

THE

CHEMICAL TIMES

ISSN 0285-2446

KANTO CHEMICAL CO., INC.

2002 No. 2 (通巻184号)



目 次

ミルクオリゴ糖（乳中少糖）の比較生化学（Ⅸ）	齋藤 忠夫	2
化学構造的特徴とその利用性	浦島 匡	
農業分野で簡易分析計をさらに活用へ	鈴木 則夫	7
Ⅱ 簡易小型反射式光度計（RQ フレックス）を用いた作物・土壌の簡易測定法 その2		
魚の寄生虫の話（その3）	福田 芳生	13
寄生性扁形動物とその生態		
粘液とムチン（その3）	栗原 誠	20
ムチンの多様性をめぐって		

編集後記	24
------	----

ミルクオリゴ糖（乳中少糖）の比較生化学（IX）

—— 化学構造的特徴とその利用性 ——

東北大学大学院農学研究科 教授 農学博士 齋 藤 忠 夫
帯広畜産大学畜産学部 助教授 農学博士 浦 島 匡

1. はじめに

哺乳動物の分泌するミルクは、泌乳初期に限定されて生合成・分泌されるものを「初乳 (colostrums)」と呼んで、常乳 (normal milk) とは区別している。とくに、初乳には多種多様な化学構造をした「ミルクオリゴ糖 (milk oligosaccharides)」と呼ばれる糖質 (炭水化物) が遊離の状態で存在する。ミルク中の含有量は初乳期に多く、常乳期に近づくにつれて激減するが、ヒトではその低下があまり認められない。これまでに本シリーズでは、ヒト¹⁾、ウシ²⁾、ウマ³⁾、ヒツジ^{3,5)}、ヤギ⁴⁾、イヌ⁶⁾ およびカモノハシ、ワラビー⁷⁾ らのミルクオリゴ糖を比較生物学的に考察することで、哺乳動物類の最大の特徴であるミルクの重要性を考察してきた。人乳 (ヒトミルク) には、これまでに実に100種類近くのミルクオリゴ糖が全泌乳期に渡って存在することが、明らかにされている¹⁾。しかし一般的には、本成分は多くの動物種において泌乳の初期の非常に短い時期に限定されて多く分泌されるので、とくに生物の初期成長に必要であることが強く示唆される。ミルクオリゴ糖には、乳仔腸管内の有用細菌であるビフィズス菌に対する特異的増殖活性、また有害微生物の排除や毒素の中和作用などの感染防御活性が知られているが、その生合成理由と生理機能の全貌はいまだ完全には解明されていない。

本シリーズでは、最近とくに注目されたヒツジ初乳中に抗ウイルス活性の期待される3'-シアリルラクトースラクトン⁵⁾や、イヌ乳中に網膜や脳の発達に重要な無機硫酸基の供与体としての硫酸化ラクトース (ラクトース-3'-O-硫酸)⁶⁾ およびウマ初乳中の新規なN-アセチルラクタサミン α 1-二リン酸⁸⁾の発見例などを紹介した。著者らのこれまでのミルクオリゴ糖研究に関しては、原著論文を概説した総説⁹⁻¹⁸⁾があるので、参考にして頂きたい。

本稿では、猛獣のクマ類が意外にも非常に弱い未熟仔を出産する点に注目し、そのミルクオリゴ糖における構造知見を通して、その栄養機能や感染防御因子としてのクマ乳の意義と重要性について考察してみたい。

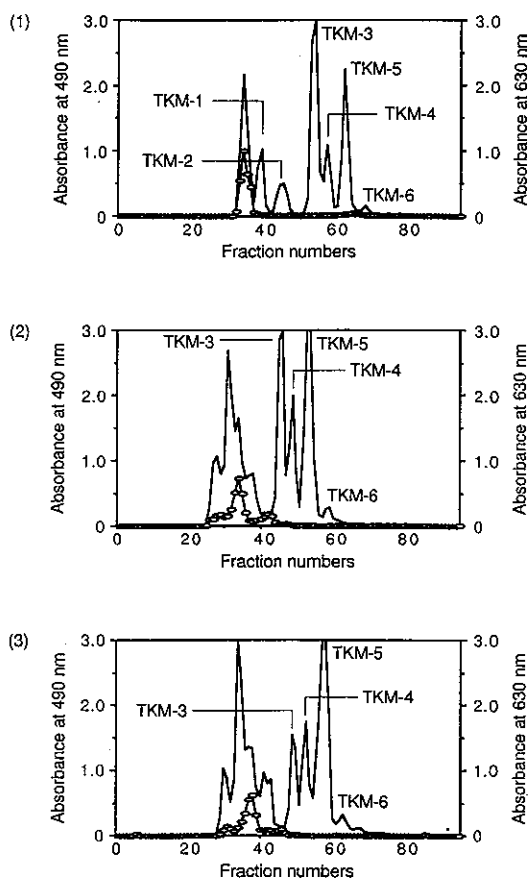


図1. ツキノワグマ乳から分離した糖質画分のゲルろ過クロマトグラム

カラム: Bio Gel P-2, 2.5X100cm

(一) ヘキソース: フェノール・硫酸法で検出

(○) シアル酸: 過ヨウ素酸・レゾルシノール法で検出

(1) 分娩後37日 (2) 分娩後61日 (3) 分娩後91日

2. ツキノワグマ乳からのミルクオリゴ糖の調製と分画

ツキノワグマ乳は、「またぎの里クマ牧場」(秋田県阿仁町)より入手した。試料は、分娩後約1ヶ月(37日)、約2ヶ月(61日)および約3ヶ月(91日)の3検体であった。泌乳期によるミルクオリゴ糖の構造変化を見るために、これらの同一個体で継続的にサンプリングされた検体は極めて重要であった。クマ乳を4倍量のクロロフォルム・メタノール混液(2:1, v/v, Folch's solvent)と共に攪拌し、遠心分離してミルクオリゴ糖画分を水・メタノール画分に得た。その後、ミルクオリゴ糖画分はイオン交換クロマトグラフィーを経ずに、直接 Bio-Gel P-2 のゲルろ過に供した。得られたクロマトグラムを図1に示した。このゲルろ過条件では、TKM-6と命名したピーク付近にラクトースが分離溶出するのであるが、いずれもラクトースは痕跡程度であり、3糖または5糖を主成分としていたことが特徴的であった。ついで、これらのオリゴ糖は、プロトン-核磁気共鳴スペクトル法($^1\text{H-NMR}$)や時間飛行型の質量分析法(MALDI-TOFMS)などにより、構造解析が進められた。

3. ABH 型血液抗原を含むクマミルクオリゴ糖

クマミルクオリゴ糖は、ラクトース($\text{Gal}\beta 1\rightarrow 4\text{Glc}$)、ラクト-N-ネオテトラオース($\text{Gal}\beta 1\rightarrow 4\text{GlcNAc}\beta 1\rightarrow 3\text{Gal}\beta 1\rightarrow 4\text{Glc}$)およびラクト-N-ネオヘキサオース($\text{Gal}\beta 1\rightarrow 4\text{GlcNAc}\beta 1\rightarrow 6[\text{Gal}\beta 1\rightarrow 4\text{GlcNAc}\beta 1\rightarrow 3]\text{Gal}\beta 1\rightarrow 4\text{Glc}$)を「コア骨格」としていた。これらの基本構造は、ヒトミルクオリゴ糖の場合にも見られ、共通性が認められた(その $^{1)}$ 図2.3参照)。ツキノワグマ乳に同定された5種類のミルクオリゴ糖の化学構造を図2に示した。興味深い点は、これらのオリゴ糖の非還元末端部位には、ヒトミルクオリゴ糖には見出されていない特徴的な構造単位が存在していた。それは、「ABH 抗原」と呼ばれる構造である。ABH 抗原は、ヒトABO式血液型を決定づける糖鎖エピトープであり、ヒト赤血球膜の複合糖質(糖タンパク質や糖脂質)の結合糖鎖の非還元末端に存在する。ヒトのA型、B型およびO型の血液型保有者は、それぞれA抗原、B抗原およびH抗原を有する。これらの化学構造を図3に示した。

ツキノワグマ乳のミルクオリゴ糖には、ヒト血液型における「B 抗原」の構造単位が確認された。通常、A型の血液者にとってB抗原は異物(非自己)であり、抗「B 抗原」抗体が自然抗体として存在する。また、B型の血液者にとってA抗原は異物であり、抗「A 抗原」抗体を保有する。このクマの場合には、血中にどのような自然抗体を保有するかは不明であるが、クマの場合にも個体

によりおそらく血液型の違いがあり、ミルクオリゴ糖構造に反映されているものと考えられる。今後はさらに、検体数を増やして研究を進めることにより、クマ血液型の知見も得られるだろう。

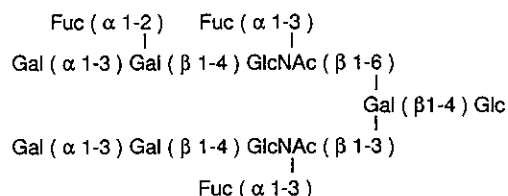
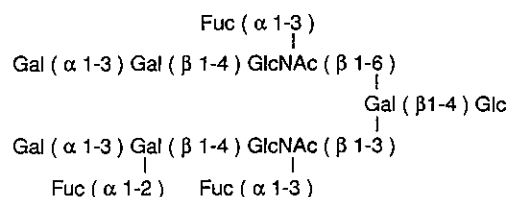
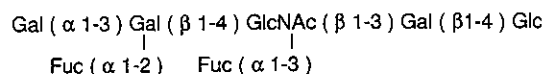
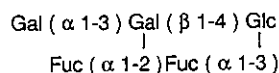
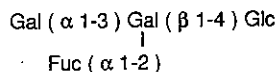


図2. ツキノワグマ乳に含まれるABH 抗原を含む5種のミルクオリゴ糖

4. α -Gal エピトープを含むクマミルクオリゴ糖

ツキノワグマ乳からのミルクオリゴ糖の一部には、非還元末端に「 α -Gal エピトープ構造($\text{Gal}\alpha 1\rightarrow 3\text{Gal}\beta 1\rightarrow 4\text{GlcNAc}-$)」が存在した。ABH 抗原構造を持つ5種類のミルクオリゴ糖にも、このエピトープが存在した(図2参照)が、これら以外の4種類のミルクオリゴ糖も、

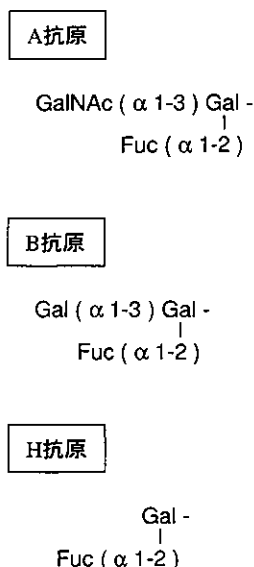
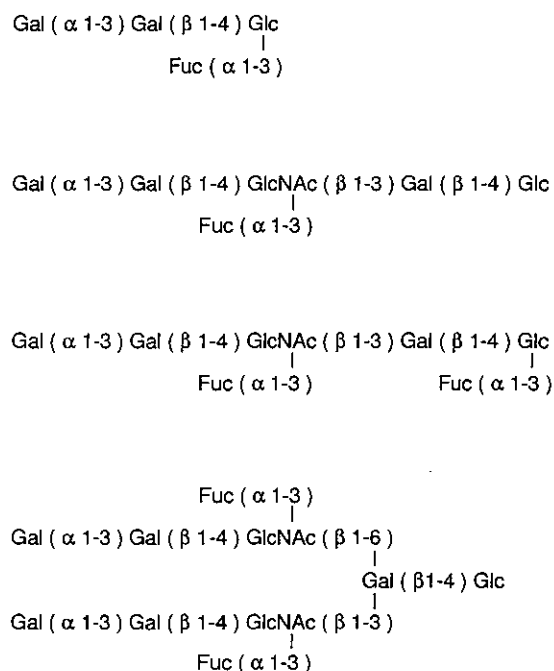


図3. ヒト ABO 式血液型における ABH 抗原の化学構造

図4. ツキノワグマ乳に含まれる α -Gal エピトープを含む4種のミルクオリゴ糖

このエピトープ構造を有していた (図4)。これらの構造単位を有するミルクオリゴ糖は、ヒトの場合には全く見出されていないことは、極めて重要な知見である。この α -Gal エピトープは、哺乳動物の複合糖質の糖鎖末端に多く認められる。しかし、ヒト (霊長目) への進化の過程において、このエピトープは旧世界ザルの段階において生合成能が失われたものと考えられる。また、そのユニットはヒトにとっては抗原となり、ヒトの血中における自然抗体の1%は、このエピトープに対応している。したがって、哺乳動物の臓器から作成した異種臓器をヒトに生体移植した場合には、結合糖鎖末端のこの構造単位が原因の急性拒絶反応が起こり、深刻な問題となる。医学書には、移植後に輸液を通して高濃度の合成ガラクトビオース ($\text{Gal} \alpha 1 \rightarrow 3 \text{Gal}$) の供給を続ける方法も記載されているが、本2糖は血液の中では速やかにクリアランスされるために、実用的とは言い難い。

5. α -Gal エピトープを欠損させた拒絶反応抑制クローン豚の作出

最近では、この α -Gal エピトープの構造単位を含む糖鎖が出来ないように糖転移酵素系をノックアウトした動物 (マウスなど) の作出も可能となり、ヒト型臓器提供のためのミニブタの動物開発が進んでいた。これは、Gal を $\alpha 1-3$ 結合で転移するガラクトース転移酵素をノックアウトしたマウスでは、予想に反して大きな外見上の異常が出なかった基礎研究に基づいている。ブタは人間に臓器の大きさが近く、移植の臓器不足を補う究極の供給源と考えられ、拒絶反応の障害さえ克服できれば、異種移植に道を拓くとされ、世界中のバイオ企業や大学などが熾烈な競争を繰り広げていた。平成14年1月には、米ミズーリ・コロンビア大学などの研究チームと、英バイオ企業 PPL セラピューティック社が臓器移植の拒絶反応を起こす GGTA1 遺伝子の働きを抑えたクローン豚の作出に成功したことを米科学誌「サイエンス」に発表した。図5には、誕生したノックアウトクローン豚乳仔の写真を示した。研究チームでは豚の細胞を人間の免疫細胞と反応させた際に急性拒絶反応を起こすガラクトースを $\alpha 1-3$ 結合で転移する酵素遺伝子の働きを抑え、免疫細胞からの攻撃を受けないようにして核移植を行い、クローン豚を誕生させた。このブタの臓器の表面には、 α -Gal エピトープ部分が存在せず免疫細胞が付着できないので、拒絶反応は回避され臓器が破壊されることはない。今後はブタ特異的なウィルス感染などの問題の克服やノックアウト系統ブタの安定供給技術の確立など残された課題も多いが、異種移植の臨床応用に向けた取り組みが

今後加速されそうである。



図5. α -Gal エピトープをノックアウトしたクローン豚
(米ミズーリ・コロンビア大提供, 共同)

6. クマミルクオリゴ糖における特徴

クマミルクオリゴ糖には、ヒトミルクオリゴ糖と比較して、極めて大きな差異の存在することが特徴的である。まず、クマミルクオリゴ糖ではラクトースが極めて微量であり、還元末端2糖単位としてラクトース以外の構造単位は検出されなかった。ヒトではラクトースが主成分であり、還元末端にラクトース以外の分子もごく少数例ではあるが発見されている(その1図4¹⁾参照)。また、クマ乳ではラクトースよりも高分子量のミルクオリゴ糖が主成分であり、しかもヒトABO式血液型基質と同一の部分構造(ABH抗原)を有したり、 α -Gal エピトープ構造を有する成分などが多数見出された。これは、最終的には泌乳期乳腺細胞のゴルジ体における α -ガラクトース転移酵素とL-フコース転移酵素の酵素活性の特異性と活性の高さに起因している。また、クマ乳における主要なオリゴ糖は、分娩後1ヶ月乳ではB型抗原を含む4糖にL-フコースが1分子結合した5糖であり、分娩後3ヶ月乳ではイソグロボトリオース($\text{Gal}\alpha 1\rightarrow 3\text{Gal}\beta 1\rightarrow 4\text{Glc}$)が最も多かった。したがって、クマ乳はラクトース以外的高级オリゴ糖の存在比の高い動物種に分類されることが初めて判った。

クマでは、新生仔の体重が母クマの体重の約1/1000と極めて未熟な仔を出産することが知られている。ヒトでは新生児の体重は母親の体重の約1/15であるから、いかにクマは超未熟児を出産するかが理解できよう。このような未熟な新生仔は、病原性細菌やウィルスに対する感染に対して極端に弱いことが予想される。クマミルクオリゴ糖にも、ヒトミルクオリゴ糖同様にこれらの微生物

物に対して乳仔を感染から守るという重要な役割が予想される。とくに、クマ乳では上記のミルクオリゴ糖の含量が非常に高く、クマの栄養学および生理学的要求に適合した、合目的性が感じられる。この事実、クマの乳仔にとりラクトース以外的高级オリゴ糖の生理的意義がとりわけ高いことを意味している。ヒトミルクオリゴ糖で実証されているように、ミルクオリゴ糖には病原性細菌やウィルスの腸管上皮への付着を阻止する働きが示唆されている。クマ乳にとくに多いイソグロボトリオースには、*Clostridium difficile*の産生するトキシシンAに対する中和作用が認められている²⁰⁾ので、クマミルクオリゴ糖は同菌産生毒素などによる深刻な下痢から乳仔を守っているのであろう。

また、クマ乳は非常に高濃度の脂質(30~50%)を含み、一方糖質含量は1~2%程度と非常に少ない。したがって、乳仔のエネルギー獲得は、糖質ではなく脂質に大きく依存しているものと考えられる。クマは厳冬期には冬眠し、この間は母クマは絶食状態にあるために、母体にとっても体内の糖質は自己の生命維持のために非常に貴重なものである。そこで、クマ乳仔には栄養源として糖質を与えたり乳中の糖質に変換するために体タンパク質を消費するよりも、母クマの皮下に豊富に蓄えられた脂質をエネルギー源として与える方が理にかなっているのだろう。クマ類には、他の動物種とは異なり、皮下脂肪が直接ミルク中に移行するような生体内の移行経路の存在が示唆されている²¹⁾。クマの場合、乳汁中の糖質は栄養源としてよりも上述のように感染防御因子としての意義の方が、重要なのであろう。

7. ヒト未熟児用乳の設計に対しての有用知見

本シリーズのその7⁷⁾では、哺乳類の中でも真獣類とは進化の過程で一線を画する単孔類と有袋類乳に含まれる珍しいミルクオリゴ糖の構造知見を概説した。これらの種のミルクではラクトースは数%を占めるに過ぎず、単孔類と有袋類はクマと同様に「ラクトースよりも他のオリゴ糖の含量の高い動物種」に分類される。有袋類乳の研究は、とくにヒト未熟児に対する栄養生理学的研究の指針となる方向性を示唆するものであり、注目されている。この部分に関しては、1988年版の「The developing marsupial」という成書¹⁹⁾が参考になる。有袋類、単孔類はクマよりもさらに未熟な新生仔を出産するが、未熟な乳仔を出産するという繁殖戦略に対し、乳中での高いオリゴ糖含量の共通した生理的理由があるのであろう。

後獣類は、授乳期のほとんどを母親の袋の中で過ごす為に「有袋類」とも呼ばれ、こちらの名称の方が一般的

である。有袋類は一般に妊娠期間が極端に短く、泌乳期間が長い。出生直後の乳仔は、数十～数百mgとクマよりも小さく、真獣類の乳仔の概念からすると有袋類の乳仔は胎仔様の超未熟仔状態で生まれている。真獣類では、乳仔の脳、眼、腎臓の発達および体温調節の確立は母親の胎内で行われるが、有袋類の仔の場合には、母親の乳を通じての栄養補給により行われる。単孔類や有袋類は超未熟仔状態の新生仔を出産することから、それらのミルクは未熟仔に最適な組成をしていると考えられ、従来よりヒトなどの早産による未熟児用の人工調製乳の開発へ示唆を与えるものと注目され、研究されてきている。フコースは通常、糖タンパク質糖鎖に少量付加されているが、単孔類のミルクオリゴ糖におけるフコース含量は1～2%と異常に高い。この動物種の乳仔が超未熟仔状態で出生する事と、フコースの発現する特別な生理機能との関連性も推定されている。

ラクトースが生合成される機構については、既にその¹⁾および⁷⁾で概説した。簡単には、乳腺細胞内のガラクトース転移酵素（ガラクトシルトランスフェラーゼ）と α -ラクトアルブミンの共同作用により、UDP-ガラクトースからガラクトース部分がグルコースに $\beta 1 \rightarrow 4$ 結合で導入されて、ラクトース(Gal $\beta 1 \rightarrow 4$ Glc)が生合成される。ラクトースの生合成に関与する通常のラクトシルトランスフェラーゼ（ガラクトシルトランスフェラーゼAと命名されている）とともに、1991年にMesserとNicholasは、タマーワラビー泌乳期乳腺において、UDP-ガラクトースとラクトースから3'-ガラクトシルラクトースを合成する別のタイプの「ガラクトシルトランスフェラーゼB」を見出した²²⁾。この酵素は、 α -ラクトアルブミンを必要としないで、ラクトースの非還元末端にガラクトース残基を逐次転移することで、3糖～7糖の一連の主要系列である中性ミルクオリゴ糖を合成する。タマーワラビーの場合は、ミルクオリゴ糖の合成能に特殊性があるらしい。

また、乳中の高分子量オリゴ糖の場合には、乳の浸透圧を上げないというメリットもあり、成熟度の低い乳仔にとってはラクトース含量も少なく、高分子量のミルクオリゴ糖の方が消化に負担をかけずに、エネルギー獲得に向いているのかも知れない。これらの知見は、ヒト用の育児用調製粉乳などの分子設計に参考になるかもしれない。

今回は、他のクマ類（シロクマやエゾヒグマ）のミルクオリゴ糖について概説し、ツキノワグマの場合と総合的な比較考察を試みたい。

参考文献

- 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No.154, 13-21(1994).
- 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No.165, 15-20(1997).
- 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No.167, 3-9(1998).
- 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No.173, 2-8(1999).
- 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No.175, 3-8(2000).
- 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No.176, 18-21(2000).
- 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No.177, 11-16(2000).
- 齋藤忠夫, 浦島 匡, *The Chemical Times*, No.183, 20-24(2002).
- 浦島 匡, 齋藤忠夫, *化学と生物*, **31**, 80-82(1993).
- Messer, M., 浦島 匡, *化学と生物*, **33**, 816-824(1995).
- 浦島 匡, 中村 正, 齋藤忠夫, *ミルクサイエンス*, **46**, 211-220(1997).
- 齋藤忠夫, 浦島 匡, *化学と生物*, **37**, 401-403(1999).
- 浦島 匡, 齋藤忠夫, *バイオサイエンスとインダストリー*, **57**, 619-620(1999).
- 齋藤忠夫, 浦島 匡, 中村 正, *畜産の研究*, **53**, 1155-1160(1999).
- 齋藤忠夫, *ミルクサイエンス*, **48**, 199-205(1999).
- 齋藤忠夫, 浦島 匡, 中村 正, *シーブジャパン*, **33**, 11-13(2000).
- 齋藤忠夫, 浦島 匡, *化学と生物*, **38**, 447-451(2000).
- 齋藤忠夫, *乳業技術 (創立50周年記念号)*, **50**, 38-57(2000).
- 浦島 匡, 齋藤忠夫, 中村 正, 荒井威吉, *ミルクサイエンス*, **49**, 195-202(2000).
- The Developing Marsupial—Models for Biomedical Research, Tyndale-Biscoe, C.H. and Janssens, P. A. (Eds.), Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1988.
- Clark, G. F., Krivan, H. C., Wilkins, T. D. and Smith, D. F., *Arch. Biochem. Biophys.* **257**, 217-229(1987).
- Ramsay, M. A. and Dunbarch, R. T., *Am. Nat.*, **127**, 735-743(1986).
- Messer, M. and Nicholas, K. R., *Biochim. Biophys. Acta*, **1077**, 79-85(1991).

農業分野で簡易分析計をさらに活用へ

II 簡易小型反射式光度計 (RQ フレックス) を用いた 作物・土壌の簡易測定法 その2

静岡県農業試験場 東部園芸分場 鈴木 則 夫

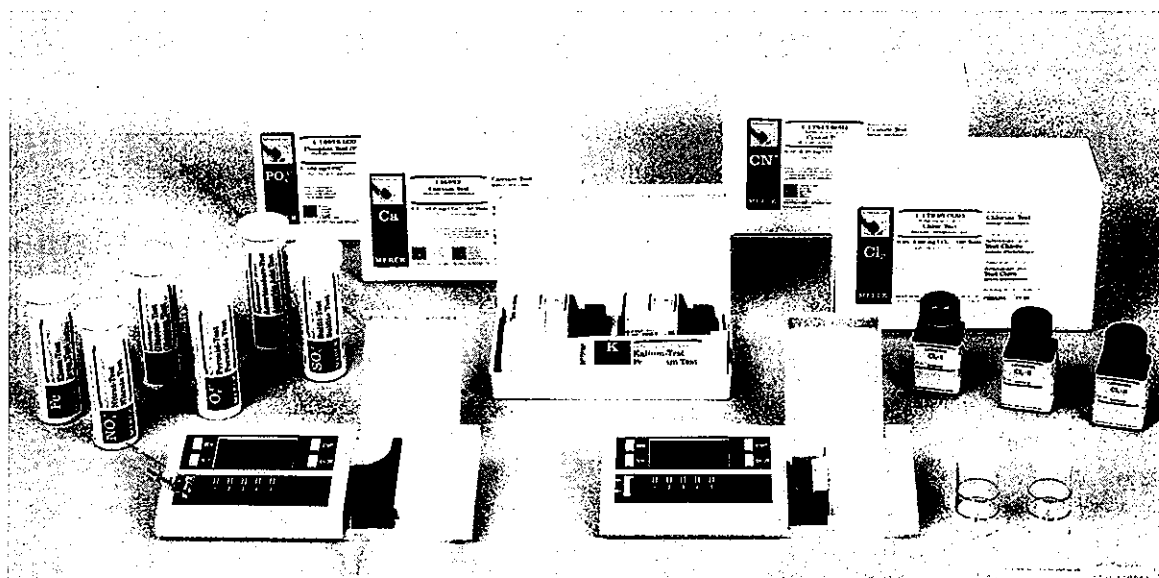


写真1. 小型反射式光度計 (RQ フレックス) の種類 (左が RQ フレックス, 右が RQ フレックスプラス)

前号 (THE CHEMICAL TIMES. 2002, No.1) において、農業分野における簡易分析の必要性、小型反射式光度計 (RQ フレックス) の概要、またそれを利用した土壌や作物中の硝酸イオン及びリン酸の測定方法、測定事例について紹介したが、本号ではその続報としてカリウム、カルシウム、マグネシウム、鉄、ホウ素及びビタミンC (アスコルビン酸) の測定方法、測定事例について紹介する。

(3) 作物・土壌のカリウム診断への応用

ア 作物汁液を用いた診断

(ア) カリウムの精度

カリウム標準液 (Kで 200, 400, 600, 800, 1000 mg/l) による RQ フレックスの精度を比較した結果、標準液に対し RQ フレックス値が2割程度高い傾向にあったが(図

7), 相関は高く、今後バーコード内の計算式を見直すことによって実用性はあると考えられた。

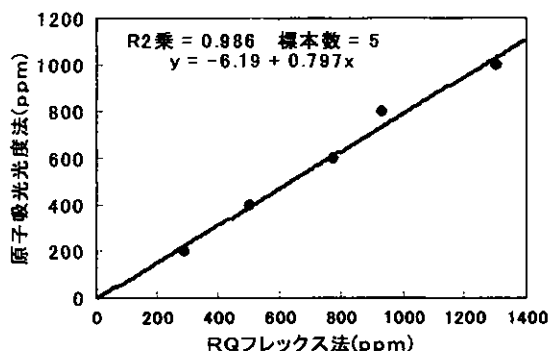


図7. RQ フレックスによる標準液中カリウムの測定

NORIO SUZUKI

SHIZUOKA AGRICULTURAL EXPERIMENT
STATION

ブドウ(巨峰)の葉柄汁液を5倍に希釈して、従来からの炎光法と比較すると、高い相関関係($r=0.956^{**}$)が見られたが、回帰式は $Y(RQ \text{ 値}) = 0.57X + 1327$ となり補正が必要と考えられた(図8)。

(イ) 簡易栄養診断としての利用事例(埼玉園試)

果菜類のトマト葉柄汁液中のカリウム濃度は約3,000mg/ℓであり、果樹類のブドウでの葉柄汁液中の濃度は果樹園によって1,590~4,040mg/ℓであり、葉中カリウム含量と高い相関関係($r=0.837^{**}$)が認められた。

イ 土壌溶液, 土壌抽出液を用いた診断

(ア) 土壌溶液

キュウリ跡地のハウス土壌から採取した土壌溶液(ポーラスカップ法)での、カリウムイオンはRQフレックスでは検出できなかった。測定範囲より低濃度と考えられた。

(イ) 土壌抽出液

定法であるpH7.1N 酢酸アンモニウム液による土壌中の交換性カリウム測定については、通常の土壌では測定できなかった。抽出液中のカリウムイオン濃度が低いので、通常の土壌では抽出原液でも測定範囲に満たない濃度であること、原液の場合はアンモニウムイオンの妨害が考えられた。

例えば、交換性 K_2O が120mg/100g 乾土(=K100mg)の場合は土壌5gに抽出液100ml加えるので、抽出液中のKイオンは0.05g/ℓ(<0.25g/ℓ)。

なお、水抽出法は妨害イオンの心配はないが、酢酸アンモニウム抽出法よりカリウム抽出濃度はさらに低いので、通常の土壌では測定不可能である。

(4) 作物・土壌のカルシウム診断への応用

ア 作物汁液を用いた診断

(ア) カルシウムの精度(長野南信農試)

カルシウム標準液によるRQフレックス法と原子吸光度法の関係を調べた。両者の関係は相関が高かったが、原子吸光度法の測定値に対し、RQフレックス法は6~7割程度の低い測定値となった(図9)。これは、バーコード内の計算式を見直すことによって実用性はあると考えられた。

(イ) 簡易栄養診断としての利用事例(長野南信農試)

トマト葉柄汁液中カルシウムについて、RQフレックス法と原子吸光度法との比較を行った(図10)。葉柄汁液は100倍希釈して測定したところ測定範囲内に入り、RQフレックス法は原子吸光度法と高い相関が得られ、バーコード内の計算式を見直すことによって分析が可能と考えられた。

イ 土壌溶液, 土壌抽出液を用いた診断

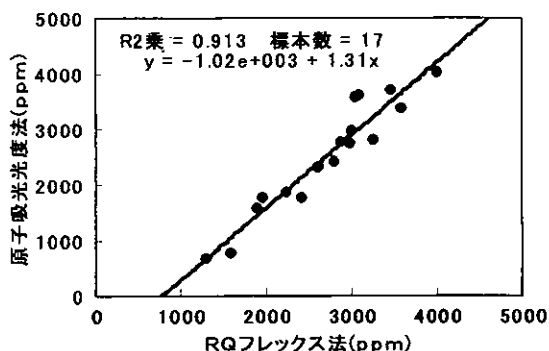


図8. RQフレックスによるブドウ汁液中カリウムの測定

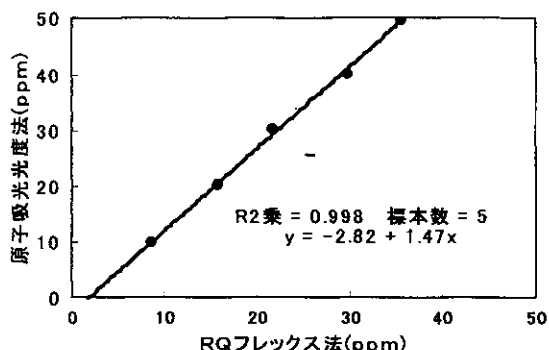


図9. RQフレックスによる標準液中カルシウムの測定

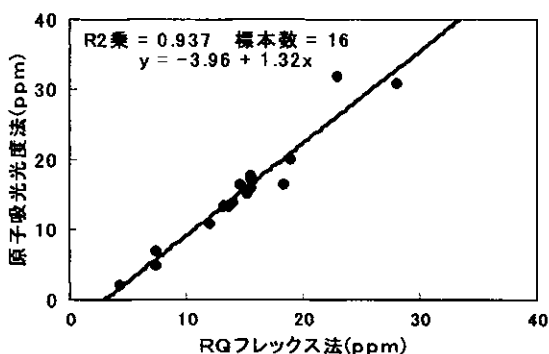


図10. RQフレックスによるトマト葉柄汁液中カルシウムの測定

露地ピーマン圃場の土壌溶液中カルシウムについて RQ フレックス法と原子吸光度法との比較を行った。土壌溶液はボーラスカップ法により作土より採液し、原液～6 倍希釈で測定した。RQ フレックス法は原子吸光度法と高い相関が得られ(図11)、バーコード内の計算式を修正すれば分析が可能と考えられた。

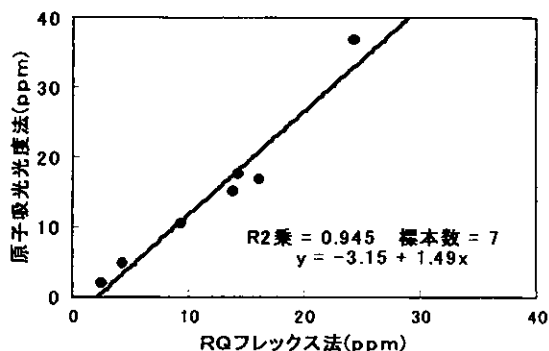


図11. RQ フレックスによる土壌溶液中のカルシウムの測定

ウ 水耕培養液を用いた診断

バラの養液栽培における給液及び排液等の養液中カルシウム濃度について、RQ フレックス法と原子吸光度法との比較を行った。養液を10倍希釈して測定したところ、RQ フレックス法は原子吸光度法と高い相関関係($r = 0.987^{**}$)が認められ、十分に実用性があると判断した。

(5) 作物・土壌のマグネシウム診断への応用

従来、作物体や土壌中のマグネシウムは当機器では測定できなかった。そこで、新たに関東化学㈱が開発された専用の分析試薬キットを用いて、従来からの原子吸光度法との関係を調べた。土壌は黒ボク土、褐色森林土、褐色低地土、灰色低地土、細粒グライ土、黄色土、赤色土、砂丘未熟土を用いて、前処理操作は常法による1N 酢酸アンモニウムで抽出したろ液の一定量に、分析試薬キットを加える。作物体は野菜、花き、永年作物、海草と種類を広げ、かつ供試部位も地上部、地下部、株全体と幅広く用いて、前処理操作は微粉碎試料を0.5Nの塩酸で抽出して、ろ液の一定量に分析試薬キットを加える。(図12)。

土壌／作物体の前処理方法例			
土壌			
1. 乾燥土壌2g	2. 1mol/L酢酸アンモニウム溶液(pH5.2)25mLを添加	3. 1時間攪拌	4. ろ過。ろ液を試料とする。
作物体			
1. 約5g採取し90℃で2時間乾燥	2. 乳鉢で粉砕	3. 2を5g採取。0.5mol/L塩酸を20mL添加し、2時間振とう	4. ろ過。ろ液を3倍に希釈し試料とする。
測定方法			
* ブランク測定が通常の方法と違いますので、ご注意下さい。			
1. 試料0.5mL+A試薬2.5mL+B試薬2.0mL添加(ブランク溶液も同時に調製)	2. 1の後すぐに装置のスタートを押す。420秒がカウントダウンされる。	3. 待ち時間に溶液をセルに移す。ブランクセルを装置に差し込み、ふたを閉める。	4. 0秒で自動的にブランクが測定される。次にサンプルセルを差し込みスタートを押すと結果が表示される。

図12. 土壌／作物体の前処理方法例及び測定方法

ともに、原子吸光法と高い相関関係が得られ、簡易測定が可能である(図13, 14)。

分析用の試薬キットが完成したばかりであることから、作物体汁液及び土壌溶液や水耕培養液での検討は未実施である。

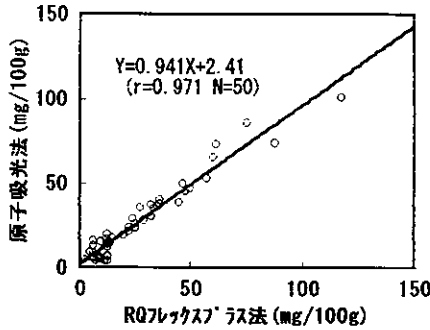


図13. RQ フレックスプラスによる土壌中マグネシウムの測定

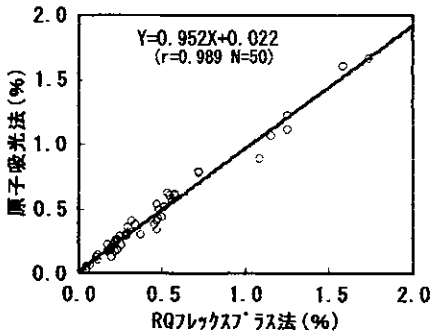


図14. RQ フレックスプラスによる作物体中マグネシウムの測定

(6) 水耕培養液の鉄診断への応用

ア 鉄の精度

バラの養液栽培における給液及び排液中の養液中の鉄濃度について、RQ フレックス法と原子吸光度計との比較を行った。養液は原液をそのまま測定し、両者間で相関関係が認められた(図15)。ただし、回帰式の係数は「1」から離れているので、今後バーコード内の計算式を見直すことによって分析が可能である。

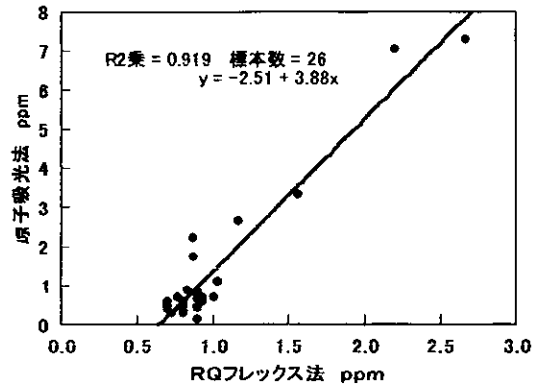


図15. RQ フレックスによる培養液中鉄の測定

(7) 作物・土壌・土壌溶液のホウ素診断への応用

従来、作物体や土壌中のホウ素は当機器では測定できなかった。そこで、新たに関東化学(株)で開発された専用の分析試薬キットを用いて、従来からのICP-MS法との関係を調べた。土壌はマグネシウムと同様の黒ボク土、褐色森林土、褐色低地土、灰色低地土、細粒グライ土、黄色土、赤色土、砂丘未熟土を用い、栽培作物も水稲、永年作物、野菜、花き土壌と幅広く供試した。前処理操作は常法によるテフロン製ビーカーで熱水抽出し、ろ液についてRQ フレックスプラス法とICP-MAS法で測定した。作物体も野菜、花き、永年作物、海藻と種類を広げ、かつ供試部位も地上部、地下部、株全体と幅広く用い、また欠乏が疑わしい試料や原因不明の障害が生じている試料やホウ素の吸収が特異的な試料を加えた。前処理操作は微粉砕試料を0.5Nの塩酸で抽出し、ろ液についてRQ フレックスプラス法とICP-MAS法で測定した。

なお、RQ フレックスプラス法の操作は得られたろ液を中和後、遠心分離して沈殿を除去し、必要に応じて希釈し、試料溶液0.4mlを専用ポリプロピレン製チューブに入れ、専用の2種類の分析試薬キットを添加し、攪拌後、専用ヒーティングブロックで加熱後、冷却後、専用セルにて測定する。

ともに、ICP-MAS法と高い相関関係が得られ、簡易測定が可能である(図16, 17)。しかし、この方法特に植物体では前処理にかなり専門的な技術を要する。さらに、RQ フレックスプラス法の操作も煩雑である。

県内主要作物中のホウ素含量はいずれの作物も十位のオーダーであり、野菜では概ね、果菜類の葉が多く、次いで葉菜類、根菜類であった(表6)。

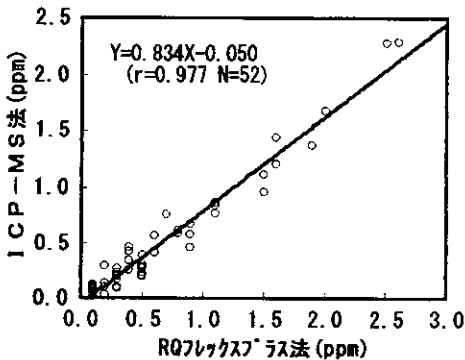


図16. RQ フレックスプラスによる土壤中ホウ素の測定

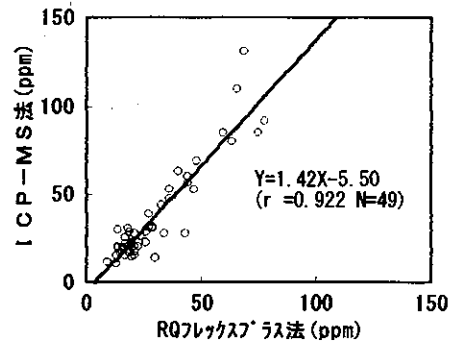


図17. RQ フレックスプラスによる作物体中ホウ素の測定

表6. 主要作目の作物体中のホウ素含有量

(いずれも乾物当たりの濃度)

作 目	部 位	生育時期	濃度 ppm	作 目	部 位	生育時期	濃度 ppm
み か ん	成 葉	新芽生育期	85	セ ル リ ー	可食部全体	収 穫 期	21
茶	成 葉	二番茶収穫期	11		外 葉	"	23
イ チ ゴ	株全体	収 穫 末 期	57		内 葉	"	28
	葉	"	60	サ ラ ダ ナ	地 上 部	収 穫 期	53
ト マ ト	上位葉	収 穫 末 期	20	ハ ク サ イ	外 葉	収 穫 期	14
	下位葉	"	29		内 葉	"	16
	苗		21	チンゲンサイ	地 上 部	収 穫 期	31
メ ロ ン	上位葉	収 穫 期	20	ね ぎ	地 上 部	収 穫 期	16
	苗		32	エシャレット	地 上 部	生育末期	32
ハウスメロン	中位葉	生 育 中 期	69		可食部	生育末期	16
キュウリ	上位葉	収 穫 末 期	22	サ ト イ モ	地 上 部	生 育 期	18
タ バ コ	地上部	生 育 初 期	12	タ マ ネ ギ	地 上 部	収 穫 期	20
ソ ラ マ メ	上位葉	収 穫 末 期	17		地 下 部	収 穫 期	17
	下位葉	"	21	ニ ン ジ ン	地 上 部	生育中期	28
レ タ ス	地上部	収 穫 期	28	ジャガイモ	地 上 部	生育後期	27
ホウレンソウ	地上部	収 穫 期	30				

(8) 作物のビタミンC(アスコルビン酸)への応用

ア 作物汁液を用いた診断

(ア) 抽出法

以下の①, ②または③によって抽出液を作成するが, いずれもビタミンCの変性を防ぐため速やかに抽出作業を行う必要がある。

- ① 対象作物を細断後, 一定量(10~20g)に10%メタリン酸を加え, ホモジナイズ後, 最終濃度5%(200ml)とし, ろ過し, ろ液を測定に用いる。
- ② 対象作物を細断後, 一定量(5g)に5%メタリン酸(45ml)を加え, すり鉢で磨砕し, ろ過し, ろ液を測定に用いる。

- ③ 作物を乳鉢ですりつぶしたあと, ガーゼに包んで簡易の搾汁器で絞り, 10倍に希釈しながら5%メタリン酸液とする。

(イ) 還元型アスコルビン酸の精度

ブロッコリー, チンゲンサイ, コマツナのメタリン酸による抽出液について, 従来法のヒドラジン比色法とRQフレックス法による測定値を比較した結果, 両測定値の間に高い相関(ブロッコリー: $r=0.968^{**}$, チンゲンサイ: $r=0.993^{**}$, コマツナ: $r=0.992^{**}$)が得られ, 従来法測定値とほぼ一致することから簡易測定法として精度は高いと判断される。

(ウ) 簡易品質診断としての利用事例

数種の野菜汁液について、生産現場で測定した事例を紹介する(表7)。各作物ともに、アスコルビン濃度は施肥条件や収量等との間で特に顕著な関係は認められなかった。RQフレックスによるアスコルビン酸測定に関しては、測定自体は比較的簡単で問題はなく、食料とする場合の栄養成分としてアスコルビン酸量を把握するには利用可能である。

3. おわりに

最後に、記載項目の適用場面別の一覧表をまとめた(表8)。まだまだ、測定事例が少なく、診断基準の作成にまで至っている作物は少ないのが現状である。今後本県だけでなく、全国的に測定事例を集積して診断基準値を明確にしていくことが必要と考える。

また、記載の項目以外にも多くの測定用のキットが市販されている。さらに、グルタミン酸やしゅう酸等の品質項目測定用のキットも開発されてきた。現場で、簡易、迅速に測定ができることから、是非多くの測定事例を集積したいと考えている。

表7. 各種野菜の異なる栽培条件と汁液中のアスコルビン酸濃度

野菜名	栽培条件	還元型アスコルビン酸含量
ブロッコリー	国産	134 (mg/100g)
	外国産	87
チンゲンサイ	普通栽培	700
	堆肥過剰区	605
ダイコン	化学肥料区	134
	有機物区	160
コマツナ	化学肥料区	250
	堆肥区	700
ホウレンソウ	化学肥料区	450
	堆肥区	400

表8. 小型反射式光度計利用による適用場面

項目	作物体汁液	土壌抽出液	土壌溶液	水耕培養液	環境水
硝酸	◎	◎	◎	◎	◎
リン酸	◎	○	○	◎	◎
カリウム	○	★	★	○	★
カルシウム	○	○	○	◎	★
マグネシウム	▲	▲	▲	▲	▲
鉄	★	★	★	○	★
ホウ素	▲	○	○	○	○
ビタミンC	◎	—	—	—	—

◎：十分活用可能、既存測定事例あり

○：活用可能、一部測定レンジより低い可能性があるし、既存測定例が少ない

★：機器の測定レンジより低い場合が多い

▲：測定事例が少ないか、ほとんどない

—：測定する意味がない

魚の寄生虫の話 (その3)

寄生性扁形動物とその生態

千葉県衛生研究所 医学博士 福田 芳生

はじめに

これまで筆者は、淡水魚の寄生虫に的を絞って、電子顕微鏡を用いて調べて来ました。原虫1つ取っても、実に個性に富んだ面構えをしていて、驚かざるを得ません。ここでは、原虫よりもかなり進んだ生き物と目されている、寄生性扁形動物について述べることにします。

この扁形動物という学術名は、ラテン語の *Platyminthes* の和訳で、*Platys* (平らな)、*helmins* (虫) に由来しています。扁形動物の仲間には渦虫類、吸虫類、単生類、条虫類がいます。最後の条虫類というのはサナダムシの仲間のことです。小学校の薄暗い理科準備室の戸棚に入っていた、サナダムシのホルマリン漬け標本は本当に不気味なものでした。

理科の時間に先生から「福田君、サナダムシの標本ビンを持って来てくれないか」と頼まれた時は、得体の知れない地球外生命体にでも接するような気持ちで、恐る恐る教室まで長い廊下を運んで来たものでした。

本題の魚に寄生する扁形動物は、吸虫類から条虫類に互ります。寄生性の渦虫類は、極く少数に限られるので、除外しました。ところで、吸虫類や条虫類は魚を中間宿主にしているものが多く、人に感染するものも少なくありません。ですから、人を含む他動物との関連についても触れることにしました。

1. 吸虫類

身体の仕組み。吸虫類の身体は扁平で、分節構造はありません。虫体の大きさは長径数ミリから20ミリ前後、短径は長径の $\frac{1}{2}$ から $\frac{1}{4}$ ほどのものが大部分です。身体は細胞質の膜で被覆され、腹側前端に口吸盤と腹吸盤があります。口吸盤の中央に口があり、その後方に咽頭、食道、腸などの消化管が続きます(図1)。

多くの吸虫類の腸は左右に分岐します。消化管の末端に肛門を有するもの、盲管に終るものなどがあります。神経系は、いわゆる「はしご状神経」と呼ばれるグループに入り、太い神経幹が横枝で連結されているため、全

体の形が「はしご」のように見えることから起こった名称です。感覚器は未発達なものが多く、体の前方に視覚器を持つものが少数存在するだけです。吸盤の部分に触覚細胞が分布し、吸着物を探索する働きをしています。

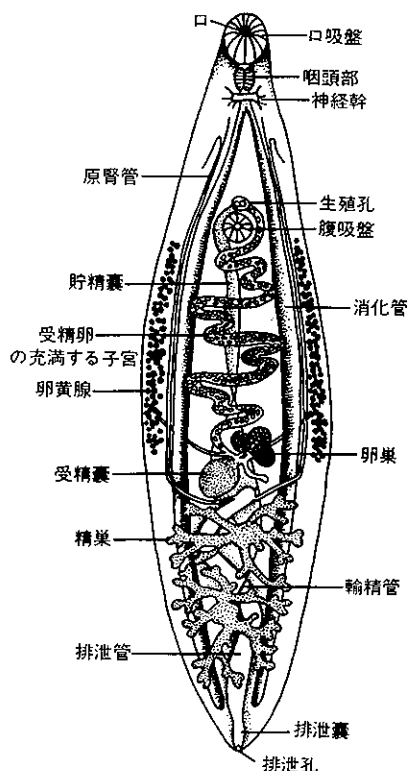


図1. 肝吸虫の内臓器官

(R. W. ヘグナーと K. A. スティレスより改写)

高等動物の腎臓に相当する排泄器は、原腎管と呼ばれる細長いチューブで、盲管の末端に焰細胞があります。この焰細胞という奇妙な名称は、太い繊毛の束が杯状細胞から外方に伸び出していて、ユラユラと動く繊毛束の

様子が、風に揺ぐローソクの^{ろう}燭に似ていることに因んだものです。この繊毛運動によって、アンモニアを含んだ老廃物は体後方の排泄囊に送られ、排泄孔より体外に棄て去られます。

虫体の移動は、皮下の環状及び縦走筋層のリズミカルな伸縮運動によっています。

吸虫類の生活環

住血吸虫スキストゾマを除き、総べて雌雄同体です。吸虫類は幼生時代にいくつもの中間宿主を経るので、その生活環は実に複雑です。そのため、専門課程に進んだ医学系の学生を、テストの時にいつも泣かせています。

そこで、肝吸虫を例に取って、吸虫の生活環を説明してみましょう(図2)。まず、人体に侵入したメタケルカリア幼生は、小腸を経て肝臓内の輸胆管に入り、間もなく長さ20ミリほどの成虫になります。宿主の体内で産み出された受精卵は、胆汁と一緒に腸に達し、糞中に粉れ込みます。その間、卵殻内部で発育が進み、ミラキジウム幼生となっています。

もし、この糞が野外に放置されたままだと、雨が降った際に糞中の卵は、付近の池や川に流入することになり

ます。その結果、ミラキジウム幼生を含んだ卵は、巻貝の一種マメタニシに摂取されます。

マメタニシの消化管内で孵化したミラキジウムは、腸壁を食い破って肝臓に達します。そこで、細長い袋状のスポロキスト幼生に変身します。そして、無性生殖を行ない数を増します。このスポロキストからレディア幼生が誕生します。このレディア幼生も無性生殖により無数のケルカリア幼生を産生します。

ケルカリア幼生は中間宿主マメタニシの肝臓から脱出して、水中に入ります。オタマジャクシのような尾を持ったケルカリアは水中を泳ぎ回り、宿主となる魚に出会うチャンスを待っています。この場合、魚は第2中間宿主ということになります。この時、24時間以内に中間宿主の魚に出会わなければ、ケルカリア幼生は死亡してしまいます。

魚の体表にうまく取り付いたケルカリアは、鱗の下側に侵入します。そして、皮膚や深部の筋肉内に被嚢を形成します。被嚢の内部で感染能力を備えたメタケルカリアになります。もし、メタケルカリアを筋肉内に持ったコイやニジマスを描いて、刺し身にしたり洗いにし一杯やるようなことをすると、肝吸虫は終宿主の哺乳類、この場合は人体に到達して長い旅を終え、再びスタートラインに戻ります。

では、何故に吸虫類はいくつもの中間宿主を持つようになったのでしょうか。最近、有力視されている仮説の1つを紹介しましょう。それは30億年もの昔、地球上に生命が誕生して以来、多種多様な動物が出現して来ました。そして、無脊椎動物から脊椎動物が生まれるといった大きな進化の流れが起こり、次々により高等な動物が姿を現しました。吸虫類は、その都度新しい動物に乗り換えて、種を存続させて来たのでしょうか。その時点での終宿主が中間宿主という形で残存したのではないのでしょうか。

魚のどこに寄生するか

いよいよ本論の魚体への寄生について述べましょう。先述のようにケルカリア幼生が魚の皮膚に取り付き、鱗の下側に潜り込みます。そこから筋肉に侵入し被嚢するものも少なくありません。

鱗の下側に被嚢したものは、そこが黒変するので、古くから黒点病 (black spot disease) として知られていました(図3)。この黒点は、メタケルカリアの分泌する刺激物質によって、黒色素胞が増生するのだとする説と、メタケルカリアの排泄囊内の黒色顆粒が体外から透けて見えるのだとする2説があります。筆者は、その両者の“協力”によるものと考えています。

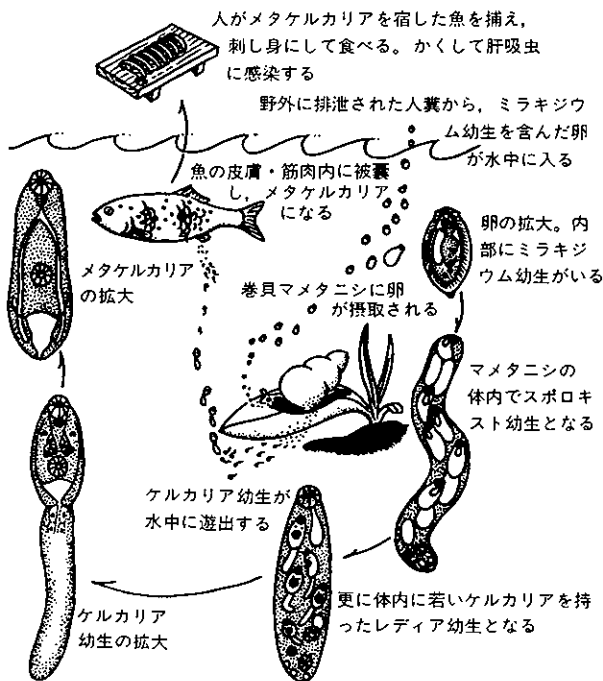


図2. 肝吸虫の生活環

(R. W. ヘグナーとK. A. スティレスより改写)

黒点病になっても魚にはほとんど害は無いのですが、キツネやイタチ、カワウソといった肉食性哺乳類の目に付き易くなります。その結果、メタケルカリアは待ちに待った終宿主に辿り着くという訳です。これは吸虫類が長い進化の末に獲得した生存のための知恵なのでしょう。

次に吸虫性の白内障について記しましょう。吸虫ディプロストミウムのケルカリア幼生は、魚体に侵入すると

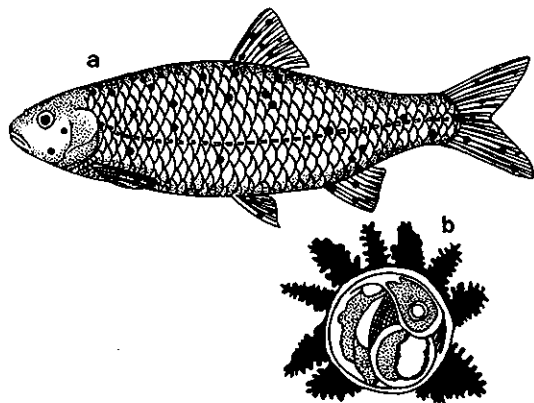


図3. 魚の体表に生ずる黒点病

aは黒点病に罹患した魚。bは被嚢内のメタケルカリア幼生 (R.ノルドマンより改写)

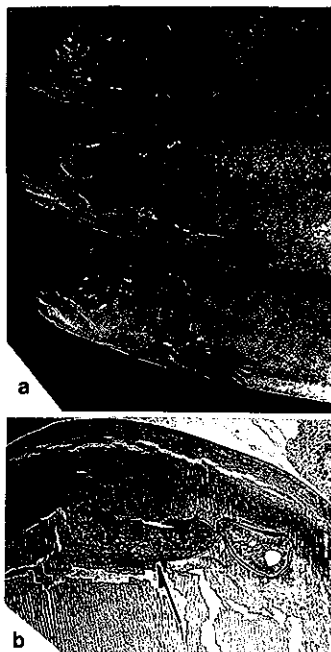


図4.

吸虫類のケルカリア幼生がレンズに侵入することにより生じた白内障。aは白内障に陥ったマス。レンズが一樣に白濁している。bはレンズ断面。内部にメタケルカリア幼生(矢印)が見える (D. W. ブルノとT. T. ポーペによる)

眼球内のレンズに入り込み、そこでメタケルカリアになります。その際、他の吸虫類のように被嚢することがありません。罹患魚はサケ科のニジマスやコイ科の仲間に見ることができます(図4)。

魚は、このメタケルカリアにより、白内障 (cataract) に陥り、失明するものが続出します。体色も黒味がかって来ます。眼が見えず、動きの鈍くなった魚は体色まで目立つようになるのですから、捕食者にとって恰好の獲物と言えます。

ディプロストミウムの終宿主は水鳥です。この吸虫は生存のために中間宿主の魚を、そこまでコントロールして水鳥に捕えられ易くしたのです。ついでながら、緑内障というのは視神経が犯される病気です。白内障の方はレンズを除去することで治りますが、緑内障の方は未だ有効な治療法がありません。

下等な吸虫類に脊椎動物の生命までコントロールされているなんて、容易に信じ難いですね。でも、それは現実なのです。

2. 単生類

単生類の特徴。この仲間は以前、前記の吸虫類に入られていました。研究が進むに従い、孵化した幼虫は中間宿主を経ることなく、変態の後に宿主(この場合は魚)に取り付いて一生を終えることが明らかになりました。従って、単生類を過まって飲み込んでも、人体に寄生することはありません。

一方、ギロダクチルスのように、子宮内で孵化した幼虫を一定期間保育する胎生のものもあります。そんなことから、動物学者の間で単生類という別枠を設け、吸虫類と一線を画すべきだとする意見が主流になりつつあります。そこで本論でも、単生類として独立させることにしました。この単生類は総べて雌雄同体です。

日本でただ1種類知られているフタゴムシのように、2個の幼虫が合体してX字形を呈し、そのまま成体になる特異なものもあります(図5)。筆者はフナノ鰓を電子顕微鏡で調べていて、フタゴムシを発見し、その奇妙な姿に驚いたことがあります。

単生類の生活

ダクチロギルスの身体の仕組みと生態。まず、コイやフナ、キンギョの鰓に極く普通に認められる単生類ダクチロギルスについて述べましょう(図6a)。まるで前世紀の怪物のような名前のダクチロギルスの虫体は、長楕円形をしていて、長径0.5ミリから大きなものでは2ミリに達するものもありますが、大部分は1ミリほどで、短径は長径の1/4前後といったところ です。

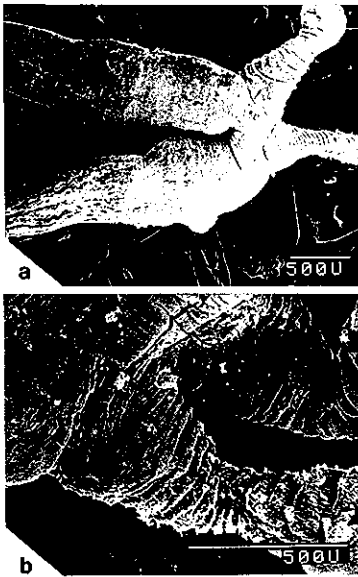


図5. 2匹の幼虫が合体し、独特のX字型になったフタゴムシ。写真はフナノ鰓から得た成虫。aの右側が体後方で、末端にそれぞれ吸盤を持つ。bは体末端のリング状の襷を示す。

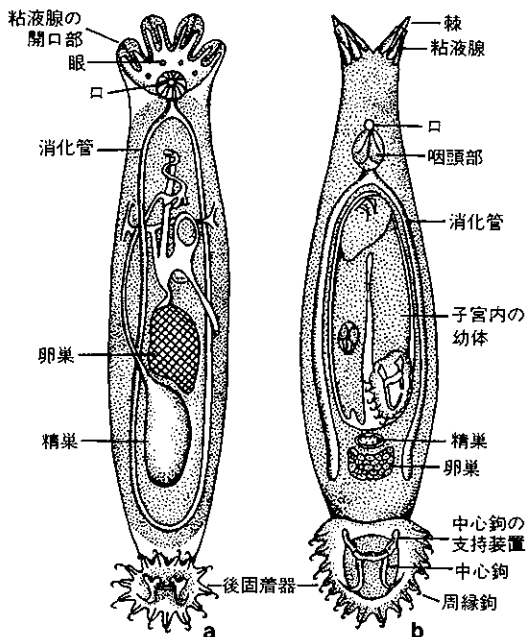


図6. 単生類の内臓器管

aはダクチロギルス, bはギログダクチルス
(C. ファン・デュインより改写)

体前端は4つに分岐していて、各突起の末端に粘液腺が開口しています。そこから粘性に富んだ分泌物を放出します。体前方を鰓の二次鰓弁の隙間に刺し込み(図7a, b) 前記の分泌物で固定します。先の突起を粘着突起と呼ぶのは、その機能に基づいています。鰓の上皮細胞やその分泌物を粘着突起後方の口器より吸飲します。

口器のやや上方に2対の眼点があり、光に対して負の走性を示すと言われています。体の後端には円盤状の後固着器があります。円盤の周囲には7対の小さなフック(周縁鉤)を備え、それを鰓の上皮に打ち込んで体を固着します。ダクチロギルスも後述のギログダクチルスもそうですが、成体の段階で宿主から分離すると、再度寄生することができないので(あるいは死亡してしまうので)、宿主にしがみ付かざるを得ないのだと考えられています。

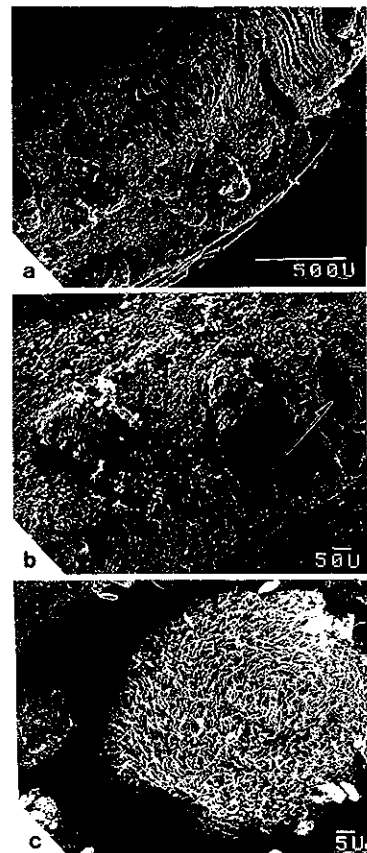


図7. コイの鰓弁に寄生するダクチロギルス

aは鰓弁表面の虫体。bは鰓薄板の隙間に潜入する虫体。写真右側の矢印は虫体の脱落した後に残された空隙。cは身体を丸めるオンコミラキジウム幼生。

後固着器の中央に1対の大きな鉤があります。これは中心鉤と呼ばれ、鉤を動かす筋肉や支持装置を備えています。この中心鉤を引き起こすことで、後固着器を緩め、鰓の表面を移動することができます。ダクチロギルスは春から秋、特に水温の高い夏期に盛んに産卵します。卵は鰓蓋から体外に排出され、水底に沈下します。2～3日で孵化し、体表に繊毛を備えたオンコミラキジウムになります(図7c, 図8)。

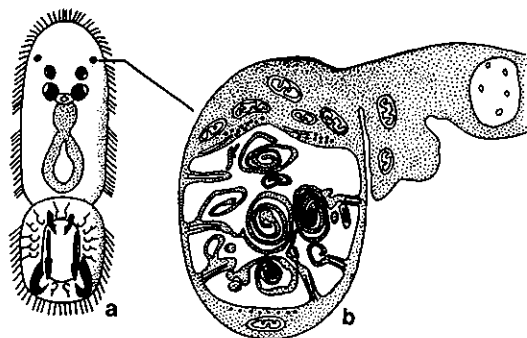


図8. 単生類のオンコミラキジウム幼生と眼

aはオンコミラキジウム幼生。体前方に色素を有する2対の大形の眼と、その上方に1対の繊毛眼がある。幼生の段階で消化管や後固着器はほぼ完成状態にある。**b**は繊毛眼の微細構造を示す。内腔の渦巻形のもが繊毛由来の光受容器
(G. C. ケールンと K. M. リオンスより改写)

て皮膚の^{ヒヅ}蛭という意味)と呼びます。それは前述のダクチロギルスが主に魚の鰓に寄生するのに対し、ギロダクチルスは体表や鰓蓋の開口部といった表皮に取り付くからです(図9a, b)。

虫体は長楕円形をしていて、長径1ミリ未満、短径0.2ミリ前後です。体の前端は2葉に分かれ、各突起の末端に短い棘を備え、そこに粘液腺が開口します。小型の口は2本の突起後方にあります。体の後端には円盤形の後固着盤があり、その外縁にずらりと小型の周縁鉤が並んでいます。

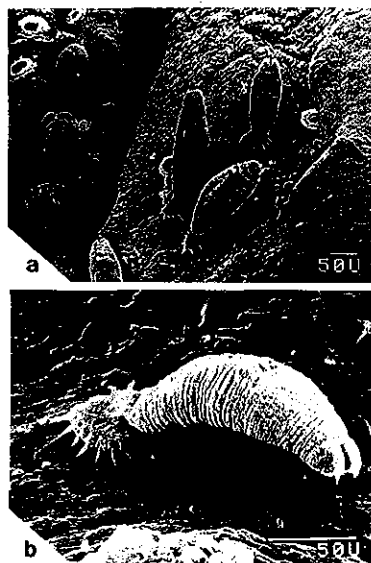


図9. 単生類ギロダクチルス

aはキンギョの鰓蓋開口部周縁の表皮に寄生する様子を示す。**b**は1個の虫体を示す。左側に円盤形の後固着器、右側の体前端に1対の棘が見える。

オンコミラキジウムの繊毛は宿主に接触する際の触覚器としても機能します。魚の口から呼吸水と共に流入したオンコミラキジウムは、鰓の表面に定着します。そして、体表の繊毛を失ない、ダクチロギルスのミニアチュア版になり、寄生生活に入ります。宿主に巡り会えなかったオンコミラキジウムは、2～3日以内に死亡します。

ダクチロギルスの寄生により、宿主の鰓は絶えずチクと機械的な刺激を受けるので、二次鰓弁は融合し、棍棒化します(図7a, b)。その結果、呼吸面積が著しく減少します。その状態になると、溶存酸素の僅かな低下にも耐えられず、容易に死亡するようになります。

また、鰓上皮の機械的な刺激により、出血や粘液分泌が盛んになります。それは有害な細菌や原虫が集まる原因になります。

ギロダクチルスの身体の仕組みと生態

次にギロダクチルスについて述べましょう(図6b)。このギロダクチルスは英語でスキンプルーク(肝蛭^{ヒヅ}に対し

先のダクチロギルスでは周縁鉤は7対ですが、ギロダクチルスでは8対あり、鉤も大形です(図10a)。ダクチロギルスは二次鰓弁の隙間に潜り込んでいるので、後固着盤の細かな構造を観察するのはかなり苦勞します。表皮に寄生する本種では電子顕微鏡により、その実像を鮮明に捕えることができます(図10b, c)。初心者にギロダクチルスの後固着盤の電子顕微鏡写真を見せると、「凄いですね、これで魚にしがみ付くんですか、口は円盤の中央にあるんでしょう」という答えが返ってきます。

ギロダクチルスは伸縮性に富んだ身体を逆U字型に曲げて、体前端部の2本の棘を表皮組織に刺入し、口から

細胞成分を吸飲します。咽頭部には消化腺様の構造があり、宿主の表皮細胞を分解する酵素が含まれています。

体の移動はシャクトリムシ型の運動によっています。ギロダクチルスに取り付かれた魚は、棘やフックの刺激によって、粘液分泌能が亢進します。それらの粘液物質は、原虫類を呼び寄せる原因になります。また、傷付いた表皮表面から有害な細菌が侵入したり、水カビの胞子が付着し易くなったりするので、油断なりません。

このギロダクチルスは胎生ですから、幼虫の段階でも親とあまり変わらない姿をしていて、産まれると直ちに寄生生活に入ります。魚にしてみれば、かなり厄介な寄生虫と申せましょう。



図10. 単生類ギロダクチルスの後固着器と鉤

aは8対の周縁鉤と大形の中心鉤を示す光学顕微鏡像。bは後固着器側面を示す。周縁鉤の様子がよく分かる。cはキンギョの表皮細胞に刺入された周縁鉤の拡大(aはD. W. ブルノとT. T. ポーベによる)。

3. 条虫類

条虫類の身体と生活環。専ら宿主の消化管内で生活し、扁平で細長いリボンのような感じの寄生虫がいます。サナダムシというのが、その代表です。英語ではテープワームと呼ばれています。今の人には、英語のテープワームという呼び名の方が通りが良いかもしれません。

条虫類の多くは魚を終宿主あるいは中間宿主にしています。よく寄生虫学の教科書に登場する、ブタのサナダムシ、テニア・ソリウムは人に感染しますから要注意です(図11)。

虫体の長さは数センチメートルから30センチメートル、時には5メートル以上に達することもあります。幅は4～5ミリといったところですが。扁平な虫体は数百、時には数千に達する片節(プログロテッド)が縦に連なって構成されています。頭節(スコレックス)には鉤や吸盤、触手からなる複雑な固着装置を備えています。それで宿主の腸内壁にしがみ付きます。

条虫類の体壁は以前、分厚いクチクラ層で覆われていると考えられていました。ところが、外壁の横断面を作製して電子顕微鏡で観察したところ、私達の消化管内壁

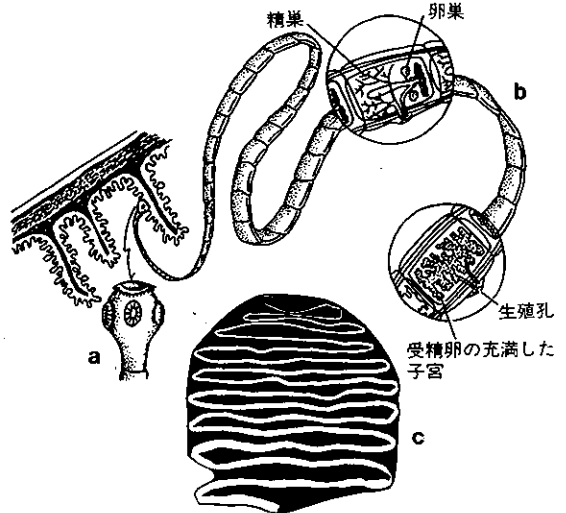


図11. ブタに寄生する最も一般的なサナダムシ、テニア・ソリウムの虫体

aは鉤、吸盤を備えた頭節。bはテープ状の虫体。丸い囲みは片節の内部構造を示す。cは消化管より摘出した成虫。全長5メートル近くある。写真上方が頭節(a～bはC. A. ヴィリーより改写, cはC. ジンマーによる)。

にある微絨毛と同様な構造のあることが分かりました。それを簡単に言うと、条虫類の体表は人間の消化管を裏返しにしたようなものです。従って条虫類は、体表全体で宿主から栄養分をかすめ取っていることになります。それ故、消化管は完全に消失しています。

増殖は卵の他に、頭節後方の成長帯の部分で、新たな片節を形成することによっても行われます。また、各片節内部には雌雄の生殖器官がありますから、自家受精が可能です。そのため、子宮内に受精卵が充満することになります。

そこで、鳥類を終宿主に持つ条虫リグラ・アヴィウムの生活環を紹介しましょう(図12)。まず、水鳥の消化管内で排卵された無数の受精卵は、糞と共に外界に排泄されます。そして、水中で孵化して繊毛を備えたコラキディウムとなり、水中に泳ぎ出します。それをミジンコが食べ、ミジンコの体内でコラキディウムは長楕円形の前擬尾虫(プロケルコイド)に変身します。

この前擬尾虫を体内に宿したミジンコを魚が食べます。すると、前擬尾虫はたちまちテープ状の擬充尾虫(プレケルコイド)になり、魚の腹腔内を埋め尽くします。魚は腹腔が圧迫されているので、餌を飲み込むことができません。ですから、絶えず空腹に苦しむ訳です。その結果、餌を求めて水面近くを泳ぎます。

そんな魚は水鳥の目に、最も狙い易い獲物と映ります。かくして、リグラは終宿主の水鳥の体内に辿り着き、瞬く間に成虫になります。

結び

この号では、魚に寄生する扁形動物について解説しました。この扁形動物は実にさまざまな形をしていて、これが地球生物とは俄に信じられないようなものもあります。それは以前、退化と考えられていました。今日では扁形動物が長い進化の末に獲得した最も優れた形質なのだとみなされています。次回は、寄生性甲殻類について述べることにします。なお、扁形動物について詳しく知りたい方のために、以下の文献を挙げておきます。

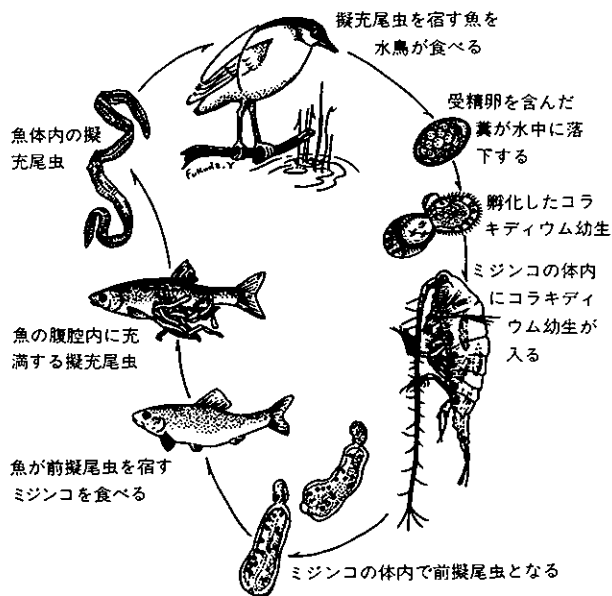


図12. 条虫リグラ・アヴィウムの生活環

(J. G. ペールより改写)

参考文献

- 1) J. G. ペール著; 竹脇潔訳, 「動物の寄生虫」, 平凡社 (1973).
- 2) P. J. Whitfield, 「The Biology of Parasitism」, Edward Arnold (1979).
- 3) M. フィンガーマン著; 青戸啓爾訳, 「比較動物学—アメーバからヒトまで」, 培風館 (1982).
- 4) 江草周三編, 「魚病学—感染症・寄生虫病篇」, 恒里社厚生閣 (1983).
- 5) C. ジンマー著; 長野敬訳, 「パラサイト・レックス」, 光文社 (2001).

粘液とムチン(その3)

—ムチンの多様性をめぐって—

関東化学株式会社 技術・開発本部 伊勢原研究所 所長 農学博士 栗原 誠

1. はじめに

消化管粘膜では多種多様な粘液が日々多量に産生、分泌されているが、粘液の多様性に寄与し、その主体を成している成分はムチンと呼ばれる特殊な構造をもつ糖タンパク質である¹⁾。ムチンの研究はムチンを特異的に認識するモノクローナル抗体の開発によって新たな局面をむかえ、現在ではムチン分子の僅かな構造の違い (micro-heterogeneity) を厳密に識別し、ムチンを同定することも可能になってきている²⁾。また、ムチンの分析技術の進歩に伴い、生体内では個々のムチン分子種の産生や発現が高度に制御されていることが明らかになりつつある。他方、ムチンの質的な変化を伴った病態がいくつか見出されてきており、ムチンの性状に基づいて病態を診断する研究も進められている。

先に述べたように、我々は北里大学医療衛生学部の石原和彦教授等と共同で抗ムチンモノクローナル抗体の開発を進めているが²⁾、本稿では、我々が開発した抗ムチンモノクローナル抗体が利用された様々な研究の中から、病態生理に係わるトピックを紹介したいと思う。

2. 胃潰瘍の治癒過程におけるムチン産生

胃潰瘍は胃粘膜の上皮細胞が壊死、脱落し、通常炎症を伴う病変であるが、比較的短期間に治癒するものから慢性化して再発するものまで、様々な病態が認められている。近年、慢性胃潰瘍の発症要因として *Helicobacter pylori* の関与が強く示唆されているが、その成因や治癒過程については未だ不明な点が多い。

Hayashida 等は、慢性潰瘍の実験モデルとして汎用される酢酸潰瘍³⁾をラット胃に作製し、その治癒過程で産生されるムチンの性状について検討を行なっている⁴⁾。彼等はラット胃の体部と前庭部の境界部に潰瘍を誘起し(図1)、病変部で産生されるムチンの性状を抗ムチンモノクローナル抗体(RGM21, RGM26, HIK1083; 関東化学)を用いて組織化学的に検討した。なお、これらのモノクローナル抗体はいずれもラットの胃ムチンと反応するが、

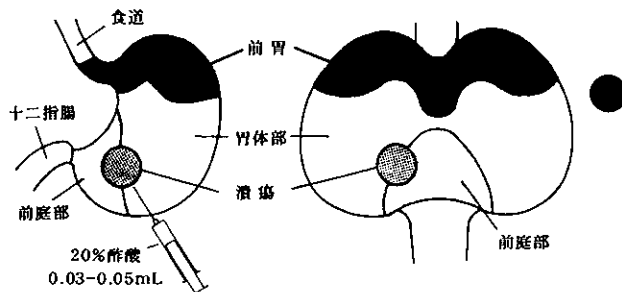


図1. ラット胃酢酸潰瘍の作製^{4,7)}

岡部等によって考案された方法³⁾による

RGM21は胃体部表層粘液細胞由来ムチン、RGM26は前庭部表層粘液細胞由来ムチン、そしてHIK1083は胃体部・前庭部の粘膜深層に局在する腺粘液細胞由来ムチンとそれぞれ特異的に反応することが明らかにされている⁵⁾。Hayashida 等の研究では、酢酸による傷害を加えてから10日後、体部(oral側)と前庭部(anal側)にまたがって深く明瞭な潰瘍が確認され、20日、30日と経過するに従って、病変部が再生した上皮によって覆われていく様子が観察されている(図2)。病変部のムチン産生に関しては、再生した上皮組織の内部において、いち早くRGM26陽性細胞が出現し(10日後)、次いで、深層部にHIK1083陽性細胞が出現するが(20日後)、RGM21陽性細胞は30日経過した時点でもほとんど発現しないことがこの研究で明らかにされた。すなわち、再生した粘膜は、発症部位が胃体部、前庭部に関わらず、一様に前庭部の粘膜(幽門粘膜)の形質を発現していると言えるのである。なお、この結果は、先にSugiyama 等が行なったDBA (*Dolichos biflorus agglutinin*) レクチンと paradoxical concanavalin A staining 法を用いた酢酸潰瘍モデルの検討結果⁶⁾を支持していた。

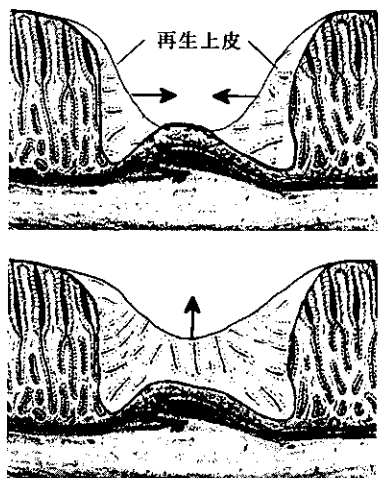


図2. 潰瘍病変部の粘膜再生（模式図）

再生上皮が矢印の方向に進展し、病変部を覆う。
再生上皮内には粘液産生細胞が観察される。

上記の報告とは別に Hayashida 等は、酢酸潰瘍の再生上皮において、正常の胃体部および前庭部では認められないシアロムチンが高度に産生されていることをモノクローナル抗体 HCM31 を用いて明らかにしている⁷⁾。HCM31 はヒト大腸のムチンを免疫原として作製したモノクローナル抗体で、そのエピトープにはシアル酸が含まれていることが示唆されているが、ラットでは小腸および大腸の粘液細胞と反応する他、胃では前胃と胃体部の間にごく僅かに存在する噴門部の細胞にのみ反応性を示す。このことから Hayashida 等は、酢酸潰瘍の治癒過程において、一時的に前庭部様の粘液産生に加えて噴門部様の粘液産生がみられると提唱している。

酢酸潰瘍の実験モデルは、胃のムチンが外的要因によって質的に変化することを示している。しかしながら、このような変化が何故起こるのか、また、酢酸潰瘍に特有の慢性化するといった病態とどのように関係するのか、さらには、ヒトの慢性潰瘍でも同じ様なことが起こっているのか等についてはまったくわかっていない。潰瘍は古くから研究されている病態であるが、そこで産生されるムチンの性状に関する研究は始まったばかりである。潰瘍病変部のムチンの性状が治癒の成否を判断する指標になる可能性も考えられ、今後の研究の進展が期待されるところである。

3. *Helicobacter pylori* 感染と胃粘液

Helicobacter pylori (*H. pylori*) は通称ピロリ菌と呼ばれ、ヒトの胃に好んで住み、また、ヒト以外にはほとんど感染しないといった特殊な細菌である。近年、胃炎や胃潰瘍の多くがこの菌の感染によって引き起こされることが明らかになり⁸⁾、ピロリ菌の検査が臨床の場で行われるようになってきている。また、胃癌患者の多くがピロリ菌に感染しているとの報告がなされ、ピロリ菌と胃癌との関連が指摘されている⁹⁾。

『胃の中でピロリ菌はどのように存在しているのか』、この命題に対して Shimizu 等は明解な実験データを提示している¹⁰⁾。彼等はピロリ菌に感染している患者胃粘膜を Ota 等の方法¹¹⁾で固定し、粘膜表層を覆う粘液の層（粘液ゲル層）を保持している組織標本を作製した。そして、その切片に galactose oxidase-cold thionin Schiff (GOCTS) 染色、paradoxical concanavalin A staining (PCS)、さらに、抗ピロリ抗体を用いた免疫染色を施した。GOCTS 染色は胃粘膜の表層粘液細胞およびその粘液を青色に、PCS は深層部の腺粘液細胞およびその粘液を褐色に染色するため、粘液が表層と深層のどちらの粘液細胞に由来しているかを色で判別することができる。GOCTS-PCS 重染色法を開発した Ota 等はこの方法でヒト胃粘膜を染色し、粘液ゲル層では表層粘液細胞由来の粘液と腺粘液細胞由来の粘液が層状に、あたかも地層を形成するように積み重なって存在し、粘膜バリアを構築していることを明らかにしている¹¹⁾。Shimizu 等の方法は、Ota 等の方法に免疫染色を加えて開発した 3 重染色法であるが、ピロリ菌はピンク色に染まり、粘液と識別される。Shimizu 等は染色した切片を顕微鏡下で観察し、ピロリ菌が主に胃の内腔に面した表層粘液細胞に付着して存在する他、粘液ゲル層、その中でも表層粘液細胞由来の粘液層に多数存在していることを組織染色像として提示したのである。

ごく最近、Hidaka 等は、電子顕微鏡下で粘液ゲル層内のピロリ菌の様子を詳細に観察し、ピロリ菌が表層粘液細胞由来の粘液層に偏在する理由を考察している¹²⁾。Hidaka 等は抗ムチンモノクローナル抗体 HIK1083 を用いて腺粘液細胞由来の粘液（ムチン）層を特定し、電子顕微鏡では腺粘液細胞由来の粘液層は帯状に、また、表層粘液細胞由来の粘液層は細網状に観察されることを示して、両粘液層の構造上の違いを示唆した。そして、ピロリ菌が細網状粘液層と帯状粘液層の界面に平行に数多く並んで存在していることや、ピロリ菌が帯状粘液層内にあたかも閉じ込められているかの様に観察されることと関連付けて、ピロリ菌は表層粘液細胞由来の粘液層内で

自由に振る舞うことができるが、腺粘液細胞由来の粘液層内では身動きがとれず、その中に進入することも容易ではないのではないかの仮説を立てている。ピロリ菌による胃粘膜感染については、表層粘液細胞由来ムチンとの相互作用といった観点からだけでなく、腺粘液細胞由来ムチンとの関係も考慮する必要があるかも知れない。Hidaka 等の研究は、ピロリ菌感染の病態生理に関して新たな問題を提起しているが、それに留まらず、「ムチン分子の会合と分子間相互作用」といったムチンの基本特性に関わる非常に興味深い話題を提示している。

4. 癌細胞が産生するムチン

一口に癌細胞と言ってもその性状は非常に多種、多様である。各臓器組織において、癌細胞が正常細胞と異なる物質を産生していれば、それはいわゆる癌マーカーとして癌の検出に有効となる。また、仮に癌細胞が正常細胞と同じ物質を産生していても、癌化によってその物質の血液中濃度が変動するのであれば、癌マーカーになり得る。我々が作製した抗ムチンモノクローナル抗体は正常の胃や大腸の粘膜のムチンを免疫原としているが、癌細胞に同じ抗原性を見いだすことができれば、それを認識する抗体は癌診断用ツールとして利用できる可能性を秘めていると言えるのである。このような観点から、得られた抗体の癌細胞に対する反応性がスクリーニングされている。

これまでに、有用性が高いと目され、詳細な検討が成されている抗体は HIK1083 である。Nakamura 等は、HIK1083 のヒト臓器組織に対する反応性を免疫組織化学的に検討し、HIK1083 が正常組織では胃の腺粘液細胞（噴門腺細胞、副細胞、幽門腺細胞）と十二指腸の腺細胞（ブルネル腺細胞）の他、脾臓、胆嚢、総胆管のごく限られた腺細胞と反応し、食道や大腸とは反応しないこと、また、化生（十分に分化した組織が他の組織にかかわること）を起こした脾臓や胆嚢の組織、胃癌や脾臓癌の組織では、HIK1083 陽性細胞が高率に発現することを明らかにしている¹³⁾。一方、Ishii 等は、ヒト子宮の頸部における HIK1083 の反応性を詳細に検討し、HIK1083 が正常頸管粘膜とは反応しないが（図 3）、胃上皮化生や粘液型腺癌の症例で高率に反応することを見出している¹⁴⁾。中でも、悪性腺腫（英名は adenoma malignum または mucinous type of minimal deviation adenocarcinoma）と呼ばれる疾患に対して HIK1083 はほぼ 100% の陽性率を示すことを明らかにし¹⁴⁻¹⁶⁾、特に婦人科領域の医師から注目されている。悪性腺腫は、組織像が正常の子宮頸部粘膜と酷似していることから（図 4）、その診断

がきわめて難しいとされる癌であるが、発症頻度は低いとされるものの悪性度は高く、早期診断の重要性が認知されていた。Ishii 等は、頸部粘膜の生検標本を HIK1083 を用いて免疫染色することが診断の一助になることを提唱し^{17,18)}、さらに、子宮の頸管粘液を採取し、これに HIK1083 と反応するムチンが含まれているか否かを調べることも有効な検査になると報告している^{18,19)}。現在、Ishii 等の研究は多くの医療施設で検証が進められている²⁰⁻²²⁾。HIK1083 陽性ムチンの検出が癌の診断に有効と考えられ

ヘマトキシリン-エオジン染色



HIK1083 免疫染色



図 3. 正常子宮頸管粘膜の組織染色像

矢頭は頸管腺細胞を指す。HIK1083 との反応性は認められない。

（写真：勝山 努先生、石井恵子先生のご好意による）

ヘマトキシリン-エオジン染色



HIK1083 免疫染色



図 4. 子宮頸部悪性腺腫（化生部分）の組織染色像

頸管腺細胞は異型に乏しく、正常細胞と酷似しているが、HIK1083 と反応性を示す。

（写真：勝山 努先生、石井恵子先生のご好意による）

ている症例は、その他に、肺で発現する杯細胞型の肺胞上皮癌 (mucinous bronchioloalveolar carcinoma) が Honda 等により報告されている²³⁾。なお、これまでに判明している HIK1083 のヒト臓器組織に対する反応性は Ota 等の論文に網羅されているので、詳しくは原著を参照して頂きたい²⁴⁾。

我々が開発したモノクローナル抗体の中で、病理学的に有用性が示されている抗体は HIK1083 の他に、抗ヒト大腸ムチンモノクローナル抗体 HCM14, HCM21, 抗ヒト胃ムチンモノクローナル抗体 HGM72, HGM75 がある。Hara 等²⁵⁾ は HCM14, HCM21 を用いて、また、Wang 等²⁶⁾ はこれら 4 抗体を用いて、大腸や胃の腫瘍形成過程におけるムチンの質的変動を考察している。これらの研究に通して言えることは、ムチンはその産生細胞がもつ形質の一つの表現形であり、ムチンの分子構造の中には産生細胞からの様々な情報が input されている可能性があるということである。ムチンの構造解析が進めば、ムチンが単なる癌マーカーとしてではなく、より高度な情報分子として再認識される日が来るのではないかと予測している。

なお、弊社は HIK1083 が係わる種々の研究をサポートするため、抗体単独の他、ラテックス凝集法を用いた HIK1083 陽性ムチン簡易検出キット、並びに、サンドイッチ ELISA 法を用いた HIK1083 陽性ムチン高感度測定用キットを製品化している。ご興味をおもちの方は、弊社ライフサイエンス部にお問い合わせ頂けると幸いです。

5. おわりに

「粘液とムチン」というテーマで 3 回にわたり投稿させて頂いた。ムチン研究における最大の課題は構造と機能の究明にあると思われるが、ムチン特有の構造の複雑さと多様性が障害となり、全容解明は非常に困難なものとなっている。一方、そうであるが故に、ムチン (粘液) は依然として神秘的な存在であり、興味の対象であり続けているのかも知れない。本誌がムチン研究の魅力を紹介する一助になれば望外の喜びである。

最後に、本連載を掲載するにあたり、ご指導並びに種々の資料をご提供下さった北里大学 堀田恭子名誉教授、北里大学医療衛生学部 石原和彦教授、並びに、信州大学医学部 勝山努教授、石井恵子博士に厚く御礼を申し上げます。

参考文献

- 1) 栗原 誠: 粘液とムチン (その 1) — 生化学的にみた消化管粘液の性状 —. *The Chemical Times*, 178: 20-24, 2000.
- 2) 栗原 誠: 粘液とムチン (その 2) — 胃粘液研究用ムチンモノクローナル抗体の開発 — *ibid.*, 182: 20-24, 2001.
- 3) Okabe S, Roth JLA, Pfeiffer CJ: A method for experimental, penetrating gastric and duodenal ulcers in rats. Observations on normal healing. *Am J Dig Dis*, 16: 277-284, 1971.
- 4) Hayashida H, Ishihara K, Kurihara M, Saigenji K, Hotta K: Alteration of mucins in rat gastric mucosa healing from acetic acid-induced ulcer: an immunohistochemical study using monoclonal antibodies against gastric mucins. *Biomed Res*, 21: 95-103, 2000.
- 5) Ishihara K, Kurihara M, Goso Y, Ota H, Katsuyama T, Hotta K: Establishment of monoclonal antibodies against carbohydrate moiety of gastric mucins distributed in the different sites and layer of rat gastric mucosa. *Glycoconjugate J*, 13: 857-864, 1996.
- 6) Sugiyama A: Histochemical study of mucins on the healing process of experimental gastric ulcers. *Shinshu Med J*, 38: 363-379, 1990.
- 7) Hayashida H, Ishihara K, Ichikawa T, Okayasu I, Kurihara M, Saigenji K, Hotta K: Expression of a specific mucin type recognized by monoclonal antibodies in the rat gastric mucosa regenerating from acetic acid-induced ulcer. *Scand J Gastroenterol*, 36: 467-473, 2001.
- 8) Wallace JL: Possible mechanisms and mediators of gastritis associated with *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol Suppl*, 187: 65-70, 1991.
- 9) Correa P, Fox J, Fontham E, Ruiz B, Lin YP, Zavala D, Taylor N, Mackinley D, de Lima ED, Portilla H, Zarama G: *Helicobacter pylori* and gastric carcinoma. Serum antibody prevalence in populations with contrasting cancer risks. *Cancer*, 66: 2569-2574, 1990.
- 10) Shimizu T, Akamatsu T, Sugiyama A, Ota H, Katsuyama T: *Helicobacter pylori* and the surface mucous gel layer of the human stomach. *Helicobacter*, 1: 207-218, 1996.
- 11) Ota H, Katsuyama T, Ishii K, Nakayama J, Shiozawa T, Tsukahara Y: A dual staining method for identifying mucins of different gastric epithelia mucous cells. *Histochem J*, 23: 22, 1991.
- 12) Hidaka E, Ota H, Hidaka H, Hayama M, Matsuzawa K, Akamatsu T, Nakayama J, Katsuyama T: *Helicobacter pylori* and two ultrastructurally distinct layers of gastric mucous cell mucins in the surface mucous gel layer. *Gut*, 49: 474-480, 2001.
- 13) Nakamura N, Ota H, Katsuyama T, Akamatsu T, Ishihara K, Kurihara M, Hotta K: Histochemical reactivity of normal, metaplastic, and neoplastic tissues to α -linked N-acetylglucosamine residue-specific monoclonal antibody HIK1083. *J. Histochem. Cytochem.*, 46: 793-801, 1998.
- 14) Ishii K, Hosaka N, Toki T, Momose M., Hidaka E., Tsuchiya S., Katsuyama T.: A new view of the so-called

- adenoma malignum of the uterine cervix. *Virchows Arch.* 432: 315-322, 1998.
- 15) Ishii, K., Katsuyama, T., Ota, H., Watanabe, T., Matsuyama, I., Tsuchiya, S., Shiozawa, T., Toki, T.: Cytologic and cytochemical features of adenoma malignum of the uterine cervix. *Cancer*, 87: 245-253, 1999.
 - 16) Ishii, K., Hidaka, E., Katsuyama, T., Ota, H., Shiozawa, T., Tsuchiya, S.: Ultrastructural features of adenoma malignum of the uterine cervix: demonstration of gastric phenotypes. *Ultrastruct Pathol*, 23: 375-381, 1999.
 - 17) 石井 恵子: 子宮頸部悪性腺腫が産生する特異的ムチン. 臨床検査, 44: 796-798, 2000.
 - 18) 石井 恵子: (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, 67: 1161-1166, 2000.
 - 19) Ishii K, Kumagai T, Tozuka M, Ota H, Katsuyama T, Kurihara M, Shiozawa T, Noguchi H: A new diagnostic method for adenoma malignum and related lesions: latex agglutination test with a new monoclonal antibody, HIK 1083. *Clin Chim Acta*, 312: 231-233, 2001.
 - 20) Utsugi K, Hirai Y, Takeshima N, Akiyama F, Sakurai S, Hasumi K: Utility of the monoclonal antibody HIK1083 in the diagnosis of adenoma malignum of the uterine cervix. *Gynecol Oncol*, 75: 345-348, 1999.
 - 21) Sato S, Ito K, Konno R, Okamoto S, Yajima A: Adenoma malignum report of a case with cytologic and colposcopic findings and immunohistochemical staining with antimucin monoclonal antibody HIK1083. *Acta Cytol*, 44: 389-392, 2000.
 - 22) Yamashita S, Nagai N, Oshita T, Sakata K, Murakami T, Shigemasa K, Tanioka Y, Inai K, Ohama K: Clinicocytological and immunohistochemical study of adenoma malignum of the uterine cervix. *Hiroshima J Med Sci*, 49: 167-173, 2000.
 - 23) Honda T, Ota H, Ishii K, Nakamura N, Kubo K, Katsuyama T: Mucinous bronchioloalveolar carcinoma with organoid differentiation simulating the pyloric mucosa of the stomach. *Am J Clin Pathol*, 109: 423-430, 1998.
 - 24) Ota H, Hayama M, Nakayama J, Hidaka H, Honda T, Ishii K, Fukushima M, Uehara T, Kurihara M, Ishihara K, Hotta K, Katsuyama T: Cell lineage specificity of newly raised monoclonal antibodies against gastric mucins in normal, metaplastic, and neoplastic human tissues and their application to pathology diagnosis. *Am J Clin Pathol*, 115: 69-79, 2001.
 - 25) Hara A, Saegusa M, Mitomi H, Kurihara M, Ishihara K, Hotta K, Okayasu I: Colonic mucin carbohydrate components in colorectal tumors and their possible relationship to MUC2, p53 and DCC immunoreactivities. *Pathol Res Pract*, 196: 159-166, 2000.
 - 26) Wang YZ, Mitomi H, Kurihara M, Ishihara K, Hotta K, Tanigawa H, Okayasu I: Gastric adenomas and superficial adenocarcinomas display distinct patterns of mucin carbohydrate and core protein expression. *Histopathology*, 37: 250-259, 2000.

〔訂正とお詫び〕

2002 No.1 (通巻183号)「野依分子触媒の最近の進歩」にて誤りがありました。謹んで、お詫びと訂正を致します。

誤 p 3, 6行目

展開した米国スク립ス研究所のバリー・シャープレス先生も共同受賞されました。「不斉触媒による不斉酸化反応」を発見し、特に野依先生の…

正

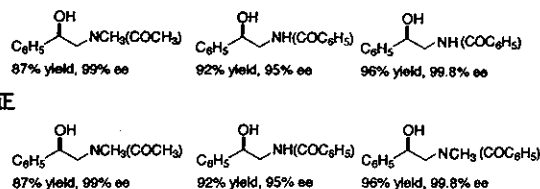
「不斉触媒による不斉酸化反応」を発見、展開した米国スク립ス研究所のバリー・シャープレス先生も共同受賞されました。特に、野依先生の…

誤 p 4, 5行目

(または (R)-BINAP と (R)-ジアミン) の組み合わせが…
正

(または (R)-BINAP と (S)-ジアミン) の組み合わせが…

誤 p 6, 式(5)



〈編集後記〉「春爛漫ですね」皆様方の挨拶はどんなものでしょうか。春到来を告げる桜は、つばみの膨らみ、五分咲き、そして満開と環境の変化に応えながら色、香り、形で美しさを披露し、私たちに感動をもたらします。

この時期、当社は赤を基調にタイトルを一新した総合カタログ「The Index of Laboratory Chemicals: 22nd EDITION」を発行いたしました。本誌同様、皆様方のご愛顧をお願い申し上げます。(三城記)



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 三城 佑三 平成14年4月1日 発行