

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 8 日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590619

研究課題名（和文） 気管支肺胞上皮癌線維化巣におけるリンパ管のリモデリング

研究課題名（英文） Remodeling of lymph vessels in the fibrotic lesion of bronchioloalveolar cell carcinoma

研究代表者

本田孝行（HONDA TAKAYUKI）

信州大学・医学部・教授

研究者番号：80238815

研究成果の概要（和文）：細気管支肺胞上皮癌の中心部線維化とリンパ管侵襲の関連について、リンパ管の線維化による変化を3次的に観察した。直線状でつぶれたリンパ管が線維化進行に伴い、分枝頻度が高くなり内腔が開大した。中心部線維化部分では、拡張したリンパ管が癒合し、いくつかの部屋に分かれた槽を呈していた。リンパ管のリモデリングにより、肺癌全体に占めるリンパ管体積が増大し、より腺癌細胞がリンパ管内に入りやすくなるのではないかと推察された。

研究成果の概要（英文）： The aim of this study is to clear three-dimensional morphological changes of lymphatic vessels in a progression of BAC. In the normal alveolar region, they straightly elongated without bifurcation and most of them were compressed. In the central portion of the fibrotic lesion, the density of lymph vessels was higher and the lumens were wider. The lymph vessels morphologically changed to a tank. As the BAC advances forming central fibrosis, the volume ratio of the lymph vessels to the whole one of the cancer will become larger, and probability of carcinoma cell invasion to the lymph vessels will increase.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：基礎医学

科研費の分科・細目：人体病理学

キーワード：肺癌、肺腺癌、リンパ管、リンパ管侵襲

1. 研究開始当初の背景

1995年に肺腺癌の野口分類が発表され、肺胞上皮細胞を置換性に増殖する気管支肺胞上皮癌において、中心部線維化があれば予後が悪くなることが明らかにされた（Noguchi et al. Cancer 75:2844, 1995）。その後、線維

巣が直径5mm以内であれば、予後の悪化を招かないとの報告もなされた（Ohde et al. Lung Cancer 42:303, 2003）。しかし、肺腺癌の浸潤形態、大きさ、中心部の線維化巣により予後が左右されるという事実が確認されているのみで、そのメカニズムについては解

明されていない。肺腺癌は血行性よりはリンパ行性転移を生じる頻度が高く、中心部の線維化巣とリンパ管侵襲に何らかの関連が示唆されるが、その関係を明らかにしている報告はない。

2. 研究の目的

本研究の目的は、細気管支肺胞上皮癌内におけるリンパ管の構造を観察することにより、リンパ管侵襲が生じるメカニズムを解析することである。細気管支肺胞上皮癌の予後に最も関連しているのは中心部線維化巣であるので、この部位におけるリンパ管構造解析により腺癌細胞のリンパ管侵襲のメカニズムを解析することが目的である。

肺および肺癌内のリンパ管は3次元構造をとっているため、通常の2次元の病理標本での詳細な形態学的観察は不可能である。我々が開発した方法により、通常の染色もしくは免疫染色を行った厚切り切片を光学顕微鏡およびレーザー共焦点顕微鏡を用い、リンパ管の3次元構造を観察した。

3. 研究の方法

(1) 通常の病理切片を用いた観察：

材料としては、気管支肺胞上皮癌 15 例（野口分類の A type 2 例、B type 3 例 および C type 10 例）を用いた。通常の病理標本作製の手順に従い、20%ホルマリン固定後にパラフィンに包埋し、3 μ m の連続切片を用いて、hematoxylin-eosin 染色とともに、D2-40 (リンパ管内皮に特異的に反応) および CD34、Factor VIII (血管内皮に特異的) を用いた免疫染色を行った。D2-40 および CD34 もしくは Factor VIII の 2 重染色も行った。

(2) 厚切り切片を用いた 3 次元構造の観察：

材料としては、気管支肺胞上皮癌 8 例（野口分類の A type 1 例、B type 2 例 および C type 5 例）を用いた。通常の病理標本作製に用いるパラフィンブロックを 0.5 x 1.0cm に細切し、通常のコトトムを用いて 100 から 200 μ m の厚切り切片を作成した。オーバーナイトにて脱パラを行い、電子レンジ処理の後プロテアーゼにて肺胞腔内の粘液塊を取り去り、D2-40 の免疫染色を行い、レーザー共焦点顕微鏡を用いて、正常肺および気管支肺胞上皮癌におけるリンパ管の構造を観察した。

主に C type の気管支肺胞上皮癌を用いて、

1. 中心部線維化巣、2. 線維化巣と肺胞置換部の境界部分、3. 腺癌細胞の肺胞置換部、4. 正常肺組織部 の 4 部分に分けてリンパ管 3 次元構造の観察を行った。

4. 研究成果

(1) 通常の病理切片を用いた 2 次元観察：

正常肺組織においては、リンパ管は直径 20 μ m 以上の血管もしくは細気管支周囲に認められる。リンパ管の直径は、随伴する血管もしくは細気管支の直径の 3/1 から 2/1 に達するものもあるが、横断面ではなく縦断面、斜断面の場合もあり (図 1)、リンパ管の直径を 2 次元スライドから判断することはできない。多くのリンパ管は圧排性につぶれており、一部は拡張しているリンパ管も認められる (図 2)。肺切除時の中枢部血管、気管支

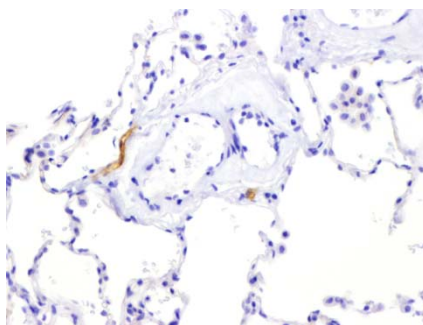


図 1. 正常肺胞組織、5D-40 抗体染色

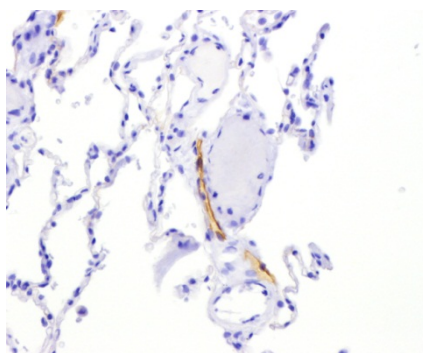


図 2. 正常肺胞組織、5D-40 抗体染色

閉塞による影響も関与していると考えられる。やや太い血管を伴わない純粋な毛細血管だけの肺胞部分にはごくまれにリンパ管が確認できるのみであった。胸膜には、径 20-30 μ m のリンパ管が認められた。

気管支肺胞上皮癌が肺胞置換型に増殖している部分においては、type A、type B、type C ともに同じ所見であった。基本的には、正常の肺胞組織と同様の所見で、径 20 μ m 以上の血管もしくは細気管支周囲にリンパ管が認められた (図 3)。血管を伴わない部分にもリンパ管が認められるが、稀である。リンパ管の直径は 10-200 μ m と様々である (図 4)。

肺胞置換型に増殖している部分と線維化部分の境界領域では、D2-40 に染色されるリンパ管の径が大きくなり、密度が上昇する。つぶれているリンパ管よりも拡張しているリンパ管が多くなり、分岐しているリンパ管の頻度も高くなる。 (図 5)。

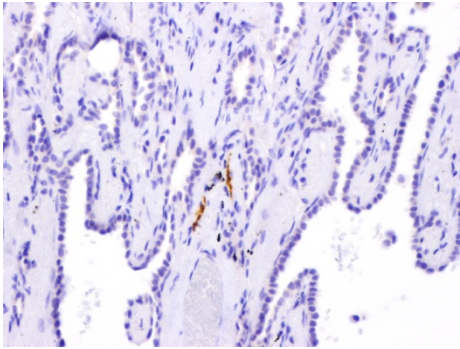


図 3. 肺胞置換型肺腺癌、5D-40 抗体染色

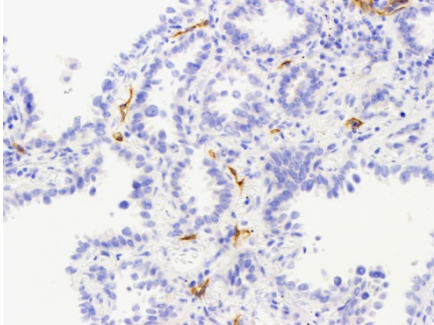


図 4. 肺胞置換型肺腺癌、5D-40 抗体染色

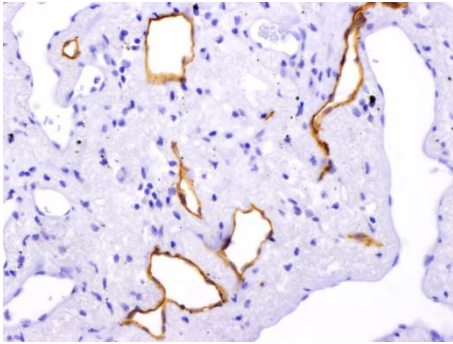


図 5. 線維化の辺縁部、5D-40 抗体染色

中心部線維化部分では、リンパ管の径が細ものから太いものまで混在し、密度は上昇した(図 6)。拡張するリンパ管が多くなった。明らかに分枝を示すような形態をとるリンパ管の頻度が高くなる。拡張したリンパ管内に単核球細胞を認められるが、異型細胞および癌細胞は認められなかった(図 7)。

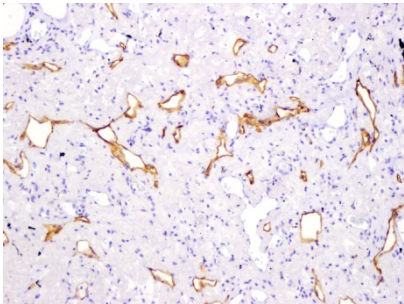


図 6. 中心線維化部、5D-40 抗体染色

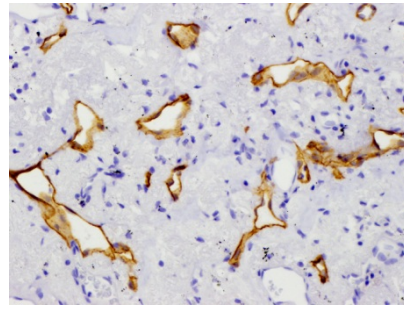


図 7. 中心線維化部、5D-40 抗体染色

(2) 厚切り切片のリンパ管の 3 次元構造

正常肺組織では、肺胞隔壁のやや肥厚した部位、つまり 3 つの肺胞面が合わさる部分(多面体である肺胞の辺にあたる部分)にリンパ管が走行している。多くのリンパ管はつぶれており、内腔ははっきりしない(図 8)。軽度に内腔が開いている部分でもリンパ管壁は直線状で、分枝の所見に乏しい(図 9)。

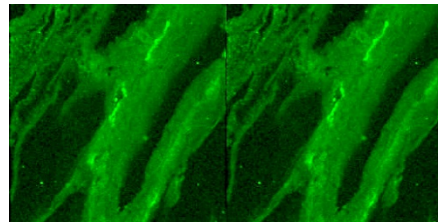


図 8. 正常肺組織、5D-40 抗体染色
ステレオペアー

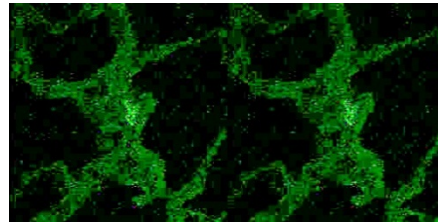


図 9. 正常肺組織、5D-40 抗体染色
ステレオペアー

肺腺癌細胞が肺胞表面を置換性に増殖している部分(細気管支肺胞上皮癌の辺縁部)では、軽度に拡張したリンパ管が認められるようになるが、直径も 10-30 μm 程度であり、分岐ははっきりしない(図 10)。この部分では、肺胞隔壁がアコーディオン状に折りたたまれている状況であるが、リンパ管は直線状を呈している(図 11)。

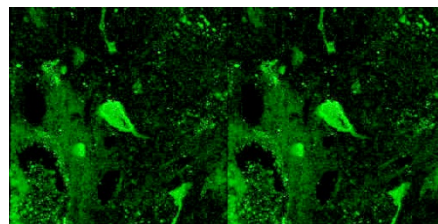


図 10. 肺胞置換型肺腺癌、5D-40 抗体染色
ステレオペアー

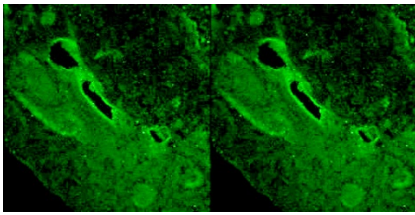


図 11. 肺胞置換型肺腺癌、5D-40 抗体染色
ステレオペアー

線維化部分の辺縁では、肺胞隔壁は線維性に肥厚し、アコーディオン状のたたみ込みはさらに強くなる。この部分では線維化は強くなり、リンパ管の密度が強くなる (図 12)。一部分岐するようなリンパ管も認められている (図 13)。リンパ管壁は直線状であり、アコーディオン状に畳込まれている所見はない。

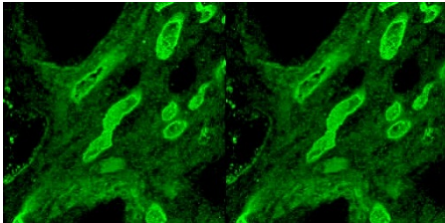


図 12. 線維化の辺縁部、5D-40 抗体染色
ステレオペアー

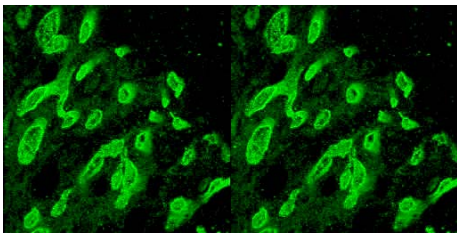


図 13. 線維化の辺縁部、5D-40 抗体染色
ステレオペアー

線維化の中心部分では、リンパ管はさらに密度が高くなる。irregular な分岐をし、内腔も広い部分と狭い部分が混在しており、一定の形態を示していない (図 14, 図 15)。多くのリンパ管は拡張し、管というよりは槽のような多房性の内腔を示す部分も認められる (図 16)。

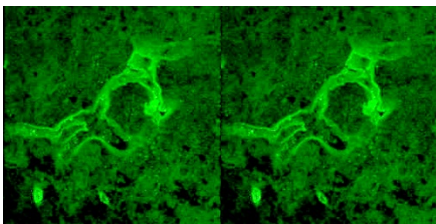


図 14. 中心線維化部、5D-40 抗体染色
ステレオペアー

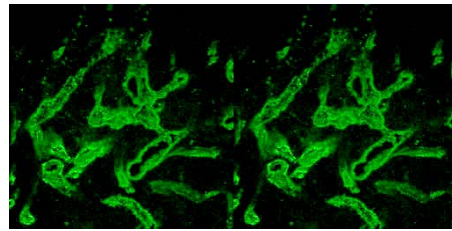


図 15. 中心線維化部、5D-40 抗体染色
ステレオペアー

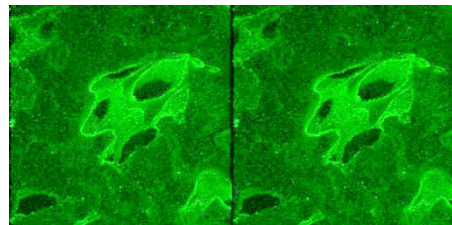


図 16. 中心線維化部、5D-40 抗体染色
ステレオペアー

(3) 気管支肺胞上皮癌進行に伴うリンパ管の変化

正常肺においては、多面体を呈する肺胞の辺の部分に存在するやや部間血管、弾性線維に沿ってリンパ管が走行している。多くのリンパ管は虚脱に陥り閉塞状態にある。肺胞上皮置換型の増殖を示す部分では、リンパ管の密度が軽度上昇し、径も軽度に太くなるが、リンパ管の分岐を認めるのは稀である。肺胞隔壁の線維化がまった、中心部線維化病巣の辺縁では、リンパ管の密度が明らかに上昇し、リンパ管の径が太くなり、拡張部分も認められるようになる。リンパ管の分岐も目立つようになる。中心部線維化部分では、リンパ管はさらに拡張し、リンパ管よりはリンパ槽と表現した方がよいと思われる形態を呈する。

上記のリンパ管の形態学的変化に伴い、癌細胞がリンパ管に入りやすくなると考えられる。線維化が進むにつれて腺癌内のリンパ管が占める体積は明らかに増加し、リンパ管全体の表面積も増大すると考えられる。癌細胞がリンパ管を浸潤する機会が増加すると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Kondo R, Yoshida K, Kawakami S, Shiina T, Kurai M, Takasuna K, Yamamoto H, Koizumi T, Honda T, Kubo K, Different efficacy of CT screening for lung cancer according to histological type: Analysis of Japanese-smoker cases detected using a low-dose CT screen. Lung Cancer 査読

あり、74、2011、433-440.

DOI:10.1016/j.lungcan.2011.05.006

- ② Mochizuki I, Kubo K, Honda T, Relationship between mitochondria and the development of specific lipid droplets in capillary endothelial cells of the respiratory tract in patients with sarcoidosis、Mitochondrion、査読あり 11、2011、601-606.

DOI:10.1016/j.mito.2011.03.009

- ③ Tanabe T, Koizumi T, Tsushima K, Ito M, Kanda S, Kobayashi T, Yasuo M, Yamazaki Y, Kubo K, Honda T, Kondo R, Yoshida K, Comparative study of three different catheters for CT imaging-bronchoscopy-guided radiofrequency ablation as a potential and novel interventional therapy for lung cancer、Chest、査読あり、137、2011、890-897.
<http://chestjournal.chestpubs.org/content/137/4/890.long>

- ④ Komatsu Y, Koizumi T, Yasuo M, Urushihata K, Yamamoto H, Hanaoka M, Kubo K, Kawakami S, Honda T, Fujimoto K, Hachiya T. Malignant hepatic epithelioid hemangioendothelioma with rapid progression and fatal outcome、Intern Med、査読あり、2010、1149-1153.
https://www.jstage.jst.go.jp/article/internalmedicine/49/12/49_12_1149/_pdf

- ⑤ Sone S, Matsumoto T, Honda T, Tsushima K, Takayama F, Hanaoka T, Kondo R, Haniuda M. HRCT features of small peripheral lung carcinomas detected in a low-dose CT screening program. Acad Radiol. 査読あり、17、2009、75-83.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1076633209004474>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

本田 孝行 (HONDA TAKAYUKI)
信州大学・医学部・教授
研究者番号：80238815

(2) 研究分担者

上原 剛 (UEHARA TAKESHI)
信州大学・医学部・講師
研究者番号：80402121