原 著

体腔液細胞診における 悪性中皮腫，腺癌，反応性中皮細胞の鑑別 ——ヒアルロン酸結合蛋白を用いた細胞化学染色——

東北大学医学部附属病院病理部¹⁾，同 歯学部口腔病理学講座²⁾，岩手医科大学病理学第1講座³⁾

三浦 弘守¹⁾ 宇月 美和¹⁾ 一迫 玲²⁾ 澤井 高志³⁾

ヒアルロン酸と特異的に結合するヒアルロン酸結合蛋白（以下 HABP）にビオチンを標識して細胞化学染色を行い，反応性中皮細胞の性質および悪性中皮腫と腺癌細胞との鑑別への有用性を検討した。症例は心嚢水，胸水，腹水など合計 42 例で内訳は悪性中皮腫 3 症例（上皮型 2 例，混合型 1 例），腺癌 22 症例（肺癌 10 例，乳癌 8 例，胃癌 2 例，膵臓癌 1 例，胆管癌 1 例），非癌例 17 症例である。結果は悪性中皮腫では 3 症例中 3 症例（100%）が陽性を示し，腫瘍細胞の細胞膜と細胞質内全体に陽性所見が認められた。腺癌細胞については 22 症例中 2 例（9.1%）が陽性を示したが，この 2 例は乳癌症例で，その他の腺癌はすべて陰性であった。非癌例 17 症例および癌例 14 症例にみられた反応性中皮細胞では陽性率が各症例で 13~100%（平均 58.9%）で陽性となり，陽性細胞と陰性細胞が混在して出現していた。また個々の陽性細胞においても陽性反応の強弱や多彩な染色態度を示していた。

以上の結果により，HABP を利用した細胞化学染色は悪性中皮腫に対して特異性が高く，腺癌との鑑別診断や反応性中皮細胞の同定に有用であると思われた。

Key words: Body cavity effusion cytology—HABP—Cytochemistry—Mesothelioma—Adenocarcinoma

I. はじめに

悪性中皮腫は胸腔，腹腔，心嚢腔などの体腔表面を

覆う中皮細胞より発生する比較的なまねな腫瘍で，組織学的に上皮型（epithelial type），二相型あるいは混合型（biphasic or mixed type），および肉腫型あるいは線維型（sarcomatous or fibrous type）に分類される¹⁾。悪性中皮腫は発生学的には中胚葉性の腫瘍であるが，細胞診においても組織診と同様に体腔表面に浸潤した腺癌との鑑別には困難なことがある。これまで組織診および細胞診において両者の鑑別方法として，EMA，CEA，CA-125，Leu-M 1，Ber-EP 4，ピメンチン，HBME-1，thrombomodulin，HMFG-2 などの各種抗体を組み合わせたパネル方式の免疫組織化学染色²⁻⁴⁾や，PAS，アルシアンブルー（pH 2.5），コロイド鉄，ヒアルロニダーゼ消化試験などの組織化学染色が行われている。しかしこれらの sensitivity，specificity は必ずしも十分ではなく，しかも細胞診で

A cytochemical study using hyaluronic acid-binding protein (HABP)—A powerful tool for diagnosis of malignant mesothelioma—

Hiroshy MIURA¹⁾, C.T., I.A.C., Miwa UZUKI¹⁾, M.D., Ryo ICHINOHASAMA²⁾, M.D., Takashi SAWAI³⁾, M.D.

¹⁾Department of Pathology, Tohoku University Hospital

²⁾Oral Pathology, Tohoku University School of Dentistry

³⁾The First Department of Pathology, Iwate Medical University, School of Medicine

論文別刷請求先 ☎ 980 仙台市青葉区星陵町 1 の 1 東北大学医学部附属病院病理部 三浦弘守

平成 9 年 5 月 21 日受付

平成 9 年 8 月 8 日受理

は組織診と異なり作製標本の枚数に限度があるため、Papanicolaou 標本で形態学的に悪性中皮腫が疑われた場合でも、上記に示した抗体すべてを用いて免疫染色や粘液染色を行うことは不可能である。

悪性中皮腫の生化学的特徴として酸性ムコ多糖類の特にヒアルロン酸を多量に産生することが知られている。この性質を利用し、組織切片においてヒアルロン酸結合蛋白 (hyaluronic acid binding protein, 以下 HABP) を用いた組織染色でヒアルロン酸の存在を証明し、悪性中皮腫と肺腺癌を組織化学的に鑑別する方法が、Azumi⁵⁾ や宇月⁶⁾ らによって報告されている。今回、われわれは HABP を用いた組織化学染色を体腔液細胞診で試み、悪性中皮腫、各臓器由来の腺癌、反応性中皮細胞においてその特異性について検討したので報告する。

II. 症例および染色方法

1. 症例

用いた材料は体腔液 42 例 (心嚢水 4 例, 胸水 26 例, 腹水 12 例) で、癌細胞の認められた 25 症例 (悪性中皮腫 3 例, 腺癌 22 例) と、癌細胞との鑑別が難しかった反応性中皮細胞や、核の腫大や多核を呈する反応性中皮細胞が多数出現していた非癌例 17 症例であり、腺癌症例のうちで腺癌と同時に反応性中皮細胞が出現していたものは 14 例である。また今回は肉腫型中皮腫 2 例の捺印細胞診も用いた。なお各症例の詳細については表 1 および 2 に示した。

2. 細胞化学染色

体腔液の Papanicolaou 標本 (95% エタノールで湿固定 10 分以上) を脱色したものを以下の方法で染色した。0.3% H₂O₂ 加メタノールで 30 分間内因性ペルオキシダーゼの活性を阻止。0.01 M (pH 7.6) の PBS で 5 分×3 回洗浄した後、ビオチン化 HABP (1% HABP, 10% ヒト血清, 0.1% BSA 入 PBS) を一晩 4°C で反応。PBS で 5 分×3 回洗浄した後、Streptoavidin-peroxidase (ニチレイ) で 30 分間反応。PBS で 5 分×3 回洗浄した後、3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) で発色反応。PBS で 5 分間×3 回洗浄した後ヘマトキシリンで核染色を行い、脱水、透徹、封入した。使用したビオチン化 HABP は中外製薬中央研究所より分与されたものであるが、牛の鼻軟骨から塩酸グアニジンより抽出して、透析後トリプシン処理し、ヒアルロン酸結合セ

表 1 悪性腫瘍における腫瘍細胞の HABP 反応結果

Case	Age/Sex	Tumor type	Specimen	HABP reactivity
Malignant mesothelioma				
1	54/M	Epithelial	P	Positive (strong)
2	64/M	Biphasic	P	Positive (strong)
3	65/M	Epithelial	A	Positive (strong)
4	36/M	Sarcomatous	Imprint	Positive (weak)
5	52/M	Sarcomatous	Imprint	Positive (weak)
Lung Tumors				
6	40/F	Adenocarcinoma	P	Negative
7	62/M	Adenocarcinoma	P	Negative
8	55/M	Adenocarcinoma	P	Negative
9	61/F	Adenocarcinoma	P	Negative
10	75/M	Adenocarcinoma	P	Negative
11	81/M	Adenocarcinoma	P	Negative
12	85/M	Adenocarcinoma	P	Negative
13	59/F	Adenocarcinoma	P	Negative
14	72/M	Adenocarcinoma	P	Negative
15	73/F	Adenocarcinoma	C	Negative
Breast Tumors				
16	53/F	Papillo-tubular Ca	P	Negative
17	40/F	Soild-tubular Ca	P	Positive (strong)
18	63/F	Soild-tubular Ca	A	Negative
19	62/F	Soild-tubular Ca	P	Negative
20	50/F	Scirrhou Ca	A	Negative
21	63/F	Invasive lobular Ca	P	Negative
22	51/F	Invasive lobular Ca	P	Negative
23	45/F	Invasive lobular Ca	A	Positive (strong)
Gastric Tumors				
24	71/M	Adenocarcinoma	A	Negative
25	38/F	Adenocarcinoma	A	Negative
Bile duct Tumor				
26	78/M	Adenocarcinoma	A	Negative
Pancreatic Tumor				
27	61/M	Adenocarcinoma	A	Negative

Ca : Carcinoma, P : Pleural fluid, A : Ascites,
C : Cardiac fluid

ファロースにより精製して得られたものに、ビオチンを標識したものである⁷⁾。このようにして抽出された HABP がヒアルロン酸と特異的に結合する蛋白であることはすでに確認されている^{8,9)}。

今回の DAB による陽性所見がヒアルロン酸の存在部位であるという特異性の証明については、宇月⁶⁾ らが組織切片上で行った方法を悪性中皮腫症例 2 と 3 および非癌症例 35 (体腔液中ヒアルロン酸値はそれぞれ、270, 2923, 7.0 μg/ml) の細胞診塗抹標本に施行した。その結果、HABP 溶液を反応させる前にヒアルロン酸だけを特異的に消化する *Streptomyces hyalurolyticus* 由来ヒアルロニダーゼ (Amano Co.

表 2 悪性中皮腫と反応性中皮における HABP 反応所見および陽性率

Case No	Age/Sex	Specimen	HABP reactivity					
			Positive			Negative	POS	
			M	C	M+C			
Malignant mesothelioma								
1	54/M	Epithelial	P	8	0	92	0	100%
2	64/M	Biphasic	P	20	0	77	3	97%
3	65/M	Epithelial	A	9	0	91	0	100%
Reactive mesothelium(Non carcinoma cases)								
28	73/M	Lung cancer	P	0	65	0	35	65%
29	79/M	Lung cancer	P	0	62	0	38	62%
30	42/F	Mediastinal tumor	P	0	26	0	74	26%
31	66/F	Malignant lymphoma	P	0	85	0	15	85%
32	72/F	Pneumothorax	P	0	72	0	28	72%
33	78/F	Pleural effusion	P	35	17	38	10	90%
34	48/F	Pleural effusion(Left)	P	0	29	0	71	29%
35	48/F	Pleural effusion(Right)	P	0	28	3	69	31%
36	58/M	Esophageal cancer	P	17	23	39	21	79%
37	78/F	PBC	P	2	49	13	36	64%
38	46/M	Mediastinal tumor	C	0	74	9	17	83%
39	76/F	Myocardial infarction	C	0	15	0	85	15%
40	41/F	Breast cancer	C	2	10	14	74	26%
41	73/F	Gastric cancer	A	0	28	2	70	30%
42	64/M	LC, HCC	A	16	7	22	55	45%
43	64/F	LC, HCC	A	0	95	0	5	95%
44	14/F	Liver transplantation after	A	14	28	21	37	63%
Reactive mesothelium(Adenocarcinoma cases)								
6	40/F	Lung	P	0	67	3	30	70%
9	61/F	Lung	P	3	39	0	58	42%
11	81/M	Lung	P	0	79	0	21	79%
12	85/M	Lung	P	2	51	0	47	53%
13	59/F	Lung	P	0	100	0	0	100%
14	72/M	Lung	P	1	12	0	87	13%
15	73/F	Lung	A	0	82	0	18	82%
16	53/F	Breast	P	0	61	18	21	79%
17	40/F	Breast	P	0	37	0	63	37%
18	63/F	Breast	A	1	71	1	27	73%
20	50/F	Breast	A	2	70	5	23	77%
21	63/F	Breast	P	4	39	0	57	43%
22	51/F	Breast	P	0	31	6	63	37%
26	78/M	Bile duct	A	2	74	6	18	82%

PBC : Primary biliary cirrhosis, LC : Liver cirrhosis, HCC : Hepato cellular carcinoma, P : Pleural fluid,
A : Ascites, C : Cardiac fluid, M : Membrane, C : Cytoplasm, POS : Percentage of positive cells

Ltd., Nagoya) で処理 (100 TRU, 60°C. 2 時間)
した塗抹標本に、未処理の塗抹標本と同様の染色手順
を行ったが DAB による陽性反応は認められなかった
(写真 1 d).

III. HABP 染色の評価方法

悪性中皮腫、腺癌、反応性中皮細胞それぞれを対物
レンズ 40 倍で 100 個ずつ観察し HABP の陽性細胞
数の率を算出した。さらに HABP の陽性細胞につい
ては、その陽性部位が細胞膜のみ (M)、細胞質内の

み(C), 細胞膜と細胞質内(M+C)の3通りに分類して評価した。

IV. 染色結果

悪性中皮腫, 腺癌, 反応性中皮細胞の染色結果は表1および2に示す通りである。

1. 悪性中皮腫 (写真1a)

症例1, 3の上皮型と症例2の混合型(上皮性の部分)ではほとんどの腫瘍細胞が何らかの陽性を示しており, 陽性率および陽性部位は症例間において明らかな差は認められなかった(写真1b, c)。陽性部位は細胞膜全周性, および細胞質内にびまん性に認められたが, DABによる発色の程度は前者の方が明らかに強かった(写真1c)。これに対し症例4, 5の肉腫型では, ごく少数の腫瘍細胞の細胞質全体に微弱な陽性反応がみられたにすぎず, 個々の細胞境界は不明瞭であった。

2. 腺癌細胞 (写真2)

肺癌(写真2a), 胃癌, 膵癌, 胆管癌, (14例)では腺癌細胞に関してはすべて陰性であり, 中皮細胞が陽性となるのみであったが, 乳癌では8症例中2例に陽性反応がみられた。1例は症例17(充実腺管癌)で細胞質内に限局する網状の反応がみられ(写真2b), もう1例は症例23(浸潤性小葉癌)で細胞質内にびまん性, または細胞膜に認められ, 両者の陽性部位は異なっていたが反応性は比較的強いものであった。

3. 反応性中皮細胞 (写真3)

非癌例および癌例に出現していた反応性中皮細胞のHABP陽性率は, 15%~100%(平均58.9%)と症例間および反応性中皮細胞の間でバラツキが認められた。陽性細胞に関しては, 細胞形態によって陽性所見に違いが認められ, 核や細胞の腫大がほとんどみられず, 細胞質がレース状を呈する細胞では, 細胞質内に局在を示す網状の陽性所見がみられた(写真3a)。一方, 核種大や多核を示す悪性中皮腫に類似した大型細胞では, 細胞膜, あるいは細胞膜と細胞質内に反応が認められたが, 陽性細胞は少なかった(写真3b, c)。また重積性集団では, 集団の辺縁の細胞に陽性反応がみられたが, 集団の中心部の細胞は陰性を示していた。

V. 考 察

ヒアルロン酸はN-アセチルグルコサミンとD-グルクロン酸の繰り返し単位よりなる, 分子量約3000~数百万の直鎖状の高分子多糖体で, 生体内ではさまざまな組織と体液に分布していることが知られている。またヒアルロン酸は細胞膜で合成され, それは細胞の増殖と関連があるといわれている¹⁰⁾。ヒアルロン酸と腫瘍との関係については, 特に悪性中皮腫が多量のヒアルロン酸を産生, 分泌する性質を有しており^{11,12)}, 心嚢水, 胸水, 腹水中のヒアルロン酸濃度の測定は悪性中皮腫瘍を診断するための重要な検査項目の一つとなっている。

今回, 中皮腫5例において体腔液に腫瘍細胞を認めた3例(上皮型2例, 混合型1例)で細胞膜表面および細胞質内に陽性を認めた。特に細胞膜表面~表面下で強い陽性所見を示しており, これはヒアルロン酸が細胞膜で合成されるという報告¹⁰⁾に一致する所見を示唆している。一方, 肉腫型2例の捺印標本ではごく一部の細胞で細胞質内に弱陽性の反応がみられたにすぎず, 中皮腫の中でも上皮型と混合型など上皮型成分の多い型でのヒアルロン酸の合成と分泌が亢進していることが示唆された。しかし, 肉腫型中皮腫では体腔液中に腫瘍細胞はほとんど剝離してこないため体腔液細胞診では, 腺癌または反応性中皮細胞との鑑別で問題になることはないと思われる。

腺癌症例については, 肺癌10例, 胃癌2例, 膵癌1例, 胆管癌1例はすべて陰性を示したが, 乳癌では8例中2例で陽性所見が認められた。肺腺癌においてAzumi⁹⁾らは30例中11例, 宇月ら⁶⁾は11例中3例に膜表面や細胞質内に陽性所見を認めたのに対し, 今回の体腔液中にみられた肺腺癌10例はすべて陰性を示していた。宇月らの報告では判定に迷うようなものを±としているが, ヒアルロン酸は線維芽細胞や内皮細胞でも合成されているため¹¹⁾, 細胞標本ではHABP陽性所見が腫瘍細胞の膜表面によるものか, 腫瘍周囲に存在する間質成分を形成する線維芽細胞や, 血管内皮細胞の陽性反応によるものかの判定が困難であるものと思われる。このように組織切片上ではHABP陽性細胞の同定に困難の生じる可能性が考えられるが, その点, 体腔液中には腫瘍細胞が単独で出現するため, 腫瘍細胞だけの所見を得ることができ判定に迷うことは少ない。

写真 1 悪性中皮腫における HABP 所見. a : 症例 3 (Pap. 染色), b : 症例 3, ほとんどの腫瘍細胞の細胞膜および細胞質に HABP の陽性反応が認められる, c : 症例 2, HABP 反応は細胞質より細胞膜で強い (矢印), d : 症例 3, Streptomyces hyaluronidase 処理後では HABP 反応は陰性を示す (a ~ d : $\times 40$)

写真 2 腺癌における HABP 所見. a : 症例 6, 肺腺癌細胞は陰性, 中皮細胞は陽性 (矢印), b : 症例 17, 細胞質に HABP 反応を示す乳癌細胞 (a, d : $\times 40$)

写真 3 反応性中皮細胞における HABP 所見. a : 症例 13, 細胞質にびまん性または局在性の陽性を示す, b : 症例 35, 大型中皮細胞が陽性, 周囲の中皮細胞は陰性, c : 症例 40, 同様の形態でも陽性と陰性細胞が混在する (a ~ c : $\times 40$)

表 3 中皮腫, 肺腺癌, 乳癌に対する各種抗体および HABP の反応性

報告者	年度	マーカー	中皮腫	肺腺癌	乳 癌
O'Hara, C.J., et al. ¹⁵⁾	1990	ME 1	100% (20/20)	21% (6/28)	50% (10/20)
Miettinen, M., et al. ¹⁶⁾	1995	HBME-1	93% (25/27)	55% (28/51)	15% (5/34)
Yamada, T., et al. ¹⁸⁾	1995	MS-2761	100% (7/ 7)	0% (0/18)	0% (0/22)
Dogliani, C., et al. ¹⁷⁾	1996	Calretinin	100% (44/44)	23% (9/40)	7% (10/143)
Dogliani, C., et al. ¹⁷⁾	1996	thrombomodulin	80% of cases	77% of cases	ND
Bertrand, P., et al. ¹³⁾	1992	HABP	ND	ND	0% (0/71)
Azumi, N., et al. ⁵⁾	1992	HABP	100% (32/32)	37% (7/30)	ND
宇月ら ⁶⁾	1995	HABP	100% (9/ 9)	27% (3/11)	ND
著者ら	1997	HABP	100% (5/ 5)	0% (0/10)	25% (2/ 8)

また, HABP の陽性を示した乳癌 2 症例はそれぞれ, 浸潤性小葉癌 3 例中 1 例と浸潤性乳管癌 (乳頭腺管癌 2 例, 充実腺管癌 2 例, 硬癌 1 例) の充実腺管癌 1 例ずつで認められた. Bertrand ら¹³⁾は乳癌では腫瘍中心部よりも, 辺縁部の間質組織でヒアルロン酸が強く証明され腫瘍部分では陰性と報告している. この点に関しては, ヒアルロン酸は水溶性のためホルマリン固定では組織から溶出しやすく, 少量のヒアルロン酸しか含有していない細胞では HABP 染色での誤陰性を示しやすく, 逆に細胞診のようなアルコール固定では少量のヒアルロン酸を含有している細胞でも, HABP の特異性と感度が高いために陽性を示すことができるものと考えられる. ヒアルロン酸は細胞外マトリックスの一部として細胞, 組織構築の安定化に関わり, また CD 44 のリガンドとして細胞間の接着にも関与していることが報告されているが¹⁴⁾, 乳癌の症例の 2 例にヒアルロン酸の陽性反応がみられたことについては, 乳癌の浸潤, 転移機序にヒアルロン酸が何らかの関係がある可能性も否定できない. 今回の HABP を用いた組織化学染色で肺腺癌について Azumi⁵⁾, 宇月⁶⁾, また乳癌については Bertrand¹³⁾らの報告と異なった陽性率 (表 3) が得られたことに関しては, 今後同一症例での組織診と細胞診で比較検討する必要があると思われる.

最近, 中皮腫 (上皮型, 混合型, 肉腫型) や中皮細胞と反応する抗体がいくつか市販され, それらを用いた中皮腫と腺癌との鑑別診断の有用性についていくつかの報告がみられる (表 3). これらの抗体は報告によると, 中皮腫ではいずれもほぼ 100% の陽性を示すが, ME 1¹⁵⁾, HBME-1¹⁶⁾, thrombomodulin¹⁷⁾, calretinin (カルシウム結合蛋白である calretinin に対する抗体)¹⁷⁾ などでは肺腺癌や乳癌に対してもそれぞれ数%~数十%の陽性率を示し, 中皮腫の特異的マ

ーカーとしては問題が残る. 最近 Yamada¹⁸⁾らによって非腫瘍性中皮細胞を免疫源として作成されたモノクローナル抗体 MS-2761 は中皮腫, 良性中皮細胞とは 100% 反応するが肺腺癌や乳癌では反応しないと報告している. 今回用いた HABP では中皮腫で 100% (5/5), 乳癌で 25% (2/8) に陽性反応がみられたが, 肺腺癌については 10 症例すべて陰性であった. この結果 HABP は現在調べた限りにおいて, MS-2761 と同様に中皮腫に対する最も特異性の高いマーカーの一つであり, 中皮腫と肺腺癌との鑑別診断に有用と思われる.

稿を終えるにあたり貴重な症例とデーターを提供して頂きました都立墨東病院病理検査室の川原 稷先生, 馬嶋恵子技師, 石原彰人技師, 渡辺秀子技師, 堺 裕子技師, 都立大久保病院病理検査室の仁平博子技師に深謝致します.

Summary

In this study we assessed the diagnostic usefulness of a biotinylated hyaluronic acid-binding protein (HABP) for identifying reactive mesothelial cells, and furthermore, to distinguish malignant mesothelioma from adenocarcinoma. We studied 25 body cavity effusions associated with tumors including three mesotheliomas (2 epithelial types, 1 biphasic type), 22 adenocarcinomas of different origin (10 lung carcinomas, 8 breast carcinomas, 2 gastric carcinomas, 1 bile duct carcinoma and 1 pancreatic carcinoma), and compared them with body effusions from persons without tumors. HABP reacted with tumor cells of malignant mesothelioma in all cases (3/3). Membranes and cytoplasm of tumor cells were strongly positive for HABP. Adenocarcinoma cells themselves were positive in only 9.1% (2/22), and these positive cancers were all breast carcinomas. Reactive mesoth-

elial cells from 17 persons without carcinoma and from 14 patients with adenocarcinoma showed a positive reaction on either the membrane or in the cytoplasm (mean 58.9%, range 13-100%). Of course, tumor cells other than from the two breast carcinomas mentioned above were all negative.

We conclude that cytochemical study using HABP is a powerful tool for distinguishing malignant mesothelial cells from adenocarcinoma.

文 献

- 1) 松野吉宏. 胸膜中皮腫. 腫瘍鑑別診断アトラス, 肺, 東京: 文光堂, 1996: 194~202.
- 2) Brown, R.W., Clark, G.M., Tandon, A.K., Allred, D.C. Multiple-marker immunohistochemical phenotypes distinguishing malignant pleural mesothelioma from pulmonary adenocarcinoma. *Hum. Pathol.* 1993; 24: 347~353.
- 3) Zeng, L., Fleury-Feith, J., Monnet, I., Boutin, C., Bignon, J., Jaurand, M.C. Immunocytochemical characterization of cell lines from human malignant mesothelioma: Characterization of human mesothelioma cell lines by immunocytochemistry with a panel of monoclonal antibodies. *Hum. Pathol.* 1994; 25: 227~233.
- 4) Gaffey, M.J., Mills, S.E., Swanson, P.E., Zarbo, R.J., Shah, A.R., Wick, M.R. Immunoreactivity for BER-EP 4 in adenocarcinomas, adenomatoid tumors, and malignant mesotheliomas. *Am. J. Surg. Pathol.* 1992; 16: 593~599.
- 5) Azumi, N., Underrhill, C.B., Kagan, E., Sheibani, K. A novel biotinylated probe specific for hyaluronate. Its diagnostic value in diffuse malignant mesothelioma. *Am. J. Surg. Pathol.* 1992; 16: 116~121.
- 6) 宇月美和, 一迫 玲, 斎藤泰紀, 澤井高志. ヒアルロン酸結合蛋白 (HABP) を利用した胸膜中皮腫と肺腺癌の組織化学的鑑別方法. *病理と臨床* 1995; 13: 741~747.
- 7) Tengland, A. Affinity chromatography on immobilized hyaluronate and its application to the isolation of hyaluronate binding proteins from cartilage. *Biochem. Biophys. Acta.* 1979; 578: 281~289.
- 8) 吉野谷定美, 溝口義明, 橋本 嘉, 山田昭夫, 内田詔爾, 谷口敦夫・ほか. 血中ヒアルロン酸濃度は RA の関節局所の破壊と炎症を表す客観的マーカーである. *リウマチ* 1991; 31: 381~390.
- 9) 宇月美和, 澤井高志. 各種臓器の生理的および病的状態におけるヒアルロン酸の分布ヒアルロン酸 binding protein を用いた組織化学的検討. *Connect Tissue.* 1994; 25: 251~262.
- 10) Prehm, P. Hyaluronate is synthesized at plasma membranes. *Biochem J.* 1984; 220: 597~600.
- 11) Asplund, T., Vernel, M.A., Laurent, T.C., Heldin, P. Human mesothelioma cells produce factors that stimulate the production of hyaluronan by mesothelial cells and fibroblasts. *Cancer Res.* 1993; 15: 388~392.
- 12) Frebourg, T., Lerebours, G., Delpech, B., Benhamou, D., Bertrand, P., Maingonnat, C., et al. Serum hyaluronate in malignant pleural mesothelioma. *Cancer* 1987; 15: 2104~2107.
- 13) Bertrand, P., Grard, N., Delpech, B., Duval, C., D'anjou, J., Dauce, J.P. Hyaluronan (hyaluronic acid) hyaluronectin in the extracellular matrix of human breast carcinomas: comparison between invasive and noninvasive areas. *Int. J. Cancer* 1992; 52: 1~6.
- 14) Lesley, J., Hyman, R. Requirements for hyaluronic acid binding by CD 44: a role for the cytoplasmic domain and activation by antibody. *J. Exp. Med.* 1992; 175: 257~266.
- 15) O'Hara, C.J., Corson, J.M., Pinkus, G.S., Stahel, R.A. A monoclonal antibody that distinguishes epithelial-type malignant mesothelioma from pulmonary adenocarcinoma and extrapulmonary malignancies. *Am. J. Pathol.* 1990; 136: 421~428.
- 16) Miettinen, M., Kovatich, A.J. HBME-1 a monoclonal antibody useful in the differential diagnosis of mesothelioma, adenocarcinoma, and soft-tissue and bone tumors. *Appl Immunohistochem.* 1995; 3: 115~122.
- 17) Doglioni, C., Dei Tos, A.P., Laurino, L., Iuzzolino, P., Chiarelli, C., Celio, M.R., et al. Calretinin: a novel immunocytochemical marker for mesothelioma. *Am. J. Surg. Pathol.* 1996; 20: 1037~1046.
- 18) Yamada, T., Jiping, J., Endo, R., Gotoh, M., Simosato, Y., Horohashi, O. Molecular cloning of a cell-surface glycoprotein that can potentially discriminate mesothelium from epithelium: its identification as vascular cell adhesion molecule 1. *Br. J. Cancer* 1995; 71: 562~570.