

Pulmonary Tumor Thrombotic Microangiopathyの 免疫組織化学的検討 - TF, FGFとVEGFの役割 -

加賀田 豊* 中西 邦昭* 尾関 雄一** 寺畑信太郎*** 松原 修*

要 旨：防衛医科大学校病院悪性腫瘍剖検例398例中 6 例(1.5%)にpulmonary tumor thrombotic microangiopathy(PTTM)を認めた。コンサルト症例 3 例を加えたPTTM9症例について免疫組織化学的検討を施行した。塞栓を形成する腫瘍細胞において，tissue factor, fibroblast growth factor, vascular endothelial growth factorが高率に陽性 おのおの9/9例，9/9例，7/9例)を示し，PTTMにおける血管内膜線維細胞性増生に関わる重要な因子と考えられた。(J. Jpn. Coll. Angiol., 2003, 43: 679-684)

Key words: Pulmonary tumor thrombotic microangiopathy, Immunohistochemistry, Tissue factor, Fibroblast growth factor, Vascular endothelial growth factor

はじめに

肺は各種臓器から発生した癌が転移を生じやすい，標的臓器の一つである。一般的な肺転移は結節性の転移巣形成や癌性リンパ管症として観察されるが，肺動脈腫瘍塞栓症の特殊な型としてpulmonary tumor thrombotic microangiopathy(以下PTTM)がある。PTTMは1990年にvon Herbayらによって報告された病態で，肺の細小動脈壁への腫瘍の多発転移により，血管内膜の線維細胞性増生や局所における血栓形成から，血管内腔の狭小化・閉塞を生じ，臨床的には急速に進行する肺高血圧症や肺性心，溶血性貧血，播種性血管内凝固症候群(disseminated intravascular coagulation：以下DIC)を呈するものである¹⁾。血管内膜に付着した腫瘍細胞が局所でtissue factor(以下TF)等の因子を放出²⁾，血栓形成や内膜の能動的な線維細胞性増生を招来し，血管内腔の狭小化や閉塞を生じる点で，単純に腫瘍細胞塊が血流に乗って肺動脈に塞栓する肺動脈腫瘍塞栓症とは異なる。PTTMにおいては肺実質領域の腫瘍形成は明らかでなく，胸部X線やCT，MRIといった画像診断を駆使しても生前に診断することは困難とされている。剖検症例による検討では，悪性腫瘍剖検例の0.9-3.3%^{1,3)}に認められる稀な病態である。今回われわれは，PTTM

における肺細小動脈内膜の線維細胞性増生に関わる因子を明らかにすることを目的として，免疫組織化学的検討を行った。

対象と方法

1990年から2001年の12年間に，防衛医科大学校病院で施行された病理解剖は923症例であった。剖検報告書によれば，このうち悪性腫瘍症例は398例で，211例に肺転移が認められた。本研究におけるPTTMの定義¹⁾を，肺の筋性動脈以下の細小動脈に多発性の腫瘍塞栓と，血管内膜の線維細胞性増生あるいは血栓形成を認めるものとし，肺動脈主幹部，太い動脈に血栓形成や腫瘍塞栓を形成するものは除外した。この定義に従い，肺転移症例211例について，肉眼的には剖検時に撮影されたカラースライドを用いて，組織学的にはHE染色標本を用いて，PTTMが否かについて検討した。6症例(悪性腫瘍症例398例中 6 例：1.5%)がPTTMとして抽出され，また，この定義に合致する他院からのコンサルト 3 症例を加えた 9 症例について以下の免疫組織化学的検討を行った。

剖検時に採取された肺のホルマリン固定，パラフィン包埋標本から 4 μm厚の切片を作成し，免疫組織化学を施行した。用いた一次抗体は，抗alpha-smooth muscle actin(以下SMA)抗体(マウスモノクローナル抗体。DAKO社，50倍希釈)，抗TF抗体(ラビットポリクロー

* 防衛医科大学校病理学講座

** 防衛医科大学校外科学第 2 講座

*** 砺波総合病院検査部

2003年 9 月 9 日受理

Table 1 Patient data

Patient No.	Age	Sex	Site of tumor	Tumor histology	Lymphangiosis carcinomatosa (lung)	Cor pulmonale	DIC	Primary cause of death
1	34	F	Uterine cervix	Squamous cell carcinoma (nonkeratinizing)	+	-	-	Renal failure
2	50	F	Lung (right)	Adenocarcinoma (well, papillary)	+	-	+	Respiratory failure
3	42	M	Stomach	Adenocarcinoma (poorly, solid)	+	+	+	Respiratory failure
4	44	M	Kidney (left)	Granular cell carcinoma	-	+	-	Respiratory failure
5	65	M	Pancreas	Adenocarcinoma (tubular, poorly)	-	+	+	Respiratory failure
6	43	F	Stomach	Adenocarcinoma (poorly, solid)	+	-	-	Uncal herniation (bilat.)
7	42	F	Stomach	Adenocarcinoma (poorly, solid)	+	+	+	Respiratory failure
8	43	F	Stomach	Adenocarcinoma (mucinous)	-	+	-	Respiratory failure
9	64	F	Stomach	Adenocarcinoma (poorly, solid)	-	-	+	DIC

ナル抗体。American Diagnostica社, 20倍希釈), 抗fibroblast growth factor- α (以下FGF) 抗体(ラビットポリクローナル抗体。Santa Cruz Biotechnology社, 20倍希釈), 抗vascular endothelial growth factor(以下VEGF) 抗体(ラビットポリクローナル抗体, 防衛医大第2外科尾関博士供⁴⁾, 300倍希釈)である。抗原賦活法として, 抗FGF抗体の前処置に, 0.1%トリプシン処理を施行した。二次抗体にはENVISION(DAKO社)を用いて, 以後型のごとく施行した。抗SMA抗体については, 内膜の線維細胞性増生部での発現を観察した。他の抗体については, 血管壁に付着する腫瘍細胞における染色性から陰性(-), 陽性(+)を判定した。

結 果

PTTM 9 症例の臨床病理学的なまとめをTable 1に示す。症例の男女比は3:6, 剖検時の年齢は34~65歳(平均47.4歳)であった。肺断面の肉眼的観察では, 明らかな転移巣を指摘できない症例(Fig. 1)や, 急性肺性心の像として右心室の拡張を示す症例(Fig. 2)が認められた。組織学的観察では, 同心円状の比較的均等な血管内膜肥厚を伴う腫瘍塞栓像(Fig. 3)や, 偏心性の内膜肥

厚を生じ, 残存する血管内腔をわずかな腫瘍細胞が血栓形成を伴いほぼ閉塞する像(Fig. 4)を認めた。また一部では, 細小動脈の血栓による閉塞→器質化→再疎通→再疎通腔への腫瘍細胞塞栓を示す部分もみられた(Fig. 5)。これらの血管病変は肺のほぼ全域にわたって観察されたが, 隣接する肺動脈枝でも, 腫瘍細胞の付着や血栓形成, 内膜肥厚を全く生じていない部分も認められた(Fig. 6)。

免疫組織化学の結果をTable 2に示す。血管内膜の線維細胞性増生部の細胞成分では, 大部分が抗SMA抗体に陽性を呈し, その主体が内膜平滑筋細胞であることが示された(Fig. 7)。局所において塞栓を形成する腫瘍細胞では, 全例で抗TF抗体(Fig. 8)と抗FGF抗体(Fig. 9)に陽性を示し, 9 例中 7 例で抗VEGF抗体(Fig. 10)に陽性であった。いずれの抗体も腫瘍細胞の細胞質が陽性を示した。抗TF抗体では腫瘍細胞のほか, フィブリンの析出を伴う新鮮血栓部や血管壁の膠原線維の一部も染色された。

考 察

PTTM症例の典型的な経過と病理学的診断の端緒は



Figure 1 Macroscopic view of the left lung from PTTM patient (Patient No. 6, formalin fixed): No obvious gross metastases are seen.

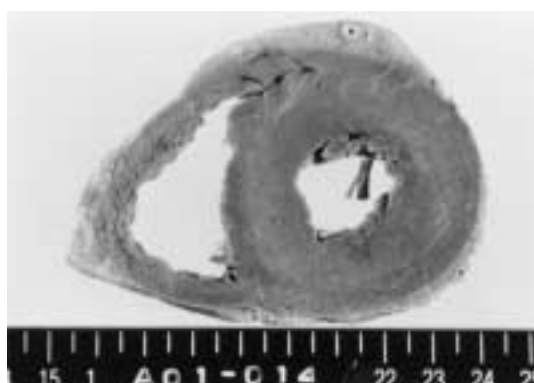


Figure 2 Macroscopic view of the heart with cor pulmonale (Patient No. 5, formalin fixed): Right ventricular dilatation is recognized as a result of acute right ventricular load.

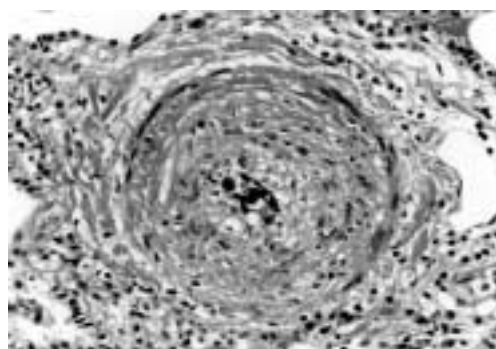


Figure 3 Microscopic view of the lung (Patient No. 3, HE stain, X100): Tumor embolus is accompanied by concentric fibrocellular intimal proliferation.

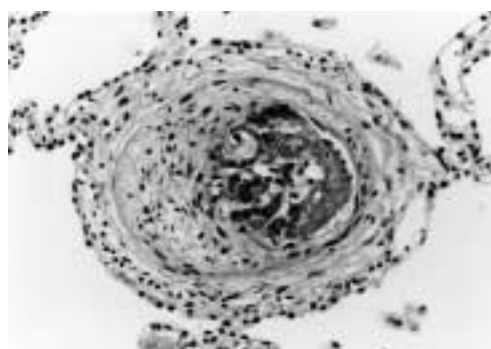


Figure 4 Microscopic view of the lung (Patient No. 8, HE stain, X75): Eccentric attachment of tumor cells surrounded by thrombi resulted in fibrocellular intimal proliferation with eccentric luminal narrowing.

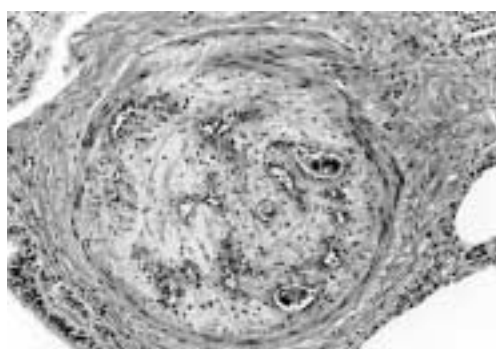


Figure 5 Microscopic view of the lung (Patient No. 3, HE stain, X50): A thrombosed artery shows organization with recanalization.

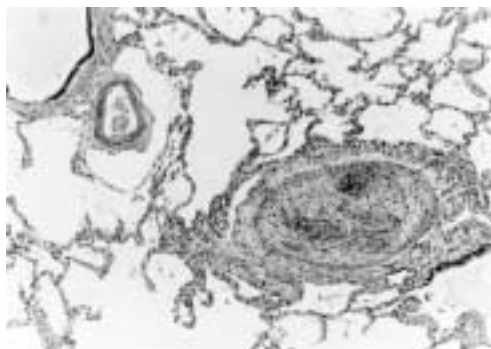


Figure 6 Microscopic view of the lung (Patient No. 8, HE stain, X20): A thrombosed artery with tumor thrombus and an artery without PTTM lesion are seen side by side.

Table 2 Results of immunohistochemistry

Patient no.	SMA (tunica intima)	TF (tumor emboli)	FGF (tumor emboli)	VEGF (tumor emboli)
1	+	+	+	-
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	+
6	+	+	+	-
7	+	+	+	+
8	+	+	+	+
9	+	+	+	+

SMA: alpha-smooth muscle actin, TF: tissue factor, FGF: fibroblast growth factor-2, VEGF: vascular endothelial growth factor



Figure 7 Immunohistochemical finding for alpha-smooth muscle actin (Patient No. 1, X100): These proliferated cells of thickened intima are positive for anti-SMA antibody.



Figure 8 Immunohistochemical finding for TF (Patient No. 3, X80): Tumor cells of embolus are positive for anti-TF antibody.

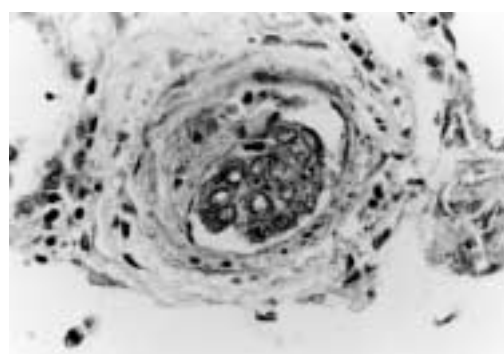


Figure 9 Immunohistochemical finding for FGF (Patient No. 1, X160): Tumor embolus attached with eccentric thickened intima is positive for anti-FGF antibody.

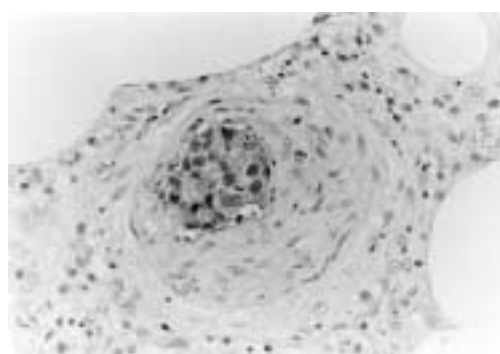


Figure 10 Immunohistochemical finding for VEGF (Patient No. 3, X100): Tumor embolus are positive for anti-VEGF antibody.

次のようなものとなる。原因不明の呼吸不全や肺高血圧症、右心不全が急速に進行し、数日の経過で死亡。剖検により胃癌が明らかになり、右心腔の拡張から急性の肺性心が疑われるが、肉眼的観察では、肺動脈主幹部には血栓や腫瘍塞栓の形成は認められない。肺の断面でも異常を指摘できない。ところが、肺のHE染色標本を顕微鏡で観察すると、細小動脈内腔には粘液産生を示す腫瘍細胞の多発性腫瘍塞栓と、血管内膜の線維細胞性増生や腫瘍細胞周囲の二次性血栓形成が広範囲に認められた。

von Harbeyらは21例のPTTMを報告しているが、そのうち胃癌が11例と過半数を占め、次いで肺癌3例、乳癌2例、ほかは結腸癌、膀胱癌、前立腺癌、肝細胞癌、膀胱癌が各1例である¹⁾。印環細胞癌や粘液癌が13例(62%)に認められた点も注目に値する。われわれが対象とした9例についても5例が胃癌で、低分化腺癌や粘液癌が6例(67%)にみられた。今回の検討には含まれていないが、腫瘍細胞が産生する粘液にも、PTTM成立にかかわる因子が存在することが想定される。一方、これまでの報告では、PTTMの腫瘍組織型は、ほぼすべてが腺癌(84%)であったが¹⁻³⁾、われわれの症例に扁平上皮癌(非角化型)が含まれていたことは興味深い。

PTTM患者が呈する臨床症状としては、進行性の呼吸不全、肺高血圧症、急性右心不全(肺性心)が挙げられるが、これらは塞栓する腫瘍細胞や増生した血管内膜、二次的な血栓形成により肺の血管床が侵されることによる肺血管抵抗の増大が原因である。このほか細小動脈の内腔狭小化により、そこを通過する赤血球や血小板が破砕されることで、溶血性貧血やDICが生じると想定されているが¹⁾、われわれの9例では5例で臨床的にDICが認められたものの、比較的高い頻度で合併すると思われていた溶血性貧血を呈する症例はみられなかった。やはり重篤で頻度の高い症状としては呼吸不全や肺高血圧症ということになる。

PTTMの形成に関して、von Harbeyらは血管内の局所的な凝固能亢進を重視しており、さらに腫瘍細胞の付着による内膜障害が加わることで、内膜の線維細胞性増生を生じると考えている¹⁾。Satoらは、PTTMの腫瘍塞栓部において免疫組織化学的にTFの発現を証明し、von Harbeyらの考えを支持している²⁾。われわれの検討でも腫瘍塞栓部において、その全例でTFが陽性を示し

た。また、血管内の腫瘍細胞周囲に二次的な血栓形成を認めたことから、局所で腫瘍細胞が産生するTFが血栓形成を生じてPTTMの形成に関与していることが考えられる。FGFとVEGFはいずれも血管新生因子として注目され^{5,6)}、腫瘍の成長や腫瘍血管密度との相関が認められている^{4,7)}。各種悪性腫瘍においてそれら因子の産生が報告されているが、他方、血管内膜損傷モデルではFGF、VEGFの両者が内膜平滑筋細胞の増生に関与しているという⁸⁻¹⁰⁾。われわれの免疫組織化学的検討において、FGF、VEGFの両者はそれぞれ、全例、9例中7例で陽性を示した。腫瘍細胞が産生・放出するFGF、VEGFが内膜平滑筋細胞増生を促進し、PTTMが形成された可能性が示唆された。

結 語

剖検症例の検討から、悪性腫瘍398例中6例(1.5%)にPTTMを認めた。コンサルト症例3例を含めたPTTM9症例を対象とした免疫組織化学では、全例でTF、FGFが、9例中7例でVEGFが陽性を示した。血管内膜の線維細胞性増生にかかわる因子として、これらTF、FGF、VEGFが重要と考える。

文 献

- 1) von Harbey A, Illes A, Waldherr R et al: Pulmonary tumor thrombotic microangiopathy with pulmonary hypertension. *Cancer*, 1990, **66**: 587-592.
- 2) Sato Y, Marutsuka K, Asada Y et al: Pulmonary tumor thrombotic microangiopathy. *Pathol International*, 1995, **45**: 436-440.
- 3) 田村厚久, 松原 修: 肺動脈腫瘍塞栓症: 臨床像と病理所見の関係について. *日胸疾会誌*, 1993, **31**: 1269-1278.
- 4) Inoue K, Ozeki Y, Suganuma T et al: Vascular endothelial growth factor expression in primary esophageal squamous cell carcinoma. Association with angiogenesis and tumor progression. *Cancer*, 1997, **79**: 206-213.
- 5) Montesano R, Vassalli JD, Baird A et al: Basic fibroblast growth factor induces angiogenesis in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, **83**: 7297-7301.
- 6) Leung DW, Cachianes G, Kuang WJ et al: Vascular endothelial growth factor is a secreted angiogenic mitogen. *Science*, 1989, **246**: 1306-1309.
- 7) Li VW, Folkerth RD, Watanabe H et al: Microvessel count

- and cerebrospinal fluid basic fibroblast growth factor in children with brain tumors. *Lancet*, 1994, **344**: 82-86.
- 8 Lindner V, Reidy MA: Proliferation of smooth muscle cells after vascular injury is inhibited by an antibody against basic fibroblast growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, **88**: 3739-3743.
- 9 Grosskreutz CL, Anand-Apte B, Duplaa C et al: Vascular endothelial growth factor-induced migration of vascular smooth muscle cells in vitro. *Microvasc Res*, 1999, **58**: 128-136.
- 10 Couper LL, Bryant SR, Eldrup-Jorgensen J et al: Vascular endothelial growth factor increases the mitogenic response to fibroblast growth factor-2 in vascular smooth muscle cells in vivo via expression of fms-like tyrosine kinase-1. *Circ Res*, 1997, **81**: 932-939.

An Immunohistochemical Study of Tumor Thrombotic Microangiopathy: The Role of TF, FGF and VEGF

Yutaka Kagata*, Kuniaki Nakanishi*, Yuuichi Ozeki**, Shintaro Terahata***, and Osamu Matsubara*

* Department of Pathology, National Defense Medical College

** Department of Surgery II, National Defense Medical College

*** Department of Laboratory Medicine, Tonami General Hospital

Key words: Pulmonary tumor thrombotic microangiopathy, Immunohistochemistry, Tissue factor, Fibroblast growth factor, Vascular endothelial growth factor

We reviewed the lungs of 398 consecutive autopsy cases with carcinoma and found six cases (1.5%) with pulmonary tumor thrombotic microangiopathy (PTTM). Including 3 consultation cases we studied the immunohistochemical examination of the lung tissues of paraffin-embedded sections. The tumor cells forming tumor emboli were positive for tissue factor, fibroblast growth factor and vascular endothelial growth factor in almost all cases (9/9, 9/9, 7/9, respectively). These factors might be produced by the tumor cells and play an important role in the pathogenesis of PTTM.

(*J. Jpn. Coll. Angiol.*, 2003, **43**: 679-684)