

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：32645

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590242

研究課題名(和文)生理的・病的条件下におけるリンパ管小孔を介する癌の転移機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of mechanisms of cancer metastasis via lymphatic stomata under physiological and pathological conditions

研究代表者

大城 久(Oshiro, Hisashi)

東京医科大学・医学部・准教授

研究者番号：60381513

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：胸腹膜のリンパ管小孔の特徴と癌性胸腹水貯留の病態を解明するため、人体材料を病理学的に解析した結果、癌性胸腹水の有無にかかわらず、胸腔では肺靭帯に、腹腔では横膈腹膜にリンパ管小孔が多数観察され、癌細胞の両方向性の通過を可能にする小孔の構造的特徴が確かめられた。また、リンパ管小孔への癌転移は癌性胸腹水貯留の独立した予測因子であることが明らかにされた。さらに、癌性胸腹水陽性群では陰性群と比較してリンパ管小孔径や漿膜リンパ管密度が増大しており、リンパ管小孔より下流に位置する集合リンパ管やリンパ節への癌の転移頻度が高く、両方向性、逆行性、経路再選択性のリンパ行性癌進展を起こしている可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：To know characters of lymphatic stomata (LS) in the pleura and peritoneum under physiological and pathological conditions and to elucidate mechanisms of malignant pleural effusion/ascites (MPEA), human cases were pathologically examined. Regardless of the presence or absence of MPEA, a number of LS were observed in the pulmonary ligament and the diaphragmatic peritoneum. The structure that allows bi-directional flow of floating cells was confirmed among them. Multivariate analysis demonstrated that cancer metastasis to the LS is an independent and strong predictor of MPEA compared to cancer invasion or dissemination to the serosal membranes except for the pulmonary ligament and diaphragmatic peritoneum. Notably, cases with MPEA demonstrated larger diameters of LS and higher frequencies of cancer invasion into downstream lymphatics and lymph nodes compared to cases without MPEA, which may indicate the presence of bi-directional, retrograde or rerouting lymphatic spread of cancer cells.

研究分野：医歯薬学

キーワード：lymphatic stomata リンパ管小孔 逆行性リンパ行性癌転移 rerouting 癌性胸水 胸膜播種 癌性腹水 腹膜播種

### 1. 研究開始当初の背景

ヒトの癌性胸腹水貯留の病態は完全には解明されていない。研究代表者はこれまでに胸膜リンパ管小孔への癌転移がヒト癌性胸水貯留の病態に深く関与しており、癌細胞が間質という足場を失って胸腔へ出ていく場をリンパ管小孔が提供している可能性を報告してきた。しかしながら、この仮説が成立するためには、リンパ管小孔およびリンパ管内において、両方向性、逆行性、あるいは経路再選択性のリンパ行性癌進展が起こることが前提となるが、その病理学的基盤についてはほとんど調べられていない。また、この仮説が癌性腹水貯留の病態形成においても成立するか否かについてはまだ検証されていない。

### 2. 研究の目的

生理的・病的条件下における胸膜および腹膜のリンパ管小孔の機能形態学的特徴を調べ、癌性胸腹水貯留の病態とその予測因子を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

非担癌症例および担癌症例の人体材料を用いて胸腹水を含めた諸臓器の病理標本作製し、胸膜および腹膜のリンパ管小孔の機能形態学的解析を行った。担癌症例においては癌性胸腹水貯留の病態形成に関与する臨床病理学的諸因子を調べ、統計学的に解析した。また、術前あるいは生前未治療かつリンパ節転移陰性かつ他臓器転移陰性の担癌症例の臓器全割病理組織標本作製し、癌の逆行性リンパ行性進展の現象を病理組織学的に検証した。さらにまた、ヒトの癌性胸腹水貯留の病態を再現しうる実験動物をリンパ系の比較解剖学的観点から検討し、理想的なモデル動物の作製を試みた。

### 4. 研究成果

(1) 癌性胸腹水の有無にかかわらず、胸腔では肺靭帯に、腹腔では横隔膜腹膜にリンパ管小孔が多数観察された。  
(2) 生理的な状態のリンパ管小孔には隣り合うリンパ管内皮細胞同士の軽微な重なりを備えているものと、それを備えていないものが存在しており、機能形態学的に癌細胞の両方向性の通過を可能にする構造を持つリンパ管小孔の存在が確かめられた。  
(3) 癌性胸腹水陽性例では、陰性例と比較して、リンパ管小孔径が大きく、漿膜リンパ管密度が高かった。  
(4) リンパ管小孔への癌転移は癌性胸腹水貯留の優れた予測因子であることが明らかにされた。  
(5) 担癌症例の臓器全割組織標本の解析により、癌の逆行性リンパ行性進展が成立することが病理組織学的に確かめられた。  
(6) ウサギのリンパ系がマウスやラットのものよりヒトのリンパ系により近いことが示唆された。そこで enhanced green fluorescent protein を発現する継代移植可能な VX2 ウサギ担癌モデルを作製し、静脈角リンパ節に癌細胞を移植することにより、癌によるリンパのうっ滞と胸膜への多発性

転移病巣、および胸水貯留の病態を作り出すことができた。

### 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 20 件)

- (1) Oshiro H, Osaka Y, Tachibana S, Aoki T, Tsuchiya T, Nagao T. Retrograde lymphatic spread of esophageal cancer: a case report. *Medicine* (accepted for publication, June 18, 2015) (査読有).
- (2) Oshiro H, Fukumura H, Nagahama K, Sato I, Sugiura K, Iobe H, Okiyama E, Nagao T, Nagashima Y, Aoki I, Yamanaka S, Murakami A, Maegawa J, Chishima T, Ichikawa Y, Ishikawa Y, Nagai T, Nomura M, Ohashi K, Okudela K. Establishment of successively transplantable rabbit VX2 cancer cells that express enhanced green fluorescent protein. *Med Mol Morphol*. 2015 Mar;48(1):13-23. doi: 10.1007/s00795-014-0071-2 (査読有).
- (3) Yoshimura N, Saito K, Shiota N, Suzuki K, Akata S, Oshiro H, Nagao T, Sugimoto K, Tsuchida A, Tokuyue K. Two cases of sclerosing angiomatoid nodular transformation of the spleen with gradual growth: usefulness of diffusion-weighted imaging. *Clin Imaging*. 2015 Mar-Apr;39(2):315-7. doi: 10.1016/j.clinimag (査読有).
- (4) Sugimoto K, Moriyasu F, Kobayashi Y, Kasuya K, Nagakawa Y, Tsuchida A, Hara T, Iobe H, Oshiro H. Assessment of various types of US findings after irreversible electroporation in porcine liver: comparison with radiofrequency ablation. *J Vasc Interv Radiol*. 2015 Feb;26(2):279-87. doi: 10.1016/j.clinimag.2015.05.009 (査読有).
- (5) Oshiro H, Miura M, Iobe H, Kudo T, Shimazu Y, Aoba T, Okudela K, Nagahama K, Sakamaki K, Yoshida M, Nagao T, Nakaya T, Kurata A, Ohtani O. Lymphatic Stomata in the Adult Human Pulmonary Ligament. *Lymphat Res Biol*. 2014 Dec 19. [Epub ahead of print] doi: 10.1089/lrb.2014.0009 (査読有).
- (6) Oshiro H. The role of the lymphatic system in rabbit models for cancer metastasis research: a perspective from comparative anatomy. *Okajimas Folia Anat Jpn*. 2014;91(2):25-8 (査読有).

- (7) Sugimoto K, Oshiro H, Ogawa S, Honjo M, Hara T, Moriyasu F. Radiologic-pathologic correlation of three-dimensional shear-wave elastographic findings in assessing the liver ablation volume after radiofrequency ablation. *World J Gastroenterol.* 2014 Sep 7;20(33):11850-5. doi: 10.3748/wjg.v20.i33.11850 (査読有).
- (8) Umeda J, Itoi T, Sofuni A, Itokawa F, Sugimoto K, Kondo F, Furuichi Y, Oshiro H, Nagao T, Saito K, Yoshida H, Imai Y, Fukusato T, Moriyasu F. Focal nodular hyperplasia-like lesion of the liver with focal adenoma features associated with idiopathic portal hypertension. *Hepatol Res.* 2014 Oct;44(10):E309-15. doi: 10.1111/hepr.12273 (査読有).
- (9) Higuchi K, Urano M, Takahashi RH, Oshiro H, Matsubayashi J, Nagai T, Obikane H, Shimojo H, Nagao T. Cytological features of mammary analogue secretory carcinoma of salivary gland: fine-needle aspiration of seven cases. *Diagn Cytopathol.* 2014 Oct;42(10):846-55. doi: 10.1002/dc.23139 (査読有).
- (10) Kurihara T, Tsuchiya T, Ishii K, Tsuji S, Ikeuchi N, Tanaka R, Tonozuka R, Honjo M, Mukai S, Nagao T, Oshiro H, Moriyasu F. Serum p53 Antibody Is Not Associated with p53 Immunoreactivity in Patients with Pancreatobiliary Cancers. *J Oncol.* 2013;2013:170625. doi: 10.1155/2013/170625 (査読有).
- (11) Oshiro H, Odagaki Y, Iobe H, Ozu C, Takizawa I, Nagai T, Matsubayashi J, Inagaki A, Miyake S, Nagao T. Primary large cell neuroendocrine carcinoma of the ureter. *Int J Clin Exp Pathol.* 2013;6(4):729-36 (査読有).
- (12) Arai H, Okudela K, Oshiro H, Komitsu N, Mitsui H, Nishii T, Tsuboi M, Nozawa A, Noishiki Y, Ohashi K, Inui K, Masuda M. Elevated microsatellite alterations at selected tetra-nucleotide (EMAST) in non-small cell lung cancers--a potential determinant of susceptibility to multiple malignancies. *Int J Clin Exp Pathol.* 2013;6(3):395-410 (査読有).
- (13) Asai-Sato M, Oshiro H, Yamanaka S, Inayama Y, Hirahara F, Miyagi E. Reappraisal of mechanical exfoliating cytology for the detection of peritoneal dissemination during the surgical staging of epithelial ovarian carcinomas and borderline tumours. *Acta Cytol.* 2014;58(3):255-61. doi: 10.1159/000360412 (査読有).
- (14) Honjo M, Moriyasu F, Sugimoto K, Oshiro H, Sakamaki K, Kasuya K, Nagai T, Tsuchida A, Imai Y. Relationship between the liver tissue shear modulus and histopathologic findings analyzed by intraoperative shear wave elastography and digital microscopically assisted morphometry in patients with hepatocellular carcinoma. *J Ultrasound Med.* 2014 Jan;33(1):61-71. doi: 10.7863/ultra.33.1.61 (査読有).
- (15) Nagao T, Sato E, Inoue R, Oshiro H, H Takahashi R, Nagai T, Yoshida M, Suzuki R, Obikane H, Yamashina M, Matsubayashi J. Immunohistochemical analysis of salivary gland tumors: application for surgical pathology practice. *Acta Histochem Cytochem.* 2012 Oct 31;45(5):269-82 (査読有).
- (16) Sugimoto K, Moriyasu F, Negishi Y, Hamano N, Oshiro H, Rognin NG, Yoshida T, Kamiyama N, Aramaki Y, Imai Y. Quantification in molecular ultrasound imaging: a comparative study in mice between healthy liver and a human hepatocellular carcinoma xenograft. *J Ultrasound Med.* 2012 Dec;31(12):1909-16 (査読有).
- (17) Miyashita R, Chen L, Oshiro H, Uchino H, Shibasaki F. Int6 silencing causes induction of angiogenic factors in neuronal cells via accumulation of hypoxia-inducible factor 2 and decreases brain damage in rats. *Neurosci Lett.* 2012 Oct 18;528(1):83-8. doi: 10.1016/j.neulet.2012.08.033 (査読有).
- (18) Kasuya K, Oshiro H, Saito K, Suzuki Y, Kikuchi S, Kyo B, Matsudo T, Nagakawa Y, Itoi T, Tsuchida A. Comparison of preoperative images with gross and histopathological findings of liver slices in patients with liver metastases from colorectal cancer after chemotherapy. *Hepatogastroenterology.* 2012 Jun;59(116):981-5. doi: 10.5754/hge12197 (査読有).
- [学会発表] (計 24 件)
- (1) 小池悦子, 大城久, 松林純, 三宅真司, 片桐仁子, 渡部顕章, 鈴木恵美子, 磯本愛子, 石原里佳子, 長尾俊孝. 悪性心嚢液貯留を予測する因子の検討. 第 28 回関東

臨床細胞学会学術集会 . 2014 年 9 月 13 日, ふじのくに千本松フォーラム(静岡県沼津市).

- (2) 小池悦子, 大城久, 松林純, 三宅真司, 片桐仁子, 渡部顕章, 鈴木恵美子, 磯本愛子, 石原里佳子, 長尾俊孝. 心嚢液細胞診の臨床病理学的検討. 第 55 回日本臨床細胞学会総会, 2014 年 6 月 6 日-7 日, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市)
- (3) Arai H, Okudela K, Oshiro H, Komitsu N, Fujii K, Tsuboi M, Masuda. Elevated microsatellite alterations at selected tetranucleotide (EMAST) in non-small cell lung cancers. 15<sup>th</sup> World Conference on Lung Cancer (IASLC 2013), 2013 Oct 27-30, Sydney (Australia).

(図書) (計 1 件)

(1) 大城久. 文光堂, 頭頸部腫瘍 I. 腫瘍鑑別診断アトラス, 2015 年, 247(57-61).

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

大城 久 (Oshiro, Hisashi)  
東京医科大学・医学部・准教授  
研究者番号: 60381513

### (2) 研究分担者

長尾 俊孝 (Nagao, Toshitaka)  
東京医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 90276709

奥寺 康司 (Okudela, Koji)  
横浜市立大学・医学部・講師  
研究者番号: 10326027

### (3) 連携研究者

大谷 修 (Ohtani, Osamu)  
東京医科大学・医学部・客員教授  
研究者番号: 90127548

三浦 真弘 (Miura, Masahiro)  
大分大学・医学部・講師  
研究者番号: 50199957

### (4) 研究協力者

芹澤 博美 (Serizawa, Hiromi)  
東京医科大学・医学部・准教授