

# Immunohistochemical Study on the Desmoplasia of Pulmonary Carcinomas

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/8142">http://hdl.handle.net/2297/8142</a>

## 肺癌の間質に関する免疫組織化学的研究

金沢大学医学部病理学第一講座 (主任: 中西功夫教授)

村上 望

(平成1年9月2日受付)

原発性肺癌26例を間質の多寡によって間質増生群と間質非増生群に分類し、それぞれの間質について、型特異的抗ヒトコラーゲン抗体、抗ヒトラミニンモノクローナル抗体、抗ヒトフィブロネクチンポリクローナル抗体および抗アクチン抗体を用いて比較検討した。間質の少ない間質非増生群では、I型、III型、VI型コラーゲンおよびフィブロネクチンは狭い間質に線状・網状に分布し、IV型コラーゲンおよびラミニンは癌細胞巣周囲の基底膜にほぼ連続的に線状に分布していた。またV型コラーゲンは部分的に間質細胞と間質に僅かに認められた。間質の多い間質増生群ではI型、III型、VI型コラーゲンおよびフィブロネクチンは広い間質にびまん性に分布し、IV型コラーゲンおよびラミニンは癌細胞巣周囲の基底膜に不連続線状に分布していた。またV型コラーゲンは間質細胞内および間質に認められ、染色性も増強した。間質の増生に伴って増殖する間質細胞の多くは、非特異的抗アクチン抗体に対して陽性所見を示したが、平滑筋細胞に特異的な抗アクチン抗体に対して反応する細胞も少数認められた。瘢痕癌6例の間質は他の間質増生群の肺癌の間質と質的に差異はなかったが、中心性瘢痕部は豊富な弾性線維とVI型コラーゲンが優位を占めており、非腫瘍性瘢痕組織と基本的に類似していた。以上の所見より肺癌の間質は、主に癌細胞の浸潤に対する間質の反応性増殖によって形成されるもので、主にI型、III型、VI型コラーゲンおよびV型コラーゲンとフィブロネクチンが間質の繊維形成に深く関与していると考えられた。間質細胞の多くは線維芽細胞由来の筋線維芽細胞と考えられるが、気管支壁や血管壁の平滑筋細胞も間質の形成に関与しているものと思われた。また、瘢痕癌は既存の瘢痕組織を基盤にして発生することが示唆された。

---

**Key words** lung cancer, extracellular matrix, stromal cell, immunofluorescence

---

肺癌は、多種多様の組織像をもち、組織型や分化度により臨床的に異なった経過をとり、比較的、早期に血行性転移やリンパ節転移をきたすことが多い癌である。近年、肺癌は急速に増加しており<sup>1)</sup>、肺癌の本態の解明と治療成績の向上が強く要求されている。これまでに幾種かの癌について、組織像と臨床経過の相関を明らかにするために癌細胞を取り囲む間質に着目した研究がなされており、間質の増生が強い癌は一般に進行が速く予後が不良なことが多いといわれている<sup>2)</sup>。従って間質形成に関与する間質細胞の性質や種々の細胞外マトリックス成分の局在や分布状態を明らかにす

ることは癌の特性を知る手がかりになり、ひいては癌の浸潤性、転移能を規定する要因の解明につながるものと思われる。

間質結合組織の増生が強い乳腺や胃の硬癌を中心に間質の生化学的、免疫組織化学的解析が行われている<sup>3)</sup>。Nagaiら<sup>4)</sup>、Minamotoら<sup>5)</sup>の研究によって、硬癌の間質ではI型およびIII型コラーゲンに加えてV型コラーゲンが増加すること、基底膜成分であるラミニン、IV型コラーゲンが異常分布を示すことなど幾つかの特徴が明らかになってきている。また、癌の浸潤、転移の機序を明らかにする目的で基底膜成分に焦点を

---

Abbreviations: ABC, avidin biotin complex method; DAB, diaminobentidine; E. V. G., Elastica Von Gieson; FITC, Fluorescein isothiocyanate; H. E., Hematoxylin Eosin; PBS, Phosphate buffered saline

合わせた研究も多くみられるようになってきた<sup>9-10)</sup>。

肺癌の間質に関しては癒痕癌についての報告がみられるが<sup>11-13)</sup>、まだ、十分に解析されているとはいえない。そこで著者は肺癌について、多様の組織像を持つ腫瘍の間質を、その多寡により2群、すなわち間質の多いものと間質の少ないものに大別し、型特異的抗コラーゲン抗体、抗ヒトラミンモノクロナール抗体および抗ヒトフィブロネクチンポリクロナール抗体を用いて免疫組織化学的に各間質成分の局在を調べ腫瘍の性格を間質の面から検討した。同時に間質形成に関与する間質細胞の性格をしるために抗アクチン抗体を用いて検索した。また以前より癒痕癌の成因については、既存の癒痕からの癌の発生<sup>14)</sup>と、癌の発生に伴う癒痕

形成<sup>15)</sup>の二説が提唱されており、未だ統一された見解が得られていない現状である。そこで、この癒痕癌の成因を解明する手掛かりとして癒痕癌の間質と非腫瘍性癒痕組織の間質の比較検討した。

#### 材料および方法

##### I. 対象

金沢大学医学部付属病院第一外科において、手術により切除された原発性肺癌26例、および転移性肺癌3例、肺原発平滑筋肉腫1例の計30例について組織学的ならびに免疫組織化学的な検索を行った(表1)。肺癌の組織型は、肺癌取り扱い規約<sup>16)</sup>に従って分類した。肺癌26例の内訳は、腺癌6例(高分化型、中分化型、低

Table 1. The cases of pulmonary carcinomas examined

Case (No.)	Age (years old)	Sex	Site	Histological diagnosis
Non-desmoplastic cases				
1	69	M	RLL	Well differentiated adenocarcinoma
2	65	F	RLL	Well differentiated adenocarcinoma
3	41	M	RUL	Poorly differentiated adenocarcinoma
4	66	M	LUL	Moderately differentiated squamous cell carcinoma
5	68	M	LLL	Poorly differentiated squamous cell carcinoma
6	40	M	LUL	Large cell carcinoma
7	53	M	RUL	Small cell carcinoma(intermediate type)
8	77	M	RLL	Bronchioloalveolar carcinoma
9	72	M	RUL	Bronchioloalveolar carcinoma
10	56	M	RLL	Lung metastasis(transitional cell carcinoma: bladder)
11	76	F	LUL	Lung metastasis(clear cell carcinoma: kidney)
12	66	M	RLL	Leiomyosarcoma
Desmoplastic cases				
13	73	M	LUL	Moderately differentiated adenocarcinoma
14	69	M	LUL	Moderately differentiated adenocarcinoma
15	45	M	LUL	Poorly differentiated adenocarcinoma
16	56	M	RLL	Well differentiated squamous cell carcinoma
17	76	M	RUL	Well differentiated squamous cell carcinoma
18	47	M	RLL	Moderately differentiated squamous cell carcinoma
19	77	M	RLL	Poorly differentiated squamous cell carcinoma
20	78	F	RUL	Poorly differentiated adenosquamous carcinoma
21	59	M	RLL	Poorly differentiated adenosquamous carcinoma
22	61	M	LUL	Giant cell carcinoma
23	66	M	RUL	Small cell carcinoma(intermediate type)
24	53	F	RUL	Lung metastasis(adenocarcinoma: colon)
25	61	F	RUL	Scar cancer(papillary adenocarcinoma)
26	70	M	RUL	Scar cancer(papillotubular adenocarcinoma)
27	65	M	RLL	Scar cancer(moderately differentiated squamous cell carcinoma)
28	57	M	RML	Scar cancer(well differentiated papillary adenocarcinoma)
29	65	F	LUL	Scar cancer(moderately differentiated papillary adenocarcinoma)
30	71	M	RLL	Scar cancer(well differentiated papillary adenocarcinoma)

M, male; F, female.

RUL, right upper lobe; RML, right middle lobe;

RLL, right lower lobe; LUL, left upper lobe; LLL, left lower lobe.

分化型各2例), 扁平上皮癌6例(高分化型, 中分化型, 低分化型各2例), 腺扁平上皮癌2例, 細気管支肺胞上皮癌2例, 小細胞癌(中間細胞型)2例, 大細胞癌1例, 巨細胞癌1例および典型的癆痕癌6例(うち腺癌5例, 扁平上皮癌1例)である。以上の症例については, 間質の多寡により, 2群(間質増生群, 間質非増生群)に大別した。転移性肺癌は, 膀胱癌, 大腸癌および腎癌原発の症例が各1例である。対照として切除肺のうち, 肺癌および他の病変を含まない正常肺組織を2例使用した。また癆痕癌の対照として非腫瘍性癆痕組織2例(剖検例)を検索した。

組織学的には腫瘍を含む組織片を10%中性緩衝ホルマリンにて固定後, パラフィン切片を作製し, ヘマトキシリン・エオジン(Hematoxylin Eosin, H. E.)染色, アザン染色, エラスチカ・ワンギーソン(Elastica Von Gieson, E. V. G.)染色, 鍍銀染色およびPAS-アルシアン青(PAS-Alcian Blue)染色を施した。

## II. 方法

### 免疫組織化学的検索

上記の症例の腫瘍組織の一部を液体窒素で凍結した後, クリオスタット(Miles Laboratories Inc., Naperville, ILL, U. S. A.)で厚さ $3\mu\text{m}$ の凍結切片を作製し, 間接蛍光抗体法により, ラミニン, フィブロネクチンの局在を観察した。凍結切片を10分間アセトン固定し, 冷0.05Mリン酸緩衝食塩水(phosphate buffered saline, PBS)で10分間3回洗浄した後, 非特異的反応を抑制するために冷PBSで5%に希釈した正常ヤギ血清(Dakopatts, Glostrup, Denmark)を10分間作用させた。引き続き, 抗ヒトラミニンモノクロナール抗体(E-Y Lab. Inc., San-Mateo, CA, U. S. A.)あるいは抗ヒトフィブロネクチンポリクロナール抗体(Behring Diagnostic, La Jolla, CA, U. S. A.)を冷PBSで10倍希釈のうえ室温にて90分間反応させた。その後, 冷PBSにて10分間3回洗浄し, フルオレセインイソチオシアネート(fluorescein isothiocyanate, FITC)標識ヤギ抗ラットIgG抗体(Cappel Laboratories, Cochranville, PA, U. S. A.)を冷PBSで16倍に希釈して, 室温で1時間反応させた。冷PBSで10分間3回洗浄した後, 10%グリセリンで封入し蛍光顕微鏡モデルAH2-FL(オリンパス, 東京)により, ラミニンおよびフィブロネクチンの局在を観察した。

コラーゲンの免疫組織化学的局在は, アビジン・ビオチンコンプレックス法<sup>17)</sup>(avidin biotin complex method, ABC法)にて検索した。まず, ホルマリン固定パラフィン切片を脱パラフィンし, 0.05%プロテ

アーゼ Type X X VI (Sigma Chemical, St. Louis, MO, U. S. A.)で30分処理後, 1%過酸化水素加無水メタノールにて30分間反応させて内因性ペルオキシターゼ活性を阻止した。一次抗体として教室にて作製した型特異的抗ヒトコラーゲン抗体<sup>18)</sup>(I型, III型, IV型, V型, VI型)を抗I型, III型, IV型, は10倍に, 抗V型は5倍に, 抗VI型は100倍に希釈して使用した。この一次抗体を一晩反応させて冷PBSにて10分間3回洗浄をおこない, 次いで二次抗体(I型, III型, IV型, V型, コラーゲンおよびラミニンに対してはVector社(Burlingame, CA 94010, U. S. A.)ピオチン化ウサギ抗ラットIgG抗体( $\times 200$ ); VI型コラーゲンに対してはVector社, ピオチン化ヤギ抗ウサギIgG( $\times 200$ )を30分間反応させて, 冷PBSにて10分間3回洗浄し, 次いでアビジン・ピオチンコンプレックスを30分間反応させた。また, 冷PBSで10分間3回洗浄し, ジアミノベンチジン(diaminobentidine, DAB)反応を5分間室温で行い, 流水で水洗の後, ヘマトキシリンにて核染色を行い, 脱水・透徹を行い, 封入し, 各コラーゲンの局在を光学顕微鏡にて検索した。更に間質細胞の性状を知るために, 間質の多い肺癌2例(症例16,18), 間質の少ない肺癌2例(症例1,3), また癆痕癌2例(症例25,26)および非腫瘍性癆痕癌2例について, 平滑筋細胞のアクチンを特異的に認識する抗平滑筋アクチンモノクロナール抗体(マウスIgG)<sup>20)21)</sup>(ENZO, New York, U. S. A.)と非特異的抗アクチンモノクロナール抗体(マウスIgM)<sup>22)</sup>(Amersham, Buckinghamshire, England)にて検討した。なお, 対照として抗I型, III型, IV型, およびV型コラーゲン抗体のかわりに正常ラットIgGを, 抗VI型コラーゲン抗体, 抗ラミニン抗体および抗フィブロネクチン抗体のかわりに正常家兎IgGを, また抗アクチン抗体のかわりに, 正常マウスIgGを, あるいは正常マウスIgMを反応させた。

## 成 績

### I. 肺癌の病理組織像

肺癌の組織型は, 肺癌取り扱い規約<sup>16)</sup>に従って分類した。また, 間質の状態により, 間質が腫瘍の1/3未満のものを間質非増生群とし, 2/3以上のものを間質増生群と2群に大別した。間質非増生群は, 胃癌, 肺癌での髄様型の癌に相当し, 少量の結合組織線維間に少数の間質細胞が散在性に認められる症例である(図1a)。このような間質は, 腺癌3例, 扁平上皮癌2例, 細気管支肺胞上皮癌2例, 未分化癌2例に認められた。間質増生群は, 胃癌, 肺癌での硬癌に相当し, 線

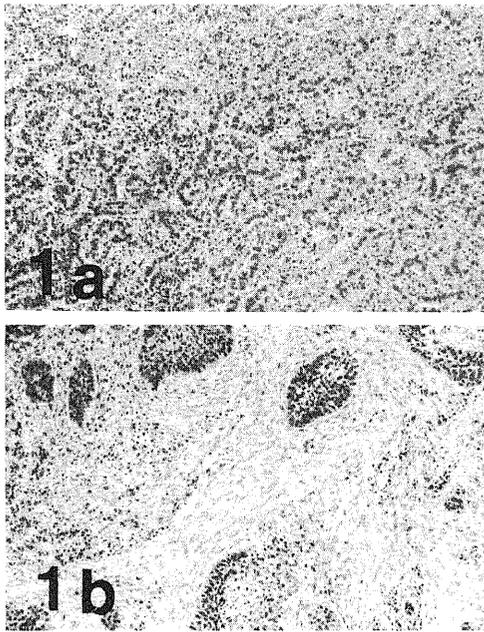


Fig. 1. Well differentiated adenocarcinoma of non-desmoplastic case(case No. 1) (a), and well differentiated squamous cell carcinoma of desmoplastic case(case No. 16) (b). (a) and (b) H. E.,  $\times 50$ .

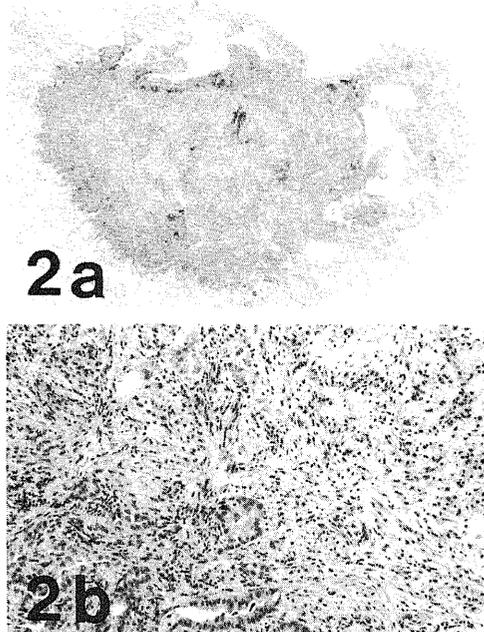


Fig. 2. Overview of scar carcinoma with histology of well differentiated adenocarcinoma(case No. 29) (a), and peripheral desmoplasia with proliferating spindle-shaped cells (b). (a), H. E.,  $\times 2$ ; (b), H. E.,  $\times 50$ .

維性結合組織の増生が著明で、線維間には線維芽細胞様の紡錘細胞が増殖しているものである(図1b)。このような間質は、腺癌3例、扁平上皮癌4例、腺扁平上皮癌2例、未分化癌2例に認められた。また検索した瘢痕癌6例(腺癌5例、扁平上皮癌1例)は、すべて間質増生群に分類された。これらの全例に胸膜陥入像と炭粉沈着を認め、同部に一致して硝子化した瘢痕を認めた。癌はこの瘢痕組織を中心として、放射状に発育していた(図2a)。癌細胞は瘢痕組織の辺縁に浸潤していたが、瘢痕組織の大部分には癌細胞は認められなかった。また瘢痕癌の間質においても紡錘形の線維芽細胞様の間質細胞の増殖を認めた(図2b)。

## II. 正常肺におけるコラーゲン、ラミニン、フィブロネクチンの局在

I型およびIII型コラーゲンは、肺泡中隔や気管支固有層の間質および肺動脈や肺静脈壁とくに外膜に局在していた。また、胸膜では中皮細胞直下から胸膜下層の全層にわたりび慢性に分布していた。I型およびIII型コラーゲンの分布には差は認められなかったが、肺動脈の外膜ではIII型コラーゲンより強く染色された。IV型コラーゲンは肺泡および毛細血管の基底膜に一致して、ほぼ連続線状に分布していた。また、気管支上皮や気管支壁の平滑筋細胞の基底膜に分布し、肺動脈や肺静脈では主として内皮細胞直下の内膜に局在していた。また、胸膜では中皮細胞の基底膜に一致してみられ、胸膜下組織と肺泡間の間質の毛細血管の基底膜に僅かに認められた。V型コラーゲンは気管支固有筋層の弾性線維周囲および平滑筋細胞内と肺泡中隔の間質に僅かに認められた。また、胸膜では弾性線維の周囲に沿って僅かに認められた。VI型コラーゲンはI型、III型コラーゲンとほぼ同様の分布をしめし、肺泡中隔や気管支固有層および肺動脈や肺静脈全層にわたりび慢性に局在していた。胸膜においても、I型、III型コラーゲンと同様に全層にわたりび慢性に分布していた。

ラミニンはIV型コラーゲンと同様の分布をしめし、気管支上皮基底膜および肺泡や毛細血管の基底膜に一致してほぼ連続線状に分布していた。また、気管支固有筋層内の平滑筋細胞周囲にも局在していた。胸膜では中皮細胞下の基底膜や胸膜下結合組織の毛細血管の基底膜に分布していた。

フィブロネクチンはIV型コラーゲン、ラミニンとほぼ同様の分布をしめし、気管支上皮や肺泡の基底膜の局在に一致してほぼ連続線状に分布していた。気管支固有筋層の平滑筋細胞にも認められた。また、狭い肺泡壁の間質にも分布していた。胸膜では中皮細胞下

の基底膜領域に強く染色された。

III. 肺癌における間質の性状

1. 間質非増生群

I型・III型・VI型コラーゲンは、腺癌・扁平上皮癌、未分化癌ともに狭い間質に線状・網状に分布していた。なかでもIII型コラーゲンは太く鮮明に染色され、VI型コラーゲンはI型、III型コラーゲンに比べて繊細な網状線維状構造を示した(図5a,b,e)。フィブロネクチンは、間質型コラーゲンと同様に、狭い間質に線状・網状に分布していた(図3b)。IV型コラーゲンとラミニンは、腺癌、扁平上皮癌では間質の毛細血管周

囲に認められ、癌細胞巣辺縁では癌細胞と間質を境する基底膜領域に、ほぼ連続線状に分布していた(図5c, 図3a)。しかし、癌の先端部ではIV型コラーゲンとラミニンはほとんど染色されなかった(図6a)。未分化癌では腺癌や扁平上皮癌に比べてIV型コラーゲンやラミニンの染色性は低下し、連続性が途切れていることも多かった。V型コラーゲンは間質にはほとんど認められず、ごく一部の間質細胞の中に認められた(図5d)。

2. 間質増生群

I型・III型・VI型コラーゲンおよびフィブロネクチ

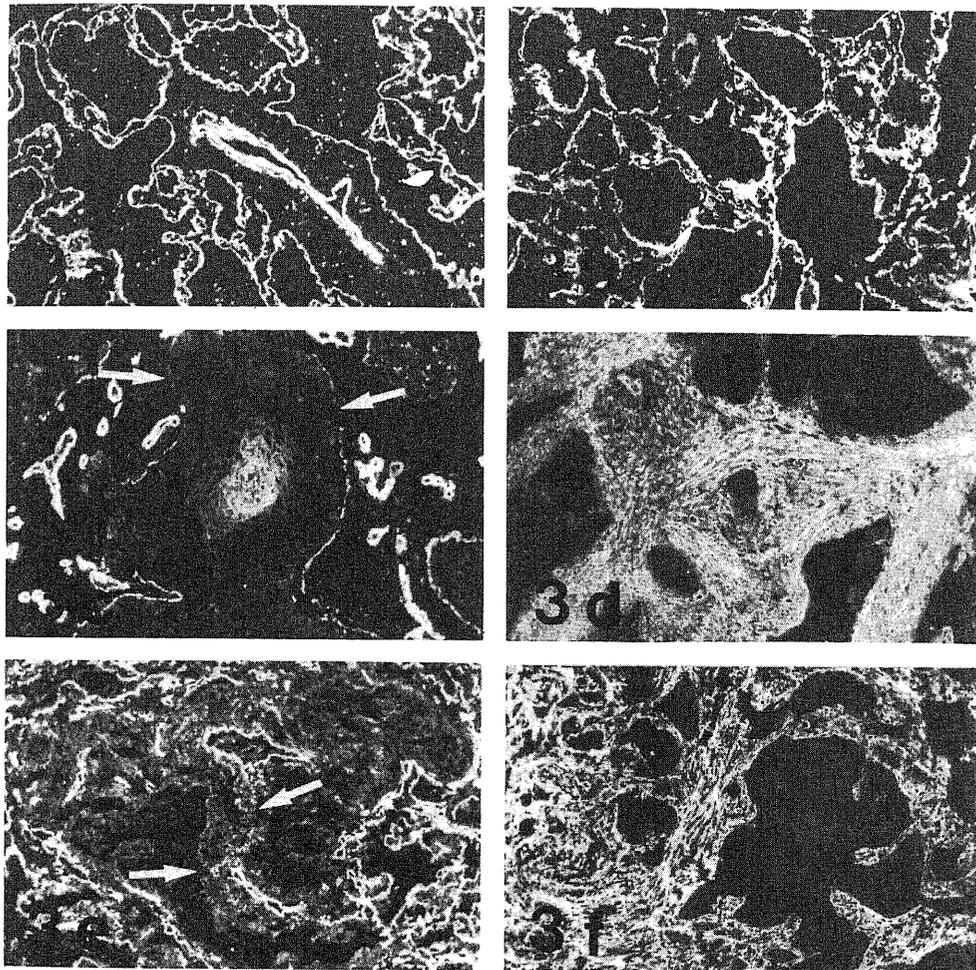


Fig. 3. Immunofluorescence staining patterns of laminin(a), and fibronectin(b), in non-desmoplastic case(case No.1), and patterns of desmoplastic case(case No.16), laminin delineates discontinuously the basement membrane of carcinoma cell nests(arrows) (c) and fibronectin is diffusely observed in the broad fibrous stroma(d). And patterns of scar carcinoma(Case No.25), laminin is observed discontinuously(arrows), (e), and fibronectin is exhibited diffuse positivity(f). (a) to (d) and (f)  $\times 66.6$ ; (e)  $\times 123.2$ .

は、広い間質にび漫性に分布し、増殖した間質細胞内にも認められた(図8a, b, 図3d)。I型とIII型コラーゲンはほぼ同様の分布を示し、VI型コラーゲンに比べて強く染色された。IV型コラーゲン・ラミニンは間質内の毛細血管周囲に認められ、癌細胞巣周辺では不連続・断片状に分布し(図8c, 図3c)、また間質の太い線維の辺縁に沿って癌細胞の有無にかかわらず、線状に分布しているところも認められた。間質の毛細血管では部分的に基底膜成分の消失したものを認めた(図7)。V型コラーゲンは間質にほぼび漫性に認められ(図8d)、多くの間質細胞内にも陽性であった(図8e)。

間質増生群では、癌の中心部でとくに間質の量が多く、癌辺縁の浸潤部では間質は少なくなる傾向があり、I型、III型、VI型コラーゲンやフィブロネクチンは僅かに線状・網状に分布している程度であった。基底膜成分であるIV型コラーゲン、ラミニンは腫瘍先端部では陰性であった(図6b)。V型コラーゲンも他の間質型コラーゲンと同様、浸潤部では狭い間質と間質細胞の中に僅かに認められた。未分化癌では、I型、III型、VI型コラーゲンおよびフィブロネクチンは広い間質にび漫性に分布していた。またIVコラーゲン、ラミニンは癌細胞巣周囲あるいは間質の毛細血管周囲に認

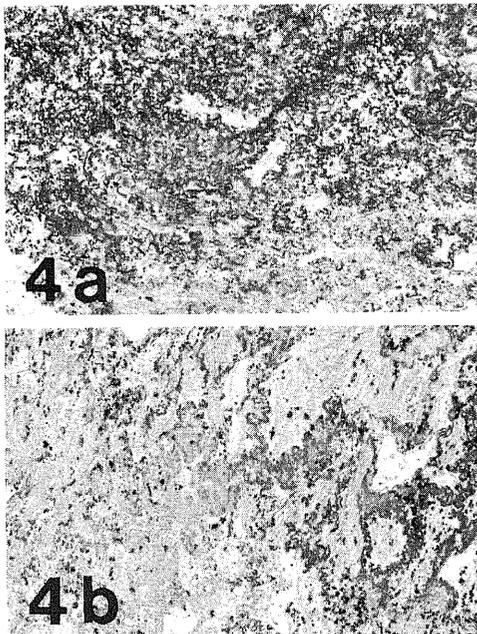


Fig. 4. Abundant elastic fibers in the central area of scar carcinoma(case No. 29) (a), and in the non-tumorous scar(b).(a), E. V. G.,  $\times 20$ ; (b), E. V. G.,  $\times 20$ .

められたが連続性を欠き、毛細血管ではこのような基底膜構成成分の消失した部位も見られた。V型コラーゲンは間質および間質細胞に多く認められた。小細胞癌と巨細胞癌の間質には質的および量的差異は認められなかった。

### 3. 瘢痕組織および瘢痕癌

非腫瘍性瘢痕では、検索した全例に胸膜の肥厚を認めた。瘢痕部は細胞成分に乏しく小数の紡錘形の線維芽細胞様細胞をみる程度であったが、線維成分の著しい増加とともに、特に瘢痕の中心部では弾性線維が多量に沈着していた(図4a)。I型、III型、VI型コラーゲンおよびフィブロネクチンは線状・網状に分布していたが、瘢痕の中心部ではVI型コラーゲンの反応に比べて、I型およびIII型コラーゲンの染色はきわめて微弱であった。IV型コラーゲン、ラミニンは瘢痕部周囲の毛細血管周囲に分布していた。V型コラーゲンは瘢痕組織の辺縁部の線維芽細胞様の間質細胞と間質に認められた。瘢痕癌では全例に胸膜の肥厚・胸膜陥入像がみられ、この肥厚した胸膜に連続して瘢痕組織が認められた。この瘢痕組織における型別コラーゲン、ラミニンおよびフィブロネクチンの分布は上述した非腫瘍性瘢痕と基本的に同様であり、弾性線維も多量に沈着していた(図4b)。癌はこの瘢痕組織辺縁部に放射状に増殖しており、この腫瘍細胞の混在する間質を腫瘍の間質として中心性瘢痕と区別して検討した。その結果、I型・III型・VI型コラーゲンは間質増生群と同様に広い間質にび漫性に分布し、とくにI型コラーゲンはその染色性も強く、太い線維束に沿って陽性であった。またフィブロネクチンは、これらの間質型コラーゲンと同様に間質にび漫性に分布していた(図3f)。またIV型コラーゲン・ラミニンは間質の毛細血管周囲に認められ、癌細胞巣周囲では基底膜領域に不連続線状に分布していた(図3e)。また間質の太い線維の辺縁に沿って、癌細胞の有無と関係なく線状に分布しているのが認められた。また毛細血管に分布する基底膜成分の一部は断裂・消失していた。V型コラーゲンは間質および間質細胞内にび漫性に分布しており、その染色性も増強した。このように瘢痕周囲の癌組織では間質の増生および間質細胞の増殖は強かったが、腫瘍先端部では、むしろ間質の形成は乏しくI型、III型、VI型コラーゲンおよびフィブロネクチンはほとんど認められず、V型コラーゲンは僅かに間質細胞内に認められる程度であった。IV型コラーゲン、ラミニンは腫瘍先端部では全く認められなかった。

### 4. 転移性肺癌および肺原発平滑筋肉腫における間質の性状

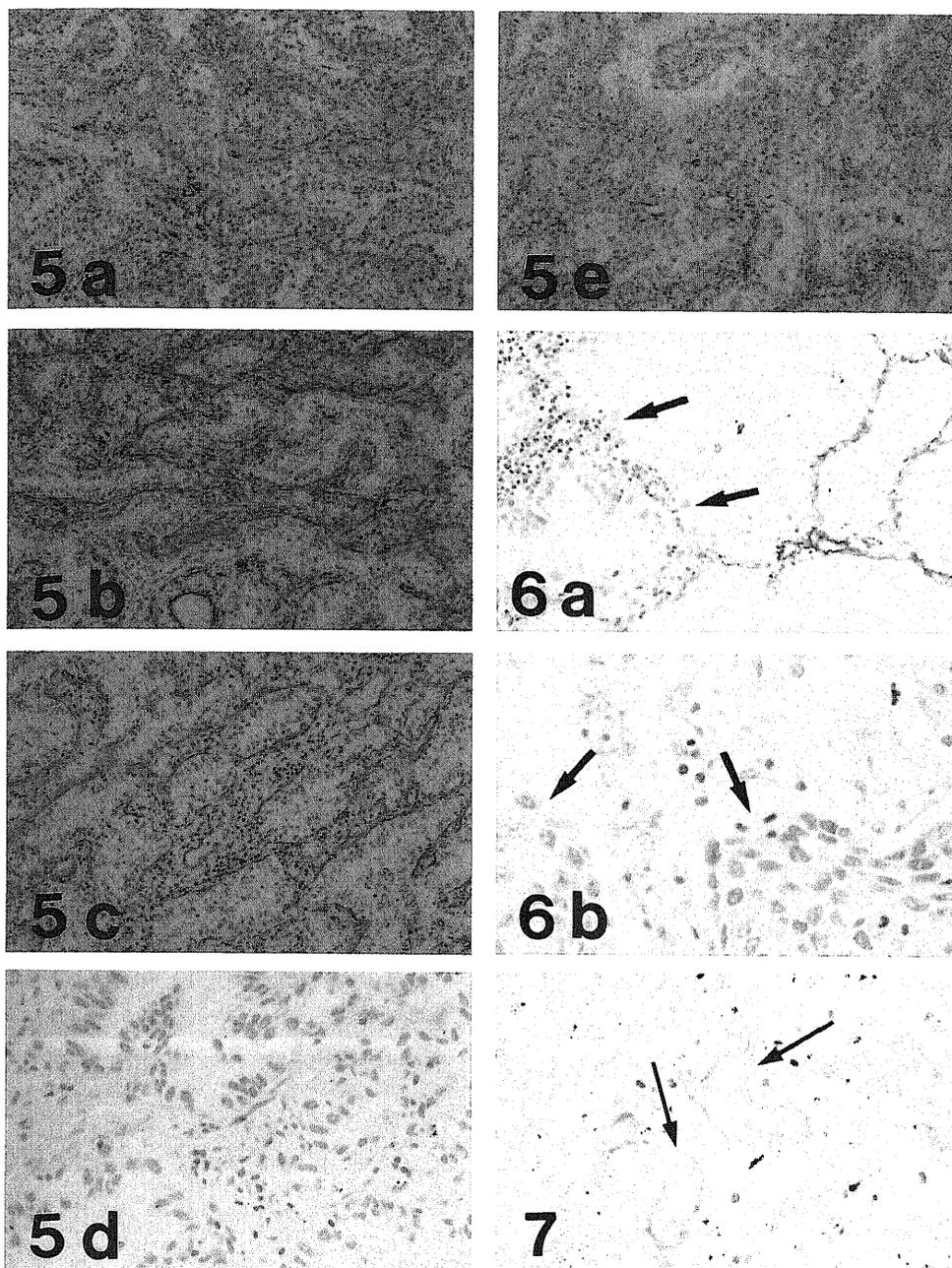


Fig. 5. Immunohistochemical staining patterns of non-desmoplastic case(case No. 1). (a), type I collagen ; (b), type III collagen ; (c), type IV collagen ; (d), type V collagen ; (e), type VI collagen. (a) to (c) and (e) ;  $\times 50$  ; (d) ,  $\times 100$ .

Fig. 6. Immunohistochemical staining patterns. Type IV collagen disappeared at the invasion front of tumors(arrows). (a), non-desmoplastic case(case No. 1) ; (b), desmoplastic case (case No. 16). (a) ,  $\times 100$  ; (b) ,  $\times 200$ .

Fig. 7. Immunohistochemical staining of type IV collagen showing irregular delineation of the basement membrane of capillaries in desmoplastic case(Case No. 16).  $\times 200$ .

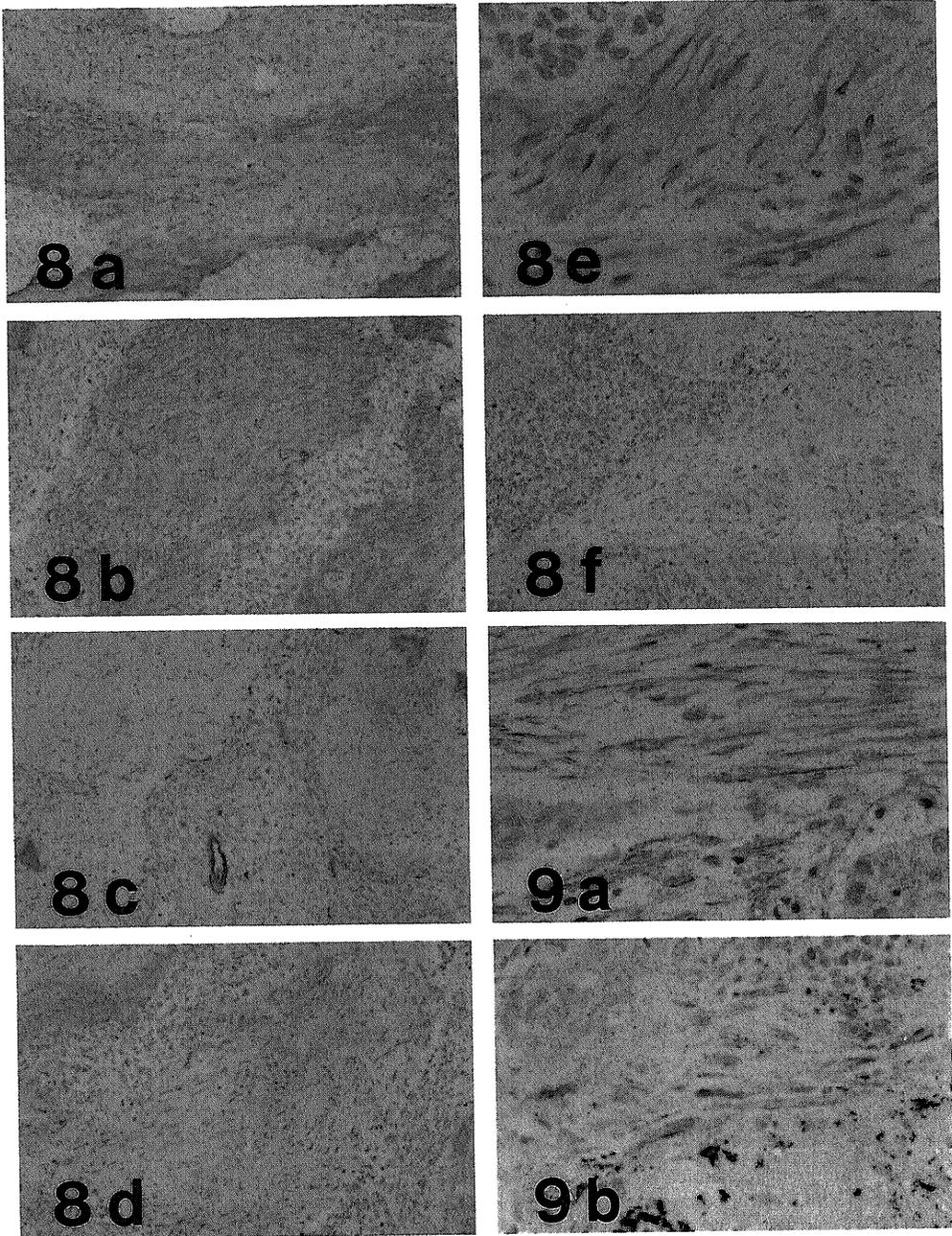


Fig. 8. Immunohistochemical staining patterns for type I(a), III(b), IV(c), V(d, e) and VI(f) collagens in desmoplastic case, (case No. 16). (a) to (d) and (f),  $\times 50$ ; (e),  $\times 200$ .

Fig. 9. Immunohistochemical staining patterns for non-specific anti-actin antibody in desmoplastic case (case No. 16) (a), and for smooth muscle cell specific anti-actin antibody in the desmoplastic area of scar carcinoma (case No. 25) (b).  $\times 200$ .

検索した転移性肺癌は3例で、膀胱原発の移行上皮癌症例と腎原発の腎細胞癌症例は間質非増生群に分類され、大腸原発の腺癌症例は間質増生群に分類された。これらの転移性肺癌の間質は、いずれも原発性肺癌における間質の性状と基本的には同様の所見であった。肺原発の平滑筋肉腫では、比較的狭い間質にI型、III型、VI型コラーゲンおよびフィブロネクチンがび漫性に分布していた。V型コラーゲンも間質に分布していたが反応は微弱であった。また、これらの成分は間質細胞のみならず腫瘍細胞にも陽性所見を示した。IV型コラーゲンとラミニンは血管壁の基底膜領域に局在し、腫瘍細胞の辺縁にも断片的に弱陽性であった。

なお、以上の間質の成分の局在の検討において、すべての癌細胞自身には各型コラーゲン、ラミニンおよびフィブロネクチンは染色されなかった。対照として、抗コラーゲン抗体、抗ラミニンあるいは抗フィブロネクチン抗体のかわりに、正常ラットIgG、あるいは正常ウサギIgGと反応させたが、いずれも明らかな陽性所見は認められなかった。

#### IV. 間質細胞のアクチンの検討

##### 1. 正常肺

気管支壁や血管壁の平滑筋細胞は、平滑筋細胞に特異的な、抗アクチン抗体でその細胞質が染色されたが、肺中隔や胸膜および胸膜下結合組織中の紡錘形細胞は染色されなかった。非特異的抗アクチン抗体では気管支壁や血管壁の平滑筋細胞が強く染色され、肺中隔や胸膜および胸膜下組織にも陽性細胞が認められた。

##### 2. 間質非増生群

症例1および3について検索したところ、平滑筋細胞に特異的に反応する抗アクチン抗体では癌の間質細胞は全く染色されなかった。しかし種々の細胞のアクチンと反応する非特異的抗アクチン抗体を用いると、ごくわずかの間質細胞が染色陽性となった。

##### 3. 間質増生群

症例16および18について検索したところ、増殖した間質細胞の大部分は平滑筋細胞に特異的な抗アクチン抗体で染色されなかった。しかし、小数ながら反応陽性を示す間質細胞が散在性に認められた。一方、非特異的抗アクチン抗体では多数の間質細胞が陽性であった(図9a)。また非特異的抗アクチン抗体と反応する間質細胞は腫瘍中心部の間質の増生の最も強い部位に多く分布し、腫瘍先端部では間質細胞の数の減少とともに陽性細胞も減少した。

##### 4. 瘢痕組織および瘢痕痕

非腫瘍性瘢痕では、平滑筋細胞に特異的な抗アクチン抗体で陽性を示す間質細胞はみられなかった。しかし、非特異的抗アクチン抗体で陽性を示す細胞が散見された。瘢痕癌(症例25および26)について同様に検索したところ、平滑筋細胞に特異的に抗アクチン抗体反応陽性の細胞が散在性にみられ(図9b)、非特異的抗アクチン抗体では多くの間質細胞が陽性に染色された。この所見は、間質増生群と同様であった。また腫瘍中心部と先端部における陽性間質細胞の分布も間質増生群と同様の所見であった。尚、瘢痕癌の中心部の瘢痕組織では平滑筋細胞に特異的な抗アクチン抗体で陽性を示す細胞はみられなかったが、非特異的抗アクチンで陽性を示す細胞が散見された。

#### 考 察

本研究では抗コラーゲン抗体、抗ラミニン抗体および抗フィブロネクチン抗体を用いて癌組織の間質の特徴を明らかにし、これに基づいて間質形成の成因について解析を行った。

正常肺組織における型別コラーゲンの分布については、人・牛などについてこれまで幾つかの研究を見ることが出来る。Madri<sup>29)</sup>は人肺では間質型コラーゲンであるI型、III型コラーゲンは狭い肺中隔の間質や血管周囲に分布し、基底膜コラーゲンであるIV型コラーゲンは肺泡や毛細血管の基底膜に一致しており、V型コラーゲンもほぼIV型コラーゲンの分布と同様に肺泡の間質にも認められたと報告している。また、Konomiら<sup>20)</sup>は牛肺についてI型コラーゲンやIII型コラーゲンは肺動脈壁や気管支壁に分布していることを報告している。フィブロネクチンも気管支壁や肺胞壁の基底膜領域に局在することが認められている<sup>20)</sup>。著者が行った正常肺組織における検索でも、これらの間質成分の分布はほぼ同様の結果であった。VI型コラーゲンの正常肺における分布については未だ報告されていないが、今回の成績ではI型およびIII型コラーゲンとほぼ同様の分布を示していた。VI型コラーゲンは大血管、腎、皮膚、肝あるいは筋組織などの結合組織中に広く見いだされているので、Kenne<sup>20)</sup>はVI型コラーゲン分子がきわめて大きい非ヘリックス部分を有していることから、その機能が間質の構成成分相互の固着作用にあると推定している。正常肺に分布するこれらの各別型コラーゲン、ラミニンおよびフィブロネクチンは癌の間質においても恒常的に認められた。間質の多い間質増生群では、I型、III型、VI型コラーゲンおよびフィブロネクチンのび漫性の増加が見られたが、間質非増生群と比較して明らかな質的差異は認められ

なかった。しかし、基底膜成分であるIV型コラーゲンとラミニンおよびV型コラーゲンの分布には若干の差異が認められた。すなわち間質非増生群では、IV型コラーゲンとラミニンは癌細胞巢辺縁の基底膜領域にほぼ連続線状に分布しているのに対し、間質増生群では不連続、断片状に分布し、間質の毛細血管の基底膜も部分的に消失していた。基底膜の断裂はこれまでに各種の浸潤癌について報告されており<sup>27)28)</sup>、癌の浸潤・転移との関係が注目されている。扁平上皮癌や腺癌のような上皮性の悪性腫瘍は癌細胞巢が基底膜で囲まれており、間質へ浸潤するには先ず基底膜を分解しなければならないと考えられている<sup>29)30)</sup>。従って、間質増生群で見られた基底膜の断裂は癌の浸潤性の強さを表しているものと思われる。基底膜の分解によって間質との境界が取り除かれた癌細胞はさらに浸潤、転移をきたすが、この癌の浸潤・転移の機構に関して、Liottaら<sup>31)</sup>は三段階説を提唱している。第一段階として、腫瘍細胞の基質への接着がおこる。この時に重要な接着因子の一つがラミニンであり、腫瘍細胞はその表面のラミニンレセプターを介して特異的にラミニンに接着し、基質への浸潤の第一歩を歩む。第二段階として腫瘍細胞周囲の細胞外基質の分解がおこる。この時腫瘍細胞あるいは間質細胞から基底膜を構成するIV型コラーゲンやラミニンを分解する分解酵素が放出され、基底膜を分解し間質内へ入り込んで行くことになる。第三段階では間質内へ入り込んだ腫瘍が種々の酵素を分泌し間質結合組織を分解しながら移動を行うというものである。腫瘍細胞の血管侵入の際にも血管壁の基底膜への接着と、それに続く基底膜の分解がおこり、他の間質成分を分解しながら血管腔内へ侵入するというのである。こうして腫瘍の浸潤が行われるというLiottaらの仮説にもとづいて今回の観察結果を考察すると、形態学的にとらえられる基底膜成分の断裂状態は、第二段階に相当する変化と思われる。腫瘍の浸潤性を考える上で、これらラミニン、IV型コラーゲンなどの基底膜成分の存在は一つの指標になりうるように思われる。一方、Donatoら<sup>32)</sup>は肝細胞癌において、分化度が低分化から未分化なものほど基底膜成分であるIV型コラーゲン、ラミニンおよびフィブロネクチンの分布は断片状となり、消失していくことを報告している。このような基底膜の変化は主に腫瘍の分化度が低くなるほど腫瘍細胞の基底膜成分、とくにラミニンの産生能力が失われることによると考えられている。このことは腫瘍細胞が接着性を消失するにつれて母集団から遊離し、浸潤・移動を開始すると考えることができる。著者の検討において注目されることは、

腫瘍組織と非腫瘍組織の境界部である腫瘍先進部では、間質増生群も間質非増生群でも癌巢辺縁に基底膜成分を認めなかったことである。これは腫瘍の浸潤先端部位での基底膜成分の分解亢進によるのか、また腫瘍細胞自身の基底膜成分の産生能力の低下によるものかのどちらか、または同時に起こっていることによるものであろう。間質増生群においてIV型コラーゲンとラミニンが癌細胞と無関係に間質に分布していたのも注目される所見である。このような基底膜成分の異常はNagaiら<sup>33)</sup>が既に胃の硬癌について報告している。このような異常分布を示す基底膜成分の由来に関しては一定の見解はないが、Minamotoら<sup>34)</sup>は胃硬癌の免疫電顕の研究から、異常な基底膜成分は間質の平滑筋細胞や筋線維芽細胞(後述)および毛細血管の基底膜に由来することを明らかにしている。

V型コラーゲンは正常肺組織や癌の間質非増生群ではごくわずかししか認められなかったが、間質増生群ではI型、III型コラーゲンと共にび慢性に認められた。このようなV型コラーゲンの増加は、肺の癒瘍癌<sup>11)12)</sup>、胃<sup>7)</sup>や乳線<sup>18)35)</sup>の硬癌においても報告されており、V型コラーゲンは癌の間質の増生に大きく関与しているものと考えられる。V型コラーゲンはin vitroで周期性をもった細線維を形成し<sup>36)</sup>、また、I型コラーゲンと結合してハイブリッド線維を形成する<sup>37)</sup>ことが知られている。更に、V型コラーゲンの増加は動脈硬化<sup>38)</sup>や肥大型癒瘍<sup>39)</sup>から間質の増加する非腫瘍性病変でもみられるので、間質の増生の強い癌の間質に特異的に出現するものではなく、進行性の線維化病変の際に一般的に沈着するコラーゲンのように思われる。

間質増生群における間質の特徴に続いて、このような間質の成因と間質細胞について考察することにする。癌の間質増生の成因については、過去に既存の間質の虚脱<sup>30)</sup>や癌細胞自身による過剰の間質形成<sup>30)</sup>という考えがあった。しかし、最近では間質細胞が癌細胞から何らかの刺激を受け、その結果として過剰の間質成分を産生するとの意見が強い<sup>7)33)</sup>。今回の著者の免疫組織化学的検索においても間質増生群では癌細胞巢辺縁の基底膜が断裂しており、癌細胞と間質とのバリアーが失われ、癌細胞と間質細胞とが相互に作用しやすい環境が形成されているように思われる。また、コラーゲン、ラミニン、フィブロネクチンらの間質成分は免疫組織化学的に癌細胞内に染色されず、間質に増殖した間質細胞内に証明された。このような所見は、癌細胞と間質細胞の相互作用の結果、間質細胞によって過剰の間質成分が形成されるという最近の考え方を支持しているように思われる。間質の増生の強い癌の

間質に増殖するのは主に筋線維芽細胞と言われている<sup>40</sup>。筋線維芽細胞は電顕的には良く発達したゴルジ装置と粗面小胞体、マイクロフィラメント(アクチンフィラメント)の集束、呑飲小胞および基底膜によって特徴づけられるもので線維芽細胞と平滑筋細胞の性質を兼ね備えた細胞である<sup>41-43</sup>。今回、間質細胞について二種類の異なった抗アクチン抗体を用いて免疫組織化学的に検討を加えた。その結果、間質増生群で間質に増殖している大部分の間質細胞は非特異的抗アクチン抗体に対して陽性所見を示したが、平滑筋細胞のアクチンのみと特異的に反応し、線維芽細胞を含む他のアクチンとは反応しない抗アクチンで染色される細胞も少数混在していた。非特異的抗アクチン抗体によって染色された細胞は胞体内にアクチンフィラメントの集束を有する筋線維芽細胞に相当するものと考えられる。興味あるのは平滑筋細胞のアクチンに特異的に反応する抗アクチン抗体に陽性所見を示した細胞である。筋線維芽細胞は線維芽細胞のある機能相を表している細胞と考えられている<sup>44</sup>。著者が用いた特異的抗平滑筋アクチン抗体に反応する細胞の由来については慎重に判断すべきであるが、間質形成に平滑筋細胞が関与している可能性を否定できない。平滑筋細胞のうち粗面小胞体やゴルジ装置の発育が良好で線維芽細胞または筋線維芽細胞に類似した形態を示す細胞は、「修飾された平滑筋細胞」あるいは「合成型平滑筋細胞」とよばれている<sup>44</sup>。特に動脈硬化症では中膜の平滑筋細胞が内膜に遊走し、「修飾された平滑筋細胞」に形質転換し、コラーゲン、エラスチンらの間質成分を多量に産生し、間質形成に主役を演ずることが広く知られている。このように筋線維芽細胞と「修飾された平滑筋細胞」は形態学的にも機能的にも類似性があり、Tsukadaら<sup>40</sup>が指摘しているように、従来「筋線維芽細胞」として記載されているものの中に平滑筋細胞由来の細胞も含まれている可能性がある。間質の増生の強い肺癌においては間質細胞の大部分は線維芽細胞由来の筋線維芽細胞と考えられるが癌の侵襲を受けた気管支壁あるいは血管壁の平滑筋細胞が間質に遊走、増殖し、間質形成に関与することは充分考えられるであろう。

肺の癌痕癆の概念は、1939年にFriedrich<sup>46</sup>が最初に提唱したものである。これは癌痕組織を基盤にして発生する肺癌で、中心性癌痕は何らかの原因によって生ずる陳旧性線維巣であるとしている。その後、癌痕癆に関して多くの研究がなされ<sup>47,48</sup>、我が国でも1963年に影山<sup>49</sup>が炎症性癌痕や塵肺性癌痕に由来する癌痕癆について検討している。それによると、癌痕は肋膜

直下に形成されることと、癌痕は癌痕を基に放射状に発育しているものが多いこと、癌は末梢気管支上皮あるいは肺胞上皮から発生するものであろうと考えた。1965年にはKitagawa<sup>14</sup>は、末梢肺における癌痕癆は、その中心性癌痕周囲の増殖性気管支上皮あるいは肺胞上皮の悪性転化によって発生するものと報告し、根拠として多くの症例で癌痕周囲に上皮の異型性の過形成を認めたことを著述している。また、この中心性癌痕は細胞成分に乏しく、梗塞・肺炎後の肉様化・他の炎症性肉芽や外傷性の創傷などのあとに発生したものと考えられ、弾性線維に富むことが特徴であると報告している。一方、1980年にはSimosatoら<sup>2</sup>は、末梢肺発生の癌痕癆について検討し、癌痕の形成は癌腫の増殖に伴って形成されるものと考え、その理由として、1) 癌痕線維化巣は原発癌の大きさや相関があること、2) 線維化した腺癌は正常肺から発生することが多く知られていること、3) 中心性癌痕は腺癌の肺転移巣において肺原発癌と同じ程度に認められること、4) 肺癌の線維化病巣は、乳癌における線維化巣と同様の形態を示すこと、5) 砂粒体が癌痕内に認められることがあること、そして、6) 胸部レントゲン写真において、胸膜陥入像や細気管支および末梢肺動脈の腫瘍への集束像が、腫瘍像の発現と増殖に伴って明らかになってくることを挙げている。これに続いて1980年代になると、癌痕癆の線維化巣の免疫組織化学的な研究が行われるようになり<sup>11,12</sup>、肺の癌痕癆の線維化には乳癌の間質<sup>18,20</sup>同様I型、III型およびV型コラーゲンが深く関与していることが確認され、癌痕癆の癌痕は癌に対する間質の反応性増殖の結果形成されると考えられた。1986年、Barskyら<sup>15</sup>は、肺の癌痕癆と非腫瘍性癌痕の線維化した間質について、その成分の解析と間質細胞の性格に着目し検討を行っている。この結果でも、癌痕癆の形成する間質に、I型、III型コラーゲンの増加と、V型コラーゲンの相対的増加が認められた。また間質細胞について、癌痕癆および非腫瘍性癌痕について抗ミオシン抗体を用いてその性格を検討したところ、癌痕癆の間質の増殖していた間質細胞の90%以上がミオシン陽性の、いわゆる筋線維芽細胞であり、非腫瘍性癌痕には筋線維芽細胞は10%以下であった。このように癌痕癆の間質と非腫瘍性癌痕は質的に異なることから、彼らは癌痕癆は癌痕を基盤にして発生したものではないと考えた。しかし、彼らは癌痕癆の間質全体を画一的に扱っており、癌組織中の癌痕組織についての詳細な検討は行っていない。著者の検討において、癌痕癆6例(腺癌5例、扁平上皮癌1例)は全例胸膜の肥厚・胸膜陥入像と、その直下の炭

粉沈着と中心性癭痕を認め、この辺縁に腫瘍の増殖を認めた。この中心性癭痕は、Kitagawa<sup>14)</sup>の言うように細胞成分に乏しく硝子化した部位であるが、弾性線維に富み、コラーゲンでは特にVI型コラーゲンの増加が認められた。この中心性癭痕組織には癌細胞は殆ど認められず、間質成分は非腫瘍性癭痕組織と質的に極めて類似した性状を示していた。一方、この癭痕組織に連続して増殖している癌は全例間質増生群に分類され、この間質の性状は先に述べたように胃や乳癌の硬癌の間質に類似していた。すなわち、I型、III型およびV型コラーゲンの増加、フィブロネクチンのび慢性増加を認めた。またIV型コラーゲン、ラミニンなどの基底膜成分は癌巣周囲に不連続・断片状に分布し、間質においても毛細血管や筋線維芽細胞の基底膜の遺残とも考えられる局在を示した。また間質には間質細胞の強い増殖がみられ、免疫組織化学的にも細胞内にコラーゲンが染色され、これらの細胞による間質形成が進行中であることがうかがわれた。このように癭痕癌の中心部の癭痕組織とその周辺の癌細胞を含む組織では質的に差異がみられることから、癭痕組織は癌の発生に先行している可能性があるように思われる。

今回、著者の検討した肺癌症例26例のうち、癭痕癌を含む間質増生群では上述したように癌細胞巣や毛細血管の基底膜の断裂、消失がみられ、癌の浸潤性や転移性の強さがうかがわれた。強い間質結合織の増生を引き起こす癌細胞の生物的特性を明らかにする事も今後に残された重要な課題の一つである。

## 結 論

肺癌の間質を構成する細胞外マトリックス成分と間質細胞について、抗ヒトコラーゲン抗体、抗ヒトフィブロネクチン抗体、抗ヒトラミニン抗体および抗アクチン抗体を用いて免疫組織化学的に検討し、肺癌の間質反応の特徴を解析した。

1. 原発性肺癌26症例を、間質の多寡によって間質増生群と間質非増生群に分類した。間質増生群では間質非増生群に比べて間質にI型、III型およびVI型コラーゲンなどの間質型コラーゲンとフィブロネクチンの著明な増加がみられた。V型コラーゲンも間質および間質細胞内に認められた。IV型コラーゲン、ラミニンなどの基底膜成分は間質非増生群では癌細胞巣辺縁や間質の毛細血管周囲にほぼ連続性に存在した。しかし、間質増生群では、基底膜成分が癌細胞巣辺縁に不連続・断片状に分布していること、およびIV型コラーゲン、ラミニンが癌細胞巣周囲以外の間質に分布している特徴があった。このことから肺癌の間質の形成

は、癌細胞の浸潤に対する間質の反応性増殖によるもので、おもにI型、III型、VI型コラーゲンおよびV型コラーゲンとフィブロネクチンが間質の線維形成に深く関与していると考えられた。

2. 癭痕癌は全例間質増生群に分類された。また中心性癭痕癌を全例に認め、同部位に多量の弾性線維とVI型コラーゲンの沈着がみられ、基本的には非腫瘍性癭痕組織と同様の性状を示した。従って癭痕癌が既存の癭痕組織を基盤にして発生した可能性が示唆された。

3. 間質の増生に伴って増殖する間質細胞の多くは、非特異的抗アクチン抗体に対して陽性所見を示した。しかし、小数ながら平滑筋細胞に特異的な抗アクチン抗体に対して反応する細胞も混在していた。このことは平滑筋細胞が肺癌の間質形成に関与していることを示唆している。

## 謝 辞

稿を終えるに際し、御指導、御校閲を賜りました金沢大学第一病理学講座中西功夫教授、金沢大学第一外科学講座岩橋教授に深く感謝の意を表します。また始終、親身なる御教示をいただきました。金沢大学第一病理学講座勝田省吾助教授に心より感謝いたします。また本研究の遂行に御助力戴いた。金沢大学第一外科学講座渡辺洋宇助教授に深謝いたします。本研究遂行に際して御助言、御協力をいただきました金沢大学第一病理学教室および金沢大学第一外科学教室員各位に厚く御礼申し上げます。

本論文の要旨は、第29回日本肺癌学会総会(1988年、福岡)において発表した。

## 文 献

- 1) 成毛韶夫: 図説臨床「癌」シリーズ6, 肺癌: 第二章. 集団検診, 第一版, 13-21頁, メジカルビュー社, 東京, 1986.
- 2) Simosato, Y., Suzuki, A., Hashimoto, Nishikawa, Kodama, T., Yoneyama, T. & Kameya, T.: Prognostic implication of fibrotic focus (scar) in small peripheral lung cancers. *Am. J. Pathol.*, **4**, 365-373 (1980).
- 3) 北岡久三, 三輪 潔: スキルスの予後. *臨床成人病*, **7**, 1835-1839 (1977).
- 4) Barsky, S. H., Grotendorst, G. R. & Liotta, L. A.: Increase content of type V collagen in desmoplasia of human breast carcinoma. *Am. J. Pathol.* **108**, 276-283 (1982).
- 5) Yamamoto, M., Sumiyoshi, H., Nakagami, K., Taniyama, K. & Tahara, E.: Distribution of collagen types I and III and basal lamina in

- human gastric carcinoma: an immunohistochemical and electron microscopic study. *Virchows Arch. A.*, **403**, 313-322 (1984).
- 6) Nagai, Y., Sunada, H., Sano, J., Onodera, S., Arai, K., Konomi, H., Minamoto, T., Hata, R., Hori, H., Nakanishi, I., Kitaoka, H. & Sakamoto, G.: Biochemical and Immunochemical studies on the scirrhous carcinoma of human stomach. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **460**, 321-332 (1985).
- 7) Minamoto, T., Ooi, A., Okada, Y., Mai, M., Nagai, Y., & Nakanishi, I.: Desmoplastic reaction of gastric carcinoma: A light and electron microscopic immunohistochemical analysis using collagen type-specific antibodies. *Hum. Pathol.*, **19**, 815-821 (1988).
- 8) Barsky, S. H., Siegal, G. P., Jannotta, F. & Liotta, L. A.: Loss of basement components by invasive tumors but not by their benign counterparts. *Lab. Invest.*, **49**, 140-147 (1983).
- 9) Grigioni, W. F., Biagini, G., Garbisa, S., D'errico, A., Milani, M., Mastroianni, M., Vasi, V., villanacci, V., Gozzetti, G. & Mancini, A. M.: Immunohistochemical study of basement membrane antigens in bronchioloalveolar carcinoma. *Am. J. Pathol.*, **128**, 217-224 (1987).
- 10) Stenback, F., Risteli, J., Risteli, L. & Wasenius, V.: Basement membrane laminin and type IV collagen in endometrial adenocarcinoma - Relation to differentiation and treatment. *Oncology*, **42**, 370-376 (1985).
- 11) Madri, J. A. & Carter, D.: Scar cancer of the lung: Origin and significance. *Hum. Pathol.*, **15**, 625-631 (1983).
- 12) El-Torky, M., Giltman, L. I. & Dabbous, M.: Collagens in scar carcinoma of the lung. *Am. J. Pathol.*, **121**, 322-326 (1985).
- 13) Kolin, A. & Koutoulakis, T.: Role of arterial occlusion in pulmonary scar cancers. *Hum. Pathol.*, **19**, 1161-1167 (1988).
- 14) Kitagawa, M.: autopsy study of lung cancer with special reference to scar cancer. *Acta Pathol. Jap.*, **15**, 199-222 (1965).
- 15) Barsky, S. H., Huang, S. J. & Bhuta, S.: The extracellular matrix of pulmonary scar carcinomas is suggestive of a desmoplastic origin. *Am. J. Pathol.*, **124**, 412-419 (1986).
- 16) 日本肺癌学会(編): 肺癌取り扱い規約, 改訂第3版, 87-115頁, 金原出版, 東京, 1987.
- 17) 渡辺慶一, 中根一穂: 酵素抗体法 (改訂版). 106-113頁, 学際企画, 東京, 1985.
- 18) 源利成: 肺癌の間質における型別コラーゲン (I型, III型, IV型およびV型) およびラミニンの局在. *十全医学誌*, **6**, 975-990 (1986).
- 19) Oda, Y., Kawahara, E., Minamoto, T., ueda, Y., Ikeda, K., Nagai, Y., & Nakanishi, I.: Immunohistochemical studies on the tissue localization of collagen type I, III, IV, V and VI in schwannomas: Correlation with ultrastructural features of the extracellular matrix. *Virchows Arch. B.*, **56**, 153-163 (1988).
- 20) Gown, A. M., Vogel, A. M., Gordon, D. & Lu, P. L.: A smooth muscle-specific monoclonal antibody recognizes smooth muscle actin isozymes. *J. Cell Biol.*, **100**, 807-813 (1985).
- 21) Charbord, P., Gown, A. M., Keating, A. & Singer, J. W.: CGA-7 and HHF, two monoclonal antibodies that recognize muscle actin and react with adherent cells in human long-term bone marrow cultures. *Blood*, **66**, 1138-1142 (1985).
- 22) Lin, J. J.: Monoclonal antibodies against myofibrillar components of rat skeletal muscle decorate the intermediate filaments of cultured cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **78**, 2335-2339 (1981).
- 23) Madri, J. A. & Furthmayr, H. F.: Collagen polymorphism in the lung: An immunochemical study of pulmonary fibrosis. *Hum. Pathol.*, **11**, 353-366 (1980).
- 24) Konomi, H., Hori, H., sano, J., Sunada, H., Hata, R., Fujiwara, S. & Nagai, Y.: Immunohistochemical localization of type I, II, III, and IV collagens in the lung. *Acta Pathol. Jpn.*, **31**, 601-610 (1981).
- 25) 渡邊 宏, 大塚盛男, 角田力弥: 肺疾患とフィブロネクチン. *最新医学*, **39**, 2046-2050 (1984).
- 26) Kenne, D. R., engvall, E. & Glanville, R.W.: Ultrastructure of type VI collagen in human skin and cartilage suggests an anchoring function for this filamentous network. *J. Cell Biol.*, **107**, 1995-2006 (1988).
- 27) Bosman, F. T. Havenith, M. & Cleutijens, J. P. M.: Basement membrane in cancer. *Ultra-*

ruct. Pathol., 8, 291-304 (1985).

- 28) **Sakr, W. A., Zarbo, R. J. & Crissman, J. D.**: Immunohistologic distribution of basement membrane in breast neoplasia. *Surg. Pathol.*, 1, 3-12 (1988).
- 29) **Nakamura, K., Mori, M. & Enjoji, M.**: Distribution of basement membrane antigens in clinical gastric adenocarcinomas: an immunohistochemical study. *J. Clin. Pathol.*, 40, 1418-1423 (1987).
- 30) **Grigioni, W. F., Biagini, G., Errico, A. D., Milani, M., Villanacci, V., Garbisa, S., Mattioli, S., Gozzetti, G. & Mancini, A. M.**: Behaviour of basement membrane antigens in gastric and colorectal cancer: Immunohistochemical study. *Acta Pathol. Jpn.*, 36, 173-184 (1986).
- 31) **Liotta, L. A.**: Tumor Invasion and metastases-Role of the extracellular matrix: Rhoads Memorial Award Lecture. *Cancer Res.*, 46, 1-7 (1986).
- 32) **Donato, M. F., Colombo, M., Matarazzo, M. & Paronetto, F.**: Distribution of basement membrane components in human hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 63, 272-279 (1989).
- 33) **Barsky, S. H., Rao, C. N., Grotendorst, G. R. & Liotta, L.A.**: Increased content of type V collagen in desmoplasia of human breast carcinoma. *Am. J. Pathol.*, 108, 276-283 (1982).
- 34) **Adachi, E. & Hayashi, T.**: In vitro formation of fine fibrils with a D-periodic banding pattern from type V collagen. *Coll. Relat. Res.*, 5, 225-232 (1985).
- 35) **Adachi, E. & Hayashi, T.**: In vitro formation of hybrid fibrils of type V collagen and type I collagen: Limited growth of type I collagen into thick fibrils by type V collagen. *Connect. Tissue Res.*, 14, 257-266 (1986).
- 36) **Ooshima, A.**: Collagen  $\alpha$  B Chain: Increased proportion in human atherosclerosis. *Science*, 213, 666-668 (1981).
- 37) **Ehrlich, H. P. & White, B. S.**: the identification of  $\alpha$  A and  $\alpha$  B collagen chains in hypertrophic scar. *Exp. Mol. Pathol.*, 34, 1-8 (1981).
- 38) **Jackson, J. G. & Orr, J. W.**: The ducts of carcinomatous breasts, with particular reference to connective tissue changes. *J. Path. Bact.*, 74, 265-273 (1957).
- 39) **Al-Adnani, M. S., Kirrance, J. A. & McGee, J. O'D.**: Inappropriate production of collagen and prolyl hydroxylase by human breast cancer cells in vivo. *Br. J. Cancer*, 31, 653-660 (1975).
- 40) **Seemayer, T. A., Lagace, R. L., Schurch, W. & Tremblay, G.**: Myofibroblasts in the stroma of invasive and metastatic carcinoma: A possible host response to neoplasia. *Am. J. Surg. Pathol.*, 3, 525-533 (1979).
- 41) 梶川欽一郎: 結合組織: 線維芽細胞. 19-47頁, 中原出版, 東京, 1984.
- 42) **Schurch, W., Seemayer, T. A. & Lagace, R.**: Stromal myofibroblasts in primary invasive and metastatic carcinomas: A combined immunological, light and electron microscopic study. *Virchows Arch. A.*, 391, 125-139(1981).
- 43) 木田厚瑞: マウスにおけるプレオマイシン肺線維症の電子顕微鏡的研究. 十全医学誌, 84, 211-226 (1975).
- 44) **Chamley-Campbell, J., Campbell, G. R. & Ross, R.**: The smooth muscle cell in culture. *Physiological Reviews*, 59, 1-61 (1979).
- 45) **Tsukada, T., McNutt, M. A. Ross, R. & Gown, A. M.**: HHH35, a muscle actin-specific monoclonal antibody: II. reactivity in normal, reactive, and neoplastic human tissues. *Am. J. Pathol.*, 127, 389-402 (1987).
- 46) **Friedrich, D. G.**: periphere lungenkrebse auf dem boden pleuranaher narben. *Virchows Arch. A.*, 304, 230-240 (1939).
- 47) **Yokoo, H. & Suckow, E. E.**: peripheral lung cancers arising in scars. *Cancer*, 6, 1205-1215 (1960).
- 48) **auerbach, O., Garfinkel, L. & Parks, V. R.**: Scar cancer of the lung: Increase over a 21 year period. *Cancer*, 43, 636-642 (1978).
- 49) 影山圭三: 肺の癒痕癌—病理組織学的吟味—。癌の臨床, 9, 132-138 (1963).

**Immunohistochemical Study on the Desmoplasia of Pulmonary Carcinomas**  
Nozomu Murakami, Department of Pathology (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., 98, 923—937 (1989)

**Key words** lung cancer, extracellular matrix, stromal cell, immunofluorescence

#### Abstract

Twenty-six cases of primary pulmonary carcinoma, which were classified into desmoplastic and non-desmoplastic groups, were studied on their extracellular matrix components and stromal cells using type-specific anti-human collagen antibodies, anti-human laminin monoclonal antibody, anti-human fibronectin polyclonal antibody and anti-actin antibodies. In the non-desmoplastic group, types I, III and VI collagens, and fibronectin were distributed in the narrow stroma linearly, and type IV collagen and laminin were distributed on basement membrane surrounding cancer cell nests in linear pattern continuously. Type V collagen was observed faintly in the stroma and in the some of stromal cells. In desmoplastic cases, types I, III and VI collagens and fibronectin were obviously increased in the stroma, and type IV collagen and laminin were delineated discontinuously on the basement membrane of carcinoma cell nests. Type V collagen was observed more intensely in the stromal cells as well as in the fibrous stroma. A majority of mesenchymal cells in desmoplasia were positive for non-specific anti-actin antibody, and there were a few stromal cells reactive to smooth muscle cell-specific anti-actin antibody. Although all scar cancers (6 cases) showed the same desmoplastic reaction in their periphery, the central scars were different from the cancer desmoplasia in the presence of abundant elastin and type VI collagen which was characteristic for non-tumorous scar tissues. These findings suggested that desmoplasia associated with cancer invasion was characterized by increase of types I, III, VI and V collagens and fibronectin due to reactive proliferation of stromal cells. Many stromal cells proliferated were considered to be myofibroblasts, but the possibility that smooth muscle cells of the bronchial wall or pulmonary vessels, participated in desmoplasia remained. Furthermore, it is suggested that scar cancer would develop in the precedent cicatricial subpleural scar tissue.