ヒト舌癌の微小血管構築

大道 卓也, 渡辺 周一, 井口 郁雄, 増田 游 (岡山大)

MICROVASCULAR ARCHITECTURE OF THE HUMAN TONGUE CARCINOMA —A SCANNING ELECTRON MICROSCOPIC STUDY—

TAKUYA OHMACHI, M.D., SYUICHI WATANABE, M.D., IKUO INOKUCHI, M.D.
and YU MASUDA, M.D.

Department of Otolaryngology, Okayama University Medical School, Okayama

Vascular architecture of tumors in experimental animals has been studied in detail. However, the reports on architecture of the capillaries in human carcinoma in the head and neck regions are few nowadays.

In this paper architecture of the blood vessels reproduced by using methacrylate casting medium in human carcinoma of the tongue was studied by scanning electron microscopy. Tortuous capillaries and loop-like vessels were observed at the proliferative area of the tumor on the surface of the tongue. There were avascular zones around the vessels of the tumor characterizing irregular proliferation. The vessels of sinusoidal, tapering, distorted and disrupted characters were seen in the muscle layer of the tongue. Ruptured vessels and viable tumor-cells were observed at the areas surrounding necrotic lesions.

These findings elucidated combination of various kinds of architectures of vessels in various stages of tumor-growing. Existence of the avascular area suggests that proliferation of tumor-cells proceeds before proliferation of the capillaries. Both avascular and necrotic changes in the structure might reduce the effects of anti-cancer agents.

Key words: 走査電顕, ヒト, 舌癌, 血管構築

A94—1872—42311

はじめに

腫瘍血管については古くは Virchow ら¹⁾により、血管の増生、毛細血管の蛇行、拡張など、その特徴が報告されている。さらに、多くの研究者^{2)~8)}により腫瘍の増殖、転移、治療に関して腫瘍血管の重要性が報告されてきた。また、実験的腫瘍、すなわち、実験動物での腫瘍の微小循環に関しては3次元構築を含めて多数報告^{2)6)~9)}が見られるものの、耳鼻咽喉科領域でのヒトの悪性腫瘍の3次元血管構築に関しては Miodonski ら¹⁰⁾の喉頭癌での報告のみである。しかし、彼らの報告では血管構築と腫瘍組織および周辺組織との関係について不明の点も少なくない。今回、著者らは樹脂注

入組織を用い、すなわち、Murakami 法¹¹⁾によりヒト舌癌の微小血管構築を観察し、その部に相当する光学顕微鏡所見と比較検討したので若干の文献的考察を加えて報告する。

材料と方法

T2N0M0 の高分化型の舌扁平上皮癌症例(図1)で舌半切および患側根治的頸部郭清術、健側上頸部郭清術を施行した。摘出後直ちに舌動脈より生食を灌流し、つづいてメルコックスを注入し、5分間、室温に放置後、2.5% glutaraldehyde 液に浸し、その後、20% NaOH で12時間腐食したのち、12時間流水中で洗浄、

図1 初診時

次に中性洗剤に浸し60°Cの恒温器中で12時間放置後、再度、流水にて洗浄、凍結乾燥し、血管鋳型標本を作製し、イオンスパッタ法にて金蒸着し、走査型電子顕微鏡(JSM-U3)にて観察した。病理組織については血管鋳型作製部分にできるだけ近い切断部分の組織を型のごとくパラフィン包埋し、HE染色後、光学顕微鏡で観察した。

結 果

安全域として摘出され、光学顕微鏡切片でも腫瘍の浸潤がないことが確認された部位、すなわち、正常ヒト舌の血管構築では舌背部(D)の乳頭部に粘膜固有層を舌背部にそって走行する舌動脈の分枝から数本の毛細血管が舌背とは垂直方向に走行するのが観察された。さらに内方では骨格筋層(M)の毛細血管網が、筋の走行に垂直方向に切断された場合には毛細血管の束(a)として、水平方向に切断された場合は索状(b)に走行する毛細血管網として観察されたが、正常部では、いずれの場合も規則正しい走行をとっていた(図2)。正常舌の粘膜固有層を拡大すると粘膜下層の動脈枝から乳頭に沿って舌背に対して垂直方向に毛細血管を分枝し、その後いわゆる“crown-like capillary network (CCN)”を形成した(図3左)。さらにその部を表層から観察すると乳頭部の毛細血管網の規則正しい走行が認められた(図3右)。舌表面で潰瘍を形成し、持続的な出血の認められた部分では、組織学的には大小口径の違う毛細血管が散在し、その周辺に核の異型

図2 ヒト舌血管網の切断面
 ◁舌動脈分枝
 ≧舌静脈分枝

図3 正常舌背部血管網
◁舌動脈の分枝

図4 舌癌性潰瘍形成部の血管網と組織像
◁舌動脈分枝
⇔—⇔ avascular zone

性を示す腫瘍細胞が mass を形成していた(図4右)。この部分に相当する血管構築では、舌背に対して垂直方向の毛細血管網が認められず、粘膜下層の舌動脈の枝が腫瘍中心部分より放射状に走行し、途中では分枝せず、末梢にいくにしたがって太さの違う細枝となり、さらに毛細血管となり、これらが互いに吻合し腫瘍毛細血管網を形成していた。この血管網の外側には血管網の認められない明らかな分離帯“avascular zone”が存在していて、その周辺部で規則正しく併走する舌筋の毛細血管網とは明らかに違った形態をしていた

(図4左)。腫瘍増殖部の辺縁には蛇行あるいは回転しながら走行する豊富な毛細血管構築が観察され、その外側には avascular zone があり(図5左)、組織像(図5右)では artifact があるものの腫瘍進展部の外側にこの部に相当する部分も観察された。腫瘍血管網を拡大すると、栄養動脈からは多くの毛細血管が分枝し、それが他の動脈から分枝した毛細血管と互いに吻合していた(図6上)。毛細血管そのものを拡大すると直径 $2.6\mu\text{m}$ – $5.3\mu\text{m}$ で激しく蛇行しながら腫瘍内および周辺をとりまいていた。さらに、この部の毛細血管には血

図5 舌癌毛細血管網と avascular area との関係
 ◁舌動脈分枝
 ⇄→ avascular zone

管内皮細胞の核の imprint も認められた(図6左下)。一方、腫瘍血管網の中で周辺に足をだすようにのびていく毛細血管構築も観察された(図右6下)。腫瘍増殖部には mass の周辺を蛇行していくのではなく毛細血管1本1本が頂点を作るように蛇行あるいは回転して腎の糸球体の毛細血管網に似ている部分も観察された(図7上右左)。これを組織切片上で観察すると腫瘍組織のなかで螺旋状になっている血管が断面として認められた(図7下)。次に舌深部を観察すると筋層の毛細血管の配列が乱れ、拡大すると腫瘍の中心部(◁)は勿論、周辺部の毛細血管にも蛇行(◁)が認められ腫瘍血管への変化を思わせた。腫瘍中心部と周辺には毛細血管網の avascular zone が存在した(図8上)。この舌深部の組織切片では核が大きく異型性のある腫瘍細胞の mass の辺縁部には血管の疎な部分があり、avascular zone はこの部に相当すると思われた(図8下)。舌深部ではさらに壊死に陥っている部分もあり、正常部分の筋層も血管構築(図9左上)と比較すると血管自体が脆弱になっているためか、所々に樹脂の漏れが見られ(図9右上)、漏れない血管では太さが $3.13\mu\text{m}$ – $15.6\mu\text{m}$ までの扁平で不規則な、いわゆる、洞様毛細血管構築をとっていた。また、一部には完全壊死のため窪みとなっている部分も認められた(図9右上N)。

考 察

腫瘍に分布する血管は、腫瘍から出される血管新生因子(TAF: tumor angiogenesis factor)によって増生していくと考えられている⁵⁾¹²⁾。腫瘍の存在する部位には激しい血管の増生が見られ、血管の分布、超微形態、腫瘍細胞との関係について研究が行われてきた¹³⁾¹⁴⁾。しかし、動物はともかくとしてヒトの腫瘍血管については、組織切片による観察や造影剤による観察など主として2次元的な観察であり、3次元的な観察はほとんど行われていない。今回、著者らは舌扁平上皮癌摘出の際に得られた血管つき組織を使用して、腫瘍血管の立体的構築と組織切片との比較検討を行った。

今回の舌癌症例では Yamamura ら¹⁴⁾の rat hepatoma の発育で段階的にみられた毛細血管網の増生、静脈の扁平化、細動脈の拡張、毛細血管の洞様化などがすべて認められ、混在していた。初診時に出血していた舌表面潰瘍形成部の組織切片では、腫瘍細胞の mass とその中に分布する血管網が多数の小孔として存在するのが認められたが、これを鋳型で観察すると、放射状に走行する舌動脈の分枝が蛇行しながら、激しい毛細血管の増殖を示していた。走行の途中に口径を変えながら腫瘍組織に分布し、血管が腫瘍細胞を取り囲んでいる様子がよく理解できた。また、毛細血

図6 舌癌潰瘍形成部の毛細血管とその拡大舌癌潰瘍形成部の毛細血管とその拡大写真
右下図⇐ imprint

管が螺旋状に走行している周辺に腫瘍細胞がある場合、周辺の筋層の毛細血管と連続して徐々に蛇行を始めている腫瘍毛細血管網もあり、腫瘍細胞の増殖のしかたによる変化と思われた。血管鋳型では、腫瘍血管網と周辺筋層の毛細血管網との間に明らかな分離帯が存在する場合があります、この所見は Tannok ら¹⁵⁾¹⁶⁾のいう腫瘍細胞が増殖すると辺縁腫瘍細胞と腫瘍血管との間隔が延長したためと思われる。しかしこれらの血管構築から考えれば、腫瘍中心部のように多数の血管の存在する場合は抗癌剤が高濃度に腫瘍細胞に到達するが、この分離帯部のように血管のない部分では抗癌剤の到達量が少ない可能性があり、化学療法の効果の違いを生じるのかもしれない。種々の腫瘍の増殖のしかたがあるにせよ腫瘍の蛇行する血管構築は血圧の

変化に対する緩衝作用が予想され、組織への一定の血流を保つとともに、多くの腫瘍細胞への栄養、ガス交換に有利な構築と考えられた。腫瘍血管は細胞学的に血流あるいは血圧の自動調節能がなく、angiotensin による選択的腫瘍血圧の増加により、腫瘍組織への抗癌剤の取り込みが増加すると報告されている¹⁷⁾。しかし、毛細血管が回転あるいは蛇行という構造的な緩衝効果をもっていることは、腫瘍細胞への周辺毛細血管からの血流変化、すなわち、血流増加も妨げられるのではないかと考えられた。

マウス乳癌による腫瘍血管の発育についての研究⁷⁾や実験的脳神経膠腫の血管では、幼若な形態をとり¹³⁾、新生血管の形成過程を示す bud が観察されたとの報告が見られるが、今回の観察では鋳型上では形態的に

図7 腎糸球体

腎の糸球体の毛細血管と類似した血管構築

△△腎の毛球体の毛細血管に類似した毛細血管

は完成した毛細血管がほとんどで、一部に血管の新生過程を示す bud を思わせる毛細血管が壊死組織の中に認められたのみであった。

また、腫瘍の急速な増殖により間質が圧迫され、組織学的に壊死を起こしている周辺では、正常部分の筋層の血管構築と比較すると、血管自体が脆弱あるいは断裂しているためか所々に樹脂の漏れがみられた。組織学的には、これらの壊死の周辺には viable cell が依然存在し、さらに切片上から断裂した血管を同定できなかったが、おそらく壊死部周辺には鋳型で示したような断裂血管あるいは脆弱血管が存在し、壊死周辺の viable な腫瘍細胞がこの断裂あるいは脆弱部より侵入する可能性を示した。また、同時に viable cell があるにもかかわらず、断裂のために薬剤の到達が不確実になり、化学療法による効果が減少している可能性も

示唆された。

まとめ

1. ヒト舌癌の微小血管構築では、動物実験で観察される腫瘍細胞の種々の発育段階の毛細血管が認められた。
2. 舌癌の毛細血管の螺旋状の蛇行や回転は、腫瘍細胞のガス交換や栄養供給には有利な形態と考えられた。
3. 増殖する腫瘍血管の周辺に avascular zone が存在することは、腫瘍細胞の増殖に続いて血管の増殖が起こっている可能性を示した。
4. 腫瘍細胞周辺の avascular zone および腫瘍細胞の増殖による舌深部における毛細血管の断裂は、化学療法の効果を減じている可能性を示した。

図 8

◁蛇行する毛細血管

⇐→ avascular area

参考文献

- 1) Virchow R: Die Krankhaften Geschwulste. Berlin, August Hirschwald, 1863.
- 2) Nakadate T, Suzuki M, Sato H: Quantitative study on the Liberation of tumor cells into the circulation blood. Gann 70: 435-446, August, 1979.
- 3) 鈴木磨郎: 悪性腫瘍と微小循環—悪性腫瘍における脈管の態度—シンポジウム 3 脈管学 19 (4): 233-236, 1979.
- 4) 鈴木磨郎: 腫瘍内循環と化学療法. 癌と化学療法 5 (Suppl): 77-80, 1978.
- 5) Ausprunk DH, Folkman J: Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. Microvascular Research 14: 53-65, 1977.
- 6) Folkman J: How is blood vessels growth regulation in normal and neoplastic tissue? G.H.A. Clowes memorial award lecture. Cancer Research 46: 467-473, 1986.
- 7) 松山正春: 実験動物腫瘍の微小血管構築とその形態計測に関する研究. 岡山医学会誌 90: 697-716, 1978.
- 8) 松島典彦: 実験的舌癌における血管構築ならびに腫瘍血管の超微構造. 日口外誌 28: 175-191, 1982.
- 9) Breedis C, Young G: The blood supply of neoplasms in the liver. Am J Pathol 30: 969-984, 1954.
- 10) Miodonski A, Kus J, Olszewsky E et al: Scanning electron microscopic studies on the blood vessels in cancer of the larynx. Arch otolaryngol 106: 321-332, 1980.
- 11) Murakami T: Application of the SEM to the study

図9 正常(左)および癌浸潤(右)部の舌筋層の毛細血管構築
N: 壊死部

- of the fine distribution of the blood vessels. Arch Histol Jpn 32: 445-454, 1971.
- 12) Folkmann J, Hochoerg M: Self-regulation of growth in three dimensions. J Exp Med 138: 745-753, 1983.
 - 13) 吉田泰二: 実験的膠腫内微小血管の立体像—胎仔, 新生仔期の脳血管形成との関連—. 脳神経 35: 619-627, 1983.
 - 14) Yamamura H, Sato H: Quantitative studies on developing vascular system of Rat hepatoma. Journal of the national cancer institute 53: 1229-1240, 1974.
 - 15) Tannok I F: The relation between cell proliferation and vascular system in a transplanted mouse mammary tumor. Br J Cancer: 22: 258-273, 1968.
 - 16) Tannok I F: Quantative techniques of study of the anatomy and function of small blood vessels. J Nat Cancer Inst 42: 771-782, 1969.
 - 17) 鈴木磨郎, 堀 勝義, 阿部郁夫: Angiotensin 2 を利用する癌化学療法の効果増強. 癌と化学療法 8: 673-680, 1981.

(1991年 5月2日受稿 1991年 7月1日受理)

別刷請求先 〒700 岡山市鹿田町2-5-1

岡山大学医学部耳鼻咽喉科学教室 大道卓也