

## 大腸の正常粘膜および上皮性腫瘍における 粘液の組織化学的研究

小 野 謙 三

信州大学医学部第2病理学教室  
(指導: 發地雅夫教授)

### Mucosubstance Histochemistry of the Normal Mucosa and Epithelial Neoplasms of the Large Intestine

Kenzo ONO

*Department of Pathology, Shinshu University School of Medicine*  
(Director: Prof. Masao HOTCHI)

Epithelial mucosubstances in normal mucosa and neoplasms of the large intestine were examined histochemically. The materials were obtained from 100 surgical cases with carcinoma of the large intestine. All specimens were fixed in cold 2% buffered paraformaldehyde solution and embedded in paraffin. Serial sections were stained by the following procedures: 1) Alcian blue pH 2.5-PAS, and high iron diamine-Alcian blue pH 2.5 staining, 2) procedures of modification of PAS reaction to differentiate sialic acids, 3) paradoxical concanavalin A (con A) staining.

The surface coat mucin of the normal mucosa mainly consisted of sulfomucin, while goblet cell mucin varied with the levels in the crypt, as well as in the different segments of the large intestine. In the right colon sialomucin was predominant, whereas, in the left colon, the lower half of the crypt contained sulfomucin predominantly. In addition, the goblet cell mucin was characterized by alkaline hydrolysis-induced PAS reactivity to O-acetylated sialic acid and by labile class III con A reactivity.

In carcinoma of the large intestine, the surface coat type of mucin was detected in all cases and the goblet cell type of mucin in 59 cases. In general, sialomucin was more abundant in both the surface coat and the goblet cell types of mucin of the neoplasms including adenomas than in the normal mucosa. The labile class III con A reactivity and O-acetylated sialic acid were well preserved in the neoplastic goblet cell type mucins.

The goblet cells of adjacent mucosa of the neoplasms showed a decrease in sulfomucin in 95 cases and a marked increase in the labile class III con A reactivity in 97 cases. However, the character of the surface coat mucin of this region was not different from that of the other normal regions. *Shinshu Med. J.*, 30: 110-139, 1982

(Received for publication October 16, 1981)

**Key Words:** mucosa of the large intestine, epithelial neoplasms of the large intestine, mucosubstance, histochemistry

大腸粘膜, 大腸上皮性腫瘍, 粘液, 組織化学

## I はじめに

粘液は動物の進化の過程で、きわめて初期の段階に出現し、今日ではその体内に広く存在する物質である。それにもかかわらず、その生物学的な意義や役割についてはいまだ不明な点が多く、これまで粘膜表面を保護あるいは潤滑する物質として理解されていたにすぎなかった。しかしながら、近年になって、細胞の最終産物としての粘液が、細胞内の諸現象を理解する上で非常に重要であることが次第に認識されるようになった。

そのような立場から、本研究においては、大腸粘膜の、特に上皮性細胞で産生される粘液について検討を加え、さらに上皮性の腫瘍組織や腫瘍に隣接する粘膜に存在する粘液と比較検討して、腫瘍の特性を粘液組織化学的な面から明らかにすることを試みた。

## II 材料と方法

## A 材料

1 30才から89才の原発性大腸癌の手術例100例を使用した。その内訳は男59例、女41例で、原発部位は盲腸14例、上行結腸14例、横行結腸6例、下行結腸3例、S状結腸18例、直腸45例であった。また、大腸癌取り扱い規約<sup>1)</sup>に基づく組織型分類では、高分化腺癌60例、中分化腺癌27例、低分化腺癌5例、粘液癌8例(粘液結節型4例と印環細胞型4例を一括する)であった。以上の原発部位と組織型の関係を図1に示した。さらに肛門原発として手術された、65才女性と60才男性の高分化腺癌2例を加えた。

これらの材料を、手術後できるかぎりすみやかに、冷却した2%緩衝 paraformaldehyde 溶液で固定した後、癌組織および癌の辺縁より約2cm以内の粘膜を切り出した。さらに手術断端部に近い、肉眼的に病変を認めない部分を切り出し、正常粘膜として検索した。

これらの材料には、盲腸癌の7例から得られたほぼ正常な回腸末端部粘膜と、直腸癌の3例より得られた肛門腺が含まれている。

以上の切り出しは、原則として腸管の長軸に沿って行われたが、癌隣接粘膜の状態をより詳細に調べるため、20例については腸管の長軸と直角になる方向も切り出した。

また、上記材料に偶然存在していたポリープ(過形成性ポリープ5例、腺管腺腫7例、絨毛腺腫3例)も

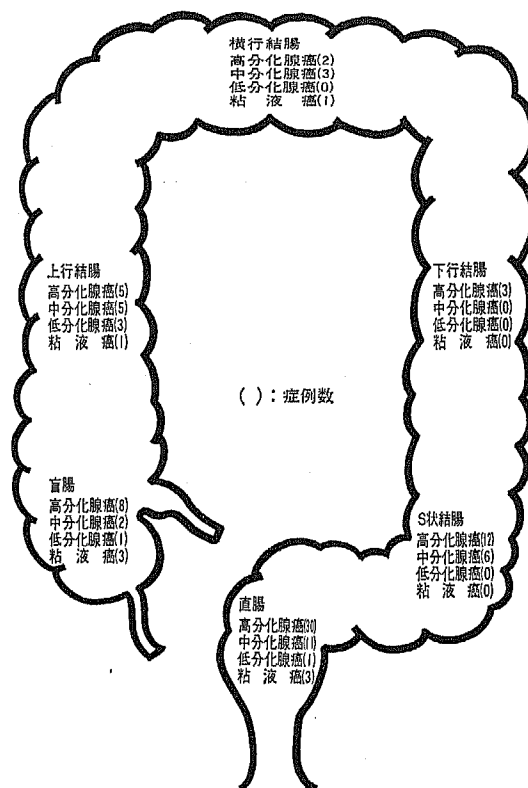


図1 検索大腸癌の発生部位ならびに組織型

癌部と同様にその隣接粘膜を含めて標本化した。さらに、上記の症例のうち5例のリンパ節転移巣についても検討を加えた。

2 同一個体における大腸正常粘膜の部位による粘液組織化学的な相違を検討するため、6ヵ月以内に剖検された8例(いずれも10%市販 formalin 固定)より、盲腸と各結腸および直腸、ならびに回腸末端部を加えた7カ所から材料を切り出し、標本化した。

3 粘液組織化学的染色の対照として、ラットの舌下腺を ether 麻酔後摘出し、冷却した2%緩衝 paraformaldehyde 溶液で固定し、標本化して使用した。

## B 方法

今回の検索では、H. E. 染色のほか、従来の粘液組織化学的方法に加えて、各種シアル酸を識別するための PAS 反応変法, paradoxical concanavalin A (con A) staining を行った(表1)。これらの方法は、できるかぎり連続切片で行うようにした。

ここでいう粘液とは、生化学的には、上皮性細胞に由来する mucin 型および血清型の糖タンパク質のこ

表 1 粘液組織化学的染色方法

- 
- |     |  |
|-----|--|
| I   | 酸性度に基づく染色法   |
| (1) | Diastase digestion-Alcian blue pH 2.5-PAS staining (AB-PAS 染色)   |
| (2) | High iron diamine-Alcian blue pH2.5 staining (HID-AB 染色)   |
| II  | シアル酸を識別するための方法   |
| (1) | Mild oxidation-Schiff reaction (MOS 反応)  |
| (2) | Periodic acid oxidation-sodium borohydride reduction-alkaline hydrolysis-PAS reaction (PA-RED-ALH-PAS 反応)        |
| (3) | Periodic acid oxidation-thionin-Schiff-alkaline hydrolysis-PAS reaction (PAT-ALH-PAS 反応)                         |
| (4) | Periodic acid oxidation-sodium borohydride reduction-prolonged periodic acid oxidation-PAS reaction (PBT-PAS 反応) |
| (5) | Sialidase digestion-HID-AB staining  |
| III | Paradoxical concanavalin A staining  |
- 

とを指している。また、組織化学的には、中性粘液と酸性粘液に大別されている<sup>2)</sup>。この区分は、あくまで組織化学的反応性に基づくもので、中性粘液とは塩基性色素に反応を示さない粘液を指している。また、酸性粘液は、その糖鎖にシアル酸もしくは硫酸基を含むことによって、それぞれ sialomucin, sulfomucin に分けられる。しかし、sulfomucin の多くは、同時にシアル酸を含むことが知られており、実際には sulfated sialomucin として存在している<sup>3)</sup>。

次に今回行った各染色法について付言する。

1 一般的な組織化学的方法：diastase digestion-Alcian blue pH 2.5-PAS (AB-PAS) 染色, high iron diamine-Alcian blue pH 2.5 (HID-AB) 染色については、Spicer ら<sup>2)</sup>および Spicer<sup>4)</sup>の方法にしたがった。前者は粘液の酸性基の有無を検索する方法で、酸性粘液は青色に、中性粘液および高度に硫酸化された酸性粘液は赤色に着染する。後者は、酸性粘液を区別する方法で、sialomucin は青色に、sulfomucin は暗紫色に染め分けられる。

2 各種シアル酸を識別する方法：

a. mild oxidation-Schiff (MOS) reaction<sup>5)6)</sup>は、代表的なシアル酸である N-acetylneuraminic acid (以下 NANA と略す) を撰取的に染色する方法で、このシアル酸の C-8, C-9 位に存在する近接水酸基がきわめて緩和な条件の過ヨウ素酸酸化に撰取的に反応するという生化学的事実<sup>7)-9)</sup>を応用している。

対照として、ラットの舌下腺の標本をそのまま、あるいはあらかじめアルカリ水解によりシアル酸を脱アセチル化して用いた。

b. periodic acid oxidation-sodium borohydride reduction-alkaline hydrolysis-PAS (PA-RED-ALH-PAS) reaction<sup>6)10)-12)</sup> は、環状構造外末端炭素原子鎖、すなわち C-7, 8, 9 位に近接水酸基を持たないシアル酸 (8-O-acetyl NANA, 7, 8 or 7, 9 or 8, 9-di-O-acetyl NANA, 7, 8, 9-tri-O-acetyl NANA) を検出する方法で、Culling ら<sup>10)-12)</sup>により発表された。Culling ら<sup>10)-12)</sup>の原法では、最初の酸化は30分となっているが、今回は90分間とし、また還元は、Lillie と Fullmer<sup>13)</sup>の方法に準拠した。

対照としては、MOS 反応でも対照として用いた切片で、アルカリ水解処理したものと未処理のものを用い、また、同一症例の連続切片で、アルカリ水解を除くほかは同じ操作を行って結果を比較した。

c. periodic acid oxidation-thionin-Schiff-alkaline hydrolysis-PAS (PAT-ALH-PAS) reaction<sup>14)</sup>：この染色法は、環状構造外末端炭素原子鎖に近接水酸基を持つシアル酸と持たないシアル酸とを同時に染め分ける方法で、やはり Culling ら<sup>14)</sup>により考案された。Culling ら<sup>14)</sup>の原法では、最初の酸化が30分であるが、今回は90分間とし、また thionin-Schiff 試薬での反応も30分となっていたが、今回は50分間作用させたものもあわせて行った。

この染色法は、PA-RED-ALH-PAS 反応の還元の過程を thionin-Schiff 試薬に置き換えたものである。つまり、Schiff 試薬と同様の働きをするこの試薬を用いて、先に近接水酸基を持つシアル酸を青色に着染させれば、後の操作では近接水酸基を持たないシアル酸が赤く染まり、両者を区別できる。

表2 シアル酸を識別する組織化学的方法に対する各種シアル酸の反応性

シアル酸 染色法	近接水酸基を持つもの			近接水酸基を持たない O-acetyl NANA
	NANA	7-O-acetyl NANA	9-O-acetyl NANA	
MOS 反応	+	- ?	-	-
PA-RED-ALH-PAS 反応	-	+	+	+
PAT-ALH-PAS 反応	+	+	+(紫または赤)	+
PBT-PAS 反応	-	-	+	-
ALH-PAS 反応性/ PAS 反応性	= 1	= 1	> 1	> 1

対照としては、同一症例の連続切片を用い、この染色が二重染色であることから thionin-Schiff 試薬の純粋な青色を確認するために過ヨウ素酸酸化の後、thionin-Schiff 反応を行い、また thionin-Schiff 試薬による反応が十分であったか調べるために、過ヨウ素酸酸化と thionin-Schiff 反応を行ったあと通常の Schiff 試薬を反応させた。なお、C-7 位に acetyl 基を持つ 7-O-acetyl NANA は、C-8, 9 位に近接水酸基も持っているため、PA-RED-ALH-PAS 反応では赤く染まり、PAT-ALH-PAS 反応では青く着染する。

d. periodic acid oxidation-sodium borohydride reduction-prolonged periodic acid oxidation-Schiff (PBT-PAS) reaction<sup>15)</sup> : この染色法も Culling ら<sup>15)</sup>により、C-9 位に acetyl 基を持つ 9-O-acetyl NANA のために考案されたもので、C-7, 8 位に存在する近接水酸基の酸化される速度が、ほかのシアル酸に比べて著しく緩慢であることを利用している。原法では、最初の酸化を30分間としているが、今回は90分間酸化も連続切片を用いて行った。

e. alkaline hydrolysis-PAS (ALH-PAS)<sup>2)</sup> 反応性と通常の PAS 反応性を比較する方法 : これは、2枚の連続切片を用いてアルカリ水解が PAS 反応に及ぼす影響をみる方法である。すなわち、近接水酸基を持たないシアル酸は、ALH-PAS 反応性/PAS 反応性 > 1 となり、一方近接水酸基を持つものは ALH-PAS 反応性/PAS 反応性 = 1 となる。7-O-acetyl NANA は、前述したように C-8, 9 位に近接水酸基を持っており、これはアルカリ水解の有無にかかわらず Schiff 反応に利用される aldehyde 基が1つであることを示しており、ALH-PAS 反応性/PAS 反応性 = 1 となる。NANA も ALH-PAS 反応性/PAS 反応性 = 1

となるが、PA-RED-ALH-PAS 反応を示さないことから 7-O-acetyl NANA と区別される。

以上、各種シアル酸に対する反応の相違をまとめたものが表2である。

f. sialidase digestion method<sup>26)</sup> : 酵素消化によってシアル酸を証明する方法である。今回は、*Clostridium perfringens* (Sigma) および *Arthrobacter ureafaciens* (半井化学) から得られた sialidase を使用し、HID-AB 染色で効果を判定した。

対照として、同一症例の連続切片を用い、酵素処理を除くほかは同様の操作を施した。また、ラットの舌下腺の標本でアルカリ水解処理したものと未処理のものを対照とした。

3 paradoxical con A staining<sup>17)18)</sup> : 今回は、II 型反応、不安定および安定な III 型反応を行った。II 型反応は、過ヨウ素酸酸化を10分間行ったのち、con A, horseradish peroxidase (HRP), diaminobenzidine (DAB) の順で反応させる。III 型反応は、酸化のあとに、還元を加える方法で、その後は II 型反応と同様の操作を施す。III 型のうち、10分間酸化では陽性となるが、60分間酸化では反応性を失うものを不安定な III 型反応、60分間酸化しても反応するものを安定な III 型反応として区別している。粘液の con A 反応性は、酸性度と関係がない。

### III 結 果

A 対照例 : シアル酸として近接水酸基を持たない O-acetyl NANA のみを有するラットの舌下腺細胞粘液は、今回の PA-RED-ALH-PAS 反応に陽性であり、またアルカリ水解により MOS 反応陽性を呈した。なお、アルカリ水解後、sialidase に感受性を示し、使用した二種の sialidase ではほとんど効果に差

がなかった。

Thionin・Schiff 反応 30分間の PAT-ALH-PAS 反応では, thionin の染色性が低く, Schiff 試薬の共染も生じたが, 反応を 50分間に延長させるとこれらの問題は除去された。また, PA-thionin・Schiff 反応はすべての近接水酸基に認められ, この反応後 Schiff 試薬を作用させても染色性に対する影響はまったく認められなかった。

PBT-PAS 反応では, 最初の酸化時間 30分と 90分のもので, ほとんど同様の反応性が得られた。

なお, シアル酸を識別する PAS 反応変法および sialidase 消化の際に行った陰性対照試験では, まったく反応が認められなかった。

B 正常粘膜: 粘液染色に反応する物質は, 細胞の管腔表面, 側面, 底面および基底膜と, 胞体内では, 杯細胞の粘液, lysosome や小胞体などの膜に存在している。このうち, 管腔表面に認められる, いわゆる surface coat<sup>19)・21)</sup>と杯細胞の粘液以外のものは量的にきわめて乏しく, 光顕での検索が困難なので今回は surface coat および杯細胞の粘液に限って検索結果を述べる。

#### 1 surface coat の粘液

a. 酸性度 (粘液の酸性基の有無およびその種類); AB-PAS 染色では, surface coat の粘液は主とし

て吸収上皮細胞の管腔表面を覆う薄い層として認められた。また, 杯細胞の分泌部以外の表面でもわずかではあるが層状に確認された。強拡大では, 小皮縁の部分にはほぼ一致して雲絮状あるいは細網状の物質として観察された。厚さは, おおむね小皮縁の厚さと一致するが, 一様ではない。HID-AB 染色でもほぼ同様の形態と厚みを持った物質として観察された。

回腸末端部粘膜の surface coat の粘液は, AB-PAS 染色では, ほとんど赤色から赤紫色を呈し, HID-AB 染色では, sialomucin が圧倒的に優位で, ごくわずかな部分で sulfomucin を認めるだけであった (図 2 A, B)。

大腸では, 表 3 A に示したように, 盲腸から上行結腸にかけて AB-PAS 染色で赤色調が強く, 紫色を呈していた。一方, 横行結腸から直腸にかけては青色調が主体となった。しかし, 部分的に赤色調を示す surface coat もわずかに認められた。HID-AB 染色によると, 盲腸から直腸に至るまで sulfomucin が圧倒的に優勢であった (表 4 A, 図 3 A)。ただし, 盲腸部では, sialomucin が混在する例や sialomucin 優位のものも少数ながら認められ, 直腸でも 6 例に sialomucin の混在がみられた (図 3 B)。なお, 大腸での AB-PAS 染色と HID-AB 染色の結果には

図 2 から 10 までは正常粘膜。

図 2 回腸末端部粘膜,  $\times 50$ 。2 A: AB-PAS 染色。surface coat および杯細胞の粘液ともに赤色調が強い。2 B: 同部の HID-AB 染色。sialomucin (青) が圧倒的に優勢であるが, 腸陰窩底部の杯細胞の粘液にかすかに sulfomucin (黒紫色) を認める。

図 3 大腸粘膜の surface coat の HID-AB 染色,  $\times 200$ 。3 A: 直腸。sulfomucin (黒紫色) のみが認められる。3 B: 盲腸。sialomucin (青) が目立つ。

図 4 大腸の各部位による杯細胞の染色性の違い, AB-PAS 染色,  $\times 50$ 。4 A: 盲腸。4 B: 上行結腸。4 C: 直腸。右側大腸では赤色調が強い。

図 5 大腸の各部位。図 4 の連続切片, HID-AB 染色,  $\times 50$ 。5 A: 盲腸。杯細胞では sialomucin (青) が圧倒的に多い。その分布にはっきりした規則性はない。5 B: 上行結腸。ほとんど sulfomucin (黒紫色) のみからなる。5 C: 直腸。杯細胞は, 下半分が sulfomucin (黒紫色), 上半分が sialomucin (青) という層構造を示す。

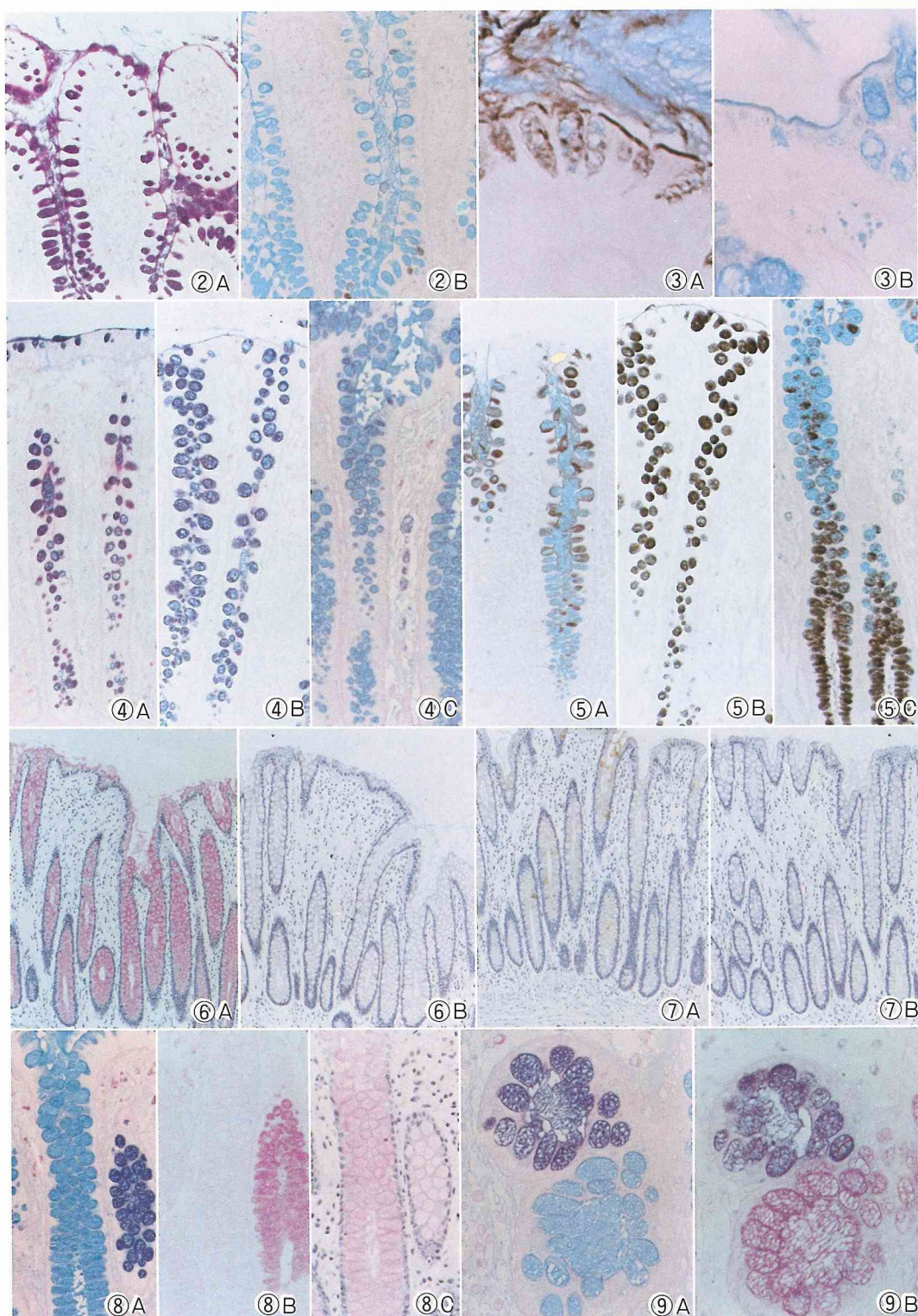
図 6 直腸粘膜。PA-RED-ALH-PAS 反応,  $\times 20$ 。6 A: アルカリ水解を行った切片。杯細胞は, 近接水酸基を持たない O-acetyl NANA (赤) を含む。6 B: アルカリ水解を除いた対照切片。

図 7 直腸粘膜の paradoxical con A staining,  $\times 20$ 。7 A: 不安定な III 型の con A 反応性 (散在性の陽性杯細胞)。7 B: 安定な III 型の con A 反応 (陰性)。

図 8 下行結腸粘膜,  $\times 50$ 。8 A: AB-PAS 染色。図左の Alcian blue のみ陽性 (青) と PAS 反応が加わった腸陰窩 (右) —モザイク構造。8 B: MOS 反応。右腸陰窩で NANA 陽性 (赤)。8 C: PA-RED-ALH-PAS 反応 (近接水酸基を持たない O-acetyl NANA は右腸陰窩で陰性)。

図 9 直腸粘膜, 水平断切片,  $\times 100$ 。9 A: AB-PAS 染色。PAS 反応性が加わった腸陰窩 (上)。9 B: PAT-ALH-PAS 反応。上部腸陰窩は thionin・Schiff 反応陽性 (紫)。







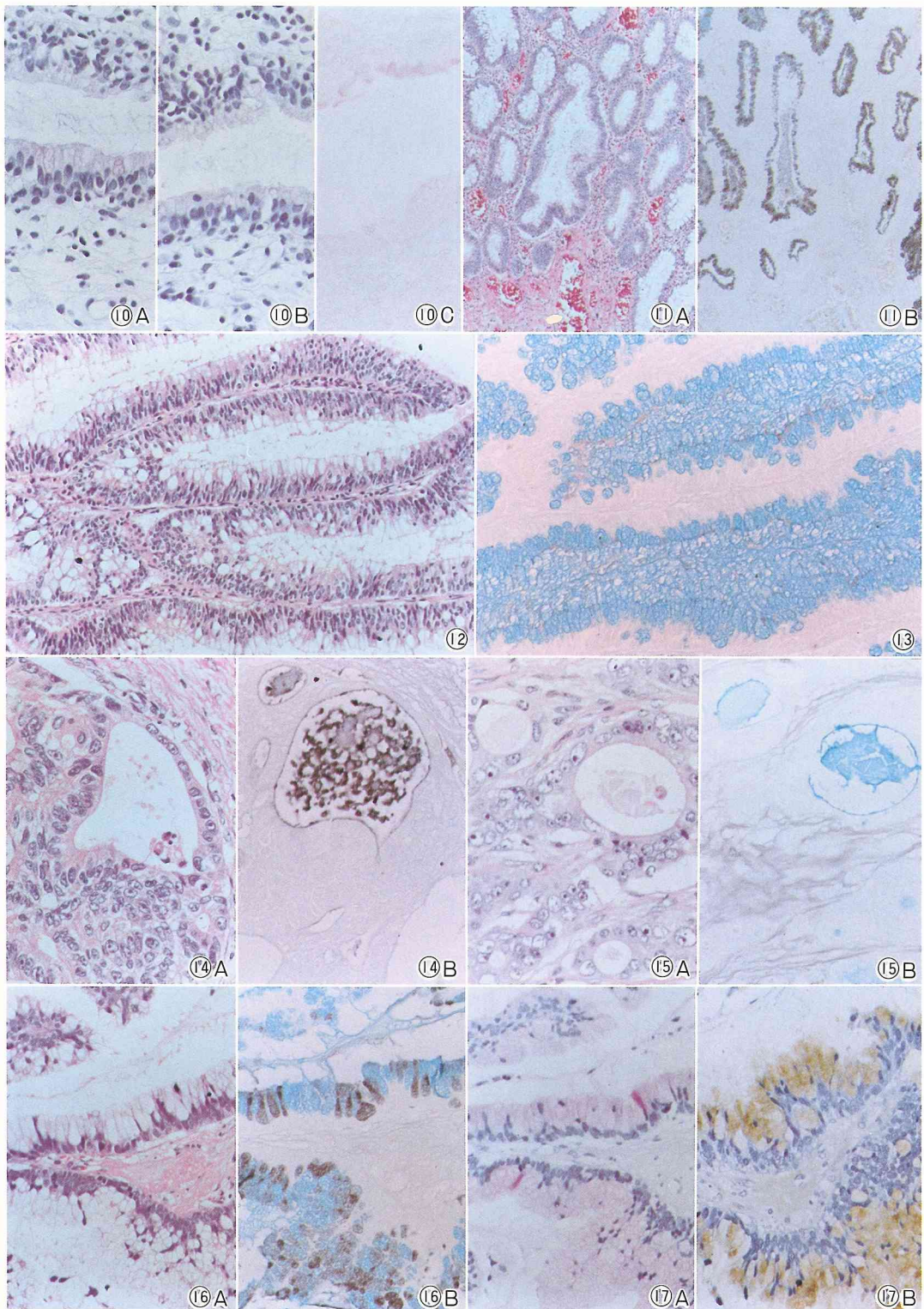


表3A AB-PAS 染色による正常大腸粘膜 surface coat の染色性

部位	色調	青	青紫	紫	赤紫	赤
盲 腸		0/14	8/14	5/14	0/14	1/14
上行結腸		5/14	5/14	2/14	2/14	0/14
横行結腸		4/6	1/6	1/6	0/6	0/6
下行結腸		2/3	0/3	1/3	0/3	0/3
S 状結腸		10/18	6/18	2/18	0/18	0/18
直 腸		35/45	10/45	0/45	0/45	0/45

表3B AB-PAS 染色による正常大腸粘膜 杯細胞粘液の染色性

部位	色調	青	青紫	紫	赤紫	赤
盲 腸		1/14	6/14	6/14	1/14	0/14
上行結腸		6/14	4/14	2/14	2/14	0/14
横行結腸		4/6	1/6	1/6	0/6	0/6
下行結腸		2/3	0/3	1/3	0/3	0/3
S 状結腸		10/18	6/18	2/18	0/18	0/18
直 腸		35/45	10/45	0/45	0/45	0/45

はっきりとした相関はなかった。また、回腸、大腸とも腸陰窩の部位による surface coat の粘液の染色性に変化は認められなかった。

肛門腺では、AB-PAS 染色で1例が紫色を呈し、その部分は HID-AB 染色で sialomucin 優位を示したが、あとの2例は AB-PAS 染色で青色、HID-AB 染色で sulfomucin が圧倒的優勢であった。

b. シアル酸; surface coat の粘液は、各種シアル

酸を識別する反応に対していずれも弱い反応しか示さなかった。

回腸末端部粘膜では、MOS 反応および PBT-PAS 反応で陰性あるいは弱陽性を呈したが、PA-RED-ALH-PAS 反応性はまったく欠如していた。PAT-ALH-PAS 反応では、青紫色を示した。また、ALH-PAS 反応性/PAS反応性=1であった。sialidase による消化には、かなりの抵抗を示した。

大腸粘膜の surface coat の粘液は、回腸よりもさらに反応が弱く、ほとんどの症例が ALH-PAS 反応性/PAS反応性=1であったのにもかかわらず、MOS 反応ではっきりとした陽性を示したものは3例だけ

表4A HID-AB 染色による正常大腸粘膜 surface coat の染色性

部位	酸性粘液	su	su>si	si+su	si>su	si
盲 腸		10/14	1/14	1/14	2/14	0/14
上行結腸		13/14	0/14	0/14	0/14	1/14
横行結腸		5/6	1/6	0/6	0/6	0/6
下行結腸		3/3	0/3	0/3	0/3	0/3
S 状結腸		18/18	0/18	0/18	0/18	0/18
直 腸		39/45	1/45	5/45	0/45	0/45

su; sulfomucin のみ、または、ほとんど sulfomucin だけを認めた例。su>si; sulfomucin 産生の優位な例。si+su; sulfomucin と sialomucin がほぼ均等に混在する例。si>su; sialomucin 産生の優位な例。si; sialomucin のみ、または、ほとんど sialomucin だけを認めた例。

図10 肛門腺、×50。10A: PA-RED-ALH-PAS 反応。数個の陽性杯細胞(赤)。10B: アルカリ水解を除く対照切片。10C: 同部の MOS 反応。図10AでPA-RED-ALH-PAS 反応を呈する杯細胞は陰性。

図11から20までは大腸腫瘍。

図11 直腸の腺管腺腫、×20。11A: H.E. 染色。管状腺管の増生を認める。11B: HID-AB 染色。sulfomucin の圧倒的優勢な杯細胞型粘液。

図12 直腸の絨毛腺腫。H.E. 染色、×50。上皮が細い間質の上に絨毛状に増生している。

図13 直腸の絨毛腺腫。図12の連続切片。HID-AB 染色、×50。杯細胞型粘液は sialomucin のみからなる。僅かに sulfomucin 陽性の surface coat 型粘液が存在する。

図14 直腸の中分化腺癌、×100。14A: H.E. 染色。14B: 同部の HID-AB 染色。sulfomucin 優位の surface coat 型粘液産生例。

図15 S 状結腸の中分化腺癌、×100。15A: H.E. 染色。15B: 同部の HID-AB 染色。sialomucin 優位の surface coat 型粘液産生例。

図16 直腸の高分化腺癌(杯細胞型粘液産生例)、×100。16A: H.E. 染色。16B: 同部の HID-AB 染色。

図17 直腸の高分化腺癌。図16と同一部分、×100。17A: PA-RED-ALH-PAS 反応弱陽性。17B: 不安定なⅢ型の con A 反応陽性。



表4B HID-AB 染色による正常大腸粘膜杯細胞粘液の染色性

腸陰窩の高さと 部位	酸性粘液	表 層 部			中 間 部			底 部		
		su	su+si	si	su	su+si	si	su	su+si	si
盲 腸		3/14	2/14	9/14	2/14	5/14	7/14	5/14	4/14	5/14
上 行 結 腸		11/14	2/14	1/14	12/14	1/14	1/14	12/14	1/14	1/14
横 行 結 腸		3/6	0/6	3/6	4/6	2/6	0/6	4/6	1/6	1/6
下 行 結 腸		0/3	0/3	3/3	1/3	1/3	1/3	3/3	0/3	0/3
S 状 結 腸		1/18	5/18	12/18	6/18	4/18	8/18	14/18	1/18	3/18
直 腸		2/45	4/45	39/45	12/45	20/45	13/45	43/45	2/45	0/45

su ; sulfomucin 優位の例。su+si ; sulfomucin と sialomucin をほぼ均等に認める例。

si ; sialomucin 優位の例。

表5 正常大腸粘膜 surface coat の各種シアル酸染色法に対する反応性

部位	染色法 (色調)	MOS 反応		PAT-ALH-PAS 反応			PBT-PAS 反応	
		+	-	+	+	-	+	-
盲 腸		1/14	13/14	9/14	0/14	5/14	1/14	13/14
上 行 結 腸		1/14	13/14	8/14	0/14	6/14	1/14	13/14
横 行 結 腸		0/6	6/6	1/6	0/6	5/6	0/6	6/6
下 行 結 腸		0/3	3/3	2/3	0/3	1/3	0/3	3/3
S 状 結 腸		1/18	17/18	8/18	0/18	10/18	3/18	15/18
直 腸		0/45	45/45	9/45	0/45	36/45	0/45	45/45

で、PAT-ALH-PAS 反応では63例が反応しなかった。PBT-PAS 反応も5例のものが弱陽性を示したにすぎなかった。また、sialidase による消化には、

大腸粘膜の surface coat は比較的抵抗を示した。さらに、PA-RED-ALH-PAS 反応を呈するものはまったく確認されなかった(表5)。

図18 盲腸の高分化腺癌、×100。18A : H. E. 染色。18B : 同部の HID-AB 染色。

図19 直腸の高分化腺癌。図18と同一症例、×100。19A : MOS 反応。杯細胞型粘液にNANA 陽性。19B : PA-RED-ALH-PAS 反応陽性。19C : 不安定なⅢ型の con A 反応陽性。

図20 直腸の印環細胞癌、×100。20A : H. E. 染色。20B : HID-AB 染色で sialomucin 圧倒的優勢。20C : PA-RED-ALH-PAS 反応、弱陽性。20D : 不安定なⅢ型 con A 反応(陰性)。

図21から25までは直腸の高分化腺癌の1例(それぞれAは同症例の腫瘍隣接粘膜。Bは腫瘍より離れた正常部粘膜)。

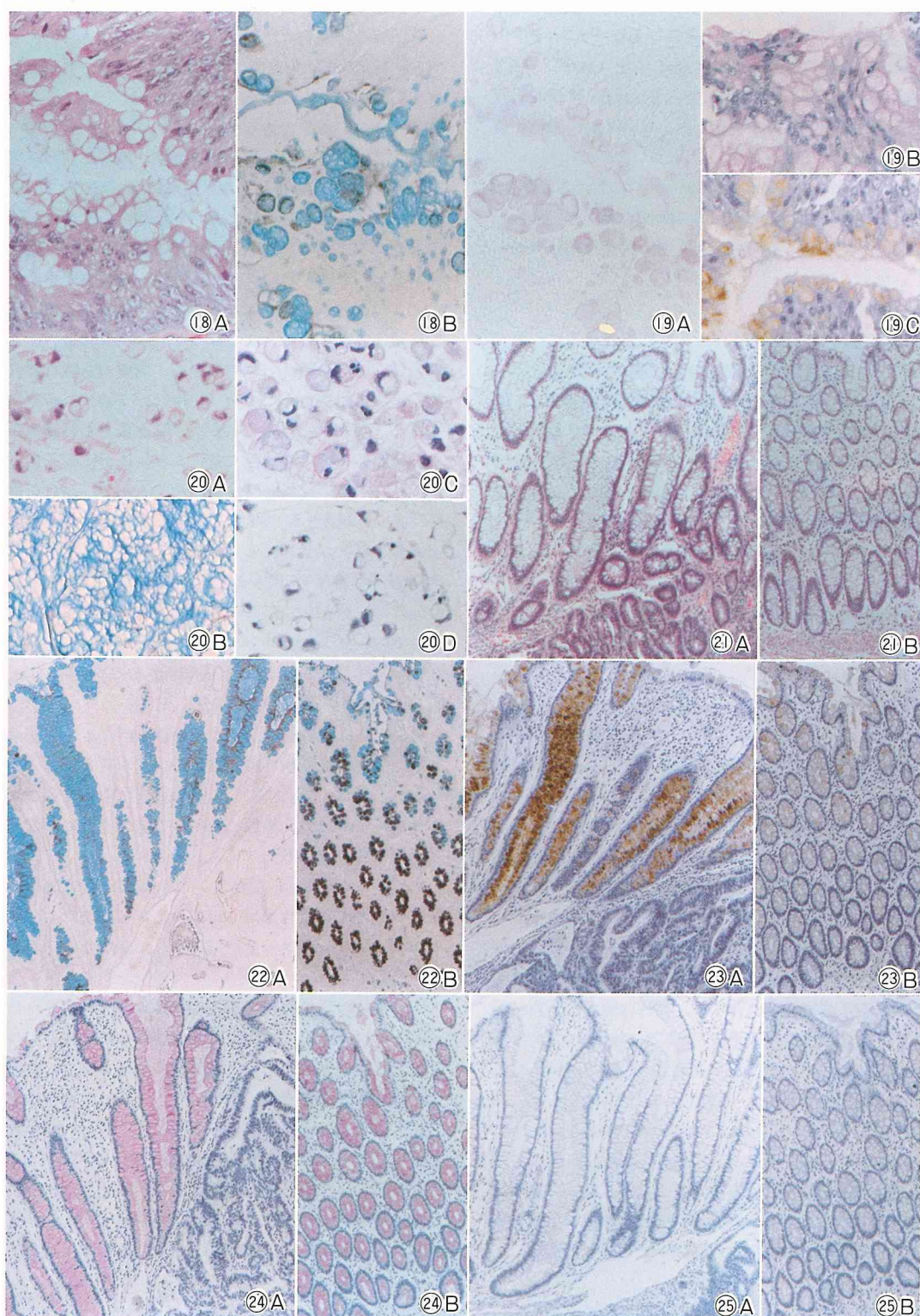
図21 直腸の高分化腺癌。H. E. 染色、×50。21A : 腫瘍隣接部粘膜。図上部は過形成、下部は腫瘍。21B : 正常部粘膜。

図22 直腸の高分化腺癌。図21と同一症例。HID-AB 染色、×50。22A : 腫瘍隣接過形成部。杯細胞型粘液は sulfomucin の著しい減少。23B : 正常部粘膜。sulfomucin を有する層構造を示す。surface coat 型粘液に変化はない。

図23 直腸の高分化腺癌。図21と同一症例。不安定なⅢ型の con A 反応、×50。23A : 腫瘍隣接部粘膜。杯細胞型粘液は、正常部(23B)と比較して著しい反応性の増強を示す。23B : 正常部粘膜

図24 直腸の高分化腺癌。図21と同一症例。PA-RED-ALH-PAS 反応、×50。24A : 腫瘍隣接部粘膜。粘液の染色性は、正常部(24B)とほとんどかわらない。24B : 正常部粘膜。

図25 直腸の高分化腺癌。図21と同一症例。MOS 反応、×50。25A : 腫瘍隣接部粘膜。反応陰性。25B : 正常部粘膜。反応陰性。



肛門腺では、大腸の染色性とほぼ同様の結果が得られ、3例とも MOS, PA-RED-ALH-PAS, PBT-PAS の各反応により シアル酸は 検出されず、PAT-ALH-PAS 反応では 紫色を、また ALH-PAS 反応性/PAS 反応性 = 1 を示した。sialidase では、ほとんど消化されなかった。

c. paradoxical con A staining に対する反応性；検索したすべての症例の surface coat の粘液は、II 型反応を示し、不安定、安定とも III 型反応は欠如していた。

## 2 杯細胞の粘液

杯細胞は、回腸末端部より大腸に移行するにつれて、数が増加し、大腸では腸陰窩の大部分を占める。

a. 酸性度；回腸末端部粘膜の杯細胞の粘液は、AB-PAS 染色でほとんど一様に赤色から赤紫色を呈し、HID-AB 染色では、sialomucin が圧倒的に優位で、ごくわずかな sulfomucin の混在を認めるのみであった（図 2 A, B）。

大腸では、表 3 B に示したように AB-PAS 染色で盲腸から上行結腸にかけては赤色調が強く、全体として紫色を呈していた（図 4 A, B）。一方、横行結腸から直腸に至る部分では、ほとんど一様に青色に着染した（図 4 C）。ただし、30 例のおもに S 状結腸と直腸の正常粘膜で、モザイク状に赤色調の強い腸陰窩が混在していた（図 8 A, 9 A）。以上の AB-PAS 染色による結果は腸陰窩の部位によらず、一様な染色性を示した。

HID-AB 染色によると、杯細胞の粘液は、大腸の各部位によってはっきりとした染色性の相違を示した（表 4 B）。すなわち、盲腸では腸陰窩深部に sialomucin が目立ち、全体としても sialomucin 優位であったのに対して、上行結腸では一転して sulfomucin 優位となり、腸陰窩のほとんどすべての杯細胞は暗紫色に着染する。横行結腸から下行結腸にかけては、表層に青色に染まる sialomucin が徐々に増加し、S 状結腸から直腸に至ると中層にも sialomucin がかなり証明されるようになって、ついには腸陰窩の下半分は sulfomucin、上半分は sialomucin といった、「二階建て」ともいふべき層構造が明らかとなる（図 5 A, B, C）。なお、sialomucin と sulfomucin は、すべての大腸粘膜において、個々の杯細胞の胞体中にしばしば混在して認められた。

AB-PAS 染色でモザイク状を呈する部分は、HID-

AB 染色では区別されなかった。

肛門腺の杯細胞の粘液は、2 例で AB-PAS 染色で紫色、HID-AB 染色で sialomucin 優位であり、もう 1 例は AB-PAS 染色で青色、HID-AB 染色で sulfomucin 優位であった。

b. シアル酸；回腸末端部粘膜では、ほとんどの杯細胞が MOS 反応陽性となり、逆に PA-RED-ALH-PAS 反応は欠如しているか、もしくは一部の杯細胞の粘液のみに認められた。PAT-ALH-PAS 反応は青紫色を、PBT-PAS 反応は陰性から弱陽性を示した。また、sialidase によりかなり消化されたが、完全に染色性を失うことはなかった。

大腸では、盲腸、上行結腸の各 1 例ずつを除く 98 例で、近接水酸基を持たない O-acetyl NANA が証明された（図 6 A, B）。ただし、陽性例でも盲腸から上行結腸にかけての部分では、この反応が比較的弱い例が目立った。それとほぼ逆比例する形で、MOS 反応により、NANA が特に盲腸、上行結腸に多くの例で同定された。NANA と近接水酸基を持たない O-acetyl NANA が同一細胞内に混在している例が多かったが、NANA が多ければ近接水酸基を持たない O-acetyl NANA は少なく、逆に近接水酸基を持たない O-acetyl NANA が優勢であれば NANA は乏しい傾向がみられた（図 8 B, C）。

NANA は、直腸に至るまで杯細胞内粘液に存在するが、盲腸に比較して陽性例は減少する（表 6）。

なお、MOS 反応に対して強い反応性を示す領域は、例外なく AB-PAS 染色で赤色調の強い部分に一致していた（図 8 A, B）。

PAT-ALH-PAS 反応も、この MOS 反応陽性部分に一致して青紫色を呈したが、しかし同部に 7-O-acetyl NANA がはっきり確認された例はない（図 9 A, B）。

9-O-acetyl NANA を検出する目的で考案された PBT-PAS 反応は、30 分間および 90 分間酸化のものとも杯細胞の粘液の 39 例で弱陽性の反応を呈し、これはほぼ MOS 反応陽性（すなわち NANA 陽性）の部分と同一部位であったが、6 例では NANA の検出されない部分にも観察された。逆に 3 例では、NANA が陽性であっても PBT-PAS 反応がみられなかった。

以上のシアル酸染色の結果は、sulfomucin の分布と異なって腸陰窩内の部位による反応性の差は認められなかった。

Sialidase による消化では、*Arthrobacter urea-*

表6 正常大腸粘膜杯細胞粘液の各種シアル酸染色法に対する反応性および sialidase 感受性

部位	PA-RED-ALH-PAS 反応		MOS 反応		PAT-ALH-PAS 反応			PBT-PAS 反応		sialidase 感受性	
	+(赤)	-	+(赤)	-	+(赤)	+(紫)	+(青)	±~+(赤)	-	+	-
盲 腸	13(8)/14	1/14	9(1)/14	5/14	4/14	10/14	0/14	8/14	6/14	9/14	5/14
上行結腸	13(3)/14	1/14	7(1)/14	7/14	9/14	5/14	0/14	6/14	8/14	7/14	7/14
横行結腸	6(1)/6	0/6	2/6	4/6	5/6	1/6	0/6	2/6	4/6	2/6	4/6
下行結腸	3(2)/3	0/3	1/3	2/3	2/3	1/3	0/3	1/3	2/3	2/3	1/3
S 状結腸	18(4)/18	0/18	10(3)/18	8/18	10/18	8/18	0/18	10/18	8/18	8/18	10/18
直 腸	45(2)/45	0/45	8/45	37/45	37/45	8/45	0/45	12/45	33/45	37/45	8/45

(症例数): 陽性例のうち反応の弱い症例数

*Faciens* と *Clostridium perfringens* から得られた sialidase の効果にほとんど差はみられず、消化後 NANA 陽性部位にほぼ一致して好塩基性の低下がみられた。しかし、完全に染色性を失った例は1例もなく、また直腸の1例では、MOS 反応陽性にもかかわらず、まったく効果がみられなかった。

肛門腺では、3例とも杯細胞の粘液に NANA の存在が確認され、これらは PAT-ALH-PAS 反応で紫色に染まり、sialidase でかなり消化された。PBT-PAS 反応は欠如していた。また、1例の肛門腺の杯細胞粘液では、近接水酸基を持たない O-acetyl NANA の共存が認められ、この杯細胞粘液は MOS 反応がほとんどみられず、PAT-ALH-PAS 反応で赤色、PBT-PAS 反応は陰性であった (図10A, B, C)。また、sialidase には抵抗を示した。

c. paradoxical con A staining に対する反応性: 回腸末端部粘膜の杯細胞では、一部に不安定なⅢ型反応を示す粘液が存在したが、ごく少数であった。安定なⅢ型反応はまったく認められなかった。

大腸では、検索した全例の杯細胞の粘液に不安定なⅢ型反応が認められた。しかし、きわめて強い反応性を示した腫瘍隣接粘膜を除くと杯細胞の反応性は、症例によって、また、同一症例においても腸陰窩あるいは個々の細胞によりはなはだしく異なり、26例では陰性を示す杯細胞がほとんどであった (表7)。不安定なⅢ型の反応性の強さは一般的に腸陰窩のほぼ中層から表層にかけて陽性で、深部ではまったく陰性が弱陽性を示すにすぎない (図7A)。大腸の部位による相違はみられなかった。60分間酸化に対して安定なⅢ型反応はまったく認められなかった (図7B)。

肛門腺の杯細胞はⅢ型反応を示さなかった。

同一個体の大腸全域における粘液の性状を検索する

表7 正常大腸粘膜杯細胞粘液の不安定なⅢ型の con A 反応性

部位	+	±~+	-~+	±	-
盲 腸	6/14	4/14	2/14	2/14	0/14
上行結腸	1/14	9/14	4/14	0/14	0/14
横行結腸	2/6	4/6	0/6	0/6	0/6
下行結腸	2/3	0/3	1/3	0/3	0/3
S 状結腸	7/18	10/18	1/18	0/18	0/18
直 腸	12/45	17/45	15/45	1/45	0/45

+: 陽性から強陽性, ±~+: 弱陽性

-~+: 陰性杯細胞の混在が目立つ

±: ほとんど陰性, -: まったく陰性。

目的で行った剖検例の材料でも、個々の手術例とほぼ同様の染色結果を得た。しかしながら、NANA の分布にはかなり個人差が認められ、ほとんど大腸全域にわたって NANA が存在する例や不規則に出現する例も確認された。

### C 腫 瘍

#### 1 腺腫および過形成性ポリープ

腺管腺腫7例、絨毛腺腫3例および過形成性ポリープ5例を検索した。

##### a. surface coat 型粘液

腺腫の surface coat では、sulfomucin が圧倒的に優勢であったが、正常粘膜と比較すると量的にかなり乏しかった (図13)。過形成性ポリープは、周辺粘膜の surface coat と同様の染色性を示した。シアル酸染色法では、MOS, PA-RED-ALH-PAS, PBT-PAS 反応はまったく認められず、PAT-ALH-PAS 反応は紫色もしくは着染がみられなかった。paradoxical con A staining はⅡ型反応を示したが、Ⅲ型反応はなかった (表8)。



## b. 杯細胞型粘液

腺腫においては、一般に杯細胞は小型化し、形もやや不規則となる (図11A, 12)。過形成性ポリープは、正常粘膜と比較して腸陰窩の延長や杯細胞の腫大膨隆が認められたが、細胞異型はみられなかった。

腺管腺腫の杯細胞は、AB-PAS 染色では青色もしくは紫色に着染し、一部の小型化した杯細胞は赤色を呈した。HID-AB 染色では sulfomucin が優勢で、AB-PAS 染色で赤色を呈した小型の杯細胞もほとんど sulfomucin を含んでいた (図11B)。シアル酸の種類および paradoxical con A staining に対する反応性は、腺管腺腫の存在する周辺粘膜とほぼ一致していた。

一方、絨毛腺腫の杯細胞型粘液では、比較的 sialomucin が目立った (図13)。そのほかの反応性は、やはり周辺の正常粘膜のものに準じていた (表8)。

以上、腺腫では surface coat 型、杯細胞型粘液ともにその発生部位による相違はなかった。

## 2 癌

今回検索した症例では、高分化腺癌が60例を占め、低分化腺癌は5例にすぎなかった。組織型と部位の関係では、粘液癌は盲腸および上行結腸に比較的多く認められ、粘液癌8例のうち5例がこの部分に存在していた。また、上行結腸癌では、中分化腺癌の頻度が高かった (図1)。

大腸癌の産生粘液も管腔表面を覆う surface coat 型と、癌組織に認められる杯細胞様細胞の胞体内粘液に大別されたが、表9A, 10Aに示すように surface coat 型粘液は、粘液癌6例を除いてほとんどすべての症例で確認された。しかし、量的には乏しく、高分化腺癌を主体とする20例ではかすかに検出されたにすぎなかった。

杯細胞型粘液は59例の症例で産生されていた。杯細胞様細胞の存在は、分化度が高いほど出現率が高い傾向を示したが、一症例に存在する杯細胞様細胞の数の多寡については、組織型との相関はほとんど認められなかった。

## a. surface coat 型粘液

(1) 酸性度；ほとんどの症例で surface coat 型粘液は乏しかったが、腺管構造の管腔表面を覆う薄い層として認められた。

AB-PAS 染色では、組織型や発生部位によらず赤色調を帯びる症例が目立った (表9A)。連続切片で観

察した HID-AB 染色では、全体として sulfomucin が比較的優位を占めていた (54例) が、盲腸原発のものでは sialomucin 優勢のものが目立った (表10A, 図14A, B, 16A, B)。

粘液癌の4例は印環細胞癌で surface coat は確認できず、また粘液結節型のうち2例も胞体内粘液が豊富で、はっきりと surface coat を検出できなかった。残り2例の粘液結節型では、胞体内粘液がほとんどないか、少量であったために surface coat を検出し得た。粘液癌の surface coat は AB-PAS 染色で青色から青紫色に、HID-AB 染色では比較的 sialomucin が多かった。

肛門癌の2例の surface coat 型粘液は、AB-PAS 染色で青紫色となり、HID-AB染色では sulfomucin が圧倒的優位であった。

リンパ節転移巣では、いずれも原発巣と同様の染色性を示した。

(2) シアル酸；MOS反応は26例だけに陽性で、MOS, PA-RED-ALH-PAS 両反応でまったくシアル酸を検出できないものが68例に及んだ (表11)。連続切片での観察では、これらのほとんどが surface coat に乏しく、さらに sulfomucin が多い症例であった。PAT-ALH-PAS 反応では、全例が青紫色から紫色に着染し、ALH-PAS 反応性/PAS 反応性=1となったが、PA-RED-ALH-PAS 反応は陰性で、7-O-acetyl NANA は同定できなかった (表12A)。

PBT-PAS 反応30分、90分酸化ともに結果はかわらず、陽性は16例でそのほとんどが MOS 反応陽性の症例であった。

Sialidase に感受性のある surface coat 型粘液は48例で、うち24例の連続切片では MOS 反応でNANA 陰性となった。NANA 陽性の例は、ほとんどすべてよく消化されたが、2例ではNANA 陽性にもかかわらず、連続切片の sialidase 消化では感受性を示さなかった (表12A)。

なお、周辺正常粘膜との関係を調べてみると、癌組織での surface coat が NANA 陽性となった症例は、周辺正常粘膜の surface coat がほとんどすべて NANA 陰性であった。逆に周辺正常粘膜で MOS 反応陽性の surface coat を示した3例では、いずれも癌組織で NANA を同定できなかった。

以上の結果は、大腸癌の組織型ならびに部位とも関連がなかった。

肛門部原発癌組織の surface coat 型粘液は MOS

反応陽性で NANA の存在が証明され、PA-RED-ALH-PAS 反応は陰性であった。PAT-ALH-PAS 反応では紫色、PBT-PAS 反応ではほとんど陰性であった。sialidase に対する反応性は弱く、好塩基性の低下はごくわずかであった。

リンパ節転移巣は原発巣の染色性を反映しており、1例で MOS 反応陽性の surface coat 型粘液を認めたが、ほかはほとんどシアル酸の染色に反応を示さなかった。

(3) paradoxical con A staining に対する反応性；surface coat 型粘液はⅡ型反応を示したが、Ⅲ型反応はまったくみられなかった。

#### b. 杯細胞型粘液

癌組織における杯細胞様の腫瘍細胞は、腺管腺癌では腺管を構成する腫瘍細胞間に点在しており、正常粘膜の杯細胞に比べて数が少なく形も不均一なものがほとんどであった。これらの杯細胞様の腫瘍細胞は管腔に面しており、管腔内に粘液を分泌していた（図17A, 19A）。また、胞体内粘液としては印環細胞型の粘液癌の産生粘液も存在する（図20）。

(1) 酸性度；AB-PAS 染色では、ほとんどの症例で青色が優勢であった（表9B）。これを連続切片のHID-AB染色でみると、sialomucin と sulfomucin の混在例が多く、全体として sialomucin 優位のものが目立った（表10B, 図16B, 18B）。以上の結果は、癌の組織型や大腸の部位とは関係を有しなかった。

肛門癌の2例では、AB-PAS 染色で青紫色、HID-AB 染色で sulfomucin 優位であった。

リンパ節転移巣はいずれも原発巣と同様の染色性を示した。

(2) シアル酸；シアル酸を同定する反応に1カ所でも陽性を示す胞体内粘液が存在すれば陽性例とした。

今回検索した全例の杯細胞様腫瘍細胞にシアル酸が認められた。このうち、近接水酸基を持たない O-acetyl NANA を有するものは51例、NANA 陽性例は29例で、両者の共存例が19例であった（図19A, B）。両者の共存は、同一症例の同一細胞内にあるものがほとんどであったが、正常粘膜の項で述べた「相補性」が癌組織にも観察され、近接水酸基を持たない O-acetyl NANA を多く含んでいる杯細胞型粘液では、NANA が乏しく、また、この逆の場合も認められた（表13）。なお、共存例では管腔内に貯溜している粘液には NANA および近接水酸基を持たない O-acetyl NANA が混在していた。

表8 大腸腺癌の粘液組織化学的性質

症例	年齢・性別	部位	AB-PAS 染色		HID-AB 染色		PA-RED-ALH-PAS 反応		MOS 反応		PBT-PAS 反応		PAT-ALH-PAS 反応		Labile class III con A reactivity	
			surface coat 型	杯細胞型	surface coat 型	杯細胞型	surface coat 型	杯細胞型	surface coat 型	杯細胞型	surface coat 型	杯細胞型	surface coat 型	杯細胞型	surface coat 型	杯細胞型
1	51・男	腸直	青	青	su	su	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
2	65・男	腸直	青	青	su	su	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
3	59・女	腸結	紫	青	su	su	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
4	63・男	腸直	青	青	su	su	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
5	57・男	腸直	青紫	青紫	su	su	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
6	63・男	腸直	青紫	青紫	su	su	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
7	74・女	腸盲	青	青	su	su	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
1	64・女	腸直	青	青	su	su+si	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
2	79・男	腸直	青	青紫	su	si	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
3	70・男	腸直	青	青	su	su+si	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+

su ; sulfomucin 優位な例, si+su ; sulfomucin と sialomucin をほぼ均等に認める例, si ; sialomucin 優位な例。

表 9 A AB-PAS 染色による大腸癌 surface coat 型粘液の染色性

色調と組織型 部 位		青					紫					赤				
		高分化 腺癌	中分化 腺癌	低分化 腺癌	粘液癌	計	高分化 腺癌	中分化 腺癌	低分化 腺癌	粘液癌	計	高分化 腺癌	中分化 腺癌	低分化 腺癌	粘液癌	計
盲	腸	3	2	0	1	6	3	0	1	0	4	2	0	0	0	2
上	結 腸	1	3	0	0	4	1	2	2	1	6	3	0	1	0	4
横	結 腸	1	2	0	0	3	1	1	0	0	2	0	0	0	0	0
下	結 腸	2	0	0	0	2	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
S	結 腸	5	1	0	0	7	3	3	0	0	6	4	2	0	0	6
直	結 腸	17	6	1	0	24	5	3	0	0	8	8	2	0	0	10
肛	門	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
計		29	14	1	1	45	16	9	3	1	29	17	4	1	0	22

表 9 B AB-PAS 染色による大腸癌杯細胞型粘液の染色性

色調と組織型 部 位		青					紫					赤				
		高分化 腺癌	中分化 腺癌	低分化 腺癌	粘液癌	計	高分化 腺癌	中分化 腺癌	低分化 腺癌	粘液癌	計	高分化 腺癌	中分化 腺癌	低分化 腺癌	粘液癌	計
盲	腸	3	2	1	0	6	2	0	0	3	5	0	0	0	0	0
上	結腸	2	2	0	0	4	2	0	0	1	3	0	0	0	0	0
横	結腸	2	2	0	0	4	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
下	結腸	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S	結腸	7	2	0	0	9	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
直	腸	14	6	0	1	21	0	1	0	2	3	1	0	0	0	1
肛	門	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
計		31	14	1	1	47	5	1	0	7	13	1	0	0	0	1

表10A HID-AB 染色による大腸癌 surface coat 型粘液の染色性

酸性粘液と組織型 部位	su					su+si					si				
	高分化腺癌	中分化腺癌	低分化腺癌	粘液癌	計	高分化腺癌	中分化腺癌	低分化腺癌	粘液癌	計	高分化腺癌	中分化腺癌	低分化腺癌	粘液癌	計
盲腸	2	1	0	0	3	1	0	0	0	2	5	1	0	1	7
上行結腸	4	3	2	0	9	1	1	0	1	3	0	1	1	0	2
横行結腸	0	3	0	0	3	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
下行結腸	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
S状結腸	6	6	0	0	12	2	0	0	0	2	4	0	0	0	4
直腸	20	4	1	0	25	5	2	0	0	7	5	5	0	0	10
肛門	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
計	36	17	3	0	56	11	3	1	1	16	15	7	1	1	24

su ; sulfomucin 産生が優位な症例, su+si ; sulfomucin と sialomucin がほぼ均等に存在する症例, si ; sialomucin 産生が優位な症例。

表10B HID-AB 染色による大腸癌杯細胞型粘液の染色性

酸性粘液と組織型 部位	su					su+si					si				
	高分化腺癌	中分化腺癌	低分化腺癌	粘液癌	計	高分化腺癌	中分化腺癌	低分化腺癌	粘液癌	計	高分化腺癌	中分化腺癌	低分化腺癌	粘液癌	計
盲腸	0	1	0	0	1	4	1	1	2	8	1	0	0	1	2
上行結腸	1	0	0	0	1	3	2	0	1	6	0	0	0	0	0
横行結腸	0	0	0	0	0	2	0	0	1	3	0	2	0	0	2
下行結腸	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
S状結腸	0	0	0	0	0	4	2	0	0	6	5	0	0	0	5
直腸	3	0	0	0	3	5	3	0	2	10	6	4	0	1	11
肛門	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
計	6	1	0	0	7	18	8	1	6	33	13	6	0	2	21

su ; sulfomucin 産生が優位な症例, su+si ; sulfomucin と sialomucin がほぼ均等に存在する症例, si ; sialomucin 産生が優位な症例。



表11A シアル酸産生からみただ腸癌 surface coat 型粘液

シアル酸と組織型	部位	近接水酸基を持たない O-acetyl NANA 産生例					NANA 産生例					共存例			
		高分化腺癌	中分化腺癌	低分化腺癌	粘液癌	計	高分化腺癌	中分化腺癌	低分化腺癌	粘液癌	計	高分化腺癌	中分化腺癌	低分化腺癌	粘液癌
		計	計	計	計	計	計	計	計	計	計	計	計	計	計
盲	腸	0	0	0	0	0	5	0	0	1	6	0	0	0	0
上	結腸	0	0	0	0	0	2	2	0	1	5	0	0	0	0
横	結腸	0	0	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	0
下	結腸	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0
S	結腸	0	0	0	0	0	2	1	0	0	3	0	0	0	0
直	腸	0	0	0	0	0	6	1	0	0	7	0	0	0	0
肛	門	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0
計		0	0	0	0	0	21	5	0	2	28	0	0	0	0

表11B シアル酸産生からみただ腸癌杯細胞型粘液

シアル酸と組織型	部位	近接水酸基を持たない O-acetyl NANA 産生例					NANA 産生例					共存例			
		高分化腺癌	中分化腺癌	低分化腺癌	粘液癌	計	高分化腺癌	中分化腺癌	低分化腺癌	粘液癌	計	高分化腺癌	中分化腺癌	低分化腺癌	粘液癌
		計	計	計	計	計	計	計	計	計	計	計	計	計	計
盲	腸	4	1	0	2	7	4	2	0	2	8	3	1	0	1
上	結腸	4	1	0	0	5	2	2	0	1	5	2	1	0	0
横	結腸	2	2	0	1	5	2	0	0	1	3	2	0	0	1
下	結腸	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S	結腸	7	2	0	0	9	4	1	0	0	5	2	1	0	0
直	腸	15	7	0	2	24	3	0	0	3	6	3	0	0	2
肛	門	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0
計		33	13	0	5	51	17	5	0	7	29	12	3	0	4
															19

表12A 大腸癌 surface coat 型粘液の PAT-ALH-PAS 反応性および sialidase 感受性

組織型と 反応性 (色調)	部位	高分化腺癌				中分化腺癌				低分化腺癌				粘液癌			
		PAT-ALH-PAS 反応		sialidase 感受性		PAT-ALH-PAS 反応		sialidase 感受性		PAT-ALH-PAS 反応		sialidase 感受性		PAT-ALH-PAS 反応		sialidase 感受性	
		+		-		+		-		+		-		+		-	
		(青)	(紫)	計		(青)	(紫)	計		(青)	(紫)	計		(青)	(紫)	計	
腸	盲	0	8	0	8	0	2	0	2	0	1	0	1	0	1	0	1
結	上	0	5	0	5	0	5	0	5	0	3	0	3	0	1	0	1
腸	横	0	2	0	2	0	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
結	下	0	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腸	S	0	12	0	12	0	6	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0
結	直	0	30	0	30	0	11	0	11	0	1	0	1	0	0	0	0
腸	肛	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
門																	
計		0	62	0	62	0	27	0	27	0	5	0	5	0	2	0	2

表12B 大腸癌杯細胞型粘液の PAT-ALH-PAS 反応性および sialidase 感受性

組織型と 反応性 (色調)	部位	高分化腺癌				中分化腺癌				低分化腺癌				粘液癌			
		PAT-ALH-PAS 反応		sialidase 感受性		PAT-ALH-PAS 反応		sialidase 感受性		PAT-ALH-PAS 反応		sialidase 感受性		PAT-ALH-PAS 反応		sialidase 感受性	
		+		-		+		-		+		-		+		-	
		(赤)	(紫)	(青)	計	(赤)	(紫)	(青)	計	(赤)	(紫)	(青)	計	(赤)	(紫)	(青)	計
腸	盲	2	3	0	5	1	1	0	2	0	2	0	2	1	0	3	0
結	上	2	2	0	4	0	2	0	2	0	0	0	0	0	1	0	1
腸	横	0	0	2	2	2	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0	1
結	下	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腸	S	4	5	0	9	1	1	0	2	1	1	2	0	0	0	0	0
結	直	10	4	0	14	7	0	0	7	0	0	0	0	0	3	0	3
腸	肛	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
門																	
計		19	16	2	37	11	4	0	15	3	12	15	1	1	0	8	0

PAT-ALH-PAS 反応では、赤色もしくは紫色から青紫色を呈するが、連続切片で行った PA-RED-ALH-PAS 反応や ALH-PAS 反応性/PAS 反応性の比などの結果から 7-O-acetyl NANA を産生していると断定し得る症例は見出せなかった(表12B)。

PBT-PAS 反応では、13例が陽性となり、連続切片ですべて MOS 反応陽性をも示した。

Sialidase による消化では、MOS 反応陽性症例の杯細胞型粘液はよく消化されたが、完全に染色性を失った症例はなく、3例では MOS 反応陽性にもかかわらず、抵抗を示した(表12B)。

以上、杯細胞型粘液のシアル酸染色の結果は、大腸癌の組織型には無関係であり、印環細胞型の胞体内粘液も特に際立った特徴はなかった(図20B, C, D)が、

表13 NANA 産生からみた大腸正常粘膜と癌組織の杯細胞型粘液の関係

NANA 産生 部 位	正常粘膜 (+)	正常粘膜 (+)	正常粘膜 (-)
	癌 組 織 (+)	癌 組 織 (-)	癌 組 織 (+)
盲 腸	6	2	2
上 行 結 腸	3	3	2
横 行 結 腸	0	1	3
下 行 結 腸	0	1	0
S 状 結 腸	4	5	1
直 腸	4	0	2
計	17	12	10

表14 大腸癌杯細胞型粘液の不安定なⅢ型の con A 反応性

反応性と 組織型 部 位	+					-				
	高分化 腺癌	中分化 腺癌	低分化 腺癌	粘液癌	計	高分化 腺癌	中分化 腺癌	低分化 腺癌	粘液癌	計
盲 腸	5	2	1	3	11	0	0	0	0	0
上 行 結 腸	4	2	0	1	7	0	0	0	0	0
横 行 結 腸	2	2	0	1	5	0	0	0	0	0
下 行 結 腸	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0
S 状 結 腸	8	1	0	0	9	1	0	0	0	1
直 腸	12	8	0	2	22	2	0	0	1	3
肛 門	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2
計	32	15	1	7	55	5	0	0	1	6

発生部位とは明らかな関係を有していた。すなわち、盲腸、上行および横行結腸部の癌組織では、杯細胞型粘液を有する22例のうち16例で NANA が証明されるのに比べて、下行結腸から直腸にかけて発生した癌組織では37例中11例で NANA 陽性であるにすぎなかった(表11B)。このことは、大腸正常粘膜における粘液の分布を反映している。

なお、癌組織とその周囲の正常粘膜との関係を杯細胞型粘液のシアル酸分布の面からみてみると表13のようになる。つまり、周辺正常粘膜で NANA 陽性となるにもかかわらず、癌組織で陰性となるものが12例、その逆に周辺正常粘膜で NANA 陰性であるのに癌組織で陽性となるものが10例認められた。一方、近接水酸基を持たない O-acetyl NANA を指標にすると、周辺正常粘膜でこの種のシアル酸を産生しているのに

癌組織ではほとんど NANA のみを含んでいる症例は6例みられた。また、周辺正常粘膜に近接水酸基を持たない O-acetyl NANA がほとんど証明されず、しかも癌組織に杯細胞様腫瘍細胞のみられた症例は1例のみで、この症例では杯細胞様腫瘍細胞は NANA のみに反応を示した。結局、周辺粘膜組織には近接水酸基を持たない O-acetyl NANA が証明されず、癌組織に出現している症例はなかったことになる。

肛門原発の癌組織では、杯細胞型粘液は2例で MOS 反応陽性で、PAT-ALH-PAS 反応では紫色から青色を示した。PA-RED-ALH-PAS 反応と PBT-PAS 反応は陰性であった。sialidase には比較的感受性を示した。

リンパ節の転移巣では、杯細胞型粘液を3例で認めた。全例で近接水酸基を持たない O-acetyl NANA が

検出され、また2例でNANAが確認された。NANAの存在する2例の原発巣は、いずれもこのシアル酸を産生していなかった。

(3) paradoxical con A staining に対する反応性；1カ所でも陽性を示す杯細胞様腫瘍細胞が存在すれば陽性とした。

杯細胞型粘液を産生する59例中、S状結腸癌1例と直腸癌3例を除く55例で一部にもせよ不安定なⅢ型反応を証明した(図17B, 19C)。安定なⅢ型反応を示す症例はなかった(表14)。

なお、不安定なⅢ型反応を欠く4例は、いずれもPA-RED-ALH-PAS反応陽性で、一方PA-RED-ALH-PAS反応陰性の8例はすべて不安定なⅢ型反応を示すので、この両反応をともに欠如する癌症例はなかった。

肛門癌では、2例ともⅢ型反応はみられなかった。

リンパ節転移巣では、2例で不安定なⅢ型反応が認められた。

#### D 腫瘍隣接粘膜

##### 1 癌組織隣接粘膜

100例とも肉眼的に観察すると、たとえ潰瘍形成性の症例でも癌組織周辺部はすべて周囲の正常粘膜より膨隆していた。この癌組織の突出にひきずられた形で盛り上がった癌組織に隣接する粘膜は、症例によりその範囲や程度は異なるものの、腸陰窩の延長や不規則な分枝、また杯細胞内粘液部の腫大膨隆などを認めた。しかし、細胞異型はみられなかった(図21A, B)。以上の変化は癌に近づくほど著明で、この部分は、正常粘膜と比較すると特異な粘液の性格を示した。

##### a. surface coat の粘液

粘液の酸性度、シアル酸の分布、paradoxical con A staining に対する反応性はともに周辺正常粘膜とほとんど同様の染色性を示した(図22A, B)。

##### b. 杯細胞の粘液

(1) 酸性度；AB-PAS 染色では、癌組織隣接粘膜は、同一症例の正常粘膜と何ら色調の変化を認めなかった。しかしながら、HID-AB 染色で観察すると、100例中95例で癌に伴って膨隆した部分から標本上で平均5mmほど外側までの、光顕上まったく正常にみえる粘膜でも、一見して杯細胞の粘液に sulfomucin の減少がみられた。特に癌により近い部分で杯細胞の酸性粘液はほとんどすべてが sialomucin のみとなっている(図22A, B)。このような所見は癌組織周辺粘膜に均等に拡がっていた。

なお、以上の所見は癌の発生部位、組織型、深達度および腫瘍の大きさとも関連なく認められた。

(2) シアル酸；MOS, PA-RED-ALH-PAS, PAT-ALH-PAS, PBT-PAS 反応ともいずれも周辺の杯細胞の粘液と同様の染色性を示し、色調に濃淡の差はなかった(図24A, B, 25A, B)。つまり、癌組織隣接粘膜杯細胞の粘液のシアル酸に関しては、単位体積あたりの増減は認められなかった。

(3) paradoxical con A staining に対する反応性；100例中97例で、sulfomucin の減少が認められた粘膜領域にほぼ一致して、杯細胞の粘液の不安定Ⅲ型反応が著しく高まっていた。この部分より辺縁の正常粘膜は、不安定なⅢ型反応性が比較的弱く、癌隣接粘膜と際立った対比を示した(図23A, B)。この変化も癌の組織学的所見には関係がなかった。

癌隣接粘膜杯細胞に sulfomucin 減少がみられなかった5例の中の2例においてこの不安定なⅢ型反応性は高まっていた。sulfomucin の減少と不安定なⅢ型反応増強をともに示さない症例は3例存在したが、これらの症例に特徴的な変化は認めなかった。

##### 2 腺腫隣接粘膜

腺腫に隣接する粘膜でも癌に比べて軽度ではあったが、すべての症例で過形成を示す粘膜を認めた。

腺管腺腫の7例中4例、絨毛腺腫の3例中全例の腫瘍隣接粘膜の杯細胞の粘液で、sulfomucin の減少と paradoxical con A staining に対する不安定Ⅲ型反応の増強が認められた。

Surface coat の粘液の染色性は、周辺正常粘膜とほとんど差がみられなかった。

また、過形成性ポリープでは、このような反応性の変化はまったく認められなかった。

##### 3 異型腺管

正常粘膜の中で、腸陰窩が不規則に拡張していたり、軽度な細胞異型を示す細胞からなる腸陰窩が混在しているものが7例に認められた。このうち1例では、周辺粘膜と比べて杯細胞の sulfomucin の減少がみられ、またほかの1例ではほとんど sulfomucin のみからなる杯細胞で占められていた。ただし、そのほかの染色では、周囲の反応性と相違がなかった。

## IV 考 察

生化学的に粘液とは、糖タンパク質や proteoglycan から構成されるいろいろな物質を包括する名称として用いられることが多いが(22-24)、今回は、上皮性



細胞が産生する糖タンパク質を粘液として扱った。また、糖タンパク質は、mucin 型と血清型に大別され、胞体内粘液のほとんどは前者から構成されており、一方細胞膜表面には後者が多く結合していることが知られている<sup>23)-27)</sup>。この2型とも結合様式の違いはあるが、いずれも糖鎖がタンパク質と glycoside 結合をしたものであり、糖鎖の部分、特に mucin 型のものに関しては生化学的に正確な構造が判明しているものは少ない。従来の粘液組織化学では、この糖鎖に存在する近接水酸基や酸性基を染色に利用していた<sup>23)</sup>。このため、特定の組織や、特定の細胞の粘液を特徴づける反応は得られなかった。

しかし、Hale<sup>28)</sup>に始まり、Culling ら<sup>10)-12)14)15)</sup>による一連の研究で、糖鎖の非還元末端に位置するシアル酸の種類を組織化学的に識別できるようになり、その結果、大腸の杯細胞の粘液は近接水酸基を持たない O-acetyl NANA を多量に含んでいることが明らかにされた。さらに、concanavalin A (con A) を用いた paradoxical con A staining により、大腸の杯細胞の粘液はその酸性度にかかわらず、不安定なⅢ型反応性を示すことが知られている<sup>5)17)</sup>。

今回の検索により、特にシアル酸についての組織化学的方法の特異性について二、三の問題が生じたので、まずこのことに関して考察を試みることにした。

A シアル酸の組織化学的方法に関する問題点：シアル酸は図26に示す構造をとっているが、C-7, 8, 9および C-4 位の水酸基が acetyl 基や glycolyl 基で置換されたものも数多く存在する<sup>29)-32)</sup>。

Culling らは、①近接水酸基を持たない O-acetyl NANA のための PBT-KOH-PAS 反応(=PA-RED-ALH-PAS 反応)、②近接水酸基を持つシアル酸と持たないシアル酸を区別する PAT-ALH-PAS 反応、③ 9-O-acetyl NANA のための PBT-PAS 反応などを考案した。

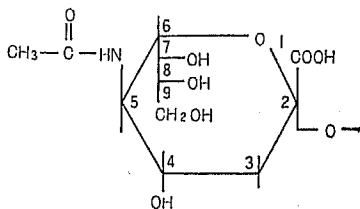


図26 N-acetylneuraminic acid (NANA)

本研究において彼らの方法を検討した結果、以下の問題点が生じた。

まず、技術的な問題として、原法では酸化時間が一般的に不十分であった。すなわち、①②③ともに最初の過ヨウ素酸酸化30分間では既存の近接水酸基をすべて酸化できず<sup>6)</sup>、今回は酸化時間を90分間に延長した。ただし、③については、30分および90分の酸化を行ったが、同じ結果になった。

次に、②の方法では、原法には thionin-Schiff 反応が30分間と指定されていたが、反応が弱く、この後に行う PAS 反応で Schiff 試薬の共染も生じた。今回、50分に延長してこれらの問題は解決された。

さらに染色結果の解釈上の問題も生じた。すなわち、Culling ら<sup>14)</sup>は①で赤く染まり、②で青く着染する粘液は 7-O-acetyl NANA を含んでいると主張しており、これが単独で存在する場合には問題はない。しかしながら、1つの杯細胞内でも、MOS 反応や PA-RED-ALH-PAS 反応陽性のものが混在していたように、いろいろな種類のシアル酸が混在する場合も考えられる。たとえば少量の NANA と近接水酸基を持たない O-acetyl NANA の混在例と、7-O-acetyl NANA と近接水酸基を持たない O-acetyl NANA の混在例では、ともに①で赤くなり、②では青と赤が混合して紫色を呈するようになり区別できない。これに対する一つの解決法として、NANA を選択的に検出する MOS 反応がある。この反応では、C-8, 9 位の近接水酸基がきわめて酸化されやすいことを利用しており、その点では 7-O-acetyl NANA も検出される可能性が否定できない。しかし、生化学的に、O-acetyl 化されたシアル酸の過ヨウ素酸酸化は NANA よりも遅れることが示唆されており<sup>16)</sup>、MOS 反応で 7-O-acetyl NANA が検出される可能性は一応除外されよう。

ところが、この MOS 反応を利用しても、1つの杯細胞内に、NANA と 7-O-acetyl NANA および近接水酸基を持たない O-acetyl NANA の三者が共存している場合には、7-O-acetyl NANA の存在を証明することは現時点では不可能である。今回の検索では、以上の考え方からはっきりと 7-O-acetyl NANA と断定できるもののみを陽性例とした。すなわち、①で赤、②で紫、MOS 反応で陽性となる例では 7-O-acetyl NANA が混在する可能性が考えられるが、今回は陽性とはしなかった。

さて、③でも PBT-PAS 反応は理論的に 9-O-

acetyl NANA のみを特異的に検出できるはずであるが、Haverkamp ら<sup>16)</sup>が指摘するように、長時間の酸化では O-acetyl 化されたシアル酸の脱アセチル化がおこる可能性があり、近接水酸基を持たない O-acetyl NANA や 7-O-acetyl NANA も脱アセチル化されて PAS 反応陽性となり得る。このように③については問題が多い。今回の検索では、約40%の症例の正常大腸粘膜杯細胞で PBT-PAS 反応弱陽性となったが、生化学的にはヒト大腸の粘膜には 9-O-acetyl NANA は乏しい<sup>12)</sup>とされており、上記の脱アセチル化の効果を考えると 7-O あるいは近接水酸基を持たない O-acetyl NANA が反応している可能性が十分考えられる。しかし、また、今回の検索で、PBT-PAS 反応陽性となったものは一部を除くほとんどが MOS 反応陽性例と一致しており、近接水酸基を持たない O-acetyl NANA だけが認められる例ではほぼ陰性であった。このことから NANA の検出された杯細胞の粘液には、7-O-acetyl NANA が混在する傾向があるのではないかと推論される。

次に sialidase については、第一に完全に純化された標品が入手したいこと、第二に、sialidase の基質特異性ははっきりしていないこと、第三に生化学的条件をどれほど組織化学的条件として適用できるか、などの問題が残されるが、今回の検索では使用した二種の sialidase で、ほとんど結果に差がなかった。

基質に関しては、一般にシアル酸の carboxyl 基が置換されたものや、C-4 位の水酸基が acetyl 基などで置換されたものはほとんど酵素の作用を受けず、また、C-7, 8, 9 位に存在する近接水酸基が置換されている場合も酵素作用の速度が遅くなることが知られている。さらに、シアル酸と隣接する糖との結合様式によっても酵素消化は影響を受けるという<sup>33)-37)</sup>。

また、固定された組織中のシアル酸が生体内のものとどれほど異なった状態か不明であり、組織中のシアル酸含量も測定困難なので、現時点では生化学的条件<sup>36)</sup>に準拠せざるを得なかった。

以上、シアル酸の組織化学的方法に関する問題点や染色結果の解釈などについて考察したが、これらの点をふまえて、以下正常大腸粘膜、腫瘍、腫瘍隣接粘膜の粘液の特性について考えてみたい。

#### B 正常大腸粘膜

正常大腸粘膜では、粘液産生の主体は杯細胞であるが、これに加えて主として吸収上皮細胞の細胞膜に結合している糖タンパク質、すなわち surface coat 型

粘液も産生されている。その中で、surface coat 型粘液の組織化学的性質については従来まったく報告がなかった。

ヒトの正常大腸粘液の特徴として、ほかの消化管粘液に比べて sulfomucin の多い事がまず挙げられるが、今回の検索でも回腸末端部粘膜と比較して杯細胞ならびに surface coat の粘液はいずれも sulfomucin を豊富に含んでおり、特に surface coat の粘液は sulfomucin が圧倒的に優位であった。ただし、細胞によっては surface coat に sialomucin と sulfomucin が混在している部分も認められ、surface coat が単なる付着物ではないことを示唆している。

また、AB-PAS 染色で主に盲腸などの杯細胞の粘液で赤色調の強い部分があり、中性粘液の存在が示唆されたが、これは連続切片の観察で MOS 反応陽性部位とすべて一致しており、NANA などの近接水酸基が PAS 反応を示したためと考えられる。しかも HID-AB 染色で大腸粘膜のすべてが酸性基を持っていることと考えあわせて、大腸の粘液には中性粘液がきわめて乏しいと思われる。このことは、回腸末端部粘膜の杯細胞の粘液も同様である。

次に、正常大腸粘膜では、盲腸から横行結腸までの右側大腸と下行結腸から直腸までの左側大腸で、杯細胞の粘液の性状に差があることが知られている。すなわち、Filipe ら<sup>30)38)-40)</sup>の HID-AB 染色を用いた検索によると、左側大腸では腸陰窩の下半分が sulfomucin、上半分が sialomucin という二層構造をとるのに対し、右側大腸では下1/3にも sialomucin が存在するという相違が認められている。

今回も同様の結果が得られたが、新たに右側大腸の中上行結腸の中部より横行結腸では、ほとんどの杯細胞の粘液が sulfomucin からなるという結果を得た。

surface coat の粘液では、このようなはっきりした区分はみられないが、盲腸や上行結腸下部には比較的多く sialomucin が存在した。

以上のような杯細胞の粘液における酸性基の分布の違いが何によるのかは不明であるが、大腸は発生学的にも右側は中腸 (midgut) から、左側は後腸 (hindgut) から由来しており<sup>41)</sup>、発生学的な要因も考えられる。

ラットにおいても右側大腸に相当する proximal colon では sialomucin が多く、一方左側大腸に相

当する distal colon では sulfomucin が優勢である<sup>42)</sup>。また、Freeman ら<sup>43)</sup>の種々の lectin を用いた研究でも proximal colon と distal colon の lectin 結合性は異なっており、粘液の糖鎖構造の相違が示唆されている。

さらにこれらに加えて、大腸内での食物の通過状態も重要な要因と思われる。sialomucin は粘性が高く、粘膜を保護する役目を持ち、sulfomucin は潤滑剤としての役割を荷なうという Smith と Butler<sup>44)</sup>の報告がある。このような考え方にしがえば、糞便が比較的速やかに移動すると考えられる上行結腸上半部から下行結腸上半部までが、糞便の停滞しやすい盲腸やS状結腸ならびに直腸に比べて、sulfomucin に富んでいることもある程度理解される。

また、粘液の酸性度は炎症などの病的状態に左右されて変動するので、その点では病的状態を反映する指標となるが、大腸粘膜に特徴的なものではない。この点でヒト大腸のおもに杯細胞の粘液にきわめて特徴的なことは、近接水酸基を持たない O-acetyl NANA を多量に含んでいること、paradoxical con A staining で不安定なⅢ型反応を示すことである。もっとも近接水酸基を持たない O-acetyl NANA は、十二指腸杯細胞の一部や脾頭部脾管の杯細胞および唾液腺細胞の粘液や、また今回検索した肛門腺の杯細胞の粘液で検出されている<sup>5)</sup>ので、Culling ら<sup>11)</sup>や Fenger と Filipe<sup>45)</sup>が主張するようにこのシアル酸が回腸末端部の一部と大腸粘膜に特異的であるというわけではない。

また、paradoxical con A staining による不安定Ⅲ型反応も気管支粘膜杯細胞や気管支腺細胞に認められ<sup>5)56)</sup>、それだけでは大腸に特異的な反応とはいえない。しかし、この両者の反応がともに陽性となる細胞は、回腸末端部粘膜に分布する杯細胞の一部と大腸の杯細胞に限られる。そのためこの二つの方法を組み合わせることにより特異的な性格をつかむことが可能である。

不安定なⅢ型反応は、正常大腸粘膜杯細胞では一般に弱く、腸陰窩の中層部から表層部にかけてやや強い反応がみられる。paradoxical con A staining の正確な反応機構は不明であるが、大腸粘膜の細胞分裂は腸陰窩底部で行われている<sup>46)</sup>ので、細胞の成熟とともに不安定なⅢ型反応性を獲得するものと考えられる。

近接水酸基を持たない O-acetyl NANA がなぜ大腸粘膜に多量に存在するかということについては定説

がないが、多種類の常在菌が無数に存在している大腸では、シアル酸の O-acetyl 化は、sialomucin を sialidase に対して抵抗性にする<sup>33)34)</sup>点からも目的になかった現象と考えられる。事実、今回の研究でも大腸の粘液は、*Clostridium perfringens* および *Arthrobacter ureafaciens* から得られた sialidase に抵抗性を示していた。

シアル酸に関しても sulfomucin の分布と同様な部位による相違がある。すなわち、盲腸周辺に NANA が比較的多く認められ、回腸粘膜からの移行が示唆される。ただし、シアル酸分布については個人差が大きかった。

NANA と近接水酸基を持たない O-acetyl NANA は、一個の杯細胞に混在しており、このことはいかなる例においても認められた。したがって、この二種のシアル酸は糖鎖内の同一の場所を占める可能性が示唆される。

今回の検索では、7-O-acetyl NANA が明らかに同定された例はなかった。しかし、PBT-PAS 反応陽性例は NANA 陽性例によく一致しており、前述したようにこの部には、NANA 以外に 7-O-、8-O-あるいは 9-O-acetyl NANA などのシアル酸が共存している可能性がある。もっともヒト大腸には、9-O-acetyl NANA はきわめて乏しいという生化学的分析結果がある<sup>12)</sup>。

さらに 4-O-acetyl NANA の存在も次のような理由から否定できない。すなわち、今回の検索では、MOS 反応陽性の杯細胞の粘液は sialidase により好塩基性の低下を示したが、完全に消化されたわけではなかったからである。つまり、4-O-acetyl NANA は sialidase で消化されず、また 4-O-acetyl 基は過ヨウ素酸酸化に影響なく、MOS 反応陽性を呈するので、このシアル酸が混在している可能性がある。しかし、また、この sialidase で完全に消化されなかったことは、近接水酸基を持たない O-acetyl NANA が共存していることや、固定された組織切片上での反応であることも十分考えられる。

Fenger ら<sup>47)</sup>は、小腸杯細胞の sialomucin が sialidase の消化に比較的抵抗するのは、シアル酸と隣接する糖との結合様式に起因すると推測しているが、大腸粘膜でもこの点は考慮しなければならない<sup>45)</sup>。

ヒト大腸の surface coat の粘液は、近接水酸基を持たない O-acetyl NANA を有せず、不安定なⅢ型の con A 反応性も欠如していた。さらに NANA に

対してもきわめて弱い反応を示すだけで、sialidase にもほとんど消化されなかった。一般に細胞膜に結合している糖タンパク質の糖鎖である cell coat には、シアル酸が豊富に含まれている<sup>21)23)24)</sup>。しかし、特殊な発達を遂げた surface coat は、しばしば sulfomucin より成り、肺胞のⅡ型上皮などにその例がみられる<sup>48)</sup>。大腸粘膜の surface coat も sulfomucin が豊富であり、高密度に分布する硫酸基が過ヨウ素酸化をさまたげている可能性もある。また、大腸粘膜の surface coat のシアル酸の絶対量が僅少であることも考えられる。さらに、分子内 lactone を形成して、酸化に対する反応を示さないシアル酸の存在も否定できない。なお、MOS 反応や PBT-PAS 反応の検出能力がかなり低いことも考慮に入れる必要があり、杯細胞の粘液に比べて量的にはるかに少ない surface coat の粘液では、反応しにくいと思われる。

## C 腫瘍

### 1 腺腫

いずれの型の腺腫においても杯細胞の大小不同が目立ち、形も不規則である。小型化した杯細胞の中には、AB-PAS 染色で赤色に着色するものも認められたが、その細胞を連続切片で観察すると sulfomucin が圧倒的優位で、MOS 反応性は背景となっている正常粘膜の染色性にほぼ対応していた。したがって、小型の杯細胞が赤色調を帯びた理由は、正常大腸粘膜の杯細胞のように NANA など近接水酸基に富むシアル酸や中性粘液によるのではなく、高度に硫酸化された粘液の alcianophilia が低下している<sup>2)</sup>ためと考えられる。

腺腫にみられた所見は Filipe<sup>39)</sup>や Gad<sup>49)</sup>の報告とほぼ一致しており、HID-AB 染色では腺腫の異型性が増加するにしたがって、見かけ上杯細胞型粘液の sulfomucin が減少し、sialomucin が増加する傾向がうかがわれた。すなわち、腺管腺腫の杯細胞では、sulfomucin 優位が目立つのに対し、絨毛腺腫では sulfomucin が減少し、sialomucin が増加するようにみえた。しかし、今回の研究でのシアル酸染色によれば、どの腺腫も背景となる正常粘膜の染色性を反映しており、色調の増強もみられないので、以上の変化はシアル酸の増加ではなく、おもに硫酸基の減少によるものと理解される。

surface coat 型粘液ではこのような変化は認められず、どの腺腫においても sulfomucin 優位であった。

腺管腺腫の杯細胞が日立って sulfomucin 優位となる現象は、正常粘膜におけるような細胞増殖の特性を有していないということを意味している。すなわち、腺腫では細胞増殖が一定の場所で行われておらず不規則で、さらに腺管腺腫では糖鎖を硫酸化する能力がまだ保持されているので、杯細胞は不規則ながら sulfomucin 優位となり、正常の左側大腸にみられるような二層構造をとることができない。一方、絨毛腺腫になると、硫酸化の能力がかなり失われて、sulfomucin が減少するようになると考えられる。ちなみに過形成性ポリープでは、周囲の粘膜と粘液染色に対する染色性は変わらない。

### 2 癌

今回検索した症例群は、部位、組織型および性差のいずれをとっても大腸癌としてほぼ定型的なものである。

正常大腸粘膜や腫瘍隣接粘膜に比べて、大腸癌の産生粘液についての組織化学的知見は意外に乏しいが、今までになされた報告<sup>49)51)</sup>では、1) 大腸癌の粘液では sulfomucin が減少する、2) sialidase に感受性のある sialomucin が増加する、といわれている。しかし、これらの報告では大腸癌の産生粘液を杯細胞型と surface coat 型に区別しておらず、また周辺正常粘膜における粘液産生との関係もまったく考慮されていなかった。

1) の報告に関しては、今回の検索でも、大腸癌の発生部位、組織型、深達度などによらず、杯細胞型粘液では周辺正常粘膜に比べて sulfomucin の減少が目立った。また、surface coat 型でもやはり sulfomucin は減少していた。

胎生期の大腸粘液は sulfomucin に乏しい<sup>52)</sup>ので、Filipe と Cooke<sup>53)</sup>は sulfomucin の減少を腫瘍化に伴って未熟な粘液産生が再現されるためと説明している。

次に 2) の sialidase 感受性の sialomucin の増加という考え方について考察を加える。

癌組織における杯細胞型粘液で、NANA の出現は必ずしも周辺正常粘膜の性格を反映していない。すなわち、周辺正常粘膜の杯細胞が NANA を欠いていながら癌組織には出現するという場合より、周辺粘膜には存在し癌組織では認められないという場合が多い。NANA は水酸基が置換されておらず、sialidase によりきわめてよく消化されることを考えあわせると、杯細胞型粘液では癌化により sialidase 感受性の

sialomucin が増加するとはいいたくない。

癌組織における杯細胞型粘液の NANA 陽性例は、PAT-ALH-PAS 反応で紫色を呈し、PBT-PAS 反応もほとんどすべて陽性なので、正常粘膜同様 7-O-acetyl NANA や 9-O-acetyl NANA の混在する可能性が考えられる。Culling ら<sup>12)</sup>は現在までに、3 例の 7-O-acetyl NANA を著明に産生する症例を経験したと報告しているが、今回の検索では、7-O-acetyl NANA 単独の症例は含まれていなかった。

次にきわめて稀な場合であるが、MOS 反応陽性で、PA-RED-ALH-PAS 反応陰性にもかかわらず sialidase に抵抗を示した症例が 1 例あり、このような場合には 4-O-acetyl NANA が存在する可能性もある。

癌組織の surface coat 型粘液で、明らかに証明できたシアル酸は NANA だけであり、それも 100 例中 26 例にとどまった。AB-PAS 染色、HID-AB 染色で、粘液癌を除くすべての症例に surface coat 型粘液が認められ、しかも sialomucin が比較的多いにもかかわらずシアル酸染色に対する感受性が低い理由として、一つには癌で産生される surface coat の量がきわめて少ないことと、シアル酸染色法の感度の低さがあげられる。また、大腸癌で産生される cell coat の絶対量が減少するという生化学的分析の報告もある<sup>53)</sup>。さらに sulfomucin が多いために、過ヨウ素酸化に対する反応性が低下することも考えられる。事実、MOS 反応陰性の症例の surface coat は量的にも少なく、sulfomucin が優勢であった。

また、大腸癌の surface coat 型粘液では MOS 反応陰性の 13 例でも sialidase に感受性が認められ、逆に MOS 陽性で sialidase に抵抗を示すものは 2 例だけで、大腸癌の surface coat 型粘液については sialidase 感受性のシアル酸が増加するといえる。一般的に癌組織では、複合糖質の糖鎖構造が変化することが知られており<sup>54)55)</sup>、上記のような症例では糖鎖の変化が sialidase 感受性をもたらしたとも解釈される。

大腸癌の発生部位からみると、右側大腸に由来するものは組織型と関係なく比較的 NANA を多く含んでおり、正常粘膜での分布を反映しているといえる。

今回検索した症例では、paradoxical con A staining に対する不安定なⅢ型反応と PA-RED-ALH-PAS 反応がともに陰性となる大腸癌杯細胞型粘液は存在せず、またリンパ節転移巣においても同様の結果が認められ、このような症例では大腸癌の転移巣にお

ける原発部位同定に有用であると考えられる。

また、Culling と Reid<sup>12)</sup>は、PA-RED-ALH-PAS 反応は特に大腸癌の肺転移巣と原発性肺癌の鑑別にきわめて有効であると強調しているが、著者ら<sup>56)</sup>は肺腺癌 42 例を検索してこの反応が陽性で、しかも不安定なⅢ型の con A 反応性を示す杯細胞型粘液を産生している 2 症例に遭遇した。いずれにせよ、PA-RED-ALH-PAS 反応あるいは不安定なⅢ型の con A 反応性からそれぞれ単独で大腸原発を推定するのは危険であり、肺癌の場合のように両者が陽性となるものもあるので速断はできない。

なお、今回検索したリンパ節転移巣では、前述の粘液の性状に加えて、2 例に原発巣で認められなかった NANA が出現し、転移に伴って粘液の性状が変化し得ることも示唆される。

#### D 腫瘍隣接粘膜

大腸癌に隣接する粘膜が、正常粘膜と異なる粘液組織化学的性質を示すことは、1969 年 Filipe<sup>50)</sup>によりはじめて報告された。すなわち、彼女は HID-AB 染色を用いた検索によって、癌辺縁の過形成性の粘膜およびその周辺の組織学的に一見正常と思われる部分において、杯細胞の粘液に sulfomucin が減少し、sialomucin が増加している事を見出した。この現象を呈する粘膜は“transitional mucosa”と名付けられ、その後 Dawson と Filipe<sup>57)</sup>、Riddell と Levin<sup>58)</sup>などにより癌辺縁より 2 cm 以内の粘膜を指すと便宜上定義されている。

今回の検索でも、95%の症例で癌を中心として同心円状の分布を示す同様な現象が認められた。ただし、Filipe と Branfoot<sup>38)</sup>が、この変化は左側大腸で典型的に出現し、右側大腸では不規則であると述べているのに対し、本研究では、原発部位による差はまったくみられず、また、組織型および腫瘍の深達度や大きさにも関係がなかった。腸陰窩の部位による変化をみると、この現象は突然おこるのではなく、癌に近づくにつれて腸陰窩の基底部より徐々に杯細胞粘液の sulfomucin が減少してゆき、癌のすぐ近傍ではほとんど sialomucin だけになる。これは、Filipe と Branfoot<sup>38)</sup>の報告と一致していた。

Filipe と Branfoot<sup>59)</sup>はその後の一連の研究により、生化学的にもこの部分で sialomucin の増量と sulfomucin の減少を認めたと報告し、radioautography でも <sup>35</sup>SO<sub>4</sub> の取り込みが低下することを突きとめている。

今回のシアル酸染色の結果をみると, sialomucin の増加とみられた部分の染色性は, PA-RED-ALH-PAS, MOS, PAT-ALH-PAS の諸反応で正常粘膜杯細胞のものとまったく変わらなかった。このことから, 癌隣接粘膜では腸陰窩が延長したり, 杯細胞の腫大により量的な sialomucin の増加はあると考えられるものの, 染色性から判断すると単位体積あたりでの基本的変化は, 糖鎖の硫酸基の減少であってシアル酸の増加ではない。

Filipe<sup>39)40)</sup>は癌隣接粘膜杯細胞で, sialidase に感受性の高いシアル酸が増加すると述べ, 一方 Fenger と Filipe<sup>47)</sup>や Dawson ら<sup>51)</sup>は近接水酸基を持たない O-acetyl NANA が増加していると報告している。このような意見の相違は, それぞれが背景となる正常粘膜との関係を見失っていることに起因している。すなわち, 前述のように癌隣接粘膜でも, シアル酸の質的なことに関しては周辺正常粘膜と何ら粘液組織化学的な変化はない。

今回の検索で, 癌隣接粘膜に一致して杯細胞型粘液の不安定なⅢ型の con A 反応性が著明に増強することが新たに明らかとなった。この現象は97%の症例で認められ, きわめて特異的な所見といえる。正常粘膜の杯細胞はごく弱い不安定なⅢ型反応を示すにすぎないので, 癌隣接粘膜における反応性の高まりは際立っている。腸陰窩の高さでみると 正常では中, 表層に比較的強く認められるこの反応が, 癌隣接粘膜では腸陰窩の基底部より出現している。粘液の con A 反応性は酸性基の存在と無関係なので, 癌隣接粘膜の杯細胞では硫酸基の減少と不安定Ⅲ型反応を増強させる糖鎖の変化が同時に進行していると考えられる。

なぜ, 癌隣接粘膜で上記の二反応の変化がみられるのか, さらにこの変化が一次的なものか, 癌に伴う二次的なものかが問題となる。

Filipe ら<sup>38)</sup>は, 粘膜の腫瘍化に伴う一次的变化であるという説をとっており, その根拠として, 1) 粘膜の異型度が増強すると sulfomucin が減少する<sup>39)</sup>, 2) 正常粘膜にも sulfomucin が減少する部分が島状にみられ, 腫瘍化の前段階と考えられる, 3) 電子顕微鏡の観察で, この部分では未分化な細胞が腸陰窩上部へも出現している<sup>57)</sup>, 4) 1, 2-dimethylhydrazine-2 HCl (DMH) のラットへの投与実験で, 発癌の前段階で sulfomucin が減少し, sialomucin が増加する<sup>42)</sup>, などの点を挙げている。

それに対して Isaacson と Attwood<sup>60)</sup>は, 大腸に

転移した悪性黒色腫や扁平上皮癌, あるいは潰瘍の周囲でも同様の変化がみられることを報告しており, この大腸癌隣接粘膜の形状や粘液の変化は, 腫瘍が突出したためにおこった血流障害によるのではないかと推論している。

今回の検索でもすべての症例で, 腸陰窩の延長などの過形成を示す部分は, 癌の突出にひきずられた形で盛り上がった粘膜を中心に認められた。しかし, 隣接粘膜での組織化学的反応の変化を示さなかった例も同様に突出しており, 必ずしも断定できない。

また, Saffos と Rhatigan<sup>61)</sup>も大腸憩室炎の周辺で同様の変化を認めている。

今回の検索結果では, 1) 癌隣接粘膜を 前癌状態である (すなわち一次的なものである) とするには, あまりにもよくその部分が保たれている, 2) すべての症例で, この変化が認められるわけではない, 3) ほとんどの症例で, この現象は癌病巣を中心に均等に広がっており, 偏在しない, 4) 過形成の所見であって異型は認められない, 5) 癌の産生粘液と直接の関連がない, 6) 粘液の酸性度は腫瘍だけでなく, 種々の要因により容易に変化する, などの諸点よりこの現象は癌病巣を囲む随伴的なものと考えたい。このような変化は癌の組織型とは特に関係を有しない。さらに腺腫の場合にも類似の変化が観察されている。

なお surface coat 型粘液では, 癌隣接粘膜でも組織化学的な変化は認められず, surface coat 型粘液は変化しにくいことを示唆している。

## V 結 論

大腸癌の手術例100例をもとに, 正常大腸粘膜, 大腸腫瘍および腫瘍隣接粘膜の産生粘液について surface coat と杯細胞に注目して, 組織化学的に検索し, 以下のような結論を得た。

### 1 正常大腸粘膜

a. 杯細胞の粘液では, 大腸の部位により酸性粘液の分布に差がみられたが, surface coat の粘液では sulfomucin 優位であった。

b. 近接水酸基を持たない O-acetyl NANA と不安定なⅢ型の con A 反応性が, ほとんどすべての杯細胞の粘液に認められた。

c. NANA は盲腸杯細胞に比較的多く存在したが, 個人差が大きかった。

### 2 腫 瘍

a. surface coat 型粘液はほとんどすべての大腸癌

症例に存在し、杯細胞型粘液も約60%に認められた。  
b. 腺腫を含めて、腫瘍化により surface coat 型および杯細胞型粘液で、sulfomucin の減少がみられた。

c. 癌組織の杯細胞型粘液では、すべてにシアル酸が認められ、近接水酸基を持たない O-acetyl NANA が多かった。NANA は、右側大腸原発の癌に比較的多く証明された。

d. 癌組織の surface coat 型粘液でシアル酸としては NANA のみが検出された。

e. 癌組織の杯細胞型粘液の約90%で不安定なⅢ型の con A 反応性が認められた。

### 3 腫瘍隣接粘膜

癌および腺腫に隣接する粘膜では、杯細胞粘液の sulfomucin の減少と、不安定なⅢ型の con A 反応性の増強がほとんどの症例で認められた。この現象は、腫瘍に随伴する変化であると考えられた。

本研究は文部省および厚生省癌特別研究費ならびに文部省一般研究Cの資金の援助を受けた。

なお、本論文の要旨は、第69回日本病理学会総会(1980年6月、札幌)、第39回日本癌学会総会(1980年11月、東京)、第70回日本病理学会総会(1981年4月、東京)、第40回日本癌学会総会(1981年10月、札幌)において発表した。

稿を終わるにあたり、懇篤なる御指導、御校閲を賜りました恩師発地雅夫教授に深甚なる謝意を表します。同時に本研究に際し、たえず御教示御指導下さいました勝山努助教授、ならびにこの研究に対して深い理解と暖かい御援助をいただいた那須毅名誉教授、藤原正之講師をはじめとする病理学教室の諸兄に深く感謝します。さらに手術材料の提供、採取に御協力いただいた、国立東信病院外科宮沢幸一先生、諏訪赤十字病院外科島田寛、野村節夫の両先生と病理検査室矢島元雄氏、豊科赤十字病院外科戸谷貞夫先生と検査室山口光雄氏、また標本作製に御協力いただいた、当教室滝沢淳子、羽山正義、殿村静香、丸子中央病院病理検査室渡辺治枝、田中純子、滝沢富士江の諸氏に心より感謝します。

## 文 献

- 1) 臨床・病理 大腸癌取扱い規約 改訂第2版, pp.33-60, 大腸癌研究会(編), 金原出版, 東京, 1980
- 2) Spicer, S.S., Horn, P.G. and Leppi, T.J. : Histochemistry of connective tissue mucopolysaccharides. In : Wagner, B.M. and Smith, D.E. (eds.), The Connective Tissue, pp.251-303, Williams and Wilkins, Baltimore, 1967
- 3) Yoshizawa, Z. : Sulphated glycoproteins. In : Gottschalk, A. (ed.), Glycoproteins Part B, pp. 1000-1018, Elsevier, Amsterdam, 1972
- 4) Spicer, S.S. : Diamine methods for differentiating mucopolysaccharides histochemistry, J Histochem Cytochem, 13 : 211-234, 1965
- 5) 勝山 努 : 腫瘍の粘液組織化学—消化管腫瘍への応用. 日本組織細胞化学会(編), 組織細胞化学1981, pp. 175-194, 学際企画, 東京, 1981
- 6) 勝山 努, 小野謙三 : 病理学マニュアル. 日本病理学会(編), 医歯薬出版, 印刷中.
- 7) Krotoski, W.A. and Weiner, H.E. : Peptide associated and antigenic changes accompanying periodic acid oxidation of human plasma orosomucoid. Arch Biochem, 115 : 337-344, 1966
- 8) Van Leuten, L. and Aschwell, G. : Studies on the chemical and enzymatic modification of glycoproteins. J Biol Chem, 246 : 1889-1894, 1971
- 9) Mclean, R.L., Suttajit, M., Beidler, J. and Winzler, R.J. : N-acetylneuraminic acid analogues. J Biol Chem, 246 : 803-809, 1971
- 10) Culling, C.F.A., Reid P.E. and Dunn, W.L. : The effect of saponification upon certain histochemical reactions of the epithelial mucins of the gastrointestinal tract. J Histochem Cytochem, 19 : 654-662, 1971
- 11) Culling, C.F.A., Reid, P.E., Clay M.G. and Dunn, W.L. : The histochemical demonstration of O-acetylated sialic acid in gastrointestinal mucins. Their association with the potassium hydroxide-periodic acid-Schiff effect. J Histochem Cytochem, 22 : 826-831, 1974
- 12) Culling, C.F.A. and Reid, P.E. : The histochemistry of colonic mucins. J Histochem Cyto-



chem, 27 : 1177-1179, 1979

- 13) Lillie, R.D. and Fullmer, H.M. : Histopathologic Technic and Practical Histochemistry. pp. 314-315, McGraw-Hill, New York, 1976
- 14) Culling, C.F.A., Reid, P.E. and Dunn, W.L. : A new histochemical method for the identification and visualization of both side chain acylated and nonacylated sialic acids. J Histochem Cytochem, 24 : 1225-1230, 1976
- 15) Reid, P.E., Culling, C.F.A. and Dunn, W.L. : A histochemical method for the identification of 9-O-acetyl sialic acids. An investigation of bovine submaxillary gland and intestinal mucins. J Histochem Cytochem, 26 : 187-192, 1978
- 16) Haverkamp, J., Schauer, R., Wember, M., Kamerling, J.P. and Viliegenthart, J.F.G. : Synthesis of 9-O-acetyl- and 4, 9-di-O-acetyl derivatives of the methyl ester of N-acetyl-D-neuraminic acid methyl glycoside. Hoppe Seylers Z Physiol Chem, 356 : 1575-1583, 1975
- 17) 勝山 努 : 複合糖質の組織化学. 日本組織細胞化学会 (編), 組織細胞化学の基礎技術と応用, pp.219-239, 東京メディカルセンター, 東京, 1978
- 18) Katsuyama, T. and Spicer, S.S. : Histochemical differentiation of complex carbohydrates with variants of the concanavalin A-horseradish peroxidase method. J Histochem Cytochem, 26 : 233-250, 1978
- 19) Bennett, H.S. : Morphological aspects of extracellular polysaccharides. J Histochem Cytochem, 11 : 14-23, 1963
- 20) Ito, S. : Form and function of the glycocalyx on free cell surfaces, Philos Trans R Soc Lond Biol, 268 : 55-66, 1974
- 21) Luft, J.H. : The structure and properties of the cell surface coat. Int Rev Cytol, 45 : 291-382, 1976
- 22) Clamp, J.R. : Mucus in health and disease. In : Elstein, M. and Parke, D.V. (eds.), Mucus in Health and Disease, pp.1-15, Plenum Press, New York, 1977
- 23) 吉澤善作, 伊勢村譲, 池中徳治, 木幡 陽, 松村 剛 : 構造. 吉澤善作, 山科郁男 (編), 糖タンパク質の構造と機能 I, pp.13-58, 南江堂, 東京, 1978
- 24) Spiro, R.G. : Glycoproteins. Adv Protein Chem, 27 : 349-467, 1973
- 25) Gottschalk, A. : Definition of glycoproteins and their delineation from other carbohydrate-protein complexes. In : Gottschalk, A. (ed.), Glycoproteins Part A, pp.24-30, Elsevier, Amsterdam, 1972
- 26) Pigman, W. : General aspects. In : Horowitz, M.I. and Pigman, W. (eds.), The Glycoconjugates I, pp.1-11, Academic Press, New York, 1977
- 27) Kornfeld, R. and Kornfeld, S. : Structure of glycoproteins and their oligosaccharide units. In : Lennerz, W.J. (ed.), The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans, pp.1-34, Plenum Press, New York, 1980
- 28) Hale, A.J. : The effect of sodium hydroxide on the periodic-acid-Schiff reaction. Stain Technol, 28 : 160, 1953
- 29) 山科郁男 : シアロ糖蛋白質, 代謝, 16 : 17-23, 1979
- 30) Ledeen, R.W. and Yu, R.K. : Chemistry and analysis of sialic acid. In : Rosenberg, A. and Schengrund, C-L. (eds.), Biological Roles of Sialic Acid, pp.1-57, Plenum Press, New York, 1976
- 31) Tuppy, H. and Gottschalk, A. : The structure of sialic acid and their quantitation. In : Gottschalk, A. (ed.), Glycoproteins Part A, pp.403-449, Elsevier, Amsterdam, 1972
- 32) Ng, S-S. and Dain, J.A. : The natural occurrence of sialic acids. In : Rosenberg, A. and Schengrund, C-L. (eds.), Biological Roles of Sialic Acid, pp.59-102, Plenum Press, New York, 1976
- 33) Drzeniek, R. : Substrate specificity of neuraminidase. Histochem J, 5 : 271-290, 1973

- 34) 斎藤政樹：シアリダーゼ。代謝，16：37-56，1979
- 35) Rosenberg, A. and Schengrund, C-L. : Sialidases. In : Rosenberg, A. and Schengrund, C-L. (eds.), Biological Roles of Sialic Acid, pp.295-359, Plenum Press, New York, 1976
- 36) Gottschalk, A. and Drzeniek, R. : Neuraminidase as tool in structural analysis. In : Gottschalk, A. (ed.), Glycoproteins Part A, pp.381-402, Elsevier, Amsterdam, 1976
- 37) Schauer, R. : Chemistry and biology of the acylneuraminic acids. Angew Chem Engl, 12 : 127-138, 1973
- 38) Filipe, M.I. and Branfoot, A.C. : Mucin histochemistry of the colon. Curr Top Pathol, 63 : 143-178, 1976
- 39) Filipe, M.I. : Mucin histochemistry in the detection of early malignancy in the colonic epithelium. Adv Exp Med Biol, 89 : 413-422, 1977
- 40) Filipe, M.I. : Mucin in the human gastrointestinal epithelium. Invest Cell Pathol, 2 : 195-216, 1979
- 41) Langman, J. : Medical Embryology. 4th ed., pp.223-231, Williams and Wilkins, Baltimore, 1981
- 42) Filipe, M.I. : Mucus secretion in rat colonic mucosa during carcinogenesis induced by dimethylhydrazine. A morphological and histochemical study. Br J Cancer, 32 : 60-77, 1975
- 43) Freeman, H.J., Lotan, R. and Kim, Y.S. : Application of lectins for detection of goblet cell glycoconjugate differences in proximal and distal colon of rat. Lab Invest, 42 : 405-412, 1980
- 44) Smith, B. and Butler, M. : The autonomic control of colonic mucin secretion in the mouse. Br J Exp Pathol, 55 : 615-621, 1974
- 45) Fenger, C. and Filipe, M.I. : Pathology of the anal glands with special reference to their mucin histochemistry. Acta Patho Microbiol Scand [A], 85 : 273-285, 1977
- 46) Cole, J.W. and McKalen, A. : Observations of cell renewal in human rectal mucosa *in vivo* with thymidine-H. Gastroenterol, 41 : 122-125, 1961
- 47) Fenger, C. and Filipe, M.I. : Histochemical characteristics of mucus in the small intestine. A comparative study of normal and carcinoma. Histochem J, 11 : 277-287, 1979
- 48) Katsuyama, T. and Spicer, S.S. : A cation-retaining layer in the alveolar-capillary membrane. Lab Invest, 36 : 428-435, 1977
- 49) Gad, A. : A histochemical study of human alimentary tract mucosubstances in health and disease. Br J Cancer, 23 : 52-68, 1969
- 50) Filipe, M.I. : Value of histochemical reactions for mucosubstances in the diagnosis of certain pathological conditions of the colon and rectum. Gut, 10 : 577-586, 1969
- 51) Dawson, P.A., Patel, I. and Filipe, M.I. : Variations in sialomucins in the mucosa of the large intestine in malignancy : A quantimet and statistical analysis. Histochem J, 10 : 559-572, 1978
- 52) Lev, R. : A histochemical study of glycogen and mucin in developing human foetal epithelia. Histochem J, 1 : 152-165, 1968
- 53) Filipe, M.I. and Cooke, K.B. : Changes in composition of mucin in the mucosa adjacent to carcinoma of the colon as compared with the normal : A biochemical investigation. J Clin Pathol, 27 : 315-318, 1974
- 54) Kim, Y.S. : Glycoprotein alteration in human colonic adenocarcinoma. In : Elstein, M. and Park, D.V. (eds.), Mucus in Health and Disease, pp.443-468, Plenum Press, New York, 1977
- 55) 吉澤善作, 畑隆一郎, 佐藤徳太郎, 立木 蔚 : 機能。吉澤善作, 山科郁男 (編), 糖タンパク質の構造と機能 I, pp.131-163, 南江堂, 東京, 1978
- 56) 小野謙三, 勝山 努, 発地雅夫 : 気管支粘膜および気管支癌の粘液組織化学的研究。肺癌, Suppl. : 131, 1980
- 57) Dawson, P.A. and Filipe, M.I. : An ultrastructural and histochemical study of the mucous

- membrane adjacent to and remote from carcinoma of the colon. *Cancer*, 37 : 2388-2398, 1976
- 58) Riddell, R.H. and Levin, B. : Ultrastructure of the "transitional" mucosa adjacent to large bowel carcinoma. *Cancer*, 40 : 2509-2522, 1977
- 59) Filipe, M.I. and Branfoot, A.C. : Abnormal patterns of mucus secretion in apparently normal mucosa of large intestine with carcinoma. *Cancer*, 34 : 282-290, 1974
- 60) Isaacson, P. and Attwood, P.R.A. : Failure to demonstrate specificity of the morphological and histochemical changes in mucosa adjacent to colonic carcinoma (transitional mucosa). *J Clin Pathol*, 32 : 214-218, 1979
- 61) Saffos, R. and Rhatigan, R.M. : Benign (nonpolypoid) mucosal changes adjacent to carcinomas of the colon. A light microscopic study of 20 cases. *Hum Pathol*, 8 : 441-449, 1977

(56.10.16 受稿)

---