

# 転移性肝癌の病理学的研究 癌転移巣と周囲微小環境の変化を中心に

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/2297/9116">http://hdl.handle.net/2297/9116</a>

## 転移性肝癌の病理学的研究

—癌転移巣と周囲微小環境の変化を中心に—

金沢大学医学部放射線医学講座 (主任: 高島 力教授)

金沢大学医学部病理学第二講座 (主任: 中沼安二教授)

寺 山 昇

転移性肝癌の剖検例100例と外科切除例50例を対象に、転移性肝癌とその周囲の微小環境の変化を病理形態学的、免疫組織化学的、および血管内にシリコンラバーを注入した透徹標本を用い、検討した。転移性肝癌では、肉眼的に多結節型が最も多く(65%)、次いで塊状型(17%)で、門脈域内へ連続的に浸潤するものも8%に見られた。発育部位では、実質内へと向かう発育が多かったが、胆嚢・胆管癌では門脈域を中心とした発育が比較的高率であった。転移巣辺縁部の発育パターンは、微小な転移巣では、置換型や類洞型が高率であったが、転移巣の増大と共に、これら2型の割合は減少し、膨張型の頻度が増加し、線維性被膜を示す例も見られた。微小肝転移巣(径1mm未満)は肝実質内に多く見られたが、胆嚢・胆管癌では、門脈域内に高率であった。腫瘍血管に関しては、200 $\mu$ mの微小な肝転移で初めてハリエニンダ凝集素I (*Ulex europaeus* agglutinin I, UEA-I) や von Willebrand 因子 (von Willebrand factor, vWF) が陽性の血管が同定された。転移巣の増大に伴い転移巣辺縁部の血管密度は上昇したが、転移巣の径が3mm前後でピークに達し、それ以上の増加は見られなかった。転移性肝癌では小さな段階で腫瘍血管にアルファ平滑筋アクチン ( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA), N型コラーゲンやラミニンが陽性で、転移性肝癌における血管新生は早期から周皮細胞や基底膜の包囲を伴っていた。転移巣周囲の肝実質では、類洞内皮細胞にUEA-Iの結合やvWFの発現が見られ、毛細血管化を示した。また、転移巣に近接して $\alpha$ -SMAが陽性の類洞壁細胞の増加が見られた。さらに、転移巣周囲の肝細胞には、非癌部の肝細胞に比較して強い塩基性線維芽細胞増殖因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) の発現が見られた。これらの所見より、bFGFが転移性肝癌周囲での類洞内皮毛細血管化や $\alpha$ -SMA陽性類洞壁細胞の増加、転移巣周囲の線維化に関与する可能性が示唆された。また、毛細血管化した転移巣周囲の類洞内皮が転移巣内の血管に連続する部分がしばしば観察された。シリコンラバー注入標本でも転移巣周囲の類洞から転移巣内へ連続する血管が観察され、腫瘍血管の一部は周囲類洞と直接連絡することが示唆された。

**Key words** liver metastasis, pathology, angiogenesis, capillarization, fibrosis

肝は癌の転移しやすい臓器の一つであり、転移性肝癌は原発性肝癌に比して圧倒的に多い<sup>1)</sup>。例えば、剖検例による検討で、肺癌の36~47%、胃癌の35~64%、膵癌の68~88%、大腸癌の26~52%、胆嚢・胆道癌の29~85%で肝に転移巣が見られるとされる<sup>1)~4)</sup>。

さて、近年の各種の画像診断学の進歩と普及に伴い、原発性肝癌では、画像所見を基に種々の治療法が開発され、臨床的に応用されている。転移性肝癌でも肝の病理形態に対応した画像所見が指摘、観察され<sup>5)</sup>、これらが治療に応用されつつある。例えば、転移性肝癌の治療法として、従来、外科的切除や全身化学療法が行われているが<sup>7)</sup>、最近では、経カテーテル的肝動脈塞栓術や動注化学療法などのインターベンショナルラジオロジー (interventional radiology) が行われ<sup>8)</sup>、その治療成績が報告されるようになってきた。そして現在、これらの治療法の背景となる転移性肝癌の病態や病理組織学的所見、さらに、栄養血管

等に関する知識が益々必要となってきた。さて、従来の栄養血管の研究として、肝動脈や門脈に着色したゼラチンを注入し組織学的に検討する方法、シリコンラバーを注入し、透徹標本を作製し、実体顕微鏡で観察する方法<sup>9)~11)</sup>などがあり、肝動脈に加えて、門脈が転移性肝癌の栄養血管として種々の程度に関与すると報告されてきた。しかし、原発巣や癌の分化度の違いによる血行支配の多様性が指摘されており、現実的に個々の患者の治療に際し、より多くの基礎的な成績が必要となっている。

最近、腫瘍の発育、浸潤、転移において血管新生と腫瘍血管は極めて重要な意味を持つことが次第に明らかとなり、原発巣の血管新生や腫瘍血管に関して多くの研究がなされている<sup>11)</sup>。しかし、転移性肝癌の血管新生に関しては、ほとんど知られていない。

今回、転移性肝癌の画像診断とインターベンショナルラジオ

平成6年12月15日受付、平成7年2月2日受理

Abbreviations: ABC, avidin-biotin-peroxidase complex; aFGF, acidic fibroblast growth factor; bFGF, basic fibroblast growth factor; DAB, 3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride; MIB-1 LI, MIB-1 labeling index; PBS, phosphate-buffered saline; PCNA, proliferating cell nuclear antigen;  $\alpha$ -SMA,  $\alpha$ -smooth muscle actin; UEA-I, *Ulex europaeus* agglutinin I; vWF, von Willebrand factor

Table 1. Main clinicopathological features of autopsy cases with liver metastases

Primary site	Number of cases	Gender		Age of patients years (mean±SD)	Weight of liver gram (mean±SD)
		Male	Female		
Lung	24	22	2	66.3±10.1	1501±612
Pancreas	21	19	2	67.4±10.4	1455±377
Stomach	18	15	3	63.3±14.9	2099±1078
GB/Bile duct	14	5	9	69.5±10.1	1380±245
Colon	13	6	7	63.9±15.0	2317±1539
Others	10	4	6	62.4±12.1	1996±1015

GB, gallbladder; SD, standard deviation; others, kidney 3, renal pelvis 1, bladder 1, uterus 1, esophagus 1, pharinx 1, appendix 1, thyroid 1.

Table 2. Surgically resected cases of liver metastases

Primary site	Histologic type	Number of cases
Colon	Adenoca. well	5
	moderate	27
	poor	2
Pancreas	Adenoca. moderate	5
	poor	1
Stomach	Adenoca. moderate	6
Others *		4

Adenoca., adenocarcinoma; well, moderate and poor are grades of differentiation; \*, breast cancer 1, renal cell cancer 1, ovarian cancer 1, leiomyosarcoma of unknown origin 1.

ロジーの基礎的な知識を得るため、1) ヒト転移性肝癌の着床、浸潤、発育に関する病理組織学的検討を行い、2) その腫瘍血管の生物学的性状を検討し、腫瘍に関連した血管新生、腫瘍血管の由来、腫瘍の発育に伴う腫瘍血管の変化や、肝転移巣周囲での微小環境の変化について免疫組織化学的に検討を行った。3) また、血管内シリコンラバー注入法による腫瘍血管の3次元的な観察を行ったので報告する。

対象および方法

1. 対象

1. 剖検例

金沢大学第2病理学教室で1985年から1994年の間に経験された転移性肝癌の剖検例100例を対象とした。原発臓器の内訳は肺癌24例、膵癌21例、胃癌18例、大腸癌13例、胆嚢癌10例、肝外胆管癌4例、腎癌3例、腎盂癌、膀胱癌、子宮癌、食道癌、上咽頭癌、虫垂癌、甲状腺癌各1例(表1)。平均年齢は65.7±12.3歳、性別は男性71例、女性29例である。71例で肝重量の記述があり、その平均は1729±942gであった。原発巣の違いによる平均年齢や平均肝重量に差はなかった。なお、対照として組織学的に著変がなく、死後変化の少ない剖検肝11例(平均年齢74.7±9.5歳、男性6例、女性5例)を用いた。

2. 外科的切除例

金沢大学第2病理学教室、国立金沢病院、石川県立中央病院、富山市民病院、黒部市民病院、市立敦賀病院で1987年から

1994年に外科的に切除され、固定・保存状態の良好な転移性肝癌50例を対象とした(表2)。これらの内訳は大腸癌が34例、膵癌6例、胃癌6例、乳癌1例、腎癌1例、卵巣癌1例、不明1例である。

II. 転移性肝癌の病理学的検討

剖検肝を5~6枚に分割し、10%中性ホルマリンで固定した後、肉眼的に観察した。また、剖検肝より種々の径の転移性腫瘍を含む肝組織片を各症例毎に1~8カ所から適宜採取し、ホルマリン固定・パラフィン包埋した。外科切除肝でも各症例より1~3カ所の転移巣を含む肝組織片を採取し、ホルマリン固定後パラフィン包埋した。次いで、各パラフィンブロックから5μm切片を約20枚作成し、型の如く脱パラフィン後、HE染色、鍍銀染色、およびElastica van Gieson染色を行い、光学顕微鏡的に観察し、以下の検討を行った。残りのパラフィン切片は、後述のレクチン染色と免疫組織化学的検討に用いた。

1. 転移性肝癌の肉眼像

剖検肝を用い、原発性肝癌取扱い規約<sup>12)</sup>に準拠し、転移性肝癌を結節型(単結節型、多結節型、結節癒合型)、塊状型、びまん型に分類し、それぞれの頻度を求めた。なお、上記に分類されるもの以外に、肉眼的に門脈域の拡大、門脈域周囲の線状あるいは小結節状の腫瘍分布を示す癌性リンパ管症(lymphangiogenesis carcinomatosa)と思われる例<sup>13)</sup>は、門脈域型として別途に分類した。

2. 転移性肝癌の発育部位と辺縁部での増殖パターン

転移性肝癌の発育部位を組織学的に、門脈域に沿った発育を示す門脈域発育型と肝実質への発育を示す実質発育型に分類し、検討を行った。実質発育型では、さらに、腫瘍辺縁部での優勢な増殖パターンにより、組織学的にNakashimaら<sup>14)</sup>の肝細胞癌の浸潤発育パターンに準拠し、以下の5型に分類した：置換型(肝細胞索内を肝細胞と連続しこれを置換する様に発育するもの。肝細胞癌の置換型と若干異なり、肝細胞索内では、隣接する肝細胞に圧排像、破壊像が目立つ)、類洞型(腫瘍細胞が類洞内へ浸潤するもの)、膨張型(腫瘍が肝細胞索を圧排し、萎縮させる様に発育するもの)、それに被膜型(腫瘍周囲に線維性被膜を形成するもの)、分類不能型に分類し<sup>14)</sup>、原発巣や転移巣の大きさに別々に検討した。また、転移性肝癌周囲の線維性結合組織よりなる被膜の有無、また腫瘍内部での隔壁様結合組織(隔壁形成)の有無も同時に検討した。

3. 転移性肝癌の着床部位の検討

転移性肝癌の肝内での着床部位を調べるために、各症例毎に全ての切片について、1mm未満の微小転移巣の存在部位を門

脈域内, 肝実質内に分けて, それぞれの頻度を検討した。

### Ⅲ. 転移性肝癌の細胞動態, 腫瘍血管の密度, 腫瘍血管と血管増殖因子の免疫組織化学的検討

レクチン染色, 免疫組織化学的検討に用いた1次抗体, 2次抗体, ビオチン標識レクチンの入手先と希釈を表3に示す。これら染色の特異性は, 1次抗体あるいはレクチンを, 0.01M リン酸緩衝生理食塩水 (phosphate-buffered saline, PBS) で置換し, 反応が陰性化することで確認した。

#### 1. 細胞動態の解析による腫瘍増殖部位の検討

転移性肝癌の外科切除例を用いて, 細胞増殖関連核抗原の Ki-67<sup>15,16</sup> の発現を検討した。Ki-67 は細胞増殖に関連した核抗原で, 細胞周期の G1, S, G2, M 期に発現し, G0 期の休止期にある細胞には発現しないことが知られている。パラフィン切片を型の如く脱パラフィンを行い, アビジンビオチンペルオキシダーゼ複合体 (avidin-biotin-peroxidase complex, ABC) 法により免疫染色を行った<sup>17</sup>。すなわち, 内因性ペルオキシダーゼを 0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 添加メチルアルコール液中に30分間置き, 失活させた後, 0.01M クエン酸緩衝液中にてマイクロウェーブ処理を5分間, 5回行った。その後, 非特異的結合反応を防止するために10%ウマ正常血清で10分間処理した。次いでスライド上で抗 Ki-67 モノクローナル抗体 (MIB-1) を 4℃で一晩反応させた。次に200倍に希釈したビオチン化ウマ抗マウス IgG 抗体, それにひき続いて ABC 溶液 (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) とそれぞれ室温で30分間反応させた後, 0.03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> を加えた 0.2% 3, 3'-ジアミノベンチジン 4 塩酸塩 (diaminobenzidine tetrahydrochloride, DAB) (Sigma, St. Louis, MO, USA) で発色させた。なお各々の反応は, PBS で十分に洗浄後に行った。次いで, ヘマトキシリンで核染後, 脱水封入し, 鏡検した。そして, 500個の腫瘍細胞中の MIB-1 陽性の腫瘍細胞の割合 (MIB-1 labeling index, MIB-1 LI) を求め, 癌転移巣の辺縁部と中心部でそれぞれの MIB-1 LI を求めた。

#### 2. 腫瘍血管の定義と同定

腫瘍血管を転移性肝癌内の血管と定義し, 以下の検討を行った。まず, これらの血管を同定するため, 上述の染色に加え, 血管内皮細胞のマーカーであるハリエニンダ凝集素 I (*Ulex*

*europaeus* agglutinin I, UEA-I) のレクチン染色と von Willebrand 因子 (von Willebrand factor, vWF) の免疫染色を行った<sup>18</sup>。UEA-I レクチン染色では, 脱パラフィン後, 内因性ペルオキシダーゼを失活させ, 10%ブタ正常血清で10分間処理し, 非特異的結合反応を防止した。次いで10μg/ml ビオチン化 UEA-I をスライド上で4℃で一晩反応させ, ABC 溶液と反応後, 0.03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 添加 DAB 中で発色した。vWF の免疫染色は上述の Ki-67 免疫染色と同様であるが, マイクロウェーブ処理は行わず, 内因性ペルオキシダーゼを失活させた後, 10%ヤギ正常血清で処理し, 1次抗体を4℃で一晩反応させた。次いで200倍希釈のヤギ抗ウサギ IgG 抗体を2次抗体として使用し, ABC 溶液と反応後, 0.03% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 添加 DAB 中で発色した。なお, 非癌部門脈域内の血管の染色性を内部対照とし, 各組織切片毎に転移性肝癌内の血管, 非癌部ならびに癌周囲の類洞内皮細胞での UEA-I の結合性と vWF の発現状況を調べた。

#### 3. 転移性肝癌の腫瘍血管密度の検討

転移性肝癌の剖検例を対象に, 20倍の対物レンズを用い, 1視野あたりの血管数 (UEA-I と結合を示す血管または vWF を発現する血管) を数えた。そして, 異なる腫瘍径毎に単位面積当たりの血管数 (/mm<sup>2</sup>) を求め, 転移性肝癌の増大に伴う腫瘍血管密度の変化を求めた。

#### 4. 腫瘍血管と血管増殖因子の免疫組織化学的検討

転移性肝癌の外科切除例を対象に血管内皮細胞, 血管平滑筋と周皮細胞, 基底膜構成成分, 血管増殖因子の免疫染色を ABC 法により行った。なお, 非特異的結合を防ぐため各1次抗体との反応前に2次抗体と同種の10%正常動物血清と反応させたが, その他の染色の方法は前述の vWF の免疫染色と同じである。

血管内皮細胞のマーカーとして, 上述の vWF の発現と UEA-I の結合性を<sup>18</sup>, 血管平滑筋および周皮細胞のマーカーとして, アルファ平滑筋アクチン ( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)<sup>19-21</sup> を, 血管基底膜構成成分としてラミニン, N型コラーゲン<sup>22</sup> を免疫染色し, 血管増殖因子の酸性および塩基性線維芽細胞増殖因子 (acidic and basic fibroblast growth factor, aFGF and bFGF)<sup>23</sup> の発現も同様に検討した。なお, ラミニン

Table 3. Primary and secondary antibodies and biotinylated lectin used in this study

Antibodies and lectin (class)	Dilution	Source (Laboratory)
Primary antibodies		
Anti-Ki-67 (clone MIB-1, mouse IgG, mono)	1 : 50	Immunotech S.A., Marseille Cedex, France
Anti-human vWF (rabbit IgG, poly)	1 : 100	Dako, Glostrup, Denmark
Anti-human $\alpha$ -SMA (mouse IgG, mono)	1 : 50	Dako, Glostrup, Denmark
Anti-murine laminin (rat IgG, mono)	1 : 100	Immunotech S.A., Marseille Cedex, France
Anti-human type IV collagen (mouse IgG, mono)	1 : 500	Shiseido, Tokyo, Japan
Anti-human bFGF (AB1 & AB2) (rabbit IgG, poly)	1 : 20	Oncogene Science, Uniondale, NY, USA
Anti-bovine aFGF (rabbit IgG, poly)	1 : 50	Promega, Madison, WI, USA
Biotinylated secondary antibodies		
Anti-rabbit IgG (goat)	1 : 200	Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA
Anti-mouse IgG (horse)	1 : 200	Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA
Anti-rat IgG (rabbit)	1 : 200	Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA
Biotinylated lectin		
UEA-I	10μg/ml	Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA

Poly, polyclonal antibody; mono, monoclonal antibody; vWF, von Willebrand factor;  $\alpha$ -SMA,  $\alpha$ -smooth muscle actin; bFGF, basic fibroblast growth factor; aFGF, acidic fibroblast growth factor; UEA-I, *Ulex europaeus* agglutinin I.

Table 4. Macroscopic classification of liver metastases

Primary site	Number of cases	Number (%) of cases						
		Massive type	Nodular type				Portal tract type	Invisible type
			Solitary	Multiple	Fused multiple	Total		
Lung	24	0	0	22(91.7)	2(8.3)	24(100)	0	0
Pancreas	21	3(14.3)	0	15(71.4)	0	15(71.4)	2(9.5)	1(4.8)
Stomach	17	5(27.8)	1(5.6)	9(50.0)	1(5.6)	11(61.2)	2(11.1)	0
GB/Bile duct	14	4(28.6)	0	6(42.8)	0	6(42.8)	4(28.6)	0
Colon	13	2(15.4)	2(15.4)	7(53.8)	2(15.4)	11(84.6)	0	0
Others	10	3(30.0)	0	6(60.0)	0	6(60.0)	0	1(10.0)

GB, gallbladder; diffuse type is not found.

とⅣ型コラーゲンでは、内因性ペルオキシダーゼを失活させた後、0.4%ペプシン (Sigma) 0.01N 塩酸溶液を用いて、37℃で100分間処理した後に免疫染色を行った。さらに、bFGF の免疫染色の特異性は、レコンビナントの bFGF (Austral Biologicals, San Ramon, CA, USA) と混和した抗 bFGF 抗体を1次抗体として使用し免疫染色を行い、陽性反応が消失することにより確認した。

Ⅳ. 透徹標本を用いた転移性肝癌腫瘍血管の3次元的観察

金沢大学第二病理学教室で1993年から1994年に行われた剖検の内、転移性肝癌の剖検肝3例(胃癌1例, 肺癌1例, 胆嚢癌1例)と正常肝2例を用い、肝組織の透徹標本を作製し、転移性肝癌の腫瘍血管の観察を行った。つまり、これら剖検肝を用い、肺癌の1例では肝全体の観察を目的に固有肝動脈にカニューレを挿入・固定、また、胃癌と胆嚢癌の各1例と正常肝の2例では、鎌状靭帯部で切断した肝左葉に対し、切断面に見られる左肝動脈分枝に細径のカニューレを挿入し・固定し、生理食塩水を200cm H<sub>2</sub>Oの灌流圧で灌流し、血液を十分除去した。その後、Microfil (Canton Bio-medical Products, Boulder, CO, USA) をシリンジを用いて注入した。注入は手圧で行い、肝表面の細血管に十分 Microfil が満たされたのが確認された時点で、注入を中止した。その後、これらの肝を一晩4℃の冷蔵庫に置き、Microfil を十分に硬化させた後、冠状断面で肝を1cm厚に切断した。次いで、剖面上で転移巣の位置、大きさ、分布などを確認した。続いて25%、50%、75%、95%および純エタノールの順にそれぞれ1昼夜ずつ浸し十分に脱水した後、サリチル酸メチル (和光, 大阪) に浸して透徹標本とした。これを実体顕微鏡 SZH10 (オリンパス, 東京) 下で観察し、転移巣およびその周囲肝実質での血管の形状や分布状態を各々の転移結節毎に検討した。

Ⅴ. 統計学的検討

統計学的検討は、X<sup>2</sup>検定、またはt検定を行い、危険率0.05未満をもって有意差ありと判定した。

成 績

1. 転移性肝癌の病理学的検討

1. 肉眼像

転移性肝癌 (剖検例) の各肉眼像の頻度を表4に示した。塊状型 (図1A) は17例 (17.0%)、結節型は73例 (73.0%) で、びまん型は見られなかった。結節型の内、単結節型は3例 (3.0%)、多結節型 (図1B) は65例 (65.0%)、結節癒合型は5例 (5.0%) であった。門脈域型が8例 (8.0%) に観察された (図1C)。なお、

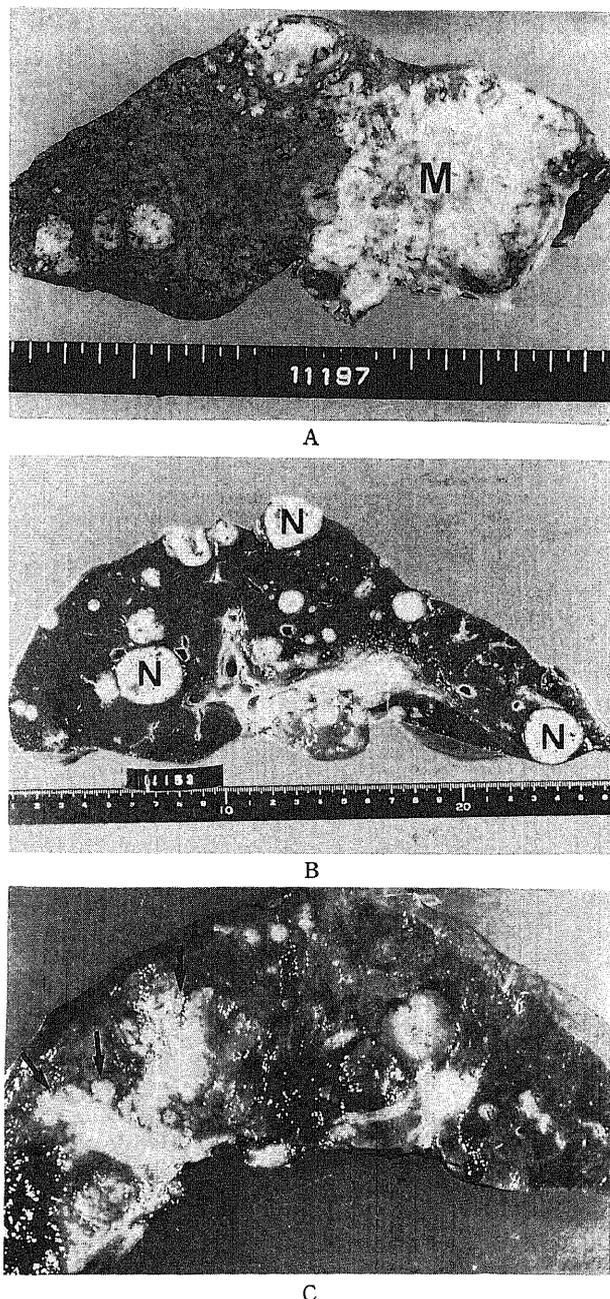


Fig. 1. Gross appearance of the autopsied liver with metastatic cancer. (A) Massive type (primary site, gallbladder). M, massive tumor. (B) Multinodular type (primary site, lung). N, nodules of metastatic cancer. (C) Portal tract type (primary site, gallbladder). Arrows indicate metastatic tumors in the portal tracts.

腺癌、子宮癌の肝転移の各1例では肉眼的に腫瘍を確認できなかった。いずれの原発巣においても多結節型が最も多く、門脈域型8例の内訳は、腺癌と胃癌の2例、胆嚢・胆管癌の4例に見られ、これら8例中4例は低分化腺癌であった。

## 2. 転移性肝癌の発育部位 (表5)

実質発育型を示す例は、大腸癌で92.3%、肺癌で87.5%、腺癌で66.7%、胃癌で61.1%、胆嚢・胆管癌で35.7%であった。大腸癌と肺癌では、胆嚢・胆管癌に比べて実質発育型の割合が高かった ( $P < 0.05$ )。一方、門脈域発育 (図2) が優勢であった症例は、胆嚢・胆管癌の35.7%、腺癌の19.0%、胃癌の16.7%、肺癌の4.2%であった。実質および門脈域ほぼ同等の発育を示す症例は、胆嚢・胆管癌の28.6%、胃癌の22.2%、腺癌の14.3%、肺癌の8.3%、大腸癌の7.7%であった。

## 3. 転移性肝癌辺縁部の増殖パターン (図3, 4)

転移巣の径が1mm未満の小さな段階では、肺癌、腺癌、大腸癌からの転移性肝癌では、置換型の発育が各々69.7%、79.3%、66.7%と多かったが、転移巣の増大と共に膨張型の発育の割合が増加し、腫瘍径が20mm以上になると、膨張型の発育が各々、62.5%、50.0%、76.9%となった。一方、胃癌と胆嚢・胆管癌では、転移巣の径が1mm未満では類洞型が各々48.5%、66.7%と最多であり、置換型が39.4%、26.7%とこれに次ぐが、やはり転移巣の径の増大と共に、膨張型の割合が増加し、転移巣の径が20mm以上では膨張型が各々84.6%、47.4%と最多になった。

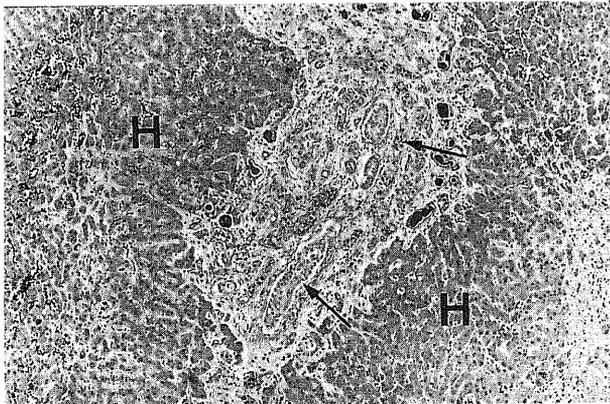


Fig. 2. Carcinomatous growth and spread in the portal tract, particularly in lymphatics, portal veins and connective tissue (arrows). Liver metastasis from gallbladder cancer. H, hepatic parenchyma. HE,  $\times 80$ .

転移巣周囲での線維性被膜の形成は、大腸癌の2例 (図3 D) と腎細胞癌の2例に見られ、大腸癌の1例では幅約0.7mmの線維性被膜が見られた (図3 D)。線維性隔壁は、大腸癌の2例、肺小細胞癌の1例に見られた。甲状腺濾胞癌の肝転移の1例と胃乳頭状腺癌の1例でも部分的に被膜形成と線維性隔壁を示す転移巣が見られた。その他特殊な発育形態を示すものとして、腎盂原発移行上皮癌の1例が胆管内発育を示した。

## 4. 転移性肝癌の肝内での着床部位 (表6, 図5)

1mm未満の微小肝転移巣は、肺癌と大腸癌では、肝実質内が多く (各々70.9%と62.8%)、腺癌と胃癌で肝実質内がやや多く (各々60.0%と55.6%)、胆嚢・胆管癌では門脈域内に多く見られた (61.7%)。肺癌での微小転移巣はその他の癌の微小肝転移に比べ肝実質内に多く ( $P < 0.05$ )、また胆嚢癌では門脈域内に多く認められた ( $P < 0.01$ )。

## II. 転移性肝癌の細胞動態と腫瘍発育に伴う腫瘍血管密度の変化、腫瘍血管、血管増殖因子の免疫組織化学的検討

### 1. 細胞動態の解析による腫瘍増殖部位の検討

Ki-67は腫瘍細胞の核に染色された。39例で転移巣の辺縁部と中心部の両部位で MIB-1 LI の比較をすることができた。転移巣辺縁部の MIB-1 LI は  $0.41 \pm 0.16$ 、転移巣中心部では  $0.36 \pm 0.13$  であり、転移巣辺縁部で MIB-1 LI は高かった ( $P < 0.01$ , 図6)。転移巣辺縁部の MIB-1 LI が高い例 (転移巣辺縁部と転移巣中心部の MIB-1 LI の比が1.5を越える) は6例、逆に両者の比が0.67を下回るような転移巣中心部の MIB-1 LI が高い例は2例、同程度のものが31例であった。

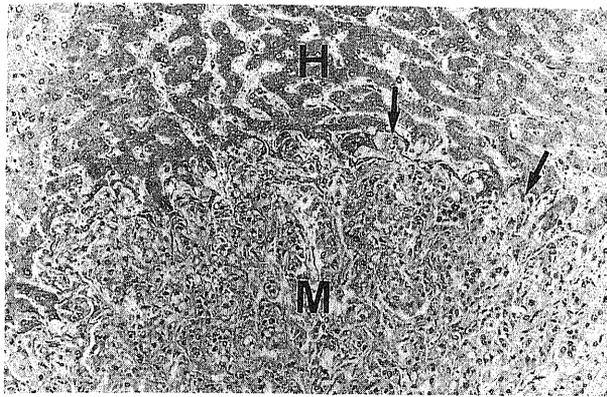
### 2. 転移性肝癌の発育に伴う腫瘍血管密度の変化

転移性肝癌の剖検例全体で、95例中78例 (82.1%) で腫瘍血管は UEA-I が陽性で、75例中61例 (81.3%) で vWF が陽性であった。転移巣内に UEA-I あるいは vWF が陽性の血管を認めた最小の転移巣の径は、 $200 \mu\text{m}$  であった (図7)。なお、肝内の門脈内に腫瘍塞栓を見た例の内、胃癌の1例と腎細胞癌の1例では UEA-I や vWF が陽性の腫瘍塞栓内の血管が認められた。転移性肝癌における転移巣辺縁部の血管密度と転移巣の径の関係を図8に示す。肺癌症例の平均および全体の平均血管密度は、それぞれ径0.5mm未満と0.5mm以上1mm未満の2群間に有意な増加が見られた ( $P < 0.01$ )。肺癌以外の転移性肝癌においても、転移巣の径0.5mm未満と径0.5mm以上1mm未満あるいは1mm以上3mm未満の間に増加傾向が見られた。いずれの原発の転移性肝癌においても、径3mm以上では転移巣辺縁部の血管密度にそれ以上の明らかな増加は見られなかった。

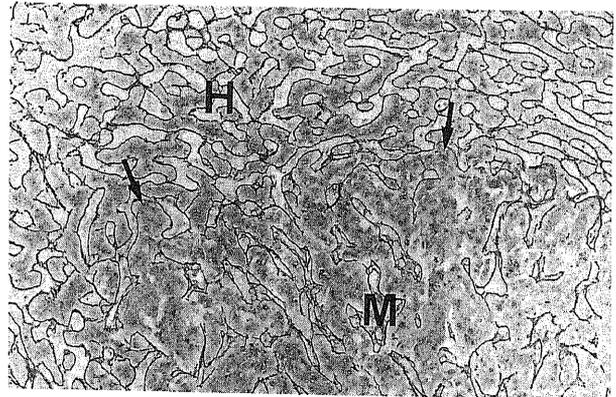
Table 5. Location of prominent growth of liver metastases

Primary site	Number (%) cases		
	Predominant site of growth		
	Hepatic parenchyma	Portal tract	Equal
Lung	21(87.5)	1(4.2)	2(8.3)
Pancreas	14(66.7)	4(19.0)	3(14.3)
Stomach	11(61.1)	3(16.7)	4(22.2)
GB/Bile duct	5(35.7)	5(35.7)	4(28.6)
Colon	12(92.3)	0	1(7.7)
Others	2(20.0)	6(60.0)	2(20.0)

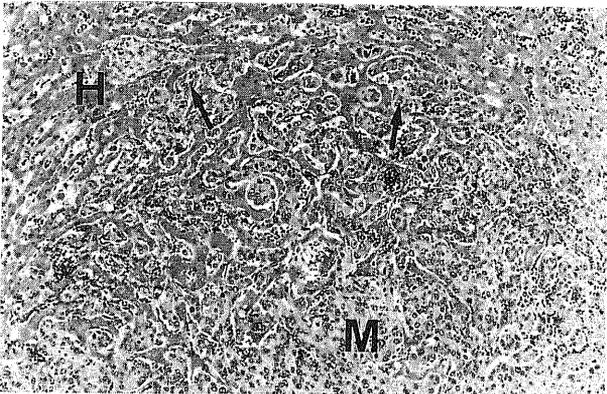
GB, gallbladder.



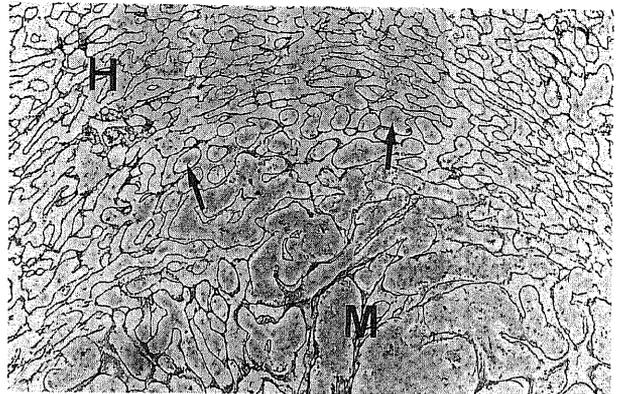
A



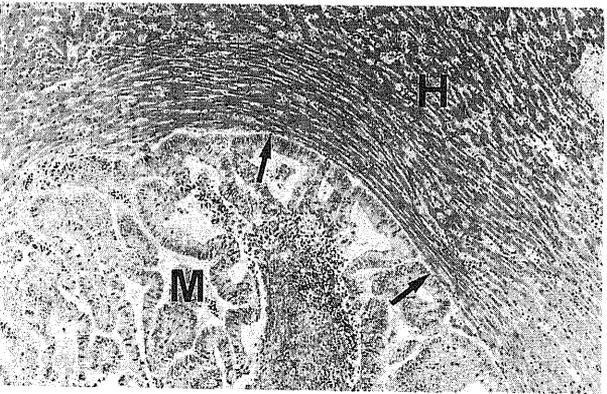
A



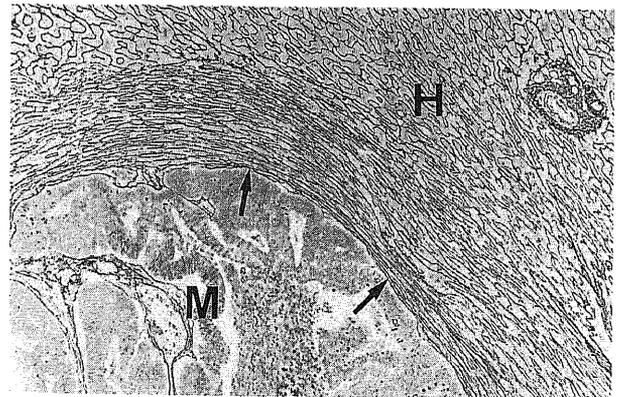
B



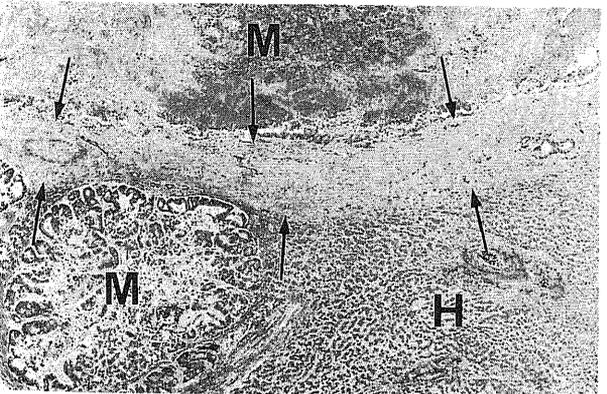
B



C



C



D

Fig. 3. Microscopic appearance of growth patterns at the boundary of the liver metastases. (A) Replacing growth pattern. Metastasis from adenocarcinoma of the lung.  $\times 160$ . HE (left) and reticulin (right) stain are from serial sections of the same specimen. Arrows denote replacing growth of metastatic carcinoma cells within hepatocellular trabeculae covered with reticulin fibers. M, metastasis; H, hepatic parenchyma. (B) Sinusoidal growth pattern. Metastasis from colon cancer.  $\times 130$ . HE (left) and reticulin (right) stain are from serial sections of the same specimen. Arrows denote intrasinusoidal growth of metastatic carcinoma cells between hepatocellular trabeculae. M, metastasis; H, hepatic parenchyma. (C) Expansive growth pattern. Metastasis from colon cancer.  $\times 100$ . HE (left) and reticulin (right) stain are from serial sections of the same specimen. Arrows denote an expansive growth of metastatic carcinoma. Hepatocellular trabeculae are compressed and atrophic. M, metastasis; H, hepatic parenchyma. (D) Encapsulated growth pattern. A big metastatic tumor from colon cancer is surrounded by a fibrous capsule (arrows). HE  $\times 30$ .

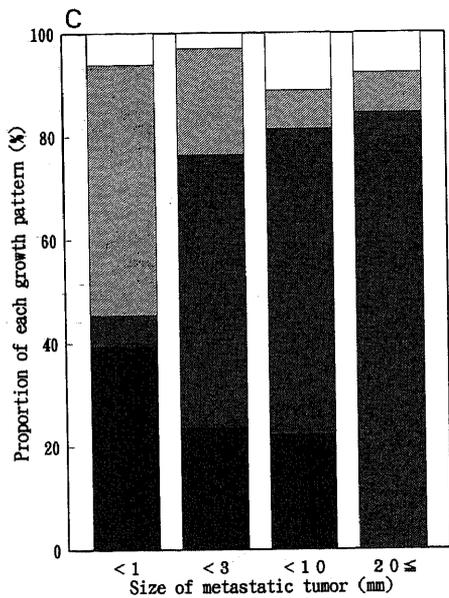
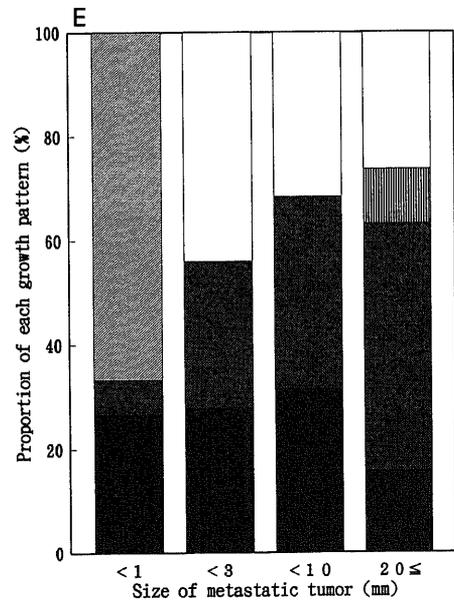
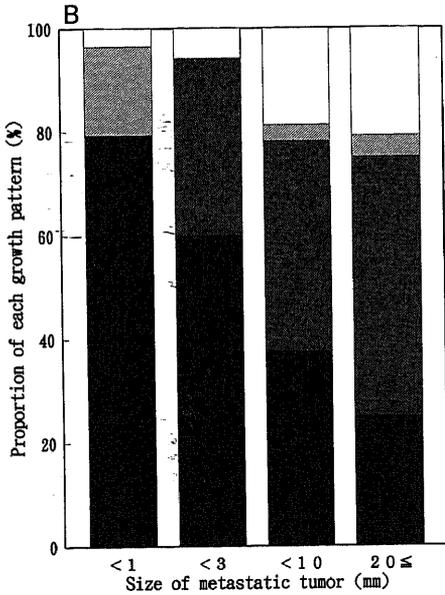
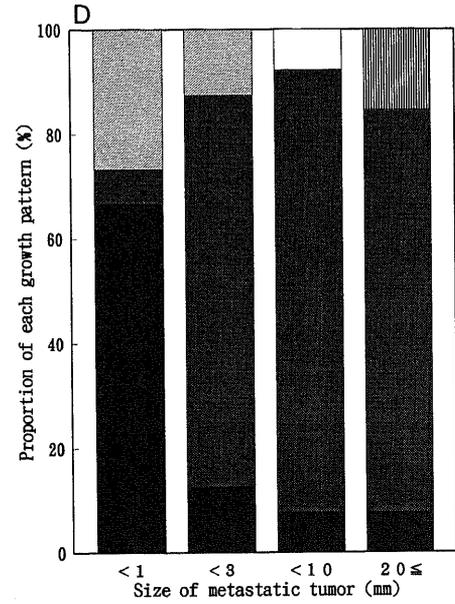
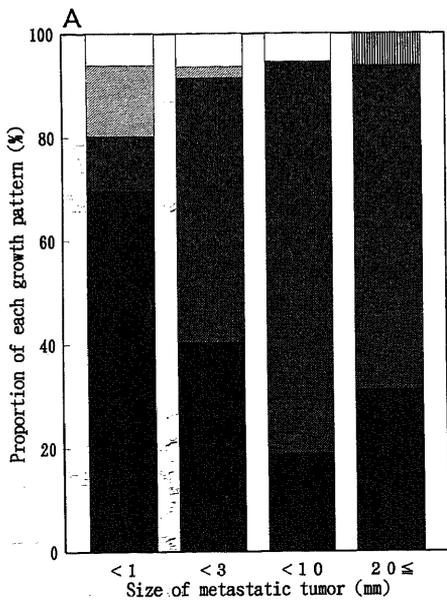


Fig. 4. Proportion of five types of growth patterns with relation to the size of metastatic tumor. The graphs show the proportion (%) of five types of growth patterns in each tumor of metastatic cancer according to its size. (A) Primary site, lung cancer. (B) Primary site, pancreas cancer. (C) Primary site, gastric cancer. (D) Primary site, colon cancer. (E) Primary site, gallbladder/bile duct cancer. ■, replacing type; ▨, expansive type; ▩, sinusoidal type; ▪, encapsulated type; □, unclassified type.

3. 転移性肝癌の腫瘍血管の表現型 (表7)

転移性肝癌の外科切除例50例の内、非癌部の門脈域内血管の内皮細胞は44例で UEA-I が陽性であり、39例で vWF が陽性であった。これらを各々100%とした際の、腫瘍血管の内皮細胞における陽性率は UEA-I が28例 (63.6%) で、vWF が32例 (82.1%) であった。また、全50例で腫瘍血管に  $\alpha$ -SMA が陽性で

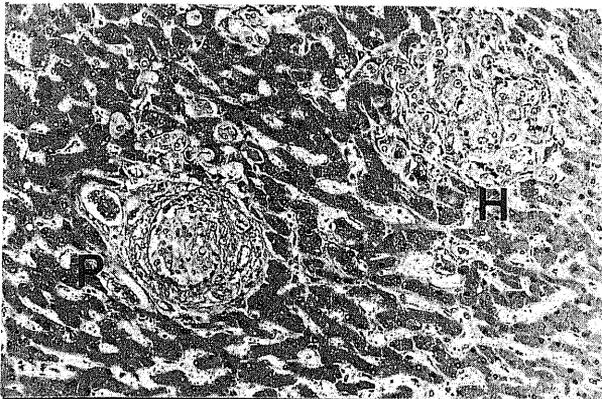


Fig. 5. Location of micrometastases in the liver. Micrometastasis in the hepatic parenchyma (H) and that in the portal tract (P). HE,  $\times 160$ .

あった。ラミニン、IV型コラーゲンは、両者とも49例に非腫瘍部の門脈域内血管の基底膜や胆管基底膜に発現が見られ、同49例 (100%) で腫瘍血管の基底膜も陽性であった (図9)。

III. 転移性肝癌巣周囲の肝実質の変化

剖検例による検討で、胃癌の70.6%、大腸癌の69.2%、肺癌の65.2%、胆嚢・胆管癌の20.0%、膵癌の35.0%、全体では52.6%で転移性肝癌に近接する肝実質の類洞内皮が UEA-I 染

Table 6. Location of micrometastases

Primary site	Number (%) of micrometastases	
	Hepatic parenchyma	Portal tract
Lung	450(70.9) *	185(29.1)
Pancreas	201(60.0)	134(40.0)
Stomach	580(55.6)	463(44.4)
GB/Bile duct	115(38.3) **	185(61.7)
Colon	137(62.8)	81(37.2)
Others	152(35.9)	271(64.1)

Micrometastases, metastatic tumors less than 1mm in diameter GB, gallbladder; \*, more frequent than others ( $P < 0.05$ ) \*\*, less frequent than others ( $P < 0.01$ )

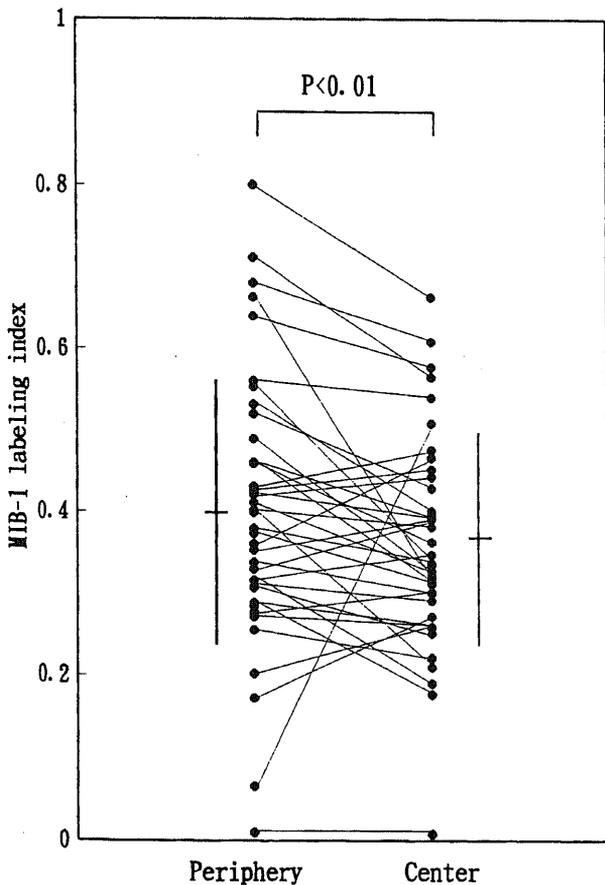


Fig. 6. Scattergram of MIB-1 labeling index in the periphery and the center of liver metastases. Dots are individual metastatic tumors. Bars between the dots connect the same metastatic tumor. Vertical and horizontal bars indicate standard deviation and mean value, respectively.

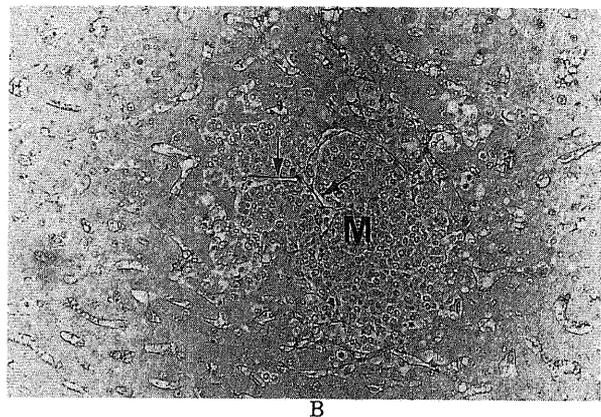
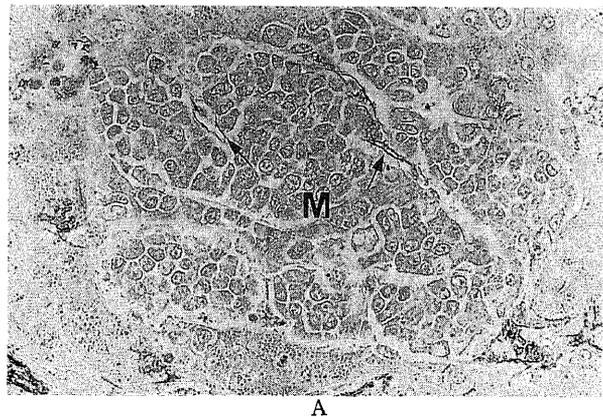


Fig. 7. Angiogenesis in micrometastasis. (A) A micrometastasis of small cell lung cancer. Tumor vessels are positive for von Willebrand factor (vWF) (arrows). M, metastatic tumor. Immunostaining for vWF (ABC method) and hematoxylin,  $\times 200$ . (B) A micrometastasis of gastric cancer. Tumor vessels are positive for *Ulex europaeus* agglutinin I (arrows). M, metastatic tumor. Lectin staining for UEA-I (ABC method) and hematoxylin,  $\times 320$ .

色で陽性であった(図10A)。また、肺癌の55.0%、大腸癌の41.7%、胆嚢・胆管癌の27.3%、胃癌の23.1%、膵癌の16.7%、全体では34.7%で転移性肝癌に近接する類洞内皮にvWFの発現が見られた(図10B)。外科切除例でも、転移性肝癌巣に近接した類洞内皮細胞に、36.4%でUEA-Iが陽性であり、48.7%でvWFが陽性であった。なお、正常対照や転移巣より離れた非腫瘍部の類洞内皮細胞には、vWFやUEA-I染色はされなかった。

$\alpha$ -SMAの免疫染色では、転移性肝癌の外科切除例の41例

(82.0%)で、転移巣周囲の類洞壁に $\alpha$ -SMA陽性細胞が多数認められた。なお、25例(50.0%)では、転移巣から離れた部位の類洞壁にも $\alpha$ -SMA陽性細胞が少数散見されたが、転移巣周囲での $\alpha$ -SMA陽性細胞が明らかに多く見られた(図11)。また、IV型コラーゲンの免疫染色では、内部の陽性対照である非癌部門脈内血管の基底膜が陽性であった外科切除例の49例中、46例(93.9%)で類洞壁にIV型コラーゲンが陽性であったが、転移巣周囲の類洞壁と転移巣から離れた部位の類洞壁は共にIV型コラーゲンが陽性で、両者の染色性に差がなかった。なお、転移

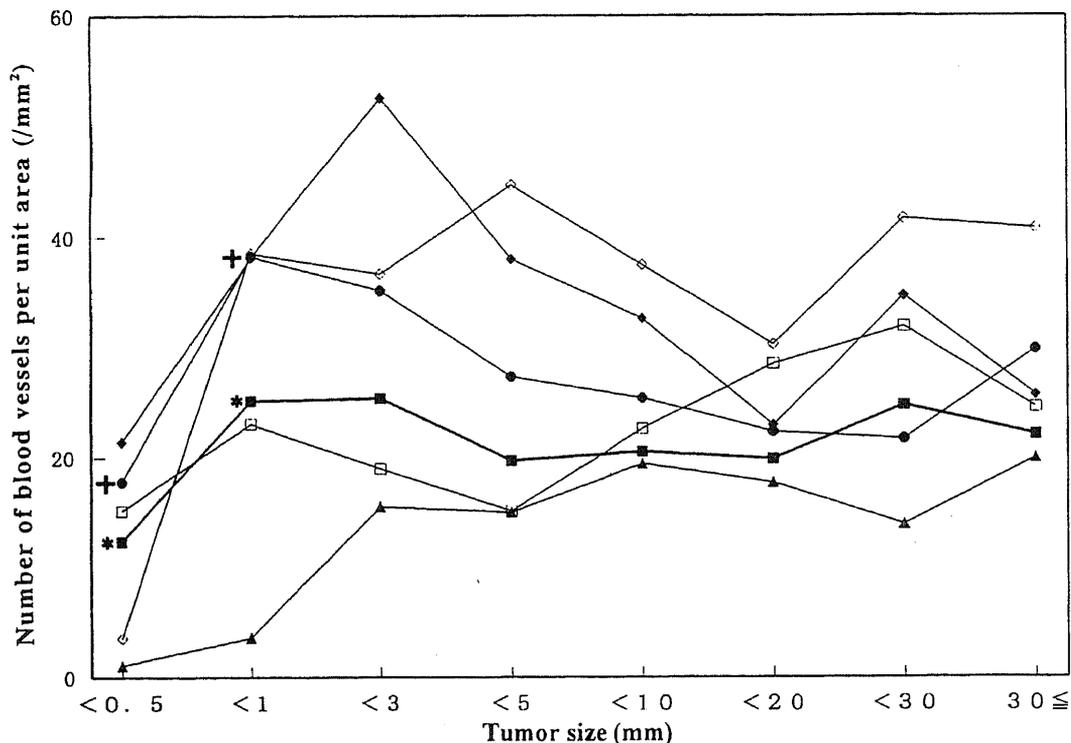
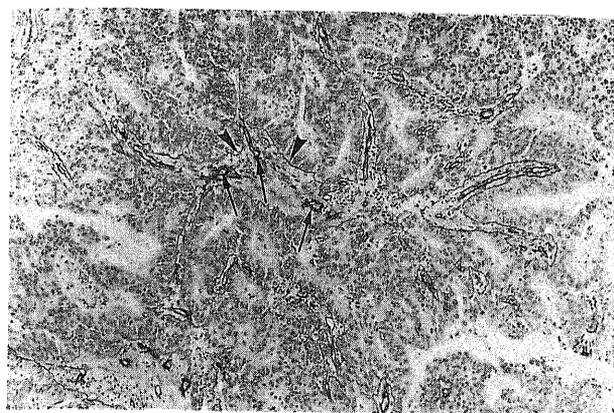


Fig. 8. Correlation of number of blood vessels per unit area in the periphery of metastatic tumor and the size of metastatic tumor. ●, lung; ◆, stomach; ▲, colon; □, pancreas; ◇, Gallbladder/bile duct cancer; ■, mean of total tumors. \* and +,  $P < 0.01$  between the individual marks.

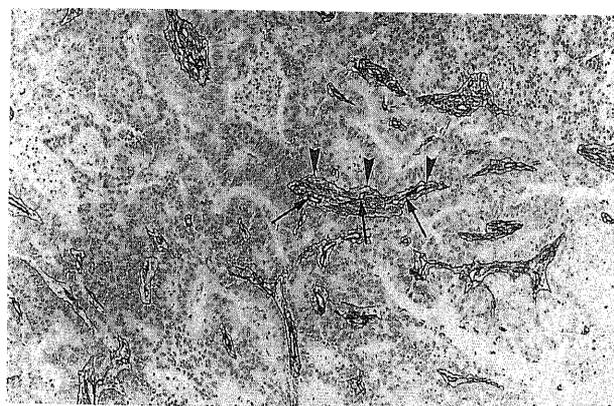
Table 7. Expression of the markers for endothelial cell, smooth muscle/pericyte and basement membrane in intratumoral vessels in surgically resected liver metastases

Area	Site	Components of blood vessel	Number (%) of positive cases				
			UEA-I	vWF	$\alpha$ -SMA	Laminin	Collagen IV
Non-tumoral	Blood vessel	EC	44(100)	39(100)	—	—	—
		PC/SMC	—	—	50(100)	—	—
		BM	—	—	—	49(100)	49(100)
	Sinusoid	EC	0	0	—	—	—
		PSC/PSM	—	—	25(50.0) *	0	46(93.9)
Peritumoral	Sinusoid	EC	16(36.4)	15(38.5)	—	—	—
		PSC/PSM	—	—	41(82.0)	0	46(93.9)
Tumor	Blood vessel	EC	28(63.6)	32(82.1)	—	—	—
		PC/SMC	—	—	50(100)	—	—
		BM	—	—	—	49(100)	49(100)
	Tumor cell	—	—	—	—	—	
	Interstitial	—	—	50(100)	39(79.6)	44(89.8)	

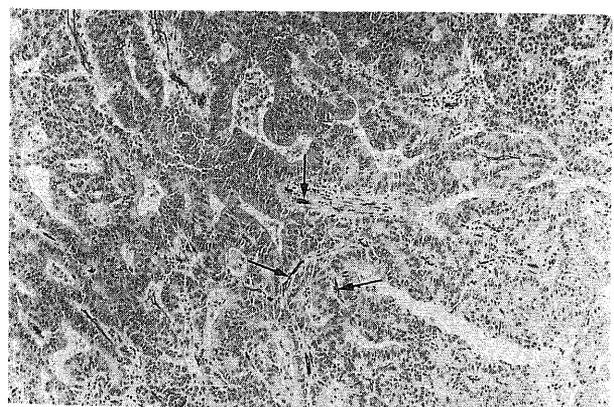
EC, endothelial cell; PC, pericyte; SMC, smooth muscle cell; BM, basement membrane; PSC, perisinusoidal cell, PSM, perisinusoidal extracellular matrix; UEA-I, *Ulex europaeus* agglutinin I; vWF, von Willebrand factor;  $\alpha$ -SMA,  $\alpha$ -smooth muscle actin; \*, focal staining.



A

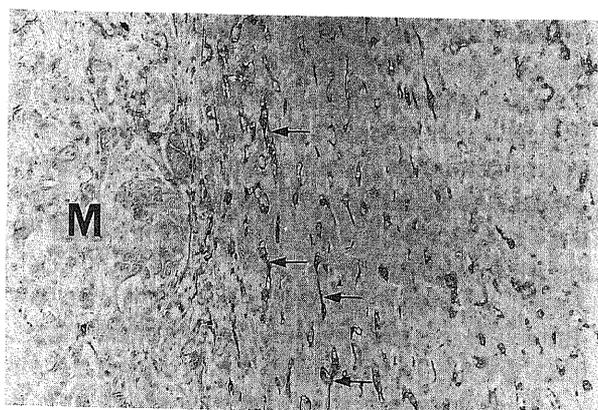


B

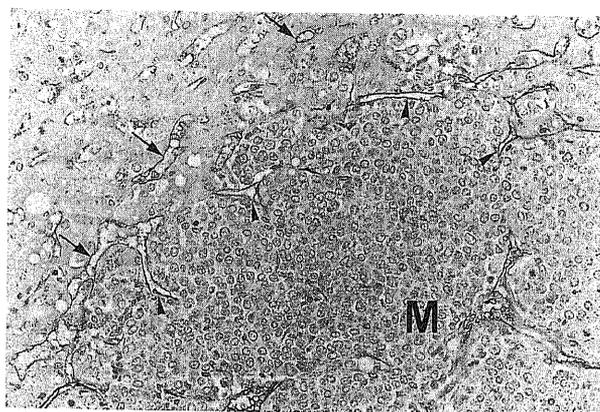


C

Fig. 9. Expression of the markers for basement membrane and binding of *Ulex europaeus* agglutinin I (UEA-I). Liver metastasis from colon cancer. (A) Immunostaining for laminin (ABC method) and hematoxylin. Basement membrane of tumor vessel and also cancer nests are positive for laminin (arrows and arrowheads, respectively).  $\times 130$ . (B) Immunostaining for type IV collagen (ABC method) and hematoxylin. Basement membrane of tumor vessel and also cancer nests are positive for type IV collagen (arrows and arrowheads, respectively). The interstitium is also stained.  $\times 130$ . (C) Lectin staining UEA-I (ABC method) and hematoxylin. Endothelial cells are positive for UEA-I (arrows).  $\times 130$ .



A



B

Fig. 10. Sinusoidal capillarization around the metastatic tumor. (A) Liver metastasis from colon cancer. The sinusoidal endothelial cells around the metastatic tumor are positive for *Ulex europaeus* agglutinin I (UEA-I) (arrows). Lectin staining for UEA-I (ABC method) and hematoxylin,  $\times 200$ . (B) Liver metastasis from small cell lung cancer. Sinusoidal endothelial cells express von Willebrand factor (vWF) (arrows) and they are shown to be in continuity with the microvessels in metastatic focus (arrowheads). Immunostaining for vWF (ABC method) and hematoxylin,  $\times 260$ .

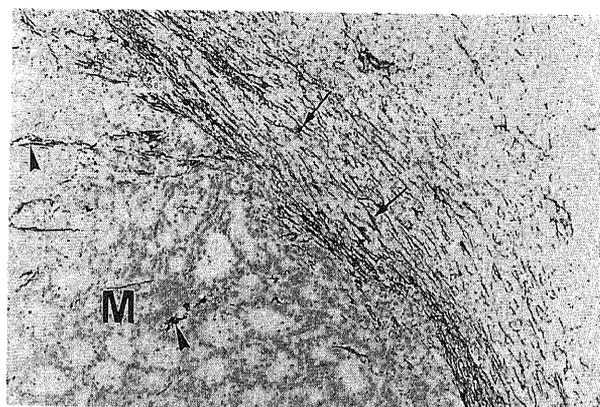


Fig. 11. Expression of  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA) in the perisinusoidal cells (arrows) are dense around the metastasis (M). Pericytes of tumor vessel (arrowheads) and interstitial cells in the tumor are also positive. immunostaining for  $\alpha$ -SMA (ABC method) and hematoxylin,  $\times 100$ .

巣周囲および転移巣から離れた肝実質の類洞壁にはラミニンは検出されなかった。

転移巣内の腫瘍血管と周囲肝実質の類洞との関連性では、肺癌の10例(41.7%)、大腸癌の5例(38.5%)、胆嚢・胆管癌の5例(35.7%)、胃癌の6例(33.3%)、膵癌の3例(14.3%)の合計で31例(31.0%)に、UEA-IあるいはvWFのいずれかまたは両方陽性の類洞内皮細胞が転移巣内の腫瘍血管へ連続する部分が頻りに観察された(図10)。

次に、血管増殖因子であるbFGFの免疫染色では、AB1、AB2のいずれの抗体でも60%以上の例で非腫瘍部の肝細胞の胞体が染まった(表8)。さらに、AB2による検討では31例(62.0%)で、転移巣周囲の肝細胞は転移巣から離れた肝細胞に比較して明らかに強いbFGFの発現を示した。また16例(32.0%)ではAB1、AB2の両者で同様に転移巣周囲でbFGFの強い発現を見た。これらは、転移巣に取り込まれた肝細胞や転移巣に圧迫され萎縮した肝細胞に特に強く染まった(図12A、B)。なお、AB1による検討では22例(44.0%)で、またAB2に

よる検討では21例(42.0%)で転移性肝癌の腫瘍細胞にbFGFの発現が見られた(図12C)。18例(36.0%)では転移性肝癌の腫瘍細胞にAB1、AB2の両者が陽性であったが、これらはいずれも肝細胞の染色性に比較して明らかに弱かった。なお、今回の検討ではaFGFの発現は腫瘍細胞、肝細胞のいずれにも見られなかった。

#### IV. 透徹標本を用いた腫瘍血管および転移巣周囲の血管の3次元的観察(肝動脈へのMicrofil注入実験)

正常肝では、Microfilは、所々で灌流不良な部分が見られたが、概ね類洞まで観察可能であった。なお、実際には、肝動脈のみへの注入であったが、所々で末梢の門脈枝内にもMicrofilが認められた。

1cm前後の肝転移巣が多発していた胃癌の肝転移の1例では、類洞内に充満したMicrofilは密な分岐・吻合を示す樹枝状を呈し、転移巣の多くの部分は相対的に乏血管域として観察された。転移巣周囲では、類洞は圧排されてMicrofilの樹枝は密になり、その圧排された類洞のかかなりのものが腫瘍内へと続く

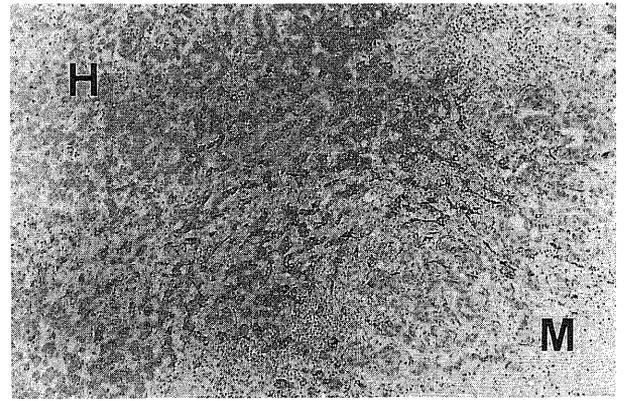
Table 8. Results of immunostaining for basic fibroblast growth factor

Site	Number (%) of positive cases in immunostaining for		
	bFGF (AB1)	bFGF (AB2)	Both antibodies
Tumor	22(44.0) *	21(42.0) *	18(36.0) *
Hepatocyte	31(62.0)	31(62.0)	30(60.0)

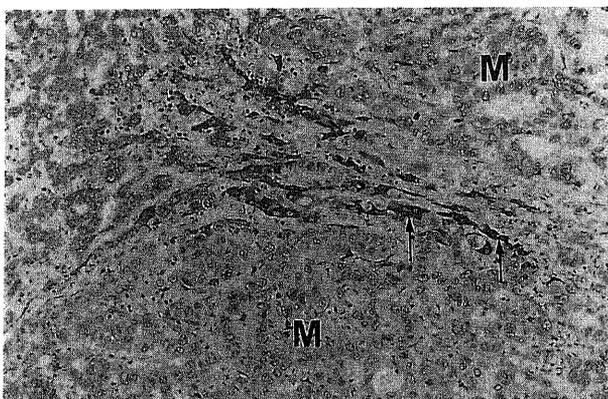
bFGF, basic fibroblast growth factor; AB1, antibody 1; AB2, antibody 2; \*, including weakly of focally positive cases.



A

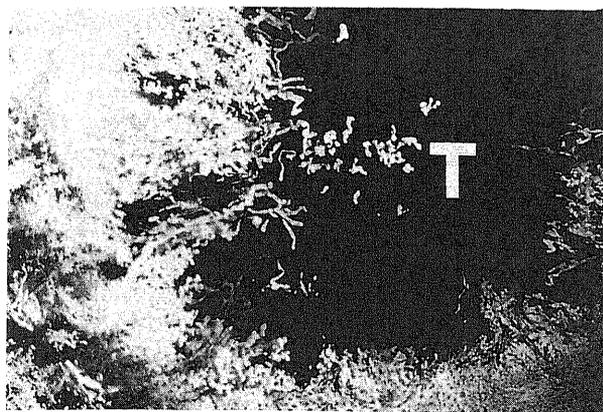


C

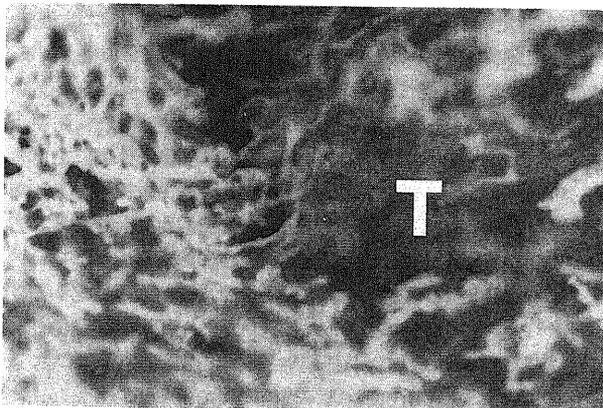


B

Fig. 12. Expression of basic fibroblast growth factor (bFGF). (A) Liver metastasis from colon cancer. Hepatocytes adjacent to the metastatic tumor are stained more strongly than the hepatocytes (H) in the further surrounding area. M, metastatic tumor. Immunostaining for bFGF (antibody (AB) 2) (ABC method) and hematoxylin,  $\times 100$ . (B) Compressed hepatocytes (arrows) adjacent to the metastatic tumor are strongly stained. M, metastatic tumor. Immunostaining for bFGF (AB2) (ABC method) and hematoxylin,  $\times 200$ . (C) Liver metastasis from colon cancer. Metastatic carcinoma cells are positive for bFGF. Immunostaining for bFGF (AB2) (ABC method) and hematoxylin,  $\times 160$ .



A



B

Fig. 13. Liver metastasis from gastric cancer, Microfil-injected and cleared specimen. Hepatic sinusoids around the tumor (T) are compressed. Numerous small vessels continue and spread into the metastatic tumor. (A)  $\times 2.5$ . (B)  $\times 8$ .

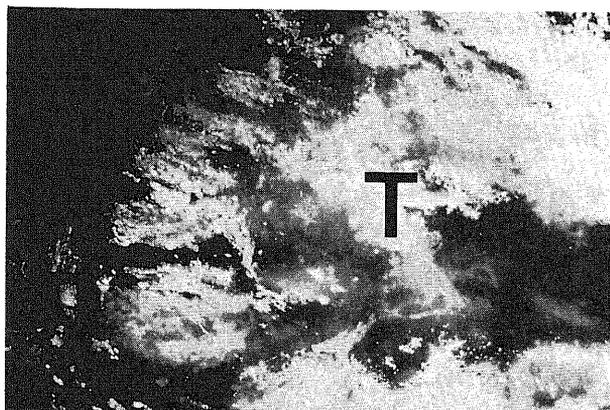


Fig. 14. Liver metastasis from lung cancer, Microfil-injected and cleared specimen. Hepatic sinusoids are little filled with Microfil. This metastasis (T) is hypervascular compared with surrounding liver.  $\times 2.5$ .

多数の細かい血管として観察された (図13)。

肺の大細胞癌の肝転移では、標本上の最大剖面で5cm, 2cm, 1cm 大の多発する転移結節が見られた。大きな転移結節では、その内部には Microfil はほとんど認められず、転移巣辺縁部に Microfil を入れた血管が少数見られた。一方、2cm の転移性結

節では、中心部に類洞に比して太い Microfil を入れた管腔が多数認められ、周囲肝組織より血管密度が高かった (図14)。

なお、胆嚢癌の肝転移では、転移巣部分には、Microfil が満たされず、腫瘍血管と周囲肝実質の類洞の関連性を明らかにすることができなかった。

### 考 察

転移は癌の自然史において、最終段階に出現し、患者を直接死に追いやる種々の病的プロセスに密接に関連する。現在、原発巣に対する種々の治療法が活発に開発され、固形癌の50%近くが完治可能な状況となっている。しかし、一旦、転移が出現し、増大すると現在の治療法では十分に対処できず、患者を失ってしまうのが現実である。その理由の一つとして、原発臓器での癌発生、癌進展のプロセスに関して遺伝学、分子生物学的研究を含め多くの研究がなされ、それぞれの段階に対しての治療のプロトコールが考案され、確立されているが、転移巣の成立や転移巣の増殖、特に可視化される位に大きくなった転移巣に関しては研究は少なく、これらに対する確立した治療法はない。病理学分野でも、転移巣に関して種々の病理組織学的な研究がなされているが<sup>20</sup>、その成立や増大、特に、インターベンショナルラジオロジーを含む集学的治療法を想定しての研究が少ない。そこで、今回、転移性肝癌の病理を転移巣とこれに接する肝組織の微小環境の変化を中心に研究した。

まず、転移性肝癌の肉眼像について述べる。教科書的には、多結節型の肉眼像を呈する転移性肝癌が多いとされているが<sup>20</sup>、本研究でもいずれの原発巣においてもこの傾向が見られた。さらに、単結節型、多結節型、結節癒合型に亜分類できた。これが各種画像でどのように観察されるか、今後の課題と思われる。しかし、塊状型も17%に見られ、特に胃癌、胆道系の癌で塊状型が比較的多く、肺癌ではこのようなタイプが見られなかったことは、転移性肝癌の画像診断において一つの手がかりとなるであろう。また、Itoh らによると、転移性肝癌の中には、門脈域内のリンパ管内への癌細胞の浸入、リンパ管を介する癌の間質への拡がりを呈するものがあり、肺の癌性リンパ管症に類似することから、肝癌性リンパ管症 (lymphangiosis carcinomatosa of the liver) と称して報告している<sup>19</sup>。この型では、肝門部から門脈域に沿って放射状に肝末梢へと癌の進展が見られ、多くは線状であるが、門脈域周囲に小結節状に腫瘍が認められるとされている。本研究ではこの型を門脈域型としたが、平均して8%に認められた。日常の画像診断で、どのように捉えられるか、具体的な症例を通じての検討が必要であり、病理と画像との対比で明らかにしなければならない問題である。また、Itoh らの報告<sup>19</sup>では、肝癌性リンパ管症ではいずれも低分化腺癌であったとしており、本検討でも低分化腺癌が最も多かった。胃、膵、胆嚢・胆管癌で高率に見られたことは Itoh らの報告と同様であった。肝に近接する臓器からの転移例が多く、これらの臓器と連絡するリンパ管や胆管周囲脈管叢を含めた局所の循環系が深く関与していると考えられる。

次に、転移性肝癌の発育部位と辺縁部での増殖パターンについて述べる。線維性被膜や線維性隔壁は、肝細胞癌の特徴の一つとされているが<sup>20</sup>、今回の研究では、転移性肝癌でも線維性被膜や腫瘍内の隔壁様の線維化が、少数ながら認められた。特に大腸癌で多い傾向にあった。なお、不完全な被膜を含めれば、その他の転移性肝癌でも認められた。後述の如く、転移巣

周囲には、線維増生に関連した成長因子の発現があり、これが転移性肝癌症例での線維性被膜形成や隔壁形成に関連しているかもしれない。また、肝細胞癌では門脈内腫瘍塞栓がしばしば見られ、肝静脈内や胆管内への進展も知られているが<sup>27)</sup>、今回の検討対象例の中にも門脈内腫瘍塞栓が多数見られた。特に、組織学的に門脈域発育型としたものには、門脈域のリンパ管や門脈域の間質内への浸潤に加えて、門脈内の腫瘍塞栓も多数認められた。なお、高度の門脈域浸潤を呈した症例には、低分化腺癌が多い傾向にあった。これらのことより、胃、膵、胆嚢・胆管原発の転移性肝癌は、門脈域内浸潤を来しやすく、門脈腫瘍塞栓も出現しやすいことが示された。この所見は転移性肝癌の原発部を推定する上で役立つ所見と思われる。また、腎盂原発の移行上皮癌の肝転移の一例では、組織学的に胆管内発育を示した。つまり、転移性肝癌は、肝細胞癌と同様に、被膜形成、隔壁形成、門脈内腫瘍塞栓および胆管内発育を示すことがわかった。

白井は、肝細胞癌では42.3%で置換型の発育を示し、正常肝細胞索と癌細胞索の間に連続性が見られ、鍍銀線維網の破壊、凝集は目立たないと報告している<sup>28)</sup>。今回の研究で転移性肝癌では、高率に置換型発育が観察された。特に、肺癌、膵癌、大腸癌を原発とする転移性肝癌では、腫瘍径の小さなものほど高率で、原発臓器の違いに関わらず同様の傾向が見られた。しかし、白井<sup>28)</sup>、Nakashimaら<sup>10)</sup>が報告している肝細胞癌での置換型発育に比べて、同じ肝細胞索内の発育でも肝細胞の破壊、圧排像がより目立つ傾向にあった。また、類洞内を浸潤するように発育する類洞型の発育は、胆嚢・胆管癌と胃癌で目立ち、これも腫瘍径の増大と共に減少する傾向があり、代わって肝細胞索を圧迫、萎縮させる膨張型の発育が目立つようになった。理由の一つとして、肝細胞索内や類洞内で増殖する腫瘍が、腫瘍辺縁部で正常肝細胞を置換する以上の速度で、腫瘍内部の圧が増加し、周囲の肝細胞索を圧迫するように至ったものと考えられる。この発育パターンが上述の転移巣周囲での線維性被膜形成にも何らかの関連性を有すると思われる。

次に、転移性肝癌の肝での着床部位を調べるため、径1mm未満の微小な肝転移巣の存在部位を検討した。その結果、ほとんどの転移性肝癌では、微小転移巣は肝実質内で多く見られた。しかし、今回の検討は剖検肝を用いたものであり、大部分の症例では微小転移巣以外に肝内に大小の多発する転移巣が見られたので、これらの肝転移巣からの2次的な肝内転移巣である可能性を考慮する必要がある。また、胆嚢・胆管癌では、門脈域内に微小転移巣が多かったが、これらの癌からの肝転移は、門脈域型の肉眼像を呈する割合がその他の原発癌からの転移に比較して高く、また、組織学的にも優勢な門脈域浸潤を呈する頻度が高い。胆嚢・胆管と肝との位置的な関連性を考えると、胆嚢・胆管癌では、リンパ行性転移の頻度がその他の癌より高いのが原因と思われる。

近年、細胞動態の免疫組織化学的手法による解析に、増殖細胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) に対する抗体や Ki-67 抗体が用いられるようになってきている<sup>19)10)</sup>。本研究では、Ki-67 抗体の1クローンである MIB-1 による免疫染色を行ったが、転移巣の辺縁部では転移巣中心部に比較して MIB-1 LI が高かった。言い換えれば、増殖細胞は辺縁部により多いことになり、転移巣辺縁部における血管新生や肝実質内への発育に深く関連していると思われる。しかし、検討した転移性肝癌

の中には、中心部の MIB-1 LI の方が明らかに高いものもあり、また、辺縁部の MIB-1 LI が高い例は、中心部の MIB-1 LI も高い傾向にあり、転移性肝癌の増殖発育部位は必ずしも辺縁部だけではないことが明らかとなった。

血管新生と腫瘍血管の形成は、腫瘍が増大、増殖するために必要不可欠な現象である<sup>11)</sup>。現在、肝転移では、宿主である肝の複雑な組織形態、血行動態のために、血管新生の詳細な報告は少ない<sup>29)</sup>。血管の形成には、発生期において血管芽細胞から内皮細胞へと分化し、血管叢を形成するバスキロジェネシス (vasculogenesis) と、既存の血管から炎症、創傷、腫瘍などに関連した血管新生が起こるアンギオジェネシス (angiogenesis) がある<sup>30)</sup>。アンギオジェネシスは、内皮細胞で蛋白分解酵素が発現し、血管基底膜や間質組織を破壊し、次いで内皮細胞の増殖と遊走により発芽が観察され、内皮細胞の分化により管腔構造を形成し、最終的には基底膜や周皮細胞により包囲される<sup>31)32)</sup>。今回の研究で、平滑筋や周皮細胞のマーカーである  $\alpha$ -SMA<sup>19)~21)</sup> や基底膜を構成する成分であるラミニン、N型コラーゲン<sup>22)</sup> は転移性肝癌の腫瘍内の血管に高率かつ強い染色性が見られた。これらの所見は血管新生の最終完成段階である周皮細胞、基底膜の産生、包囲が腫瘍血管でも行われていることを示す。今回の検討により、転移性肝癌における血管新生は内皮細胞の増殖と同時に基底膜の形成、周皮細胞の包囲がかなり早期から進行するものと思われる。マウスを用いた実験的肝転移の検討では、腫瘍細胞が肝細胞と類洞内皮細胞の間に入り込む、あるいは類洞内皮細胞と基底膜の間に入り込むことが内皮細胞の増殖の刺激になるとし、これが腫瘍血管の起源となる可能性を示している<sup>29)</sup>。しかし、これがヒトにも応用できるかどうかは今後の大きな課題である。

現在、病理学分野では、UEA-I の結合や vWF の発現が血管内皮細胞のマーカーとして頻用されている<sup>18)</sup>。本研究では転移性肝癌の約8割の症例で、腫瘍内にこれらのマーカー陽性の血管が見られた。しかしながら、陽性対照とした門脈域内の血管に比べて明らかに発現の弱い例や、中には、非腫瘍部の門脈域内血管が vWF および UEA-I の両者が陽性であるにも関わらず、これらのうち一方のみが陽性を示す腫瘍血管も観察され、腫瘍血管内皮の発現型の多様性あるいは不均一性が示唆される。外科切除例でも、非腫瘍部の門脈域内血管における UEA-I, vWF の陽性率はそれぞれ9割、8割であったのに対して、腫瘍血管の内皮細胞は、約6割程度の陽性率にとどまった。

次に、腫瘍血管の密度について述べる。今回の検討では、腫瘍血管に内皮細胞のマーカー陽性であった最小径の肝転移巣は200 $\mu$ m のもので、この径の転移性肝癌の胞巣ですでに血管新生が起こることが示唆された。次に、腫瘍辺縁部における血管密度は、腫瘍径が3mmに達するまでは腫瘍径と共に増加する傾向が見られたが、これ以上では増加傾向はなく、この径の腫瘍で既に完成した腫瘍血管網を獲得しているものと思われた。

さて、転移性肝癌の血行支配の検討には、様々な物質を血管内に注入し観察する方法が行われてきた。実験動物やヒト剖検肝を用いた注入実験や、放射性同位元素を用いた検討では、小さな腫瘍は肝動脈、門脈の両者から栄養されるが、腫瘍が増大すると共に動脈血流が発達し、大きな腫瘍ほど動脈優位の血行支配であるとし<sup>9)10)33)34)</sup>、肝動脈が転移性肝癌の主な栄養血管であることは認められているが、門脈の寄与は依然議論がつきな

い。しかし、腫瘍内の血管の一部は、周囲の類洞に連続していたという報告がある<sup>10)</sup>。Strohmeyer ら<sup>34)</sup>も、血管鋳型による検討を行い、腫瘍が 100-200 $\mu\text{m}$  に達するまでは、主に類洞から栄養され、200 $\mu\text{m}$  を越えると周囲から血管新生がみられたと述べている。免疫組織化学的に類洞内皮が腫瘍内に連絡する部分が見い出され、腫瘍血管内皮細胞の一部は、類洞内皮に由来する可能性を示した。本研究では UEA-I や vWF が陽性の腫瘍血管は転移巣の径が 200 $\mu\text{m}$  で初めて観察され、この結果と一致する。腫瘍が発育するのにつれ、門脈血の関与が減少するのは、転移性肝癌が発育するのにつれ辺縁部の置換型の発育が減少し、肝細胞索や類洞の圧迫により、転移巣内に取り込んだ既存の肝動脈からの直接の新生血管に依る部分が大きくなると思われる。なお、門脈域内の肝転移の腫瘍血管の由来は、類洞内皮細胞では説明できず、既存の門脈の内皮細胞や、その他門脈域内の毛細血管叢など様々な部分から由来する新生血管が、門脈域内での転移巣の発育・増大に関係すると考えられる。今回のシリコンラバー注入法でも同様に類洞からの新生血管を示した。従来の注入法による検討での小転移巣が周囲の類洞から門脈血に栄養されたというも<sup>10,34)</sup>、この類洞から伸びる新生血管に由来するものと思われる。中島<sup>35)</sup>は置換型発育をする肝細胞癌において腫瘍辺縁部の門脈血行支配の可能性を述べているが、転移性肝癌においても、置換型の発育では類洞からの栄養が十分考えられる。

次に、肝内の転移巣を中心としてその周囲の肝組織の変化について述べる。転移巣周囲の変化は、類洞内皮細胞と類洞壁細胞と肝細胞に見られた。つまり、転移巣周囲では、 $\alpha$ -SMA 陽性類洞壁細胞が腫瘍から離れた部に比べて明らかに増加した。類洞壁細胞 (Ito 細胞) は、肝における線維化に深く関与し<sup>36)</sup>、これらの細胞は活性化すると  $\alpha$ -SMA 陽性となる<sup>37)</sup>。肝細胞癌では腫瘍周囲の線維化部位で、 $\alpha$ -SMA 陽性類洞壁細胞が増加し、明らかな線維化に先立ってこのような現象は観察される<sup>37)</sup>。本研究では、同様の所見が転移巣周囲の線維化部位に見られた。さらに、線維化の見られない転移巣周囲でも同様に  $\alpha$ -SMA 陽性類洞壁細胞の増加が見られた。これらの所見の理解には、時間的な因子を考慮する必要があるが、いずれにせよ、転移性肝癌周囲の類洞には  $\alpha$ -SMA 陽性細胞が多く、腫瘍の被膜および線維性間質形成に深く関与していることが示唆された。

さて、慢性肝疾患、特に肝硬変の類洞内皮では正常肝の類洞内皮には見られない、UEA-I の結合や vWF の発現が見られ<sup>38)</sup>、毛細血管化 (capillarization)<sup>39)</sup>と呼ばれている。肝細胞癌の腫瘍内の血洞も毛細血管化を示すことが知られている<sup>40)</sup>。今回の検討では、転移性肝癌の剖検例の約半数の症例で転移巣に近接した類洞内皮に UEA-I の結合が見られ、また、約 1/3 の症例で vWF が陽性であった。このことは慢性肝疾患で見られる類洞内皮の毛細血管化が、転移性肝癌に近接する類洞内皮に見られることを示している。さらに、興味深いことには、検討した症例の中には、vWF あるいは UEA-I の一方または両者が陽性の類洞内皮細胞が、転移巣周囲の類洞から転移巣内へと連続する部分が観察されることであった。このことは、ヒト転移性肝癌においては、腫瘍血管の一部が、周囲の毛細血管化した類洞に由来する可能性が強く示唆するものである。Microfil を用いた透徹標本の観察でも前述の如く類洞と腫瘍血管が連続する像がしばしば観察され、この成績を支持する。

さて、血管新生に関わる増殖因子としては、FGF が代表的で

ある<sup>41)</sup>。現在、FGF 活性を示す物質として等電点の異なる aFGF, bFGF と呼ばれる 2 つの物質がある。aFGF, bFGF は肝を含めて生体内のほとんどの組織に存在することが知られている<sup>42-44)</sup>。血管系では、FGF は内皮細胞自身により産生され、オートクライン機構で増殖を促すことが知られている<sup>45)</sup>。FGF はいくつかの腫瘍細胞で産生される事が知られている<sup>46)</sup>。FGF は肝細胞癌においても腫瘍細胞にその発現が見られ、発癌や腫瘍の発育、毛細血管化との関連が考えられている<sup>47)</sup>。また、Rosenbaum ら<sup>48)</sup>は、Ito 細胞が bFGF により分裂を刺激されるとし、類洞内皮細胞が bFGF 様の物質を産生し、近接する Ito 細胞の調節を行っているという。Ueno ら<sup>49)</sup>は肝における bFGF の存在を示し、障害を受けた肝細胞からの漏出により bFGF が作用点に至る可能性を述べている。今回の検討では、転移巣に近接した肝細胞や転移巣に取り込まれた肝細胞、転移巣に取り込まれつつある肝細胞に、強く bFGF の発現が見られた。また、転移巣周囲の類洞壁に  $\alpha$ -SMA 陽性細胞の明らかな増加が見られた。これらの所見は、転移巣周囲における bFGF が類洞内皮毛細血管化や Ito 細胞の増殖に関与している可能性を示している。

最後に、原発性肝癌は、現在多くの基礎的、臨床的研究により、予防法、治療法が確立され、少しづつではあるが克服されつつある。一方、転移性肝癌は、多くの癌の予後規定因子となっており、現在、積極的な治療が試みられているが、満足すべき成績は得られていない。今後、21世紀に向けて転移性肝癌の克服が悪性腫瘍克服の一つのキープポイントと思われる。本研究が転移性肝癌の対策に役立てば幸いである。

## 結 論

転移性肝癌の剖検肝 100 例と外科的切除肝 50 例を病理学的に検討し、以下の結論を得た。

1. 転移性肝癌は、多結節型の肉眼像を呈することが多いが、胃癌、肺癌、胆嚢・胆管癌では塊状型や門脈域型の転移性肝癌が見られた。
2. 転移性肝癌の発育部位は、実質発育型が多いが、胆嚢・胆管癌では門脈域発育型が比較的高頻度であった。
3. 転移性肝癌辺縁部の増殖パターンは、微小な転移巣では、置換型や類洞型が高頻度であったが、転移巣の増大と共に、これら 2 型の割合は減少し、替わって膨張型の発育の頻度が増加した。また、転移性肝癌においても線維性被膜、隔壁形成、胆管内発育を示す例があった。
4. 微小肝転移巣は肝実質内に多い傾向にあったが、胆嚢・胆管癌では、門脈域内に多く見られ、胆嚢・胆管癌の肝転移の一つの特徴と考えられた。
5. 転移巣辺縁部では転移巣中心部に比較して MIB-1 LI が高く、辺縁部での細胞増殖の亢進を示唆している。
6. 200 $\mu\text{m}$  の微小な肝転移で初めて UEA-I や vWF が陽性の腫瘍血管が見られた。転移巣の発育に伴い転移巣辺縁部の血管密度は上昇したが、転移巣の径が 3mm 未満でピークに達し、それ以降は上昇傾向は見られなかった。
7. 腫瘍血管は、内皮細胞のマーカーである UEA-I ならびに vWF、血管平滑筋や周皮細胞のマーカーである  $\alpha$ -SMA、基底膜成分である IV 型コラーゲン、ラミニンが陽性であり、転移性肝癌における血管新生でも早期から周皮細胞や基底膜の包囲を伴っていた。

8. 転移巣周囲の肝実質では、類洞内皮細胞に UEA-I の結合や vWF の発現が見られ、類洞内皮は毛細血管化を示した。また、転移巣に近接して  $\alpha$ -SMA が陽性の類洞壁細胞の増加が見られた。さらに、転移巣周囲の肝細胞には、非癌部の肝細胞と比較して強い bFGF の発現が見られた。このことより、bFGF が転移性肝癌周囲での類洞内皮毛細血管化や  $\alpha$ -SMA 陽性類洞壁細胞の増加、転移巣周囲の線維化に関与する可能性が示唆された。

9. 一部の症例では、免疫組織化学的に、毛細血管化した転移巣周囲の類洞内皮が、転移巣内の血管に連続する部分が観察された。Microfil 注入標本でも転移巣周囲の類洞から転移巣内へ連続する血管が観察され、転移巣辺縁部の腫瘍血管は周囲の類洞と連続し、一部は類洞内皮に由来することが示唆された。

以上、本研究により転移性肝癌の病理像、血管新生や増生、それに転移巣と周囲肝実質の微小環境の変化が転移性肝癌の発育に深く関与することが明らかとなった。これらの結果は転移性肝癌の画像所見の解釈やインターベンショナルラジオロジーに役立つと考えられる。

#### 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御高関頂きました恩師高島 力教授に深謝致します。終始、直接御指導、御高関頂きました恩師中沼安二教授に深謝致します。研究にあたり、御助力、御助言を頂きました松井 修助教授（金沢大学医学部放射線医学教室）を始め、金沢大学病理学第二教室、放射線医学教室の皆様へ感謝致します。貴重な症例を提供下さいました富山市民病院高柳尹立先生、国立金沢病院渡辺駿七郎先生、石川県立中央病院車谷 宏先生、黒部市民病院原武讓二先生に感謝いたします。なお、本論文の一部は第30回日本肝癌研究会（1994年、旭川）、第29回日本肝臓学会西部会（1994年、神戸）において発表した。

#### 文 献

- 1) 森 亘, 足立山夫, 岡辺治男, 太田邦男: 悪性腫瘍剖検例75例の解析・その転移に関する統計的研究。癌の臨床, 9, 351-374 (1963).
- 2) 浦野順文, 福島 徹, 北村新三, 森 英樹, 馬場謙介, 藍沢茂雄: 剖検から見た癌の転移。Oncologia, 15, 46-63 (1985).
- 3) 杉原茂孝, 山鹿博史, 神代正道, 中島敏郎: 転移性肝癌の病理形態学的研究 肝内増殖先端部について。久留米医学会雑誌, 48, 797-807 (1985).
- 4) 柴田 洋: 転移性肝癌の病理組織学的研究。組織パターン分類の試みと微小転移巣から見た転移経路。癌の臨床, 35, 335-347 (1989).
- 5) Outwater, E., Tomaszewski, J. E., Daly, J. W. & Kressel, H. Y.: Hepatic colorectal metastases: correlation of MR imaging and pathologic appearance. Radiology, 180, 327-332 (1991).
- 6) Matsui, O., Takashima, T., Kadoya, M., Suzuki, M., Hirose, J., Kameyama, T., Choto, S., Konishi, H., Ida, M., Yamaguchi, A. & Izumi, R.: Liver metastases from colorectal cancers: detection with CT during arterial portography. Radiology, 165, 65-69 (1987).
- 7) Foster, J. H.: Survival after liver resection for secondary tumors. Am. J. Surg., 135, 389-394 (1978).
- 8) Chuang, V. P. & Wallace, S.: Hepatic artery embolization in the treatment of hepatic neoplasms. Radiology, 140, 51-58 (1981).
- 9) Ackerman, N. B.: The blood supply of experimental liver metastases, V. changes in vascularity with increasing tumor growth. Surgery, 75, 589-596 (1974).
- 10) Lin, G., Lunderquist, A., Hagerstrand, I. & Boijesen, E.: Postmortem examination of the blood supply and vascular pattern of small liver metastases in man. Surgery, 96, 517-526 (1984).
- 11) Folkman, J.: Tumor angiogenesis. Adv. Cancer Res., 43, 175-203 (1984).
- 12) 日本肝癌研究会編: 臨床・病理原発性肝癌取扱い規約, 第3版, 14-15頁, 金原出版, 東京, 1992.
- 13) Itoh, T., Kanaoka, M., Obara, A., Furuta, M. & Itoh, H.: Lymphangiogenesis carcinomatosa of the liver. Acta Pathol. JPN., 38, 751-758 (1988).
- 14) Nakashima, T., Kojiro, M., Kawano, Y., Shirai, F., Takemoto, N., Tomimatsu, H., Kawasaki, H. & Okuda, K.: Histologic growth pattern of hepatocellular carcinoma: relationship to orcein (hepatitis B surface antigen)-positive cells in cancer tissue. Hum. Pathol., 13, 563-568 (1982).
- 15) Harrison, R. F., Reynolds, G. M. & Rowlands, D. C.: Immunohistochemical evidence for the expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) by non-proliferating hepatocytes adjacent to metastatic tumours and in inflammatory conditions. J. Pathol., 171, 115-122 (1993).
- 16) Gerdes, J., Lemke, H., Baisch, H., Wacker, H. H., Schwab, U. & Stein, H.: Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. J. Immunol., 133, 1710-1715 (1984).
- 17) Hsu, S. M., Raine, L. & Fanger, H.: Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. J. Histochem. Cytochem., 29, 577-580 (1981).
- 18) Ordonez, N. G. & Batsakis, J. G.: Comparison of *Ulex europaeus* I lectin and factor VIII-related antigen in vascular lesions. Arch. Pathol. Lab. Med., 108, 129-132 (1984).
- 19) Schillingemann, R. O., Rietveld, F. J. R., Waal, R. M. W., Ferrone, S. & Ruiter, D. J.: Expression of the high molecular weight melanoma-associated antigen by pericytes during angiogenesis in tumors and in healing wounds. Am. J. Pathol., 136, 1393-1405 (1990).
- 20) Skalli, O., Ropraz, P., Trzeciak, A., Benzoni, G., Gillesen, D. & Gabbiani, G.: A monoclonal antibody against alpha-smooth muscle actin: A new probe for smooth muscle differentiation. J. Cell. Biol., 103, 2787-2796 (1986).
- 21) Schillingemann, R. O., Rietveld, F. J. R., Kwaspens, F., Van de Kerkhof, P. C. M., De Waal, R. M. W. & Ruiter, D. J.: Differential expression of markers for endothelial cells, pericytes, and basal lamina in the microvasculature of tumors and granulation tissue. Am. J. Pathol., 138, 1335-1347 (1991).

- 22) Martinez-Hernandez, A. & Amenta, P. S.: The hepatic extracellular matrix. I. Components and distribution in normal liver. *Virchows Arch. A. Pathol. Anat. Histopathol.*, **423**, 1-11 (1993).
- 23) Gospondarowicz, D.: Fibroblast and epidermal growth factors: their uses in vivo and in vitro in studies on cell functions and cell transplantation. *Mol. Cell. Biochem.*, **25**, 79-110 (1979).
- 24) Fenster, L. F. & Klatskin, G.: Manifestations of metastatic tumors of the liver. A study of eighty-one patients subjected to needle biopsy. *Am. J. Med.*, **36**, 238-248 (1961).
- 25) Craig, J. R., Peters, R. L. & Edmondson, H. A.: Metastatic tumors. In W. H. Hartmann (ed.), *Tumors of the Liver and Intrahepatic Bile Ducts*, 2nd series, p256-267, AFIP, Washington, 1989.
- 26) 岡部正之: 原発性肝癌の病理形態学的研究 肝細胞癌における癌結節の被膜並びに隔壁の形成機転について. *肝臓*, **20**, 144-156 (1979).
- 27) Kojiro, M., Kawabata, K., Kawano, Y., Shirai, F., Takemoto, N. & Nakashima, T.: Hepatocellular carcinoma presenting as intrabiliary duct tumor growth. *Cancer*, **49**, 2144-2147 (1982).
- 28) 白井文夫: 原発性肝癌の病理形態学的研究 肝内発育様式について. *肝臓*, **23**, 1034-1042 (1982).
- 29) Paku, S. & Lapis, K.: Morphological aspects of angiogenesis in experimental liver metastases. *Am. J. Pathol.*, **143**, 926-936 (1993).
- 30) 上野直人, 篠崎尚史: 発生と分化における血管新生因子の役割. *実験医学*, **9**, 127-132 (1991).
- 31) Gross, J. L., Moscatelli, D., Jaffe, E. A. & Rifkin, D. B.: Plasminogen activator and collagenase production by cultured capillary endothelial cells. *J. Cell. Biol.*, **95**, 974-981 (1982).
- 32) Ausprunk, D. H. & Folkman, J.: Migration and proliferation of endothelial cells in preformed and newly formed blood vessels during tumor angiogenesis. *Microvasc. Res.*, **14**, 53-65 (1977).
- 33) Archer, S. G. & Gray, B. N.: Vascularization of small liver metastases. *Br. J. Surg.*, **76**, 545-548 (1989).
- 34) Strohmeyer, T., Haugeberg, G. & Lierse, W.: Angioarchitecture and blood supply of micro- and macrometastases in human livers. An anatomic-pathological investigation using injection-techniques. *J. Hepatol.*, **4**, 181-189 (1987).
- 35) 中島敏郎: 肝細胞癌の侵襲, 転移について. *日医会誌*, **93**, 169-172 (1985).
- 36) Yamaoka, K., Nouchi, T., Marumo, F. & Sato, C.:  $\alpha$ -smooth-muscle actin expression in normal and fibrotic human livers. *Dig. Dis. Sci.*, **38**, 1473-1479 (1993).
- 37) Schmitt-Graff, A., Kruger, S., Bochard, F., Gabbiani, G. & Denk, H.: Modulation of alpha smooth muscle actin and desmin expression in perisinusoidal cells of normal and diseased human livers. *Am. J. Pathol.*, **138**, 1233-1242 (1991).
- 38) Hattori, M., Fukuda, Y., Imoto, M., Koyama, Y., Nakano, I. & Urano, F.: Histochemical properties of vascular and sinusoidal endothelial cell in liver diseases. *Gastroenterol. Jpn.*, **26**, 336-343 (1991).
- 39) Schaffner, F. & Popper, H.: Capillarization of hepatic sinusoids in man. *Gastroenterology*, **44**, 239-242 (1963).
- 40) Terada, T. & Nakanuma, Y.: Expression of ABH blood group antigens. *Ulex europaeus* agglutinin I, and type IV collagen in the sinusoids of hepatocellular carcinoma. *Arch. pathol. Lab. Med.*, **115**, 50-55 (1991).
- 41) Gospodarowicz, D.: Localisation of a fibroblast growth factor and its effect alone and with hydrocortisone on 3T3 cell growth. *Nature*, **249**, 123-127 (1974).
- 42) Rosenbaum, J., Mavrier, P., Preaux, A. M. & Dhumeaux, D.: Demonstration of a basic fibroblast growth factor-like molecule in mouse hepatic endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **164**, 1099-1104 (1989).
- 43) Ueno, N., Baird, A., Esch, F., Shimasaki, S., Ling, N. & Guillemin, R.: Purification and partial characterization of a mitogenic factor from bovine liver: structural homology with basic fibroblast growth factor. *Reg. Pept.*, **16**, 135-145 (1986).
- 44) Mormede, P., Baird, A. & Pigeon, P.: Immunoreactive fibroblast growth factor (FGF) in rat tissues: molecular weight forms and the effects of hypophysectomy. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **128**, 1108-1113 (1985).
- 45) Haimovitz-Friedman, A., Vlodavsky, I., Chaudhuri, A., Witte, L. & Fuks, Z.: Autocrine effects of fibroblast growth factor in repair of radiation damage in endothelial cells. *Cancer Res.*, **51**, 2552-2558 (1991).
- 46) Kodama, M., Daa, T., Kashima, K., Yokoyama, S., Nakayama, I. & Noguchi, S.: Immunohistochemical localization of acidic and basic fibroblast growth factors in human benign and malignant thyroid lesions. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, **24**, 66-73 (1994).
- 47) Motoo, Y., Sawabu, N., Yamaguchi, Y., Terada, T. & Nakanuma, Y.: Sinusoidal capillarization of human hepatocellular carcinoma: possible promotion by fibroblast growth factor. *Oncology*, **50**, 270-274 (1993).

**Pathologic Study of Metastatic Liver Cancer with Relevance to Metastatic Foci and Their Surrounding Liver**  
Noboru Terayama, Department of Radiology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Juzen Med Soc., 104, 88—104 (1995)

**Key words** liver metastasis, pathology, angiogenesis, capillarization, fibrosis

#### Abstract

One hundred autopsied and 50 surgically resected livers with metastatic cancers were studied pathologically and immunohistochemically. Additionally, for observation of vessels in metastatic tumors and the surrounding liver, Microfil was injected into the hepatic artery in the livers with metastases. The macroscopic appearance of metastatic liver cancers were of the multinodular type (65%), massive type (17%) and portal tract type (8%), in which tumor cells were present along the intrahepatic portal tracts. Most of the liver metastases grew in the hepatic parenchyma, while gallbladder (GB)/bile duct cancers often grew in the portal tracts. The most frequent growth pattern in the boundary between metastases and non-cancerous liver changed from the replacing or sinusoidal type at smaller sizes to the expansive type as metastatic tumors became enlarged. There were a few cases of liver metastasis showing a fibrous capsule. Microscopic metastatic foci (less than 1 mm in diameter) were more frequently seen in hepatic parenchyma in lung and colon cancers, while they were frequently seen in portal tracts in GB/bile duct cancers. The density of tumor vessels in the periphery of the metastases increased up to 3 mm in diameter, but it remained stable when over 3 mm in diameter. In almost all cases of liver metastasis, tumor vessels expressed  $\alpha$ -smooth muscle actin ( $\alpha$ -SMA), type VI collagen and laminin, suggesting that tumor vessels were accompanied with pericytes and basement membrane around them from the beginning. Sinusoidal endothelial cells in the hepatic parenchyma surrounding liver metastases were positive for *Ulex europaeus* agglutinin I and von Willebrand factor, suggesting capillarization of sinusoidal endothelium.  $\alpha$ -SMA-positive perisinusoidal cells were accentuated around the metastases. Moreover, a relatively strong expression of the basic fibroblast growth factor was seen in the hepatocytes around the tumor, which may be responsible for sinusoidal capillarization, the increase of  $\alpha$ -SMA positive perisinusoidal cells or peritumoral fibrosis. The capillarized sinusoidal endothelium was occasionally in continuity with vessels in the metastases. Microfil-injected specimens showed that blood vessels arising from surrounding sinusoids entered into the metastases, suggesting that some tumoral blood vessels originated from sinusoids. This study revealed the pathology and angiogenesis of metastatic liver cancer and the change in the surrounding liver.