

## 綜 説

## 胃粘膜防御とピロリ菌感染

川久保 雅 友

信州大学医学部附属病院臨床検査部臨床研究支援室

Gastric Mucous Defence against *Helicobacter pylori* Infection

Masatomo KAWAKUBO

Biomedical Research Center, Department of Laboratory Medicine,  
Shinshu University Hospital**Key words:** *Helicobacter pylori*, O-glycan, gland mucous cell-type mucin, CGL

ピロリ菌, O-グリカン, 腺粘液細胞型粘液, コレステリルグリコシド

## I はじめに

粘膜表面を覆っている粘液は、粘膜防御において細菌・ウイルス等病原性微生物に対してバリアーとして働く高分子物質である。すなわち多くの微生物に対して粘液は、物理的な障壁となり体内への進入を阻止する。さらに胃粘液は、摂取した食物の消化を助ける作用や胃酸、消化酵素から自己の組織、細胞が障害を受けないよう保護している<sup>1)</sup>。胃生検より寒天平板を用いて培養を行うと、種々の細菌がコロニーとして分離されるが、実際にヒトの胃粘液および粘膜上に生息域としている細菌は *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) のみである。*H. pylori* は胃粘膜に感染・定着して、胃炎や慢性消化性潰瘍、さらには胃癌や胃悪性リンパ腫の発症に関与している。一般的に *H. pylori* は乳幼児期に感染し、除菌等を行わない限り一生涯を通じて持続感染するが、多くの場合、重篤な症状には至らない。このことは、*H. pylori* に対して何らかの胃粘膜防御機構が存在することを窺わせる。本稿では最初に *H. pylori* の病原因子について概説し、次いで病態形成に重要な胃粘膜上皮との接着について述べる。最後に胃粘膜を構成する腺粘液細胞から分泌される腺粘液細胞型粘液を持つ *H. pylori* に対する防御因子としての意義について本学での研究成果を紹介する。

II *H. pylori* の特徴

*H. pylori* は、昨年ノーベル賞を受賞したオーストラリアの B. Marshall と R. Warren によって、1983年に、慢性胃炎患者の胃粘膜より初めて分離培養された胃粘液内に感染するグラム陰性桿菌である<sup>2)</sup>。培養した *H. pylori* を Marshall が自ら飲み感染実験の被験者となったことはあまりにも有名な話である。発見当初菌体の形状などの類似性から *Campylobacter* 属に分類されていたが、その後独立した *Helicobacter* 属となった。*Helicobacter* 属は、現在30種近く報告されている。形態はゆるやかならせん状で、長軸方向の片側に末端が球状になった数本の極鞭毛がある。液体培地中では極めて高速に菌体全体を回転させ運動する。乾燥には弱く、菌体の培養には、微好気下、湿潤な環境が必須である。また、skilow, brain heart infusion のような高栄養培地を基本培地に、血清等の血液成分を必要とする。強い Urease を産生し菌体外に放出することによって胃酸を中和し、胃内腔の強力な酸性環境から一時的に回避して胃粘液層に定着している。1997年に Tomb ら<sup>3)</sup>によって決定された全塩基配列によるとゲノムサイズはおよそ160万塩基対、予想される遺伝子数は大腸菌の半分もなく、1/3は *H. pylori* にしか見出せない未知の遺伝子と考えられる。また1999年に Alm ら<sup>4)</sup>によって決定された別の *H. pylori* 株 J99全ゲノム配列から、隔絶された環境におかれているわりに *H. pylori* ゲノム間に相違は少なく、また Marais ら<sup>5)</sup>の詳細な解析によると、半寄生的に胃内

別刷請求先：川久保雅友 〒390-8621  
松本市旭3-1-1 信州大学医学部附属病院臨床検査部

環境で生存するためゲノムが変化したことが窺われる。胃内以外の環境では容易に coccoid form と呼ばれる、死滅してはいないが培養できない形態に移行する。Coccoid form 化は *H. pylori* にしか認められないような珍しい現象ではないが、*H. pylori* の形態変化は非常に早く、液体振盪培養下では培養から2日目には出現し、5日目ではほぼすべてが coccoid form となる。歯垢、嘔吐物、環境水、海水などから培養、PCR 等で検出された報告はあるが、ヒト胃以外の環境で増殖の証拠はなく、感染経路はいまだ明確ではない。

### III *H. pylori* の病原因子

*H. pylori* の発見以降、胃潰瘍の治療法は大きく変化した。胃潰瘍の多くは *H. pylori* 除菌により完治し、再発が抑制される。すなわち *H. pylori* 感染・病原因子との関連が示唆され、*H. pylori* 病原因子について数多くの研究がなされている。代表的な因子は外毒素であるリポ多糖(LPS)、接着因子、CagA、VacA などの障害性因子である。

#### A *H. pylori* のリポ多糖

*H. pylori* の菌体周囲は、一般的なグラム陰性菌と同様に細胞質膜(内膜)と、ペプチドグリカンおよび外膜からなる細胞壁に覆われ、外膜表面には GlcN- $\beta$ (1-6)-GlcN-P に脂肪酸が結合した lipid A, heptose oligomer を骨格にしたコアオリゴ糖、種々の糖鎖構造を持つ O-抗原多糖からなる LPS を有している。しかしながら他菌種では外毒素等として作用する lipid A が、大腸菌との比較によると構造が単純であり<sup>6)</sup>、細胞障害性などがあまり認められていない。さらに O-抗原多糖の非還元末端に *H. pylori* 以外のグラム陰性菌ではあまりみられない Fucose (Fuc) を発現している場合が多く、lewis 式血液型糖鎖 (lewis 抗原) 構造を形成している<sup>7)</sup>。これはヒトの免疫系から回避する役割を担っている可能性も考えられている。これら lewis 抗原の核となる Fuc は、*H. pylori* ゲノム中に存在する2種類のフコース転移酵素 (FucT) によって触媒され<sup>8)-10)</sup>、O-抗原多糖の繰返し配列内あるいは非還元末端に lewis 抗原を模した糖鎖構造が形成される。O-抗原多糖は、LPS 合成酵素群のフレームシフトによる遺伝子発現のオン、オフによって、同一菌株内においても、Lewis<sup>x</sup>, Lewis<sup>y</sup>, Lewis<sup>a</sup> あるいは H type 1 のように多種の血液型糖鎖構造が発現することが報告されている<sup>11)</sup>。*H. pylori* 感染におけるこれら血液型糖鎖抗原についての意義はいまだ十

分には解明されていないが、Lewis<sup>x</sup>や Lewis<sup>y</sup>は、粘液内における *H. pylori* のコロニー形成能に深く関与している可能性が報告されている<sup>12)</sup>。*H. pylori* LPS は、直接的に傷害を与えるよりも、持続感染し慢性化する炎症像に関与していると思われる。また、LPS 以外の糖脂質として *H. pylori* の細胞壁には、他の細菌には認められない cholesteryl glucoside 類 (CGs) が含まれている<sup>13)14)</sup>。CGs は赤血球への障害性が示唆されている。

#### B *H. pylori* の接着因子

胃粘膜上皮細胞の細胞回転は非常に速く、4日ほどで増殖帯より分化してくる細胞へと置き換わる<sup>15)</sup>。この剥離してきた組織断片に *H. pylori* は接着し<sup>16)</sup>、micro colony を形成している。この接着に関わる *H. pylori* 表面の接着分子 (adhesin) として、BabA (blood group antigen-binding adhesin), SabA (sialic acid-binding adhesin) など現在数種類の adhesin が知られている。BabA, SabA はそれぞれ Lewis<sup>b</sup> および sialyl dimeric Lewis<sup>x</sup> をリガンドとする<sup>17)18)</sup>。BabA は、*H. pylori* 感染ヒト集団の血液型構成によって選択圧がかかることにより、A型、B型、O型のいずれの血液型抗原とも結合する万能型 (generalist) からO型特異的な結合 (specialist) へと徐々に移り変わり、*babA* 遺伝子内の塩基配列の変化をもたらすことによって、結合親和性が最大約1,500倍にも上昇するというように構造がかわりやすい柔軟性を持っている<sup>19)</sup>。一方 SabA の場合、通常発現していない sialyl dimeric Lewis<sup>x</sup> が、*H. pylori* 感染により二次的に上皮細胞表面に誘導される点が特徴的である。

#### C *H. pylori* の細胞障害因子

*H. pylori* が直接的に細胞障害をもたらす因子として、CagA, VacA (空胞化毒素), OipA (外膜タンパク質) などが報告されている。*H. pylori* はIV型分泌装置を介して宿主細胞内に直接病原因子を注入できると考えられているが、CagAは、その代表例ともいえる因子である。Higashi らの報告<sup>20)</sup>によると、CagA は *H. pylori* から宿主細胞へ注入される際、SRC kinase によりチロシンリン酸化を受けるとともに細胞膜に局在し、SRC ホモロジー2ドメイン (SH2) を有するチロシンホスファターゼ SHP-2 と複合体を形成し、チロシンリン酸化依存的に SHP-2 活性を亢進し細胞機能を攪乱させる。

#### IV 胃 粘 液

胃粘膜は多数の粘液細胞から構成され、摂取した食物の消化を助けるため、また胃内部の強酸などから胃壁を守るため、糖蛋白質を主成分とした多量の粘液を分泌している。胃粘液は、組織化学的に胃粘膜表層に存在する表層粘液細胞より分泌される表層粘液細胞型粘液（表層粘液）と、粘膜の中～深層に存在する副細胞や幽門腺細胞等の腺粘液細胞から分泌される腺粘液細胞型粘液（腺粘液）の2種類から構成されている。表層粘液および腺粘液は、galactose oxidase - cold thionine Schiff - paradoxical concanavalin A 染色 (GOCTS-PCS) によりそれぞれ青色、褐色に染色され<sup>21)</sup>、これら2種の粘液は、表層粘液層において、互いに混じりあうことなく層状に積み重ねられた表層粘液ゲル層 (surface mucous gel layer) を形成している<sup>22)</sup>。表層粘液は *H. pylori* adhesin のリガンドともなる Lewis<sup>b</sup>などを末端に含み、一方、腺粘液にはコア2分岐型 *O*-glycan の非還元末端に  $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基を持つユニークな糖鎖構造が見出される<sup>23)</sup>。粘液の主成分である糖蛋白質 (*O*-glycan) は、Muc5ACあるいは Muc6 をコアタンパク質として serine/threonine 残基に多数の糖鎖が付加し、形成される。糖鎖は DNA、タンパク質に次ぐ第三の鎖状分子にたとえられ、グルコース、ガラクトースなどの単糖を基本単位としてつくられ、糖鎖単独として、あるいはタンパク質、脂質などに結合し、様々な性質が与えられる。Muc5AC, Muc6 は糖鎖により protease 抵抗性を獲得している。胃粘液バリアーにより、正常な状態では胃粘液から粘膜に *H. pylori* 以外の細菌は認められないが、2種類の粘液の存在理由はまだ解明されていない。

#### V 腺粘液が持つ *H. pylori* 増殖抑制活性

胃粘液には表層粘液と腺粘液の2種類の粘液が含まれるが、*H. pylori* は表層粘液中に棲息するものの、腺粘液内には決して見出せない<sup>16)</sup>。前述したように、腺粘液に含まれる表層粘液にはない糖鎖構造としてコア2分岐型 *O*-glycan の非還元末端に  $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基を持つ糖鎖がある。この  $\alpha$ 1,4-GlcNAc を非還元末端に付加する反応は、 $\alpha$ 1,4-*N*-acetylglucosaminyl transferase ( $\alpha$ 4GnT) によって触媒され、 $\alpha$ 4GnT は胃粘膜の腺粘液細胞と十二指腸粘膜のブルネル腺以外の正常組織ではほとんど発現していない<sup>24)</sup>。腺粘液

には非還元末端に  $\alpha$ 1,4 結合した *N*-アセチルグルコサミン残基を持つユニークなコア2分岐型 *O*-glycan が含まれていることに着目し、われわれは *H. pylori* の増殖や形態、運動能に対するこの糖鎖の影響を *in vitro* のレベルで検討した<sup>25)</sup>。

#### A $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基の抗 *H. pylori* 活性

粘液は多種多様な糖鎖構造を持った複雑な高分子物質であるため、その機能を解明することは非常に困難である。しかしながら培養細胞に遺伝子を導入することによって特定の糖鎖構造を有した糖蛋白質を作製することにより、その部分的な解析が可能である。*H. pylori* に対する  $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基含有 *O*-glycan の機能を解析することを目的に、Chinese hamster ovary 細胞より作製された変異株である Lec2 細胞に、 $\alpha$ 4GnT, コア2分岐型 *O*-glycan を生成する  $\beta$ 1,6-*N*-acetylglucosaminyltransferase<sup>26)</sup>, 可溶性 CD43 遺伝子を導入し、コア2分岐型 *O*-glycan の非還元末端に  $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基を持つ recombinant *O*-glycan ( $\alpha$ 1,4-GlcNAc+*O*-glycan) を作製した。Control として  $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基のみ持たない *O*-glycan ( $\alpha$ 1,4-GlcNAc-*O*-glycan) を作製し、*H. pylori* の増殖能を検討した<sup>25)</sup>。その結果、 $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基含有 *O*-glycan とともに培養した *H. pylori* では濃度依存的に増殖抑制が生じた (図1)。実験的によく用いられる標準株 ATCC43504 および他の標準株 ATCC43526 さらに本学附属病院において分離された3種類の臨床分離株いずれの *H. pylori* でも効果が確認された。一方、やはり本学附属病院にて分離された、口腔から上部消化器にて観察される *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*,  $\alpha$ -streptococcus に対しては全く効果が認められなかった。最小増殖阻止濃度 (MIC) 付近の濃度においては、時系列連続写真から大幅な菌の運動能の低下が計測され (図2)、また走査電子顕微鏡による微小形態像では菌体の伸長、肥大化や分節状の狭窄、さらには極端に折れ曲がるなど異常な形態変化が生じていた (図3)。これら形態異常は *H. pylori* を  $\beta$ -lactamase inhibitor で処理した場合に生じる異常と酷似していることから<sup>27)</sup>、 $\alpha$ 1,4-GlcNAc+*O*-glycan で *H. pylori* の細胞壁に何らかの変化が惹起されているものと推測された。



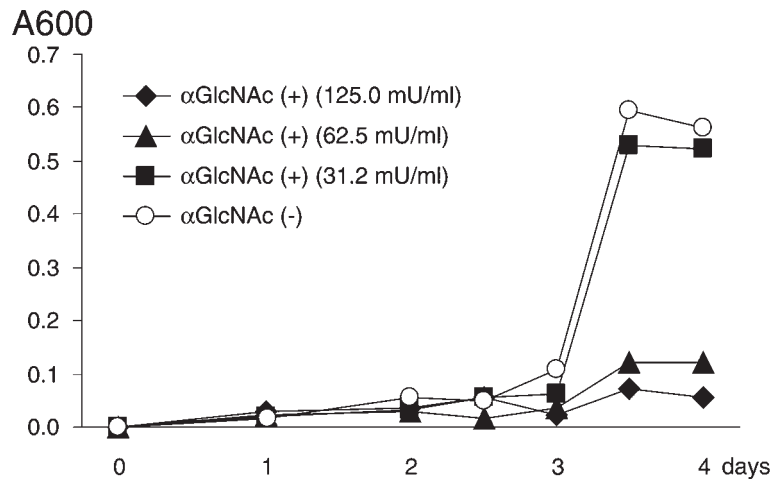


図1  $\alpha$ 1,4-GlcNAc+O-glycan ( $\alpha$ GlcNAc (+)) と  $\alpha$ 1,4-GlcNAc-O-glycan ( $\alpha$ GlcNAc (-)) とともに培養したピロリ菌の増殖曲線  
1U は GlcNAc- $\alpha$ -PNP1mg に相当する。(文献25より引用, 改変)

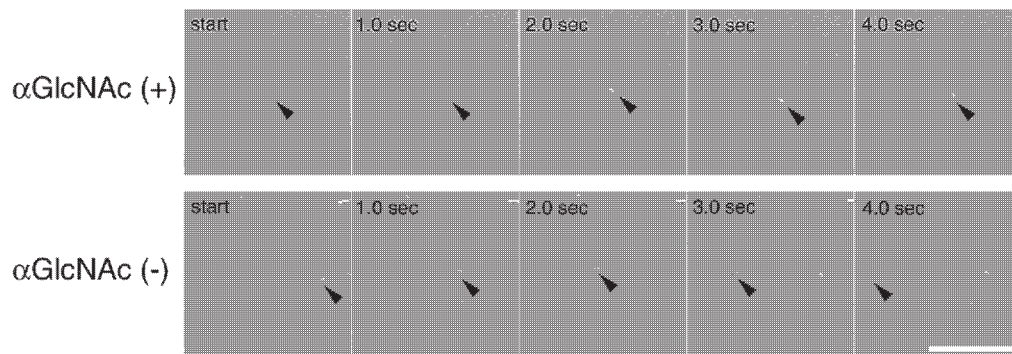


図2  $\alpha$ 1,4-GlcNAc+O-glycan ( $\alpha$ GlcNAc (+)) と  $\alpha$ 1,4-GlcNAc-O-glycan ( $\alpha$ GlcNAc (-)) とともに培養したピロリ菌の時系列連続写真  
矢頭は1秒ごとの同一 *H. pylori* の位置を示す。Bar は50 $\mu$ m (文献25より引用, 改変)

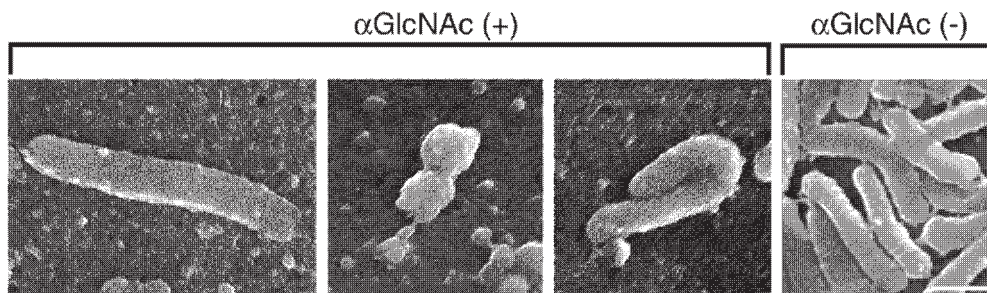


図3  $\alpha$ 1,4-GlcNAc+O-glycan ( $\alpha$ GlcNAc (+)) と  $\alpha$ 1,4-GlcNAc-O-glycan ( $\alpha$ GlcNAc (-)) とともに培養したピロリ菌の形態変化  
Bar は1 $\mu$ m (文献25より引用, 改変)

### B $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基の Cholesteryl- $\alpha$ -D-glucopylanoside 合成阻害

*H. pylori* が所属する *Helicobacter* 属共通の細胞壁成分として、cholesterol の 3 位の -OH に glucose が  $\alpha$  結合した Cholesteryl- $\alpha$ -D-glucopylanoside ( $\alpha$ CGL) が知られている。同様に  $\beta$  結合した cholesteryl glycoside 類 (CGs) は広く植物細胞、真菌などに認められる物質であるが<sup>28)</sup>、細菌には存在が認められず、特に  $\alpha$  型は *Helicobacter* 属の特徴である。CGs は chloroform/methanol により容易に抽出でき、chloroform/methanol/水による薄層クロマトグラフィー (TLC) を用いて分離・検出が可能である<sup>29)</sup>。CGs は UDP-Glc:sterol glucosyltransferase の作用により、UDP-グルコース由来の Glc が cholesterol の 3 位に転移することによって生成が開始されるが  $\alpha$ CGL も同様の酵素により触媒されるものと考えられる。 $\alpha$  結合の共通点から分子構造の類似性が考えられたため、 $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基含有 *O*-glycan が CGs の一つ CGL の生成に影響を与えるか否かを確かめるべく、前述の  $\alpha$ 1,4-GlcNAc+*O*-glycan, あるいは  $\alpha$ 1,4-GlcNAc-*O*-glycan とともに *H. pylori* を培養し、細胞壁の脂質抽出成分を MALDI TOF-MS により質量分析したところ、 $\alpha$ 1,4-GlcNAc+*O*-glycan とともに培養した時のみ CGL の合成が抑制された<sup>25)</sup>。すなわち  $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基含有 *O*-glycan が UDP-Glc:sterol  $\alpha$ -glucosyltransferase を抑制している可能性が示唆された。これは *H. pylori* の粗抽出液を用いた *in vitro* enzyme assay においても同様であった。

### C *H. pylori* 生存と CGL の関連性

CGL は cholesterol に glucose を転移することで産生されるが、*H. pylori* は cholesterol 合成に関与すると考えられる遺伝子を持っていない<sup>3)-5)</sup>。このため cholesterol 非存在下で *H. pylori* を培養することによって、容易に *H. pylori* の CGL を欠乏させることが可能である (図 4)。Cholesterol を添加した液体培地を用いて 2-3 日ごとに継代を行うと血清等血液成分を未添加でも *H. pylori* の維持が可能であるが、cholesterol 非存在下で 5 日間培養した *H. pylori* は cholesterol の存在下に比べて増殖率は 50% に低下し、また運動性の減少や菌体の伸長などの形態異常も認められた。さらにコレステロールを添加しないまま 21 日間継代すると、菌は完全に死滅した<sup>25)</sup>。すなわち、*H. pylori* の生存には外来性コレステロールから生成される CGL が必須であることが明らかになった。

### D $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基を強制発現させた培養細胞の *H. pylori* 抵抗性

一連の実験より腺粘液に特徴的に含まれる  $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基が、*H. pylori* の正常な増殖や運動に重要な役割を担っている CGs の合成を阻害することで、*H. pylori* 感染から腺粘液細胞自身を防御している可能性が示唆されたが、 $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基含有 *O*-glycan が、実際に胃粘膜上皮細胞を *H. pylori* 感染から防御可能か実証するため、胃腺癌培養細胞株である AGS 細胞に  $\alpha$ 4GnT を遺伝子導入し恒常的に  $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基を発現させた AGS- $\alpha$ 4GnT 細胞あるいはベクターのみを導入し  $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基を発現していない AGS-mock 細胞と *H. pylori* の共培養を試みた<sup>25)</sup>。AGS 細胞は *H. pylori* の細胞接着、障害性などの実験に多用される細胞株であるが、実際に AGS-mock 細胞では培養翌日から増殖した *H. pylori* により著明な細胞障害が生じ、さらに 3 日目では AGS-mock 細胞はほぼ死滅という経過をたどった。一方、AGS- $\alpha$ 4GnT 細胞とともに培養した *H. pylori* の増殖は著明に抑制され (図 5)、さらに培養 4 日目におい



図 4 cholesterol の有無による *H. pylori* CGs の薄層クロマトグラム

左のレーン は cholesterol 欠乏状態、右のレーン は cholesterol 添加 (文献 25 より引用、改変)

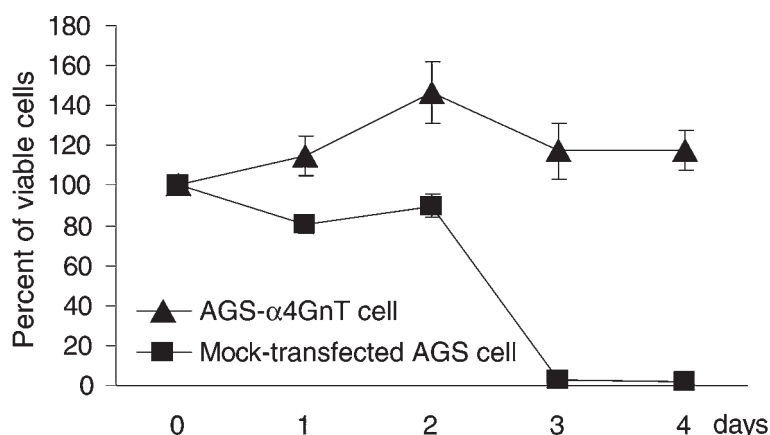


図5 MTS アッセイによる細胞生存曲線 (文献25より引用, 改変)

ても AGS- $\alpha$ 4GnT 細胞に *H. pylori* 由来とみられる障害が観察されなかった。実験的にも  $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基を発現している細胞が *H. pylori* 感染から守られることが確認された。

#### VI 糖を含む物質の抗菌作用

我々が見出した  $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基の *H. pylori* に対する増殖抑制作用は粘液の骨格をなす構成成分が元来所有しているという点で新たな発見であったが、糖構造を含む物質としては、古くは streptomycin,

kanamycin に代表されるアミノグリコシド系抗生物質 (aminoglycoside antibiotics), また最近の研究では川上と小穴<sup>30)</sup>による米糖化液の抗 *H. pylori* 活性の報告がある。 $\alpha$ 1,4-GlcNAc 残基は作用機序, 抗菌スペクトルともにアミノグリコシドとは大きく異なり, また副作用も懸念されない。米糖化液は作用機序こそ解明されていないものの, *H. pylori* のみに効果が認められる点で共通している。糖を活性中心にもった新たな抗菌物質はいまだ見つけられずにどこかで眠っているかもしれない。

#### 文 献

- 1) 堀田恭子, 石原一彦 (監): 胃粘液バリアー. 第1版, pp 15-18, メジカルビュー社, 東京, 2004
- 2) Warren JR, Marshall B: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1: 1273-1275, 1983
- 3) Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Fleischmann RD, Ketchum KA, Klenk HP, Gill S, Dougherty BA, Nelson K, Quackenbush J, Zhou L, Kirkness EF, Peterson S, Loftus B, Richardson D, Dodson R, Khalak HG, Glodek A, McKenney K, Fitzgerald LM, Lee N, Adams MD, Hickey EK, Berg DE, Gocayne JD, Utterback TR, Peterson JD, Kelley JM, Cotton MD, Weidman JM, Fujii C, Bowman C, Watthey L, Wallin E, Hayes WS, Borodovsky M, Karp PD, Smith HO, Fraser CM, Venter JC: The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 388: 539-547, 1997
- 4) Alm RA, Ling LS, Moir DT, King BL, Brown ED, Doig PC, Smith DR, Noonan B, Guild BC, deJonge BL, Carmel G, Tummino PJ, Caruso A, Uria-Nickelsen M, Mills DM, Ives C, Gibson R, Merberg D, Mills SD, Jiang Q, Taylor DE, Vovis GF, Trust TJ: Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 397: 176-180, 1999
- 5) Marais A, Mendz GL, Hazell SL, Megraud F: Metabolism and genetics of *Helicobacter pylori*: the genome era. *Microbiol Mol Biol Rev* 63: 642-674, 1999
- 6) Moran AP, Lindner B, Walsh EJ: Structural characterization of the lipid A component of *Helicobacter pylori* rough- and smooth-form lipopolysaccharides. *J Bacteriol* 179: 6453-6463, 1997
- 7) Wang G, Ge Z, Rasko DA, Taylor DE: Lewis antigens in *Helicobacter pylori*: biosynthesis and phase variation. *Mol Microbiol* 36: 1187-1196, 2000

- 8) Ge Z, Chan NW, Palcic MM, Taylor DE : Cloning and heterologous expression of an alpha1,3-fucosyltransferase gene from the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. J Biol Chem 272 : 21357-21363, 1997
- 9) Wang G, Rasko DA, Sherburne R, Taylor DE : Molecular genetic basis for the variable expression of Lewis Y antigen in *Helicobacter pylori* : analysis of the alpha (1,2) fucosyltransferase gene. Mol Microbiol 31 : 1265-1274, 1999
- 10) Rasko DA, Wang G, Palcic MM, Taylor DE : Cloning and characterization of the alpha (1,3/4) fucosyltransferase of *Helicobacter pylori*. J Biol Chem 275 : 4988-4994, 2000
- 11) Appelmelk BJ, Shiberu B, Trinks C, Tapsi N, Zheng PY, Verboom T, Maaskant J, Hokke CH, Schiphorst WE, Blanchard D, Simoons-Smit IM, van den Eijnden DH, Vandenbroucke-Grauls CM : Phase variation in *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide. Infect Immun 66 : 70-76, 1998
- 12) Appelmelk BJ, Monteiro MA, Martin SL, Moran AP, Vandenbroucke-Grauls CM : Why *Helicobacter pylori* has Lewis antigens. Trends Microbiol 8 : 565-570, 2000
- 13) Hirai Y, Haque M, Yoshida T, Yokota K, Yasuda T, Oguma K : Unique cholesteryl glucosides in *Helicobacter pylori* : composition and structural analysis. J Bacteriol 177 : 5327-5333, 1995
- 14) Haque M, Hirai Y, Yokota K, Mori N, Jahan I, Ito H, Hotta H, Yano I, Kanemasa Y, Oguma K : Lipid profile of *Helicobacter* spp. : presence of cholesteryl glucoside as a characteristic feature. J Bacteriol 178 : 2065-2070, 1996
- 15) 川井啓市 (編) : 胃形態とその機能. 第2版, pp 75-79, 医学書院, 東京, 1994
- 16) 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
- 17) Ilver D, Arnqvist A, Ogren J, Frick IM, Kersulyte D, Incecik ET, Berg DE, Covacci A, Engstrand L, Boren T : *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. Science 279 : 373-377, 1998
- 18) Mahdavi J, Sonden B, Hurtig M, Olfat FO, Forsberg L, Roche N, Angstrom J, Larsson T, Teneberg S, Karlsson KA, Altraja S, Wadstrom T, Kersulyte D, Berg DE, Dubois A, Petersson C, Magnusson KE, Norberg T, Lindh F, Lundskog BB, Arnqvist A, Hammarstrom L, Boren T : *Helicobacter pylori* SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. Science 297 : 573-578, 2002
- 19) Aspholm-Hurtig M, Dailide G, Lahmann M, Kalia A, Ilver D, Roche N, Vikstrom S, Sjostrom R, Linden S, Backstrom A, Lundberg C, Arnqvist A, Mahdavi J, Nilsson UJ, Velapatino B, Gilman RH, Gerhard M, Alarcon T, Lopez-Brea M, Nakazawa T, Fox JG, Correa P, Dominguez-Bello MG, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Normark S, Carlstedt I, Oscarson S, Teneberg S, Berg DE, Boren T : Functional adaptation of BabA, the *H. pylori* ABO blood group antigen binding adhesin. Science 305 : 519-522, 2004
- 20) Higashi H, Tsutsumi R, Muto S, Sugiyama T, Azuma T, Asaka M, Hatakeyama M : SHP-2 tyrosine phosphatase as an intracellular target of *Helicobacter pylori* CagA protein. Science 295 : 683-686, 2002
- 21) Ota H, Katsuyama T, Ishii K, Nakayama J, Shiozawa T, Tsukahara Y : A dual staining method for identifying mucins of different gastric epithelial mucous cells. Histochem J 23 : 22-28, 1991
- 22) Ota H, Katsuyama T : Alternating laminated array of two types of mucins in the human gastric surface mucous gel layer. Histochem J 24 : 86-92, 1992
- 23) Ishihara K, Kurihara M, Goso Y, Urata T, Ota H, Katsuyama T, Hotta K : Peripheral  $\alpha$ -linked *N*-acetylglucosamine on the carbohydrate moiety of mucin derived from mammalian gastric gland mucous cells : epitope recognized by a newly characterized monoclonal antibody. Biochem J 318 : 409-416, 1996
- 24) Nakayama J, Yeh JC, Misra AK, Ito S, Katsuyama T, Fukuda M : Expression cloning of a human  $\alpha$ 1,4-*N*-acetylglucosaminyltransferase that forms GlcNAc $\alpha$ 1  $\rightarrow$  4Gal $\beta$   $\rightarrow$  R, a glycan specifically expressed in the gastric gland mucous cell-type mucin. Proc Natl Acad Sci USA 96 : 8991-8996, 1999
- 25) Kawakubo M, Ito Y, Okimura Y, Kobayashi M, Sakura K, Kasama S, Fukuda MN, Fukuda M, Katsuyama T, Nakayama J : Natural antibiotic function of a human gastric mucin against *Helicobacter pylori*. Science 305 : 1003-1006, 2004
- 26) Bierhuizen MF, Fukuda M : Expression cloning of a cDNA encoding UDP-GlcNAc : Gal beta 1-3-GalNAc-R

- (GlcNAc to GalNAc) beta 1-6GlcNAc transferase by gene transfer into CHO cells expressing polyoma large tumor antigen. Proc Natl Acad Sci USA 89 : 9326-9330, 1992
- 27) Horii T, Mase K, Suzuki Y, Kimura T, Ohta M, Maekawa M, Kanno T, Kobayashi M : Antibacterial activities of  $\beta$ -lactamase inhibitors associated with morphological changes of cell wall in *Helicobacter pylori*. Helicobacter 7 : 39-45, 2002
- 28) Warnecke D, Erdmann R, Fahl A, Hube B, Muller F, Zank T, Zahringer U, Heinz E : Cloning and functional expression of UGT genes encoding sterol glucosyltransferases from *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida albicans*, *Pichia pastoris*, and *Dictyostelium discoideum*. J Biol Chem 274 : 13048-13059, 1999
- 29) 平井義一, 下村裕史, 林 俊治, 横田憲治, 小熊恵二 : 図解 : *Helicobacter pylori* の糖脂質の分析法. Helicobacter Research 7 : 2-9, 2003
- 30) 川上由行, 小穴こず枝 : 米糖化液の抗 *Helicobacter pylori* 活性. 農工研通信 136 : 2-9, 2005

(H 18. 6. 1 受稿)

---