

# THE CHEMICAL TIMES

KANTO CHEMICAL CO., INC.



2009 No.4 (通巻214号)

ISSN 0285-2446

遷移金属触媒とヒドロシランを用いる合成化学の新展開	永島 英夫	2
糖鎖を用いた生体機能材料の開発	三浦 佳子	6
アレルギー物質を含む食品の検査方法	齋藤 恵理子	12
胃型粘液を発現する病変：子宮・肺・卵巣・膀胱道系	石井 恵子	17
ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(27)ルドルフ・フィルヒョウ	原田 馨	22
編集後記		24



# 遷移金属触媒とヒドロシランを用いる合成化学の新展開

New synthetic chemistry using hydrosilanes and transition metal catalysts

九州大学先導物質化学研究所(大学院総合理工学府物質理工学専攻) 教授 永島 英夫  
HIDEO NAGASHIMA (Professor)

准教授 本山 幸弘  
YUKIHIRO MOTOYAMA (Associate Professor)

助教 砂田 祐輔  
YUSUKE SUNADA (Assistant Professor)

Institute for Materials Chemistry and Engineering, Kyushu University (Department of Molecular and Materials Science, Graduate School of Engineering Science)

## 1. はじめに

ケイ素は地球上に豊富に存在する元素であり、主としてケイ酸塩や二酸化ケイ素として存在している。現在の物質文明の中で、 $\text{SiO}_2$ を還元して生成するケイ素(シリコン)は電子材料として多様な用途がある。一方、金属シリコンからRochow法で $\text{Me}_2\text{SiCl}_2$ などのクロロシランを製造し<sup>1)</sup>、その化学変換により、シリコーンオイルやゴムのような撥水性、耐酸化性、耐熱性にすぐれた工業製品、あるいは太陽電池用Siが製造されている。シランカップリング剤、高分子合成、有機合成用有機ケイ素化合物もさまざまな構造のものが市販されている。その中でSi-H結合をもつヒドロシラン類は古くから水素と類似の機能が注目され、とくに、遷移金属触媒存在下で容易に活性化されて不飽和化合物に付加する反応が開発してきた。<sup>2)</sup> とくに、白金触媒を用いるアルケンのヒドロシリル化は種々の有機ケイ素化合物の原料として、工業的にも実験室的にも広範に利用されている。<sup>3)</sup> また、ヒドロシランは、カルボニル化合物の還元剤としても重要であり、とくに、活性、選択性(不齊合成を含む)に優れたSi-H結合の活性化触媒の開発は有機金属化学における課題の1つである。<sup>3,4)</sup> ほとんどのヒドロシラン化合物は毒性がなく、安定で長期保存が可能であり、反応時の取り扱いも容易である。本稿では、ヒドロシランと遷移金属の組み合わせによる新しい合成反応について、著者らの最近の成果を中心に紹介する。

## 2. 3核ルテニウム触媒の優れた反応性～有機合成から高分子合成まで

アルケンのヒドロシリル化は白金触媒がもっともよい

効果を示すが、カルボニル基のような極性不飽和結合への付加反応には、白金は活性がなく、ロジウムが一般的に用いられる。<sup>4)</sup> 我々の研究室で開発した3核ルテニウムカルボニルクラスター(図1、A)は、アセナフチレンと $\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}$ から容易に合成可能であり(注:市販の純度の高いアセナフチレンは高価であるが、最近、アセナフテン含有アセナフチレンを用い、再結晶で容易に当該錯体の安価で大量合成可能な方法を開発している)、空气中で1年以上の長期保存ができる安定な錯体である。<sup>5)</sup> しかし、不活性ガス雰囲気下で脱水ジオキサン(潜在的な毒性のため、テトラヒドロピランを用いることが多い)中で $\text{PhMe}_2\text{SiH}$ のようなトリアルキルヒドロシランと接触させると、不安定でカルボニル基の還元に高い活性を示す化学種を発生する。これと、ケトン、アルデヒドを反応させるとシリルエーテルへの還元が起こる。<sup>6)</sup> 興味深いことに、一般に実験室でヒドリド還元する際に、ケトンよりも還元されにくいとされる3級アミド、カルボン酸、およびエステルが温和な条件で還元され、それぞれ対応するアミン、シリルエーテル、および、シリルエーテルとアルキルエーテルの混合物が高収率で得られる。<sup>7)</sup> とくに3級アミドの還元は、10g規模での合成反応が実施でき、反応終了後の酸塩基を用いた後処理の過程でケイ素残渣と約90%程度のルテニウム残渣が除去できる。蒸留操作によりケイ素、ルテニウムを含まないアミンへと精製可能である。代表的な実験操作がOrg. Syn.誌に掲載されている。<sup>5b)</sup>

カルボニル基の反応性は、 $\text{NaBH}_4$ や $\text{LiAlH}_4$ のようなアニオン性ヒドリドを用いた場合は、ケトンの反応活性がエステルやアミドよりも高いとされている<sup>8)</sup>が、ルテニ

ウム触媒存在下のヒドロシラン還元では、むしろ、還元速度の序列は、3級アミド>エステル>ケトンである。<sup>9)</sup>驚いたことに、反応系中にトリエチルアミンのような3級アミンを少量共存させると、3級アミドの還元速度は変わらないが、エステル、ケトンはまったく反応をしなくなる。この現象を利用して、ケトアミド、アミドエステルの還元をおこなうと、分子内に共存するケトンやエステルを犯すことなく、アミドの選択的還元が達成される。

3級アミドの還元条件を2級アミドに適用すると、トリアルキルヒドロシランを用いた場合には、水素の発生が観察されるが還元反応は起こらない。ところが、Si-H基を近接して2つ持つヒドロシランである、 $\text{Me}_2\text{HSi}(\text{CH}_2)_2\text{SiHMe}_2$ や $\text{Me}_2\text{HSiOSiHMe}_2$ を用いた場合には、反応が大きく加速され2級アミンのよい合成法となる。<sup>10)</sup>とくに、 $\text{Me}_2\text{HSiOSiHMe}_2$ (TMDSと略称する)は安価に入手でき、沸点が低く後処理も容易であることから利用しやすいヒドロシランである。後に述べるように、2つのSi-H基が近い位置に存在するヒドロシランは、他の金属触媒の反応においても特異的な高活性を示し、反応条件改良のブレークスルーとなることが多い。ロジウムを用いる機構研究から、2つのSi-H基が金属と相互作用することが反応加速の鍵ではないかと考えられている。<sup>11)</sup>

ルテニウム触媒で活性化されたSi-H結合は、カルボニル基の還元だけでなく脱水反応や重合反応を引き起こす。先に述べたように、2級、3級のアミドは対応するアミンに収率よく変換することができるが、1級のアミドは高い反応性をもつヒドロシランであるTMDSを用いても、原料は消失するが1級アミンは生成しない。この反応を詳細に解析した結果、1級アミドがルテニウム触媒存在下、TMDSとの反応で脱水反応を起こしてニトリルを生成していることが明らかとなった。<sup>12)</sup>一方、ルテニウム触媒によるSi-H結合の活性化をTHF、オキセタン、エポキシドのような環状エーテルの存在下でおこなうと、開環重合が進行して、末端に有機シロキシ基を持つポリエーテルを生成する。<sup>6, 13)</sup>同様な反応をビニルエーテル存在下でおこなうと、ポリビニルエーテルが生成するが、その末端には有機ケイ素基が100%導入される。<sup>14)</sup>有機ケイ素基は種々の化学変換が可能であることから、末端官能性ポリマーの合成に有効である。

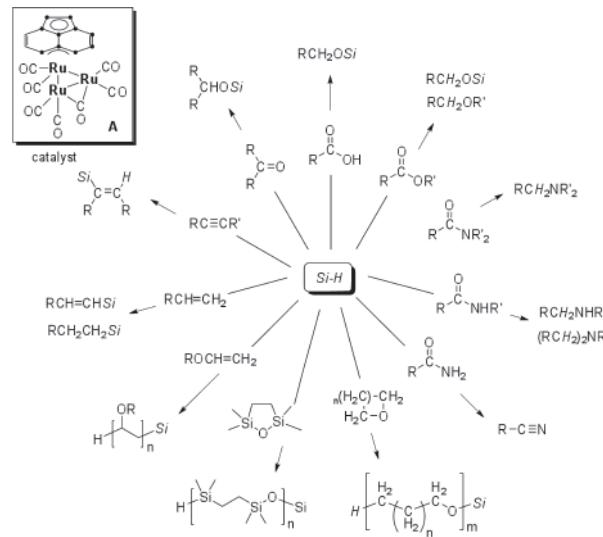


図1 3核ルテニウムカルボニル触媒(A)を用いるヒドロシランの活性化を経由した反応群

### 3. ルテニウムから他の触媒へ

ルテニウム3核クラスター触媒は、以上のように優れた活性をアミドの還元に示すだけでなく、脱水反応や重合反応を起こす。また、とくにアミドの還元反応において、TMDSに代表される2つの近接したSi-H基をもつヒドロシランを用いると反応速度が大幅に向上することがわかっている。先に述べたように、白金触媒はアルケンのヒドロシリル化に高活性を示すが、従来カルボニル化合物のヒドロシラン還元に活性が乏しいと考えられていた。この問題をSi-H基の近接効果で解決できないか、という検討をおこなったところ、予想外によい結果が得られた。<sup>15)</sup>白金触媒としては、アルケンのヒドロシリル化に広範に用いられる $\text{H}_2\text{PtCl}_6$ やKarstedt触媒、 $\text{PtCl}_2(\text{COD})$ 等が活性を示し、ヒドロシランとしては、TMDSのほか、1,2-dimethylsilylbenzeneがよい結果を示した。興味深いことに、ロジウム触媒やルテニウム触媒では圧倒的な加速効果を示す $\text{Me}_2\text{HSi}(\text{CH}_2)_2\text{SiHMe}_2$ は活性を示さない。TMDSを用いることで、2級、3級の多様な構造を持つアミドのアミンへの還元が可能になった。分子内に共存しても反応に影響を与えない官能基としてエステル、ニトロ基、ハロゲン、2~3置換アルケン等を、還元条件で反応させずにアミドのみ還元できる。さすがに、末端アルケンのみヒドロシリル化反応を併発する。

一方、イリジウム錯体 $\text{IrCl}(\text{CO})(\text{PPh}_3)_3$ を用いると、3級アミドが還元とともに脱水反応を起こし、予想されるアミンでは

なくアルドエナミンが生成する。<sup>16)</sup> 触媒効率はTOFにして、室温で10000を越す。興味深いことに、この反応に有効なヒドロシランはTMDSに限定される。鉄は元素戦略上で究極の金属であるが、3級アミドの還元反応には $\text{Fe}(\text{CO})_5$ ないしは $\text{Fe}_3(\text{CO})_{12}$ が有効であることが明らかとなった。<sup>17)</sup> これまで述べたルテニウム、イリジウム触媒が室温で高活性を示すのに対し、白金は50°C~70°Cが適正な反応温度である。これに対して、鉄カルボニル触媒は光照射ないしは100°C程度の熱を必要とする。興味深い選択性としては、ルテニウムや白金触媒では還元されないニトロ基の還元が、アミドの還元に優先して起こる。

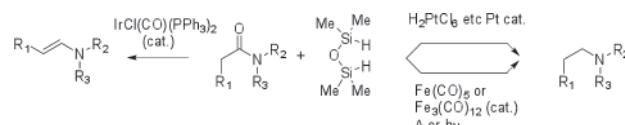


図2 白金、鉄、イリジウム触媒とTMDSを用いるアミドの化学変換

#### 4. 触媒自動分離

ポリメチルヒドロシロキサン(PMHS)は、ビニル基をもつシロキサンとの触媒的ヒドロシリル化により高機能性樹脂を作る等、工業原料としても重要な用途があり、安価に入手できるシリコーンポリマーである。有機合成化学では、 $\text{Bu}_3\text{SnOSnBu}_3$ から $\text{Bu}_3\text{SnH}$ を合成する反応を代表例に、還元剤としての用途がある。<sup>18)</sup> 先に述べたように、3核ルテニウムカルボニルクラスター、白金、鉄、イリジウム触媒においてTMDSがヒドロシランとして優れた反応性を示す。そのポリマー版であるPMHSは、これらの反応で同様に優れた反応性を示すが、同時に、反応途上で不溶性のシロキサン樹脂が生じ、この樹脂中に触媒として用いた金属がカプセル化されて自動分離する現象が見出された。例えば、3核ルテニウムカルボニルクラスター触媒を用いる3級アミドの還元反応<sup>19)</sup>においては、少量のテトラヒドロピランに溶解した触媒、PMHS、アミドの混合物は、橙色の溶液である。1時間室温で攪拌すると溶液がゲル化し、攪拌子が回転しなくなる。この状態でも反応は進行し、24時間程度の時間を置くと、アミドがすべてアミンに変換される。溶媒を減圧留去すると橙色の乾燥ゲルが生成するが、その際、透明の有機化合物(アミン)の存在が目視で確認できる。エーテルで抽出操作をおこなうと、透明の有機化合物の

みが抽出され、橙色の乾燥ゲルは不溶性のまま残留する。この操作で得られたアミンはほぼ定量的であり、極微量のケイ素残渣と15ppm程度のルテニウム残渣しか含んでいない。言い換えれば、ほぼすべてのPMHS、使用したルテニウム触媒の99.75%が、反応により生成する不溶性のゲルに吸収され、自動的に分離したことになる。このPMHSを用いた還元反応を適用すると、多くの3級アミドが3級アミンへと収率よく変換される。2級アミドの還元により生じる2級アミンは、ルテニウム触媒による脱水素シリル化によりシリルアミンとなりゲルの中にケイ素-窒素結合を経由して固定される。<sup>10)</sup> また、ケイ素-窒素結合は微量の水により容易に加水分解される性質を持っている。これらを反映して、窒素上にイソプロピル基やt-ブチル基をもつ2級アミドの還元反応は加熱条件で進行し、上記のエーテル抽出操作で対応する2級アミンを与えるが、多くのアミド基まわりの立体障害の少ないアミドの還元では、2級アミンが抽出されてこない。興味深いことに、立体障害の少ないアミドの還元では、2分子の2級アミドから3級アミンと1級アミンが生成する反応が中程度の収率で起こる。3級アミンはゲルに固定化されないため、エーテル抽出により抽出され、2級アミドから1段階で3級アミンを合成するよい反応を提供する。

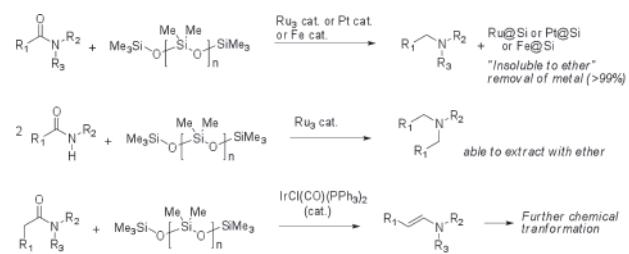


図3 シリコーンゲルへの触媒カプセル化自動分離を経由するPMHSを用いる触媒反応

同様な不溶性シリコーンゲルによる触媒の自動分離は、白金触媒による2、3級アミドの還元反応、鉄触媒による3級アミドの還元反応による対応するアミンの合成<sup>17)</sup>、ならびに、イリジウム触媒によるエナミンの合成反応<sup>16)</sup>に適用でき、優れた成果を得ている。とくに、エナミンは加水分解されやすい化合物であり、PMHSによる反応により得られるイリジウムやケイ素を含まないエナミンは、そのままシクロプロパン化やアリル化のような反応に適用できる点で有効である。

## 5. おわりに、ならびに、さらなる展開

ヒドロシラン類は工業原料に用いられているために安価であり、安定で取り扱いが容易であり、元素として地球上に豊富に存在し毒性もないことから、今後、さらに有効活用したい物質群である。本稿で述べたヒドロシラン類の反応群は、とくに還元剤として発火性のLiAlH<sub>4</sub>が用いられてきたアミドやカルボン酸の還元に有効な改良法となるだけでなく、1級アミドからニトリルの合成、3級アミドからエナミンの合成、重合反応等、従来ほとんど報告されていない新しい反応へと展開しつつある。反応別に分類すると、還元反応、還元+脱水反応、脱水反応、炭素-酸素結合生成反応、炭素-炭素結合生成反応が基本的に可能であり、現在これらを多様な有機・高分子合成反応に適用しつつある。一方、PMHSを用いるアミドの還元反応は、触媒金属が内包した不溶性シリコーンゲルの生成という発見を生み、これを利用して、触媒、ケイ素とともに自動的に生成物から分離する反応システムを実現した。金属内包シリコーンゲルの性質についての検討の結果、ゲル化によりゲル内の反応速度が低下しないこと、溶媒で膨潤したゲルと外部溶液との間の有機化合物の物質移動は迅速に起こるが、金属は漏れ出さないことを確認しており<sup>20)</sup>、これらを金属内包シリコーンゲル触媒へと展開している。<sup>21)</sup> この詳細については、また次の機会に紹介したいと考えている。

## 引用文献

- 1) (a) E. G. Rochow: *J. Am. Chem. Soc.*, **67**, 963 (1945). (b) E. G. Rochow: *U.S. Patent No. 2,380,995* (1941).
- 2) B. Marceniec, J. Gulinski, W. Urbaniak, Z. W. Kornetka: *Comprehensive Handbook on Hydrosilylation Chemistry*, Pergamon: Oxford (1992)
- 3) (a) I. Ojima, In *The Chemistry of Organosilicon Compounds*; S. Patai, Z. Rappoport, Eds.; Wiley: New York (1989). (b) M. A. Brook, *Silicon in Organic, Organometallic, and Polymer Chemistry*; Wiley: New York (2000).
- 4) (a) I. Ojima, K. Hirai: *Asymmetric Synthesis*; Academic Press: New York (1985). (b) H. Nishiyama, K. Itoh: In *Catalytic Asymmetric Synthesis*, 2<sup>nd</sup> ed; I. Ojima, Ed; VCH: New York (2000).
- 5) (a) H. Nagashima, T. Fukahori, K. Aoki, K. Itoh: *J. Am. Chem. Soc.* **115**, 10430 (1993). (b) Y. Motoyama, C. Itonaga, T. Ishida, M. Takasaki, H. Nagashima: *Org. Syn.* **82**, 188 (2005).
- 6) H. Nagashima, A. Suzuki, T. Iura, K. Ryu, K. Matsubara: *Organometallics* **19**, 3579 (2000).
- 7) K. Matsubara, T. Iura, T. Maki, H. Nagashima: *J. Org. Chem.* **67**, 4985 (2002).
- 8) J. March: *Advanced Organic Chemistry*, 6th ed.; Wiley: New York (2007)
- 9) H. Sasakuma, Y. Motoyama, H. Nagashima: *Chem. Commun.*, 4916 (2007).
- 10) S. Hanada, T. Ishida, Y. Motoyama, H. Nagashima: *J. Org. Chem.* **72**, 7551 (2007).
- 11) Y. Sunada, Y. Fujimura, H. Nagashima, *Organometallics* **27**, 3502 (2008).
- 12) S. Hanada, Y. Motoyama, H. Nagashima: *Eur. J. Org. Chem.* **24**, 4097 (2008).
- 13) K. Matsubara, J. Terasawa, H. Nagashima: *J. Organomet. Chem.* **660**, 145 (2002).
- 14) H. Nagashima, C. Itonaga, J. Yasuhara, Y. Motoyama, K. Matsubara: *Organometallics* **23**, 5779 (2004).
- 15) (a) S. Hanada, Y. Motoyama, H. Nagashima, *Tetrahedron Lett.*, 47, 6173 (2006). (b) S. Hanada, E. Tsutsumi, Y. Motoyama, H. Nagashima: *J. Am. Chem. Soc.* in press.
- 16) Y. Motoyama, M. Aoki, N. Takaoka, R. Aoto, H. Nagashima: *Chem. Commun.*, 1574 (2008).
- 17) Y. Sunada, H. Kawakami, T. Imaoka, H. Nagashima: submitted.
- 18) N. J. Lawrence, M. D. Drew, S. M. Bushell: *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 3381 (1999).
- 19) Y. Motoyama, K. Mitsui, T. Ishida, H. Nagashima: *J. Am. Chem. Soc.* **127**, 13150 (2005).
- 20) Y. Motoyama, M. Abe, K. Kamo, Y. Kosako, H. Nagashima: *Chem. Commun.*, 5321 (2008).
- 21) Y. Motoyama, K. Kamo, H. Nagashima: *Org. Lett.* **11**, 1345 (2008).

# 糖鎖を用いた生体機能材料の開発

Glyco-Biomaterials

北陸先端科学技術大学院大学 マテリアルサイエンス研究科 准教授 三浦 佳子

YOSHIKO MIURA (Associate Professor)

School of Materials Science, Japan Advanced Institute of Science and Technology

## 1. はじめに

糖といったら、何を思い浮かべるだろう？普通は甘い砂糖のことを思うだろう。甘い砂糖は生物の、特に我々のエネルギー源として重要な役割を担っている。砂糖はスクロース{ $\alpha$ -D-グルコピラノシル(1-2)- $\beta$ -フルクトフラノシド}という物質である。スクロースを構成するそれぞれのグルクトース、フルクトースといった、単位が糖(sugar, saccharide)、炭水化物(carbohydrate)として分類される。

糖類は砂糖だけでなく、紙や木材を構成するセルロース、こんにゃく芋を構成するグルコマンナンなども糖類として分類されている。古く糖類は $C_mH_{2n}O_n$ のような元素の構成になると考えられてきたが、分子の化学構造が広く知られるようになるにつれ、キチンキトサンなどについても、炭化水素骨格を持つポリオールでグルコシド結合を持つことから、糖類であると考えられるようになった。窒素を含む糖類だけでなく、リン酸や硫酸を含む糖類など多様な化合物が糖類である。それゆえ、糖類に含まれる化合物は非常に幅広くなっている(図1)。

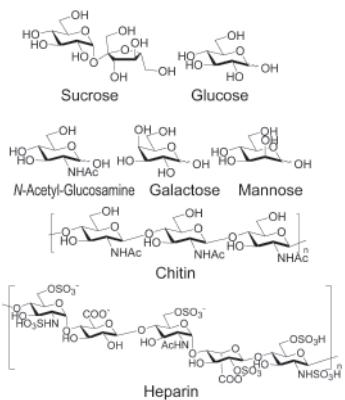


図1 様々な糖類の化学構造

糖類には、生物において、スクロース、グルコースのように生命のエネルギー源として用いられている化合物類から、キチンキトサンなどのように甲殻類の骨格として働いているもの、本稿で扱うような生命シグナルとして働くものなどがある。糖類の働きは、生命の機械として働くタンパク質や遺伝暗号を司る核酸(DNA、RNAなど)に比べると、地味であるものの、その役割は多様でかつベーシックであるが、とても奥深い。

糖類が結合した糖鎖の役割が大きな注目を集めようになつたのは、糖鎖が生命現象の認識シグナルとして働いていることが明らかになってきたからである<sup>1)</sup>。例えば、糖鎖は細胞の接着や分化、癌細胞の転移、感染症の感染などに細胞表層の糖鎖とタンパク質の相互作用が関係していることが分かつてきただのである。例えば、癌が体の遠い部位まで転移していく理由、ウイルスが種を超えて感染しない理由など、生命現象の不思議さの多くに糖鎖の相互作用が関係している。生命現象は巧みな分子認識現象の集積から成り立つていて、糖鎖—タンパク質の相互作用は、生命現象の重要なカギを握っている。

糖鎖にかかわる分子認識の例について表1に示した<sup>2)</sup>。糖鎖と細胞、病原体の相互作用は、その多くについて未だ明らかにされていない。しかしながら、細胞の表面は必ずと言っていいほど大量の糖鎖に覆われていて、細胞の接着や病原体の感染など、細胞膜を介する現象については何らかの形で糖鎖が関係していると考えられている。そのため、未知のタンパク質や細胞がどのように糖鎖を認識しているかを解析することが、生命の仕組みを明らかにする上で重要視されている。

糖鎖を認識するタンパク質(表1)については、糖鎖を認

表1 毒性タンパク質、病原体などが認識する糖鎖の例

種類	名前	由来	認識する糖鎖
レクチン	リシン	<i>Ricinus communis</i>	Gal $\beta$ 1-4Glc Gal $\beta$ 1-4GlcNAc
細菌毒素及び細菌	コレラ毒素、コレラ菌	コレラ菌 ( <i>Vibrio cholera</i> )	GM1:Gal $\beta$ 1-3(NeuAc $\alpha$ 2-3)GalNAc $\beta$ 1-4Gal $\beta$ 1-4GlcCer
	大腸菌易熱性毒素	大腸菌 ( <i>E. coli</i> )	GMT:Gal $\beta$ 1-3(NeuAc $\alpha$ 2-3)GalNAc $\beta$ 1-4Gal $\beta$ 1-4GlcCer
	志賀毒素	病原性大腸菌 ( <i>E. coli</i> O157, H7)	Gb3:Gal $\alpha$ 4Gal $\beta$ 1-4GlcCer
	大腸菌1型アドヘシソ	大腸菌 ( <i>E. coli</i> )	Man $\alpha$ -
ウイルス	ヒトインフルエンザA型ヘマグルチニン	ヒトインフルエンザA型	Neu5Ac $\alpha$ 2-6Gal $\beta$ 1-4(3)GlcNAc $\beta$ 1- Neu5Ac $\alpha$ 2-6Gal $\beta$ 1-3GalNAc $\beta$ 1-
	トリインフルエンザA型ヘマグルチニン	トリインフルエンザA型	Neu5Ac $\alpha$ 2-3Gal $\beta$ 1-4(3)GlcNAc $\beta$ 1- Neu5Ac $\alpha$ 2-3Gal $\beta$ 1-3GalNAc $\beta$ 1-
その他	アミロイド $\beta$		GMT:Gal $\beta$ 1-3(NeuAc $\alpha$ 2-3)GalNAc $\beta$ 1-4Gal $\beta$ 1-4GlcCer

識するが抗体ではないものを総称して、レクチンという。植物に含まれるいくつかのレクチンが試薬として販売され、糖鎖認識のモデルとして深く研究されている。一つの毒素ユニットと5つの糖鎖認識ユニットのAB5構造を持つ毒素タンパク質もレクチンであり、糖鎖を強く認識することが知られている。AB5構造を持つ毒素タンパク質については、コレラ菌の產生するコレラ毒素、病原性大腸菌O157などが产生する志賀毒素(ペロ毒素)、百日咳毒素などがある。また、インフルエンザウイルスをはじめとする各種ウイルスの感染についても、糖鎖とタンパク質の相互作用が大きく関与している。細胞については、肝実質細胞と糖タンパク質糖鎖の相互作用が有名である。

## 2. 糖鎖を用いた材料設計と多価効果

糖鎖の生命現象における働きは見事であり、これを利用することができていている。しかしながら、糖鎖とタンパク質の相互作用は一般にはそれほど大きなものではない。

糖鎖とタンパク質の相互作用は通常では弱く、むしろ、タンパク質との非特異的な相互作用を防ぐ傾向が強い。自然界では、これをどのようにして利用しているのであろうか。一つの糖から発生する相互作用は弱いが、これが2個、3個…10個、20個と積み重なると次第に強くなっていく。このように糖鎖が集積されることで、強い相互作用を発揮することを多価効果、糖鎖クラスター効果などと呼ぶ<sup>3)</sup>(図2)。実際に、細胞表面の糖脂質では、“ラフト”や“カベオラ”と呼ばれるような集合構造が存在することが知られています。

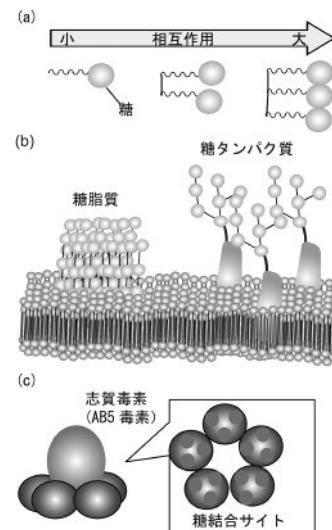


図2 多価効果の発現機構。(a)糖鎖の多価化合物によるタンパク質との相互作用の増強、(b)天然の糖鎖多価化合物:ラフト様糖脂質集合体と糖タンパク質糖鎖の模式図、(c)糖認識タンパク質の持つ多価レセプターの構造例:志賀毒素

る。また、糖タンパク質糖鎖は樹状構造の糖鎖を持つことがしばしばで、糖鎖の多価効果が発生しやすい。更にはプロテオグリカン、グリコサミノグリカンなどの生理活性多糖は、多くの糖鎖から構成されている。一方で、糖鎖が集合構造を持っているだけでなく、同時にタンパク質の側面も糖鎖と結合する糖鎖結合サイトが、一つのタンパク質中に幾つか存在することが多く、多価結合による糖鎖-タンパク質の相互作用の増強を助けている。例えば、レクチンであるコンカナバリンA(Man認識タンパク質)では4個の糖鎖結合サイトが、志賀毒素では15個の糖鎖結合サイトが、一つのタンパク質に存在している。

天然に見られる糖鎖の多価構造を考えるならば、これらを模倣した分子や材料は利用可能と考えられる。例えば、糖鎖の多価化合物としては、糖鎖をペプチドやデンドリマー、ポルフィリン、カリックスアレーンなどを土台として複数の糖鎖が密集した分子が報告されている。一方で、我々は、糖鎖の多価化合物を設計する上で、高分子の側鎖に糖鎖を結合させた糖鎖高分子や、薄膜上に自己組織化単分子膜などとして糖鎖を並べた糖鎖薄膜の設計と材料化の実験を行っている<sup>4)</sup>(図3)。糖鎖高分子や糖鎖薄膜は、糖鎖の価数が非常に大きく、天然物に遜色ない、またはそれよりも強い相互作用を起こすことができる。更には、高分子や薄膜といった材料特性が付与されることが特徴である。高分子化合物では、高分子として材料を構成する力があるだけでなく、プラスチック、繊維、金属などにグラフト(化学結合によって高分子を結合させること)する

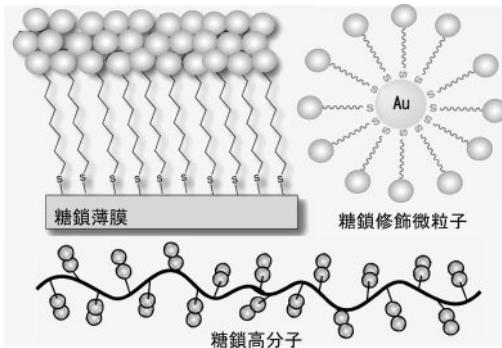


図3 糖鎖材料の例。糖鎖薄膜、糖鎖修飾金微粒子、糖鎖高分子。

ことで、新しい機能を付与した材料とすることができます。また、我々の研究では、糖鎖が結合したビニル化合物(糖鎖高分子モノマー)を調製した上で、ラジカル重合によって高分子を得ている。モノマーを合成した後には、ラジカル開始剤を用いた簡単な反応を利用することで、高分子化合物にしたり、共重合化合物にしたり、表面に高分子を結合させたりと、多様な材料への展開が可能になる。最新のラジカル重合手法である、リビングラジカル重合を利用した精密な高分子の合成も可能である。

また、糖鎖の薄膜の場合には薄膜の支持基板に工夫を施すことによって、糖鎖の生体認識性だけでなく、基板の性質を付与することができる。金属や半導体、微粒子などを支持基板として用いれば、生体認識性を持つ複合材料になる。金属基板上の糖鎖の超薄膜では、金属の導電性を生かすことで、電気化学反応を行うことのできる糖鎖材料を開発することができる。また、金属基板として、金基板を用いれば、電気化学反応、水晶発振子(QCM)、表面プラズモン共鳴(SPR)を利用することができる複合材料となる。微粒子では、微粒子の光特製、蛍光特性を利用した材料になり、微粒子ゆえの分散性を考えると *in situ* での生体観察やセンシングを可能にする材料になる。

### 3. 病原体と結合する糖鎖高分子

前述のように、糖鎖は様々な生命現象に関与している。我々の生命を脅かすような感染症に焦点を絞るならば、糖鎖を用いた材料ではどういったことが可能になるだろうか。

糖鎖を側鎖に持つ糖鎖高分子では、多価効果に基づいて、糖鎖を認識するタンパク質と効果的に作用する(図4)。例えば、毒素タンパク質の一つ志賀毒素(病原性大腸菌O157産生毒素)は、 $\alpha$ -ガラクトースを末端に持つ糖脂質(Gb3)を

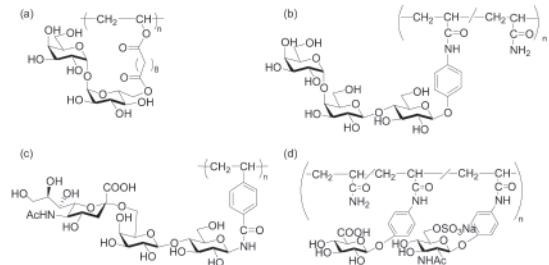


図4 糖鎖高分子の構造式(a)トレハロース構造を利用した志賀毒素を中和する糖鎖高分子、(b)グロボトリオース型の志賀毒素を中和する糖鎖高分子、(c)インフルエンザウイルスを中和するアシルラクトース結合型の糖鎖高分子、(d)アルツハイマーアミロイド $\beta$ タンパク質に結合するグリコサミングリカンモド型の糖鎖高分子。

認識して作用する。我々は、 $\alpha$ -ガラクトースを有する、ガラクトース型トレハロース(グロボビオースミック体)を側鎖を持つ糖鎖高分子を合成した<sup>5)</sup>。この糖鎖高分子と志賀毒素との相互作用を測定したところ、単体の糖鎖では殆ど毒素に対する結合性が見られないものの、高分子体では強く結合することが明らかになった。また、Gb3糖鎖を持つ高分子やデンドリマーでも、志賀毒素と強く結合して、細胞毒性を中和することが分かっている<sup>6)</sup>。志賀毒素を無毒化する薬剤は知られていないことから、糖鎖多価体を利用したアプローチは貴重である。更には、糖鎖高分子の材料形成能を利用して、志賀毒素を除去する透析材料の開発が検討されている。糖鎖高分子を固定化させた透析材料は志賀毒素を毒素型の差異によらず除去することが可能である<sup>7)</sup>。高分子を利用して病原体毒素を血中から取り除くことが可能になれば、新しい治療手法として、実現可能かもしれない。

同様に高分子の側鎖にインフルエンザウイルスと結合するシリルラクトースを結合させた材料では、インフルエンザウイルスと結合性を持つようになった<sup>8)</sup>。インフルエンザウイルスはNeu5Ac $\alpha$ 2-6Gal(ヒト、ブタ)やNeu5Ac $\alpha$ 2-3Gal(トリ、ブタ)と結合するが、単独では結合が弱いため、糖鎖高分子を用いた手法は有用である。糖鎖結合性が明らかにされている各種の病原体(ウイルス、毒素タンパク質、細菌類)については、糖鎖高分子と結合するものと考えられる。

インフルエンザウイルスに限らないが、ウイルスは細菌類よりもずっと小さく、毒素タンパク質と違って感染によって増殖する危険な性質がある（毒素タンパク質は菌体がなければ増えない）。実際、ウイルスの大きさは我々の部屋を一つの細胞に例えるならば、小さな黒い点のようなものであり、とても小さい。人間の感覚で、目の細かく見える繊維を使っても、ウイルスの大きさから考えると障害にはならない。昨今

世間にぎわしている、新型インフルエンザについても、通常のマスクをかけていても、完全に感染を防ぐことはできない。特定のウイルスと強く結合する糖鎖高分子の基材を利用して繊維や除去カラムを作れば、こうしたウイルスの除去も可能になると考えられる。

また、我々は、現在グリコサミノグリカンという生理活性多糖のモデル高分子の開発やこれを用いた材料、デバイスの開発を進めている<sup>9)</sup>。グリコサミノグリカン類は硫酸化糖鎖とウロコン酸を含む生理活性多糖であり、殆どすべての細胞表面に存在して、細胞間のコミュニケーションや活動に関係している。グリコサミノグリカンの構造自体は複雑であり、これらを全合成しようとするチャレンジは現在多くの研究者によって続けられているが、簡単ではない。我々は、グリコサミノグリカンが多糖という天然高分子であることから、高分子体として再構築する手法を考えた。グリコサミノグリカンに含まれる糖鎖の一つである、6位硫酸化グルコサミンやグルクロン酸をアクリルアミド誘導体として、これを重合し、グリコサミノグリカンのモデル高分子を得た。グリコサミノグリカンが関わる生体反応の一つとして、アルツハイマー病への関与が指摘されており、タンパク質の線維化や抑制に関わると考えられている。種々のグリコサミノグリカンモデル高分子を合成して、アミロイド $\beta$ タンパク質の凝集を調べた。硫酸化糖を持つ糖鎖高分子については、アルツハイマー $\beta$ アミロイド $\beta$ (1-40, 1-42, 25-35)と結合して凝集を抑制する働きがあることがわかった。そして、これらの細胞毒性を減らす働きがあった。グリコサミノグリカンモデル高分子については、硫酸化糖の含有率や糖鎖高分子の分子量によってアミロイド $\beta$ タンパク質との結合活性が変化した。多様な働きを持つグリコサミノグリカンの生理活性機能について、硫酸化糖鎖の高分子を利用してライブラリーを作成して、再現することができると思われる。グリコサミノグリカンの働きに応じて、その他のウイルスや細菌類の感染を防ぐこともできるかもしれない。

#### 4. 病原体を検出する糖鎖材料

糖鎖と病原体の結合性を利用してバイオセンサーとして用いることもできる。金や金微粒子と糖鎖を結合させた人工材料によるアプローチを紹介したい。

我々は、志賀毒素に対して結合する糖鎖の材料を作成してきた<sup>10)</sup>。Gb3糖脂質の糖鎖部分(グロボトリ

オース)を合成して、アルキルジスルフィドと結合させた人工糖脂質を合成し、これを金基板とともにインキュベートして、自己組織化単分子膜を調製した。自己組織化単分子膜を利用すると、密にパッキングした薄膜を得ることができ、細胞表面の糖脂質集合体(ラフト領域など)と似た構造を取ることから、良好なタンパク質認識場となる。糖脂質薄膜を結合させた自己組織化膜を水晶発振子に結合させたバイオセンサーを作成し、この薄膜に、志賀毒素をインジェクトした。すると、毒素の添加とともに、水晶発振子の振動数が素早く変化して、1nM程度の毒素溶液で30分以内に振動数の変化が終了し、毒素を検出できることがわかった。更には毒素の検出については特異性が高く、志賀毒素以外の牛血清アルブミンなどのタンパク質や、培養混合液などを加えた時には、検出されないことがわかった。同様にGb3糖鎖と糖構造が異なるラクトースを結合させた基板では、志賀毒素の結合は殆ど見られなかった<sup>11)</sup>。このように、Gb3糖鎖を結合させた薄膜上では、細胞表面上さながらの厳密な生体分子認識が行われており、金基板を利用して信号としてとらえることができれば優れたバイオセンサーになる(図5)。

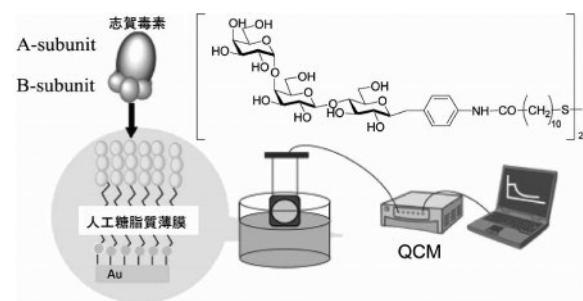


図5 人工糖脂質薄膜を利用した志賀毒素のバイオセンサー。人工糖脂質の構造とバイオセンサーデバイスの仕組み。

糖鎖を用いたバイオセンサーで呈される疑問は、抗体との違いを明確にして、糖鎖薄膜の結合特性を明らかにできるかということである。志賀毒素は糖鎖結合サイトが一つのタンパク質に15個と密集していることから、糖鎖認識性が強い。実際に結合定数は $10^7$ - $10^8$  (M<sup>-1</sup>)程度であり、通常のレクチンの結合定数 $10^3$ - $10^4$  (M<sup>-1</sup>)などに比べると1000倍程度も強い。抗体を用いた分子認識では、同一の手法で沢山の種類の検体のバイオセンシングが可能になるかもしれないが、AB5構造を持つような特定の毒素タンパク質については、我々の例にもあるような糖鎖のセンシングに利があるかもしれない。AB5毒素については、病原性大腸

菌O157の產生する志賀毒素だけでなく、コレラ毒素や百日咳毒素などの毒素タンパク質も同様の構造を持っており、糖鎖結合サイトを多くもっている。それゆえ、このような毒素タンパク質も糖鎖をプローブとした手法によって検出できるものと考えられる。コレラ毒素についてはBサブユニットのリガンドがGM1糖脂質であることが知られており、多くの研究事例がある。GM1をリガンドとして、リポソームやLB膜として固定化することによって、コレラ毒素を捕らえる基板の調整を行い、QCMやSPRと結合させることによって毒素を鋭敏にセンシングすることができ、検出は数分から1時間程度で行うことができると報告されている<sup>12)</sup>。

また、アルツハイマー病についても糖鎖を用いた検出法の構築を行っている<sup>13)</sup>。我々はシアル酸を固定化した電極を作成し、電気化学に基づく検出を試みた。シアル酸は、ガングリオシドなどに含まれる機能性糖鎖であり、コレラ毒素やアルツハイマーアミロイド $\beta$ など多くのタンパク質と結合し、細胞の分化を促す働きなどもあることが知られている。シアル酸を結合させた金基板では、シアル酸を認識するタンパク質と特異的な相互作用を示す。シアル酸を認識するタンパク質として、アルツハイマーアミロイド $\beta$ を加えたところ、基板上のシアル酸と結合した。このとき我々は、アミロイド $\beta$ タンパク質に含まれるチロシン残基の酸化還元シグナルを検出することとした。チロシンはフェノール性水酸基を持つアミノ酸であり、酸化還元反応によって、キノン型になることから、これを検出することができる。シアル酸を結合した基板にアミロイド $\beta$ を付加していくと、チロシンに基づくピークが検出できる。アミロイド $\beta$ の $1\mu M$ の付加でも、チロシンに基づくピークが見られる。 $10\mu M$ 程度の付加によって、このチロシンの酸化還元ピークは飽和する。一方で、インスリンについてはチロシンをタンパク質中に4つ含むが、糖鎖認識性がないために全く検出されない。

ここまでに示した事例の通り、糖鎖を固定化した基板では、糖鎖を認識するタンパク質が結合する一方で、糖鎖認識タンパク質以外については殆ど結合性を示さない<sup>14)</sup>。タンパク質の非特異的な結合は、疎水性相互作用に大きく左右され、界面周りの水の構造などによって大きく変わる。糖鎖を固定化した基板では、疎水性相互作用が大きく抑えられるため、糖鎖以外のタンパク質については殆ど結合がみられない。オリゴ糖やデキストラン(グルコースポリマー)、糖アルコールを固定化した基板はタンパク質や細胞が結合しない材料として研究が進められていることの

方がむしろ多い。

バイオセンシングに使用するような新規の糖鎖修飾ナノ材料の開発についても少々述べよう(図6)。我々は現在、糖鎖薄膜と糖鎖高分子の双方の性質を兼ね合わせた基材として、糖鎖高分子修飾金微粒子の合成と生理活性を検討している<sup>15)</sup>。糖鎖高分子を合成する際に、ジチオエステルなどの可逆的付加開裂連鎖移動剤を加えて、リビングラジカル重合を行うと、容易に分子末端にチオール基(SH基)を有する高分子を得ることができる。SH基を持つ糖鎖高分子は、金基板や金微粒子と結合し、これを修飾することができる。糖鎖高分子で修飾した金微粒子は、水溶性高分子が結合したことによって、安定的に分散するようになる。そして、糖鎖高分子のタンパク質の強い認識性を併せ持つ。糖鎖認識タンパク質として、各種レクチン(コンカナバリンA、WGA)や志賀毒素を加えると、タンパク質に特異的な色調変化が観測されることがわかった。また、糖鎖を認識する大腸菌や細胞などでも、その相互作用を検出できる。こうした糖鎖修飾金微粒子を用いることで、イムノクロマトグラフィーやSPRを用いた鋭敏な検出デバイスの開発が可能と考えられる。

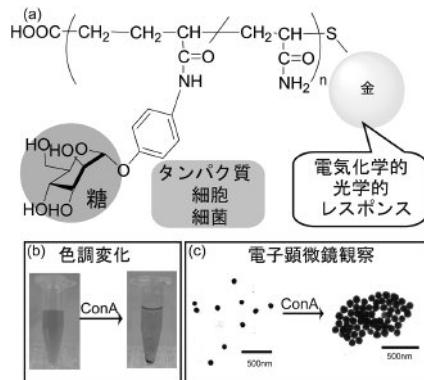


図6 糖鎖高分子を利用した金微粒子の調製。(a)糖鎖高分子修飾金微粒子の例、(b)比色測定の様子、(c)微粒子のタンパク質による凝集の電子顕微鏡観察の様子。

## 5. 精密な形を有する糖鎖材料

糖鎖高分子や糖鎖薄膜のような糖鎖の多価構造を持つ材料は、タンパク質、病原体と強く結合して、すぐれた生体機能を持つ。我々はこうした研究事例から、精密な糖鎖の多価構造を持つ材料を利用することによって、もっと詳細な生体機能を解析できるものと考えている。糖鎖を結合させるプラットホームとして、デンドリマーを利用した上で、これを金基板上に自己組織化单分子膜と

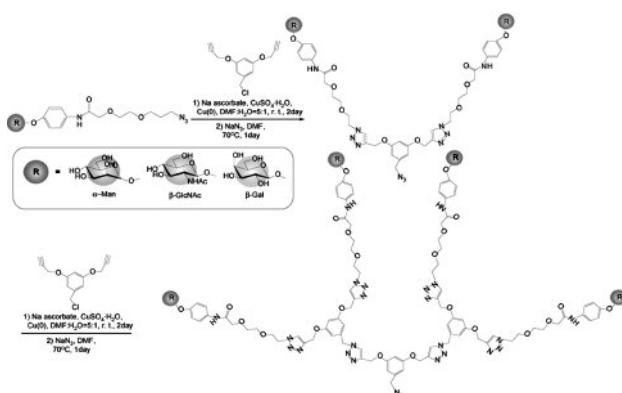


図7 糖鎖結合デンドリマーの合成と多価化合物の構造

して精密に固定化させて、QCM, SPRを用いたタンパク質の認識について検討を行っている<sup>16)</sup>(図7)。

各種の糖鎖デンドリマー(Gal, Man, GlcNAc結合デンドリマー)を金基板に結合させた上で、レクチンとの相互作用やタンパク質の変性などを調べている。レクチンとの相互作用では、レクチンによって糖鎖の認識最適密度が厳然と存在していることがわかった。例えば、コンカナバリンA(Man認識タンパク質)では、デンドリマーの世代の上昇によって糖鎖との相互作用が強くなるが、RCA<sub>120</sub>(Gal認識タンパク質)では、第二世代のデンドリマー固定化界面で最も強い相互作用を示す。こうした厳密な糖鎖構造を固定化した薄膜では、病原体の検出には必ずしも適していないが、機能がまだ分からぬようなタンパク質の機能を明らかにするのに適している。

生体中で糖鎖認識性がわかったタンパク質やレクチンはまだ多くないことから、こうした糖鎖認識性について解析するツールが有用な働きを果たすと期待される。

## 6. おわりに

本稿では、糖鎖材料を用いた生体機能性材料への展開について示した。糖鎖は、厳密で重要な生理活性を担う分子群であり、タンパク質と結合することを追及するだけでなく、多くの応用や実用化が考えられる。ここに我々が研究を展開している糖鎖材料については多種多様な可能性が考えられるものの、実用化されているものは少ない。糖鎖材料の機能を、世の中で役立てられるように一層研究に励んでいきたい。

## 引用文献

- 1) M. E. Taylor, K. Drickamer, *Introduction to glycobiology*, Oxford University Press (2003)
- 2) 畑中研一、西村紳一郎、大内辰郎、小林一清、糖質の科学と工業、講談社 (1997)
- 3) (a) M. Mammen, S.-K. Choi, G. M. Whitesides, *Angew. Chem. Int. Ed.* **37**, 2754 (1998) (b) Y. C. Lee, R. T. Lee, *Acc. Chem. Res.* **28**, 321 (1995)
- 4) Y. Miura, *J. Polym. Sci. PartA: Polym. Chem.* **45**, 5031 (2007)
- 5) Y. Miura, N. Wada, Y. Nishida, H. Mori, K. Kobayashi, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **42**, 4598 (2004)
- 6) H. Dohi, Y. Nishida, M. Mizuno, M. Shinkai, T. Kobayashi, T. Takeda, H. Uzawa, K. Kobayashi, *Bioorg. Med. Chem.* **7**, 2053 (1999)
- 7) A. Miyagawa, M. Watanabe, K. Igai, M. C. Kasuya, Y. Natori, K. Nishikawa, K. Hatanaka, *Biomaterials*, **27**, 3304 (2006)
- 8) A. Tsuchida, K. Kobayashi, N. Matsubara, T. Marumatsu, T. Suzuki, Y. Suzuki, *Glycoconjugate J.* **15**, 1047 (1998)
- 9) Y. Miura, K. Yasuda, K. Yamamoto, M. Koike, Y. Nishida, K. Kobayashi, *Biomacromolecules*, **8**, 2129 (2007)
- 10) Y. Miura, Y. Sasao, H. Dohi, Y. Nishida, K. Kobayashi, *Anal. Biochem.* **310**, 27 (2002)
- 11) H. Uzawa, S. Kamiya, N. Minoura, H. Dohi, Y. Nishida, K. Taguchi, S.-I. Yokoyama, H. Mori, T. Shimizu, K. Kobayashi, *Biomacromolecules*, **3**, 411 (2002)
- 12) (a) K. S. Phillips, T. Wilkop, J. J. Wu, R. O. Al-Kayasi, Q. Cheng, *J. Am. Chem. Soc.* **128**, 9590 (2006) (b) P. Vermette, H. J. Griesser, P. Kambouris, L. Meagher, *Biomacromolecules*, **5**, 1496 (2004)
- 13) M. Chikae, T. Fukuda, K. Kerman, K. Idegami, Y. Miura, E. Tamiya, *Bioelectrochemistry*, **74**, 118 (2008)
- 14) R. Sighavi, Kumar, G. P. Lopez, G. N. Stephanopoulos, D. I. Wang, G. M. Whitesides, *Science*, **264**, 696 (1994)
- 15) M. Toyoshima, Y. Miura, *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, **47**, 1412 (2009)
- 16) T. Fukuda, S. Onogi, Y. Miura, "Dendritic Sugar-Microarrays by Click Chemistry", *Thin Solid Films*, in press

# アレルギー物質を含む食品の検査方法

Testing method for Foods containing Allergic Substances

株式会社森永生科学研究所 営業部 齋藤 恵理子

ERIKO SAITO

Sales Division, Morinaga Institute of Biological Science, Inc.

## 1. はじめに

近年食物アレルギー体質を持つ人は増加の一途を辿っており、アレルギー症状を引き起こす物質(以下、アレルギー物質)を含む食品による健康危害が問題視されている。食物アレルギー体質を持つ人にとって健康危害を回避するために何よりも重要なことは、原因となる食物を摂取しないことである。そこで、市販食品を容易に選択できるよう、食品衛生法によりアレルギー物質を含む食品の表示制度が導入された。

平成13年3月21日厚生労働省省令第23号「食品衛生法施行規則及び乳及び乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令」により、症例数及び重篤度を基にして食品素材5品目(卵、乳、小麦、そば、落花生)が、特定原材料として表示を義務付けられた。この制度施行における表示の検証を行うため、特定原材料の検査方法が開発され、平成14年11月に厚生労働省医薬局食品保険部長通知食発第1106001号「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」(以下、通知)により、スクリーニング検査としてエライザ法、確認検査としてウエスタンプロット法とPCR法を用いることが定められた。また本通知により、食品1gあたりの特定原材料由来タンパク質含量が $10\mu\text{g}$ を超える試料は、陽性と判断して指導されることとなった。また、この他に健康被害が見られた19品目が特定原材料に準ずるものとして定められ、可能な限り表示するよう努めることとされた。本表示制度は適宜見直しが行われており、平成16年に「バナナ」が特定原材料に準ずるものとして、また平成20年に「えび」および「かに」が特定原材料として表示を義務

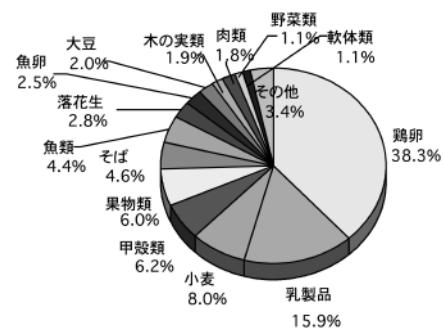
付けられた(なお、えび、かには平成22年6月3日までの猶予期間が有る)。

本稿では、特定原材料の表示制度、特定原材料を含む食品検査の概要と開発について述べる。

## 2. 特定原材料の表示制度

食物アレルギー体質を持つ人は、アレルギー物質を含む食品を微量摂取するだけでアレルギー症状を呈する場合がある。こうした食品による健康被害の防止を目的として、平成13年に「食品衛生法施行規則」及び「乳及び乳製品の成分規格等に関する厚生労働省令」の一部が改正され、平成14年4月から表示制度が完全実施されている。食物アレルギー体質を持つ人はアレルギー物質に関する情報提示を通じて、避けなければならない食品素材を含むのかどうかを判断することで、食品を選択できるようになった。

日本国内の全年齢における食物アレルギーの原因食物を図1に示す。原因食物は、鶏卵(卵)、乳製品(乳)、



平成14年厚生労働科学研究報告書より

図1 全年齢におけるアレルギー原因食物

小麦の順に多く、この3品目で全体の約60%を占めており、次いで甲殻類(えび、かに)、果物、そばと続いている。この中で発症数の多い卵、乳、小麦、えび、かにと、重篤度の高いそば、落花生が特定原材料として定められ、食品中に含まれる特定原材料由来タンパク質が $10\mu\text{g/g}$ を超える場合に表示が義務づけられる。一方、果物などは特定原材料に準ずるものとして可能な限り表示するよう努めることとされている(表1)。

表1 特定原材料と特定原材料に準ずるもの

分類(規定)	名称	理由
特定原材料 (省令)	卵、乳、小麦、えび、かに	症例数が多いもの
	そば、落花生	症状が重篤であり生命に関わるため、特に留意が必要なもの
特定原材料に準ずるもの (通知)	あわび、いか、いくら、オレンジ、キウイフルーツ、牛肉、くるみ、さけ、さば、大豆、鶏肉、バナナ、豚肉、まつたけ、もも、やまいも、りんご	症例数が少なく、省令で定めるには今後の調査を必要とするもの
	ゼラチン	牛肉・豚肉由来であることが多く、これらは特定原材料に準ずるものであるため、既に牛肉、豚肉としての表示が必要であるが、パブリックコメントにおいて「ゼラチン」としての単独の表示を行なうことへの要望が多く、専門家からの指摘も多いため、独立の項目を立てることとする

アレルギー物質を含む食品の表示は、容器包装された加工食品および添加物で、流通過程のものにも義務づけられている。一方で、①食品の容器・包装ではなく運搬容器と見なされる場合、②対面販売や量り売りなど注文を受けたその場で飲食料品を製造、もしくは加工し、一般消費者に直接販売する場合、③容器包装の面積が30平方センチメートル以下の場合、は表示が省略できる。

### 3. アレルギー物質を含む食品の検査方法

食品中に含まれる特定原材料タンパク質を科学的に検証する方法として、免疫測定法やPCR法が開発され<sup>1,2)</sup>、行政機関が行う検査法を統一するため、通知によってスクリーニング検査(エライザ法)と確認検査(ウェスタンブロット法とPCR法)が指定されている(表2)。行政機関では通知に則って検査をし、通知別添の判断樹に従い表示の確認を行い、必要ならば食品メーカーの指導を行う。一方、食品メーカーでは、これらの検査法に加えてイムノクロマト法を使用してアレルギー物質の検査を行っている。

以下、各検査方法について述べる。

表2 ガイドラインに準拠している特定原材料の検査法

検査方法	製造元	キット名
スクリーニング検査 (エライザ法)	㈱森永科学研究所	モリナガFASPEK特定原材料測定キット (卵白アルブミン、カゼイン、小麦グリアジン、そば、落花生)
	日本ハム㈱	FASTKITエライザVer. II シリーズ(卵、乳、小麦、そば、落花生)
	日本製薬㈱	FAテスト EIA-甲殻類「ニッスイ」
	㈱マルハニチロ食品	甲殻類キット「マルハ」
確認検査	ウエスタンプロット法	モリナガFASPEK特定原材料ウエスタンプロットキット (卵白アルブミン、オボムコイド、カゼイン、β-ラクトグロブリン)
	PCR法	オリエンタル酵母工業㈱
		アレルゲンチェックー(小麦、そば、落花生)
	㈱ファスマック	えび検出用プライマー、かに検出用プライマー

### 3.1 スクリーニング検査

スクリーニング検査は定量法を用いて行うこととされており、エライザ法が通知に記載されている。また通知では、検査特性の異なる2種のエライザ法を用いて検査を行うことが記載されている。エライザ法とは、検体中に含まれる微量の目的物質を、抗体と、酵素標識抗体または酵素標識抗原を用いて検出する免疫測定法である。エライザ法の一例を図2に示す。エライザ法は、①抗原を高感度で検出することができ、定量性に優れている、②抗原抗体反応の高い特異性により、目的物質の精製や前処理を省略し粗抽出物で測定できる、③短時間で多数の検体を測定できる、などのメリットがある。通知に従うと、いずれかのエライザ法において食品1g中の特定原材料由来タンパク質含量が $10\mu\text{g}$ を超える場合、通知別添の判断樹で陽性と判定され、特定原材料の表示が必要となる。

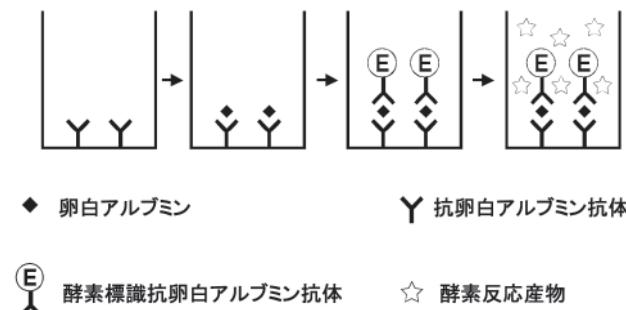


図2 2ステップ・サンドイッチ・エライザ法の原理(例:卵)

通知が公布された平成14年当初の測定法<sup>3)</sup>では加工食品の測定において測定対象タンパク質の回収率が低く、偽陰性となる場合があった。これは、①食品加工の過程における加熱、加圧等の処理に伴い、測定対象タンパク質が変性不溶化し、抽出率が低下する<sup>4,5,6)</sup>、②加工に伴う変性により測定対象タンパク質の構造が変化し、抗体との反応性が低下する、という2つの原因によるも

のであり、より真の含有量に近い測定値を得るために改良が必要だった。

この改良のため、まず抽出液の改良による食品中のタンパク質の高回収率化を目指した。一般に不溶化したタンパク質を溶解させるには、尿素、グアニジン、界面活性剤などの可溶化剤が高濃度で用いられる。しかし、これらの可溶化剤をそのままエライザ法に適用した場合、抗原抗体反応が阻害されるため測定前に希釈する必要があるが、尿素、グアニジンによって一度可溶化したタンパク質は希釈により再度不溶化することが多く、不適であった。一方、強力な界面活性剤であるドデシル硫酸ナトリウム( SDS)は希釈しても可溶化したタンパク質は不溶化せず、エライザ測定に応用できた。また、小麦グルテンや卵白アルブミンのようにSH基を持つタンパク質は、加工中にS-S結合で重合不溶化する場合があることから、S-S結合を開裂し可溶化を促進させるため、SH還元剤である2-メルカプトエタノール( 2-ME)を用いることとし、SDS/2-MEを含む抽出液を開発した。

SDS/2-ME抽出液を用いてタンパク質を抽出した場合、食品中の未変性タンパク質、変性タンパク質いずれも抽出液成分により変性するため、未変性抗原を免疫して作製した抗体では反応性が低く、高感度な測定系を構築することが困難だった。これを解決するために、SDS/2-MEで変性させたタンパク質を免疫し、反応系に適した抗体を用いることで、測定系の構築に成功した<sup>7,8)</sup>。回収率を大幅に改善したエライザ法は、厚生労働省の平成17年11月10日付の改正通知( 食安発第1011002号)に記載された。

通知に準拠しているエライザ法は、卵・乳・小麦・そば・落花生測定においては、( 株) 森永生科学研究所製モリナガFASPEK特定原材料測定キット、及び日本ハム( 株) 製FASTKITエライザVer. IIシリーズ、えび・かにでは( 株) マルハニチロ食品製甲殻類キット「マルハ」及び日水製薬( 株) 製FAテストEIA-甲殻類「ニッスイ」がある。

### 3.2 確認検査( ウエスタンプロット法、PCR法)

行政機関では、通知別添の判断樹に従い、特定原材料の表示がなく、スクリーニング検査で陽性、製造記録で特定原材料使用の記載がない場合には、確認検査を実施することとなっている。確認検査は定性検査を用いて行うこととされており、ウエスタンプロット法、PCR法が通知に記載されている。卵、乳についてはウエスタンプロット法が用いられ、小麦、落花生、そば、えび、かにについては

PCR法が用いられる。ウエスタンプロット法は( 株) 森永生科学研究所製モリナガウエスタンプロットキットが、PCR法はオリエンタル酵母工業( 株) 製アレルゲンチェック( 小麦、らっかせい、そば)、( 株) フアスマック製えび、かに検出用プライマーが通知に記載されている。なお、ウエスタンプロット法については抽出液が平成14年当初の組成であり、加工食品の抽出が十分ではない場合があるため、偽陰性が生じる可能性があった。これを改良し、抽出液をエライザ法と一致させたウエスタンプロットキットが開発され、平成21年7月、( 株) 森永生科学研究所製モリナガFASPEK特定原材料ウエスタンプロットキットがガイドラインに準拠するものとして通知された( 食安発第0724第1号)。

### 3.3 イムノクロマト法

特定原材料の自主検査の一例としてイムノクロマト法が挙げられる。イムノクロマト法はインフルエンザの診断や妊娠検査薬に用いられ、簡便かつ迅速に使用できるため、工場での製造ライン洗浄前後の確認検査やエライザ法に供すべき検体のスクリーニング検査に用いられている。

イムノクロマト法はサンプル溶液を供与した後、判定部のラインの有無を確認することで陽性・陰性を判断する定性試験法である。このラインは、毛細管現象により検体がメンブレン上を移動し、検体中の抗原と着色粒子( 金コロイドや着色ラテックス標識が一般的) 標識抗体および補足抗体の3者により抗原抗体反応複合体が形成されることで出現する。原理を図3に示す。テストステイックの滴下部に測定溶液を滴下すると、着色粒子標識抗体が溶解すると共に測定溶液中に存在する特定原材料由来タンパク質と結合し、複合体を形成する。この複合体は、毛細管現象により移動し、テストステイック中央の判定部に固定化された抗体に補足されて、赤紫色のラインとなって判定

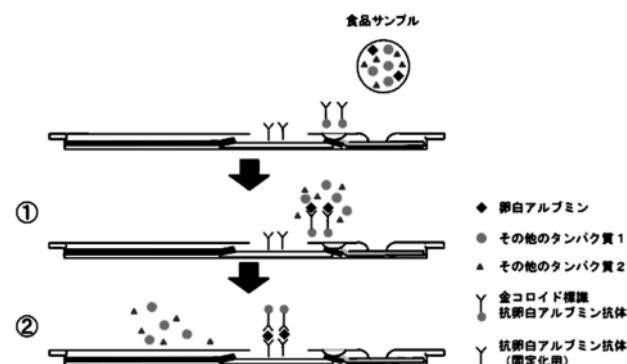


図3 イムノクロマト法の原理(例:卵)

部に現れる。測定溶液中に特定原材料由来タンパク質が存在しない場合は、判定部にラインは現れない。

#### 4. 改良抽出液を用いた測定系の開発

平成20年7月1日にエライザ法で使用している還元剤の2-MEが医薬用外毒物に指定されたため、使用現場での毒物取扱や管理、廃液処理の問題などが生じた。また、2-MEは臭気が強く、以前より食品工場内での使用に抵抗感が出ていた。これらの問題の回避を目的として、我々は新しい抽出液の開発を行った。

新抽出液の開発にあたり、

- ①通知準拠のエライザ法で用いられている抽出液と同等レベルの性能を有する
  - ②使用者にとって安全で使いやすい
  - ③環境負荷が少ない
- という3点を解決することを目標とした。

##### 4.1 新しい還元剤を含む抽出液の開発

SDSは、洗剤や歯磨き粉に使用されており毒劇物にも指定されていないことから環境負荷が少ないと考え、この使用を前提とし、医薬用外毒物である2-MEに代わる還元剤の探索を行うこととした。SDS/2-ME抽出液と同等の効率を有する抽出液を検討するため、各特定原材料タンパク質 $10\mu\text{g/g}$ を含むモデル加工食品をSDSと各種還元剤を含む抽出液で抽出し、(株)森永科学研究所製モリナガFASPEK特定原材料測定キットを用いて回収率を測定した結果、亜硫酸ナトリウムを用いた場合、2-MEを含む抽出液と同等の抽出効率が得られることが示された。次に、SDS、亜硫酸ナトリウムの至適濃度を検討したところ、SDS 0.6%、亜硫酸ナトリウム 100mMが最適濃度であることが明らかとなった<sup>9)</sup>。

亜硫酸ナトリウムと2-MEの法規制・安全性の比較を表3に示す。亜硫酸ナトリウムは食品添加物としても利用され

表3 亜硫酸ナトリウムと2-MEの比較

	2-ME	亜硫酸ナトリウム
適用法令		
消防法	危険物第4類 第2石油類 危険等級3	非該当
毒物及び劇物取締法	毒物 包装等級2	非該当
労働安全衛生法	非該当	非該当
船舶安全法	毒物類	非該当
航空法	毒物	非該当
その他		
国連分類	クラス6.1(毒物)	非該当
急性毒性 経口 ラット	LD50:244mg/kg	LD50:3560mg/kg

ており、このようにして開発された亜硫酸ナトリウムを用いた抽出液は特定原材料測定キットの使い勝手を飛躍的に高めるものとして期待される。

##### 4.2 SDS/亜硫酸ナトリウム抽出液を用いた短時間エライザ法の開発

通知に準拠しているエライザ法は、検査結果を得るまで足かけ2日間を要するため、検査時間の短縮が望まれている。この2日間とは、①12時間以上のサンプル抽出液調製時間と、②2時間程度のエライザ操作時間より成る。検査時間の大幅な短縮化には抽出液調製の時間短縮が不可欠と考え、抽出液調製の短時間化に開発の焦点をあてた(以下短時間抽出法と略)。短時間抽出法は図4に示すように、12時間以上の往復浸とうによる抽出作業を①ボルテックスミキサーで30秒間攪拌し検体を均質に分散後、②100°Cの湯浴で10分間加熱する方法を行った。通知準拠の方法と、SDS/亜硫酸ナトリウム抽出液を用いた短時間抽出法を用いて特定原材料タンパク質 $10\mu\text{g/g}$ を含むモデル加工食品の回収率を比較した結果を図5に示す。SDS/亜硫酸ナトリウム抽出液を用いた短時間抽出法は、通知準拠の方法と同等の抽出効率が達成され、短時間抽出法が適応可能なことが示された<sup>9)</sup>。

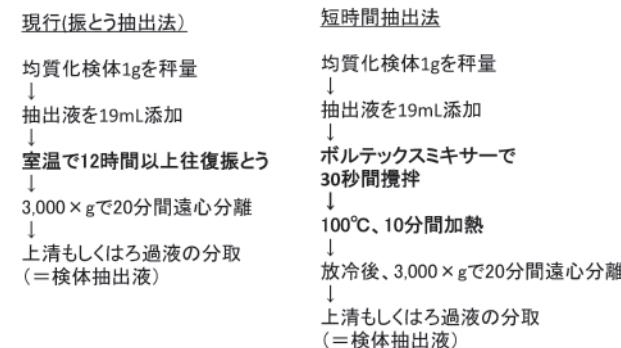


図4 抽出法の比較

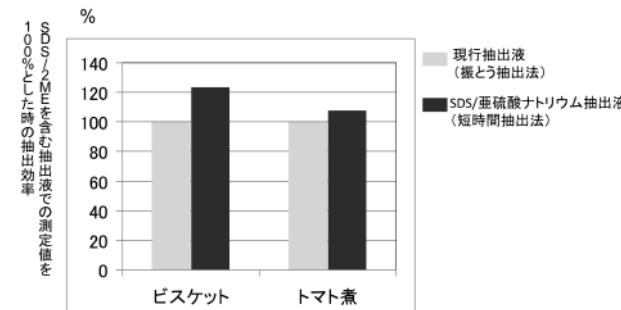


図5 SDS/亜硫酸ナトリウム抽出液による短時間抽出法の検討

### 4.3 SDS/亜硫酸ナトリウム抽出液を用いたイムノクロマト法の開発

我々の現行のイムノクロマトキットは、改良前のエライザ法と同じ抽出液を使用しているため回収率が低く、偽陰性判定となる場合があった。また、SDS/2-ME抽出液は金コロイドを用いたイムノクロマトに適用すると、偽陽性反応を示すため応用することはできなかった。この偽陽性反応回避を目標として、先ほど述べた通知準拠と同等の結果を得られるSDS/亜硫酸ナトリウム抽出液を検討した。

まず、SDS/亜硫酸ナトリウム抽出液により偽陽性反応が示されるかどうか検討したところ、判定部にラインの出現は確認されず、使用可能と判断された。

次に、市販食品3種類について、現行のイムノクロマト法とSDS/亜硫酸ナトリウム抽出液を用いた新イムノクロマト法、通知準拠のエライザ法を用い小麦タンパク質を測定した結果を図6に示す。現行のイムノクロマト法では小麦を含む食品であるにもかかわらず偽陰性と判定されたが、SDS/亜硫酸ナトリウム抽出液を用いた新イムノクロマト法では偽陰性ではなく、さらに通知準拠のエライザ法による測定値とも良い相関を得ることができた<sup>10)</sup>。

食品名	現行イムノクロマト法	新イムノクロマト法	通知準拠 エライザ法
プリン	陰性	陰性	<0.31 µg/g
レトルトソース	陰性	陽性	8.0 µg/g
固形スープ	陰性	陽性	>20 µg/g

図6 SDS/亜硫酸ナトリウム抽出液を用いた新イムノクロマト法の検討

現行のイムノクロマト法は、原材料や未加工食品の製造ラインの洗浄確認等に用いられているが、この度我々が開発したSDS/亜硫酸ナトリウム抽出液を用いる新イムノクロマト法は、今まで測定が困難だった以下の工程でも用いられると考える。

- ①加工された中間製品、最終製品中の特定原材料の確認
- ②加工食品製造ラインの洗浄確認

SDS/亜硫酸ナトリウム抽出液を広く用いることで、未加工原材料から高度に加工された最終製品まで応用可能なイムノクロマト法が開発されたこととなり、工程管理が容易となり、最終製品への特定原材料混入のリスクを大幅に減らすことが可能になると考える。

### 5. まとめ

アレルギー物質を含む食品の検査は、抽出液の改良や使用する抗体の調製法の改良により偽陰性反応が減少し、検査精度が大幅に向上した。このことにより、特定原材料管理のレベルが向上し、食物アレルギー体質を持つ人へ、より正確な情報を提供することが可能となった。

一方で、食品メーカーでは、入手可能なデータを基にしていかに食品中の特定原材料を管理していくかが重要となる。そのためには最終製品での特定原材料タンパク質の含量確認はもちろんのこと、原材料や中間製品での混入、ライン切り替え時の汚染など全工程で発生するリスクの改善が必要である。各検査法を活用し、効率のよい工程管理の手法を構築することが、安定な製造、さらには企業価値の向上につながると考える。

### 引用文献

- 1) Fergus M. Clydesdale *et al.*, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **32**(3), 197-229, (1992)
- 2) R. E. Poms *et al.*, *Food Additives and Contaminants*, **21**(1), 1-31, (2004)
- 3) 本庄勉: *食品工業*, **45**(14), (2002)
- 4) Carmen D. Westphal *et al.*, *Journal of AOAC International*, **87**(6):1458-1465, (2004)
- 5) Roland E. Poms *et al.*, *Mol. Nutr. Food. Res.*, **48**, 459-464, (2004)
- 6) Christiane K. Faeste *et al.*, *Journal of AOAC International*, **90**(2), 427-436, (2007)
- 7) Y. Watanabe *et al.*, *Journal of Immunological Methods*, **300**, 115-123, (2005)
- 8) 油谷賢一 他: *アレルギーの臨床*, **26** (6), 72-77, (2006)
- 9) 伊東花織 他: 第97回日本食品衛生学会学術講演会, (2009)
- 10) 鶴間理恵子 他: 第15回日本食品化学学会総会・学術大会, (2009)

# 胃型粘液を発現する病変:子宮・肺・卵巣・膵胆道系

Various lesions expressing gastric phenotypes; uterus· lung· ovary· pancreatic-· bile duct

市立岡谷病院病理診断科 石井 恵子

KEIKO ISHII

Division of Diagnostic Pathology, Okaya City Hospital

## 1. はじめに

著者は長年、体中の粘液細胞の研究を組織化学的に行って参りました。そうしましたところ、胃以外で胃型の粘液を発現している病変に出会い報告して参りました。なぜ“胃型”にこだわるのかと言いますと、胃型の病変は異型が乏しく病理診断の際見過ごされてしまいがちですが、胃の粘液というのは体内で唯一中性であり、組織化学染色を行うと一目瞭然となるからです。さらに胃固有腺粘液の特異糖鎖に対する抗体を利用した凝集反応を開発し、より簡単に胃型粘液を検出する方法を完成させましたので合わせて紹介致します。

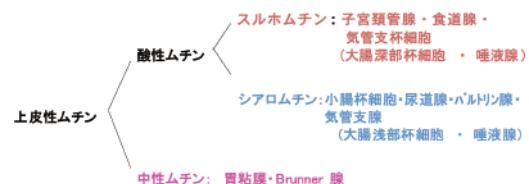
## 2. 粘液とは

粘液とは生化学的には糖とタンパク質が結合した複合糖質であり、組織化学的には酸性度の違いから中性ムチンと酸性ムチンに分けることができます。酸性であった場合は、さらにシアロムチンと硫酸基を持つスルホムチンに分けられます。3者は組織化学染色である Alcian blue pH2.5/PAS (AB/PAS) および High iron diamine/Alcian blue pH2.5 (HID/AB) により染め分けが可能です。粘液のうち正常組織で中性を示すのは胃粘膜と十二指腸のブランナー腺のみで(図1)、迷入・反応性(化生)のものを含めても従来は消化管系である食道・小腸・膵胆道上皮に限られていました。

## 3. 胃型の粘液とは

胃粘膜は形態的には表層粘膜と固有腺という2方向分化を示すのが特徴で、化生や腫瘍ではこれを類器官分化と呼び、この構造が見られたら胃型の形質発現が疑

えます。機能的には表層粘膜からは表層細胞型ムチンが、固有腺からは幽門腺細胞型ムチンという性状の異なる2種類の粘液が分泌されています。これらはどちらも中性であるため AB/PAS では赤紫に染まり区別ができませんが、表層細胞型ムチンは PAS 変法の galactose oxidase cold thionin Schiff (GOCTS) および MUC5AC に反応し、一方、幽門腺細胞型ムチンはレクチン染色の paradoxical Concanavalin A staining (PCS) で III 型の反応を示し、HIK1083 (関東化学) や MUC6 が陽性となります(図2)。ちなみに MUC5AC, MUC6 等の MUC シリーズはコアタンパクに対する抗体で、特異糖鎖に対する抗体である HIK1083 と異なりどちらも胃に特異的と言う訳ではありません(写真3、20ページ)。



糖鎖染色法  
(3者の鑑別)  
AB/PAS: 酸性ムチン(青~水色)と中性ムチン(赤紫)の染め分け  
HID/AB: スルホムチン(黒褐色)とシアロムチン(水色)の染め分け  
(写真1: 胃粘膜 AB/PAS、写真2: 大腸粘膜 HID/AB)

図1 上皮性ムチンの組織化学的分類と正常組織における分布

### 形態:表層粘膜と固有腺の2方向分化

(化生や腫瘍では類器官分化:  
Organoid differentiation と言う)

### 機能:表層細胞型ムチンと幽門腺細胞型ムチン\*

(GOCTS, MUC5AC +) & (PCS, HIK1083, MUC6 +)

→ 中性ムチン (AB/PAS で赤紫、パラニコロウで黄色)

\* 幽門腺細胞型ムチン: 幽門腺・噴門腺・副細胞・Brunner 腺

図2 胃型の形質発現とは…

#### 4. 胃型の形質発現を示す病変

胃以外で胃型の形質を発現する病変・変化としては、十二指腸や小腸の再生上皮、胰胆道系の幽門腺化生/過形成/腺腫/腺癌、卵巣の粘液性囊胞腺腫/腺癌<sup>1)</sup>、粘液性肺胞上皮癌<sup>2)</sup>および子宮頸部の胃上皮化生/過形成(写真4<sup>3)</sup>、20ページ)/悪性腺腫<sup>4)</sup>等があります。このうち肺・子宮頸部は細胞診でのスクリーニングの対象となることが多い部位で特に重要です。これらの病変であった場合、胃型であるが故に出現する細胞には共通の特徴があります。第一に、粘液含有量が乏しく異型が明らかで浸潤を示す腺癌であっても、程度の差はあれ化生としか表現ができない異型を欠く腺管や腺腫様の異型が軽度な腺管と共存することが多いという事。第二に、健常の胃が腸上皮化生を起こすのと同様、しばしば杯細胞が特徴的な腸型の腺管の共存を認めるという点です。

#### 5. 胃型粘液細胞/腺管の特徴

##### 5.1 共通の特徴

形態的には胃型の形質を発現する粘液細胞/腺管は、悪性のものであっても異型が乏しいことが特徴で、強拡でその細胞あるいは腺管だけ見たら癌であると断言できない事がしばしばあります。具体的には核/細胞質(N/C)比が低いことが大きな要因で、浸潤性増殖や転移をもってしないと悪性と言えない症例が存在します。(子宮頸部の悪性腺腫がその典型:写真5、20ページ)。ところが組織化学的には、化生細胞は中性ムチンを含むためAB/PASで赤紫に、細胞診で用いるパパニコロウ(Pap)染色では黄色調に染まるのに対し、腫瘍化するとシアロムチンが発現して来るためAB/PASでは青味が増し、Pap染色ではオレンジ調となります<sup>5)</sup>(写真6、20ページ)。この様に形態に組織化学所見を加味するとより正確な細胞の同定が可能となります。

##### 5.2 子宮頸部

元来粘液細胞で覆われた子宮頸管上皮は、シアロムチンと同じ酸性ムチンであるスルホムチンを優位に含むためAB/PASやPap染色の色が腫瘍化腺管と類似して見えます。ところが染色性を良く見ると頸管腺はAB/PASで細胞質内及び頸管に分布する腺がびまん性均一に染まるのに対し、腫瘍化すると粘液顆粒が変形・減少するため<sup>6)</sup>、腺管同士あるいは細胞質内においてもしばしば染色性が不均一となる点が鑑別のポイントです。ちなみに子宮腔/頸部細胞診にて良

悪を問わず胃型粘液が検出される頻度は0.013%でした<sup>7)</sup>。

##### 5.2.1 胃上皮化生

Pap染色において、子宮腔部や頸管部のスメア上にピンク調で異型の無い頸管腺粘液細胞と同時に黄色調粘液細胞が出現している場合をtwo-color pattern<sup>8)</sup>(写真6、20ページ)と言い、その黄色調粘液細胞に異型が無くてもスクリーニングで拾い上げる必要があります。ただし、黄色調の粘液細胞集塊が単独で見られる場合は染色液の問題もあり、すぐに胃上皮化生様細胞と断定することはできません。組織上ではAB/PASを行うと赤紫に染まり青く染まる頸管腺との違いが一目瞭然ですが、HE染色でも良く見ると頸管腺と胃上皮化生腺管とは細胞質の染色性にtwo-color patternが見られ、前者は好塩基性で灰色調ピンクに見えます。

##### 5.2.2 Lobular endocervical glandular hyperplasia(LEGH)

1999年に提唱された子宮頸管腺の過形成<sup>9)</sup>ですが、既存の頸管腺の単なる過形成で無く、前述の胃上皮化生細胞あるいは腺管が肉眼的に認識できる面積(組織標本上)あるいは体積(画像上)を持って限局性に増殖した病変で、小葉構造と表現される胃粘膜の類器官分化を示すことが特徴です。つまり導管様の大型拡張腺管と、それを取り囲む様に小型腺管が小葉状に分布します。前者が胃の表層粘液細胞を、後者が固有腺(幽門腺)細胞を模倣しており、AB/PASでは一様に赤紫に染まり、HIK1083は後者でしばしば陽性となります<sup>10)</sup>。子宮においては「腺腫」と言う独立した概念が無く、シアロムチンの発現を伴う軽度異型が見られるものを現在は異型LEGHあるいは異型化生と診断していますが、他の部位に発生する胃型病変と同様に腫瘍化と考えるべきで、分子生物学的な研究からも悪性腺腫の前駆病変の可能性が指摘<sup>11)</sup>されています。

##### 5.2.3 悪性腺腫

1870年に独のGusserowにより初めて記載された異型が乏しいにも関わらず予後不良とされてきた特異な腫瘍ですが1998年に著者は、胃型の形質発現を示し異型を欠く胃上皮化生様腺管や一部に異型が明らかとなった癌化や浸潤を伴う<sup>12)</sup>ことを報告しました。異型が乏しいため浸潤性発育あるいは転移を持ってしないと悪性と診断できないこともあります。形態的には異型が乏しくても上記の通り粘液の性状で胃上皮化生あるいは頸管腺と鑑別ができますが、胃上皮化生が共存している場合も少なく無く、表面の細胞診あるいは組織診だけで診断をつける事は困難です。N/C比が低くても乳頭状構造や粘液顆粒の減少が見られたら少なくとも腺腫を考えます。HIK1083

と特異的に反応する胃のムチンは、悪性度が増すにつれて乏しくなります。頸管腺、幽門腺化生腺管および悪性腺腫の組織化学所見を図3、写真7(21ページ)にまとめました。

### 5.3 肺

胃型の形質発現をする肺癌(写真8、21ページ)は肺胞領域に発生するので組織学的には気管支腺および気管支杯細胞との鑑別は容易です。一方、擦過・洗浄と言った気管支・肺胞細胞診では気管支杯細胞との鑑別が問題となります。この場合、集塊中に纖毛上皮が介在し粘液がPap染色でピンク調であれば気管支杯細胞、異型が乏しくても黄色調の一様の粘液細胞であれば胃型肺癌を疑います(写真9、21ページ)。肺の場合は子宮頸部と違い胃上皮化生を独立させていないので、成人でHIK1083が陽性であれば癌と診断できます。このタイプの癌は細気管支肺胞上皮癌の形態をとり、進行しても腫瘍形成をし難いため画像上は炎症との鑑別が困難です。さらに経気道性播種を肺内に来たし易く、再発もしばしば見られるという特徴を持ちます。粘液型肺胞上皮癌の約6割はこのタイプです。

### 5.4 卵巣

卵巣に発生する粘液性腫瘍の約6割に胃型粘液の形質発現(写真10、21ページ)が見られます。粘液性囊胞腺腫の場合、内頸管腺型との鑑別は、腸型の杯細胞の混在を認めれば胃腸型である場合が多く、杯細胞が無くても類器官分化を示せば胃型で、一見内頸管腺型に見えてもAB/PASで粘液の染色性が多彩であれば胃型の可能性が高く、HIK1083が陽性であれば間違ひ無く胃型です。

### 5.5 腹膜偽粘液腫

しばしば卵巣由来か虫垂由来かが問題となりますが、虫垂由来のものは胃型の形質発現が無いため、胃型の形質発現が見られたら卵巣由来と考えることができます。

### 5.6 膵胆道系

胆囊を除く膵胆道系(Vater乳頭部、総胆管、肝門部胆管、極度太い膵管、胆囊管など)には元々胃型の形質発現を示す附属粘液腺が存在します(HIK1083陽性)が、AB/PASで純粋な中性を示すことは少なく、酸性ムチンであってもすぐに腫瘍性と考えることはできません(中性であれば腫瘍は否定的)。

## 6. HIK1083 標識ラテックス凝集反応<sup>13)</sup>

細胞自体が含まれていなくても、胃幽門腺型粘液細胞から分泌された粘液が含まれていれば免疫染色よりも容易に胃

型粘液を証明することができます(写真11、21ページ)。ただし、陽性であっても良悪の鑑別はできません。子宮頸部の分泌物の他に喀痰・胸水・腹水でも検査ができます、特に担癌患者の胸腹水で陽性であった場合には癌の播種を指摘できます。

## 7. おわりに

胃以外で“胃型”的性格を示す病変を紹介してきましたが、本家本元の胃の腫瘍(腺腫・癌)は実は“腸型”が多く、加齢とともに起こる化生も“腸型”というのが逆に興味深い事実です。

## 引用文献

- Shiozawa, T., Tsukahara, Y., Ishii, K. et al. Histochemical demonstration of gastrointestinal mucins in ovarian mucinous cystadenoma. *Acta Pathol*, **42**:104-110 (1992)
- Honda, T., Ishii, K., Ota, H. et al. Mucinous bronchioloalveolar carcinoma with organoid differentiation simulating the pyloric mucosa of the stomach. Clinicopathological, histochemical and immunohistochemical analysis. *Am J Clin Pathol*, **109**:423-430 (1998)
- 石井恵子. 子宮頸部腺癌の診断と治療- 扁平上皮癌とどう異なるのか?(病理診断)子宮頸部悪性腺腫の新しい見方 その解釈とスクリーニング法、および診断の進め方. 産科と婦人科, **69**:1161-1166 (2000)
- Gusserow, A.L.S. Ueber Sarcoma des Uterus. *Arch Gynakol*, **1**:240-251 (1870)
- Ishii, K., Katsuyama, T., Ota, H. et al. Cytologic and cytochemical features of adenoma malignum of the uterine cervix. *Cancer-Cytopathology*, **87**:245-253 (1999)
- Ishii, K., Hidaka, E., Katsuyama, T. et al. Ultrastructural features of adenoma malignum of the uterine cervix -Demonstration of gastric phenotype-. *Ultrastruct Pathol*, **23**:375-381 (1999)
- 石井恵子 他. 子宮頸部擦過細胞診に出現した黄色調粘液細胞の頻度と臨床病理学的意義. (抄録) 日臨細胞誌, **39**:149 (2000)
- 石井恵子 他. 異型のない黄色粘液細胞の出現が発見のきっかけとなった子宮頸部悪性腺腫の2例. 日臨細胞誌, **39**:99-103 (2000)
- Nucci, M.R., Clement, P.B., Young, R.H. Lobular endocervical glandular hyperplasia, not otherwise specified: a clinicopathologic analysis of thirteen cases of a distinct pseudoneoplastic lesion and comparison with fourteen cases of adenoma malignum. *Am J Surg Pathol*, **23**:886-891 (1999)
- Ishii, K., Ota, H., Katsuyama, T. Lobular endocervical glandular hyperplasia represents pyloric gland metaplasia? *Am J Surg Pathol*, **24**:325 (2000)
- Kawauchi S., Kusuda T., Liu XP. et al. Is Lobular Endocervical Glandular Hyperplasia a Cancerous Precursor of Minimal Deviation Adenocarcinoma? A Comparative Molecular-genetic and Immunohistochemical Study. *Am J Surg Pathol*, **32**:1807-1815 (2008)
- Ishii, K., Hosaka, N., Toki, T. et al. A new view of so-called adenoma malignum of the Uterine Cervix. *Virchows Arch*, **432**: 315-322 (1998)
- Ishii, K., Kumagai, T., Kurihara, M. et al. New screening method for adenoma malignum: latex agglutination test with a new monoclonal antibody, HIK1083. *Clin. Chim. Acta*, **312**:231-233 (2001)

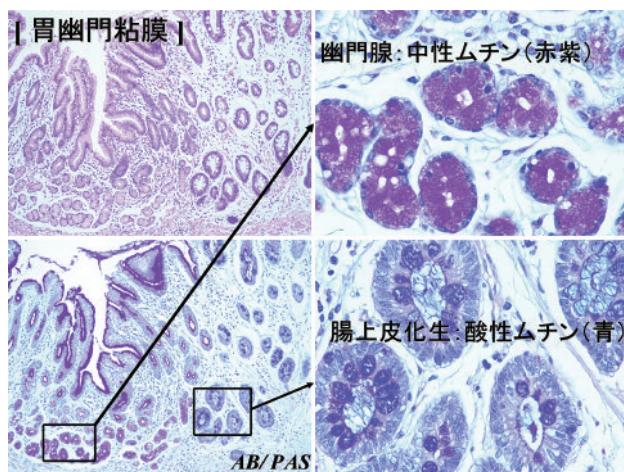


写真1 胃粘膜 AB/PAS

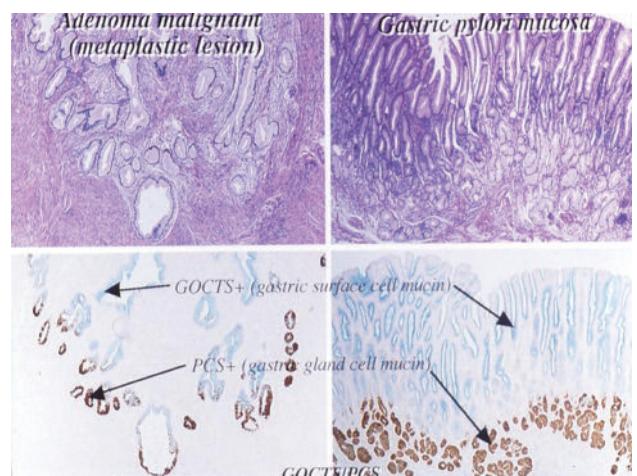


写真4 幽門粘膜(右)様類器官分化を示す子宮頸部病変

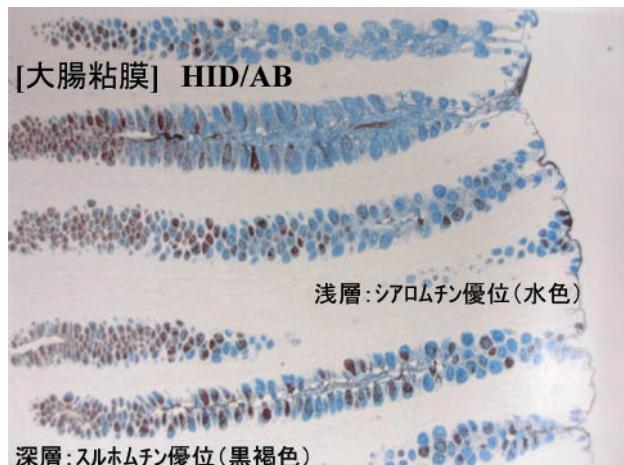


写真2 大腸粘膜 HID/AB

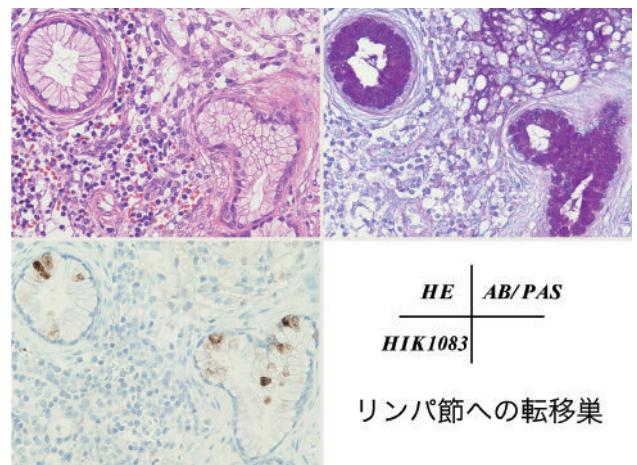


写真5 リンパ節へ転移した子宮頸部悪性腺腫

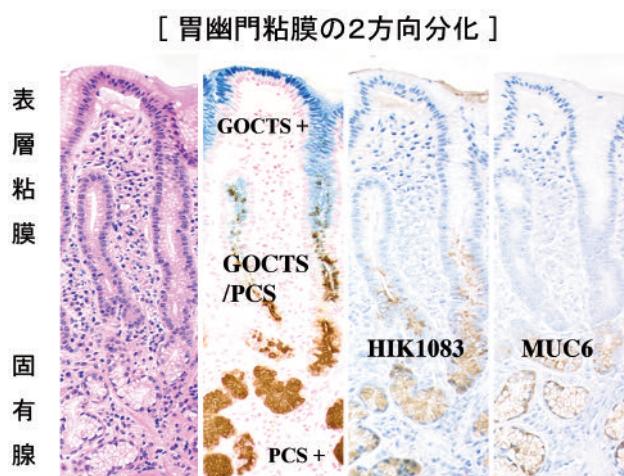


写真3 胃幽門粘膜の2方向分化(HE, GOCTS/PCS, HIK1083, MUC6)



写真6 AB/PASとパパニコロウ染色

	頸管腺	幽門腺化生	腺腫
HE	好塩基性	好酸性	淡明
AB/PAS	青	赤紫	赤青混在
HID/AB	黒褐色	—	水色
HIK1083	—	++(D)*	+(F)*~—
パパニコロウ	ピンク	黄色	オレンジ
ムチンの性状	スルホムチン(酸性)	中性ムチン	シアロムチン(酸性)

\* D: diffuse, F: focal

図3 頸管腺・幽門腺化生腺管・腺腫の組織化学

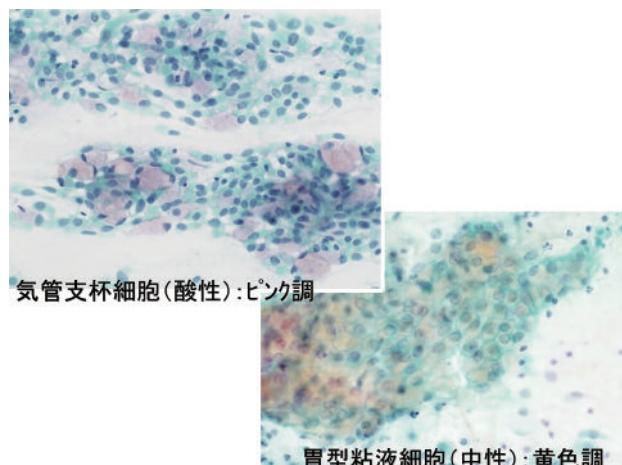


写真9 気管支擦過細胞診(パパニコロウ染色)

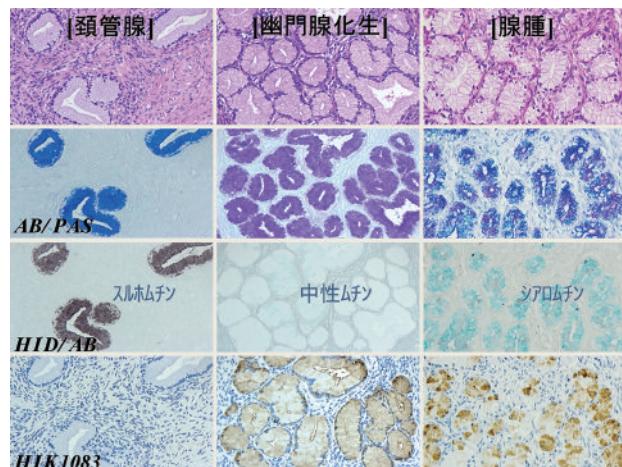


写真7 子宮頸管腺・幽門腺化生・腺腫の染色性

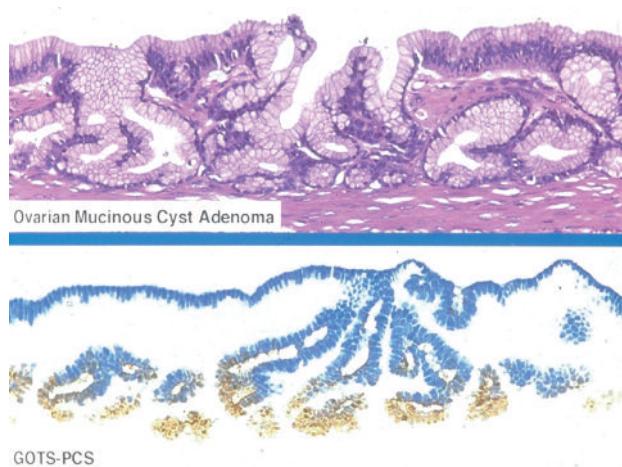


写真10 卵巣の粘液性囊胞腺腫の染色像

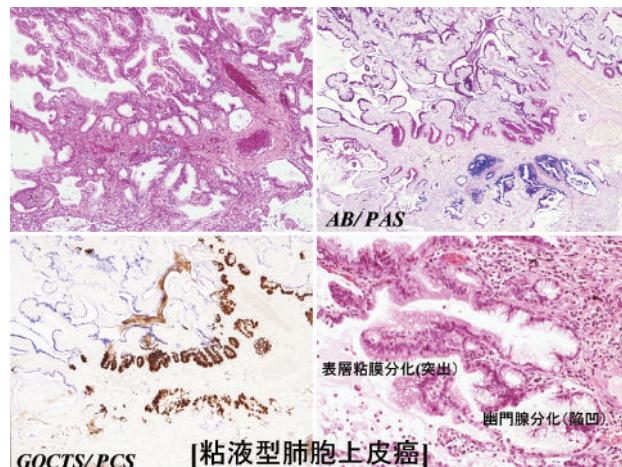


写真8 粘液型肺胞上皮癌の染色像

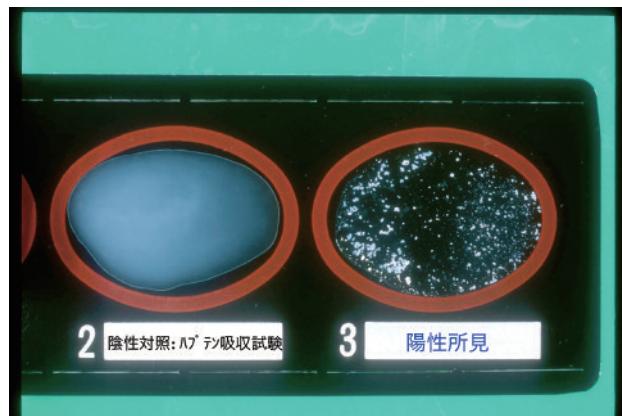


写真11

# ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(27) ルドルフ・フィルヒョウ

*Scientists and Engineers in German Stamps (27). Rudolf Virchow*

筑波大学名誉教授 原田 鑑  
KAORU HARADA

*Professor Emeritus, University of Tsukuba.*



シャルテーの医学歴史博物館に展示されているフィルヒョウの肖像画  
シャルテー (Charite) : 現在はベルリン・フンボルト大学に属す。広大な敷地の中にさまざまな医学研究・医療関連施設を持ち、300年の歴史を誇るドイツ最大の医学コンプレックス。



ヨハネス・ミューラーの肖像写真

## ルドルフ・フィルヒョウ

ルドルフ・フィルヒョウ (Rudolf Virchow, 1821-1902)、ドイツの生理学者、病理学者、政治家。

フィルヒョウは、19世紀後半のドイツにおける医学関連の学問の発展期に活躍した科学者であった。彼の専門領域は解剖学、生理学、病理学、公衆衛生学、社会医学、人類学などであり、細胞病理学の基礎を作った人であった。政治的には自由主義者であり、プロイセン政府に異を唱えた。

フィルヒョウは、ヘルムホルツと同様にベルリンの陸軍軍医学校に学び、ベルリンの医学コンプレックスであるシャルテーで研究を行い、ベルリン大学講師を経て、ヴュルツブルク大学病理学教授となり、次でベルリン大学病理学教授となった。1862年には政治家を志し、時の宰相ビスマルクの軍国主義的政治に強く反対した。1863年にはドイツ人類学会を設立し、またすべての病気は細胞の形態的、機能的、栄養的変化によるものであると考え「すべての細胞は細胞から」と云う細胞病理学説を唱えた。フィルヒョウは、このように学問の領域においても、また一般社会または政治の世界においても言動が積極的な自由主義者であった。ビスマルクは、フィルヒョウのあまりに激しい政治的攻撃に怒り、フィルヒョウに対して決闘を申し込んだほどであった。

ベルリンのシャルテーにある病理学研究所は、戦後フィルヒョウが集めた資料を展示していたが、1997年頃から「医学歴史博物館」と改名して展示している。種々の興味ある資料の展示があるが、素人には気持ちの悪くなるような資料の展示もある。フィルヒョウの病理学の講義室が爆撃で破壊されたまま完全には修復されず、講義室として保存されている。これは連合軍が病院を爆撃したことに対する無言の抗議である。

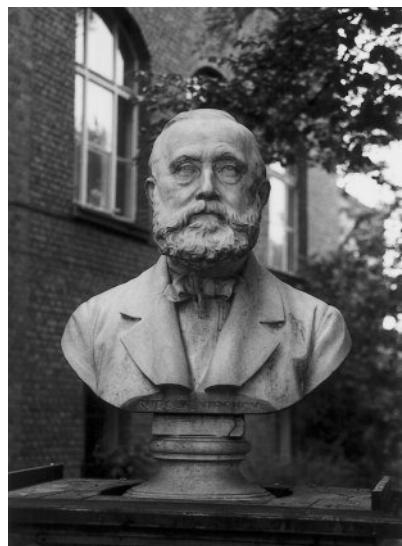
シャリテーの南門の小広場に、フィルヒョウの大きな記念碑(戦う男の像)がある。フィルヒョウの墓はベルリンのアルター聖マティウス教会墓地(Alter St. Matthaus Kirchhof)にあり、墓石は暗色の大きな石板であり、鉄の柵で囲まれている。

ドイツにおける19世紀の病理学の創始者ヨハネス・ミューラー(Johannes Muller, 1801-1858、生理学者)についても一言したいと思う。ミューラーは、ライン河畔の都市コブレンツに生まれた。聖職者になろうとしたが、生理学を専攻し、広範な領域について学び、研究を行った。特に「視」神経の研究を行い大きな成果を得た。フィルヒョウはミューラーの弟子の一人であった。

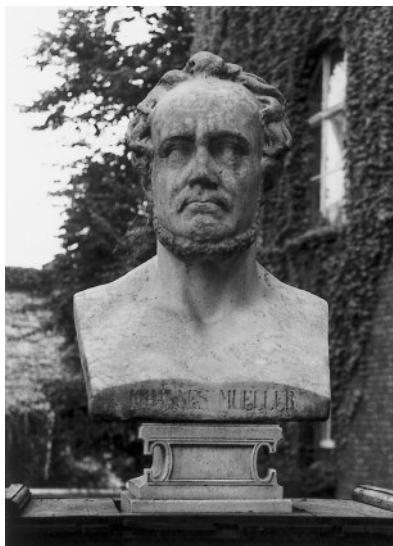
ミューラーは、フィルヒョウと同じシャリテーで研究を行いベルリン大学の教授であった。東ドイツが西ドイツに統一されるまでシャリテーの病理学教室の前にはミューラーとフィルヒョウの大理石の胸像が向き合って設置されていたが、今は風化を避けて両者とも屋内に保存されている。

ミューラーは、実験的客観的な生理学教科書を著作し、新しい生理学の成立に貢献した。教育者としても優れた人物であり、ミューラーの学生にはフィルヒョウのほか、T. シュヴァン( Theodor Schwann, 1810-1882)、デュ・ボア・レイモン(Emil Du Bois-Reymond, 1818-1896)、H. ヘルムホルツ(Hermann Helmholtz, 1821-1894)ら高名な生理学の建設者がいた。

※本稿に掲載の写真は、著者の撮影によるものである。



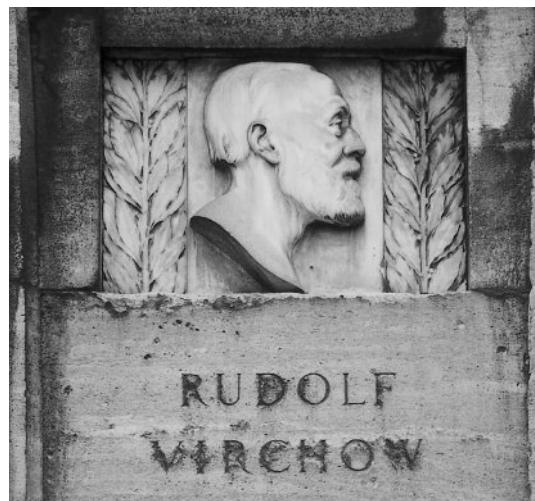
1990年頃まで病理学教室前に立っていたフィルヒョウの大理石像。現在は医学歴史博物館の室内に保存されている。



病理学教室前にフィルヒョウの胸像と向かい合って立っていたミューラーの大理石像



ベルリン、アルター聖マティウス教会墓地のフィルヒョウの墓



フィルヒョウのレリーフ(シャリテー南門のはずれのルイーゼン通りにある戦う男の像の台座に刻まれている)



シャリテーに展示されている解剖を担当しているフィルヒョウの銅版画

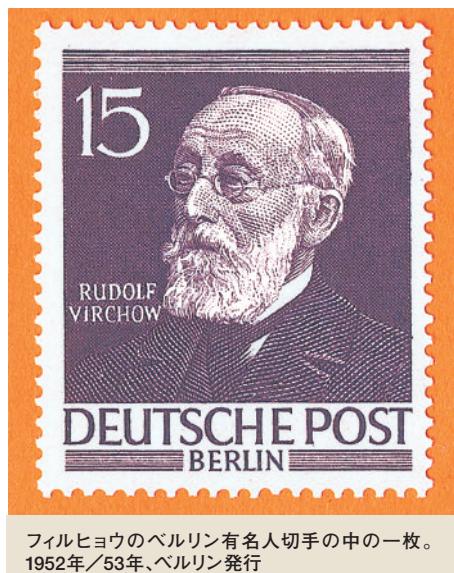
## ドイツの切手に現れた科学者、技術者達(27) ルドルフ・フィルヒョウ



ベルリン、シャリテー設立250年記念切手。1960年、DDR発行



シャリテー南門のはずれのルイーゼン通りにある戦う男の像は病気と医学を象徴している



フィルヒョウのベルリン有名人切手の中の一枚。1952年/53年、ベルリン発行



フィルヒョウ生誕150年記念切手。1971年、DDR発行



ベルリン、自然博物館の2階部分に立っているミューラーの立像

### 表紙写真

#### ヒメサユリ (姫早百合・ユリ科ユリ属)

ヒメサユリは、背丈が50cm前後。6月から7月にかけ、ピンクの美しい花を咲かせる群生は見事で、その可愛らしさから大変人気があります。自生地は新潟、山形、福島、宮城県のごく限られた山地のみで、昭和30年代までは大きな群生が見られたものの、今では絶滅危惧種にも指定され、各自治体でもさまざまな繁殖・保護活動が行なわれています。表紙写真は新潟・福島県境の浅草岳(あさくさだけ・1586m)頂上付近での撮影ですが、各地の花の時期には多くの愛好者が訪れています。(写真と文 北原音作)

### 編 集 後 記

シルバーウィーク、今年は思わぬかたちで5連休となりましたが、読者の皆様はいかが過ごされましたか。春のゴールデンウイークに対して、敬老の日を含む連休であったためシルバーウィークとしましたとの話もあるようです。

さて、次のシルバーウィークの連休は、何時になるのでしょうか。秋分の日が、国立天文台での天文計算によって決められる休日ですので、あくまで予測ですが5連休とすると、次は2015年、その次は2026年まで待たなければならないようです。これではシルバーウィークと呼ぶより、プラチナウイークとしたほうが良いのかもしれません。

本誌は、1950年3月の第1号発行以来、来年で

創刊六十周年を迎えます。論語では六十は、「耳順」(理にかなうことなら、聞いてすぐ理解できること)とされています。ケミカルタイムズも六十周年に向けて、より分かり易い内容でお届けできるよう一層努めてまいります。

本号では、DNA、タンパク質に次ぐ第3の生体成分として、関心を集めています糖鎖に関するいくつかの論文を掲載させていただきました。今後とも、本誌をご愛顧戴きますようお願いします。

なお、掲載を予定していました「新しい銀イオンクロマトグラフィー用HPLCカラム“Silver column KANTO”」の開発(2)は、次号に掲載させていただきます。



関東化学株式会社

〒103-0023 東京都中央区日本橋本町3丁目2番8号  
電話 (03)3279-1751 FAX (03)3279-5560  
インターネットホームページ <http://www.kanto.co.jp>  
編集責任者 築島 功 平成21年10月1日 発行

「無断転載および複製を禁じます。」