

## 癌関連糖鎖抗原を含む複合糖質モデルの合成

Syntheses of artificial glycoconjugates containing tumor-associated carbohydrate antigens

代表研究者 北海道大学理学部生物科学科教授  
Prof., Faculty of Science, Hokkaido Univ.  
Shin-Ichiro NISHIMURA

西村 紳一郎

One crucial and indispensable function of oligosaccharide chains at the cell surface is as recognition sites for determining biological specificity of cell-cell interactions. Our recent attention has been directed toward the biological significance of the oligosaccharide sequences containing Le<sup>x</sup> structure.

This paper deals with a novel and efficient approach for the preparation of synthetic glycoconjugates having pendant trisaccharide sequence, Le<sup>x</sup> for further biological evaluation. The scheme planned for the synthesis of the macromolecule consists of three main stages; (a) synthesis of a peracetate of Le<sup>x</sup> by means of a versatile glycosyl acceptor from 1,6-anhydrolactose as a key starting material, (b) introduction of a polymerizable and spacer-armed aglycone at C-1 position, and (c) radical copolymerization of the carbohydrate monomer with acrylamide.

As shown in the retrosynthetic analysis of the Le<sup>x</sup> polymer, a key glycosyl acceptor **2** which would greatly facilitate the synthetic procedure of trisaccharide intermediate **3** was firstly prepared by chemospecific manipulations of a readily available 1,6-anhydrolactose derivative **1**. Glycosidation reaction of **2** with the known fucose derivative gave a trisaccharide derivative in 50% yield. Deprotections, acetylation and conformational transformation of the 1,6-anhydroglucose residue afforded peracetate **3** in good yield. Polymerizable trisaccharide **4** was derived from the corresponding oxazoline derivative readily preparable by using TMSOTf as a promotor through glycosidation reaction with 4-penten-1-ol and subsequent deacetylation. Copolymerization with acrylamide gave a polymer having pendant Le<sup>x</sup> structure.

### 研究目的

多細胞生物における細胞間相互作用は、細胞の発生、分化、成長、さらに悪性化などの生命現象における方向性を決定する、いわば細胞表層の動的分子認識過程とみなすことができる。この過程において糖質は細胞表層糖タンパク質や糖脂質、細胞外マトリックスを構成するプロテオグリカンなどの一員として極めて重要な役割を果たしている。ヒトの血液型 (ABH 式) を決定しているのは細胞膜上の糖脂質であり、末端のたった一つの糖の有無、および構造の違いによって各々 A, B, O 型の糖鎖エピトープ (抗原決定基) を形成しているのである。また、癌やエイズなどの難治性疾患患者の細胞膜において特異的でドラマチックな糖

鎖構造変性 (変化) が観察されることなどから、細胞の悪性化の際の重要な抗原 (マーカー) として機能していることも明らかになりつつある。このような糖鎖生物学 (Glycobiology) の進展に伴って、新しい生理活性オリゴ糖の合成研究に寄せられる期待感はずまます大きくなっている。

本研究課題においては複合糖質糖鎖の構造と機能を分子レベルで理解し、これを生化学や医療などに有効に活用するため、これまでに見られない新しい人工複合糖質の合成法開拓を目的とした。すなわち:

(A) 新しい 1,6-無水ラクトース誘導体を合成し、これらを鍵中間体として癌関連糖鎖抗原 Le<sup>x</sup> や Le<sup>y</sup> 構造などを効率よく誘導する新手法を見い

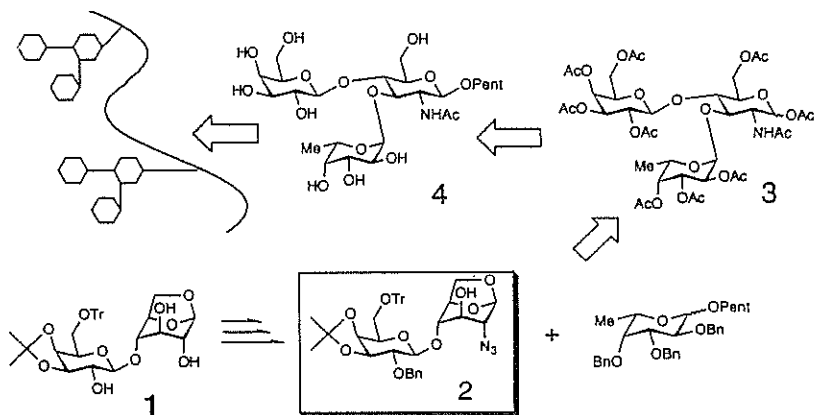


図1. 合成スキーム.

だす。

(B) 上記オリゴ糖鎖からなる抗原構造を側鎖に含むモデル高分子をラジカル共重合法などにより創製する。

(C) 合成複合糖質を糖転移酵素などの新しい基質として活用し、基質特異性などの酵素の機能解明の一助とする。また、セレクチンをはじめとする細胞接着因子との相互作用を検討することにより、結合の特異性について議論する。

#### 研究経過

前期研究目的を円滑かつ効率的に進めるために、これまで主として「生理活性オリゴ糖の新合成法の開発研究」および、「糖鎖高分子を構築するための機能性グリコシドの研究」の二つのテーマについて基礎的知見を積み重ねてきた。本研究は、これまでに確立されてきた2糖性シントンを基本単位とするオリゴ糖合成と*n*-ペンテニルグリコシドを重合性付与の鍵とするユニークなアプローチとみなすことができる。

#### 研究成果

##### (A) 癌関連糖鎖抗原構造の新しい簡易合成法の開発 (オリゴ糖合成)

D-ガラクトースが*N*-アセチルグルコサミンにβ(1→4)グリコシド結合した*N*-アセチラクトサミン構造は、II型糖鎖と呼ばれこれと関連するいくつかの重要なオリゴ糖鎖の基幹構造とみなすことができる。一方、未利用二糖資源ラクトースから容易に、しかも大量に調製できる1,6-無水ラク

トースはコンフォーメーションの違いから還元末端グルコースと非還元末端ガラクトースの水酸基の反応性を制御できるので、これを鍵出発物質として、位置および立体選択的の化学修飾反応により、さまざまなグリコシル受容体などを誘導できる。これらの二糖性グリコシル受容体を利用して癌関連糖鎖抗原三糖であるLe<sup>x</sup>構造を含む三糖の精密有機化学的構築に成功した。

##### (B) 複雑なオリゴ糖を含むモデル高分子の合成 (高分子化と複合化)

人工複合糖質を効率よく、しかも簡単に調製するためには、優れた重合性アグリコンの選択が鍵となる。我々は、この高分子化、複合化における反応性アグリコンの構造と物性 (溶解性や糖鎖のflexibilityなど) について詳しく検討してきた。(A)において合成されたオリゴ糖類のアノメリック位に*n*-ペンテニル基や*N*-アクリロイルヘキサニル基のようなスペーサー機能と高い反応性 (重合性) を示すアグリコンを導入し、水溶液中でのラジカル共重合を検討した。その結果、構造が明確で高分子量の糖鎖ポリマーの合成を達成した(図1)。

##### (C) 糖関連酵素の高分子基質としての利用

人工糖タンパク質として*N*-アセチラクトサミンを側鎖に有する水溶性ポリマーを調製した。新たに合成した*p*-ニトロフェニル化シアル酸を糖供与体としてシアリダーゼによる糖転移反応を本基質に作用させたところ、シアリル*N*-アセチ

ルラクトサミン構造を側鎖に有する全く新しいタイプの糖タンパク質モデル高分子の合成に成功した。この方法は有機合成化学と酵素法（生化学）の両方の優れた面を生かした新手法として今後大きな進展が期待できる。

#### 今後の課題と発展

人工複合糖質は近年、糖鎖生物学研究にとってますます重要な化合物群となっており、例えばインフルエンザウィルスによる赤血球凝集反応の阻止効果や細胞接着因子との親和性に基づく、細胞機能の制御など今後、医療を含めた広い領域での利用が期待されている。本法をさらに多くの糖鎖に応用することは重要な研究課題と考えられる。

#### 発表論文リスト

- 1) Shin-Ichiro Nishimura *et al.*: "Novel 1,6-Anhydro- $\beta$ -lactose Derivatives for Rapid and Efficient Syntheses of Oligosaccharide Sequences Containing *N*-Acetylglucosamine", *Chem. Lett.*, 1413-1416 (1992).
- 2) Shin-Ichiro Nishimura *et al.*: "Synthetic Glycoconjugates. 3. An Efficient Synthesis of a Glycoprotein Model Having Le<sup>x</sup>-Type Trisaccharide Sequence of Tumor-Associated Carbohydrate Antigen", *Macromolecules*, in press.
- 3) Shin-Ichiro Nishimura *et al.*: "A Facile and Efficient Preparation of Glycoprotein Models: Pendant-type Oligosaccharide Polymers", *Methods Enzymol.*, in press.