

Tumorlectinologie: Ein Gebiet im Schnittpunkt von Zuckerchemie, Biochemie, Zellbiologie und Onkologie

Von Hans-Joachim Gabius*

Professor Friedrich Cramer zum 65. Geburtstag gewidmet

Vor 100 Jahren begann die wissenschaftliche Beschreibung einer Klasse von zuckerbindenden Proteinen, bei denen es sich weder um zuckerspezifische Enzyme noch um entsprechende Antikörper handelt. Diese Proteine werden als Lectine bezeichnet. Als natürliche Bindungspartner der Lectine dienen die Zuckerteile zellulärer Glycoproteine, Glycolipide oder Proteoglycane; diese Strukturelemente sind potentiell informationsspeichernd und -übertragend. Die selektive Erkennung dieser Bindungspartner durch Lectine vermag zur Steuerung biologischer Prozesseketten beizutragen. Während pflanzliche Lectine inzwischen einen festen Platz bei der Charakterisierung und Lokalisierung des Zuckerteils von Glykogenkongugaten haben, steht die Arbeit an endogenen Lectinen noch vor vielen offenen Fragen, die durch die Wahl eines geeigneten Modellsystems experimentell präzisiert werden können. Hier bietet sich die Arbeit an Tumoren an, zumal dieses Modell sich aufgrund der zusätzlichen Möglichkeit einer umgehenden Prüfung auf diagnostischen und therapeutischen Nutzen empfiehlt. Von der chemischen Synthese des Zuckerteils der Neoglycoproteine, die zum Aufspüren zellulärer Zuckerrezeptoren mit histochemischen und zellbiologischen Techniken dienen, und der biochemischen und immunologischen Charakterisierung der von Tumorzellen exprimierten Lectine spannt sich der Bogen der in der Tumorlectinologie genutzten Methoden bis zur Anwendung von Homologieanalysen zur Ermittlung weiterer funktioneller Domänen. Die harmonische Integration aller dieser Fachbereiche in der Tumorlectinologie dürfte eine Voraussetzung für erfolgreiche klinische Anwendungen sein.

1. Einleitung

Die Geschichte der wissenschaftlichen Beschreibung von Lectinen begann vor 100 Jahren mit der Veröffentlichung der Dissertation von *Hermann Stillmark*, einem Doktoranden von *Rudolf Kobert* an der Universität Dorpat. Seine Arbeit über „Ricin, ein giftiges Ferment aus den Samen von *Ricinus communis* und einigen anderen Euphorbiaceen“^[1] war durch das Auftreten unbekannter Giftstoffe im Viehfutter motiviert und belegte, daß der Extrakt aus *Ricinus communis* außerordentlich toxisch ist. Zudem vermochten diese Präparationen – nach heutigem Standard ein Proteingemisch –, die Agglutination von Erythrocyten herbeizuführen (Abb. 1). Diese Hämagglutination als Test ermöglichte in kurzer Zeit die Entdeckung weiterer Quellen von Extrakten, die für die weite Verbreitung von Proteinen dieser Art sprechen. Neben der Toxizität und der Auslösung der Hämagglutination nutzte *Ehrlich* schon bald darauf eine weitere Eigenschaft des Ricins: seine Potenz als Antigen. An diesem Modell, das bakterielle Toxine ersetzte, führte er den experimentellen Beweis für die Spezifität der immunologischen Reaktion^[2,3].

Wie an anderer Stelle ausführlicher dargestellt^[4,5], folgten 1936 und 1948 weitere Meilensteine der Lectinforschung. 1936 wurde experimentell nachgewiesen, daß ein aus Extrakten von *Canavalia ensiformis* gewonnenes Protein die Hämagglutination dadurch bewirkt, daß es an

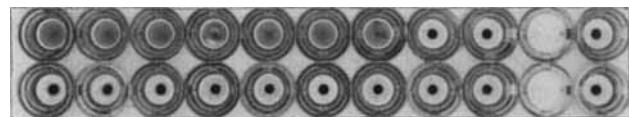


Abb. 1. Die Vermittlung der Hämagglutination durch Ricin. In der ersten Reihe wurde eine Konzentrationsreihe von Ricin mit steigendem Verdünnungsgrad (1:2 bis 1:612) eingesetzt. In der zweiten Reihe wurde jedem Test 0.1 M D-Lactose als kompetitiver Inhibitor zugesetzt. Rechts am äußeren Rand sind zwei Kontrollen ohne Ricin(Lectin)zugabe aufgeführt. Die Schälchen links daneben sind unbenutzt.

Zucker der Erythrocyten bindet^[6]; 1948 wurde die Spezifität einzelner pflanzlicher Proteine im Hämagglutinations-Test für Blutgruppen entdeckt^[7,8]. Der Begriff „Lectin“ ist von der Selektivität verschiedener Proteine abgeleitet, z. B. der aus Pflanzen erhaltenen, Erythrocyten agglutinierenden Proteine („Phytohämagglutinine“), und wurde eingeführt, um Angehörige dieser Proteinklasse mit Antikörperähnlicher Spezifität der Erkennung molekularer Gruppen von den Antikörpern abzugrenzen^[9]. Weitere alternative Begriffsvorschläge wie „Rezeptor-spezifisches Protein“^[10] fanden keine allgemeine Verbreitung. Viele der damals als Phytohämagglutinine angesprochenen Proteine erwiesen sich später als zuckerspezifisch; außerdem wurden Agglutinine dieser Substanzklassenspezifität auch in Organismen anderer Ordnungen gefunden. Hierdurch wurde die Grundlage gelegt, den Begriff „Lectin“ – bisher nur in Abgrenzung zum Terminus „Antikörper“ benutzt –, zu präzisieren. Die Definition schließt die Zuckerbindung ohne enzymatische Aktivität sowie operational Zellagglutination und/oder Präzipitation von Glykogenkongugaten ein; damit

[*] Dr. H.-J. Gabius
Max-Planck-Institut für experimentelle Medizin, Abteilung Chemie
Hermann-Rein-Straße 3, D-3400 Göttingen

wurde der Begriff „Lectin“ durch die Art des Liganden spezifiziert^[11].

Verglichen mit Lectinen aus Pflanzen sind tierische Lectine ein ausgesprochen junges Forschungsgebiet^[12, 13]. Entwicklungen, die von der Anwendung chemischer, biochemischer und zellbiologischer Methoden ausgehen, sollen in diesem Überblick mit besonderem Schwerpunkt auf der möglichen klinischen Nutzung endogener Lectine nachgezeichnet werden.

2. Können Zuckerstrukturen Informationsträger sui generis sein?

Zucker werden in der Regel als Energiespeichersubstanzen angesehen. Als integrale Bestandteile von zellulären Glycokonjugaten, den Glycoproteinen, Glycolipiden und Proteoglycanen, scheinen sie jedoch andere Aufgaben zu erfüllen. Attraktiv ist die Vorstellung, daß in der Anordnung der Zuckermanomere von Glycokonjugaten biologische Information gespeichert ist, die für den fehlerlosen Ablauf von Erkennungsprozessen benötigt wird. Während Aminosäuren in Proteinen, von wenigen Ausnahmen abgesehen, immer durch die Peptidbindung verknüpft sind – Strukturheterogenität als biologische Information demnach nur durch die Unterschiede in der Art der Bausteine, nicht durch Unterschiede in der Art der Verknüpfung erzeugt werden kann –, ergeben sich im Falle der Aneinanderreihung von Zuckermanomeren durch die Glycosidbindung ausgesprochen vielfältige Möglichkeiten. Neben den Variantenreichtum durch den Ort der Verknüpfung im Zuckergrundgerüst tritt als weitere Möglichkeit die Anomerie. Auch wenn in den natürlichen Kohlenhydratstrukturen der Glycokonjugate bei weitem nicht alle denkbaren Möglichkeiten realisiert sind (vgl. Abb. 2), so weisen sich Zuckerstrukturen vergleichsweise kurzer Sequenz doch als prädestiniert für Informationsspeicherung aus, wie unter anderem das Beispiel der Blutgruppen nachdrücklich bestätigt^[14-19].

Die durch die Anordnung der Monomere charakterisierte Grundstruktur, deren Aufklärung in den letzten Jah-

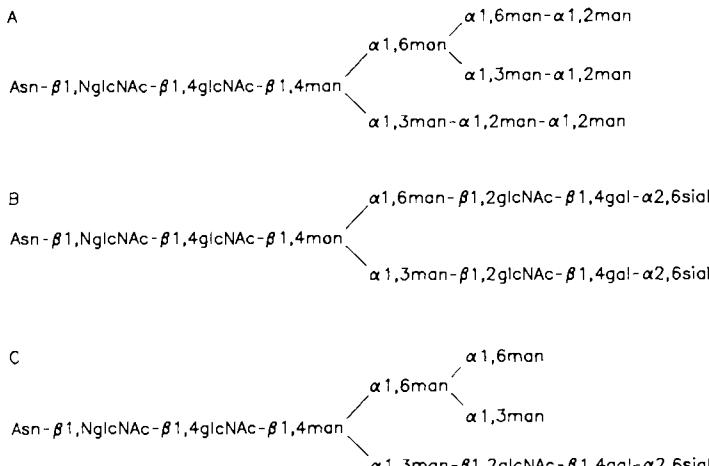


Abb. 2. Beispiele für die Grundstruktur von Oligosacchariden, die *N*-glykosidisch über *N*-Acetylglucosamin mit einem Asparaginrest des Proteins verknüpft sind. Der Kernanteil, der die erste Verzweigung umfaßt, ist für alle drei Grundtypen gleich. Diese Grundtypen sind der mannosereiche Typ (A), der komplexe Typ (B) und die Mischform, die im peripheren Teil Elemente beider Grundtypen enthält und daher Hybridtyp (C) genannt wird.

ren wesentliche Fortschritte gemacht hat^[16-20], kann zudem enzymatisch modifiziert werden, so durch Sulfatierung, Phosphorylierung und *O*-Acetylierung der Zuckerkette^[21-24]. Dieses Zusammenspiel der vom biosynthetischen Apparat bedingten Komplexität der Zuckersequenzen und der Variabilität der anschließenden Modifizierung steckt den Rahmen der möglichen Vielfalt von Zuckerstrukturen ab. Die Konformationsanalyse definierter Oligosaccharide und Glycopeptide belegt darüber hinaus eine weitere unabdingbare Voraussetzung für die Informationsspeicherung und -übermittlung, nämlich die distinkte räumliche Organisation und eine erhebliche Strukturrigidität^[25, 26]. Modifikationen der Grundstruktur wirken sich dabei auch auf die Stabilität der Konformationszustände aus. Der Kohlenhydratteil von Glycokonjugaten erfüllt damit wesentliche Voraussetzungen, als Codesystem Information zu speichern und die Information in Interaktionen umzusetzen, die in der biologischen Prozeßsteuerung von der Befruchtung der Eizelle an von großer Bedeutung sein können^[27-31].

Als Partner für Zucker in einer solchen Erkennungsreaktion kommen in erster Linie Proteine in Betracht. Definitionsgemäß zählen die Lectine zu den Proteinen, die als Zuckerrezeptoren fungieren können. Die spezifische Protein-Zucker-Wechselwirkung zwischen Lectin und Kohlenhydrat, durch die die Zuckerkette zudem nicht wie bei der Erkennung durch Enzyme (z. B. Glycosidasen oder Glycosyl-Transferasen) verändert wird, konstituiert somit ein wechselseitiges Erkennungssystem. Dieses System kann auf beiden Seiten reguliert werden, so daß es hohe Flexibilität ermöglicht, wie in Abbildung 3 skizziert.

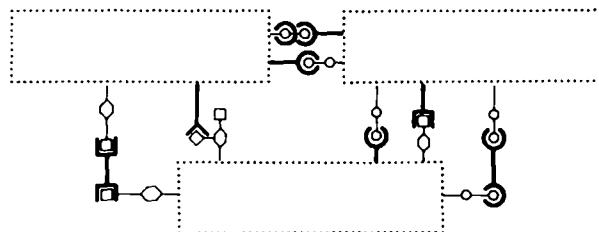


Abb. 3. Schematische Darstellung eines wechselseitigen Erkennungssystems, das durch spezifische Interaktion von (meist) zellständigen Lectinen entsprechender Spezifität mit zellständigen Zuckerliganden etabliert wird. Die Lectine können auch Brückenfunktion haben. Große Rechtecke: Zellen; Kreis: Mannose; auf der Kante stehendes Quadrat: Galactose; Sechseck: *N*-Acetylglucosamin; auf der Spitze stehendes Quadrat: Fucose. Die spezifischen Lectine (fett gezeichnet) schließen die Zucker teilweise ein. Die Lectine können sich in ihrer Subspezifität unterscheiden (gezeigt am Beispiel der Mannose-Bindung).

Obwohl dieses allgemeine Konzept sehr ansprechend ist, darf jedoch nicht unerwähnt bleiben, daß Kohlenhydrat-Kohlenhydrat-Interaktionen ebenfalls belegt sind^[32, 33] und daß der Zuckerteil von Glycokonjugaten auch andere Aufgaben haben kann. So kann er bei Glycoproteinen die Konformation des Proteins beeinflussen und Bereiche auf der Oberfläche von Proteinen abdecken, um sie vor proteolytischem Abbau zu schützen^[27]. Glycolipide wie Sialoganglioside können durch Bindung von Metall-Ionen Rezeptorfunktionen modulieren, ohne selbst aufgrund ihrer Zuckerstruktur, von der entscheidenden Sialinsäuregruppe abgesehen, als eigenständiger Rezeptor zu wirken^[34, 35].

Die notwendige Flexibilität innerhalb des angenommenen Codesystems auf der Basis von Zucker-Protein-Wechselwirkungen, die Spielraum für regulatorische Eingriffe gewährt, ist auf der Seite der Kohlenhydratstruktur eingehend dokumentiert. Neben der Verfügbarkeit von pflanzlichen Lectinen als exogenen Zuckerrezeptoren war es für die Klärung dieser Fragen förderlich, daß die Zucker ausgesprochen antigen wirken können^[36]. Somit lassen sich Zuckerepitope experimentell mit monoklonalen Antikörpern nachweisen, mit denen ihr Expressionsmuster entwicklungsabhängig quantifiziert werden kann^[37-40]. Die auf diese Art gewonnenen Resultate bezeugen eindrucksvoll, daß das Muster der Zuckerstrukturen individueller Glycokonjugate die zelluläre Identität im Verlauf von Differenzierungsprozessen anzeigen kann. Da Antikörper durch ihre Epitoperkennung ihren Bindungspartner räumlich für andere Interaktionen blockieren, haben – nachdem entsprechende Determinanten ausfindig gemacht wurden –, funktionelle Studien weitere Einsichten in ihre Bedeutung bringen können^[31,41].

Komplementär können auch die interessierenden Zuckerstrukturen selbst als Effektoren eingesetzt werden, oder sie können *in situ* modifiziert werden. Mit solchen Ansätzen ließ sich die funktionelle Bedeutung von Kohlenhydratelementen in sehr unterschiedlichen Prozeßketten nachweisen, z. B. Virusreplikation^[42], Zellwachstumsregulation in Tieren und Pflanzen^[43-45], Embryogenese^[46-48], Hormonverteilung und hormonbedingte Signalvermittlung^[49,50]. Ein unabhängiger Ansatz, die Verwendung von Mutanten von Säugetierzellen mit genetischen Störungen im Bereich der Glycosylierung, lieferte weitere Hinweise auf die funktionelle Bedeutung des Zuckerteils zellulärer Glycokonjugate^[51]. Diese Befunde zusammengenommen ermutigen dazu, der unten formulierten Arbeitshypothese nicht nur Attraktivität, sondern auch Plausibilität zuzusprechen: Zucker-Protein-Interaktionen durch Zucker-Lectin(Zuckerrezeptor)-Erkennung sind ein fundamentales Prinzip biologischer Informationsvermittlung. Jedoch muß der Kenntnisstand bezüglich des Proteinteils noch deutlich verbessert werden.

3. Lectine als Forschungsinstrumente

Der Begriff Lectin ist heute noch weitgehend von der Verwendung pflanzlicher Lectine als Hilfsmittel biologischer und biochemischer Forschung geprägt. Die hohe Selektivität für Zuckerstrukturen ermöglicht die gezielte Nutzung der Lectine zur Charakterisierung von Glycokonjugaten. Diese Anwendung setzt voraus, daß die Spezifität der benutzten Lectine mit Hilfe feinstrukturell definierter Liganden wie Glycopeptiden genau bestimmt wurde. Auch bei Eingruppierung verschiedener Lectine in eine gemeinsame Kategorie aufgrund vergleichbarer Affinität zu einem bestimmten Monosaccharid (der einfachsten Form der Lectinklassifizierung) können sich bei verfeinerter Analyse zum Teil erhebliche Affinitätsabstufungen innerhalb einer solchen Kategorie zeigen^[52-54]. Diese Investition in weitere Datensammlung amortisiert sich dadurch, daß nun Glycokonjugate unbekannter Feinstruktur entsprechend ihrer Affinität als Lectinligand nach geelektrophoretischer Trennung charakterisiert oder affinitätschromatographisch

separiert und gereinigt werden können^[55-59]. Wird mit Lectinen oder lectinbeschichteten Trägern und Zellen, nicht mit Zellextrakten, gearbeitet, so lassen sich auch Zelltrennungen durchführen, was besonders in der hämatologischen Onkologie von Bedeutung ist^[58,60]. Die Effizienz dieser Trennungen hängt von Faktoren wie der Dichte der Lectinliganden und ihrer Mobilität ab^[61,62].

Auf der Ebene von Zellen und Geweben lassen sich Lectine als histologisches Instrument einsetzen, mit welchem die Expression von Glycokonjugatstrukturen nachgewiesen und quantifiziert werden kann. Die Identifizierung bestimmter Zelltypen und distinkter Funktions- und Differenzierungszustände sowie Beiträge zur Diagnostik von Tumoren bieten Anwendungsbeispiele aus der histologischen Praxis^[63-65].

Trotz der breiten Handhabung von pflanzlichen Lectinen als Instrument in der Forschung sollte nicht vergessen werden, daß ihre vermeintlichen Funktionen in der Pflanze nur relativ grob umschrieben sind^[66,67]. Dies gilt auch für Ricin. Schon kurz nach seiner Entdeckung im Jahre 1889 wurde es nicht aufgrund seiner Zuckerbindungseigenschaft, sondern aufgrund seiner antigenen Potenz benutzt; derzeit zentriert sich die Arbeit mit Ricin, dessen Toxizitätsmechanismus kürzlich aufgeklärt worden ist^[68], um die Anwendung als Bestandteil von Immunotoxinen^[69,70]. Die vielfältige Nutzung pflanzlicher Lectine als exogen zugeführte Zuckerrezeptoren belegt jedoch den Wert, der endogenen Lectinen funktionell zukommen kann, und bildet damit einen weiteren Pfeiler für das Konzept eines möglichen Codesystems aus endogenen Lectinen und ihren zellulären Liganden.

4. Neoglycoproteine als „Spürhunde“ für endogene Zuckerrezeptoren

Um der Bedeutung endogener Lectine auf die Spur zu kommen, empfiehlt sich die Konzentration der Studien auf etablierte und allgemein anerkannte Modellsysteme. Diese sollten biologische Relevanz, gute Handhabbarkeit und unproblematische Verfügbarkeit von befriedigend reproduzierbarem Analysenmaterial kombinieren. Tumorzellen bieten sich in dieser Hinsicht als System an. Zudem besteht die zusätzliche Hoffnung, die an ihnen erhaltenen Resultate ohne Adaptation auf ein neues System in die Klinik einführen zu können. Ausgehend von der zwar hypothetischen, aber durch die oben dargelegten Befunde untermauerten Vorstellung über die Bedeutung der Zucker-Protein-Erkennung in der Tumorbiologie könnten sich endogene Rezeptoren für Zuckerstrukturen zellulärer Glycokonjugate als funktionelle Tumormarker eignen. Solche Marker dienen nicht nur als Zielpunkte der Therapie in der onkologischen Praxis, sondern können darüber hinaus auch zum Verständnis des tumorbiologischen Verhaltens beitragen^[71,72]. Sie gäben uns demnach außer der Charakterisierung des Tumors, wie es andere Tumormarker tun^[73], die weitergehende Möglichkeit, klinisch wertvolle Aussagen über Tumoreigenschaften wie Wachstumsverhalten, Differenzierungs- und Malignitätsgrad sowie Metastasierungskapazität zu erhalten.

Experimentell gibt die Verwendung geeigneter Reagenzien als „Spürhunde“ für zuckerspezifische Erkennungs-

prozesse, an denen Glycokonjugate beteiligt sind, weiteren Aufschluß über diese Modellvorstellung. Um auf Art und Ausmaß der Rezeptorkapazität für Zuckerstrukturen schließen zu können, müssen geeignete Reagentien synthetisiert werden, die routinegemäß, standardisierten Einsatz zur vergleichenden Prüfung gestatten. Wird hierfür ein Protein ohne Zuckerteil, das nicht selektiv als Rezeptor zu agieren vermag, synthetisch mit definierten Zuckerteilen konjugiert, so erhält man die gewünschten Produkte, die „Neoglycoproteine“^[74-76]. Aus individuellen Ansätzen werden dabei genau definierte Reaktionsprodukte gewonnen, deren Mannigfaltigkeit durch die Breite der Palette der Edukte und der Reaktionsführung garantiert ist. Diese chemische Synthese von Neoglycoproteinen ähnelt der nichtenzymatischen Glycosylierung von Proteinen, die in besonderen Fällen in der Natur vorkommt^[77, 78]. Dank der Fortschritte der Zuckerchemie lassen sich auch recht komplexe Strukturen synthetisieren, mit denen die Lücke zu den natürlichen, gegebenenfalls entsprechend modifizierten Glycokonjugaten geschlossen werden kann^[79, 80].

Mit diesen Neoglycoproteinen ergeben sich nun mehrere Möglichkeiten, histologisch und zellbiologisch das Muster der zuckerspezifischen Bindungskapazität qualitativ und quantitativ an Zellen unterschiedlichen Charakters zu vergleichen. Jedoch empfiehlt es sich auf dieser Ebene, den allgemeinen Begriff Zuckerrezeptor zu verwenden, weil der molekulare Charakter der individuellen Rezeptoren, die an der Erkennung beteiligt sein können, nicht geklärt ist. Dies könnten endogene Lectine sein, aber auch Enzyme wie Glycosyl-Transferasen oder auch Glycosidasen, bei denen im physiologischen pH-Bereich zwar die Enzymaktivität verringert ist, nicht jedoch die Zuckerbindungsähnlichkeit. Ferner sind endogene Antikörper mit Zuckerspezifität^[81, 82] sowie Proteine mit zuckerbindenden Domänen bekannt, die zwar als Lectine fungieren, aber operational über andere funktionelle Domänen definiert sind, wie in Abschnitt 6 näher erläutert ist. Auch ist zu beachten, daß sich die Erkennungsreaktion von der Art der Gewebefixierung und von endogenen Liganden, die inhibitorisch wirken, beeinflussen läßt.

Histochemisch und histopathologisch eröffnen Neoglycoproteine nach geeigneter Markierung, z. B. Biotinylierung,

den Weg zur detaillierten Analyse endogener Zuckerrezeptoren. Bei der Biotinylierung wird also neben der für die Bindung im Gewebschnitt essentiellen und aufgrund der Synthesemöglichkeiten frei wählbaren Zuckerkomponente die Detektionsmarkierung in das Trägerprotein (z. B. Serumalbumin) eingeführt. Solche Neoglycoproteine sind somit komplementäre Werkzeuge zu pflanzlichen Lectinen und zuckerspezifischen monoklonalen Antikörpern in der Erfassung eines Codesystems, das auf Protein-Zucker-Interaktionen basiert. Als Beispiel für die so erhältlichen Ergebnisse zeigt Abbildung 4 die Lokalisation von fucosespezifischen Rezeptoren in einem humanen mucinösen Brusttumor. Kontrollen durch kompetitive Inhibition mit der spezifischen Zuckerkomponente sowie Ausschluß der Bindung des unmodifizierten Trägerproteins beweisen die spezifische Wechselwirkung des Zuckers im Neoglycoprotein mit dem Rezeptor im Gewebschnitt. Vergleichende Studien mit mehreren Neoglycoproteinen belegen, daß auf der Basis dieses Analysetyps sich Unterschiede von Normal- und Tumorgewebe sowie zwischen verschiedenen Tumortypen und innerhalb einer Tumorklasse finden lassen. Diese Aussage gilt im einzelnen für Brusttumoren^[83], Lungentumoren, für die sich die klinisch bedeutsame Unterscheidung von kleinzelligen und nicht-kleinzelligen Tumormerkmalen sowie die weitere Unterscheidung von Tumorzellen und Zellen des entzündlichen Prozesses andeutet^[84, 85], und für Hirntumoren^[86, 87], wie in Tabelle 1 aufgeführt. Die Befunde aus verschiedenen Tumorsystemen zeigen, daß es sich lohnt, die Anwendung von Neoglycoproteinen weiterhin zu prüfen und daß die entsprechenden Rezeptoren zum Teil drastischer Regulation unterliegen. Dies gilt auch für den Verlauf von Differenzierungsprozessen nichtmaligner Zellen, z. B. verschiedener Zelltypen bei der Entwicklung der Placenta (Tabelle 2).

Um die histopathologische Anwendung von Neoglycoproteinen zeitsparend zu gestalten, was für Schnellschnittdiagnosen wichtig ist, können Neoglycoproteine durch heterobifunktionelle Reagentien in zwei Schritten mit Enzymen gekoppelt werden, was die Abfolge der Schritte bis zur Färbung verkürzt^[88]. Zudem lassen sich solche Monokonjugate in Tests zum Nachweis und zur Quantifizierung von Zuckerrezeptoren einsetzen. Wird der Zuckerteil variiert, erhält man Informationen über die Spezifität der beteiligten Zuckerrezeptoren und kann durch ständige Rückkopplung die Ligandenstruktur optimieren. Neben der Variablen „Zuckerstruktur“ beeinflussen auch die Zuckerdichte und die Art der Zucker-Protein-Bindung die Effizienz des Neoglycoproteins^[89-91]. Insgesamt werden auf diesem Weg wichtige Leitlinien für weitere Untersuchungen und für die anschließende biochemische Reinigung der histochemisch lokalisierten Zuckerrezeptoren gewonnen.

Da neben dem Kohlenhydratteil von Glycoproteinen und Glycolipiden auch der von Proteoglycanen wichtige zelluläre Funktionen auszuüben scheint (Zelladhäsion, Wachstumskontrolle, Regulation von Rezeptorfunktionen)^[92, 93], lassen sich auch für den Nachweis entsprechender Bindungsproteine geeignete Marker synthetisieren (biotinierte Polysaccharide nach vorsichtiger CNBr-Aktivierung und Aminoalkylierung). Die standardisierte Anwendung dieses Markertyps belegt, daß Rezeptoren für diese sulfatierten Polysaccharide entwicklungsabhängig re-

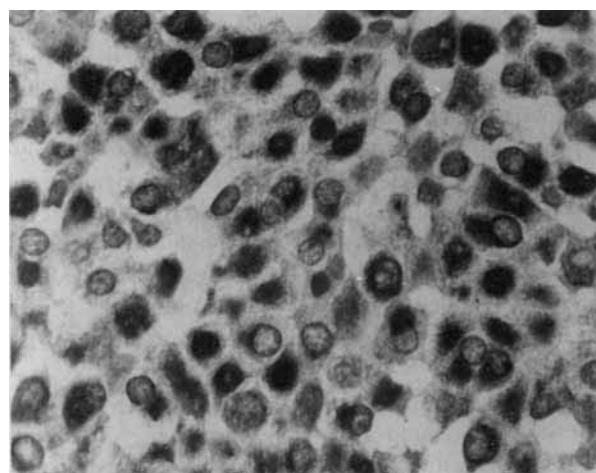


Abb. 4. Bindung von markiertem und fucosyliertem Albumin an Zellen eines wenig differenzierten mucinösen Brustcarcinoms (Vergrößerung 600fach).

Tabelle 1. Cytoplasmatische Bindungskapazität (Cp) (Σ^n) der markierten Kohlenhydrate in Tumoren des Zentralnervensystems [a].

Rezeptor-spezifität	Neoglycoproteintyp	Tumortypen (Σ^n Cp)														
		FA	PA	AA	DO	AO	GB	GZ	DE	ME	M	FM	AM	SM	MM	GA
β -Galactosid	lac(Diaz.)-BSA	4	6	6	6	5	4	6	6	6	4	6	4	3	3	69
	lac(Red.Am.)-BSA	4	3	1	1	2	0	4	3	2	2	0	2	0	0	24
	gal- β (1,3)-glcNAc-BSA	0	2	3	3	1	3	0	3	2	0	0	0	0	0	17
	Asialotransferrin	0	0	4	1	2	6	5	0	6	3	3	1	3	1	35
	Asialofetuin	6	6	4	6	6	5	6	6	6	4	4	6	6	3	68
α -Galactosid	Asialolactoferrin	2	2	4	1	0	5	0	0	6	1	3	1	4	3	32
	Melibiose-BSA	0	0	4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	5
<i>N</i> -acetylierte Zucker	<i>N</i> -Acetyl-glucosamin-BSA	2	4	6	5	3	3	4	3	5	5	3	3	2	3	51
	<i>N</i> -Acetyl-galactosamin-BSA	0	0	4	0	0	5	0	0	3	0	0	0	2	4	18
α -Glucosid	Maltose-BSA	5	3	3	3	0	4	4	2	1	4	3	4	2	0	38
β -Glucosid	Cellobiose-BSA	0	3	1	3	3	0	0	3	2	0	0	0	0	0	15
α -Fucosid	Fucose-BSA	6	6	5	4	6	3	5	3	6	2	2	5	3	3	59
α -Mannosid	Mannose-BSA	3	4	4	5	4	4	6	3	4	6	4	6	3	3	59
phosphorylierte Zucker	Mannose-6-P-BSA	3	3	6	4	4	4	5	4	6	3	6	6	3	3	60
	Galactose-6-P-BSA	2	2	5	5	2	3	3	1	5	3	2	1	0	1	35
Zucker mit einer Carboxygruppe	Sialinsäure-BSA	0	0	3	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	6
	Glucuronsäure-BSA	2	2	5	1	1	4	3	0	3	4	0	0	0	1	26
β -Xylosid	Xylose-BSA	5	5	6	6	6	5	6	0	6	6	6	5	2	70	
Gesamtbindungsindex		$\Sigma\Sigma^n = 43$	51	74	54	45	57	57	37	69	48	42	45	36	30	

[a] Erklärungen und Abkürzungen: $\Sigma^n = 6$ und 5 bedeutet stark; $\Sigma^n = 4$ und 3 bedeutet mittel; $\Sigma^n = 2$ und 1 bedeutet schwach; $\Sigma^n = 0$ bedeutet keine Anfärbung. GA = summiertes Zuckerindex; FA = fibrilläres Astrocytom; PA = pilocytisches Astrocytom; AA = anaplastisches Astrocytom; DO = differenziertes Oligodendrogliom; AO = anaplastisches Oligodendrogliom; GB = Glioblastom; GZ = Gangliogliom; DE = differenziertes Ependymom; ME = malignes Ependymom; M = meningotheliomatöses Meningiom; FM = fibroblastisches Meningiom; AM = angioblastisches Meningiom; SM = submalignes Meningiom; MM = malignes Meningiom. lac(Diaz.)-BSA = Lactose-Rinderserumalbumin (durch Diazotierung verknüpft); lac(Red.Am.)-BSA = Lactose-Rinderserumalbumin (durch reduktive Amierung verknüpft).

Tabelle 2. Bindung markierter (Neo)glycoproteine an menschliche Placenta [a, b].

Neoglyco-protein	lac	ASF	mel	man	fuc	mal
Zelltyp						
Decidua (8 Wochen)	-/+	++	+	+++	+	-
Syncytium (8 Wochen)	-/+	++++	+++	+++	++	+
Cytotrophoblast (8 Wochen)	-/+	++++	+++	+++	++	+
Makrophagen M [c] (8 Wochen) F [d]	-	+	+	++	+	-
Decidua (9 Monate)	-/+	+	++	++	+	+
Syncytium (9 Monate)	-/+	++	++	+++	-	+
Cytotrophoblast (9 Monate)	-/+	+	-/+	+	-	-
Makrophagen M (9 Monate) F	-/+	+++	-/+	++	+	++

[a] Alle markierten Neoglycoproteine sowie das β -galactosid-terminale Asialofetuin wurden 30 min bei Raumtemperatur in einer Konzentration von 10 μ g mL⁻¹ inkubiert (Ausnahme: melibiosyierte Albumin; 3 h, 100 μ g mL⁻¹). [b] Abkürzungen: lac = Lactose; ASF = Asialofetuin; mel = Melibiose; man = Mannose; fuc = Fucose; mal = Maltose. [c] M = maternal. [d] F = foetal.

guliert^[94] und differenziell von verschiedenen Zelltypen exprimiert werden^[84, 94]. Innerhalb einer Zellpopulation eines genetisch einheitlichen Zelltyps kann mit diesen Markern wie auch mit Neoglycoproteinen Heterogenität festgestellt werden, so an Gewebeschnitten^[83-87, 94] und an Tumorzellen in Kultur^[95, 96]. Diese Heterogenität – ein allgemeines Phänomen, das für verschiedene Parameter von Tumorzellen bestätigt ist^[97a] –, lässt sich durch gleichzeitige Anwendung unterschiedlicher Neoglycoproteine ausglei-

chen, deren Bindungssumme die gesamte Zellpopulation einschließt. Dieses Prinzip ist für eine genauere Charakterisierung der Zellen und für den Erfolg therapeutischer Ansätze ausschlaggebend.

Die erwähnten Messungen an Zellpopulationen führen uns zur zellbiologischen Verwendung der Neoglycoproteine; neben der Markierung durch Fluoreszenzfarbstoffe finden auch Chemotherapeutika Verwendung. Sie werden durch zuckervermittelte Bindung in die Zelle transportiert und dort durch intrazellulären proteolytischen Abbau des Trägerproteins freigesetzt. Danach entfalten sie ihre toxische Wirkung, die auf zellulärer Ebene gemessen werden kann. Die toxische Wirkung ist damit ein Maß für Transport und intrazelluläres Schicksal des Neoglycoproteins. Anders betrachtet versieht das glycosyierte Trägerprotein hier die Aufgabe eines „trojanischen Pferdes“, das Chemotherapeutika in die Zelle einschleust. Die Richtung wird also von der Zuckerkomponente des Konjugats festgelegt – das Pharmakon ist austauschbar. Unter Verwendung von Substanzen, die selber eine gewisse Wirkungsweise bevorzugen, wie am Beispiel von Aminosäureanaloga und Amnoacyl-tRNA-Synthetasen als Zielenzyme gezeigt^[97b], ließe sich die Effizienz geeigneter Konjugate weiter verbessern. Die Voraussetzung für eine Wirkung – die selektive Aufnahme von Neoglycoprotein-Toxin-Konjugaten durch endogene Zuckerrezeptoren –, konnte für eine Reihe von tierischen und menschlichen Tumorzellen gesichert werden^[98-102]. Neoglycoproteine sind vorteilhaftere „trojanische Pferde“ als Antikörper, weil sie ohne Einfluß auf ihre Trägereigenschaften mit größeren Anteilen an Chemotherapeutika beladen werden können. Therapeutisch wichtig ist auch, daß in dieser Form der Verabreichung synergistische Eigenschaften von Chemotherapeutika gewahrt bleiben. Tabelle 3 zeigt Beispiele: Die simultane Anwendung von malotsyliertem oder mannosyliertem Serumalbumin,

Tabelle 3. Inhibition des [³H]Thymidin-Einbaus in menschliche Embryonalcarzinomzellen durch Neoglycoproteinkonjugate als Träger von *cis*-Diamminplatin(II)-chlorid oder Etoposid (als Hemisuccinat) als Modell für die Kombinationschemotherapie.

Substanz	Konzentration [μ g mL ⁻¹]	Inhibition [%]
<i>(cis</i> -Pt)-mal-BSA	1.25	1
	2.5	4
	5.0	6.5
<i>(cis</i> -Pt)-man-BSA	1.25	2
	2.5	3
	5.0	5
Etoposid-lac-BSA	7.5	8
	15	19
	30	27
<i>(cis</i> -Pt)-mal-BSA + Etoposid-lac-BSA	1.25 + 7.5	28
	2.5 + 15	43
<i>(cis</i> -Pt)-man-BSA + Etoposid-lac-BSA	1.25 + 7.5	22
	2.5 + 15	35

das mit *cis*-Diamminplatin(II)-chlorid komplexiert ist, und lactosyliertem Serumalbumin, das mit dem Hemisuccinat des Phytotoxins Etoposid gekuppelt ist, führt zu einer stärkeren Wirkung, als sie aufgrund der Wirkung bei getrennter Anwendung zu erwarten ist.

Zudem ist die Wirkstoffaufnahme schon bei dieser vergleichsweise geringen Komplexität der Zuckerstruktur deutlich höher als beim unmodifizierten Trägerprotein^[98-102]. Neben der Kupplung an ein Trägerprotein, durch das die pharmakokinetischen Eigenschaften des Therapeutikums verbessert werden^[103], soll die optimierte Modifizierung des Zuckerteiles, der als eine Art Postleitzahl fungiert, die Zielgenauigkeit des Konjugats erhöhen. Die Verwendung des Begriffs Therapeutikon deutet an, daß sich die ans Ziel gebrachte Substanz nach Bedarf variieren läßt. Differenzierungsinduzierende Substanzen wie Retinoid^[104] oder photoaktivierbare Farbstoffe wie Hämatozoporphyrin^[105] können konventionelle Chemotherapeutika ersetzen. Voraussetzung für die klinische Umsetzung, die nicht auf lokale Anwendung begrenzt bleiben soll, ist jedoch, daß das Verteilungsmuster der Neoglycoproteine im Organismus eingehender untersucht wird; die Messungen

befinden sich erst im Anfangsstadium^[106] (Tabelle 4). Auf diese Weise könnte die Beteiligung von Zuckern das Methodenarsenal für „drug targeting“ bereichern^[107, 108]. Natürlich ist diese Anwendung nicht auf Tumorzellen beschränkt, sondern für jeden Zelltyp und weitere Trägersysteme wie Liposomen tauglich^[109-112].

Aus diesen Anwendungen folgt, daß Neoglycoproteine, die nur als Sonden für Zuckerrezeptoren eingesetzt wurden, sich als diagnostische und therapeutische Werkzeuge sui generis eignen. Diese Anwendungen bestätigen auch, daß die eingehende molekulare Analyse der Rezeptoren erfolgversprechend ist, zumal des weiteren funktionell orientierte Messungen wie Einfluß von Zuckern auf Zellaggregationen oder Adhäsion von Zellen an zuckerexpandernde Trägermaterialien die molekulare Präsenz von Zuckerrezeptoren und ihre wichtige Funktion nachdrücklich unterstreichen^[113-115].

5. Biochemische Tumorlectinologie

Konventionelle Affinitätschromatographie an geeigneten Trägern und Affinitätsliganden, deren Typ wesentlichen Einfluß auf die Ausbeute an isoliertem Lectin hat^[116], ermöglicht die Reinigung endogener Lectine in relativ wenigen Prozeßschritten. Diese Analysen bekräftigen in vollem Umfang den Schluß, der aus der tumororientierten Anwendung der Neoglycoproteine gezogen werden konnte. Zudem erlauben sie – aufgrund des erwiesenen Lectincharakters der isolierten Proteine – von endogenen Tumorelectinen zu sprechen. Das Muster solcher endogenen Lectine aus unterschiedlichen Tumoren weist für Zuckerspezifitäten, wie sie einigen Bestandteilen von Glycokonjugaten entsprechen, erhebliche qualitative Unterschiede auf^[117-121]. Diese Sachlage ist in Tabelle 5 für menschliche Tumoren unterschiedlicher Histogenese exemplarisch aufgeführt. Das hier einbezogene Analysenresultat von Knochenmark weist auf Unterschiede der Tumorzellen gegenüber einem Gemisch von nicht-malignen Zellen hin. Qualitative Unterschiede lassen sich auch innerhalb einer Tumorklasse mit teilweise ähnlicher Histogenese auffinden^[122-124] sowie in Tumoren gleicher Histogenese, die sich

Tabelle 4. Bioverteilung der [¹²⁵I]Neoglycoproteine in Ehrlichttumor-tragenden Mäusen nach 48 Stunden [% injizierte Dosis pro g Gewebe] [a].

Gewebetyp	Blut	Leber	Niere	Milz	Herz	Lunge	Speichel	Muskel	Tumor
Zucker									
Lactose	0.061 ± 0.008	0.278 ± 0.042	0.078 ± 0.012	0.073 ± 0.010	0.030 ± 0.003	0.040 ± 0.005	0.112 ± 0.038	0.010 ± 0.001	0.025 ± 0.004
β-D-Galactose	0.047 ± 0.017	0.159 ± 0.032	0.065 ± 0.008	0.037 ± 0.006	0.018 ± 0.003	0.036 ± 0.011	0.174 ± 0.030	0.024 ± 0.008	0.037 ± 0.007
Melibiose	0.037 ± 0.005	0.218 ± 0.022	0.064 ± 0.011	0.057 ± 0.017	0.025 ± 0.009	0.031 ± 0.005	0.292 ± 0.062	0.011 ± 0.002	0.038 ± 0.012
α-D-Galactose	0.053 ± 0.012	0.320 ± 0.040	0.139 ± 0.032	0.089 ± 0.007	0.027 ± 0.009	0.113 ± 0.016	0.319 ± 0.050	0.036 ± 0.012	0.038 ± 0.004
N-Acetylglucosamin	0.043 ± 0.006	0.264 ± 0.017	0.090 ± 0.010	0.105 ± 0.019	0.082 ± 0.008	0.094 ± 0.024	0.190 ± 0.003	0.049 ± 0.001	0.058 ± 0.004
N-Acetylgalactosamin	0.053 ± 0.013	0.185 ± 0.020	0.109 ± 0.020	0.062 ± 0.012	0.067 ± 0.030	0.073 ± 0.001	0.198 ± 0.075	0.008 ± 0.002	0.036 ± 0.005
L-Fucose	0.053 ± 0.008	0.491 ± 0.083	0.147 ± 0.010	0.123 ± 0.032	0.033 ± 0.008	0.069 ± 0.012	0.268 ± 0.046	0.014 ± 0.002	0.045 ± 0.014
D-Mannose	0.074 ± 0.008	0.455 ± 0.073	0.166 ± 0.026	0.202 ± 0.020	0.043 ± 0.012	0.142 ± 0.079	0.384 ± 0.072	0.011 ± 0.002	0.056 ± 0.009
L-Rhamnose	0.064 ± 0.008	0.349 ± 0.037	0.129 ± 0.012	0.143 ± 0.037	0.042 ± 0.009	0.132 ± 0.012	0.343 ± 0.084	0.023 ± 0.005	0.043 ± 0.004
Cellobiose	0.079 ± 0.027	0.720 ± 0.199	0.140 ± 0.033	0.122 ± 0.040	0.050 ± 0.017	0.070 ± 0.043	0.181 ± 0.022	0.014 ± 0.007	0.074 ± 0.040
β-D-Glucose	0.064 ± 0.008	0.313 ± 0.060	0.154 ± 0.036	0.067 ± 0.012	0.147 ± 0.100	0.058 ± 0.013	0.313 ± 0.062	0.064 ± 0.017	0.048 ± 0.006
Mannose-6-phosphat	0.043 ± 0.010	0.548 ± 0.049	0.161 ± 0.018	0.131 ± 0.026	0.047 ± 0.004	0.052 ± 0.009	0.236 ± 0.061	0.019 ± 0.009	0.040 ± 0.006
Galactose-6-phosphat	0.047 ± 0.007	0.533 ± 0.062	0.183 ± 0.034	0.228 ± 0.029	0.021 ± 0.060	0.062 ± 0.012	0.220 ± 0.022	0.012 ± 0.003	0.050 ± 0.006
Sialinsäure	0.050 ± 0.013	0.703 ± 0.101	0.203 ± 0.037	0.176 ± 0.048	0.043 ± 0.005	0.054 ± 0.006	0.215 ± 0.069	0.015 ± 0.001	0.038 ± 0.004
Glucuronsäure	0.045 ± 0.012	0.389 ± 0.049	0.127 ± 0.010	0.131 ± 0.018	0.139 ± 0.009	0.105 ± 0.063	0.254 ± 0.013	0.023 ± 0.008	0.065 ± 0.009
D-Xylose	0.045 ± 0.004	0.262 ± 0.022	0.178 ± 0.012	0.14 ± 0.016	0.348 ± 0.029	0.326 ± 0.061	0.534 ± 0.153	0.052 ± 0.015	0.14 ± 0.020
BSA	0.469 ± 0.023	0.127 ± 0.016	0.161 ± 0.023	0.086 ± 0.009	0.111 ± 0.018	0.200 ± 0.031	0.359 ± 0.067	0.053 ± 0.014	0.277 ± 0.065

[a] Jeder Wert gibt den Mittelwert ± Standardabweichung von vier Tieren nach Injektion von 7 μ g pro Tier (= 37 kBq) an.

Tabelle 5. Muster endogener Lectine aus drei Tumortypen menschlichen Ursprungs und Knochenmark. Durch Wahl der Extraktions- und Elutionsbedingungen werden die Lectine aufgeteilt: Salz-extrahierbare (1. Reihe, „Salz“) und somit lösliche intra- und extrazelluläre Lectine oder Detergens-extrahierbare (2. Reihe, „Det.“) und somit membranintegrierte Lectine sowie Ca^{2+} -abhängige Lectine (Elution durch EDTA) oder Ca^{2+} -unabhängige Lectine (Elution durch Zucker).

Tumortyp	Extraktion durch	Elution durch EDTA					Elution durch Zucker				
		Lactose	Asialofetuin	Melibiose	Mannan	Fucose	Lactose	Asialofetuin	Melibiose	Mannan	Fucose
		Molekulargewicht [a]					Molekulargewicht [a]				
Ewing-sarkom	Salz	31, 29	31, 29	—	31, 29	—	58, 54, 31, 29, 14	54	58, 54, 31, 29	—	—
	Det.	—	—	—	—	—	14	—	—	—	—
Embryonal- carcinom	Salz	31	31	31	31	70, 31	35, 14	—	—	—	—
	Det.	31	31	31	31	31	35, 14	—	—	68	—
Colon- carcinom	Salz	29	29	45, 43, 29, 28	31	62	64, 14	—	64	—	—
	Det.	70, 35, 29	29	—	31	70, 62	64, 35, 16, 14	—	64	—	62
Knochen- mark	Salz	29	29	54, 29, 28	29	110, 54, 26	54, 29, 14	—	54, 31, 29	—	60, 54, 50, 29
	Det.	29	29	29	29	—	14	—	—	—	—

[a] Das relative Molekulargewicht ist in Einheiten von Tausend angegeben.

im Differenzierungsgrad unterscheiden^[125]. Dies gilt fernherin für kultivierte Tumortypen identischen genetischen Ursprungs mit Differenzen in der zellulären Morphologie und im Wachstumsverhalten^[126].

Das Lectinmuster von Tumoren steht demnach in phänotypologischer Verbindung zur Histogenese und zum Zellcharakter, ohne daß jedoch hieraus beim jetzigen Kenntnisstand zwingend auf eine Kausalbeziehung geschlossen werden darf. Die Lectine können in drei Klassen eingeteilt werden. So gibt es endogene Lectine, die in Tumor- und verschiedenen Normalgewebstypen exprimiert werden. Weitere Lectine findet man in Tumoren und in sich entwickelndem Gewebe, aber nicht in adultem Gewebe, was operational als onkofoetale Expression definiert wird. In der dritten Klasse werden die Lectine zusammengefaßt, die sich nicht in die anderen Klassen einordnen lassen, weil wir noch nicht über einen vollständigen Katalog der Lectinexpression in Normalgewebstypen unterschiedlicher Entwicklungsstadien verfügen^[124].

Als embryonales Gewebe humanen Ursprungs bietet sich die Placenta an, deren unterschiedliche Zelltypen entwicklungsabhängige Regulation in der Zuckerrezeptorexpression zeigen. Diese Musteränderungen auf histochemischer Ebene werden auf biochemischer Ebene deutlich widergespiegelt, auch wenn sich die Analyse auf das Gesamtorgan beschränkt^[127]. Da sich das Wachstumsverhalten der proliferierenden Placenta mit dem invasiven Wachstum von Tumoren vergleichen läßt, kann von solchen strukturellen Analysen ausgehend der Weg zur Korrelation mit Funktionen beginnen.

Die Arbeit mit Tumoren schließt den systemimmanenten Einwand ein, daß auch nicht-maligne Zellen, die im Tumorgewebe vorkommen, trotz sorgfältiger Gewebepräparation zum Analysenergebnis beitragen. Diesem Einwand wird durch immunhistochemische Untersuchungen mit Antikörpern gegen endogene Lectine^[128-130] oder durch Arbeit mit Tumortypen begegnet. Bei Verwendung von Linien muß jedoch beachtet werden, daß die Lectinexpression von den Kultivierungs- und Wachstumsbedingungen abhängen kann^[131]. Ferner entsprechen Linien aus Primärtumoren Zellpopulationen, die in Hinblick auf Adaptation an die Kulturbedingungen selektiert werden. Auch wenn sie damit nicht unbedingt für den Primärtumor repräsentativ sind, bilden sie dennoch wichtige zellbiologische Modellsysteme.

Eine klinisch herausragende Tumoreigenschaft, die Metastasierung und ihre Organotropie, wird durch solche Modellsysteme experimentell für funktionelle Studien zugänglich^[132-134]. Organotropie bedeutet in diesem Zusammenhang, daß Zellen eines bestimmten Primärtumortyps sich präferentiell in einzelnen Geweben ansiedeln und Tochtergeschwülste bilden. In Modellsystemen von Zellen des gleichen genetischen Ursprungs, die durch das Auftreten von Subpopulationen unterschiedlicher metastatischer Kapazität gekennzeichnet sind, weisen die endogenen Lectine unterschiedliche Muster auf, die sich mit dieser Eigenschaft korrelieren lassen^[135-137]. Einzelne Lectine scheinen zudem schon funktionell Teilschritte der metastatischen Kaskade zugeordnet werden zu können^[138, 139]. Da endogene Lectine an der Wachstumsregulation beteiligt sein können^[140-142], bedeuten Lectinexpression und damit vermittelte Lectin-Glycokonjugat-Interaktionen auch positiven Einfluß auf das Tumorwachstum. Solche Interaktionen können aber auch zur Erkennung und Zerstörung der Tumorzellen durch Zellen des immunologischen Abwehrsystems führen^[124]. Dieser Verweis auf nicht-maligne Zellen macht deutlich, daß auch endogene Lectine der Normalzellen, mit denen eine Tumorzelle von der Ablösung aus dem Zellverband bis zur Ansiedlung in Zielorganen in Kontakt treten kann, zur Interaktion befähigt sind. Diese Lectine können zur Bildung der Organotropie der Metastasierung beitragen^[143, 144]. Die Erkennung von Zellen im Zuckercodesystem bedeutet immer zweiseitige Erkennungsmöglichkeit.

Erweitert man dieses Konzept, indem man die Tumorzelle vereinfacht als Normalzelle betrachtet, die ihre Wachstumskontrolle verloren und parasitären Charakter erlangt hat^[145], so findet man für Viren, Bakterien und Parasiten ähnliche Ansiedlungsmechanismen^[146-148]. Damit ist der Weg zu einer lectinbezogenen antimetastatischen und antiparasitären Therapieform vorgezeichnet.

6. Computer als „Spürhunde“ für Lectinfunktion und Lectine

Lectine als Proteine sollten in ihrer physiologischen Bedeutung nicht nur auf ihre Zuckerbindung und die dadurch bedingte Funktion reduziert werden. Neben einer solchen Domäne, die das Protein operational als Lectin definieren kann, könnte die biologische Gesamtfunktion

des jeweiligen Proteins auch durch andere funktionelle Domänen mitbestimmt werden. Das Aufspüren solcher distinkten Domänen wird durch Computerprogramme erleichtert und ist dann der experimentellen Prüfung gezielt zugänglich, wie am Beispiel weiterer funktioneller Domänen im Schleimpilzlectin Discoidin I^[149, 150], in einem Mannose-bindenden Protein^[151] und im Mannose-6-phosphat-Rezeptor^[152] gezeigt wurde.

Auch Proteine, die historisch über andere Domänen und damit Eigenschaften gekennzeichnet wurden, könnten durchaus nominell den Lectinen zugeordnet werden, z. B. Fibronectin^[153], Laminin^[154], Thrombospondin^[155] oder das neuronale Zelladhäsionsmolekül NCAM^[156]. Die Suche nach zuckerbindenden Domänen in weiteren Proteinen, deren Funktionsfähigkeit dann folgerichtig experimentell geprüft werden kann, wird ebenfalls durch Computerprogramme erleichtert. Homologieanalysen mit bekannten Sequenzen von Lectinen liefern ein erstes, theoretisch erschlossenes Indiz für Gemeinsamkeiten in bestimmten Sequenzabschnitten zwischen Lectinen und durch andere Domänen definierten Proteinen. Solche gemeinsamen Segmente werden für endogene Lectine und den IgE-Rezeptor von Lymphozyten^[157, 158] sowie das Trägerprotein von Chondroitinsulfat im Knorpel postu-

liert^[159, 160]. Anhand der Inhibition durch Saccharide im Proliferationsassay hämatopoietischer Stammzellen, der auf der positiven Wirkung von koloniestimulierenden Faktoren basiert, lässt sich eine solche Homologieanalyse zwischen Sequenzen dieser Faktoren und Lectinen auf Lectine eingrenzen, deren Spezifität potenzen Inhibitoren entspricht^[161]. Sie ergibt auf der Ebene von Hexapeptiden eine signifikante Homologieausprägung (Abb. 5). Da jedoch die Zuckerbindungsstelle in endogenen Lectinen nicht ausreichend definiert ist, weil röntgenstrukturanalytische Daten fehlen, und die Zuckerbindungsstelle zudem aus Peptidstücken bestehen kann, die in der Sequenz nicht zusammenhängen^[162], sind solche Analysenergebnisse keineswegs zwingend. Weitere Aufschlüsse über die Natur der Zuckerbindungsstelle, so durch Affinitätsmarkierung mit photoaktivierbaren Zuckeraliganden^[163, 164], können helfen, die Suche nach Sequenzhomologien auf die als relevant befundenen Strukturelemente zu konzentrieren. Zufällige Homologiefluktuationen in anderen Bereichen der Gesamtsequenz können mithin ausgesiegt werden. Infolgedessen dürften Computeranalysen zunehmend wichtiger werden, wenn es darum geht, die Strukturen von Zuckerrezeptoren als Voraussetzung einer funktionellen Analyse zu ermitteln.

A

HB P	I I V T R P W K H V E A I K E A L N L L D D M P V T L N E E V E V V S N E F S P K K L T C V Q T R L K I F E Q G L R G
GAL C H	I I V T R P W K H V E A I K E A L N L L D D M P V T L N E E V E V V S N E F S P K K L T C V Q T R L K I F E Q G L R G
GAL H U	I I V T R P W K H V E A I K E A L N L L D D M P V T L N E E V E V V S N E F S P K K L T C V Q T R L K I F E Q G L R G
GAL B O	I I V T R P W K H V E A I K E A L N L L D D M P V T L N E E V E V V S N E F S P K K L T C V Q T R L K I F E Q G L R G
F L Y L E C	I I V T R P W K H V E A I K E A L N L L D D M P V T L N E E V E V V S N E F S P K K L T C V Q T R L K I F E Q G L R G
R I C I N B	I I V T R P W K H V E A I K E A L N L L D D M P V T L N E E V E V V S N E F S P K K L T C V Q T R L K I F E Q G L R G
D I S C O I	I I V T R P W K H V E A I K E A L N L L D D M P V T L N E E V E V V S N E F S P K K L T C V Q T R L K I F E Q G L R G
P N A	I I V T R P W K H V E A I K E A L N L L D D M P V T L N E E V E V V S N E F S P K K L T C V Q T R L K I F E Q G L R G
M A N R A T	I I V T R P W K H V E A I K E A L N L L D D M P V T L N E E V E V V S N E F S P K K L T C V Q T R L K I F E Q G L R G

N F T K L K G A L N M T A S Y Y Q T Y C P P T P E T D C E T Q V T T Y A D F I D S L K T F L T D I P F E C K K P S Q K
N F T K L K G A L N M T A S Y Y Q T Y C P P T P E T D C E T Q V T T Y A D F I D S L K T F L T D I P F E C K K P S Q K
N F T K L K G A L N M T A S Y Y Q T Y C P P T P E T D C E T Q V T T Y A D F I D S L K T F L T D I P F E C K K P S Q K
N F T K L K G A L N M T A S Y Y Q T Y C P P T P E T D C E T Q V T T Y A D F I D S L K T F L T D I P F E C K K P S Q K
N F T K L K G A L N M T A S Y Y Q T Y C P P T P E T D C E T Q V T T Y A D F I D S L K T F L T D I P F E C K K P S Q K
N F T K L K G A L N M T A S Y Y Q T Y C P P T P E T D C E T Q V T T Y A D F I D S L K T F L T D I P F E C K K P S Q K
N F T K L K G A L N M T A S Y Y Q T Y C P P T P E T D C E T Q V T T Y A D F I D S L K T F L T D I P F E C K K P S Q K
N F T K L K G A L N M T A S Y Y Q T Y C P P T P E T D C E T Q V T T Y A D F I D S L K T F L T D I P F E C K K P S Q K

B

H B P	D T H R L T R T L N C S S I V K E I I G K L P E P E L K T D D E C P S L R N K S P R R V N L S K F V E S Q G E V D P E D R Y V I K S N
G A L C H	D T H R L T R T L N C S S I V K E I I G K L P E P E L K T D D E C P S L R N K S P R R V N L S K F V E S Q G E V D P E D R Y V I K S N
G A L H U	D T H R L T R T L N C S S I V K E I I G K L P E P E L K T D D E C P S L R N K S P R R V N L S K F V E S Q G E V D P E D R Y V I K S N
G A L B O	D T H R L T R T L N C S S I V K E I I G K L P E P E L K T D D E C P S L R N K S P R R V N L S K F V E S Q G E V D P E D R Y V I K S N
F L Y L E C	D T H R L T R T L N C S S I V K E I I G K L P E P E L K T D D E C P S L R N K S P R R V N L S K F V E S Q G E V D P E D R Y V I K S N
R I C I N B	D T H R L T R T L N C S S I V K E I I G K L P E P E L K T D D E C P S L R N K S P R R V N L S K F V E S Q G E V D P E D R Y V I K S N
D I S C O I	D T H R L T R T L N C S S I V K E I I G K L P E P E L K T D D E C P S L R N K S P R R V N L S K F V E S Q G E V D P E D R Y V I K S N
P N A	D T H R L T R T L N C S S I V K E I I G K L P E P E L K T D D E C P S L R N K S P R R V N L S K F V E S Q G E V D P E D R Y V I K S N
M A N R A T	D T H R L T R T L N C S S I V K E I I G K L P E P E L K T D D E C P S L R N K S P R R V N L S K F V E S Q G E V D P E D R Y V I K S N

L Q K L N C C L P T S A N D S A L P G V F I R D L D D F R K K L R F Y M V H L N D L E T V L T S R P P Q A S G S V S P N R G T V E C
L Q K L N C C L P T S A N D S A L P G V F I R D L D D F R K K L R F Y M V H L N D L E T V L T S R P P Q A S G S V S P N R G T V E C
L Q K L N C C L P T S A N D S A L P G V F I R D L D D F R K K L R F Y M V H L N D L E T V L T S R P P Q A S G S V S P N R G T V E C
L Q K L N C C L P T S A N D S A L P G V F I R D L D D F R K K L R F Y M V H L N D L E T V L T S R P P Q A S G S V S P N R G T V E C
L Q K L N C C L P T S A N D S A L P G V F I R D L D D F R K K L R F Y M V H L N D L E T V L T S R P P Q A S G S V S P N R G T V E C
L Q K L N C C L P T S A N D S A L P G V F I R D L D D F R K K L R F Y M V H L N D L E T V L T S R P P Q A S G S V S P N R G T V E C
L Q K L N C C L P T S A N D S A L P G V F I R D L D D F R K K L R F Y M V H L N D L E T V L T S R P P Q A S G S V S P N R G T V E C
L Q K L N C C L P T S A N D S A L P G V F I R D L D D F R K K L R F Y M V H L N D L E T V L T S R P P Q A S G S V S P N R G T V E C

Abb. 5. Sequenzhomologien von Granulocyten/Makrophagen-koloniestimulierendem Faktor (A) und multipotentalem koloniestimulierendem Faktor (B) mit neun Lectinen (links, Abkürzungen siehe unten). Dargestellt (und jeweils neunfach wiederholt) ist die Sequenz der koloniestimulierenden Faktoren (A und B). Jede dieser Sequenzen wurde mit einem Computerprogramm mit der (nicht abgebildeten) Sequenz jedes der neun Lectine verglichen. Die eingerahmten Teilsequenzen der Faktoren sind mit Teilsequenzen der Lectine signifikant homolog. Diese Teilsequenzen der Lectine können sich an beliebigen Stellen des Moleküls befinden. Bei einigen Lectinen wurde keine derartige Homologie gefunden. – Bemerkenswert ist die unterschiedliche Verteilung der Homologiebereiche in den beiden Faktoren. Abkürzungen: HBP: hepatisches β -galactosidspezifisches Bindungsprotein aus der Ratte; GALCH: β -galactosidspezifisches Lectin aus dem Huhn; GALHU: menschliches β -galactosidspezifisches Lectin; GALBO, FLYLEC, RICIN B, DISCOI, PNA: β -galactosidspezifische Lectine aus dem Rind, aus der Fliege, aus *Ricinus communis*, aus dem Schleimpilz *Dictyostelium discoideum*, aus der Erdnuß; MANRAT: mannospezifisches Lectin aus der Ratte.

7. Perspektiven

Gibt es ein Zuckercodesystem der biologischen Erkennung mit Beteiligung endogener Lectine? Aus dieser Frage ergeben sich grundlegende Ansätze, die für die nun hundertjährige Lectinforschung von hoher Brisanz sind. Dieser Fragenkomplex schließt die Klärung der genauen Struktur von Rezeptor-Ligand-Paaren in diesem System der biologischen Erkennung ein, und zwar auf der chemischen und biochemischen Ebene, sowie die Klärung ihrer zellulären Lokalisation und Regulation auf der zellbiologischen Ebene. Bei entsprechenden Untersuchungen am Modellsystem der Tumoren können auch Ansätze einer klinischen Nutzung der Lectine für Tumordiagnostik und -therapie geprüft werden. Ein vertieftes Verständnis der sich andeutenden Beteiligung der Zucker-Protein(Lectin)-Interaktion an der Wachstumsregulation oder auch an der Immunregulation – wie erste Daten für Stimulation der Freisetzung von Cytokinen belegen^[165] –, kann zu bereichernden Anwendungsformen in der onkologischen Praxis führen. Die Notwendigkeit vertrauensvoller interdisziplinärer Forschung bedeutet Herausforderung und Reiz zugleich in diesem Gebiet im Schnittpunkt von Zuckerchemie, Biochemie, Zellbiologie und Onkologie.

Frau U. Rust danke ich für die verständige Umsicht und große Geduld bei der Reinschrift des Manuskripts. Der Dr.-Mildred-Scheel-Stiftung für Krebsforschung bin ich für die finanzielle Unterstützung der Arbeit meiner Gruppe zu Dank verpflichtet.

Eingegangen am 26. Februar 1988 [A 690]

- [1] H. Stillmark in R. Kobert (Hrsg.): *Arbeiten des Pharmakologischen Institutes zu Dorpat*, Bd. 3, Encke, Stuttgart 1889, S. 57ff.
- [2] P. Ehrlich, *Dtsch. Med. Wochenschr.* 17 (1891) 976.
- [3] P. Ehrlich, *Dtsch. Med. Wochenschr.* 17 (1891) 1218.
- [4] a) I. E. Liener, N. Sharon, I. J. Goldstein (Hrsg.): *The Lectins: Properties, Functions, and Applications in Biology and Medicine*, Academic Press, New York 1986; b) J. Kocourek in [4a], S. 1ff.
- [5] N. Sharon, H. Lis, *Trends Biochem. Sci.* 12 (1987) 488.
- [6] J. B. Sumner, S. F. Howell, *J. Bacteriol.* 32 (1936) 227.
- [7] K. O. Renkonen, *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.* 26 (1948) 66.
- [8] W. C. Boyd, R. M. Reguera, *J. Immunol.* 62 (1949) 333.
- [9] W. C. Boyd, E. Shapleigh, *Science (Washington)* 119 (1954) 419.
- [10] E. R. Gold, C. F. Phelps, *Z. Immunitätsforsch. Exp. Klin. Immunol.* 143 (1972) 430.
- [11] I. J. Goldstein, R. C. Hughes, M. Monsigny, T. Osawa, N. Sharon, *Nature (London)* 285 (1980) 66.
- [12] G. Ashwell, J. Harford, *Annu. Rev. Biochem.* 51 (1982) 531.
- [13] S. H. Barondes, *Science (Washington)* 223 (1984) 1259.
- [14] J. Montreuil, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 37 (1980) 157.
- [15] S. I. Hakomori, *Annu. Rev. Biochem.* 50 (1981) 733.
- [16] E. G. Berger, E. Buddecke, J. P. Kamerling, A. Kobata, J. C. Paulson, J. F. G. Vliegenthart, *Experientia* 38 (1982) 1129.
- [17] M. W. C. Hatton, L. März, E. Regoeczi, *Trends Biochem. Sci.* 8 (1983) 287.
- [18] N. Sharon, *Trends Biochem. Sci.* 9 (1984) 198.
- [19] R. Kornfeld, S. Kornfeld, *Annu. Rev. Biochem.* 54 (1985) 631.
- [20] J. F. G. Vliegenthart, L. Dorland, H. van Halbeek, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 41 (1983) 209.
- [21] R. Schauer, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 40 (1982) 131.
- [22] K. von Figura, A. Hasilik, *Annu. Rev. Biochem.* 55 (1986) 167.
- [23] G. Horton, E. D. Green, J. U. Baenzinger, A. W. Strauss, *Biochem. J.* 235 (1986) 407.
- [24] S. Kornfeld, *FASEB J.* 1 (1987) 462.
- [25] J. R. Brisson, J. P. Carver, *Can. J. Biochem. Cell Biol.* 61 (1983) 1067.
- [26] S. W. Homans, R. A. Dwek, T. W. Rademacher, *Biochemistry* 26 (1987) 6571.
- [27] K. Olden, J. B. Parent, S. L. White, *Biochim. Biophys. Acta* 650 (1982) 209.
- [28] J. D. Aplin, R. C. Hughes, *Biochim. Biophys. Acta* 694 (1982) 375.
- [29] G. M. W. Cook, *J. Cell Sci. Suppl.* 4 (1986) 45.
- [30] B. K. Brandley, R. L. Schnaar, *J. Leukocyte Biol.* 40 (1986) 97.
- [31] H. J. Gabius, *IN VIVO I* (1987) 75.
- [32] L. A. Fransson, B. Havemark, J. K. Sheehan, *J. Biol. Chem.* 256 (1981) 13039.
- [33] G. N. Misevic, J. Finne, M. M. Burger, *J. Biol. Chem.* 262 (1987) 5870.
- [34] E. G. Bremer, S. I. Hakomori, D. F. Bowen-Pope, E. Raines, R. Ross, *J. Biol. Chem.* 259 (1984) 6818.
- [35] D. A. Cheresh, R. Pytela, M. D. Pierschbacher, F. G. Klier, E. Ruoslahti, R. A. Reisfeld, *J. Cell Biol.* 105 (1987) 1163.
- [36] T. Feizi, R. A. Childs, *Biochem. J.* 245 (1987) 1.
- [37] P. L. Stern, *Br. Med. Bull.* 40 (1984) 218.
- [38] S. I. Hakomori, *Cancer Res.* 45 (1985) 2405.
- [39] T. Feizi, *Nature (London)* 314 (1985) 53.
- [40] T. Muramatsu, *J. Cell Biochem.* 36 (1988) 1.
- [41] V. Künemund, F. B. Jungwala, G. Fischer, D. K. H. Chou, G. Keilhauer, M. Schachner, *J. Cell Biol.* 106 (1988) 213.
- [42] R. H. Yolken, R. Willoughby, S. B. Wee, R. Miskuff, S. Vonderfecht, *J. Clin. Invest.* 79 (1987) 148.
- [43] B. Kalvelage, G. Koch, *Eur. J. Cell Biol.* 28 (1982) 238.
- [44] A. G. Darvill, P. Albersheim, *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35 (1984) 243.
- [45] R. J. Wieser, F. Oesch, *J. Cell Biol.* 103 (1986) 361.
- [46] J. M. Bird, S. J. Kimber, *Dev. Biol.* 104 (1984) 449.
- [47] B. A. Fenderson, U. Zahavi, S. I. Hakomori, *J. Exp. Med.* 160 (1984) 1591.
- [48] S. Rastan, S. J. Thorpe, P. Scudder, S. Brown, H. C. Gooi, T. Feizi, *J. Embryol. Exp. Morphol.* 87 (1985) 115.
- [49] G. V. Avvakumov, O. A. Strelchyonok, *Biochim. Biophys. Acta* 938 (1988) 1.
- [50] F. O. Calvo, R. J. Ryan, *Biochemistry* 24 (1985) 1953.
- [51] P. Stanley, *Trends Genet.* 3 (1987) 77.
- [52] H. Debray, D. Decout, G. Strecker, G. Spik, J. Montreuil, *Eur. J. Biochem.* 117 (1981) 41.
- [53] J. T. Gallagher, *Biosci. Rep.* 4 (1984) 621.
- [54] I. J. Goldstein, R. D. Poretz in [4a], S. 33ff.
- [55] E. Köttgen, *Klin. Wochenschr.* 55 (1977) 359.
- [56] R. Lotan, G. L. Nicolson, *Biochim. Biophys. Acta* 559 (1979) 329.
- [57] J. P. McCoy, *BioTechniques* 4 (1986) 252.
- [58] H. Lis, N. Sharon, *Annu. Rev. Biochem.* 55 (1986) 35.
- [59] T. Osawa, T. Tsuji, *Annu. Rev. Biochem.* 56 (1987) 21.
- [60] H. J. Gabius, K. Vehmeyer, S. Gabius, G. A. Nagel, *Blut* 56 (1988) 147.
- [61] G. L. Nicolson, *Int. Rev. Cytol.* 39 (1974) 89.
- [62] P. L. Mann, C. M. Swartz, R. O. Kelley, *Mech. Ageing Dev.* 38 (1987) 219.
- [63] A. J. C. Leathem, N. J. Atkins in G. R. Bullock, P. Petrusz (Hrsg.): *Techniques in Immunocytochemistry*, Vol. 2, Academic Press, London 1983, S. 39ff.
- [64] I. Damjanov, *Lab. Invest.* 57 (1987) 5.
- [65] J. Caselitz, *Curr. Top. Pathol.* 77 (1987) 245.
- [66] H. Rüdiger, *BioScience* 34 (1984) 95.
- [67] M. E. Etzler, *Annu. Rev. Plant Physiol.* 36 (1985) 209.
- [68] Y. Endo, K. Tsurugi, *J. Biol. Chem.* 262 (1987) 8128.
- [69] G. Uhlenbrück, *Naturwissenschaften* 68 (1981) 606.
- [70] E. S. Vitetta, R. J. Fulton, R. D. May, M. Till, J. W. Uhr, *Science (Washington)* 238 (1987) 1098.
- [71] H. J. Gabius, S. Gabius, K. Vehmeyer, A. Schauer, G. A. Nagel, *Onkologie* 10 (1987) 184.
- [72] a) H. J. Gabius, G. A. Nagel (Hrsg.): *Lectins and Glycoconjugates in Oncology*, Springer, Berlin 1988, im Druck; b) H. J. Gabius, G. A. Nagel in [72a], S. 1ff.
- [73] K. Mann, R. Lamerz in H. J. Schmoll, H. D. Peters, O. Fink (Hrsg.): *Kompendium internistische Onkologie*, Springer, Berlin 1987, S. 473ff.
- [74] W. F. Goebel, O. T. Avery, *J. Exp. Med.* 50 (1929) 521.
- [75] J. J. Marshall, *Trends Biochem. Sci.* 3 (1978) 79.
- [76] C. P. Stowell, Y. C. Lee, *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 37 (1980) 225.
- [77] N. Iberg, R. Flückiger, *J. Biol. Chem.* 261 (1986) 13542.
- [78] S. P. Wolff, R. T. Dean, *Biochem. J.* 249 (1988) 618.
- [79] H. Paulsen, *Chem. Soc. Rev.* 13 (1984) 15.
- [80] H. Kunz, *Angew. Chem.* 99 (1987) 297; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 26 (1987) 294.
- [81] H. Towbin, G. Rosenfelder, J. Wieslander, J. L. Avila, M. Rojas, A. Szarfman, K. Esser, H. Nowack, R. Timpl, *J. Exp. Med.* 166 (1987) 419.
- [82] S. Kusunoki, J. E. Craft, B. Roach, J. A. Hardin, R. K. Yu, *Arch. Biochem. Biophys.* 255 (1987) 226.
- [83] H. J. Gabius, S. Bodanowitz, A. Schauer, *Cancer* 61 (1988) 1125.
- [84] K. Kayser, H. J. Gabius in [72a], S. 131ff.
- [85] K. Kayser, H. J. Gabius, T. Ciesolka, W. Ebert, S. Bach, unveröffentlicht.
- [86] A. Bardosi, T. Dimitri, H. J. Gabius, *Acta Neuropathol.* 76 (1988) 55.
- [87] A. Bardosi, T. Dimitri, H. J. Gabius in [72a], S. 143ff.

- [88] H. J. Gabius, R. Engelhardt, K. P. Hellmann, T. Hellmann, A. Ochsenfarth, *Anal. Biochem.* 165 (1987) 349.
- [89] M. J. Krantz, N. A. Holtzman, C. P. Stowell, Y. C. Lee, *Biochemistry* 15 (1976) 3963.
- [90] D. T. Connolly, R. R. Townsend, K. Kawaguchi, W. R. Bell, Y. C. Lee, *J. Biol. Chem.* 257 (1982) 939.
- [91] Y. C. Lee, R. R. Townsend, M. R. Hardy, J. Lönnergren, J. Arnarp, M. Haraldsson, H. Lönn, *J. Biol. Chem.* 258 (1983) 199.
- [92] R. Jozzo, *Lab. Invest.* 53 (1985) 373.
- [93] L. A. Fransson, I. Carlstedt, L. Cöster, A. Malmström, *Ciba Found. Symp.* 124 (1986) 125.
- [94] P. L. Debbage, W. Lange, T. Hellmann, H. J. Gabius, *J. Histochem. Cytochem.* (1988), im Druck.
- [95] C. Kieda, M. Monsigny, *Invasion Metastasis* 6 (1986) 347.
- [96] H. J. Gabius, K. P. Hellmann, C. Bokemeyer, M. Andreeff, unveröffentlicht.
- [97] a) E. N. Spremulli, D. L. Dexter, *J. Clin. Oncol.* 1 (1983) 496; b) F. von der Haar, H. J. Gabius, F. Cramer, *Angew. Chem.* 93 (1981) 250; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 20 (1981) 217.
- [98] M. Monsigny, A. C. Roche, P. Midoux, *Biol. Cell* 51 (1984) 187.
- [99] H. J. Gabius, K. Vehmeyer, *Naturwissenschaften* 74 (1987) 37.
- [100] H. J. Gabius, C. Bokemeyer, T. Hellmann, H. J. Schmoll, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 113 (1987) 126.
- [101] H. J. Gabius, R. Engelhardt, T. Hellmann, P. Midoux, M. Monsigny, G. A. Nagel, K. Vehmeyer, *Anticancer Res.* 7 (1987) 109.
- [102] H. J. Gabius, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 507 (1987) 337.
- [103] B. C. F. Chu, C. C. Fan, S. B. Howell, *J. Natl. Cancer Inst.* 66 (1981) 121.
- [104] S. M. Lippmann, J. F. Kessler, F. L. Meyskens, *Cancer Treat. Rep.* 71 (1987) 391.
- [105] T. J. Dougherty, *CRC Crit. Rev. Hematol./Oncol.* 2 (1984) 83.
- [106] S. Kojima, H. J. Gabius, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* im Druck.
- [107] M. J. Poznansky, R. L. Juliano, *Pharmacol. Rev.* 36 (1984) 277.
- [108] H. Sezaki, M. Hashida, *CRC Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Syst.* 1 (1987) 1.
- [109] M. R. Mauk, R. C. Gamble, J. D. Baldeschwieler, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77 (1980) 4430.
- [110] M. M. Ponpipom, R. L. Bugianesi, T. Y. Shen, *Can. J. Chem.* 58 (1980) 214.
- [111] J. L. Bodmer, R. T. Dean, *Methods Enzymol.* 112 (1985) 298.
- [112] A. C. Roche, P. Baily, M. Monsigny, *Invasion Metastasis* 5 (1985) 218.
- [113] M. Monsigny, C. Kieda, A. C. Roche, *Biol. Cell.* 47 (1983) 95.
- [114] R. L. Schnaar, *Anal. Biochem.* 143 (1984) 1.
- [115] H. J. Gabius, R. Engelhardt, F. Cramer, *Anticancer Res.* 6 (1986) 573.
- [116] H. J. Gabius, R. Engelhardt, *J. Chromatogr.* 391 (1987) 452.
- [117] H. J. Gabius, R. Engelhardt, S. Rehm, F. Cramer, *J. Natl. Cancer Inst.* 73 (1984) 1349.
- [118] H. J. Gabius, R. Engelhardt, F. Cramer, R. Bätge, G. A. Nagel, *Cancer Res.* 45 (1985) 253.
- [119] H. J. Gabius, R. Engelhardt, D. J. Sartoris, F. Cramer, *Cancer Lett.* 31 (1986) 139.
- [120] H. J. Gabius, R. Engelhardt, F. Cramer, *Carbohydr. Res.* 164 (1987) 33.
- [121] H. J. Gabius, R. Engelhardt, *Tumour Biol.* 9 (1988) 21.
- [122] H. J. Gabius, R. Engelhardt, J. Casper, D. Reile, S. Schumacher, H. J. Schmoll, G. Graupner, F. Cramer, *Tumour Biol.* 6 (1985) 145.
- [123] H. J. Gabius, R. Engelhardt, J. Casper, H. J. Schmoll, G. A. Nagel, F. Cramer, *Tumour Biol.* 6 (1985) 471.
- [124] H. J. Gabius, *Cancer Invest.* 5 (1987) 39.
- [125] H. J. Gabius, R. Engelhardt, S. Rehm, F. Deerberg, F. Cramer, *Tumour Biol.* 7 (1986) 71.
- [126] H. J. Gabius, K. Vehmeyer, R. Engelhardt, G. A. Nagel, F. Cramer, *Cell Tissue Res.* 241 (1985) 9.
- [127] H. J. Gabius, P. L. Debbage, R. Engelhardt, R. Osmers, W. Lange, *Eur. J. Cell Biol.* 44 (1987) 265.
- [128] H. J. Gabius, R. Brehler, A. Schauer, F. Cramer, *Virchows Arch. B: Cell Pathol.* 52 (1986) 107.
- [129] H. J. Gabius, R. Engelhardt, S. Rehm, S. H. Barondes, F. Cramer, *Cancer J. /* (1986) 19.
- [130] H. J. Allen, C. Karakousis, M. S. Piver, M. Gamarra, H. Nava, B. Forsyth, B. Matecki, A. Jazayeri, D. Sucato, E. Kisailus, R. DiCioccio, *Tumour Biol.* 8 (1987) 218.
- [131] H. J. Gabius, K. Vehmeyer, *Biochem. Cell Biol.*, im Druck.
- [132] G. L. Nicolson, *Biochim. Biophys. Acta* 695 (1982) 113.
- [133] V. Schirrmacher, *Adv. Cancer Res.* 43 (1985) 1.
- [134] L. Weiss, F. W. Orr, K. V. Honn, *FASEB J.* 2 (1988) 12.
- [135] H. J. Gabius, K. Vehmeyer, R. Engelhardt, G. A. Nagel, F. Cramer, *Cell Tissue Res.* 246 (1986) 515.
- [136] A. Raz, L. Meromsky, I. Zvibel, R. Lotan, *Int. J. Cancer* 39 (1987) 353.
- [137] H. J. Gabius, G. Bandlow, V. Schirrmacher, G. A. Nagel, K. Vehmeyer, *Int. J. Cancer* 39 (1987) 643.
- [138] H. J. Gabius, R. Engelhardt, G. Graupner, F. Cramer in T. C. Bog-Hansen, E. van Driessche (Hrsg.): *Lectins*, Vol. 5, de Gruyter, Berlin 1986, S. 237 ff.
- [139] L. Meromsky, R. Lotan, A. Raz, *Cancer Res.* 46 (1986) 5270.
- [140] R. Joubert, M. Caron, M. A. Deugnier, F. Rioux, M. Sensenbrenner, J. C. Biscoite, *Cell. Mol. Biol.* 31 (1985) 131.
- [141] S. R. Carding, S. J. Thorpe, R. Thorpe, T. Feizi, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 127 (1985) 680.
- [142] R. Lotan, D. Lotan, A. Raz, *Cancer Res.* 45 (1985) 4349.
- [143] G. Uhlenbrück, *Immunol. Comm.* 10 (1981) 251.
- [144] G. Uhlenbrück, H. J. Beuth, K. Oette, T. Schotten, H. L. Ko, K. Roszkowski, W. Roszkowski, R. Lütticken, G. Pulverer, *Dtsch. Med. Wochenschr.* 111 (1986) 991.
- [145] F. Ashall, *Trends Biochem. Sci.* 11 (1986) 518.
- [146] G. Uhlenbrück, *Funkt. Biol. Med.* 2 (1983) 40.
- [147] H. D. Klenk, *Forum Mikrobiol.* 9 (1986) 20.
- [148] N. Sharon, *FEBS Lett.* 217 (1987) 145.
- [149] H. J. Gabius, W. R. Springer, S. H. Barondes, *Cell* 42 (1985) 449.
- [150] S. H. Barondes in [4a], S. 467 ff.
- [151] K. Drickamer, M. S. Dordal, L. Reynolds, *J. Biol. Chem.* 261 (1986) 6878.
- [152] D. O. Morgan, J. C. Edman, D. N. Standring, V. A. Fried, M. C. Smith, R. A. Roth, W. H. Rutter, *Nature (London)* 329 (1987) 301.
- [153] L. K. Thompson, P. M. Horowitz, K. L. Bentley, D. D. Thomas, J. F. Alderete, R. J. Klebe, *J. Biol. Chem.* 261 (1986) 5209.
- [154] M. Ozawa, M. Sato, T. Muramatsu, *J. Biochem.* 94 (1983) 479.
- [155] T. K. Gartner, *Semin. Thromb. Hemostasis* 13 (1987) 281.
- [156] G. J. Cole, A. Loewy, L. Glaser, *Nature (London)* 320 (1986) 445.
- [157] K. Ikuta, M. Takami, C. W. Kim, T. Honjo, T. Miyoshi, Y. Tagaya, T. Kawabe, J. Yodoi, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84 (1987) 819.
- [158] C. Lüdin, H. Hofstetter, M. Sarfati, C. A. Levy, U. Suter, D. Alaimo, E. Kilchherr, H. Frost, G. Delespesse, *EMBO J.* 6 (1987) 109.
- [159] K. Doege, P. Fernandez, J. R. Hassell, M. Sasaki, Y. Yamada, *J. Biol. Chem.* 261 (1986) 8108.
- [160] T. Krusius, K. R. Gehlsén, E. Ruoslahti, *J. Biol. Chem.* 262 (1987) 13120.
- [161] K. Vehmeyer, W. Brandt, G. A. Nagel, H. J. Gabius, *Life Sci.*, im Druck.
- [162] F. A. Quirocho, *Annu. Rev. Biochem.* 55 (1986) 287.
- [163] R. T. Lee, Y. C. Lee, *Biochemistry* 26 (1987) 6320.
- [164] R. E. Kohnken, E. A. Berger, *Biochemistry* 26 (1987) 8727.
- [165] K. Vehmeyer, T. Hajto, H. J. Gabius in [72a], S. 207 ff.