

## 綜 説

## 胃腺粘液型糖鎖による生体防御と上皮性腫瘍の悪性化制御機構

藤井千文<sup>1)2)\*</sup> 中山 淳<sup>1)</sup>

- 1) 信州大学医学部医学科分子病理学教室  
 2) 信州大学先鋭領域融合研究群バイオメディカル研究所バイオテクノロジー部門

### Biological Defenses and Regulation of Epithelial Tumor Development by the Gastric Gland Mucus-type Glycan

Chifumi FUJII<sup>1)2)</sup> and Jun NAKAYAMA<sup>1)</sup>

- 1) *Department of Molecular Pathology, Shinshu University School of Medicine*  
 2) *Department of Biotechnology, Institute for Biomedical Sciences,  
Interdisciplinary Cluster for Cutting Edge Research, Shinshu University*

**Key words:**  $\alpha$ GlcNAc, MUC6, *Helicobacter pylori*, gastric cancer, gastric-type adenocarcinoma  
 $\alpha$ GlcNAc, MUC6, ピロリ菌, 胃癌, 胃型腺癌

## I はじめに

がんは本邦で死因の第一位であり、右肩上がりに増加し続けている。このうち胃癌は、ステージ I で早期に発見・切除すれば5年生存率は90%以上であるが、がん死の原因としては2020年現在第3位であり、致死人口が高い<sup>1)</sup>。従って、より優れた胃癌の治療法・診断法・予防法の開発は急務であり、このためには、胃癌を始めとした、がんの生物学に対する基礎的知見の積み重ねが非常に重要である。著者らの研究室では、これまでに、胃粘液に特異的な糖鎖である  $\alpha$ 1,4-結合型 *N*-アセチルグルコサミン ( $\alpha$ 1,4-linked *N*-acetylglucosamine;  $\alpha$ GlcNAc) と、この糖鎖が主に結合するムチンコアタンパク質 MUC6に着目し、研究を行って来た。その結果  $\alpha$ GlcNAc は、①ピロリ菌 (*Helicobacter pylori*; *H. pylori*) に対して抗菌活性を示すこと、②胃での癌抑制因子として働くこと、③種々の胃型腺癌においても癌抑制因子として働くこと、が明らかとなって来た。本稿では、当研究室でのこれまでの研究結果を中心に、 $\alpha$ GlcNAc・MUC6と生体防御、がん進展との関係について紹介する。

## II 胃粘液の特徴

胃粘液は、胃の表面を覆い、自らが産生する酸やペプシンから胃粘膜を保護し、粘膜防御を司ると同時に、粘膜表面の潤滑性を保ち、消化を助ける作用や、食物などによる物理的な刺激に対して粘膜の損傷を防ぐ作用がある<sup>2)</sup>。胃粘液には、表層粘液と腺粘液の2種類が存在し、それぞれ表層粘液細胞、副細胞や幽門腺細胞などを含む腺粘液細胞という異なる細胞により産生される(図1)<sup>2)3)</sup>。胃粘液の主成分はいずれもムチンであり、表層粘液は、Lewis 血液型糖鎖が結合した MUC5AC を含んでいる<sup>4)</sup>。一方、腺粘液は、糖鎖の非還元末端に  $\alpha$ GlcNAc が結合した MUC6 を含んでいる<sup>5)6)</sup>。 $\alpha$ GlcNAc は、Ⅲ型粘液を特異的に染色するコンカナバリン A パラドックス染色 (paradoxical concanavalin A staining) や、抗ムチンモノクローナル抗体クローン HIK1083 による免疫染色により検出されうる<sup>7)8)</sup>。 $\alpha$ GlcNAc は、ヒトの正常組織では、胃腺粘液細胞の他に、十二指腸粘膜のブルネル腺細胞、膵管・胆管の付属腺細胞にのみ発現している極めてユニークな O-グリカンである<sup>6)8)</sup>。

$\alpha$ GlcNAc は、 $\alpha$ 1,4-*N*-アセチルグルコサミン転移酵素 ( $\alpha$ 1,4-*N*-acetylglucosaminyl transferase;  $\alpha$ 4GnT) により生合成される(図1)。本酵素は、著者らにより、HIK1083抗体を含む  $\alpha$ GlcNAc 構造を認識する3種の抗体による染色性を指標にした発現クローニング法に

\* Corresponding author: 藤井千文 〒390-8621  
 松本市旭3-1-1 信州大学医学部分子病理学教室  
 E-mail: chifumif@shinshu-u.ac.jp

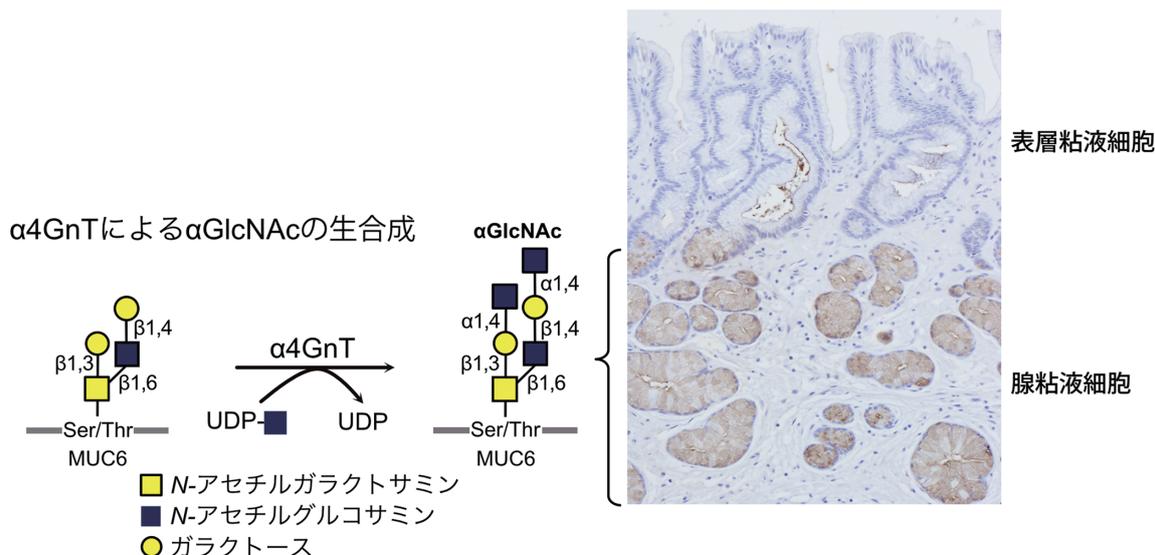


図1  $\alpha$ 4GnTによる $\alpha$ GlcNAcの生合成

胃粘膜の粘液細胞は、表層粘液細胞と腺粘液細胞から構成されている。 $\alpha$ GlcNAcは腺粘液細胞から分泌される腺粘液中に存在しており、糖転移酵素である $\alpha$ 4GnTにより生合成される。右の写真は、 $\alpha$ GlcNAcに特異的なモノクローナル抗体 HIK1083による胃粘膜の免疫染色像を示す。

より、ヒト胃 cDNA ライブラリーより同定された<sup>9)</sup>。 $\alpha$ 4GnTは、UDP-GlcNAcをドナー基質として、O-グリカン末端の $\beta$ -結合型ガラクトースにN-アセチルグルコサミンを $\alpha$ 1,4結合させることにより、 $\alpha$ GlcNAc構造を合成する反応を触媒する(図1)。 $\alpha$ 4GnTをコードする遺伝子をノックアウトしたマウス(*A4gnt* KOマウス)では、 $\alpha$ GlcNAcが完全に消失したことから、 $\alpha$ 4GnTは、 $\alpha$ GlcNAcを生合成する唯一の糖転移酵素であるといえる<sup>10)</sup>。

### Ⅲ $\alpha$ GlcNAcのピロリ菌に対する抗菌活性と新規治療戦略

ピロリ菌は約3 $\mu$ mのグラム陰性らせん状桿菌で、1983年にオーストラリアのMarshallとWarrenにより発見された<sup>11)</sup>。この発見により、従来加齢性変化やストレスが原因と考えられていた慢性胃炎や消化性胃潰瘍が、ピロリ菌の感染によって起こることが明らかとなった<sup>12)13)</sup>。Marshall博士がピロリ菌を自ら飲んで、この菌が胃炎の原因菌だと証明したというニュースを聞いたときの衝撃を著者は今でも鮮明に覚えている。ピロリ菌は、1994年に世界保健機関(WHO)の国際がん研究機関(IARC)でGroup I carcinogenと定義され、現在では、胃癌やMALTリンパ腫の原因の一つであることが明らかとなっている<sup>14)16)</sup>。

胃に感染したピロリ菌は、主に表層粘液中に生息しており腺粘液中には認められない<sup>17)</sup>。表層粘液に含

まれるフコース含有型血液型関連糖鎖Lewis bやH(type I)がピロリ菌の細胞接着分子BabAアドヘジンのリガンドとして作用することや、ピロリ菌感染の際に表層粘液細胞に発現するsialyl dimeric Lewis xを含む糖脂質がピロリ菌の細胞接着因子SubAアドヘジンのリガンドとして働くことが、ピロリ菌の表層粘液への局在に関与していると考えられる<sup>18)19)</sup>。一方で、腺粘液中にはピロリ菌が存在しないことから、この中にピロリ菌感染を抑制している物質が存在する可能性が考えられた。そこで、当研究室では、腺液中の $\alpha$ GlcNAcに着目し、ピロリ菌感染における役割について解析した。腺粘液のモデルとして、細胞外ドメインに80か所のO-グリカン結合部位を持つ可溶性CD43に $\alpha$ GlcNAcを生合成により付加させ、リコンビナントムチンを調製した。 $\alpha$ GlcNAc結合型リコンビナントムチンの存在下でピロリ菌を培養すると、菌の増殖能や運動能が著しく抑制され、これに伴い、菌体の伸長、輪郭の不整や断片化などの著明な形態変化が観察された。しかし、これらの変化は、 $\alpha$ GlcNAc非結合型リコンビナントムチンの存在下では見られなかった。また、 $\alpha$ GlcNAcを持たないヒト胃癌細胞株とピロリ菌とを共培養すると、細胞へのピロリ菌感染と細胞障害が観察されたが、この細胞株に $\alpha$ 4GnTを発現させて $\alpha$ GlcNAcを産生させた上でピロリ菌との共培養を行った場合には、ピロリ菌感染、細胞障害共に認められなかった。以上の結果から、 $\alpha$ GlcNAcがピロ

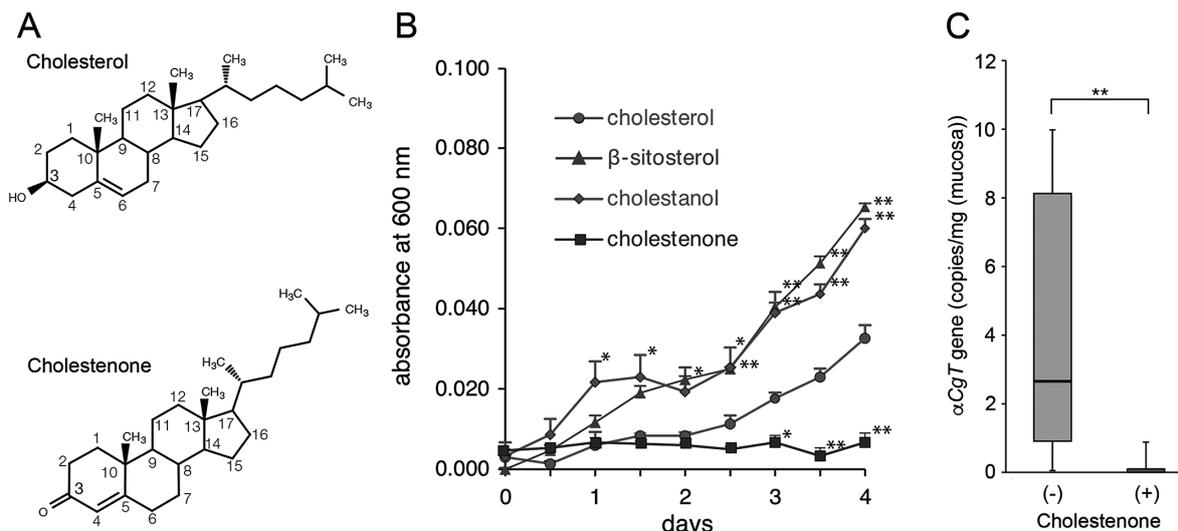


図2 コレステノンによるピロリ菌の増殖抑制効果

A コレステロール (上) とコレステノン (下) の構造。コレステノンは、コレステロールの3位の水酸基がケトン基に置換されている。B *in vitro*でのコレステノンによるピロリ菌の増殖抑制効果。ピロリ菌を図中に示したコレステロールならびにコレステロール類似体存在下 (150 nM) で4日間培養した際の増殖曲線を示した。n = 3。エラーバーはSEを示す。\* ;  $P < 0.05$ , \*\* ;  $P < 0.01$ 。C ピロリ菌感染マウスでのコレステノンによる除菌効果。マウスにピロリ菌を2回感染させた後、コレステノンを10週間混餌投与した。その後、胃粘膜中のピロリ菌量を $\alpha$ CgT遺伝子のリアルタイムPCR法にて定量した。n = 24。エラーバーはSEを示す。\*\* ;  $P < 0.01$ 。(文献25より一部改変して引用)

リ菌に対する抗菌活性を持つことが示された<sup>20)</sup>。

ピロリ菌を含めたヘリコバクター属の菌には、共通の細胞壁合成成分としてコレステリル- $\alpha$ -D-グルコピラノシド (cholesteryl- $\alpha$ -D-glucopylanoside ; CGL) というユニークな糖脂質が含まれている<sup>21)</sup>。CGLは、コレステロール $\alpha$ -グルコース転移酵素 (cholesterol  $\alpha$ -glucosyltransferase ;  $\alpha$ CgT) によって、ドナー基質であるUDP-グルコースからグルコースをコレステロールに $\alpha$ 1,3結合させることにより生合成される<sup>22)23)</sup>。上述の $\alpha$ GlcNAc結合型リコンビナントムチンの存在下でピロリ菌を培養し、その細胞壁中のCGL含有量を解析したところ、 $\alpha$ GlcNAc非結合型リコンビナントムチンと共培養した場合に比べて29.5%に減少していた<sup>20)</sup>。さらに、化学合成した $\alpha$ GlcNAc含有型O-グリカンが、リコンビナント $\alpha$ CgTの*in vitro*での酵素活性を用量依存的に阻害すること示した<sup>24)</sup>。以上の結果から、 $\alpha$ GlcNAcによる $\alpha$ CgTの阻害によりCGLの合成が低下し、ピロリ菌の増殖能や運動能が抑制されていることが明らかになった。

これまでの結果から、 $\alpha$ GlcNAcまたは、 $\alpha$ CgTを特異的に阻害しCGLの合成を抑制する物質が、ピロリ菌の除菌治療に応用できるのではないかと考えられた。 $\alpha$ CgTは、コレステロールを基質としてCGLを

生合成するが、ピロリ菌はコレステロールを生合成できないため外来のコレステロールを基質として用いている。このため、著者らはコレステロールの類似体を $\alpha$ CgTの基質結合部位に結合させ、その活性を阻害することで、ピロリ菌の増殖を抑制することができるのではないかと考えた。そこで、種々のコレステロール類似体によるピロリ菌の増殖抑制効果を解析したところ、コレステロールの3位の水酸基をケトン基に置換した構造を持つコレステノンが著しい増殖抑制効果を示した(図2A, B)。ピロリ菌は桿菌であるが、コレステノン存在下で培養したピロリ菌は、増殖能や毒性を失った球状体を形成していることが観察された。コレステノンによるピロリ菌の増殖抑制効果は、等濃度のコレステロール存在下でも同様の効果を示し、用量依存的であった。また、臨床的に単離されたピロリ菌のクラリスロマイシン耐性株においても、全て同様の効果が得られた。さらに、コレステノン存在下で培養したピロリ菌からは、CGLは検出出来なかった<sup>25)</sup>。以上の結果は、 $\alpha$ CgTのコレステロール結合部位にコレステノンが結合した結果、CGLの合成が阻害され、ピロリ菌の増殖能が抑制されたことを示している。そこで、コレステノンによる除菌効果を*in vivo*で解析するために、ピロリ菌を感染させたマウスにコレステ

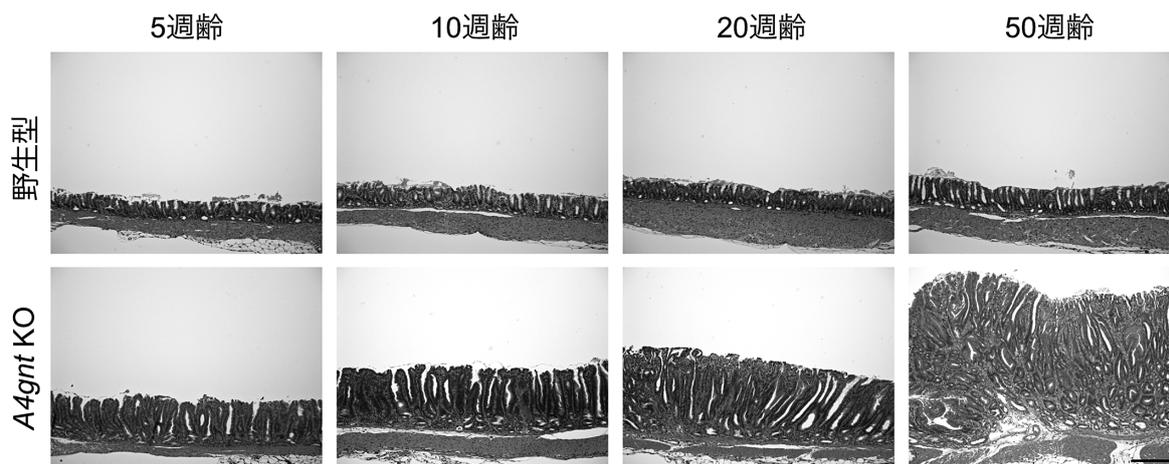


図3 *A4gnt* KO マウスでの胃幽門部粘膜の形態変化

*A4gnt* KO マウスでは、胃幽門粘膜に5週齢で過形成、10週齢で軽度異形成、20週齢で高度異形成が生じ、50週齢で分化型腺癌が自然発生した(図下段)。野生型マウスでは50週齢までで形態変化を認めなかった(図上段)。スケールバーは200  $\mu$ mを示す。

ノンを混餌投与した結果、マウス胃粘膜中のピロリ菌量が顕著に低下していた(図2C)<sup>25)</sup>。以上の結果より、コレステノンによるピロリ菌除菌効果が動物実験レベルで明らかになった。現在ピロリ菌の除菌は、プロトンポンプ阻害剤(PPI)、クラリスロマイシン、アモキシシリンの3剤併用により、感染者の約90%で成功している<sup>26)</sup>。しかし、薬剤耐性株、特にクラリスロマイシン耐性菌の出現により、除菌が困難である場合もある。コレステノンは元々腸内細菌によるコレステロールの中間代謝物質として生体内に存在することから<sup>27)-30)</sup>、安全な物質であると考えられる。また、上述の様に従来の抗菌剤とは異なる作用機序で抗菌作用を示すことから、ピロリ菌に対する新たな治療薬となることが期待される。このような新薬が開発されれば、ピロリ菌感染による胃癌発症率の低下に繋がると考えられる。

#### IV 胃癌における $\alpha$ GlcNAc・MUC6の癌抑制因子としての役割

##### A *A4gnt* KO マウスでの解析から示された $\alpha$ GlcNAcの役割

当研究室では、 $\alpha$ GlcNAcの存在意義を解析するため、*A4gnt* KO マウスを作出し、個体レベルでの解析を行った<sup>10)</sup>。上述の様に *A4gnt* KO マウスでは、 $\alpha$ GlcNAcが完全に消失していた。60週齢までの表現形を解析した結果、非常に興味深いことに、*A4gnt* KO マウスでは、ピロリ菌の感染がない状態においても胃幽門粘膜に5週齢で過形成、10週齢で軽度異形成、

20週齢で高度異形成が生じ、30週齢から分化型腺癌が自然発生し始めた。その後50週齢で、解析した全てのマウスに分化型腺癌が自然発生した(図3)。さらに、60週齢までで、ほとんどのマウスで癌細胞は浸潤することなく胃粘膜内に留まっており、未分化型癌は発生しなかった。この結果は、 $\alpha$ GlcNAcがピロリ菌から胃粘膜を防御しているのみならず、胃炎や胃癌の発症さらには悪性化の抑制因子として働いていることを示している。

$\alpha$ GlcNAcによる腫瘍抑制機能の分子機構を明らかにするために、5、10、50週齢の *A4gnt* KO および野生型マウスの胃粘膜を用いて、cDNA マイクロアレイ解析を行った。その結果、10週齢以上の *A4gnt* KO マウスの胃粘膜では、CCL2, CXCL1, CXCL5などのケモカイン、IL-11, IL-1 $\beta$ などの炎症性サイトカイン、HGF, FGF7などの成長因子の発現が野生型マウスに比べて亢進していた。この結果から、胃癌発症前の軽度異形成の段階で、すでに遺伝子発現パターンの変化、特に炎症性刺激が見られることが明らかになった。実際に、*A4gnt* KO マウスの加齢、すなわち病態の進行に伴い、胃粘膜では単核球や好中球などの炎症性細胞の浸潤が有意に増加していた。また、F4/80陽性マクロファージの浸潤や血管新生が、癌を発症した50週齢の *A4gnt* KO マウスで有意に亢進していた<sup>10)</sup>。cDNA マイクロアレイで同定された遺伝子のうち、CCL2は、腫瘍随伴マクロファージの浸潤や、血管新生を促進することから<sup>31)</sup>この結果と合致し、*A4gnt* KO マウスでの腫瘍発生に中心的な役割を

果たすケモカインであると考えられる。また、IL-11は、gp130シグナルを介し、STAT3の活性化を経て、炎症から胃癌発生へと進行させる働きがあることから<sup>32)33)</sup>、IL-11もまた、*A4gnt* KO マウスでの腫瘍発生の鍵となる因子であると考えられる。以上の結果より、 $\alpha$ GlcNAcの欠損が炎症性発癌を引き起こすことが示された。また、*A4gnt* KO マウスの組織化学的形態変化は、ヒトの分化型腺癌と酷似しており、このマウスの病態変化と癌発症の分子機構をさらに詳細に解析することで、新たな胃癌の治療法確立へと繋げることが出来ると期待される。

## B ヒト胃癌組織における $\alpha$ GlcNAc・MUC6の発現変化と意義

$\alpha$ GlcNAcの欠損がマウスの胃癌発症に関与していることが示されたため、ヒト胃癌での $\alpha$ GlcNAcとムチンコアタンパク質MUC6の発現と癌進展との相関性について解析を行った。当研究室では、外科的切除された胃癌214症例を対象に、 $\alpha$ GlcNAcとMUC6の発現パターンと臨床病理学的因子との相関を免疫組織化学的手法により解析した<sup>34)</sup>。正常胃粘膜では、 $\alpha$ GlcNAcとMUC6は幽門腺に発現しており、発現部位が一致していた<sup>6)10)</sup>。MUC6は、解析した胃癌検体全体の47.6%で発現していた。MUC6陽性症例のうち、分化型癌では61.1%、未分化型癌では45.8%の症例で $\alpha$ GlcNAcが消失しており、分化型癌と未分化型癌の間に有意な差は認められなかった。分化型癌のうち、MUC6陽性例において、 $\alpha$ GlcNAcの消失は、壁深達度・静脈侵襲・病期と有意に相関していたが、未分化型癌では有意差は認められなかった。さらに、MUC6陽性例のうち、分化型癌では、 $\alpha$ GlcNAc陽性例は陰性例に比べ、有意に予後良好であるのに対し、未分化型癌では有意差は認められなかった。さらに、ヒト幽門腺型腺腫、ヒト慢性萎縮性胃炎においても、 $\alpha$ GlcNAc発現量の低下はこれらの悪性度と相関していた<sup>35)36)</sup>。以上の結果から、 $\alpha$ GlcNAcの消失は、胃癌発症のリスク因子や分化型胃癌の予後不良因子であることが明らかになった。この結果は、 $\alpha$ GlcNAcの欠損により分化型胃癌が発症するというマウスの結果と一致している。

MUC6の発現についても臨床病理学的因子との相関を解析したところ、分化型癌では、壁深達度・リンパ管浸潤・静脈侵襲・腫瘍径・リンパ節転移・病期と有意に相関していたが、未分化型癌では有意差は認められなかった<sup>34)</sup>。Zhengら<sup>37)</sup>は、胃癌全体でMUC6陽性

例は陰性例に比べ、予後良好であることを報告している。以上の結果は、MUC6もまた、分化型胃癌の悪性度を規定する因子であることを示している。また、 $\alpha$ GlcNAcは、分化型癌の早期で低下しはじめ、進行癌では完全に消失していたのに対し、MUC6の発現は早期癌では $\alpha$ GlcNAcに比べ有意に高かった<sup>10)</sup>。これらの結果より、 $\alpha$ GlcNAcとMUC6が分化型胃癌の悪性度や予後予測の有用な診断マーカーとなりうると考えられる。現在、培養細胞レベルで $\alpha$ GlcNAcとMUC6の胃癌悪性化における役割と分子機構を解析中であり、これらのことが明らかになれば、胃癌患者での $\alpha$ GlcNAcとMUC6並びに同定された関連分子の発現を調べることにより、胃癌治療法の選択を行うことや新たな治療法・診断法の開発に繋がると考えている。

## V 胃型腺癌における $\alpha$ GlcNAc・MUC6の発現量変化と新規診断マーカーとしての可能性

### A 胃型腺癌とは

ヒトの正常組織では、胃粘液の成分であるMUC5ACは胃表層粘液細胞に、MUC6と $\alpha$ GlcNAcは胃腺粘液細胞・十二指腸ブルネル腺・食道噴門腺・膵胆管の付属腺細胞に発現している。しかしながら、胃を中心とした上記以外の組織で、前癌状態から癌の発症にかけてこれらの胃粘液成分が異常発現している症例がある。このような癌を胃型腺癌といい、子宮・卵巣・胆道・膵臓・肺などで報告されている<sup>38)</sup>。この章では、これらの組織でのMUC5AC・MUC6・ $\alpha$ GlcNAcの発現とその意義についての研究結果について紹介する。

### B 子宮頸癌

胃型形質を示す子宮頸癌 (mucinous carcinoma, gastric type; GAS) は、分葉状頸管腺過形成 (typical lobular endocervical gland hyperplasia; typical LEGH) から異形分葉状頸管腺過形成 (異形 LEGH: atypical LEGH) を経て発症することが知られている<sup>39)40)</sup>。また、粘液性癌のうち、最小偏倚腺癌 (minimal deviations adenocarcinoma; MDA: いわゆる悪性腺腫) は極めて分化度の高いGASの亜型として位置付けられる腫瘍である<sup>41)</sup>。腫瘍細胞の形態から、MDAとLEGHの鑑別は難しい例があるが、MDAを含むGASは従来の放射線療法および化学療法に抵抗性であることがしばしば見受けられるため、MDAの正確な診断は非常に重要である。当研究室では、子宮頸部腫瘍のうち、typical LEGH, atypical LEGH, GAS-MDA, 浸潤癌であるGAS-nonMDAについて、胃型粘液成分であ

る MUC5AC・MUC6・ $\alpha$ GlcNAc の発現を免疫組織化学的手法にて解析した<sup>42)</sup>。その結果、MUC5AC は、全ての症例において陽性であった。これに対して、MUC6は、typical LEGH・atypical LEGH では共に全ての症例で陽性であったが、GAS-MDA では88.9%、GAS-nonMDA では60.0%の症例で陽性となり、癌の進行と共に低下した。また、 $\alpha$ GlcNAc は、typical LEGH の全ての症例で陽性であったが、atypical LEGH では陽性率は40.0%に低下し、GAS-MDA では33.3%、GAS-nonMDA では20.0%の症例で陽性であった。すなわち、 $\alpha$ GlcNAc は、前癌病変の atypical LEGH の段階から、癌の進行と共にその発現量が低下し、それに遅れて MUC6もまた、癌の進行と共にその発現量が低下することが明らかになった。この結果は、 $\alpha$ GlcNAc と MUC6が、MDA と LEGH の鑑別のための診断マーカーとなりうることを示唆している。さらに、当研究室と信州大学医学部産科婦人科学教室との共同研究により、GAS における  $\alpha$ GlcNAc とその生合成酵素  $\alpha$ 4GnT の陽性例は、陰性例に比べ、全生存率および無増悪生存期間が有意に良好であることを示した<sup>43)</sup>。以上の結果は、胃癌で示された  $\alpha$ GlcNAc が腫瘍抑制因子として働いているという結果と一致しており、子宮頸癌においてもこの様な働きがある可能性を示唆している。現在、子宮頸部粘液と  $\alpha$ GlcNAc に対するモノクローナル抗体である HIK1083 を結合させたラテックスビーズとの凝集反応により子宮頸部粘液中の胃型ムチンを検出することで子宮頸部粘膜における胃型腺癌、または胃上皮化生・過形成様病変の存在の有無を推定することが、すでに診断法として用いられている。

### C 卵巣癌

卵巣粘液性腫瘍 (ovarian primary mucinous tumor ; OPMT) は、良性粘液性腫瘍 (benign)、境界型粘液性腫瘍 (borderline)、および悪性粘液性腫瘍 (malignant) の3つのグレードに分類され、良性腺腫—境界型—悪性腫瘍、の順に進行する。粘液癌の正確な再発率は不明であるが、術後3年以内に再発し、化学療法や放射線療法は再発病巣や転移に効果がないとされている。OPMT は、腸型ムチンコアタンパク質 MUC2に加えて、MUC5AC・MUC6・ $\alpha$ GlcNAc を発現している<sup>44)-47)</sup>。当研究室と信州大学医学部画像医学教室との共同研究により、OPMT の進行過程におけるこれらムチンコアタンパク質と  $\alpha$ GlcNAc の発現との関係を免疫組織化学的手法にて解析した<sup>48)</sup>。本稿

では、MUC2の詳細については割愛させて頂くこととする。MUC5AC は、全てのグレードで100%の症例において発現が認められた。これに対して、MUC6は、良性腺腫で79.81%、境界型で61.82%、悪性腫瘍で55.56%の症例で陽性であった。また、 $\alpha$ GlcNAc は、良性腺腫で65.38%、境界型で36.36%、悪性腫瘍で16.67%の症例で陽性であった。すなわち、 $\alpha$ GlcNAc の発現低下は腫瘍の進行のごく初期に生じており、MUC6の発現がそれに遅れて低下した。また、本研究にて検討した18例の粘液癌のすべてに良性および/または境界型病変が含まれていること、良性および境界型病変では、MUC6と比較して  $\alpha$ GlcNAc の発現が顕著に低下していたことから、これらの病変は悪性に進行する可能性があることが示唆された。

### D 胆道癌

胆道癌は、初期の段階では無症状なことが多く、早期発見が難しい。黄疸や肝機能障害を伴う進行した状態で診断されることが多いが、この段階ではすでに比較的大きな腫瘍となっている、あるいは浸潤性・転移性の癌となっていることが多く、致死性が高い。また、現時点では胆道癌の早期診断のための有用なバイオマーカーはなく、その開発が求められている。胆管上皮内腫瘍 (biliary intraepithelial neoplasia ; BilIN) は、胆道癌の前癌病変であり、低異形度の BilIN-1/2 (low-grade BilIN) と高異形度の BilIN-3 (high-grade BilIN) に分類される<sup>49)</sup>。当研究室では、BilIN と浸潤性胆道癌症例における MUC5AC・MUC6・ $\alpha$ GlcNAc の発現について免疫組織化学的手法にて解析した<sup>50)</sup>。その結果、MUC5AC は、全ての段階において約90%の症例で発現が認められた。これに対して、MUC6は、low-grade BilIN で91.1%、high-grade BilIN で79.1%、浸潤性癌で52.2%の症例で発現しており、癌の進行と共に発現が低下した。また、 $\alpha$ GlcNAc については、low-grade BilIN で42.2%、high-grade BilIN で18.6%、浸潤性癌で13.0%の症例で発現しているという結果が得られた。すなわち、 $\alpha$ GlcNAc は、胆道癌の前癌病変の早期の段階で、約半数ですでにその発現が消失しており、癌の進行と共に低下すること、それに遅れて MUC6の発現が低下することが明らかになった。これらの結果は、MUC6に比べて  $\alpha$ GlcNAc の発現量が低下していることが、胆道癌の進行の初期段階を示す現象であることを示唆している。従って、 $\alpha$ GlcNAc と MUC6は胆道における腫瘍性上皮と非腫瘍性上皮を区別するためのバイオマーカーと

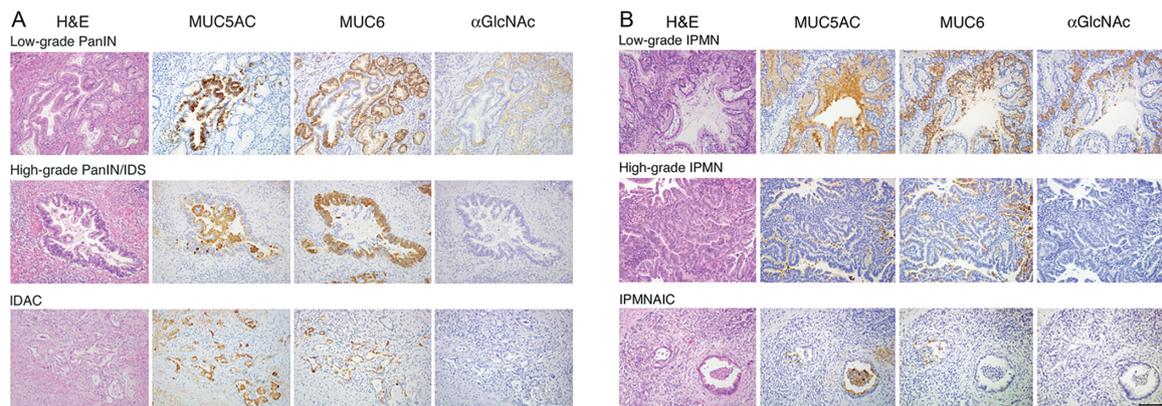


図4 膵癌前癌病変から癌の発症過程における MUC5AC・MUC6・ $\alpha$ GlcNAc の発現解析

A PanIN-IDAC sequence, B IPMN-IPMNAIC sequence における MUC5AC・MUC6・ $\alpha$ GlcNAc の発現量変化。両経路共に MUC5AC は全ての段階で発現している。 $\alpha$ GlcNAc は、前癌病変の段階から発現が低下し、それに遅れて MUC6 の発現が低下する。スケールバーは 100  $\mu$ m を示す。(文献52より一部改変して引用)

なる可能性があると考えている。

### E 膵癌

膵癌は、症状が現れない状態で進行することが多く、進行のスピードも速いため、発見が遅れやすく、致死率の高い癌である。このため、前癌状態での早期診断に有用なバイオマーカーの開発が強く求められている。膵癌の主要な前癌病変としては、膵上皮内腫瘍性病変 (pancreatic intraepithelial neoplasia ; PanIN) と膵管内乳頭粘液性腫瘍 (intraductal papillary mucinous neoplasia ; IPMN) が知られており、これらはそれぞれ浸潤性膵管癌 (invasive ductal adenocarcinoma of the pancreas ; IDAC または IPMN with associated invasive carcinoma ; IPMNAIC) へと進行する<sup>51)</sup>。当研究室ではこれらの前癌病変から浸潤癌への進行過程での MUC5AC・MUC6・ $\alpha$ GlcNAc の発現について免疫組織化学的手法にて解析した。その結果、PanIN および IPMN の 90 % 以上の症例で MUC5AC・MUC6・ $\alpha$ GlcNAc の発現が認められた。浸潤癌への進行過程において、MUC5AC は全ての病期で 90 % 以上陽性であり、変化が見られなかった。これに対し、 $\alpha$ GlcNAc の発現は、癌進行過程の早期から低下が見られ、それに遅れて MUC6 の発現が低下するという結果が得られた。どちらの前癌病変からの癌の発症過程でも同様の傾向を示した (図4)<sup>52)</sup>。また、42 例の浸潤性膵管癌症例において、 $\alpha$ GlcNAc を生合成する  $\alpha$ 4GnT の mRNA 発現量ならびに MUC6 の mRNA 発現量と予後との相関を解析したところ、どちらの遺伝子についても発現量が高い集団は低い集団に比べ、予後が良好であった<sup>53)</sup>。以上の結果は、 $\alpha$ GlcNAc と MUC6 が膵

癌の悪性度を制御している可能性を示唆している。

そこで、当研究室ではさらに、 $\alpha$ GlcNAc と MUC6 の発現量変化が膵癌の進行に及ぼす影響について培養細胞レベルでの解析を行った。2 種のヒト膵癌細胞株 MIA PaCa-2 と PANC-1 に MUC6 単独または  $\alpha$ GlcNAc を生合成する  $\alpha$ 4GnT と MUC6 とを共発現させた細胞を作製し、その形質変化を解析した<sup>53)</sup>。すなわち、 $\alpha$ 4GnT と MUC6 とを共発現させた細胞は  $\alpha$ GlcNAc と MUC6 両者が発現している前癌病変の初期段階、MUC6 を単独で発現させた細胞は  $\alpha$ GlcNAc のみが低下した進行過程の段階、両者を発現させていないコントロール細胞は浸潤癌の段階とみなすことができる。2 種の細胞株に  $\alpha$ 4GnT と MUC6 とを共発現させると、細胞増殖能の低下が見られた。がん細胞特有の性質である足場非依存的細胞増殖能は、 $\alpha$ 4GnT と MUC6 の共発現により MIA PaCa-2 細胞で低下した。さらに、細胞運動能と浸潤能を解析したところ、両細胞共に MUC6 単独発現により低下し、 $\alpha$ 4GnT との共発現によりさらに低下した (図5)。以上の結果は、組織レベルで観察された  $\alpha$ GlcNAc・MUC6 発現量の変化と悪性度との相関と一致していた。

正常胃腺粘液中では、 $\alpha$ GlcNAc 結合型 MUC6 は、torefoil factor 2 (TFF2) と称されるレクチン様の分子を介して粘度の高い複合体を形成し、粘液バリアーとして働いている<sup>54)</sup>。今回用いた 2 種の膵癌細胞株にも TFF2 が発現しており、 $\alpha$ 4GnT と MUC6 とを共発現させると、 $\alpha$ GlcNAc 結合型 MUC6 が TFF2 と複合体を形成して分泌されていたことから、細胞運動能と浸潤能を MUC6 または  $\alpha$ GlcNAc 結合型 MUC6 が抑制す

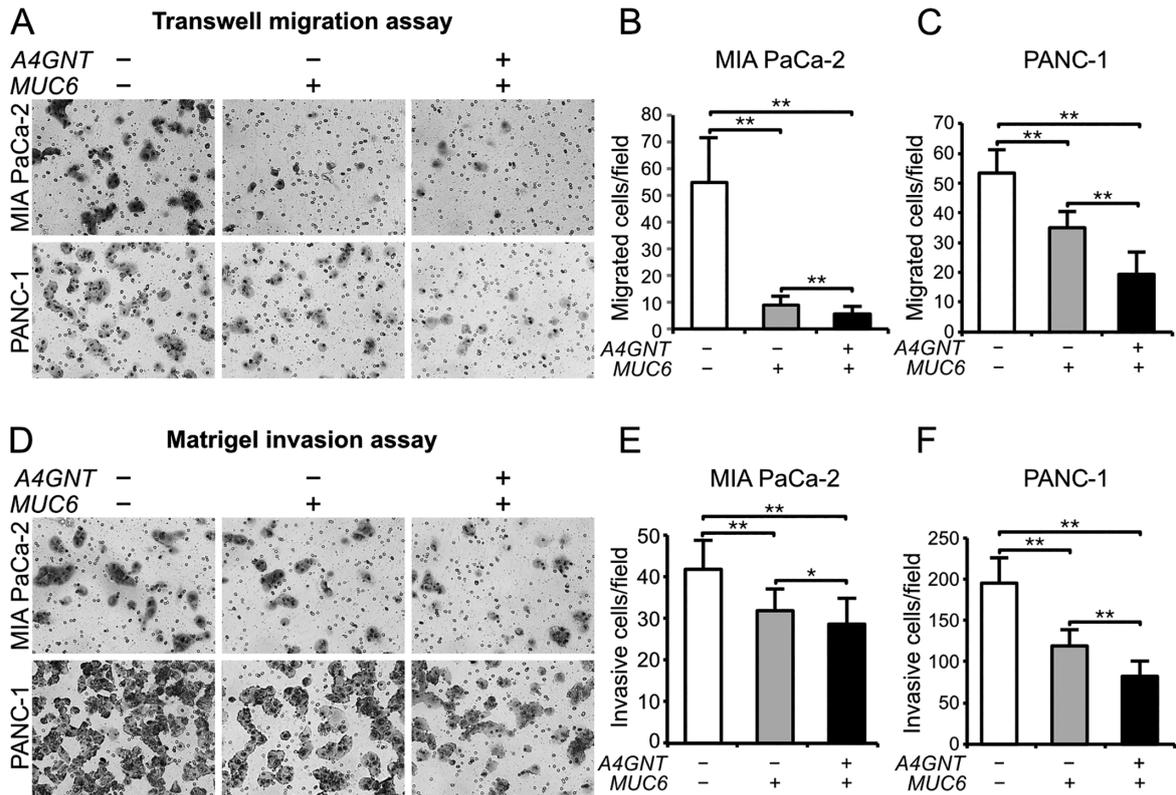


図5 膵癌細胞株における $\alpha 4$ GnT・MUC6発現の細胞運動能・浸潤能への影響の解析

A-C 細胞運動能の解析。図中に示した遺伝子を導入した細胞を $8\mu\text{m}$ 孔のトランスウェルチャンバーの上層に無血清培地に懸濁した状態で播種し、下層に血清入りの培地を加えて培養した際に、下層に移動した細胞の数で細胞運動能を評価した。A 下層に移動した細胞の代表的な写真。B, C MIA PaCa-2 (B), PANC-1 (C) 細胞での下層に移動した細胞の定量結果。各細胞3つのウェルから5視野を選択し、細胞数を計測した。n = 15。エラーバーはSDを示す。\*\* ;  $P < 0.01$ 。D-F マトリゲル浸潤法による細胞浸潤能の解析。 $8\mu\text{m}$ 孔のトランスウェルチャンバーの上層をマトリゲルでコーティングし、細胞運動能の評価と同様に解析を行った。D マトリゲルを分解し下層に移動した細胞の代表的な写真。E, F MIA PaCa-2 (E), PANC-1 (F) 細胞での下層に移動した細胞の定量結果。各細胞3つのウェルから5視野を選択し、細胞数を計測した。n = 15。エラーバーはSDを示す。\* ;  $P < 0.05$ , \*\* ;  $P < 0.01$ 。(文献53より引用)

る分子機構として次の仮説を提唱した<sup>53)</sup>。 $\alpha\text{GlcNAc}$ ・MUC6共に発現していない時には、癌細胞周囲には粘液バリアーが存在しないため、細胞は自由に運動・浸潤することができる。細胞にMUC6を発現させると、細胞外にMUC6が分泌されて粘液バリアーが形成され、細胞の運動能・浸潤能が物理的に阻害される。さらに $\alpha 4$ GnTを共発現させると $\alpha\text{GlcNAc}$ 結合型MUC6が産生されるが、これはTFF2を介して複合体を形成し、より粘度の高い粘液として分泌されるため、細胞の運動能・浸潤能はさらに低下する(図6)。

以上の結果から、 $\alpha\text{GlcNAc}$ とMUC6は、膵癌において腫瘍抑制因子として働くことが、組織レベルと培養細胞レベルで明らかになった。予後相関の結果とも考え合わせ、 $\alpha\text{GlcNAc}$ とMUC6は、膵癌の悪性度を診断するための有用なバイオマーカーとなりうると考

えている。

## F 肺癌

浸潤性粘液産生性肺腺癌(invasive mucinous adenocarcinoma; IMA)は、従来は粘液性細気管支肺上皮癌に分類されていたが、その遺伝的背景などが異なることから、2015年のWHO分類により、通常の腺癌とは別の、浸潤癌の特殊型に分類されることとなった<sup>55)</sup>。腺癌の中でも稀な症例であることや新しく分類された癌種であることもあり、有効な予後予測マーカーなどの情報に乏しいのが現状である。IMAは、その名の通り粘液を産生していることから、当研究室と慶應義塾大学医学部病理学教室との共同研究により、54例の外科的切除されたIMAにおける胃型粘液の産生とその臨床病理学的因子や予後との相関を免疫組織化学的手法により解析した<sup>56)</sup>。その結果、

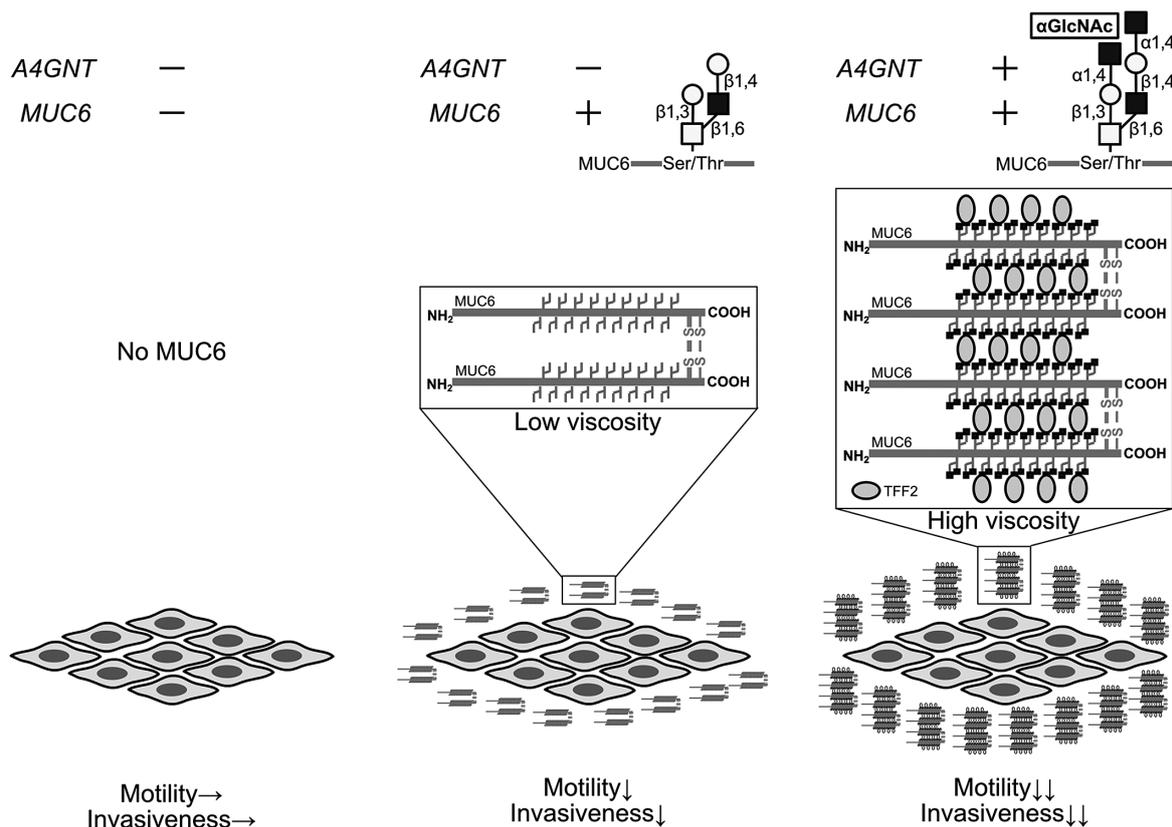


図6  $\alpha$ GlcNAc・MUC6による細胞運動能・浸潤能の抑制効果の分子機構

$\alpha$ GlcNAc・MUC6共に発現していない時には、癌細胞周囲には粘液が存在しないため、細胞は自由に運動・浸潤することができる（図左）。細胞にMUC6を発現させると、細胞外にMUC6が分泌され、細胞の運動能・浸潤能が物理的に阻害される（図中央）。MUC6に加えて $\alpha$ 4GnTを共発現させると $\alpha$ GlcNAc結合型MUC6が産生され、 $\alpha$ GlcNAcとTFF2が結合することで複合体を形成し、より粘度の高い粘液として分泌され、細胞が取り囲まれるため、細胞の運動能・浸潤能はさらに低下する（図右）。糖の記号は図1を参照のこと。（文献53より引用）

93%の症例でMUC5AC陽性、70%の症例でMUC6陽性、35%の症例で $\alpha$ GlcNAc陽性であった。MUC6陽性例と陰性例で、全生存率並びに無病生存率を解析したところ、MUC6陽性例では、無病生存率が有意に良好であった。しかしながら、「MUC6陽性・ $\alpha$ GlcNAc陽性」、「MUC6陽性・ $\alpha$ GlcNAc陰性」、「MUC6陰性・ $\alpha$ GlcNAc陰性」の3群に分け無病生存率を解析したところ、有意な差は認められなかった。Kishikawaら<sup>57)</sup>もまた、IMAにおいて、MUC6陽性例では陰性例に比べ、臨床経過が良好であることを報告した。以上の結果は、MUC6がIMAにおいて癌の悪性化を抑制している可能性を示唆している。

肺癌細胞株A549は、粘液染色法であるAlcian blue (pH 2.5) /periodic acid Schiff (AB-PAS) 染色で胃型粘液を示す赤色に染色され、MUC5AC陽性、MUC6陰性であった。また、IMAの特徴であるHNF4 $\alpha$ 陽性、TTF1陰性を示した。このことから、著者らは

A549細胞をMUC6陰性IMAのモデル細胞として用いることができると考えた。そこで、A549細胞にMUC6を発現させ、癌細胞の悪性形質について解析した<sup>56)</sup>。その結果、MUC6発現細胞では、細胞の増殖能・運動能・浸潤能が低下していた。さらに、細胞の形態について観察したところ、MUC6発現細胞では、細胞運動の際に移動先端に形成される糸状仮足(filopodia)が減少していた。さらに、MUC6発現細胞では、filopodia形成に関与する分子の一つであるFascin1のmRNA発現量の低下が認められた。以上の結果から、MUC6は、IMAにおいても腫瘍抑制因子として働くことが、組織レベルと培養細胞レベルで明らかになった。このことから、MUC6は、IMAの予後予測のための有用なバイオマーカーとなりうると思われる。また、この分子機構として、MUC6が、膝癌のモデルで提唱した様な物理的抑制効果を引き起こすことに加え、遺伝子発現変化等の生物化学的な変

化も引き起こしていることが示された。今後、このモデルでの遺伝子発現変化やリン酸化シグナル変化などの詳細が明らかになれば、IMA の新たな診断法・治療法等の開発にも繋がるものと考えられる。

## G まとめ

本章では、胃型腺癌における、胃型粘液成分 MUC5AC・MUC6・ $\alpha$ GlcNAc の発現パターンについての解析結果を中心に述べた。今回解析を行った全ての癌種において、MUC5AC はその病態や悪性度に依存せず発現していた。これに対して、 $\alpha$ GlcNAc は前癌病変の早期の段階から発現が低下し、それに遅れて MUC6 の発現が低下するという傾向が一致して見られた。さらに、腺癌・肺癌の培養細胞株を用いた解析から、 $\alpha$ GlcNAc と MUC6 は、がん細胞の悪性を抑制する因子として働くことが明らかになった。また、胃癌・子宮頸癌・腺癌では  $\alpha$ GlcNAc (または  $\alpha$ 4GnT) が、胃癌・腺癌・肺癌では MUC6 が予後予測因子となりうることが示された。以上の結果から、 $\alpha$ GlcNAc・MUC6 は、胃型腺癌の新規診断マーカーとして応用できる可能性が高いと考えている。

## VI おわりに

本研究室では、著者らがクローニングした糖転移酵素  $\alpha$ 4GnT を中心に、胃腺粘液特異的糖鎖  $\alpha$ GlcNAc についての様々な側面からの解析を行ってきた。 $\alpha$ GlcNAc は、ピロリ菌の感染から胃を護ると同時に、がん抑制因子として直接働くことで、胃癌の発症を予防していることが明らかとなった。 $\alpha$ GlcNAc による

ピロリ菌の増殖抑制機構の解明は、ピロリ菌に対する抗菌活性物質コレステノンの発見に繋がり、今まさにトランスレーショナル・リサーチが開始されようとしているところである。

また、胃以外の胃型腺癌を発症する組織においても  $\alpha$ GlcNAc はがん抑制因子として働く可能性が組織化学的に示され、腺癌では培養細胞レベルでこのことが明らかになった。 $\alpha$ GlcNAc が結合するムチンコアタンパク質 MUC6 もまたがん抑制因子として働く可能性が組織化学的に示され、腺癌・肺癌において培養細胞レベルで機能的に明らかとなった。これらのことから、 $\alpha$ GlcNAc・MUC6 は、胃型腺癌の新規診断マーカーとして応用できることが期待される。

糖鎖の末端に存在する、たった一つの糖が持つ多種多様な生体防御機能の魅力に囚われつつ、一人でも多くの方が、がんで命を落とすことのないように願い、新たながんの治療法・診断法・予防法を開発を目指して日々精進していきたい。

## 利益相反の開示

本論文に関連し、開示すべき COI 状態にある企業、組織、団体はいずれも有りません。

## 謝 辞

本稿にて紹介した研究の大部分は、信州大学医学部分子病理学教室にて遂行されたものであり、日々共に研究に励んでいる本研究室の皆様へ深謝申し上げます。

## 文 献

- 1) 「がん統計」(厚生労働省人口動態統計), 国立がん研究センターがん情報サービス, 2022 (Accessed May 23, 2022, at [https://ganjoho.jp/reg\\_stat/statistics/stat/summary.html](https://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/stat/summary.html))
- 2) Ota H, Katsuyama T: Alternating laminated array of two types of mucin in the human gastric surface mucous layer. *Histochem J* 24: 86-92, 1992
- 3) 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
- 4) Nordman H, Davies JR, Lindell G, de Bolos G, Real F, Carlstedt I: Gastric MUC5AC and MUC6 are large oligomeric mucins that differ in size, glycosylation and tissue distribution. *Biochem J* 364: 191-200, 2002
- 5) Ishihara K, Kurihara M, Goso Y, et al: 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
- 6) Zhang MX, Nakayama J, Hidaka E, et al: Immunohistochemical demonstration of  $\alpha$ 1,4-N-acetylglucosaminyltransferase that forms GlcNAc $\alpha$ 1,4Gal $\beta$  residues in human gastrointestinal mucosa. *J Histochem Cytochem* 49: 587-596, 2001
- 7) Katsuyama T, Spicer SS: Histochemical differentiation of complex carbohydrates with variants of the concanavalin

- A-horseradish peroxidase method. J Histochem Cytochem 26 : 233-250, 1978
- 8) Nakamura N, Ota T, Katsuyama T, et al : Histochemical reactivity of normal, metaplastic, and neoplastic tissues to  $\alpha$ -linked *N*-acetylglucosamine residue-specific monoclonal antibody HIK1083. J Histochem Cytochem 46 : 793-801, 1998
  - 9) Nakayama J, Yeh JC, Misra AK, Katsuyama T, Fukuda M : Expression cloning of a human  $\alpha$ 1,4-*N*-acetylglucosaminyl-transferase 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 U S A 96 : 8991-8996, 1999
  - 10) Karasawa F, Shiota A, Goso Y, et al : Essential role of gastric gland mucin in preventing gastric cancer in mice. J Clin Invest 122 : 923-934, 2012
  - 11) Warren JR, Marshall B : Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1 : 1273-1275, 1983
  - 12) Cover TL, Blaser MJ : *Helicobacter pylori* and gastroduodenal disease. Annu Rev Med 43 : 135-145, 1992
  - 13) Marshall B : *Helicobacter pylori* : 20 years on. Clin Med (Lond) 2 : 147-152, 2002
  - 14) Uemura N, Okamoto S, Yamamoto S, et al : *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. N Engl J Med 345 : 784-789, 2001
  - 15) Suerbaum S, Michetti P : *Helicobacter pylori* infection. N Engl J Med 347 : 1175-1186, 2002
  - 16) Fukase K, Kato M, Kikuchi S, et al : Effect of eradication of *Helicobacter pylori* on incidence of metachronous gastric carcinoma after endoscopic resection of early gastric cancer : an open-label, randomised controlled trial. The Lancet 372 : 392-397, 2008
  - 17) Hidaka E, Ota H, Hidaka H, et al : *Helicobacter pylori* and two ultrastructurally distinct layers of gastric mucous cell mucins in the surface mucous gel layer. Gut 49 : 474-480, 2001
  - 18) Ilver D, Aronqvist A, Ogren J, et al : *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. Science 279 : 373-377, 1998
  - 19) Mahdavi J, Sondén B, Hurtig M, et al : *Helicobacter pylori* SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. Science 297 : 573-578, 2002
  - 20) Kawakubo M, Ito Y, Okimura Y, et al : Natural antibiotic function of a human gastric mucin against *Helicobacter pylori* infection. Science 305 : 1003-1006, 2004
  - 21) 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
  - 22) Lebrun AH, Wunder C, Hildebrand J, et al : Cloning of a cholesterol- $\alpha$ -glucosyltransferase from *Helicobacter pylori*. J Biol Chem 281 : 27765-27772, 2006
  - 23) Lee H, Kobayashi M, Wang P, Nakayama J, Seeberger PH, Fukuda M : Expression cloning of cholesterol  $\alpha$ -glucosyl-transferase, a unique enzyme that can be inhibited by natural antibiotic gastric mucin *O*-glycans, from *Helicobacter pylori*. Biochem Biophys Res Commun 349 : 1235-1241, 2006
  - 24) Lee H, Wang P, Hoshino H, et al :  $\alpha$ 1,4GlcNAc-capped mucin-type *O*-glycan inhibits cholesterol  $\alpha$ -glucosyltransferase from *Helicobacter pylori* and suppresses *H. pylori* growth. Glycobiology 18 : 549-558, 2008
  - 25) Kobayashi J, Kawakubo M, Fujii C, et al : Cholestenone functions as an antibiotic against *Helicobacter pylori* by inhibiting biosynthesis of the cell wall component CGL. Proc Natl Acad Sci U S A 118, 2021
  - 26) O'Morain NR, Dore MP, O'Connor AJP, Gisbert JP, O'Morain CA : Treatment of *Helicobacter pylori* infection in 2018. Helicobacter 23 Suppl 1 : e12519, 2018
  - 27) Macdonald IA, Bokkenheuser VD, Winter J, McLernon AM, Mosbach EH : Degradation of steroids in the human gut. J Lipid Res 24 : 675-700, 1983
  - 28) Gerard P : Metabolism of cholesterol and bile acids by the gut microbiota. Pathogens 3 : 14-24, 2013
  - 29) Kreit J : Microbial catabolism of sterols : focus on the enzymes that transform the sterol  $3\beta$ -hydroxy-5-en into 3-keto-4-en. FEMS Microbiol Lett 364, 2017

- 30) Giorgi V, Menendez P, Garcia-Carnelli C: Microbial transformation of cholesterol: reactions and practical aspects—an update. *World J Microbiol Biotechnol* 35: 131, 2019
- 31) Mantovani A, Savino B, Locati M, Zammataro L, Allavena P, Bonecchi R: The chemokine system in cancer biology and therapy. *Cytokine Growth Factor Rev* 21: 27–39, 2010
- 32) Ernst M, Najdovska M, Grail D, et al: STAT3 and STAT1 mediate IL-11-dependent and inflammation-associated gastric tumorigenesis in gp130 receptor mutant mice. *J Clin Invest* 118: 1727–1738, 2008
- 33) Howlett M, Giraud AS, Lescesen H, et al: The interleukin-6 family cytokine interleukin-11 regulates homeostatic epithelial cell turnover and promotes gastric tumor development. *Gastroenterology* 136: 967–977, 2009
- 34) Shiratsu K, Higuchi K, Nakayama J: Loss of gastric gland mucin-specific *O*-glycan is associated with progression of differentiated-type adenocarcinoma of the stomach. *Cancer Sci* 105: 126–133, 2014
- 35) Yamada S, Okamura T, Kobayashi S, Tanaka E, Nakayama J: Reduced gland mucin-specific *O*-glycan in gastric atrophy: A possible risk factor for differentiated-type adenocarcinoma of the stomach. *J Gastroenterol Hepatol* 30: 1478–1484, 2015
- 36) Yamanoi K, Sekine S, Higuchi K, Kushima R, Nakayama J: Decreased expression of gastric gland mucin-specific glycan  $\alpha$ 1,4-linked *N*-acetylglucosamine on its scaffold mucin 6 is associated with malignant potential of pyloric gland adenoma of the stomach. *Histopathology* 67: 898–904, 2015
- 37) Zheng H, Takahashi H, Nakajima T, et al: MUC6 down-regulation correlates with gastric carcinoma progression and a poor prognosis: an immunohistochemical study with tissue microarrays. *J Cancer Res Clin Oncol* 132: 817–823, 2006
- 38) 石井恵子: 胃型粘液を発現する病変: 子宮・肺・卵巣・膵胆道系. *THE CHEMICAL TIMES* 214: 17–21, 2009
- 39) Ishii K, Hosaka N, Toki T, et al: A new view of the so-called adenoma malignum of the uterine cervix. *Virchows Arch* 432: 315–322, 1998
- 40) Mikami Y, McCluggage WG: Endocervical glandular lesions exhibiting gastric differentiation: an emerging spectrum of benign, premalignant, and malignant lesions. *Adv Anat Pathol* 20: 227–237, 2013
- 41) 日本産婦人科学会・日本病理学会 (編). 子宮頸癌取扱い規約, 第4版, p 37, 金原出版株式会社, 東京, 2017
- 42) Yamanoi K, Ishii K, Tsukamoto M, Asaka S, Nakayama J: Gastric gland mucin-specific *O*-glycan expression decreases as tumor cells progress from lobular endocervical gland hyperplasia to cervical mucinous carcinoma, gastric type. *Virchows Arch* 473: 305–311, 2018
- 43) Ida K, Yamanoi K, Asaka S, et al:  $\alpha$ GlcNAc and its catalyst  $\alpha$ 4GnT are diagnostic and prognostic markers in uterine cervical tumor, gastric type. *Sci Rep* 9: 13043, 2019
- 44) Ota H, Hayama M, Nakayama J, et al: 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
- 45) Hirabayashi K, Yasuda M, Kajiwara H, et al: Alterations in mucin expression in ovarian mucinous tumors: immunohistochemical analysis of MUC2, MUC5AC, MUC6, and CD10 expression. *Acta Histochem Cytochem* 41: 15–21, 2008
- 46) Mikami Y, Kiyokawa T, Sasajima Y, et al: Reappraisal of synchronous and multifocal mucinous lesions of the female genital tract: a close association with gastric metaplasia. *Histopathology* 54: 184–191, 2009
- 47) Wang J, El-Bahrawy M: Expression profile of mucins (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) in ovarian mucinous tumours: changes in expression from benign to malignant tumours. *Histopathology* 66: 529–535, 2015
- 48) Ohya A, Matoba H, Fujinaga Y, Nakayama J: Decreased gastric gland mucin-specific *O*-glycans are involved in the progression of ovarian primary mucinous tumours. *Acta Histochem Cytochem* 54: 115–122, 2021
- 49) 日本肝胆膵外科学会 (編). 胆道癌取扱い規約, 第7版, pp 56–64, 金原出版株式会社, 東京, 2021
- 50) Okumura M, Yamanoi K, Uehara T, Nakayama J: Decreased  $\alpha$ -1,4-linked *N*-acetylglucosamine glycosylation in biliary tract cancer progression from biliary intraepithelial neoplasia to invasive adenocarcinoma. *Cancer Sci* 111:

4629-4635, 2020

- 51) Basturk O, Hong SM, Wood LD, et al: A Revised Classification System and Recommendations From the Baltimore Consensus Meeting for Neoplastic Precursor Lesions in the Pancreas. *Am J Surg Pathol* 39: 1730-1741, 2015
- 52) Ohya A, Yamanoi K, Shimojo H, Fujii C, Nakayama J: Gastric gland mucin-specific O-glycan expression decreases with tumor progression from precursor lesions to pancreatic cancer. *Cancer Sci* 108: 1897-1902, 2017
- 53) Yuki A, Fujii C, Yamanoi K, et al: Glycosylation of MUC6 by  $\alpha$ 1,4-linked N-acetylglucosamine enhances suppression of pancreatic cancer malignancy. *Cancer Sci* 113: 576-586, 2022
- 54) Hoffmann W: TFF2, a MUC6-binding lectin stabilizing the gastric mucus barrier and more (Review). *Int J Oncol* 47: 806-816, 2015
- 55) 日本肺癌学会 (編). 肺癌取扱い規約, 第8版, pp 90-91, 金原出版株式会社, 東京, 2021
- 56) Yamanoi K, Fujii C, Yuzuriha H, et al: MUC6 expression is a preferable prognostic marker for invasive mucinous adenocarcinoma of the lung. *Histochem Cell Biol* 157: 671-684, 2022
- 57) Kishikawa S, Hayashi T, Saito T, et al: Diffuse expression of MUC6 defines a distinct clinicopathological subset of pulmonary invasive mucinous adenocarcinoma. *Mod Pathol* 34: 786-797, 2021

(R 4. 5. 25 受稿)