

# 癌関連抗原としてのムチン型糖鎖

堀 江 隆 一  
原 一 利  
繁 田 勝 美

Mucin-type Carbohydrate Chain as a Cancer-associated Antigen

Ryuichi HORIE  
Kazutoshi HARA  
Katsuyoshi SHIGETA

Tumor cells display distinctively different structures in cell-surface carbohydrates from those of normal cells. A number of monoclonal antibodies defining tumor-associated antigens have been identified as carbohydrates and some of them proved to be useful in cancer diagnosis. Changes in carbohydrate structures in tumor cells can be formed by two different processes; a) incomplete synthesis and b) enhanced synthesis of neostructures. Carbohydrates of glycolipids and glycoproteins suffer drastic changes in cancer cells. Mucin-type antigens, one of glycoprotein carbohydrates, seem to be useful as a cancer-associated antigen. However, it is quite difficult to determine the distinct structure that is recognized by monoclonal antibody against the mucin-type antigens. We have developed a chemical method to synthesize the mucin-type neoglycolipids and made several synthetic glycolipids available as an immunogen. The monoclonal antibodies we have obtained can specifically recognize the mucin-type carbohydrate chains. We report herein a new strategy to establish monoclonal antibody directed to glycoprotein carbohydrates, employing the chemically synthesized neoglycolipid antigens.

## 1. はじめに

動物細胞の表面は、Fig. 1 に示すように、脂質二重層からなる細胞膜に、糖蛋白質や糖脂質などの複合糖質が埋め込まれて形成されている。このような複合糖質の糖鎖は、細胞同士の認識<sup>1)</sup>や接着<sup>2)</sup>、あるいは、蛋白質の安定化や機能の調節<sup>3)</sup>に関与しているなど、その機能が、近年次第に明らかになりつつある。

癌細胞をマウスに免疫して、その癌細胞に特異的なモノクローナル抗体を作製すると、その多くが、細胞表面の糖鎖を認識する抗体であることがわかった<sup>4)</sup>。この事実は癌細胞の表面には、正常細胞とは構造の異なる糖鎖が発現しているということを意味している。このことか

ら、糖鎖の構造が、細胞の癌化と密接に関わりあっていることが判明し、糖鎖抗原を認識するモノクローナル抗体が、癌の診断薬として開発されている。本報告では、細胞の癌化と糖鎖の変化の関係、および、入手困難ではあるが癌と関連すると考えられるムチン型糖鎖の合成について述べる。

### 〔1〕 糖鎖の癌性変化

細胞の癌化による糖鎖構造の変化には、二つのパターンがあることが知られている。一つは、糖鎖の生合成が途中でブロックされて、正常糖鎖の合成中間体が蓄積するものであり (Fig. 2(A))、もう一つは、細胞の癌化によって、正常細胞にはほとんど見られない糖鎖が、新たに発現するものである (Fig. 2(B))。前者の代表的な例と

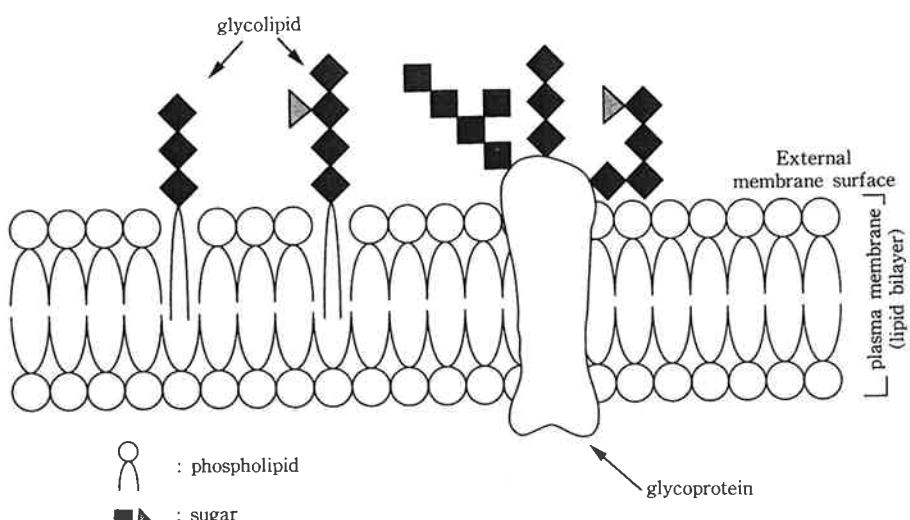
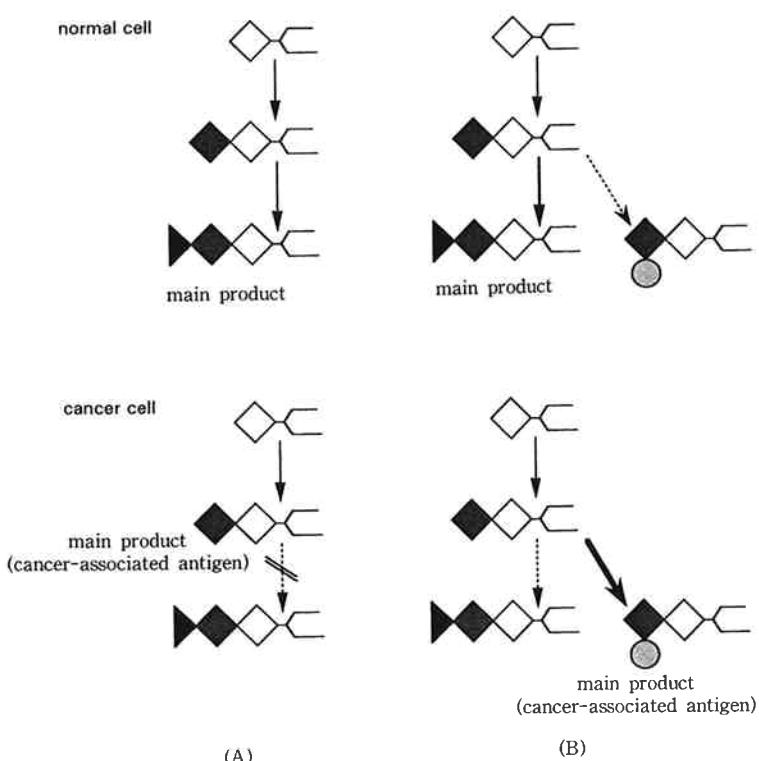


Fig. 1 A model of animal plasma membrane.



**Fig. 2** Mechanism of the cancer-associated glycoconjugate appearance.

して、ムチン型母核構造であるシアリル Tn 抗原などがあげられる。この糖鎖を認識する抗体は、卵巣癌の診断薬 (STN<sup>5)</sup>) として承認されている。後者のタイプのものとしては、癌関連糖鎖抗原の代表ともいえるシアリル Le<sup>a</sup> (CA19-9<sup>6)</sup>) があげられる。

糖鎖の生合成経路は、それぞれのキャリアー（脂質あるいは蛋白質）から糖鎖が一つ一つ結合して伸長していく。

く一種のカスケードからなっている。糖鎖の癌性変化は、このカスケードの途中の合成酵素が異常に発現されたり、されなかつたりしていることから生じるものである<sup>7)</sup>。一つの糖鎖構造が発現するメカニズムは、一つの酵素の異常とは限らず、そのカスケードの直前直後の酵素が変化するもの、さらに上流の酵素が変化するもの、あるいは、シアル酸転移酵素が異常に活性化され、シア

ル酸が結合することにより生合成が終止されるものなど、いくつかの機構が考えられる。糖鎖は、蛋白質などと異なり、その構造自体が遺伝子にコードされているのではなく、糖鎖合成酵素の複雑で厳密な生合成経路により、特定の構造ができ上がるものである。遺伝子にコードされている糖鎖合成酵素の発現量が、どのような機構で調節されているかがわかれれば、糖鎖の癌性変化のメカニズムが明らかになるものと思われ、今後の検討が待たれる。

癌性変化に関与する糖鎖としては、糖蛋白質糖鎖と糖脂質糖鎖があげられる (Fig. 3)。糖脂質は、その名の示すとおり、糖鎖部分と脂質部分からなる複合糖質の一型である。脂質部分は、スフィンゴシンと脂肪酸が結合したセラミドと呼ばれるもので、このため、これらの糖脂質はスフィンゴ糖脂質とも呼ばれている。糖蛋白質糖鎖は、蛋白質中のアスパラギンのアミド基に結合するアスパラギン型 (N型) と、セリンまたはスレオニンの水酸基に結合するムチン型 (O型) の、2つのグループに分

類される。

これらの糖鎖の構造を理解するためには、その構造を修飾構造、基幹構造、母核構造に分解して考えるのが有効である<sup>8)</sup> (Fig. 4)。それぞれの糖鎖は、キャリアーと結合している部分である母核構造に、特徴的な構造を有している。即ち、糖脂質では、 $\text{Gal}\beta 1 \rightarrow 4\text{Glc}\beta 1 \rightarrow$ 、ムチン型糖鎖では、 $\text{GalNAc}\alpha 1 \rightarrow$ 、アスパラギン型糖鎖では、マンノースを含む部分がそれぞれ固有の構造である。基幹構造は、ラクトサミン構造などの繰り返し構造を持った部分で、糖脂質の場合は、ガングリオ系、グロボ系、ラクト系、ネオラクト系などの系列が存在する。糖蛋白質糖鎖では、ラクトサミン類の場合が多い。修飾構造とは、基幹構造にシアル酸やフコースが結合して、血液型物質などを形成している部分である。

癌関連抗原としての糖鎖抗原の研究は、糖脂質を中心に行なってきた<sup>4)</sup>。この理由は、一つには、糖脂質の糖鎖構造が明確に特定できることがあげられる。即ち、一つのキャリアー (この場合脂質) に対し、一つの糖鎖構造が結合していることから、特定の構造の糖鎖を精製することが可能であり、この特定の糖鎖構造を用いて免疫することにより、特定の糖鎖構造を認識するモノクローナル抗体の作製法が確立されている<sup>9)</sup>。

一方、糖蛋白質糖鎖では、一つのキャリアー (蛋白質) に対し複数の糖鎖が結合しており、それぞれが同じ構造を持っているとは限らない。さらに、ある特定の蛋白質の特定の位置に結合している糖鎖でも、構造が異なる場合が頻繁に生じているため (糖鎖の micro-

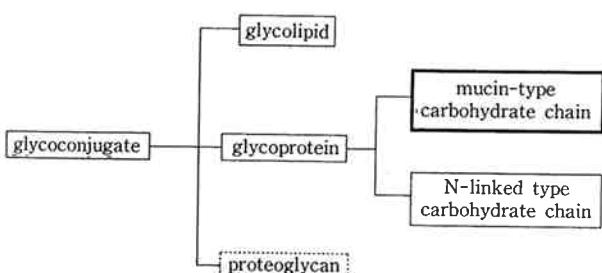


Fig. 3 Glycoconjugates.

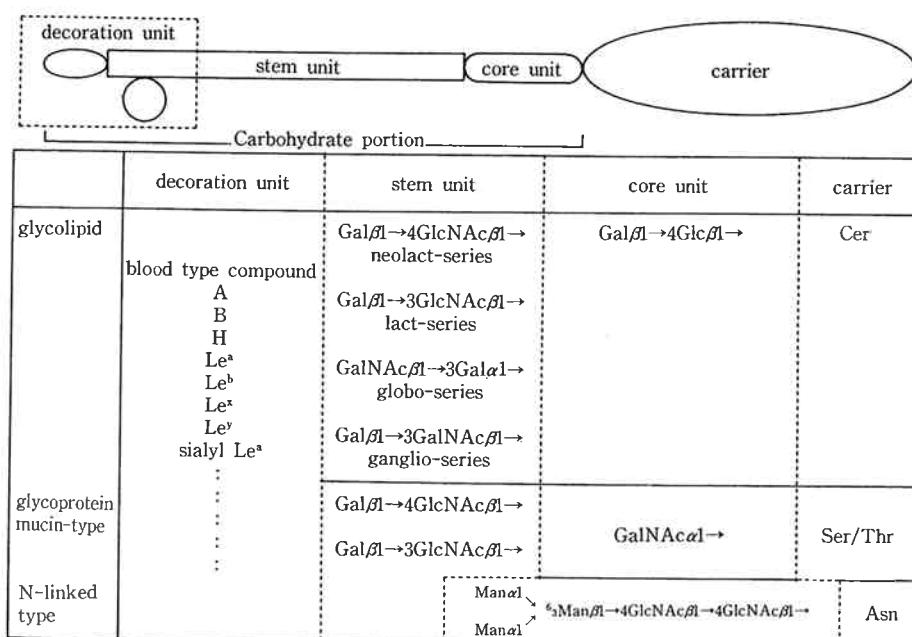


Fig. 4 Structures of glycoconjugates.

heterogeneity)、抗体が認識している糖鎖構造を特定することが困難である。癌関連性糖鎖抗原は、生体内全体から見ると微量成分であることから、その細胞表面などにおける分布を調べるために、感度よく特定の構造が検出できるモノクローナル抗体の取得が不可欠であると考えられる。そこで、特定の蛋白質糖鎖構造に対するモノクローナル抗体を作製する新しい方法の確立が必要となる。

## [2] ムチン型糖鎖の構造

ムチン型糖鎖とは、生体内の糖蛋白質に結合している糖鎖の中でN-アセチルガラクトサミンが、セリンやスレオニンの水酸基に結合している糖鎖の総称である。その名は、上皮性細胞が分泌するムチンと呼ばれる糖蛋白質中に多量に見い出されることに由来しているが、それ以外の糖蛋白質中にも存在していることが知られている<sup>10)</sup>。ムチンは、細胞から分泌され、その細胞表面を覆っているが、血液中に流出していることも確認されており、癌の血清診断のターゲットとして期待できる。血清中のムチン型糖鎖の修飾構造は、同じ修飾構造を持った糖脂質を認識する抗体で検出できること<sup>11)</sup>が知られているが、ムチン型糖鎖に固有の母核構造の部分が、どのような挙動を示すかについては、今のところ不明である。

### (1) ムチン型糖鎖の生合成経路

ムチン型糖鎖の生合成経路<sup>12)</sup>は、Fig. 5 のように蛋白質中のセリン(Ser)またはスレオニン(Thr)に、N-アセチルガラクトサミン(GalNAc)が結合することから開始され、この3位にガラクトース(Gal)が結合すれば、1型の母核構造となり、N-アセチルグルコサミン(GlcNAc)が結合すると、3型の母核構造を形成する。

1型、3型構造のGalNAcの6位にさらにGlcNAcが結合すると2型、4型母核構造を形成する。さらに正常細胞では、ラクトサミン構造(Galβ1→4GlcNAc)の先端がフコースやシアル酸などで修飾され、血液型物質などを形成している<sup>13)</sup>。この様な糖鎖構造が、細胞の癌化によって、糖鎖の合成不全現象を起こし、3～5糖程度の短い母核構造が露出している可能性が予想される。また、母核2、3、4型を合成する糖転移酵素の有無が、細胞によって異なっているため、臓器特異性のある糖鎖構造が生じると考えられる。

N-アセチルガラクトサミンの3位に糖が結合しているもの(1型、3型母核構造)に対して、さらに6位にGlcNAcが結合することはあるが、何も結合していないもの(Tn抗原)の6位に、GlcNAcが結合することは、通常の生合成経路では、ほとんど見られない。この様な、通常では見られない糖鎖合成酵素が、細胞の癌化によって活性化されることは十分に考えられる。この様な糖鎖構造が、癌細胞で発現しているかどうかを調べるためにには、これを認識するモノクローナル抗体を作製する必要がある。筆者らは、ムチン型糖鎖に対するモノクローナル抗体を用いることにより、癌細胞異常糖鎖の発現を検出できると考え、研究を行ってきた。

### (2) ムチン型糖鎖抗体を得るための方法

#### 1) 癌細胞を免疫する方法

癌細胞を免疫して得られるモノクローナル抗体の中には、ムチン糖鎖を認識しているとされているものが数多く得られている。これらの抗体は、三つに分類することができる。即ち、

#### ① 短い糖鎖構造を認識するもの、

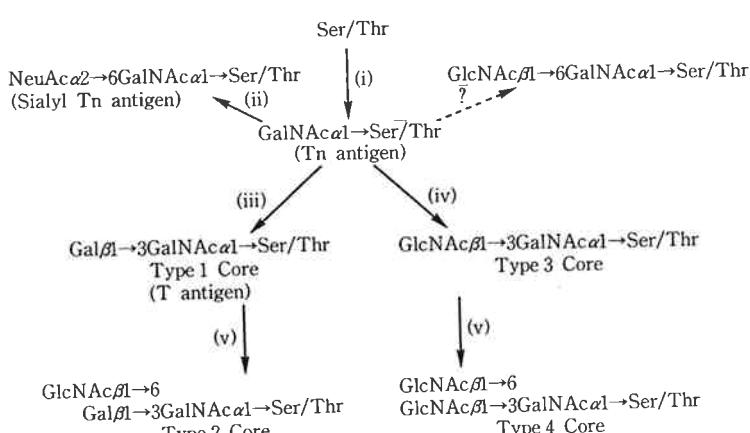


Fig. 5 Biosynthesis route of mucin-type core unit.

(i) GalNAc Tase, (ii) NeuAc Tase, (iii) Gal Tase, (iv) GlcNAc Tase, (v) GlcNAc Tase.

- ② コア蛋白を認識しているもの、  
 ③ 構造不明な抗原を認識するもの、  
 である。

①については、前述した糖鎖の合成不全現象によって生じる Tn、シアリル Tn、T 抗原といった单糖または二糖からなる短い糖鎖である。山科らは、短いムチン型糖鎖である Tn 抗原を豊富に持つ羊頸下腺ムチンの蛋白部分を部分分解し、得られた糖ペプチドを精製し、これを用いて Tn 抗原と反応する抗体 MLS128<sup>14)</sup> の特異性を詳細に調べた。これによると、この抗体は、GalNAc  $\alpha 1 \rightarrow$  という一つの糖鎖部分だけを認識しているのではなく、糖鎖が繰り返し結合するクラスター構造 (Fig. 6) が認識に不可欠であることを明らかにした。同様に、従来から Tn 抗原を認識すると言っていた NCC-LU-35<sup>15)</sup> や、CA3239<sup>16)</sup> などの抗体も、クラスター構造が認識に必要であることがわかった。

②については、卵巣癌のマーカーである CA125<sup>17)</sup> などがある。最近、ムチン糖蛋白の遺伝子構造が解明され、この遺伝子産物についても解明が進んでいる<sup>18)</sup>。

③胃癌を免疫することにより得られた NCC-ST-439<sup>19)</sup> などがこの範疇に入る。ムチン型糖鎖は、弱アルカリ性で処理すると、 $\beta$  脱離によって、糖鎖が遊離されるという特徴<sup>20)</sup> を持っている (Fig. 7)。抗原を弱アルカリ処理すると、抗体との反応性が失われるということから、ムチン型糖鎖を認識していると考えられるが、その糖鎖構造までは特定できずにいるものがある。特定できない原因としては、一つには、抗体の認識部位がコア蛋白質と糖鎖とにまたがって認識している場合が考えられる。もう一つには、ムチン型糖鎖で、長い糖鎖構造を持つものの入手が困難なことが考えられる。短い糖鎖については、異所性の蛋白質、たとえば、羊頸下腺ムチンな

どに豊富に発現している糖鎖が容易に得られるが、長い糖鎖を豊富に得ることができる蛋白質を入手することは困難である。さらに、糖鎖の “microheterogeneity” といった問題もあるため、認識構造が不明な抗体には、長い糖鎖構造のムチン型糖鎖に対する抗体も含まれているものと思われる。

## 2) ムチン型 neoglycolipid を免疫する方法

糖蛋白質糖鎖の糖鎖部分に対するモノクローナル抗体を得るために、糖蛋白質から切り出した糖鎖部分を、脂質に人工的に結合して糖脂質の形に再構成し、これを用いて作製することが考えられる。この様な糖脂質は、neoglycolipid と呼ばれ、糖蛋白質糖鎖の構造決定研究に有効な手段として開発された<sup>21)</sup>。この様に、糖脂質の形に再構成すれば、一つの蛋白質に結合している糖鎖を、糖鎖構造ごとに精製することができ、この neoglycolipid に対する抗体は、通常の糖脂質に対するモノクローナル抗体の作製法に従って作製することができる。ムチン型糖鎖の場合、糖鎖を切り出すために、弱アルカリ性処理する操作の過程で、ムチン型糖鎖の特徴である母核構造の  $\alpha$ -GalNAc 構造が失われてしまうという欠点があるが、ムチン型糖鎖の修飾構造や、基幹構造を研究するためには優れた方法である。

$\alpha$ -GalNAc 構造を中心とした母核構造を検討するための糖鎖部分の入手には、生体内物質から切り出すのでは不十分であり、初めから糖脂質の形で糖蛋白質糖鎖を有機合成的に作製する必要がある。糖鎖抗原の再構成技術としての有機合成は、近年目覚ましい発展を遂げてきた。6、7 糖程度の糖脂質の合成<sup>22)</sup> や、ムチン型糖鎖をアミノ酸と結合して糖ペプチドという形に再構成したという報告<sup>23)</sup> もなされている。有機合成という手段によれば、天然物材料での量にかかわらず目的の糖鎖構造を得ることができるので、糖蛋白質糖鎖の入手方法としては優れている。筆者らもこの方法に着目して研究を行ってきた。現在までに、数種類のムチン型糖鎖を持つ抗原を合成し、それに対するモノクローナル抗体を得ることができた。以下、その方法と結果について述べる。

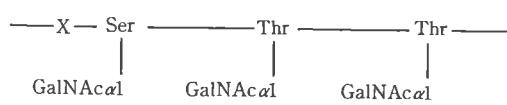


Fig. 6 Minimum structure of Tn activity.

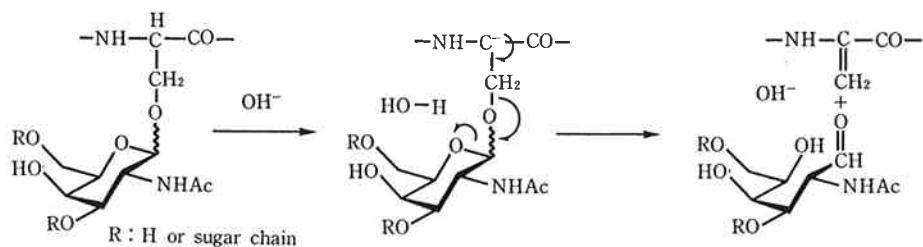


Fig. 7  $\beta$ -Elimination of a mucin-type carbohydrate chain.

## 2. 実験 および 結果

以上のような観点から、筆者らは、ムチン型糖鎖の neoglycolipid の重要性を検討した結果、Fig. 8 のような構造の糖鎖抗原をターゲットとしてデザインし、これを有機合成した<sup>24)</sup>。ここに示した癌特異性が期待できる 5 種類の糖鎖抗原は、それぞれ、ムチン型母核 1 ~ 4 型の構造を持ち、2 ~ 5 糖程度の長さを持った糖鎖構造になっている。正常細胞では、この母核構造をさらに伸長した長い糖鎖構造が一般的に存在するが、癌化による糖鎖合成不全によって、この程度の長さの糖鎖が露出してくるのではないかと予想している。また、母核のタイプごとに、どのような臓器特異性が存在するかということ

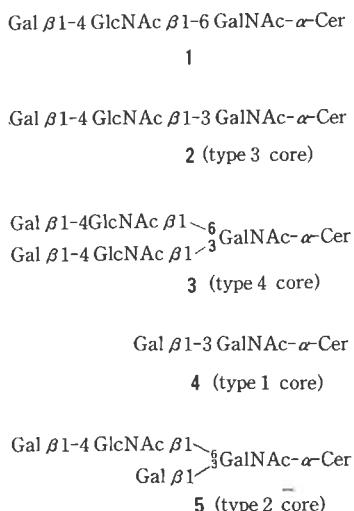


Fig. 8 Structures of target antigens.

も、これらのモノクローナル抗体を得ることによって、明らかになると期待される。また、通常では見られない、 $\beta 1 \rightarrow 6$  分岐のみの糖鎖も、癌化による合成酵素の活性化によって発現するのではないかと予想される（ターゲット 1）。

ターゲットの中の脂質部分には、その生合成経路が、アミノ酸のセリンから出発するセラミドを選択した。セラミドは、その親水性部分がセリンと同じ立体構造を持っていることから、天然ムチン型糖鎖の構造に、より近い立体構造を構築できるものと推測される (Fig. 9)。

### (1) ムチン型糖鎖抗原の合成

ターゲット 1 の合成経路を Scheme 1 に示した。key compound となる糖鎖の活性化体は、Schmidt らの開発したトリクロロイミデート法<sup>25)</sup>により活性化した。この方法によれば、緩和な条件において、比較的高収率で活性化体を得ることができ、 $BF_3 \cdot OEt_2$ 、TMSOTf などのルイス酸でグリコシド化反応を進めることができる。また、立体構造の制御について、 $\beta$  結合を得る際には隣接基関与を利用するため、2 位の水酸基をアシル基で保護し、 $\alpha$  結合を得る際には、隣接基関与のない官能基を用いて、熱力学的支配による反応で立体構造をコントロールした。糖鎖の合成には、その結合位置を制御するため、保護基を選択的に導入したり、脱離したりする必要があり、その結果、反応工程が非常に長くなることが特徴となる。

ターゲット 1 の合成は、その 4、6 位が保護されていない GalNAc 誘導体 6 と、ラクトサミン供与体 7 をモレキュラーシーブス存在下、 $BF_3 \cdot OEt_2$  で活性化し反応

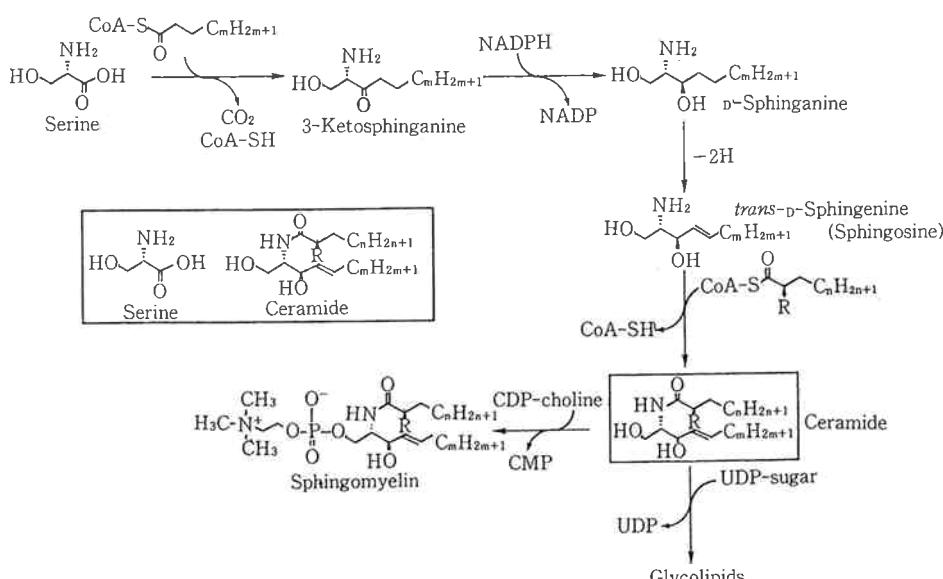
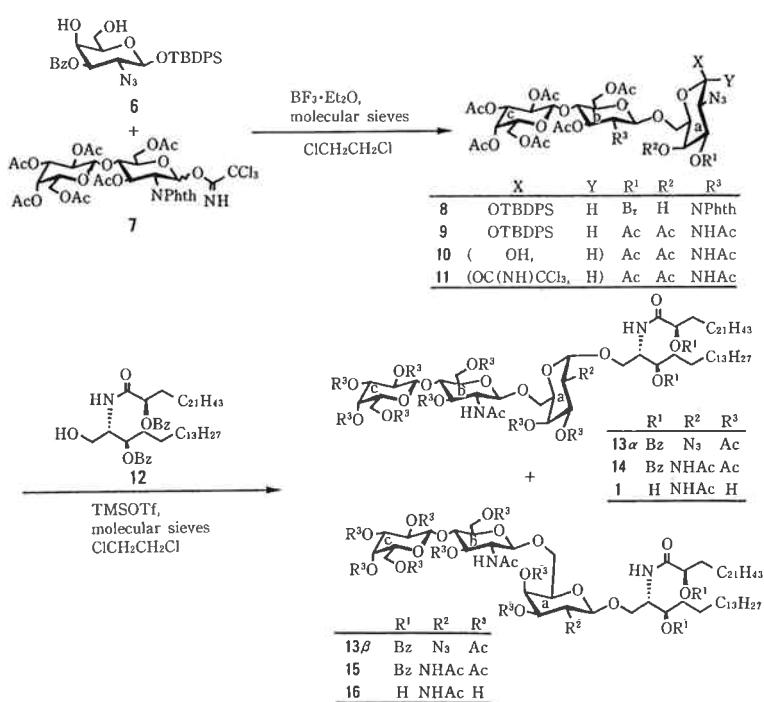
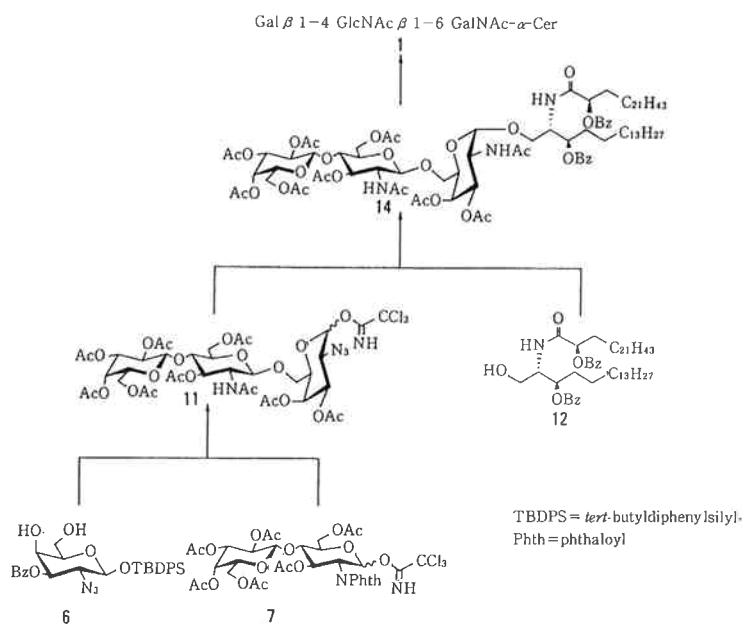


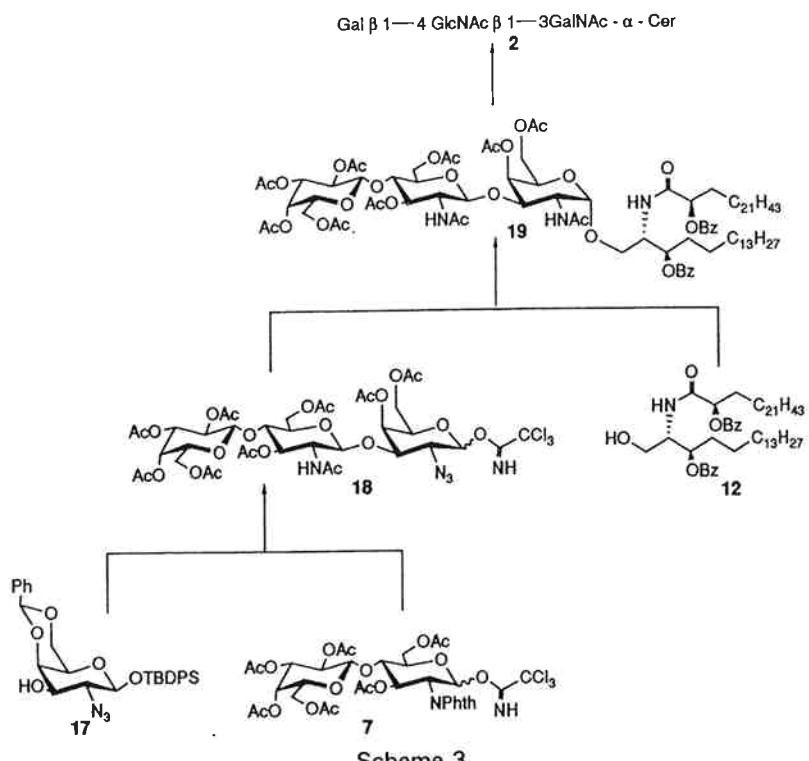
Fig. 9 Biosynthesis route of ceramide.



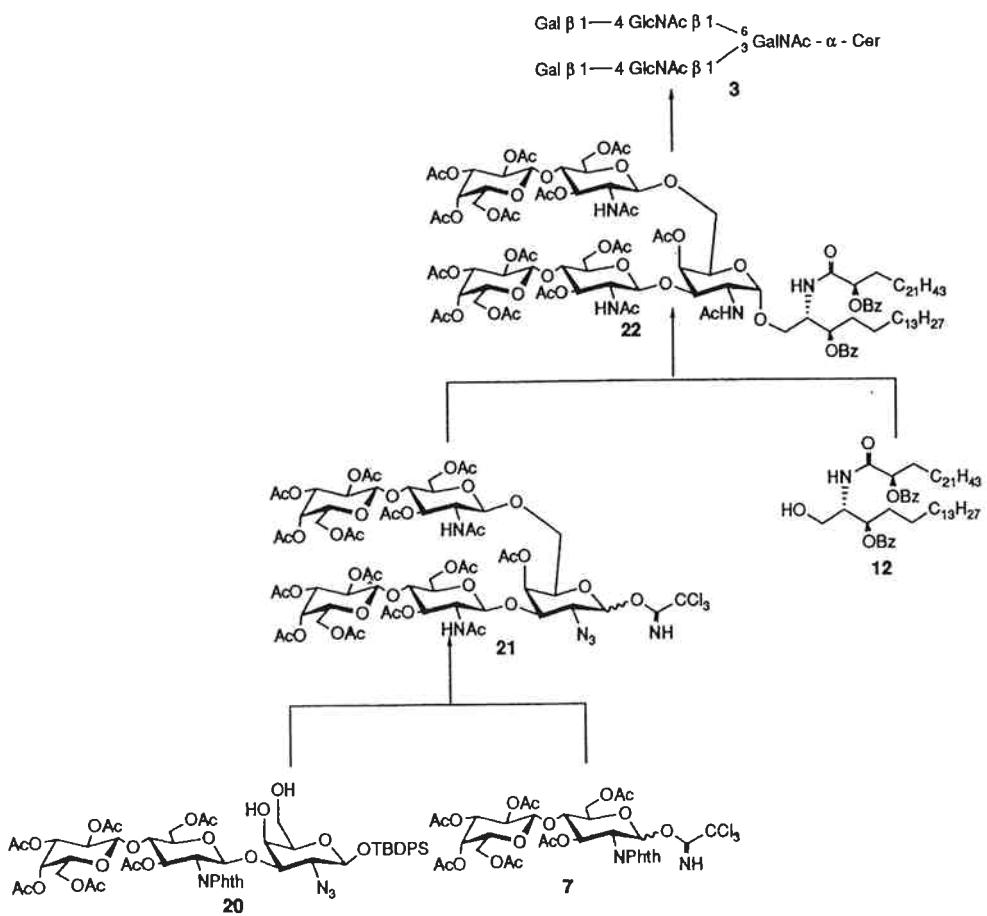
させる工程から始める (Scheme 2)。次に、ラクトサミンユニットのフタルイミド基をアセトアミド基に変換して、化合物 9 を合成した。さらに化合物 9 から、TBDPS 基を脱離した後、DBU 存在下、CCl<sub>3</sub>CN を反応させることにより、3 糖の活性化体 11を得た。この活性化体 11 とセラミド誘導体 12 とを TMSOTf により活性化すると、3 糖性糖脂質誘導体  $13\alpha$ 、 $13\beta$  のアノメリック混合物が得られる。このアノメリック異性体は、

TMSOTf を反応のプロモーターとして使用したときが最も  $\alpha$  優位となるが、その存在比は  $\alpha:\beta=2:3$  であった。この工程では、 $\alpha$ 、 $\beta$  を分離せずに、化合物 13 のアジド基をアセトアミド基に変換した後に分離を行った。化合物 14、15 をシリカゲルカラムで分離した後、その保護基を NaOMe で処理することにより脱保護し、ターゲット 1 を得た。

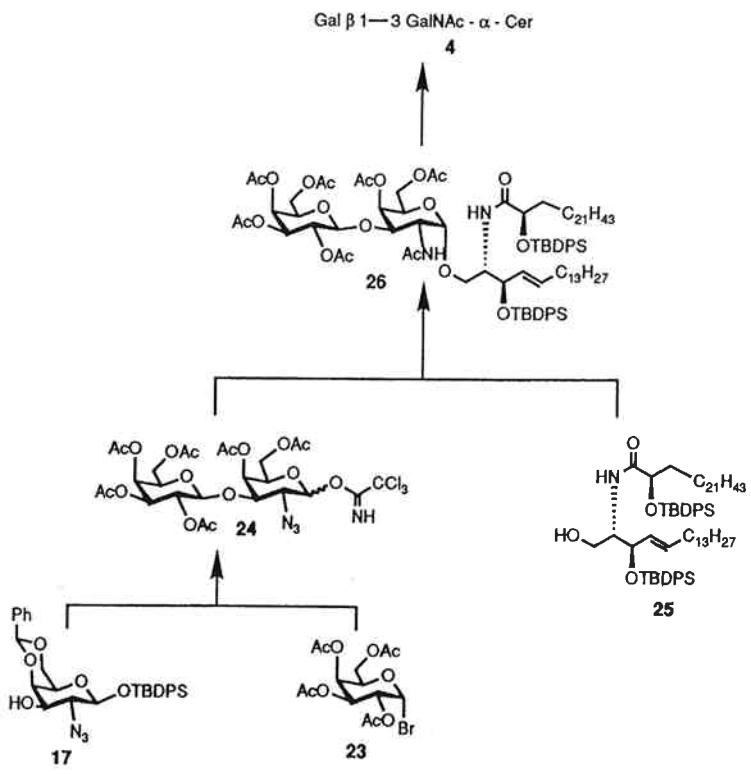
ターゲット 2-5 の合成経路は、Scheme 3-6 に示



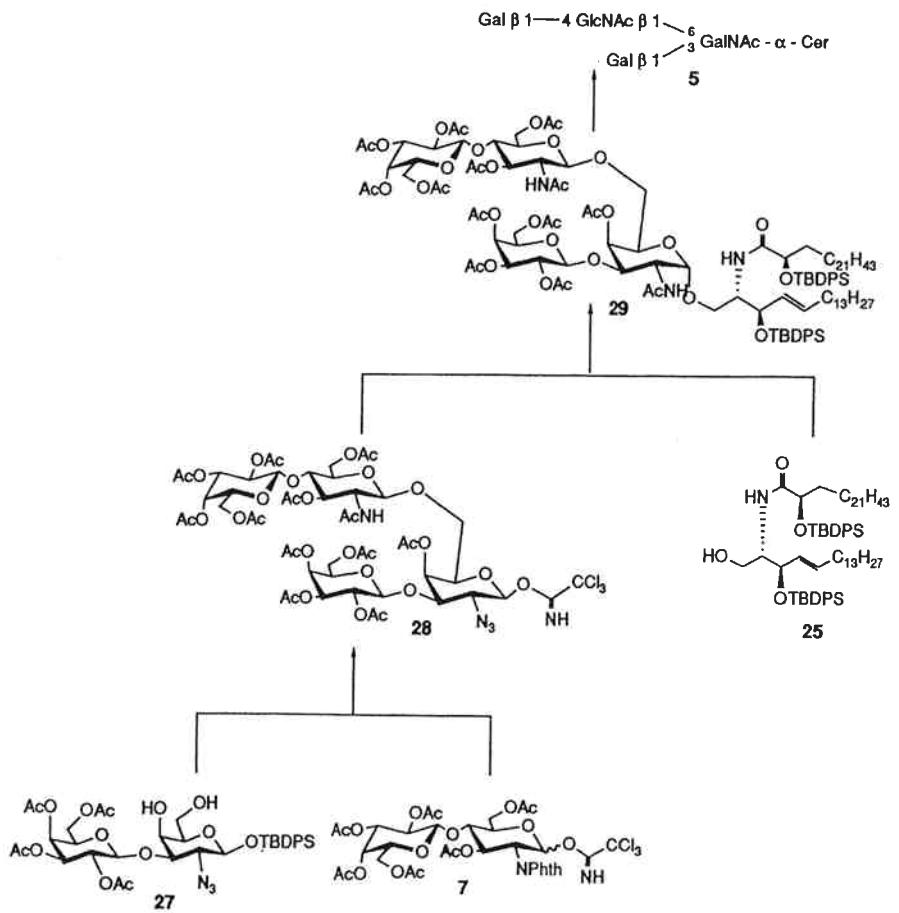
Scheme 3



Scheme 4



Scheme 5



Scheme 6

した通りである。母核3型糖鎖を持つターゲット2は4、6位をベンジリデン基で保護したガラクトサミン誘導体17とラクトサミン供与体7を出発原料として合成した。ターゲット3(母核4型)の合成は、ターゲット2の合成中間体である化合物20を、ラクトサミン供与体7と反応させることにより開始される。また、ターゲット2の出発原料でもある化合物17とガラクトースのブロム化体23を、AgOTfをプロモーターとして反応させ、得られた2糖を、トリクロロイミデート法により活性化した24と、セラミド誘導体25とを反応させると、母核1型(T抗原)であるターゲット4が得られる。母核2型を持つ5は、4の合成中間体である27と、ラクトサミン供与体7とを反応させた後、セラミドと結合させることにより得られる。以上の方法で、筆者らは、ムチン型母核構造を含む2糖から5糖の糖鎖抗原を合成することに成功した。

## (2) ムチン型糖鎖を認識するモノクローナル抗体

ムチン型糖鎖を持つ化合物1-5を、マウスに免疫することにより、モノクローナル抗体を作製した。作製法は、通常の糖脂質を免疫する方法<sup>8)</sup>に従った。得られたムチン型糖脂質を *Salmonella minnesota* 死菌に吸着させ、BALB/cマウスの腹腔内に繰り返し免疫した。免疫したマウスの脾臓を取り出し、マウスのミエローマ細胞

胞と融合することにより、ハイブリドーマを作製した。得られたハイブリドーマの中から、免疫に使ったムチン型糖脂質と反応する抗体を産生するハイブリドーマをスクリーニングした。

以上のようにして得られたモノクローナル抗体の、糖脂質に対する反応性をTable 1に示した。モノクローナル抗体 F1α75は、化合物1および3と強く反応することから、免疫原とした1の構造の中で、GlcNAcβ1→6結合の部分を認識しているものと思われる。また、モノクローナル抗体 F3α25A3、F3α328、F36α301、および、F36α312は、化合物2および3と反応していることから、Galβ1→4GlcNAcβ1→3 分枝(母核3、4型)を認識していると思われ、また、F4α3D8、F4α3F10は、Galβ1→4GlcNAcβ1→6 分枝(母核2、4型)を持つ化合物1、3、5と反応した。さらに、F4αMS1、F4αMS2、F4αMS3は、化合物5と特に強く反応することから、母核2型構造である Galβ1→4GlcNAcβ1→6(Galβ1→3)GalNAcに特異的な抗体であると言える。

以上のように、ムチン型母核1-4型糖鎖を持つ抗原を免疫し、2、3、4型糖鎖を認識する抗体を得ることができた。しかし、母核1型糖鎖(T抗原、化合物4)は、その糖鎖部分が短いため免疫原性が弱く、この糖鎖に対するモノクローナル抗体を得ることはできなかった。

Table 1 The summary of the reactivities of monoclonal antibodies toward synthetic glycolipid antigens as ascertained by the solid-phase enzym immunoassay

Immunogen	Antibody	Subclass	Antigen				
			1	2	3	4	5
1	F1α75	IgM	+	±	+	-	±
	F1α87	IgM	+	+	+	-	±
2	F3α25A3	IgM	-	+	+	-	-
	F3α328	IgM	-	+	+	-	-
3	F36α301	IgM	-	+	+	-	-
	F36α312	IgM	-	+	+	-	-
	F36α1F6	IgG3	±	±	+	-	±
	F36α2G4	IgM	±	±	+	-	±
5	F4α3D8	IgM	+	±	+	-	+
	F4α3F10	IgM	+	±	+	-	+
	F4α3E5	IgM	+	+	+	-	+
	F4α2F11	IgM	+	+	+	-	+
	F4αMS1	IgM	±	±	±	-	+
	F4αMS2	IgM	-	-	±	-	+
	F4αMS3	IgM	-	-	±	-	+
	F4αMS4	IgM	+	+	+	-	+

+ : Reacted as immunogen; ± : Weakly reacted; - : Not reacted.

### 3. ま と め

以上のように、ムチン型糖鎖に対する抗体を作製するために、5種類の糖鎖抗原をデザインし、有機合成することによって、これらを得ることができた。これらの抗原をそれぞれマウスに免疫し、モノクローナル抗体を作製することができた。今後、これらの抗体の諸性質について、さらに検討を重ね、また、実際に癌細胞を認識しているか、天然型ムチンを認識しているか、という点を明確にする必要がある。

また、得られたモノクローナル抗体が自然発生癌にも反応し、それを用いて癌患者から切除した組織切片を染色できれば、癌の組織染色試薬としての臨床応用についても、期待が持たれる。次に、癌細胞がこれらの糖鎖を発現していることが確認されれば、この糖鎖抗原が、組織から血清中に流出しているかどうかを確認し、血清診断への応用を検討する。また、この糖鎖が血清中に現われず、癌細胞に特異的な抗原であるならば、体内診断試薬や、ミサイル療法などの抗体医薬への応用が可能であると思われる。

さらに、これらの知見を基に、より特徴のある糖鎖抗原をデザインしてゆく予定である。

### 参 考 文 献

- 1) a) Eggens, I., Fenderson, B., Toyokuni, T., Dean, B., Stroud, M. and Hakomori, S., *J. Biol. Chem.*, **264**, 9476-9484 (1989).  
b) Kojima, N. and Hakomori, S., *J. Biol. Chem.*, **264**, 20159-20162 (1989).
- 2) a) Lowe, J. B., Stoolman, L. M., Nair, R. P., Larsen, R. D., Berhend, T. L. and Marks, R. M., *Cell*, **63**, 475-484 (1990).  
b) Phillips, M. L., Nudelman, E., Gaeta, F. C. A., Perez, M., Singhal, A. K., Hakomori, S. and Paulson, J. C., *Science*, **250**, 1130-1132 (1990).  
c) Waiz, G., Aruffo, A., Kolanus, W., Bevilacqua, M. and Seed, B., *Science*, **250**, 1132-1135 (1990).
- 3) Takeuchi, M., Inoue, N., Strickland, T. W., Kubota, M., Wada, M., Shimizu, R., Hoshi, S., Kozutsumi, H., Takasaki, S. and Kubota, A., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **86**, 7819 (1989).
- 4) a) Hakomori, S., *Annu. Rev. Biochem.*, **50**, 733-764 (1981).  
b) Hakomori, S. and Kannagi, R., *JNCI*, **71**, 231-251 (1983).
- 5) Kjeldsen, T., Clausen, H., Hirohashi, S., Ogawa, T., Iijima, H. and Hakomori, S., *Cancer Res.*, **48**, 2214-2220 (1988).
- 6) Magnani, J. L., Nilsson, B., Brockhaus, M., Zopf, D., Steplewski, Z., Koprowski, H. and Ginsburg, V., *J. Biol. Chem.*, **257**, 14365-14369 (1982).
- 7) a) Hannson, G. C. and Zopf, D., *J. Biol. Chem.*, **260**, 9388-9392 (1985).  
b) Holms, E. H., Hakomori, S. and Ostrander, G. K., *J. Biol. Chem.*, **259**, 14783 (1987).
- 8) Feizi, T., Gooi, H. C., Childs, R. A., Picard, J. K., Uemura, K., Looms, L. M., Thorpe, S. J. and Hounsell, E. F., *Biochem. Soc. Trans.*, **12**, 591 (1984).
- 9) Kannagi, R. and Hakomori, S., "Handbook of Experimental Immunology", ed. by Blackwell, C. C. and Herzenberg, L. A., Blackwell Scientific Publications, Oxford, Vol. 4, p. 117.1-117.20 (1986).
- 10) Piller, F., Piller V., Fox, R. I. and Fukuda, M., *J. Biol. Chem.*, **263**, 15146-15150 (1988).
- 11) Magnani, J. L., Steplewski, Z., Koprowski, H. and Ginsburg, V., *Cancer Res.*, **43**, 5489-5492 (1983).
- 12) Schachter, H. and Brockhausen, I., *Symp. Soc. Exp. Biol.*, **43**, 1-26 (1989).
- 13) Fukuda, M., Lauffenburger, M., Sasaki, H., Rogers, M. E. and Dell, A., *J. Biol. Chem.*, **262**, 11952-11957 (1987).
- 14) Numata, Y., Nakada, H., Fukui, S., Kitagawa, H., Ozaki, K., Inoue, M., Kawasaki, T., Funakoshi, I. and Yamashina, I., *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **170**, 981-985 (1990).
- 15) Hirohashi, S., Clausen, H., Yamada, T., Shimosato, Y. and Hakomori, S., *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, **82**, 7039-7043 (1985).
- 16) Springer, G. F., Chandrasekran, E. V., Desai, P. R. and Tegtmeyer, H., *Carbohydr. Res.*, **178**, 271-292 (1988).
- 17) Bast, R. C. Jr., Feeney, M., Lazarus, H., Nadler, L. M., Colvin, R. B. and Knapp, R. C., *J. Clin. In-*

- vest.*, 68, 1331-1337 (1981).
- 18) Eckhardt, A. E., Timpte, C. S., Abernethy, J. L., Zhao, Y. and Hill, R. L., *J. Biol. Chem.* 266, 9678-9686 (1991).
- 19) Watanabe, M., Hirohashi, S., Shimosato, Y., Ino, Y., Yamada, T., Teshima, S., Sekine, T. and Abe, O., *Jpn. J. Cancer Res. (Gann)*, 76, 43-52 (1985).
- 20) a ) Carlson, D. M., *J. Biol. Chem.*, 243, 616 (1968).  
     b ) Zinn, A. B., Plantner, J. J., Carlson, D. M., "The Glycoconjugates", ed. by Horowitz, M. I., Pigman, W., Academic press, New York, Vol.
- 1, p. 69 (1977).
- 21) Tang, P. W., Gooi, H. C., Hardy, M., Lee, Y. C., and Feizi, T., *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 132, 474-480 (1985).
- 22) Prabhanjan, H., Kiso, M. and Hasegawa, A., *Carbohydr. Res.*, 222, c1-c4 (1991).
- 23) Nakahara, Y., Iijima, H., Shibayama, S. and Ogawa, T., *Tetrahedron Lett.*, 31, 6897-6900 (1990).
- 24) Horie, R., Hara, K. and Nakano, K., *Carbohydr. Res.*, 230, c11-c15 (1992).
- 25) Schmidt, R. R. and Michel, J., *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 19, 731-732 (1980).



著 者  
氏名 堀 江 隆 一  
Ryuichi HORIE  
入社 昭和61年4月1日  
所属 研究本部  
生物工学研究所  
バイオテクノロジー研究室  
副主任研究員



著 者  
氏名 原 一 利  
Kazutoshi HARA  
入社 昭和63年12月12日  
所属 研究本部  
探索研究所  
システム研究室  
副主任研究員



著 者  
氏名 繁 田 勝 美  
Katsuyoshi SHIGETA  
入社 昭和61年10月1日  
所属 生物工学研究所  
AIA開発室  
副主任研究員