Tropea, M. Mitchell, G. P. Kaushal, *J. Biol. Chem.*, **265**, 15599 (1990)
- 75) V. Gross, K. Steube, T.-A. Trans-Thi, W. McDowell, R. T. Schwaltz, K. Decker, W. Geroc, P. C. Heinrich, *Eur. J. Biochem.*, **150**, 41 (1985)
- 76) M. J. Humphries, K. Matsumoto, S. K. White, K. Olden, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **83**, 1752 (1986)
- 77) J. W. Dennis, *Cancer Res.*, **46**, 5131 (1986)
- 78) J. W. Dennis, K. Koch, D. Beckner, *J. Natl. Cancer Inst.*, **81**, 1028 (1989)
- 79) M. J. Humphries, K. Matsumoto, S. L. White, R. J. Molyneux, K. Olden, *Cancer Res.*, **48**, 1410 (1988)
- 80) K. A. Wall, J. D. Pierce, A. D. Elbein, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 5644 (1988)
- 81) T. L. Bowlin, P. S. Sunkara, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **151**, 846 (1988)
- 82) K. Grzegorzewski, S. A. Newton, S. K. Akiyama, S. Sharrow, K. Olden, S. L. White, *Cancer Commun.*, **1**, 373 (1989)
- 83) G. W. J. Fleet, P. W. Smith, R. J. Nash, L. E. Fellows, R. J. Parkh, T. W. Rademacher, *Chem. Lett.*, **1986**, 1051
- 84) B. Woynarowska, H. Wikiel, M. Sharma, N. Carpenter, G. W. J. Fleet, R. J. Bernacki, *Anticancer Res.*, **12**, 161 (1992)
- 85) T. Aoyagi, H. Suda, K. Uotani, F. Kojima, T. Aoyama, K. Horiguchi, M. Hamada, T. Takeuchi, *J. Antibiot.*, **45**, 1404 (1992)
- 86) K. Tatsuta, *J. Synth. Org. Chem. Jpn.*, **55**, 970 (1997)
- 87) T. Tsuruoka, H. Fukuyasu, M. Ishii, T. Usui, S. Shibahara, S. Inoue, *J. Antibiot.*, **49**, 155 (1996)
- 88) B. F. Sloane, J. R. Dunn, K. V. Honn, *Science*, **212**, 1151 (1981)
- 89) H. Akao, K. Takamori, H. Ogawa, *Int. J. Biochem.*, **21**, 739 (1989)
- 90) F. M. Platt, G. R. Neises, R. A. Dwek, T. D. Butturs, *J. Biol. Chem.*, **269**, 8362 (1994)
- 91) F. M. Platt, G. Reinkensmeier, R. A. Dwek, T. D. Butturs, *J. Biol. Chem.*, **272**, 19365 (1997)
- 92) F. M. Platt, G. R. Neises, G. Reinkensmeier, M. J. Townsend, V. H. Perry, R. L. Proia, B. Winchester, R. A. Dwek, T. D. Butturs, *Science*, **276**, 428 (1997)
- 93) F. M. Platt, G. R. Neises, G. B. Karlsson, R. A. Dwek, T. D. Butturs, *J. Biol. Chem.*, **269**, 27108 (1994)
- 94) C. J. Cummings, M. A. Mancini, B. Antalffy, D. B. DeFranco, H. T. Orr, H. Y. Zoghbi, *Nature Genet.*, **19**, 148 (1998)
- 95) R. J. Desnick, Y. A. Ioannou, C. M. Eng, In "The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease", eds. by C. R. Scriver, A. L. Beaudet, W. S. Sly, D. Valle, McGraw-Hill, New York, Vol. II, p 2741 (1995)
- 96) J. -Q. Fan, S. Ishii, N. Asano, Y. Suzuki, *Nature Med.*, **5**, 112 (1999)
- 97) G. Legler, S. Pohl, *Carbohydr. Res.*, **155**, 119 (1986)

PROFILE

浅野直樹 北陸大学薬学部生化学教室講師
 [経歴] 1974 年東京理科大学薬学部卒, 1977 年北陸大学薬学部助手, 1984 年薬学博士 (静岡県立薬科大学), 1986 ~ 87 年博士研究員 (テキサス大学オースチン校), 1991 年北陸大学薬学部講師, 現在に至る。[専門] 糖質生化学