前立腺癌脈管侵襲と骨転移の相関

前立腺全摘33例の病理・組織化学的考察

東京大学医学部泌尿器学教室 (主任: 新島端夫教授)

原

慎

CORRELATION OF VESSEL INVASION AND BONE METASTASIS IN PROSTATIC ADENOCARCINOMA

A Clinico-Pathological and Immunohistochemical Study of 33 Cases of Total Prostatectomy

Makoto Hara

Department of Urology, Faculty of Medicine, The University of Tokyo

(Director: Prof. Tadao Nijima)

Thirty three cases of prostatic adenocarcinoma treated by total perineal prostatectomy were studied clinicopathologically and immunohistochemically. There were 17 patients with clinical stage B, 12 with stage C and 8 with stage D. Interrelationship of tumor grade, surgical local tumor extent, vessel invasion, perineural invasion and bone metastasis was examined. For the identification of the vessel invasion, Ulex europaeus agglutinin I was adopted immunohistochemically. Tumor grade and local tumor extent were respectively correlated with bone metastasis. Vessel invasion was correlated with local tumor extent. Eight of 18 cases (44%) with vessel invasion and none of 15 cases without vessel invasion had bone metastasis. Although correlated with grade, perineural invasion had no significant effect on bone metastasis. The investigation of tumor staining used by monoclonal antibody for prostatic acid phosphatase (PSAP) disclosed that negative stained cases were associated with lower grade tumors and that one of 14 positive stained cases (7%) and 7 of 19 negative stained cases (36%) had bone metastasis. We concluded that vessel invasion may be a new prognostic pathological parameter and that monoclonal PSAP staining is also a useful method to predict malignant potential of prostatic cancer.

キーワード: 前立腺癌, 骨転移, 脈管侵襲

要旨: 1977年から1985年までの13年間の東京大学泌尿器科学教室並びに関連施設における前立腺癌全摘症例33例について病理組織学ならびに組織化学的検討をおこなった。各種病理組織学的所見と骨転移の有無の相関を検討した。その結果, 分化度とpTが骨転移と有意の相関を示した。脈管侵襲はpT1-2の15例中4例(27%), pT3-4の18例中11例(61%)に認められ, 骨転移の認められない25例中10例(40%), 骨転移が認められた8例中全例に認められた(χ^2 検定でそれぞれ $p < 0.05$, $p < 0.01$ の相関)。即ち脈管侵襲は骨転移を規定する因子であることが示唆された。神経線維周囲侵襲は分化度と相関していたが, 骨転移には影響を及ぼさなかった。

なお脈管侵襲の判定にはUlex europaeus agglutinin Iによる染色を併用し, 内皮細胞の染色性を参考にした。

組織化学的にMonoclonal抗体によるProstatic acid phosphatase (前立腺性酸性ホスファターゼ)染色の検討を行った。染色陰性例は推計学的に中・低分化型に多く, かつ骨転移例に多くみられた。

緒 言

本邦で行われている前立腺癌の治療は、現在内分泌療法が主であり、大きな成果をあげているが¹⁾、再燃・進行という問題が残されている。一方、前立腺全摘除術は、局所再発の防止、ひいては根治的治癒を期待できること、局所進展度が正確に判定できること、小切片生検組織に比べ、広範囲に種々の検討を行い得ることなどの利点がある。本邦においては全摘除術の適応となる症例が欧米に比して少なく、従って本格的な組織学的検討は極めて希であるが、今後前立腺癌の発生増加に伴い全摘除術の重要性は増すものと思われる。今回33例の全摘標本が得られたので、病理組織学的及び組織化学的所見と骨転移との相関を検討した。

対象及び方法

症例は術前針生検等で腺癌と診断された33例で、全例未治療の新鮮例である。初診時年齢は52歳から82歳で、平均71.9歳(±6.6)であった。全摘例の術前局所進展度(T)は、前立腺癌取扱規約²⁾に則り、触診、尿道造影、排泄性尿路造影などにより判定した結果、T1: 7例, T2: 12例, T3: 14例, T4: 0例であった。術前臨床病期は、局所所見と骨単純X線写真、骨シンチスキャンより判定した結果、A: 0例, B: 17例, C: 8例, D: 8例であった。29例に会陰式前立腺全摘除術、2例に会陰式と恥骨後式を組み合わせた前立腺全摘除術、2例に膀胱前立腺全摘除術を行った。標本は、摘除後直ちにホルマリン固定し、パラフィン包埋した。最低4~5ブロックを5 μ mに薄切し、以下の検討を行った。なお組織化学的検討において、膀胱全摘除術10例より得られた前立腺正常組織標本を対照として用いた。

病理組織学的検討

薄切標本をhematoxylin eosin (HE) 染色し、分化度、病理組織学的局所進展度(pT)は前立腺癌取扱規約²⁾に則って判定した。尿管(血管・リンパ管)侵襲、神経線維周囲侵襲(perineural invasion)(図1)を判定し、上記の因子相互の関連と、諸因子と術前確定された骨転移との相関を検討した。なお尿管侵襲の判定には、尿管内皮細胞がUlex europaeus agglutinin I (UEA)で染色される事³⁾を利用して、組織間隙と尿管との鑑別を行った。(後述)

組織化学的検討

全てAvidin Biotin Peroxidase Complex (ABC) 法による染色を行った。(ABC Kit: Vector 社)
prostatic acid-phosphatase (PSAP) 染色

図1 神経線維周囲腔内の腫瘍細胞塊。H.E. $\times 100$

PSAP に対する monoclonal 抗体 (M-PSAP 抗体) を用いて染色した。薄切切片を脱パラフィン化した後、0.3% H₂O₂ 加メタノールにて、室温30分間処理し、内因性ペルオキシダーゼ活性を阻止した。正常馬血清で20分間処理して、非特異的吸着を防止した後、M-PSAP 抗体 (Biogenix 社) を室温2時間反応させた。ついでビオチン化抗 PSAP マウス血清で30分間処理後、ABC にて30分間室温反応させた。3,3'-diaminobenzidine で発色させ、メチルグリーンで核染色し、型通り脱水包埋し鏡検した。1次抗体のかわりに、トリス緩衝液を用いたものを対照とした。面積比で前立腺癌細胞の30%以上が染まっているものを陽性と判定した⁴⁾。

UEA を用いた尿管壁染色

脱パラフィン化から非特異的吸着防止までは先の PSAP 染色と同様の手順で行った。UEA (Vector 社製) をトリス緩衝液 (pH 7.5) で500倍に希釈し (10 μ g/ml) 標本と室温2時間反応後、ビオチン化抗 UEA 山羊血清 (Vector 社製) を Tris-buffer で500倍に希釈し (10 μ g/ml) 30分間室温で反応させた。その後の処置は PSAP 染色の ABC 反応以降と同様に操作した。UEA のかわりにトリス緩衝液を用いたものを対照とした。

結 果

病理組織学的検討

分化度と pT は推計学的に有意の相関を示した (χ^2 検定で $p < 0.05$) (表1)。尿管侵襲は pT 及び神経線維周囲侵襲と相関を示した (表2, 表3)。また高分化型9例中2例 (22%), 中分化型6例中5例 (83%), および低分化型18例中11例 (61%) にそれぞれ尿管侵襲が認められ、高分化型では尿管侵襲が少ない傾向がみ

表 1 分化度と pT との関係

分化度 pT	高分化型	中分化型	低分化型	計
pT1-2	7	1	7	15
pT3-4	2	5	11	18
計	9	6	18	33

p<0.05で相関あり

表 2 pT と脈管侵襲との関係

脈管侵襲 pT	pT1-2	pT3-4	計
無	11	4	15
有	4	14	18
計	15	18	33

p<0.01で相関あり

表 3 神経周囲侵襲と脈管侵襲との関係

神経線維周囲 侵襲 脈管侵襲	無	有	計
無	8	7	15
有	3	15	18
計	11	22	33

p<0.05で相関あり

表 4 分化度と神経線維周囲侵襲との関係

分化度 侵襲	高分化型	中分化型	低分化型	計
無	6	0	5	11
有	3	6	13	22
計	9	6	18	33

p<0.05で相関あり

表 5 分化度と骨転移との関係

分化度 骨転移	高分化型	中分化型	低分化型	計
無	9	4	12	25
有	0	2	6	8
計	9	6	18	33

p<0.05で相関あり

表 6 pT と骨転移との関係

pT 骨転移	pT1-2	pT3-4	計
無	14	11	25
有	1	7	8
計	15	18	33

p<0.05で相関あり

表 7 脈管侵襲と骨転移の関係

脈管侵襲 骨転移	無	有	計
無	15	10	25
有	0	8	8
計	15	18	33

p<0.01で相関あり

表 8 PSAP 染色所見と分化度との関係

分化度 PSAP	高分化型	中分化型	低分化型	計
陽性	7	2	5	14
陰性	2	4	13	19
計	9	6	18	33

p<0.05で相関あり

表 9 PSAP 染色所見と骨転移との関係

PSAP 骨転移	陽性	陰性	計
無	13	12	25
有	1	7	8
計	14	19	33

p<0.05で相関あり

襲(表 7)であった。

組織化学的検討

PSAP 染色

陽性例では腺癌細胞胞体内に均一に染まる(図 2)。M-PSAP 染色と分化度との関係を表 8 に示す。分化度の低いものが陰性例に多く、推計学的に有意であった。また陰性例と骨転移との相関を認めた(表 9)。その他の組織学的所見との関連は認められなかった。なお正常前立腺組織は全例陽性であった。

UEA 染色による脈管壁の同定

血管は陽性に染まり、リンパ管はやや染色性が減弱

られたが、推計学的には有意差は無かった。神経線維周囲侵襲は分化度と相関を示した(表 4)。骨転移と相関を示したのは分化度(表 5)、pT(表 6)及び脈管侵

図 2a 高分化型腺癌. M-PSAP 染色にて胞体は均一かつ広範に染まる. ×200

図 2b 低分化型腺癌. M-PSAP 染色にて胞体はほとんど染色されない. ×100

図 3 脈管内(静脈)の腫瘍細胞塊. UEA 染色にて脈管(静脈)内皮が染色されている. ×100

図 4 脈管内(リンパ管)の腫瘍細胞塊. UEA 染色にて脈管(リンパ管)内皮は淡く染っている. ×100

図 5a 組織間隙腔の腫瘍細胞塊. H.E. ×100

図 5b 組織間隙腔の腫瘍細胞塊. UEA 染色にて腫瘍塊の周囲の管腔壁は全く染色されないが、混在する毛細血管内皮は強く染色されている. ×100

する傾向にあった。すなわち腫瘍細胞によって侵襲された脈管（血管・リンパ管）と他の間隙腔は鑑別が可能であった（図3～5）。

考 察

前立腺癌の組織学的分化度と局所進展度の間には密接な関連があり、また各々が転移・予後を左右する因子であるとの報告がなされている⁵⁾⁶⁾。今回の検討でも、分化度、pT、骨転移の間に推計学的に有意の相関を認め従来の報告と一致した。我々の検討した症例中には低分化型でもT1、T2の症例が相当数含まれていた（表1）。その理由として、今回は骨盤内廓清を行っていないため、pT1、pT2の症例に骨盤内リンパ節転移例が含まれていた可能性がある。Kramerらの報告ではGleason score 8以上の55例のうち52例がsurgical stage D₁であった⁶⁾。今後術前生検で低分化型またはGleasonの分類でhigh scoreであった場合、たとえ局所道展度が低くても、手術適応には慎重な検討が必要と考える。

脈管侵襲と悪性腫瘍の関係について、他臓器での報告は多く⁷⁾⁹⁾、泌尿器科領域では膀胱腫瘍の予後との関連が知られているが¹⁰⁾、最近Moriyamaらは、睾丸腫瘍においても転移に対する脈管侵襲の重要性を報告している¹¹⁾。前立腺癌骨転移との関連についての報告はほとんどみられない。その理由とし尿管腔や組織間隙の腫瘍塊と脈管侵襲の鑑別が難しい為と思われる。脈管の同定には一般的にはHE染色標本でなされてきた。しかし近年UEAが血管内皮に特異的に染まることにより、これをもちいた脈管の同定や、脈管内腫瘍細胞侵襲の検索が行われるようになった³⁾。今回前立腺癌においても脈管侵襲の診断の補助になり得ると思われた。また脈管侵襲はpTおよび骨転移と関連しており、脈管侵襲の有無は、前立腺癌の病期進展を推定するうえで重要な因子であることが示唆された。一方分化度とは相関がなかったが、この点に関しては症例数を増やして検討する必要があると思われる。

神経線維周囲腔（perineural space）と前立腺癌骨転移の関連については、当初perineural lymphaticsより骨盤内リンパ節への腫瘍進展が考えられた¹²⁾。その後、動物実験によりこの説は否定され¹³⁾、電顕学的に神経線維周囲腔の上皮は微小血管の特徴を持つことが認められた¹⁴⁾。Byarらの報告¹⁵⁾でも予後とは関連がないとされる。今回の検討でも骨転移との関連はなかったが、組織分化度や脈管侵襲との相関が認められた。その理由として、神経線維周囲腔の抵抗性が弱く、組織

分化度の進行と共に腫瘍侵襲が比較的早期に起こるが前立腺外への経路を持たない為と思われる。

PSAPの組織化学的研究はPontes, Burns. らによって始められ¹⁶⁾¹⁷⁾、前立腺原発の転移性癌の診断に有用であることが確かめられている¹⁸⁾¹⁹⁾。近年、前立腺組織中のPSAP局在や前立腺癌組織分化度の染色性についての研究が盛んになり分化度と染色性との間に相関がみられたとの報告が多いが²⁰⁾²¹⁾、否定する報告もあり²²⁾一致していない。

現在までの報告はpolyclonal抗体を用いた研究であり、染色性に差異があったとしてもその判定は非常に難しいと考える。monoclonal抗体を使用した報告はShevchukら²³⁾の報告以外殆どみられない。今回の検討ではM-PSAP陰性例が低分化型に多く、かつ骨転移例に多いことを推計学的に認め、M-PSAPの組織化学的検討は前立腺癌の予後を予測する上で有力な手段となり得ると思われた。

結 語

前立腺癌全摘33例を対象とし、各種病理学的所見と骨転移との関連を検討し、Prostatic acid phosphataseのmonoclonal抗体及びUlex europaeus agglutinin IとArachis hypogaea（ピーナッツ凝集素）を用いた染色を行ない、病理組織学的所見及び骨転移との関連を検討した。

1) 組織分化度と病理組織学的局所進展度(pT)の間には相関があり、また各々骨転移と有意の相関を認めた。

2) 脈管侵襲はpTならびに、骨転移とよく相関し、予後を左右する大きな因子であることが考えられた。

3) 神経線維周囲腔侵襲は分化度と脈管侵襲とそれぞれ相関があったが、骨転移には影響を及ぼさなかった。

4) monoclonal抗体を用いたProstatic acid phosphatase染色は、低分化型や骨転移例に陰性例が多く、両者との相関を認めた。

稿を終るにあたって、御指導、御校閲を賜った恩師新島端夫教授、御助言を賜った梅田 隆助教授、並びに病理・組織染色等で御協力を賜った教室の森山信男博士、谷口 淳先生に深甚なる謝意を表します。

文 献

- 1) 高安久雄, 小川秋実, 小磯謙吉, 小峰志訓, 石井泰憲: 前立腺癌の治療成績. 日泌尿会誌, 69, 426—435, 1978.
- 2) 日本泌尿器学会, 日本病理学会編: 前立腺癌取扱規約. 金原出版, 1985.
- 3) Fujime, M., Lin, C-W. and Prout, G.R. Jr.:

- Identification of vessels by lectin immunoperoxidase staining of endothelium: Possible applications in urogenital malignancies. *J. Urol.*, 131, 566—570, 1984.
- 4) Giraldo, A.A., Rudy, S.G. and Humes, J.J.: Blood group antigens in urothelium in transitional cell carcinoma. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 13, 307—314, 1983.
 - 5) Sharkey, F.E., DuSenbery, D.M., Moyer, J.E. and Barry, J.D.: Correlation between stage and grade in prostatic adenocarcinoma. *J. Urol.*, 132, 602—605, 1984.
 - 6) Kramer, S.E., Spahr, J., Brendler, C.B., Glenn, J. F. and Paulson, D.F.: Experience with Gleason's histopathologic grading in prostatic cancer. *J. Urol.*, 124, 223—225, 1980.
 - 7) Friedell, G.H., Steiner, G. and Kistner, R.W.: Prognostic value of blood vessel invasion in cervical cancer. *Obstet. Gynecol.*, 29, 855—857, 1967.
 - 8) Buckwalter, J.A. and Kent, T.H.: Prognosis and surgical pathology of carcinoma of the colon. *Surg. Gynecol. Obstet.*, 136, 465—472, 1973.
 - 9) Weigand, R.A., Insmberg, W.H., Russo, J., Bremman, M.J., Rich, M.A. and the Breast Cancer Prognostic Study Associates: Blood vessel invasion and axillary lymph node involvement as prognostic indicator for human breast cancer. *Cancer*, 50, 962—969, 1982.
 - 10) Slack, N.H. and Prout, G.R. Jr.: The heterogeneity of invasive bladder carcinoma and different responses to treatment. *J. Urol.*, 123, 644—652, 1980.
 - 11) Moriyama, N., Daly, J.J., Keating, M.A., Lin, C. W. and Prout, G.R.: Vascular invasion as prognosticator of metastatic disease in non-seminomatous germ cell tumors of the testis. *Cancer*, 56, 2492—2498, 1985.
 - 12) Graves, R.C., Warren, S. and Harris, P.N.: Osseous metastases of carcinoma of the prostate with special reference to the perineural lymphatics. *Trans. Amer. Ass. Genitourin. Surg.*, 29, 179—205, 1936.
 - 13) Rodin, A.E., Larson, D.L. and Roberts, D.K.: Nature of the perineural space invaded by prostatic carcinoma. *Cancer*, 20, 1772—1779, 1967.
 - 14) Hassan, M.O. and Maksem, J.: The prostatic perineural space and its relation to tumor spread. An ultrastructural study. *Am. J. Surg. Pathol.*, 4, 143—148, 1980.
 - 15) Byar, D.P. and Mostofi, F.K.: Carcinoma of the prostate: Prognostic evaluation of certain pathologic features in 208 radical prostatectomy by step-section technique. *Cancer*, 30, 5—13, 1972.
 - 16) Pontes, J.E., Choe, B., Rose, N. and Pierce, J.M., Jr.: Indirect immunofluorescence for identification of prostatic epithelial cell. *J. Urol.*, 117, 459—463, 1977.
 - 17) Burns, J.: Prostatic acid phosphatase in tissue sections revealed by the unlabelled antibody peroxidase-antiperoxidase method. *Biomedicine*, 27, 7—10, 1977.
 - 18) Li, C.Y., Lam, W.K.W. and Yam, L.T.: Immunohistochemical diagnosis of prostatic cancer with metastasis. *Cancer*, 46, 706—712, 1981.
 - 19) Nadji, M., Tabei, S.Z., Castro, A., Chu, T.M. and Morales, A.R.: Prostatic origin of tumors. An immunohistochemical study. *Amer. J. Clin. Pathol.*, 73, 735—739, 1980.
 - 20) Pontes, J.E., Rose, N.R., Ercole, C. and Pierce, J. M., Jr.: Immunofluorescence for prostatic acid phosphatase. Clinical application. *J. Urol.*, 126, 187—189, 1981.
 - 21) Bates, R.J., Chapmen, C.M., Prout, G.K. Jr. and Lin, C.W.: Immunohistochemical identification of prostatic acid phosphatase. *J. Urol.*, 127, 574—580, 1982.
 - 22) Bentz, M.S., Cohen, C., Demers, L.M. and Budgeon, L.R.: Immunohistochemical acid phosphatase level and tumor grade in prostatic carcinoma. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 106, 476—480, 1982.
 - 23) Shevchuk, M.M., Romas, N.A., Ying, P., Tannenbaum, M. and Olsson, C.A.: Acid phosphatase localization in prostatic carcinoma. *Cancer*, 52, 1642—1646, 1983.

(1989年3月14日受理)