

進行大腸癌における脂肪酸結合蛋白の 免疫組織学的検討

—臨床病理学的所見, DNA ploidy pattern との比較—

新潟大学医学部第一外科学教室 (主任: 武藤輝一教授)

太田一寿

Immunohistological Study of Fatty Acid Binding
Protein in Advanced Colorectal Cancer
—Comparison of Intensity of FABP Immunostaining with
Clinicopathological Factors and DNA Ploidy Pattern—

Kazutoshi OHTA

*The First Department of Surgery, Niigata University
School of Medicine, Niigata, Japan
(Director: Prof. Terukazu MUTO)*

In a study undertaken to elucidate the role of the fatty acid binding protein (FABP) in the colon and rectum, the intensity of FABP immunostaining (PAP method) with anti-FABP antibodies was studied in 82 patients with advanced colorectal cancer. In 80 of them, the findings were compared with the flow cytometric DNA ploidy pattern, which is useful for evaluating the biological malignant potential in colorectal cancer. The intensity of FABP immunostaining varied significantly with the histologic type, node metastasis, and histologic stage of colorectal cancer, and showed a significant difference with the flow cytometric DNA ploidy pattern, while it did not significantly differ with sex, average age, the site of involvement, gross type, depth of invasion or vessel invasion. The cumulative postoperative survival rate was significantly higher in the patients with high intensity FABP immunostaining than in those with low intensive staining both in the entire series and in a series of 60 patients with curative resection ($p < 0.001$).

These results suggest that the intensity of FABP immunostaining might indicate a

Reprint requests to: Kazutoshi OHTA,
First Department of Surgery, Niigata
University School of Medicine,
Asahimachi-dori 1, Niigata City, 951,
JAPAN.

別刷請求先: 〒951 新潟市旭町通1番町
新潟大学医学部第一外科学教室

太田一寿

prognostic role in patients with advanced colorectal cancer.

Key words: advanced colorectal cancer, liver fatty acid binding protein, intensity of FABP immunostaining, DNA ploidy pattern, prognosis
進行大腸癌, 肝型脂肪酸結合蛋白, FABP 染色性, DNA ploidy pattern, 予後

内 容 要 旨

ヒト大腸における肝型脂肪酸結合蛋白 (L-FABP) の存在意義を明らかにする目的の一つとして, 大腸癌切除標本82例を用いて抗 L-FABP 抗体による免疫染色を行い, 臨床病理学的所見と比較検討した。また, 悪性度の指標の一つとして DNA ploidy pattern も検索し, L-FABP 染色性との関連も検討した。組織学的分類では, 高・中分化腺癌で FABP 高染色群が, 低分化型癌で低染色群が多く, リンパ節転移では転移のない症例に高染色群が多く, 組織学的進行程度分類では stage の進んでいない症例に高染色群が有意に多かった。DNA ploidy pattern のなかの diploid 群で FABP 高染色群が有意に多かった。5年生存率は, FABP 高染色群で71.0% 低染色群で28.5%, diploid 群で73.5% aneuploid 群で43.1%と有意差がみられ, 高染色群, diploid 群で良好であった。以上の結果より, FABP は大腸癌の予後の指標となりうる可能性が示唆された。

I. 結 言

脂肪の吸収や代謝に密接な関連を持つと考えられている肝型脂肪酸結合蛋白 (liver fatty acid binding protein, 以下 L-FABP) は, 肝細胞や腸上皮細胞に存在することが知られている¹⁾²⁾³⁾。酒井らは, ラット肝ホモジネート上清より精製した L-FABP をウサギに免疫して作製した抗ラット L-FABP 抗体が, ヒト腸組織とも免疫学的交叉性を持つことをみだし, この性質を利用して, ヒト腸管切除標本を用い免疫組織化学的に正常腸管粘膜における L-FABP の分布と局在を検索し⁴⁾, 陽性領域でその定量を行った。その結果, ヒト大腸では下部小腸とはほぼ同程度 L-FABP 量が存在することが初めて明らかにされた⁵⁾。また, FABP はアゾ発癌色素とも親和結合性を有していることが報告されており⁶⁾⁷⁾, 大腸における L-FABP の存在意義を調べる目的の一つとして, 大腸癌の臨床病理学的所見と L-FABP 染色性との関連を比較検討した。さらに, 大腸癌の悪性度の指標の一つとされる DNA ploidy pattern^{8)~12)}を同じ標本を用い flow cytometry にて検索し, L-FABP 染

色性との関連を比較検討した。

II. 対象および方法

1. 対象症例

当教室で切除された大腸癌82例を対象とした。組織型の数の違いで, 高分化腺癌, 中分化腺癌は1984年から1988年までの間に切除された症例のそれぞれ31例, 33例, 低分化腺癌, 印環細胞癌, 粘液癌は1975年から1985年までの間に切除された症例のそれぞれ7例, 4例, 7例である。男女比1.3:1で年齢は26~84歳, 平均60.9歳であった。

2. 検索方法

切除標本のホルマリン固定パラフィン包埋ブロックより, 厚さ4 μ m と50 μ m の切片をそれぞれ5枚ずつ作製し, 4 μ m の切片は FABP 染色に, 50 μ m の切片は DNA ploidy pattern の計測に用いた。

1) FABP 免疫染色

作製した4 μ m の切片5枚のうち1枚は Hematoxylin-Eosin 染色を, 4枚は Sternberger らの Peroxidase-antiperoxidase (以下 PAP) 法¹³⁾に準じた酵素抗体法による免疫染色を施行した。一次抗体はウサギ抗ラット L-FABP 抗体200倍希釈液を用いた。二次抗体にはブタ抗ウサギ Ig-G 抗体 (DAKO 社) を使用した。一次抗体を4 $^{\circ}$ Cにて約8時間反応させた後, 二次抗体を室温で30分, PAP (DAKO 社) を室温で30分反応させ diaminobenzidine (SIGMA 社) で発色させた。内因性 peroxidase 反応の除去は0.3%過酸化水素加メタノールで, 比核染色は1% methylgreen で行った。

染色程度の判定方法は抗 L-FABP 抗体で染色された癌細胞が癌細胞全体に占める割合から, 次の4つの段階に分類した。染色された癌細胞が全くない症例を(-), 染色された癌細胞が10%以下の症例を(±), 染色された癌細胞が80~100%の症例を(+++)とし, (±)と(+++)との間の症例を(+)とした。(-)と(±)を低染色群, (+)と(+++)を高染色 (Fig. 1) とし, 臨床病理学的所見と比較検討した。

2) DNA ploidy pattern

作製した50 μ m の切片を, Schutte の方法¹⁴⁾に準

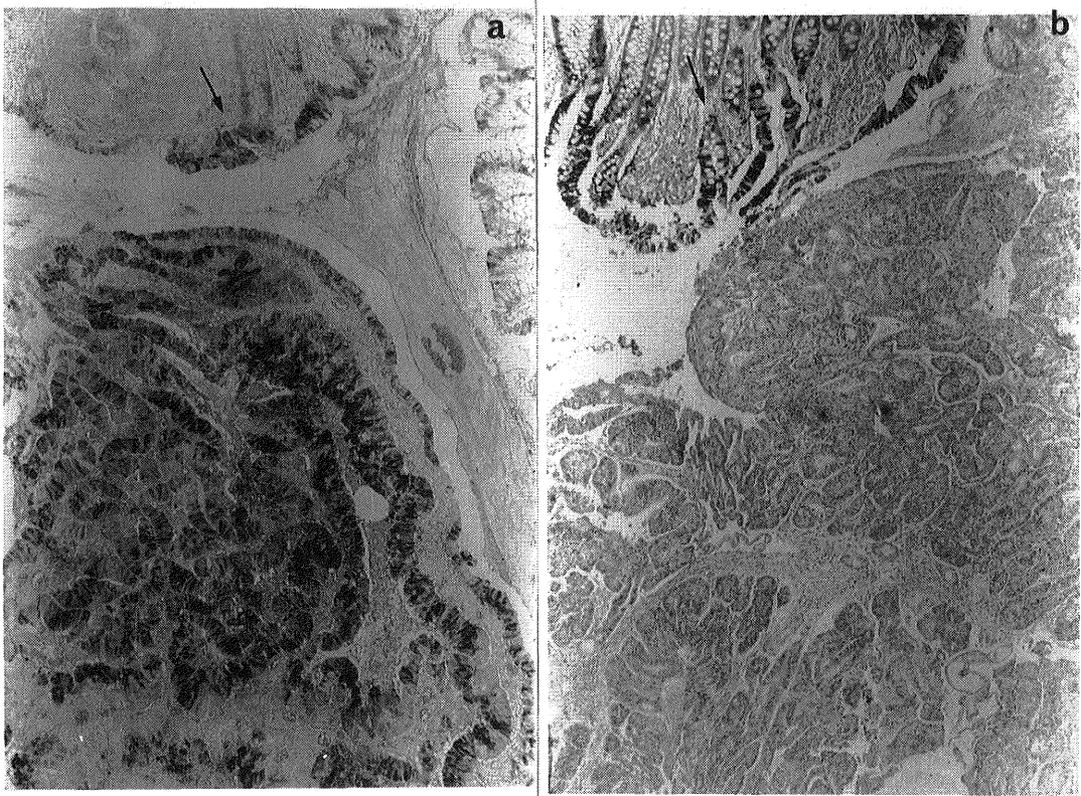


Fig. 1 Intensity of FABP immunostaining in colorectal cancer
 a) high intensity case, b) low intensity case
 Normal mucosa is stained high intensively. (arrow) ($\times 16.0$)

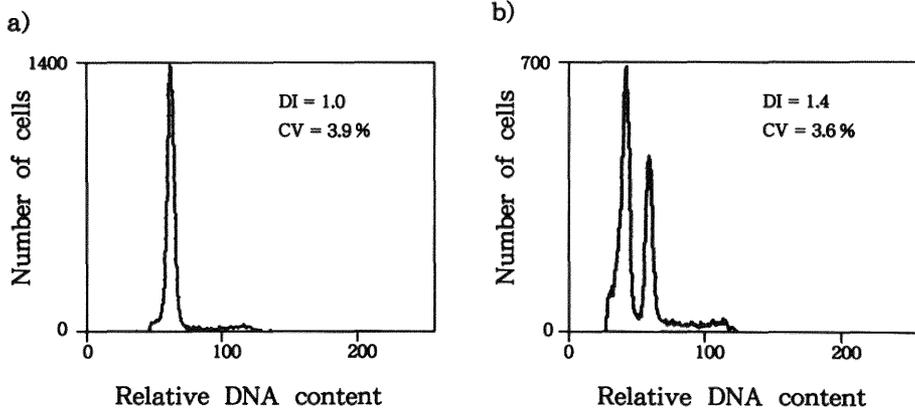


Fig. 2 DNA histogram in colorectal cancer
 a) diploid, b) aneuploid
 DI: DNA index, CV: coefficient of variation

じて細胞の裸核化を行った。すなわち、xylene による脱パラフィン、ethanol 蒸留水による再水和後、37°C water bus 内で約8時間 trypsinization を行い、その後、Vindeløv の方法¹⁵⁾で propidium iodide 染色を行った。測定は、FACScan flow cytometer を用い、10,000 個の検索より DNA histogram を作成した。標本内に含まれる正常リンパ球を内部標準とし、腫瘍細胞との G₀/G₁ 期の peak channel number の比で DNA index 値を定めた。DNA index 1.0 を diploid, 1.0 以外を aneuploid と定義し検討した (Fig. 2)。

3. 統計学的処理法

術後の累積生存率は、Kaplan-Meier 法で解析し、その検定には generalized Wilcoxon 法を用いた。また、2群間の差の統計学的検定は χ^2 あるいは t 検定で行った。おのおの危険率 5%未満を有意と判定した。

III. 結 果

1. FABP 染色性と臨床病理学的所見

FABP 免疫染色では、82例の大腸癌のうち55例 67.1%が高染色群、27例 32.9%が低染色群であった。これらの FABP の染色性と大腸癌取扱い規約¹⁶⁾による臨床病理組織学的諸因子との関連性について検討を行った結果を示す (Table 1)。

1) 年齢 (歳, mean±SD) と性

高染色群の平均年齢は 61.8±13.4 歳、低染色群の平均年齢は 60.0±12.9 歳で差はみられなかった。男性47例のうち高染色群は31例 66.0%低染色群は16例 34.0%、女性35例のうち高染色群は24例 68.6%低染色群は11例 31.4%で、性別による差はみられなかった。

2) 占居部位

結腸29例のうち高染色群は22例 75.9%低染色群は7例 24.1%、直腸53例のうち高染色群は33例 62.3%低染色群は20例 37.7%で、占居部位による差はみられなかった。

3) 肉眼的分類

1型4例のうち高染色群は1例 25.0%低染色群は3例 75.0%、2型64例のうち高染色群は47例 73.4%低染色群は17例 26.6%、3型13例のうち高染色群は7例 53.8%低染色群は6例 46.2%、4型は低染色群が1例であり、肉眼的分類による差はみられなかった。

4) 最大径 (cm, mean±SD)

高染色群の平均最大径は 5.76±2.09 cm、低染色群の平均最大径は 5.50±2.06 cm で差はみられなかった。

5) 組織学的分類

高分化腺癌31例のうち高染色群は24例 77.4%低染色群は7例 22.6%、中分化腺癌33例のうち高染色群は24例 72.7%低染色群は9例 27.3%、低分化型癌11例 (低分化腺癌7例+印環細胞癌4例)のうち高染色群は4例 36.4%低染色群は7例 63.6%、粘液癌7例のうち高染色群は3例 42.9%低染色群は4例 57.1%であった。高・中分化腺癌は低分化型癌に比べて高染色群が有意に多かった ($p<0.05$)。

6) 壁深達度

pm 8例のうち高染色群は4例 50.0%低染色群は4例 50.0%、ss・a₁ 43例のうち高染色群は32例 74.4%低染色群は11例 25.6%、s・a₂ 27例のうち高染色群は17例 63.0%低染色群は10例 37.0%、s₁・a₁ 4例のうち高染色群は2例 50.0%低染色群は2例 50.0%であった。壁深達度による差はみられなかった。

7) 脈管侵襲

v₀ 48例のうち高染色群は37例 77.1%低染色群は11例 22.9%、v₁ 26例のうち高染色群は14例 53.8%低染色群は12例 46.2%、v_{2,3} 8例のうち高染色群は4例 50.0%低染色群は4例 50.0%であり、ly₀ 35例のうち高染色群は24例 68.6%低染色群は11例 31.4%、ly₁ 28例のうち高染色群は22例 78.6%低染色群は6例 21.4%、ly_{2,3} 19例のうち高染色群は9例 47.4%低染色群は10例 52.6%であった。静脈侵襲およびリンパ管侵襲による差はみられなかった。

8) リンパ節転移

n₀ 29例のうち高染色群は25例 86.2%低染色群は4例 13.8%、n₁ 27例のうち高染色群は18例 66.7%低染色群は9例 33.3%、n_{2,3,4} 26例のうち高染色群は12例 46.2%低染色群は14例 53.8%であった。リンパ節転移のない症例はある症例に比べて有意に高染色群が多かった ($p<0.01$)。

9) 組織学的進行程度分類

stage I・II 27例のうち高染色群は24例 88.9%低染色群は3例 11.1%、stage III 20例のうち高染色群は14例 70.0%低染色群は6例 30.0%、stage IV 15例のうち高染色群は7例 46.7%低染色群は8例 53.3%、stage V 20例のうち高染色群は10例 50.0%低染色群は10例 50.0%であった。stage の進んだ症例は有意に高染色群が少なかった ($p<0.01$)。

2. FABP 染色性と予後

FABP 染色の程度の違いで5年生存率を比較すると、高染色群は71.0%、低染色群は28.5%と高染色群で有意に5年生存率が良好であった ($p<0.001$) (Fig. 3)。

Table 1

Clinicopathological factors		Hight intensity group	Low intensity group	Statistical significance
Age (years)		61.8±13.4*	60.0±12.9*	NS
Sex	male	31	16	NS
	female	24	11	
Site of involvement	colon	22	7	NS
	rectum	33	20	
Maximum diameter (cm)		5.76±2.09*	5.50±2.06*	NS
Gross type	1	1	3	NS
	2	47	17	
	3	7	6	
	4	0	1	
Depth of invasion	pm	4	4	NS
	ss, a ₁	32	11	
	s, a ₂	17	10	
	s ₁ , a ₁	2	2	
Histologic type	well	24	7	x ² =8.480 p<0.05
	mod	24	9	
	por • sig	4	7	
	muci	3	4	
Venous invasion	v ₀	37	11	NS
	v ₁	14	12	
	v ₂ • v ₃	4	4	
Lymphatic invasion	ly ₀	24	11	NS
	ly ₁	22	6	
	ly ₂ • ly ₃	9	10	
Node metastasis	n ₀	25	4	x ² =10.628 p<0.05
	n ₁	18	9	
	n ₂ • n ₃ • n ₄	12	14	
Histoilogic stage	I • II	24	3	x ² =11.364 p<0.01
	III	14	6	
	IV	7	8	
	V	10	10	

*: mean±SD NS: not significant

82症例のうち治癒切除となった症例は60例であり、このうち高染色群は45例、低染色群は15例であった。この治癒切除症例に限って5年生存率を比較すると、高染色群は86.3%低染色群は31.1%となり、高染色群で同様に有意に良好な結果が得られた (p<0.001) (Fig. 4)。

一方、組織学的分類によって5年生存率を比較すると、高分化腺癌のうち高染色群24例の5年生存率は73.8%、低染色群7例の5年生存率は38.1%で、高染色群で高

い5年生存率であったが、統計学的有意な差はみられなかった。中分化腺癌では高染色群24例の5年生存率は60.6%、低染色群9例の5年生存率は22.2%で、有意の差がみられた (p<0.05)。低分化型癌では高染色群4例の5年生存率は100.0%、低染色群7例の5年生存率は22.2%で、有意の差がみられた (p<0.001)。粘液癌では、染色程度の違いによる5年生存率の差はみられなかった (Fig. 5)。

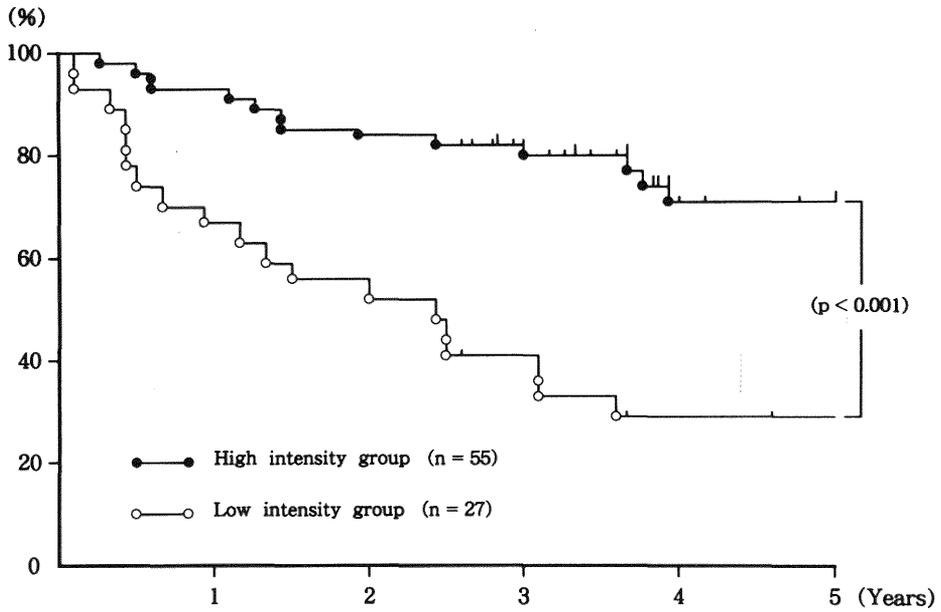


Fig. 3 Comparison of cumulative postoperative survival rate between high intensity group and low intensity group in 82 patients

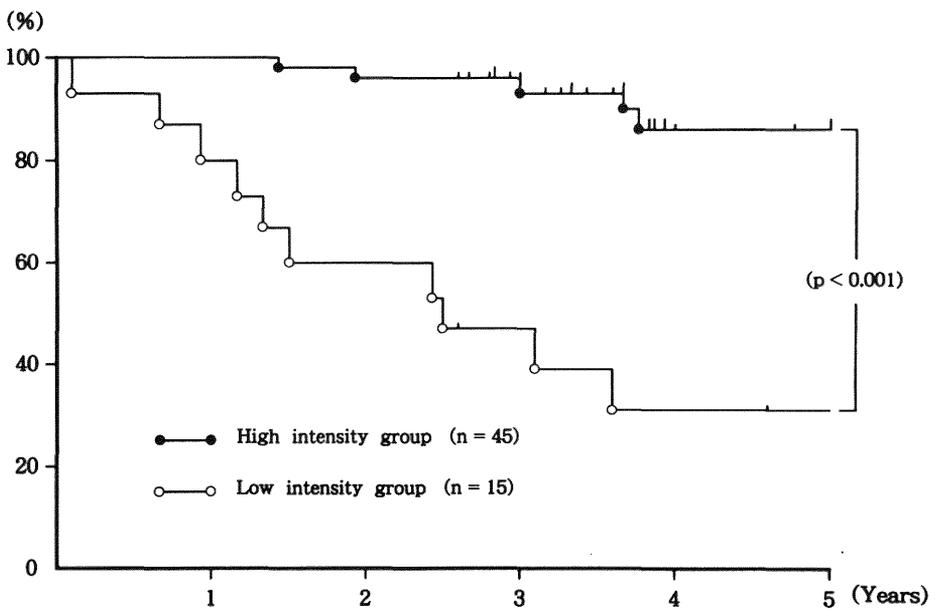


Fig. 4 Comparison of cumulative postoperative survival rate between high intensity group and low intensity group in 60 patients with curative resection

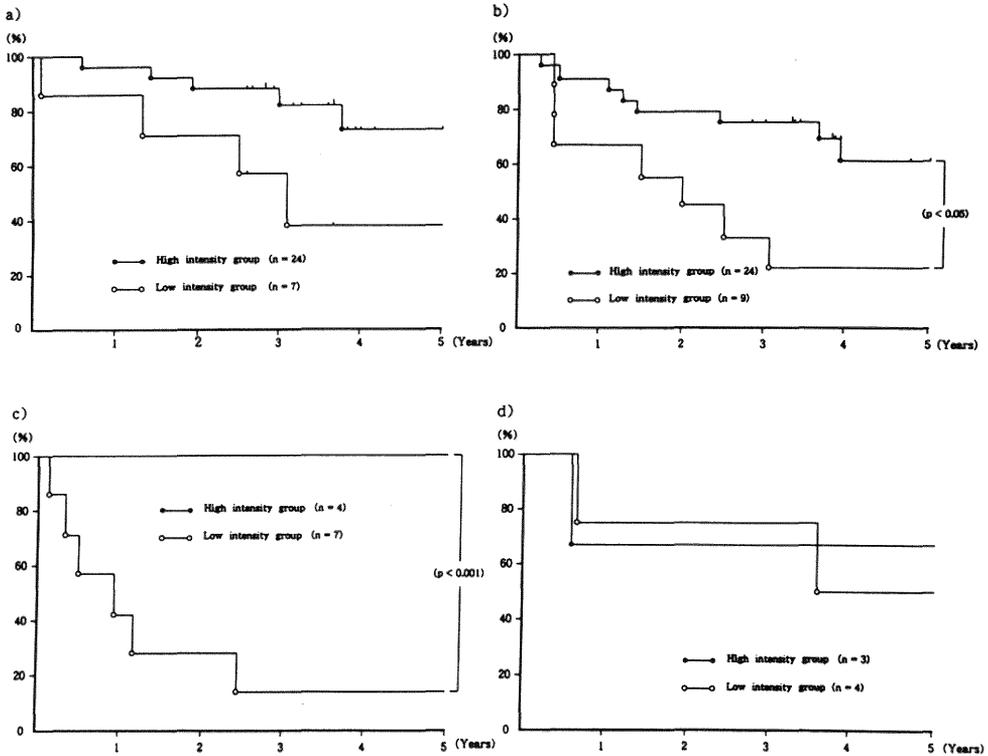


Fig. 5 Comparison of cumulative postoperative survival rate between high intensity group and low intensity group subdivided according to histologic type in 82 patients

- a) well differentiated adenocarcinoma
- b) moderately differentiated adenocarcinoma
- c) poorly differentiated adenocarcinoma and signet-ring cell carcinoma
- d) mucinous carcinoma

Table 2

DNA ploidy pattern	High intensity group (%)	Low intensity group (%)
Diploid	31 (86.1)	5 (13.9)
Aneuploid	22 (50.0)	22 (50.0)

$\chi^2=11.548 \quad p<0.01$

また、組織学的進行程度分類においては、stage I・IIのうち高染色体群24例の5年生存率は82.9%、低染色体群3例の5年生存率は33.0%であったが、有意の差はみられなかった。

stage IIIでは高染色体群14例の5年生存率92.3%、低染色体群6例の5年生存率は25.0%で、有意の差がみら

れた ($p<0.01$)。stage IVでは高染色体群7例の5年生存率は85.7%、低染色体群8例の5年生存率は37.5%で、有意の差がみられた ($p<0.05$)。stage Vになると高染色体群10例の5年生存率はなく、低染色体群10例の5年生存率は20.0%で、有意差はみられなかった (Fig. 6)。

3. DNA ploidy pattern と FABP 染色性

82症例のうち80例において DNA ploidy pattern が検索でき、36例45.0%が diploid、44例55.0%が aneuploid であった。diploid 群36例のうち FABP 高染色体群は31例86.1%低染色体群は5例13.9%、aneuploid 群44例のうち高染色体群は22例50.0%低染色体群は22例50.0%であった。diploid 群は aneuploid 群に比べて有意に高染色体群が多く、低染色体群が少なかった ($p<0.01$)

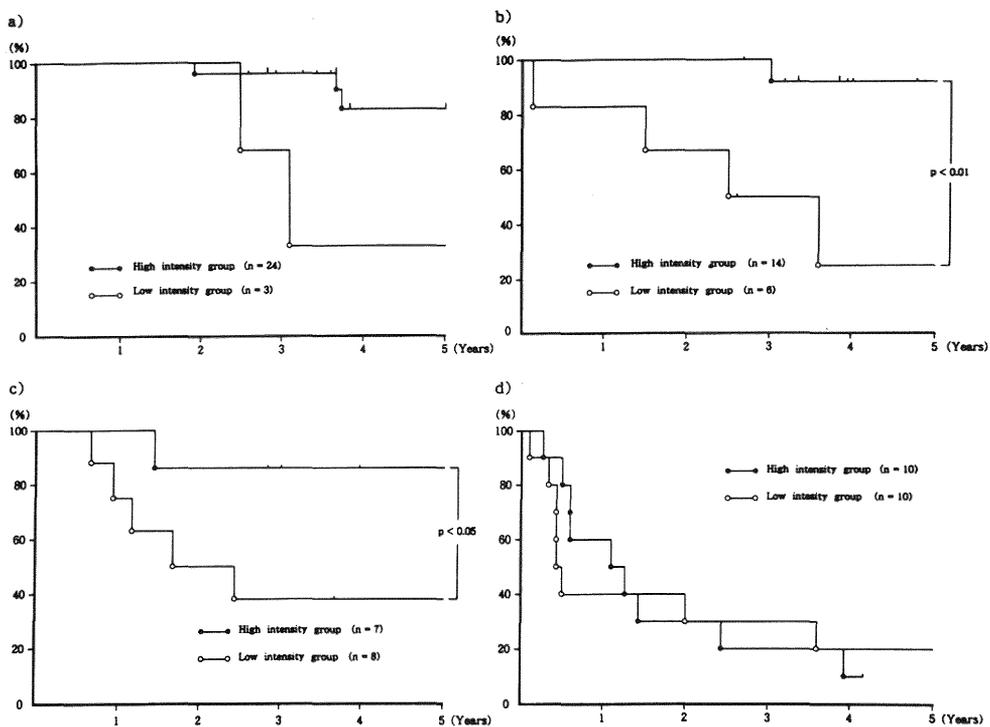


Fig. 6 Comparison of cumulative postoperative survival rate between high intensity group and low intensity group subdivided according to histologic stage in 82 patients
 a) stage I + II, b) stage III, c) stage IV, d) stage V

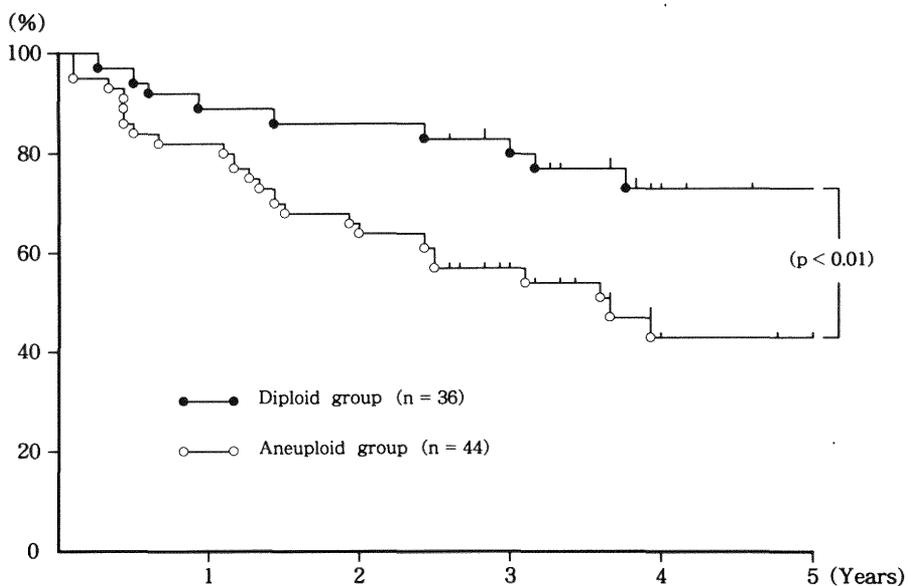


Fig. 7 Comparison of cumulative postoperative survival rate between DNA diploid group and aneuploid group in 80 patients

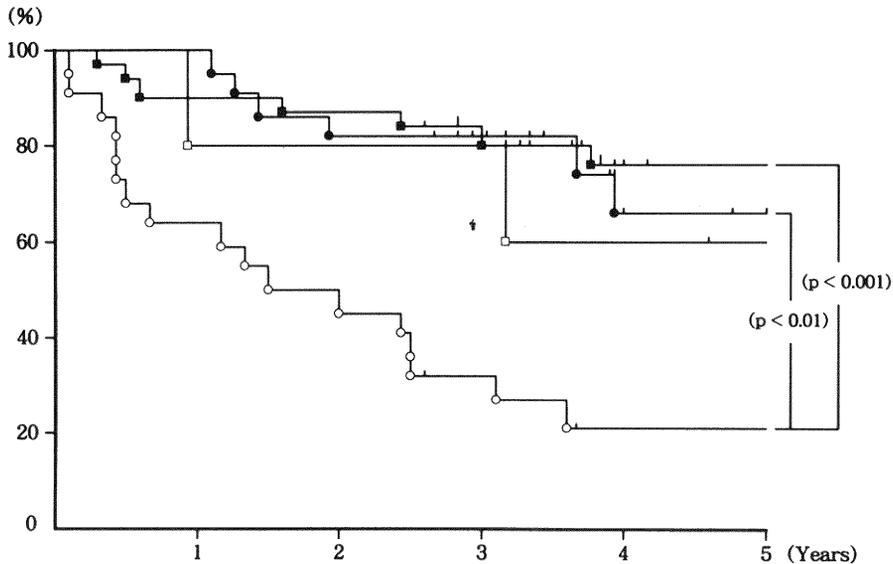


Fig. 8 Comparison of cumulative postoperative survival rate among diploid and high intensity group, aneuploid and high intensity group, diploid and low intensity group, and aneuploid and low intensity group

- Diploid and high intensity group (n=31)
- Aneuploid and high intensity group (n=22)
- Diploid and low intensity group (n=5)
- Aneuploid and low intensity group (n=22)

(Table 2).

DNA ploidy pattern の違いで5年生存率を比較すると、diploid 群36例の5年生存率は73.5%，aneuploid 群44例の5年生存率は43.1%で、有意に diploid 群で良好であった ($p < 0.01$) (Fig. 7).

また、DNA ploidy pattern と FABP 染色程度の組合せにより5年生存率を比べてみると、diploid-高染色群は31例、diploid-低染色群は5例、aneuploid-高染色群は22例、aneuploid-低染色群は22例で、それぞれの5年生存率は順に、75.8%、60.0%、66.1%、26.5%であった。diploid-高染色群、aneuploid-高染色群とaneuploid-低染色群の間で有意差がみられ(順に $p < 0.001$, $p < 0.01$)、diploid-高染色群で最も良好で、aneuploid 群の中でも高染色群の方が有意に5年生存率がよかった。

IV. 考 察

FABP は、1972年 Ockner ら¹⁷⁾ によってラットの肝臓および小腸より抽出されたことが報告されて以来、その研究が盛んとなり、特に脂肪の吸収に大きく関与す

る¹⁾²⁾³⁾ ことがわかってきた。また、ヒト消化管における L-FABP の局在も研究され⁴⁾⁵⁾¹⁸⁾、ヒトでは食道、胃は存在せず、十二指腸、小腸、大腸に存在することがつきとめられた。酒井ら⁵⁾¹⁹⁾ は、同部での定量を行い、大腸にも下部小腸と同程度の L-FABP が存在することを報告した。

元来ヒトでは、脂肪酸の吸収は主に上部小腸で行われる²⁰⁾²¹⁾ とされており、その吸収に大きく関与している L-FABP が大腸にも存在することに興味もたれる。酒井ら¹⁹⁾ は、犬を用いた実験で大腸からも脂肪酸が吸収されることを示唆した。しかし、大腸からの脂肪酸の吸収は一般的に非生理的と考えられること、および、FABP はアゾ発癌物質と強い結合親和性がある⁶⁾⁷⁾ と報告されていることから、大腸における L-FABP の役割は脂肪の吸収以外にもあると考え、L-FABP と大腸癌との関連を、当科で切除された標本に抗 L-FABP 抗体を用いた免疫染色を施行して検討した。

この抗体は、ラット肝ホモジネート上清より精製した L-FABP を抗原として家兎に免疫して得られ、Ouchter-

lony 法²²⁾により、抗原であるラット L-FABP と単一沈降線を形成するのみならず、ラット腸管粘膜、ヒト肝およびヒト腸管粘膜のホモジネート上清とも単一沈降線を形成する。またこの抗体を抗原として用いたラット L-FABP で予め吸収しておく、沈降線はみとめられない。すなわちこの抗体はラット L-FABP に特異性を有するとともに、ヒトの肝および腸管に存在するヒト L-FABP と免疫交叉性を持つものである。

その結果、組織学的分類で、分化度の高い高・中分化腺癌では、分化度の低い低分化腺癌、印環細胞癌に比べて高染色群が多く、逆に低分化腺癌や印環細胞癌では低染色群が多かった。このことは、Suzuki ら²³⁾²⁴⁾が、著者と同じ抗 L-FABP 抗体を用い同様に PAP 法により肝芽腫、肝細胞癌を免疫染色し、ともに分化度の高い方に L-FABP 陽性細胞の出現頻度の高いことを報告しているのと一致した。また、潰瘍性大腸炎や Crohn 病の再生上皮でも、吸収上皮細胞への分化する前の幼若細胞に既に FABP が出現し、炎症の改善にもなって細胞が成熟するにつれその量が増えてくることも報告⁵⁾されている。このことから、FABP は分化の程度が進むにしたがって量も増加するものと考えられ、分化度の高い癌に高染色群が多かったものと思われた。さらに、組織学的分類別の 5 年生存率で、粘液癌を除き、いずれも高染色群の方が高い傾向を示し (Fig. 5)、高染色群の方が予後が良いことが示された。このことから、FABP の機能的な面を考えると、同じ組織型でも高染色群はより分化度が高いと推定され、そのため予後が良好であったと考えられた。

リンパ節転移において転移のない症例に、組織学的進行程度分類においても stage の進んでいない症例に、高染色群が有意に多かった。5 年生存率は全症例でも、治癒切除症例でも、高染色群の方が有意に良好な結果が得られた (Fig. 3, 4)。組織学的進行程度別の 5 年生存率も stage V 症例を除きいずれの stage でも高染色群で高い傾向を示した (Fig. 6)。stage V となった要因は、肝転移、腹膜播種、n₄(+)などで、このような因子陽性症例では FABP の染色程度に関係なく、予後不良であった。しかしながら、stage V を除いた症例では高染色群の予後は有意に良好であり、FABP は予後に関する有用な因子となりうると考えられた。

近年ホルマリン固定パラフィン包埋切片より DNA ploidy pattern を検索することができるようになり¹⁴⁾¹⁵⁾²⁶⁾、大腸癌の DNA ploidy pattern は悪性度の指標としてほぼ確立されていることから、この DNA ploidy を

FABP 染色と同じ標本を用いて検索し (Fig. 2)、diploid 群と aneuploid 群の 5 年生存率を検討すると、diploid 群の方が aneuploid 群より有意に 5 年生存率が高く (Fig. 7)、諸家の報告^{8)~12)}と一致した。そこで、DNA ploidy pattern と FABP 染色性との関連を調べたところ、悪性度の低い diploid 群では悪性度の高い aneuploid 群と比較して有意に高染色群が多く、低染色群が少なかった (Table 2)。一方、aneuploid 群でも高染色群の方が低染色群より予後が良好であった (Fig. 8)。このことから、FABP 染色性も大腸癌の悪性度の指標の一つになるうると考えられた。

本研究は大腸癌組織の L-FABP の免疫染色性と臨床病理学的所見とを retrospective に解析したものであり、以上のような興味ある結果が得られた。現在、FABP はその組織内濃度を測定できる⁵⁾¹⁹⁾ようになっており、今後大腸癌の組織内 FABP を定量することにより、より正確な評価が出来、腫瘍マーカー的な役割として予後の指標の一つになるうと思われた。また、Kanda ら²⁷⁾は、上腸間膜動脈結紮切離ラットで FABP の血中濃度を測定し、FABP が血中に逸脱することを報告しており、FABP の逸脱酵素的な面も臨床応用できる可能性がある。内視鏡にて生検した組織の FABP の定量や血中の FABP 濃度の測定により、術前における大腸癌の悪性度や予後の評価がなされ、治療成績の向上や改善が期待されると思われる。今後さらに、FABP の役割について検討しなければならないと考えている。

稿を終えるにあたり御指導、御校閲を賜った武藤輝一教授、ならびに直接御指導、御教示頂いた第一外科畠山勝義講師、酒井靖夫博士に深く感謝申し上げます。また、本研究に御協力頂いた畑野高四、樋口寿一技官に厚くお礼申し上げます。

尚、本研究の要旨の一部は第46回日本大腸肛門病学会総会、第33回日本消化器病学会大会で発表した。

参 考 文 献

- 1) Ockner, R.K. and Manning, J.A.: Fatty acid binding protein in small intestine. Identification, isolation and evidence for its role in cellular fatty acid transport, *J. Clin. Invest.*, 54: 326~338, 1974.
- 2) Ockner, R.K. and Manning, J.A.: Fatty acid binding protein. Role in esterification of absorbed long chain fatty acid in rat intestine, *J. Clin.*

- Invest., 58: 632~641, 1976.
- 3) **Ockner, R.K. and Manning, J.A.:** Fatty acid binding protein. Isolation from rat liver, characterization, and immunochemical quantification, *J. Biol. Chem.*, **260**: 7872~7878, 1982.
 - 4) 酒井靖夫, 島山勝義, 小山 真, 武藤輝一, 小野輝夫: ヒト腸管における脂肪酸結合蛋白の分布. 医学のあゆみ, **134**: 1179~1180, 1985.
 - 5) 酒井靖夫: ヒト正常腸管および各種腸疾患における脂肪酸結合蛋白の分布・局在と含有濃度に関する研究. 日消病会誌, **87**: 2594~2604, 1990.
 - 6) **Ketterer, B., Tipping, E. and Hackney, J.F.:** A low-molecular-weight protein from rat liver that resembles ligandin in its binding properties, *Biochem. J.*, **155**: 511~521, 1976.
 - 7) **Bassuk, J.A., Tsihchlis, P.N. and Sorof, S.:** Liver fatty acid binding protein is the mitosis-associated polypeptide target of a carcinogen in rat hepatocytes, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**: 7547~7551, 1987.
 - 8) **Albe, X., Vassilakos, P., Helfer-Guarnori, K., Givel, J.C., Quay, N., Suardet, L., Eliason, J.F. and Odartchenko, N.:** Independent prognostic value of ploidy in colorectal cancer. A prospective study using image cytometry, *Cancer*, **66**: 1168~1175, 1990.
 - 9) **Armitage, N.C., Ballantyne, K.C., Evans, D.F., Clarke, P., Sheffield, J. and Hardcastle, J.D.:** The influence of tumour cell DNA content on survival in colorectal cancer: a detailed analysis, *Br. J. Cancer*, **62**: 852~856, 1990.
 - 10) **Suzuki, H.:** The prognostic value of flow cytometric DNA analysis in colorectal cancer patients, *Jpn. J. Surg.*, **18**: 483~486, 1988.
 - 11) 船井貞住, 黒岡一仁, 松田泰次, 牛田伸二, 相良憲幸, 進藤勝久, 安富正幸: Flow cytometry による核 DNA 量からみた大腸癌の悪性度に関する検討—DNA ploidy pattern と肝転移の関連性について—. 日外会誌, **92**: 127~132, 1991.
 - 12) 安藤善郎, 土屋敦雄, 関川浩司, 石井芳正, 吉田典行, 君島伊造, 阿部力哉: Flow cytometry による核 DNA 量からみた大腸癌の生物学的悪性度の検討. 日外会誌, **90**: 1571~1575, 1989.
 - 13) **Sternberger, L.A., Hardy, P.H.Jr., Cuculis, J.J. and Meyer, H.G.:** The unlabeled antibody enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes, *J. Histochem. Cytochem.*, **18**: 315~333, 1970.
 - 14) **Schutte, B., Reynders, M.M.J., Bosman, F.T. and Blijham, G.H.:** Flow cytometric determination of DNA ploidy level in nuclei isolated from paraffin-embedded tissue, *Cytometry*, **6**: 26~30, 1985.
 - 15) **Vindeløv, L.L., Christensen, I.J. and Nissen, N.I.:** A detergent-trypsin method for the preparation of nuclei for flow cytometric DNA analysis, *Cytometry*, **3**: 323~327, 1983.
 - 16) 大腸癌研究会編: 大腸癌取扱い規約. 改訂第4版, 金原出版, 東京, 1985.
 - 17) **Ockner, R.K., Manning, J.A., Poppenhausen, R.B. and Ho, W.K.L.:** A binding protein for fatty acids in cytosol of intestinal mucosa, liver, myocardium and other tissues, *Science (Wash DC)*, **177**: 56~58, 1972.
 - 18) **Suzuki, T., Hitomi, M. and Ono, T.:** Immunohistochemical distribution of hepatic fatty acid-binding protein in rat and human alimentary tract, *J. Histochem. Cytochem.*, **36**: 349~357, 1988.
 - 19) 酒井靖夫, 島山勝義, 太田一寿, 武藤輝一: 大腸における脂肪酸結合蛋白 fatty acid binding protein と長鎖脂肪酸吸収能. 消化と吸収, **11**: 202~205, 1988.
 - 20) 細田四郎, 藤山佳秀: 脂肪の消化吸收機序, *TOKYO TANABE QUARTERLY*, **29**: 27~37, 1979.
 - 21) 武藤泰敏, 加納 隆: 脂肪の消化・吸収. 星 猛, 藤田道也編, 新生理学大系, 第18巻, 消化と吸収の生理学, 第1版, 204~214, 1988, 医学書院.
 - 22) **Ouchterlony, O.:** In vitro method for testing the toxin-producing capacity of diphtheria bacteria, *Acta. Pathol. Microbiol. Scand.*, **25**: 186~191, 1948.
 - 23) **Suzuki, T., Watanabe, K. and Ono, T.:** Immunohistochemical demonstration of liver fatty acid-binding protein in human hepatocellular malignancies, *J. Pathol.*, **161**: 79~83, 1990.

- 24) 鈴木利光, 人見雅裕, 小野輝夫: 肝型脂肪酸結合蛋白の個体発生と肝癌における発現—免疫組織化学的研究—。第7回腫瘍マーカー研究会記録, 84~86, 1987.
- 25) 藤沼澄夫: クロウン病回腸粘膜における脂肪酸結合蛋白の免疫組織学的見当。日消病会誌, 84: 1605~1615, 1987.
- 26) **Hedley, D.W., Friedlander, M.L., Taylor, I.W., Rugg, C.A. and Musgrove, E.A.:** Method for analysis of cellular DNA content of paraffin-embedded pathological material using flow cytometry, *J. Histochem. Cytochem.*, **31**: 1333~1335, 1983.
- 27) **Kanda, T., Nakatani, Y., Ishikawa, H., Hitomi, M., Matsubara, Y., Ono, T. and Muto, T.:** Intestinal fatty acid-binding protein as a sensitive marker of intestinal ischemia, *Dig. Dis. Sci.*, 1992, (in print).

(平成3年12月10日受付)