

腹膜偽粘液腫の症状・病脳期間・発見の経緯・診断-18
分担研究者: 田川市立病院 藤田拓司

虫垂	境界悪性	局所と臓器	TAH+BSO+OMT+右半結腸切除	
虫垂	境界悪性	局所と臓器	OMT+回腸・回盲部・右半結腸切除術	
虫垂	境界悪性	局所と臓器	pOMT+右卵巣部分切除術	
虫垂	境界悪性	局所と臓器	虫垂切除術+OMT+右卵巣切除術	
虫垂	境界悪性	局所と臓器	虫垂切除術+OMT	
虫垂	境界悪性	局所と臓器	TAH+BSO+右半結腸切除術+OMT+腫瘍摘出術	温熱化学療法
虫垂	境界悪性	根治	TAH+BSO+OMT+回盲部切除術、腹膜切除術	
虫垂	境界悪性	根治	虫垂・回盲部切除・回腸-上行結腸端端吻合術 +OMT+腫瘍切除術+10%低分子デキストラン10ℓ・生食2ℓ洗浄	
虫垂	良性	局所	回盲部切除術+右付属器摘出術	UFT
虫垂	良性	局所	腹腔鏡下回盲部切除術	
虫垂	良性	局所	虫垂切除術	
虫垂	良性	局所	虫垂切除術+腹壁結節摘出術	
虫垂	良性	根治	虫垂切除+OMT+腹膜切除施行	
虫垂	良性	根治	腹腔内腫瘍摘出・脾摘+OMT+小網・腹膜切除・肝部分切除 下部回腸・回盲部・上行結腸・下行結腸摘出・小腸人工肛門造設	
虫垂	不明	手術なし		FOLFOX6 4回
虫垂	不明	局所と臓器	虫垂切除術+大腸30cm切除術	Bv+FOLFIRI5回
虫垂	不明	局所と臓器	虫垂切除+OMT	CDDP100mg腹腔内投与
虫垂	不明	局所と臓器	TAH+BSO+OMT+腫瘍摘出術	
虫垂	不明	根治	胃・大腸の大部分・肝左葉・脾摘出術施行	
盲腸	悪性・癌	手術なし		FOLFOX 6回
盲腸	悪性・癌	生検	回腸・S状結腸バイパス術	FOLFOX
S状結腸癌	悪性・癌	局所	ハルトマン手術	
卵巣	悪性・癌	局所と臓器	TAH+BSO+OMT+虫垂切除術	CBDCA腹腔内注入6回
卵巣	境界悪性	局所	BSO	
卵巣	境界悪性	局所と臓器	右付属器摘出術+OMT+虫垂切除術+腫瘍切除術	
卵巣	良性	局所と臓器	TAH+BSO+腫瘍摘出術	
卵巣	良性	局所と臓器	TAH+BSO	
卵巣	良性	生検	腹水除去+右付属器生検術+生食2ℓ洗浄	
腹膜	悪性・癌	局所と臓器	BSO+OMT+虫垂切除術+生食10ℓ洗浄	CDDP腹腔内投与3回
原発不明	良性	生検	腹腔鏡下腹膜生検術	腹水除去のみ、貯留速度増加なし

TAH: 腹式単純子宮全摘出術、BSO: 両側付属器摘出術、OMT: 大網切除術、pOMT: 大網部分切除術、LN: リンパ節廓清術、Bv: ベバシズマブ

表16 腹膜偽粘液腫患者の病脳期間(日)

	初発症状→紹介元受診	初回治療→再発日	再発日→再発治療日(1回目)	初発→腹膜播種センター	再発→腹膜播種センター
悪性	0-158(18)	35-1530(401)	2-274(47)	38-2367(154)	4-1707(148)
境界悪性	0-183(46)	91-2105(375)	32-257(145)	17-2147(153)	16-1422(129)
良性	0-238(51)	223-1350(594)	不詳	117-2285(398)	88-934(161)
不詳	13-121(22)	79-1157(380)	57(57)	29-414(91)	6-213(29)

腹膜偽粘液腫の症状・病脳期間・発見の経緯・診断-19
分担研究者:田川市立病院 藤田拓司

表17 初回治療前・再発時PCI

	初回治療前PCI		再発時PCI	
	値	中央値	値	中央値
悪性	5-23	13	3-23	8
境界悪性	3-26	14	0-18	11
良性	3-18	9	4-21	8
不詳	2-20	10	9-15	13

表18 再発症状

腹部膨満増強	10例
画像所見のみ(早期再発)	9例
腹部腫瘤増大	7例
腹水再貯留	8例
腫瘍マーカー再上昇	8例
腹痛	2例
食欲不振・全身倦怠感	3例
腸閉塞症状・嘔吐	3例
右下肢痛	1例
腰痛	1例
血尿、尿閉	2例
排尿排便障害	1例

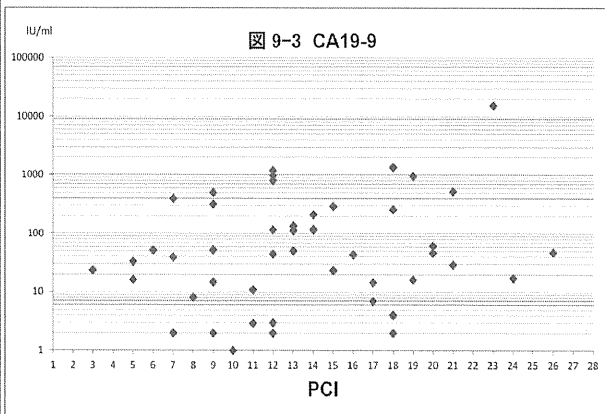
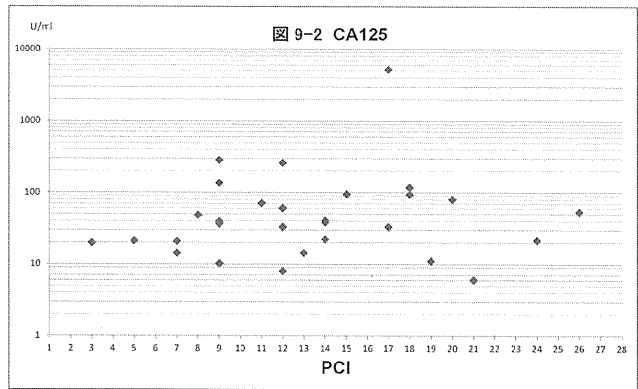
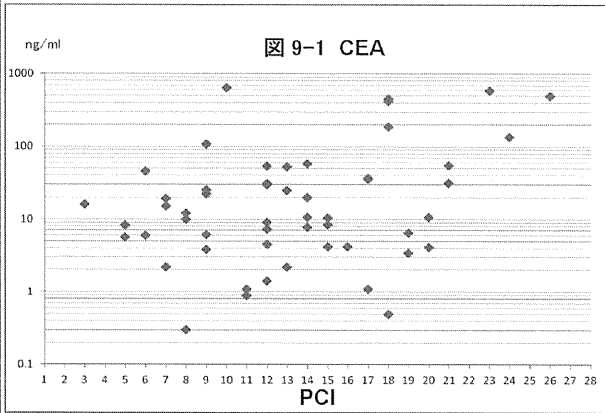
表19 再発治療

原発巣	悪性度	再発治療1回目	再発治療2回目	再発治療3回目→4回目
虫垂	悪性・癌	weekly TC療法3回	TAH+BSO+レチウス窩・小腸・大腸転移巣切除 低分子デキストラン250ml+CBDCA300mg腹腔内投与	weekly TC療法9回→weekly TP療法2回
虫垂	悪性・癌	mFOLFOX6 7回	温熱療法併用下にFOLFIRI5回→mFOLFOX6	腹膜切除等の手術
虫垂	悪性・癌	FOLFIRI5回		
虫垂	悪性・癌	Bv+FOLFIRI	セツキシマブ	変異陽性→FOLFOX再施行
虫垂	悪性・癌	FOLFOX4→PD		
虫垂	悪性・癌	FOLFOX4 8回→腹水NC、腹膜腫瘍PD		
虫垂	悪性・癌	TS-1 80mg2投1休		
虫垂	悪性・癌	TS-1(2投2休)+CPT-11(1年)→TS-1(2投2休)	mFOLFOX6 12回	FOLFIRI2コース→Bv+FOLFIRI16回
虫垂	悪性・癌	TPN施行		
虫垂	悪性・癌	TC療法 6回	腹壁・横隔膜・肝部分切除、腹膜播種残存	mFOLFOX6
虫垂	境界悪性	TS-1+根治術		
虫垂	境界悪性	大網切除術+横隔膜腹膜切除術		
虫垂	境界悪性	追加手術		
虫垂	境界悪性	開腹デキストラン洗浄	MMC腹腔内投与+CBDCA経静脈投与	腹腔鏡下腫瘍摘出術
虫垂	境界悪性	ドセタキセル80mgの腹腔内投与2回		
虫垂	境界悪性	腹水除去(20~5.6l/回)6回 5FUを1000mg腹腔内投与	腹水貯留、腹満症状出現、排液頻度増加	
虫垂	良性	大網切除、左卵巣切除、ゼラチン様物質の洗浄、	ODDP50mg腹腔内投与/月	MMC10mg腹腔内投与/月 →十二指腸3rd部と空腸の端端吻合、 小骨盤内のcystic tumorを開放
虫垂	良性	両側卵巣摘出+大網切除術→TS-1内服	空腸、回腸、右半結腸切除術、腫瘍切除したが、 癒着で切除困難、骨盤底と脾臓周囲に残存あり 術後抗癌剤の腹腔内投与1回→効果なし	UFT

腹膜偽粘液腫の症状・病脳期間・発見の経緯・診断-20
 分担研究者: 田川市立病院 藤田拓司

虫垂	良性	胆嚢・脾臓摘出術+腫瘍減量手術		
虫垂	不明	開腹減量手術+回腸と横行結腸のバイパス作成 腹腔内にCDDP50mg投与		
虫垂	不明	FOLFOX		
虫垂	不明	小腸部分切除術→FOLFOX 6コース		
S状結腸癌	悪性・癌	Bv+FOLFOX4		
卵巣	悪性・癌	TC療法5回	CPT-11+CDDP 11回	5FU+CDDP腹腔内投与2回
卵巣	境界悪性	骨盤内腫瘍摘出術+TAH	症状増悪時に経陰的に腫瘍内容の穿刺・吸引を施行	腫瘍部分摘出後ドレナージのみ→ 消化管穿孔・皮膚瘻孔(腸瘻)→IVH管理
卵巣	良性	腹水1.6ℓ除去	腹水1.6ℓ除去	
腹膜	悪性・癌	イホマイド・テラルピシン	下行結腸・直腸合併切除・人工肛門造設、 肝部分切除、胆嚢摘出、回腸部分切除・吻合腹膜 切除 右横膈膜部分切除→残存なし	TC療法
原発不明	境界悪性	腹膜切除		

weeklyTC療法: PTX60mg/m²+CBDCA(AUC=2)/body、weeklyTP療法: PTX60mg/m²+CDDP50mg/body、TC療法: パクリタキセル+カルボプラチン療法 Bv: ペバシズマブ
 2投2休: 2週投薬、2週休薬、2投1休: 2週投薬、1週休薬



Pseudomyxoma peritoneiにおける中皮下リンパ管系の形態学的特徴-1
分担研究者:大分大学医学部・医学系研究科・生体構造医学講座、三浦真弘

Summary: The morphological characteristics in the subperitoneal lymphatic system in the pseudomyxoma peritonei with special reference to relationships of the prelymphatic channel and disseminated metastasis

Pseudomyxoma peritonei (PMP) exhibits relatively rare pathogenesis that a massive amount of tumorous mucus is disseminated in the peritoneal cavity and a large amount of mucinous ascites is retained at the same time. As the mechanism of dissemination, it has been thought that mucinous substances, accumulated in the primary lesion, and tumor cells are scattered in the peritoneal cavity by the serosal perforation and floating cells form metastatic lesions with the proliferative region of peritoneal lymphatic vessels as their center. In this study, morphological changes in the subperitoneal lymphatic system, which are predicted to show alterations in the dynamics of absorbing ascites via the lymphatic system with the onset of PMP, were mainly examined enzyme-histochemically with light and electron microscopy. Peritoneum from different peritoneal zone was removed by peritonectomy techniques in five patients with PMP. Whole-mount preparations of each peritoneum and cryostat sections were stained with 5'-Nase-ALPase double staining and D2-40 immunostaining. In the peritoneal region with well-developed lymphatic networks, the fine structure related with prelymphatic channel was observed by SEM. In whole-mount preparations, 5'-Nase-positive lymphatic networks, disseminated on the peritoneum, were widely observed in small tumor cases. In particular, dense lymphatic networks with lymphatic lacunae and lymphatic islands were locally appeared in the diaphragmatic region and Morrison's pouch. Some apical parts extending from preexisting subperitoneal lymphatic networks were seen in the proliferating small peritoneal projection and single small mucinous cystic wall. No typical milky spots were observed on the peritoneum except for the greater omentum. In cryostat sections, Infiltration of lymphatic vessels was widely detected in the periphery of small tumor. In the dense and proliferative region of mucinous cystic lesions, developed lymphatic networks with tumor lymphangiogenesis were observed to be obvious reduced or even disappeared. The submesothelial cell layer on the disseminated peritoneum was accumulated with infiltrating lymphocytes and tumor cells, especially at its center portion. Numerous 5'-Nase and D2-40-positive lymphatic vessels were also distributed widely in the same deep layer. In the SEM observation, stomata with oval shapes and various sizes were seen in the diaphragmatic subperitoneal connective tissue layer. In conclusion, it was suggested that the subperitoneal lymphatic system is markedly developed in the peripheral of tumors, which may greatly contribute in ascites absorption at the early stage of PMP, However, lymphatic networks were less developed mostly in the peritumor region, which caused an imbalance between ascites production and absorption via the lymphatic system at the later stage. **Key words:** subperitoneal lymphatic networks, peritoneum, prelymphatic tissue channel, enzyme-histochemical staining, pseudomyxoma peritonei

Pseudomyxoma peritoneiにおける中皮下リンパ管系の形態学的特徴-2
分担研究者:大分大学医学部・医学系研究科・生体構造医学講座、三浦真弘

【緒言】

腹膜偽粘液腫(pseudomyxoma peritonei: PMP)は、腹腔内を裏打ちする中皮層(漿膜)に腫瘍細胞が広範に播種すると同時に多量の腫瘍性粘液(粘液性腹水)が腹腔内に分泌されて貯留する比較的稀な病態(100万人に1人の発生頻度)を示す病気である。PMPの腹膜播種形成のメカニズムは、原則的には他の癌腫細胞による播種形成のそれと類似すると考えられている。したがって、原発巣に蓄積された粘液性物質と腫瘍細胞が臓側漿膜に生じた穿孔部により腹腔内にばらまかれ、次いで腹水内に含まれる浮遊腫瘍細胞が腹膜領域固有の中皮下リンパ管系(subperitoneal lymphatic vessels system: SpLS)の既存発達腹膜領域を中心に播種性転移巣を形成することが推測される。しかしながら、ヒト正常腹膜ならびにPMP播種腹膜における腹膜固有リンパ管系(SpLS)の基本形態ならびにその腫瘍播種転移に関連したSpLSの形態変化については未だ不明な点が多く残されたままである。とくにPMP播種性転移とSpLSとの機能的関係を解析した研究は国内外で未だ存在しておらず、PMPのリンパ行性転移機構に着目した治療法の考案において臨床医学的意義は大きいと考える。

【目的】

本分担課題研究では、とくにPMP発症にともない経リンパ腹水吸収動態が顕著に変化すると推測されるSpLSの発達腹膜領域(横隔膜、モリソン窩、大網、ダグラス窩、小腸間膜、肝鎌状間膜)を中心にSpLSの形態的特徴とその形態的变化、そしてPMPの播種性転移メカニズムにおける中皮下リンパ管系との関係の詳細について電顕・組織化学的手法を用いて検討を試みた。また得られた解析結果から、PMPの腹腔内播種転移機構の機能形態的特徴について考察した。

【材料と方法】

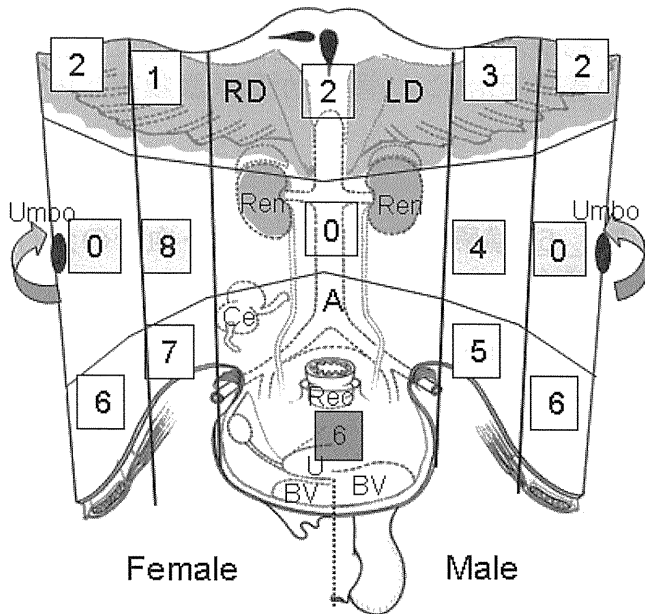
検索材料は、5名のPMP患者の腹膜切除(peritonectomy)をともなう拡大減量手術から得られた左右の横隔膜腹膜(RD,LD)ならびに大網、モリソン窩腹膜、ダグラス窩腹膜、小腸間膜などを用いた。腹膜切除領域は、Paul H. Sugarbaker(1995)の提唱するPeritoneal Carcinomatosis Index(PCI)のスコアに用いる左右の腹膜区域(Fig. 1)の初期表記に従った。

腹膜中皮下リンパ管の組織学的解析には、① Whole-mount剥離伸展標本(Fig. 2)ならびに② OCT凍結切片試料に①5'-nucleotidase(5'-Nase)酵素組織化学染色ならびに②5'-Nase-Alkaline phosphatase(ALPase)酵素二重染色を用いた。また、一部のOCT凍結切片試料には、上記酵素染色とD2-40(Clone: D2-40, Dako Cytomation)免疫染色を併用して観察することで、SpLSリンパ管の描出精度の検証も行なった。

組織学的検索において発達したリンパ管網が出現する腹膜領域(横隔膜、モリソン窩)については、さらに走査電子顕微鏡(SEM, Hitachi, S-4800)を用いて脈管外通液路(tissue prelymphatic channel)に関連する中皮小孔(mesothelial gap or stoma)ならびに中皮下結合組織層上の篩状斑(MC: Macula cribiformis)の有無とその微細構築についてそれぞれ通常SEM観察と化学的消化法(6N KOH)SEMを用いて検索した。また、術前2時間前に腹腔内に投与した2%CH-40(直径20nm)微粒子活性炭水溶液の腹膜リンパ管系への生理的吸収動態についても組織学的検索と併用して行なった。一方、検索腹膜全域の中皮細胞層のPMP発症にともなう形態的变化(膨化・萎縮・解離など)についてもSEM観察にて腫瘍転移機構の一部として評価した。

Pseudomyxoma peritoneiにおける中皮下リンパ管系の形態学的特徴-3
 分担研究者:大分大学医学部・医学系研究科・生体構造医学講座、三浦真弘

Fig.1 腹膜区域を示す模式図(間膜を除く)

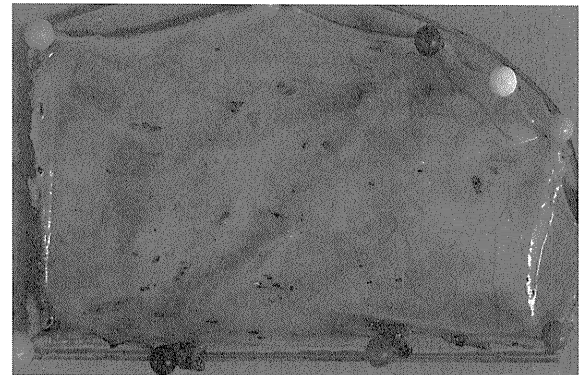


腹膜播種のスコア化
 Peritoneal Carcinomatosis Index (PCI)

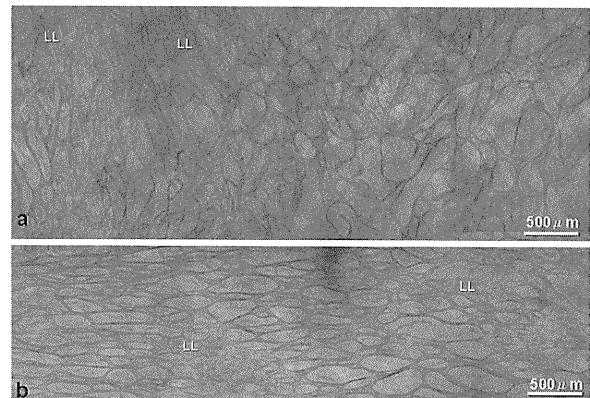
RD:右横隔膜, LD:左横隔膜, Ren:腎臓, BV:膀胱
 Ce:回盲部, Rec:直腸, U:子宮, Umbo:臍部

0 Central	
① Right Upper	⑤ Left Lower
② Epigastrium	⑥ Pelvic
③ Left Upper	⑦ Right Lower
④ Left Flank	⑧ Right Flank

Fig. 2 腹膜-間膜伸展組織試料 (whole-mount preparation作成)



Figs. 3a,b 横隔膜腹膜に分布するリンパ洞(LL)をともなうリンパ管網の顕像(5'-Nase酵素染色)
 a: 伸展試料所見1、b: 伸展試料初見2



【結果】

1. 伸展組織試料: 腫瘍嚢胞が小さく疎な腹膜領域では左右の横隔膜、ならびにモリソン窩全域においてリンパ洞の形成をともなう5'-Nase陽性密性リンパ管網が描出された(Figs. 3a,b、4)。リンパ管網はリンパ本幹を基軸とした典型的な樹状様形態を呈さず、盲端起始部(initial part: IP)の少ない網工が筋線維方向におおよそ直交するような形態で横隔膜停止部筋束領域に描出された。一方、モリソン窩腹膜でも弁構造を有する管径の大きなリンパ管網が検索全例で密に分布した(Fig. 4)。リンパ管網が発達した腹膜領域では、種々の形態の洞様リンパ管 (lymphatic lacuna: LL) (Fig. 3, LL)やリンパ島(Lymphatic island: LI)を含む発達したリンパ管網が出現した。

Pseudomyxoma peritoneiにおける中皮下リンパ管系の形態学的特徴-4
 分担研究者:大分大学医学部・医学系研究科・生体構造医学講座、三浦真弘

横隔膜腹膜の酵素二重染色では、ALPase陽性血管(Fig. 5, BV)は、5'-Nase陽性リンパ管(Ly: dark brown vessels)と比較して明らかに細く、主として血管はリンパ管網の深層をそれぞれ走行した(Fig. 6)。また、嚢胞状腫瘍の大小、あるいはその有無にかかわらず弁構造を有するリンパ管網と毛細血管との間には規則的な伴走形態は腹膜全域で殆ど認められなかった(Fig. 5)。しかし、播種転移をともなう腹膜領域では、播種した多数の腹膜突起(小嚢胞)(PP) 内に糸球状の発達した血管網が優位に形成され、その深層から腫瘍周囲に分布する既存のリンパ管網(PELN) から伸展した太い盲端起始リンパ管(IL)が数条腹膜突起内へ侵入(arrows)した(Figs. 7a,b)。

Fig. 4 モリソン窩腹膜リンパ管網(LN)の酵素組織染色(5'-Naseリンパ管染色)(x10)

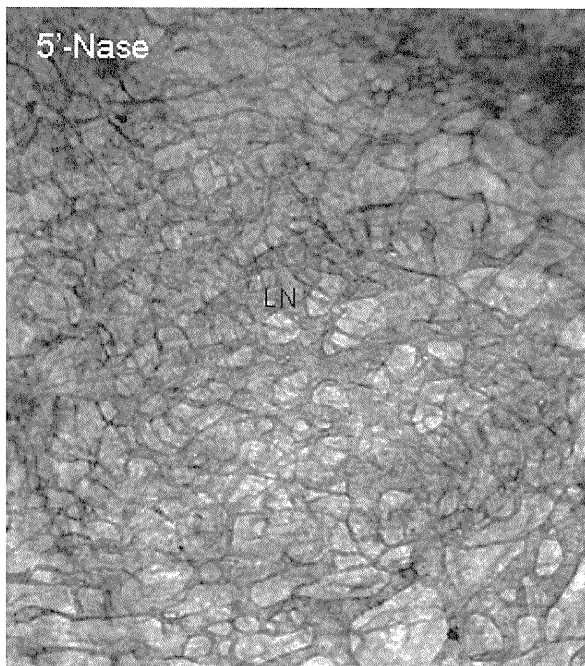


Fig. 5 横隔膜腹膜のリンパ管・血管の走行様式-1 (5'-Nase-ALPase酵素二重染色) BV:毛細血管、Ly:リンパ管

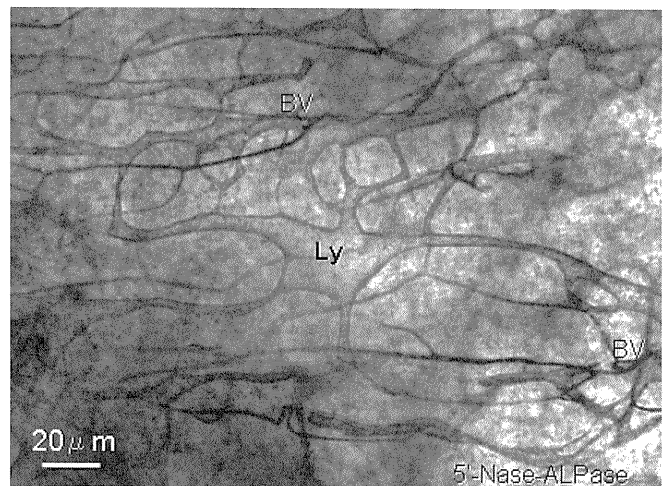
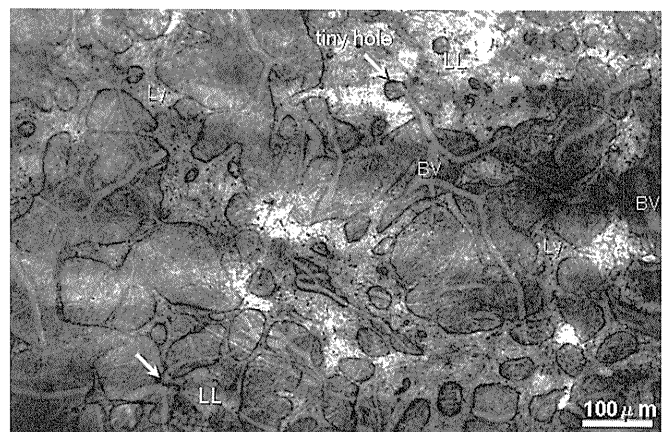


Fig. 6 横隔膜腹膜のリンパ管・血管の走行様式-2(whole mount preparation) 横隔膜リンパ管(Ly)には広範にリンパ洞(lymphatic lacunae :LL)の形成が認められる。リンパ洞内には小孔(arrows)が存在し、それを介して血管が層的に発達したリンパ管網の浅層と深層との間を交通する。横隔膜腹膜領域では血管はリンパ管の走行とは独立した走行様式を呈する。————→



Pseudomyxoma peritoneiにおける中皮下リンパ管系の形態学的特徴-5
 分担研究者:大分大学医学部・医学系研究科・生体構造医学講座、三浦真弘

Fig. 7a 播種転移腹膜の酵素二重染色
 (whole-mount試料-1) ☆:系球体状血管網、
 Ly: 5'-Nase陽性リンパ管 (X10)

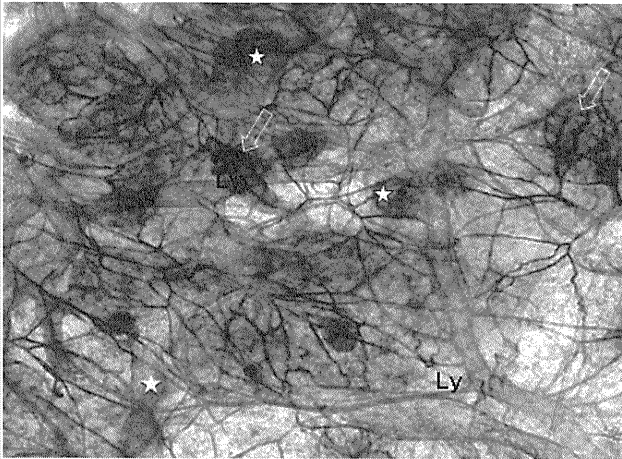


Fig.9 腹膜小突起内リンパ管の走行様式-1 (5'-Nase酵素染色) whole-mount preparation.
 嚢胞状腹膜突起(PP)内に侵入するリンパ管がヒダ基部に発達してリンパ洞(LL)を形成する。

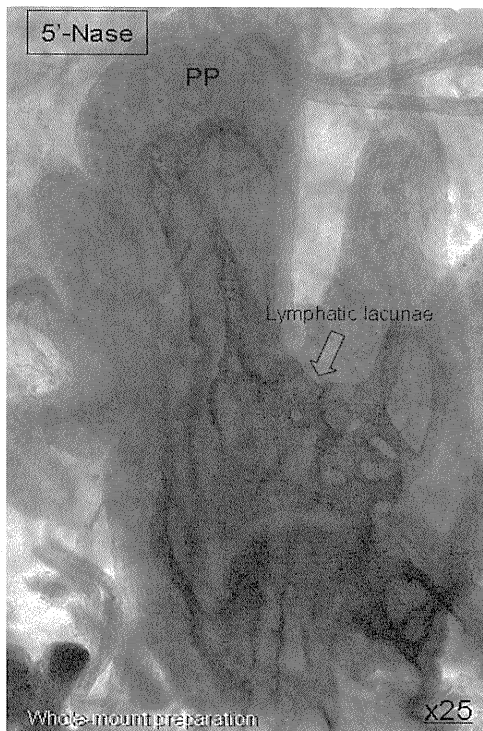


Fig. 7b 播種転移腹膜の酵素二重染色
 (whole-mount試料-2) 弁構造(☆)を有する既存リンパ管網(PELN)から嚢胞状腹膜突起(PP)内に侵入する2条の起始リンパ管(arrows)が認められる。嚢胞内(dotted circle)は系球体状のALPase陽性毛細血管(BV)が侵入・発達する (X25)。

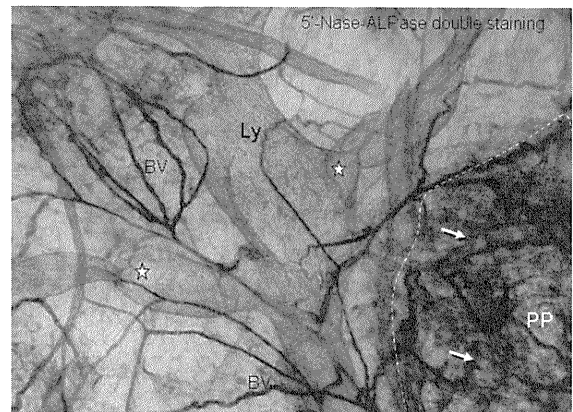
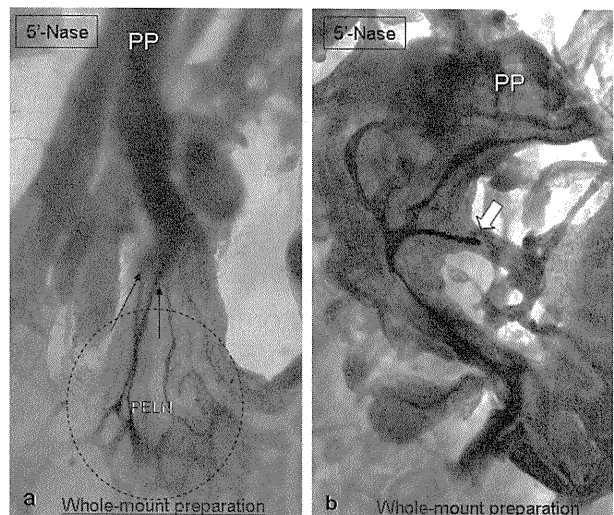


Fig.8 転移性腹膜小突起(PP)内のリンパ管の走行様式(2例) (5'-Nase酵素染色) a, Whole-mount preparation試料-1 x40. PELN (dotted circle)から腹膜小突起に伸び出す単一の起始リンパ管(arrows)が認められる。
 b: Whole-mount preparation試料-2 x40. PELN:pre-existence lymphatic networks, PP: peritoneal projection



Pseudomyxoma peritoneiにおける中皮下リンパ管系の形態学的特徴-6
 分担研究者:大分大学医学部・医学系研究科・生体構造医学講座、三浦真弘

PELNから播種転移性の腹膜小突起(PP)や単一の小粘液嚢胞内に伸び出す盲端部を有する起始リンパ管(IP)は、腹膜小突起状腫瘍内でリンパ管どうしが交通 (Figs.8a,b. arrows)、または腫瘍嚢胞基部で発達してリンパ洞を形成する所見も散在して認められた(Figs. 9, 10 arrows)。

横隔膜ならびにモリソン窩腹膜のwhole-mount試料において、それぞれ描出されたSpLS大型リンパ管網の一部において、リンパ管直上に位置する中皮下結合組織層の希薄領域(小孔様構造)に一致してリンパ管の管壁中央部に無染色域が腹腔面への開口様構造として認められた(Fig. 11 arrow)。

Fig.10 腹膜小突起内リンパ管の走行様式-2 (5'-Nase 酵素染色) whole-mount preparation. モリソン窩腹膜領域の腹膜突起(PP)内に侵入する起始リンパ管とPELNの関係を示す。

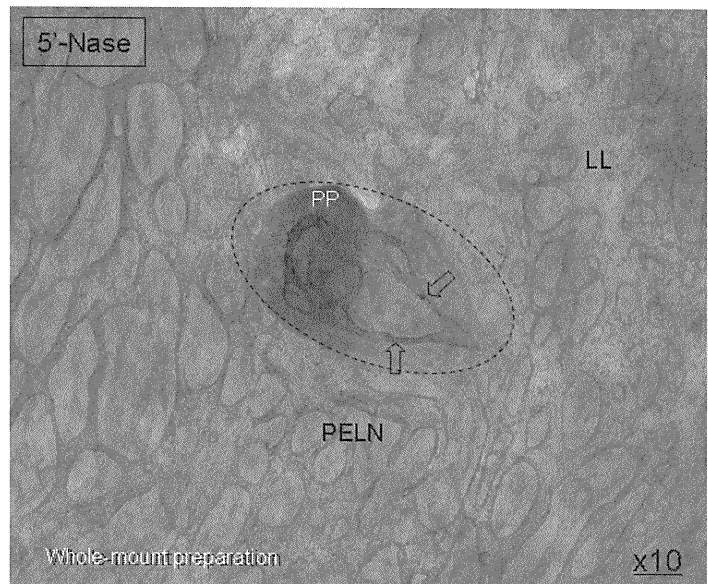
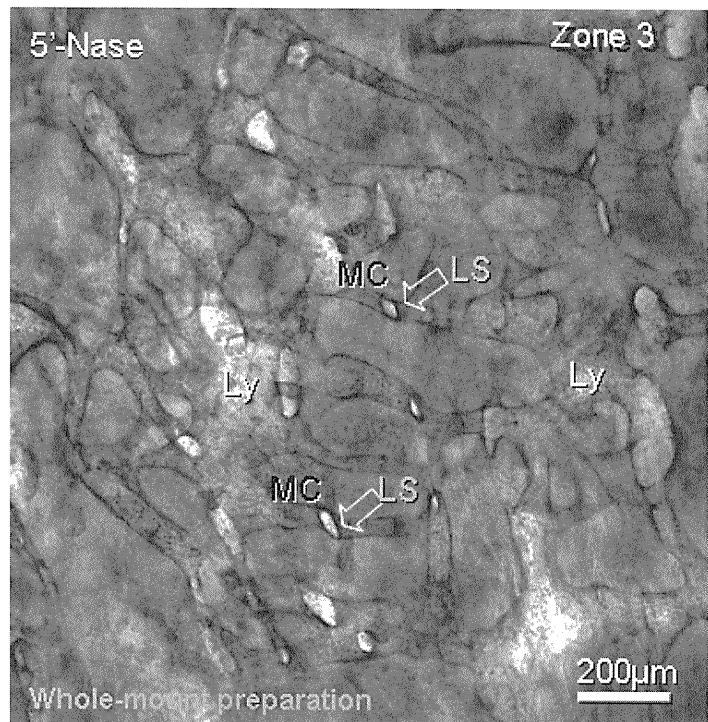


Fig.11 横隔膜リンパ管網の酵素染色像 (5'-Nase) (Whole-mount preparation) 横隔膜腹膜リンパ管(Ly)の走行直上に篩状斑様小孔(MC)が局在し、MC直下を走行する管径の大きなリンパ管壁の一部にはリンパ小孔(Lymphatic stoma: LS)を想起させる構造も認められる(arrows)。



Pseudomyxoma peritoneiにおける中皮下リンパ管系の形態学的特徴-7
 分担研究者:大分大学医学部・医学系研究科・生体構造医学講座、三浦真弘

Whole-mount試料の酵素染色像において、モリソン窩・ダグラス窩腹膜に描出されたリンパ管内に15 μ mを超える大型細胞の吸収像が確認された(Figs. 12a,b)。今回の検索では、大網以外の腹膜領域において典型的な乳斑構造 (milking spot) を認めることはできなかった。

3. CH-40微粒子活性炭注入動態:術前に注入したCH-40炭粒子は、主にモリソン窩(Figs. 13a,b)・ダグラス窩腹膜(Fig.14)、肝鎌状間膜、大網乳斑を中心として5'-Nase陽性リンパ管網から伸び出した起始部の盲端部周辺に吸着する炭粒子が明らかに認められた。

Fig.12a 腫瘍周囲リンパ管内(Ly)に取り込まれた腫瘍細胞様大型細胞(arrow)

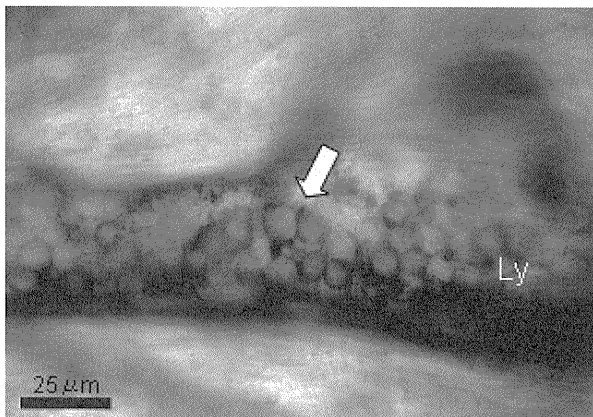


Fig.12b 腫瘍周囲起始リンパ管内(IL)に吸収された腫瘍細胞様の大型細胞(arrow)

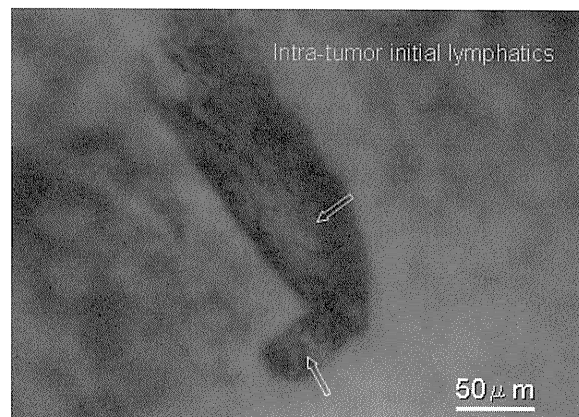
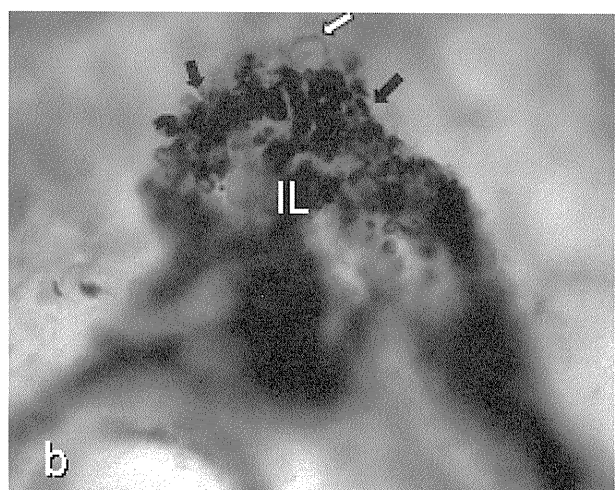
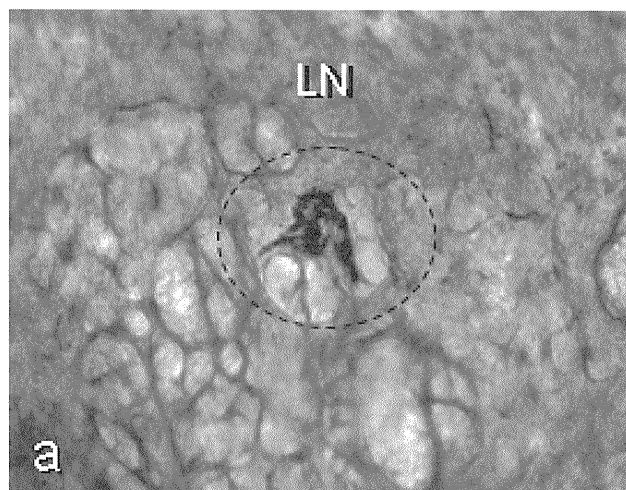


Fig.13 炭粒子の起始リンパ管(IL)からの吸収像(a,b)

a: 腹腔内注入した微粒子活性炭がモリソン窩腹膜リンパ管網(dotted circle)に由来したリンパ管盲端部から吸収される(5'-Nase)(x15)

b: 13a点線円内の拡大。白矢印は腫瘍細胞。(x25)



Pseudomyxoma peritoneiにおける中皮下リンパ管系の形態学的特徴-8
分担研究者:大分大学医学部・医学系研究科・生体構造医学講座、三浦真弘

腹膜領域を局限せず、嚢胞状腫瘍の辺縁部にはPELNから伸び出す盲端を呈する単一リンパ管と多数のリンパ島 (lymphatic island: LI) が腫瘍中心辺縁部に出現した (Fig.15)。また腫瘍辺縁部ではALP陽性動脈性血管網も発達した。

Fig.14 ダグラス窩腹膜における炭粒子の起始リンパ管内への取り込み像 (5'-Nase) (x30)

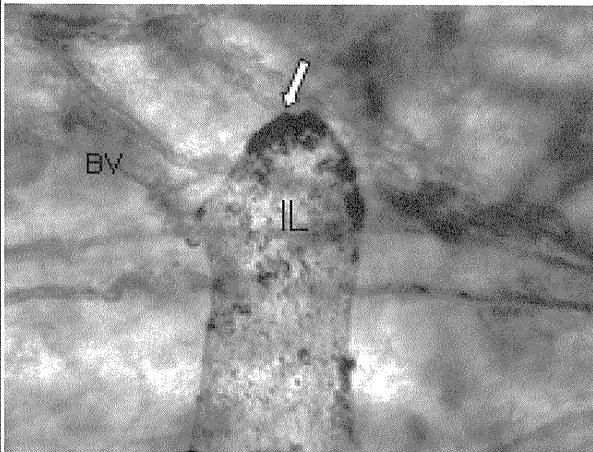
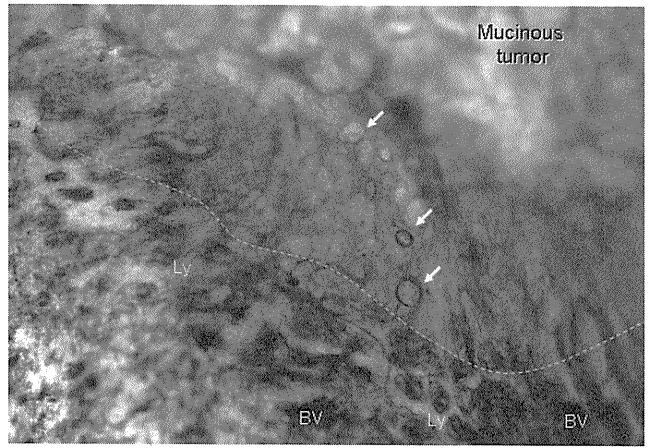


Fig.15 肝鎌状間膜上の嚢胞腫瘍辺縁部 (dotted line) に出現したリンパ管 (whole-mount 試料) (5'-Nase-ALPase 酵素二重染色) (x10) arrows: リンパ島 (LI), BV: ALP陽性動脈性毛細血管。



Pseudomyxoma peritoneiにおける中皮下リンパ管系の形態学的特徴-9
 分担研究者:大分大学医学部・医学系研究科・生体構造医学講座、三浦真弘

4.OCT切片試料:小型嚢胞部辺縁部には、一部にリンパ管の発達と部分的侵入が認められた(Figs.16a,b, arrows)。一方、大型の粘液嚢胞が密集する腹膜領域では、腫瘍中隔におけるリンパ管の発達はきわめて悪く、出現しても管径の細い疎なリンパ管網が分布するのみであった(Figs.17a,b, arrows)。腹膜小突起内のリンパ管については、伸展試料(Figs.8,9)と同じく同部横断切片像でも5'-Nase (Fig.18a, arrows) およびD2-40陽性リンパ管(Fig.18b arrows) の存在が中皮下結合組織中央部において認められた。一方、嚢胞有さない腹膜領域では、5'-NaseならびにD2-40陽性リンパ管は中皮細胞層(PM)直下の浅層(S)に広がる浸潤リンパ球(LI)内とその深層部(D)領域に多数認められた(Figs.19a,b)。ALP陽性動脈性毛細血管もリンパ管の分布領域と一致した。

Fig.16 腫瘍粘液嚢辺縁部(dotted line)のリンパ管の光顕像(OCT切片試料)a:リンパ管・毛細血管酵素二重染色(5'-Nase-ALPase), b: D2-40リンパ管免疫染色

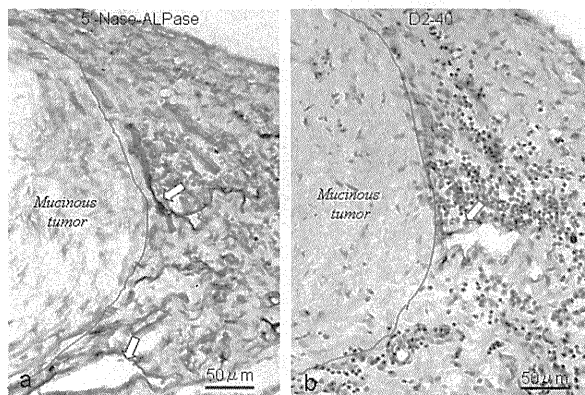


Fig.17 大型粘液嚢胞中隔壁のリンパ管(arrows)・血管の分布様式(OCT切片試料光顕像)a: HE染色, b: 5'-Nase-ALPase酵素二重染色

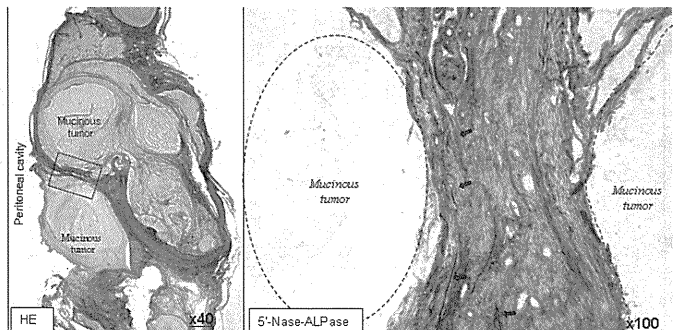
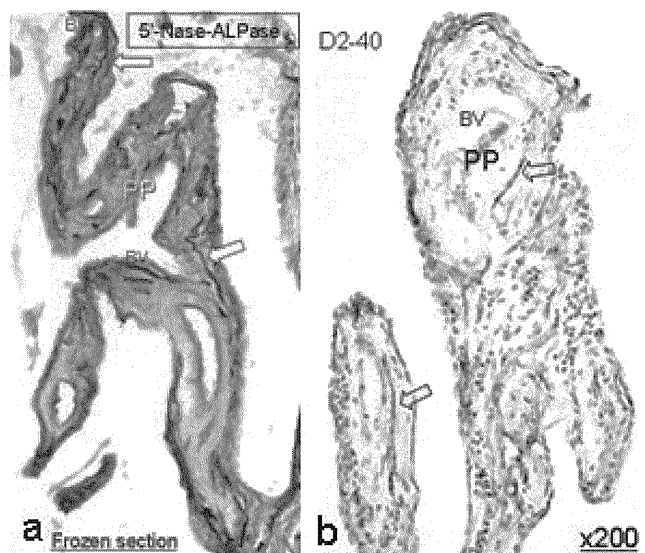
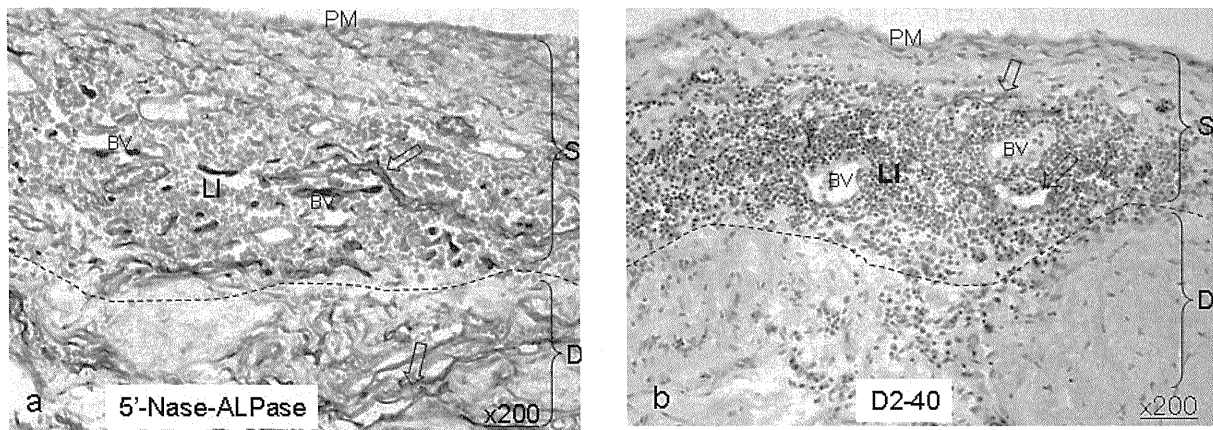


Fig.18 腹膜小突起内のリンパ管(arrows)・血管の分布様式(OCT切片試料光顕像)a:リンパ管・毛細血管酵素二重染色(5'-Nase-ALPase) b: D2-40リンパ管免疫染色



Pseudomyxoma peritoneiにおける中皮下リンパ管系の形態学的特徴-10
 分担研究者:大分大学医学部・医学系研究科・生体構造医学講座、三浦真弘

Fig.19 播種腹膜周囲の中皮下リンパ管(*arrows*)・血管の光顕像(OCT切片試料)
 a:リンパ管・毛細血管酵素二重染色(5'-Nase-ALPase) b: D2-40リンパ管免疫染色 BV:
 blood vessels, D: deep tissue layer, LI : lymphocyte infiltration, PM: peritoneal
 mesothelium, S: superficial tissue layer



4. SEM試料: SpLS大型リンパ管網が発達した横隔膜ならびにモリソン窩腹膜の中皮下結合組織の化学消化組織試料を作成してSEM観察すると、限局したり領域に小孔群(篩状斑構造: MC)の存在が確認された(Fig. 20)。MC構造は腹膜小突起を裏打ちする中皮下結合組織にも15 μ mを超える小孔群が観察された(Fig. 21, *arrows*)。

Fig.20 モリソン窩中皮下結合組織層の篩状斑構造(MC: Macula cribisformis) (NaOH化学消化法SEM)

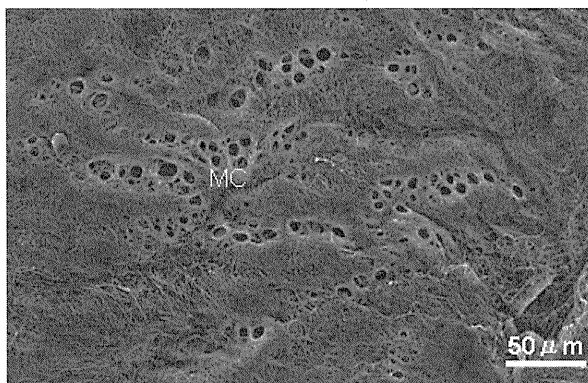
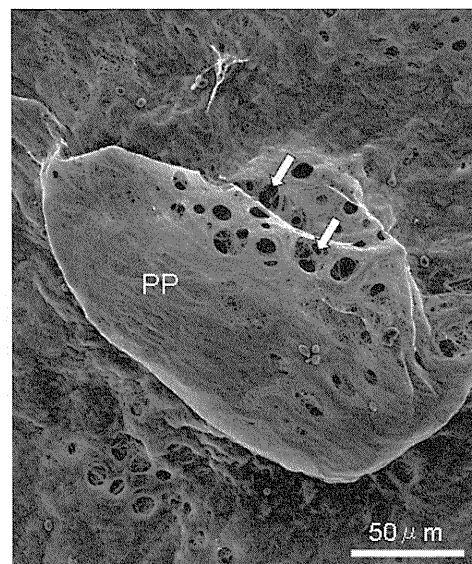


Fig.21 モリソン窩腹膜小突起(PP)の篩状斑構造(MC: Macula cribisformis) (NaOH化学消化法SEM)



Pseudomyxoma peritoneiにおける中皮下リンパ管系の形態学的特徴-11
 分担研究者:大分大学医学部・医学系研究科・生体構造医学講座、三浦真弘

播種性転移が多数存在する腹膜領域では、通常SEM観察において、腹膜中皮細胞層の形態的変化が種々の形態が認められた(Fig. 22)。中皮細胞の解離をともなう腹膜領域には、中皮下結合組織層に形成されたMC構造が分離した中皮細胞隙から露出する所見も認められた(Fig. 23)。腹膜中皮のSEM検索では、形態的変化がともなわない領域でも、散在して中皮間隙(中皮小孔:mesothelial stoma)の存在が認められた(Fig.24b, arrows)。中皮小孔は腹膜組織切片試料の免疫染色でも中皮細胞層が欠損する領域において確認された。中皮細胞の欠損部直下は結合組織層も希薄で中皮下リンパ管の内皮細胞壁が腹腔に直接面する位置的關係を呈し腹膜や間膜に播種転移した囊胞性粘液細胞は、増殖するとともに個々の腫瘍細胞のサイズも増大した。小腸間膜では粘液細胞の表面は比較的平坦で丈の短い微絨毛が存在するが、多くの腫瘍細胞表面に発達した隆起性囊胞の一部が破綻して細胞内粘液の放出現象(開口分泌)が認められた(Fig.25b, ☆)。

Fig.22 腹膜中皮細胞の形態的変化 (SEM観察)x1500
 a:微絨毛の伸長Extension of microvilli
 b:紡錘型萎縮Shrinkage
 c::分離(突起状伸長)Separation
 d::解離(基底膜露出) Exposure of basement membrane

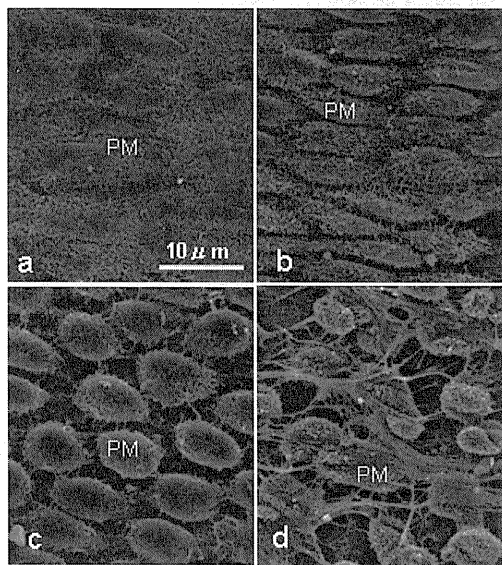


Fig.23 横隔膜腹膜面のSEM像
 BM: 中皮下基底膜、PM:腹膜中皮、☆篩状斑小孔

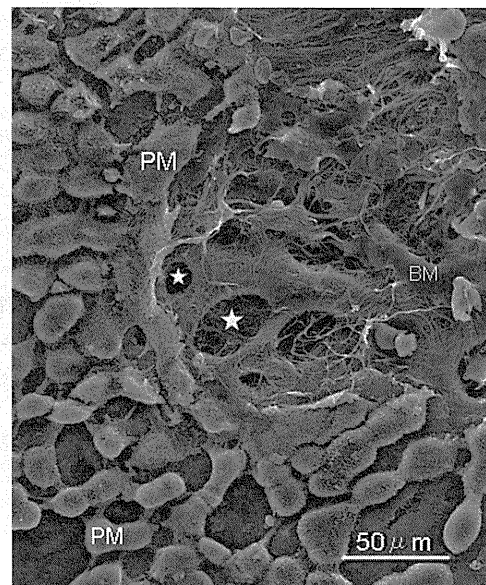


Fig.24 横隔膜腹膜の中皮小孔 (arrows)とリンパ管との位置的關係
 a: D2-40免疫染色、b: SEMイメージ

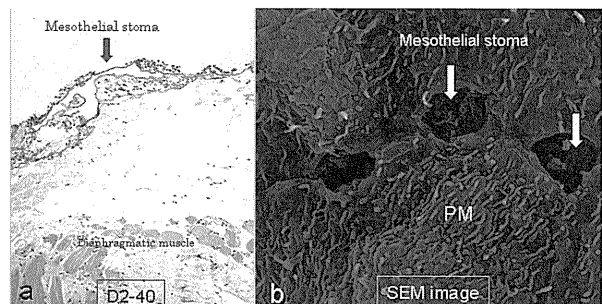
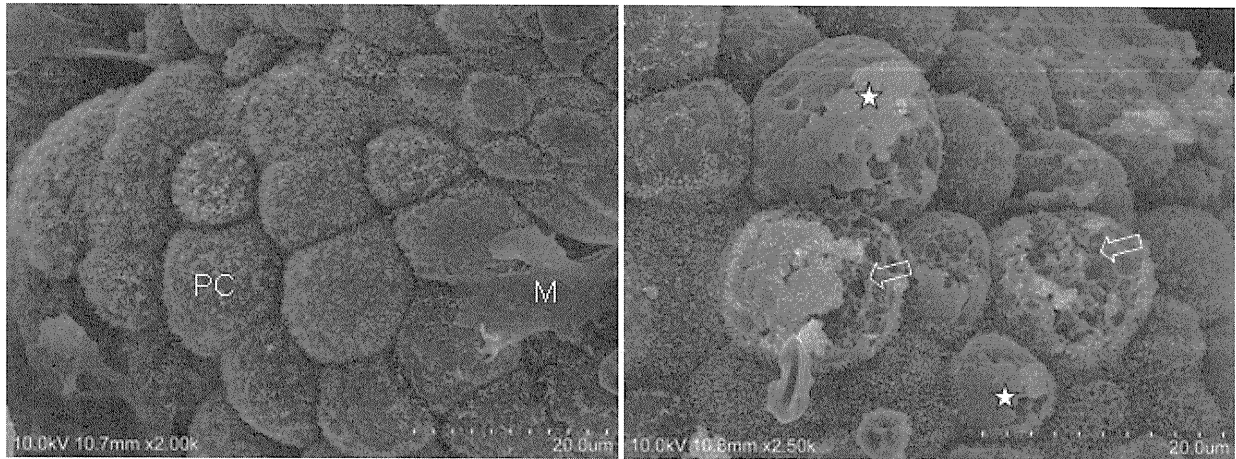


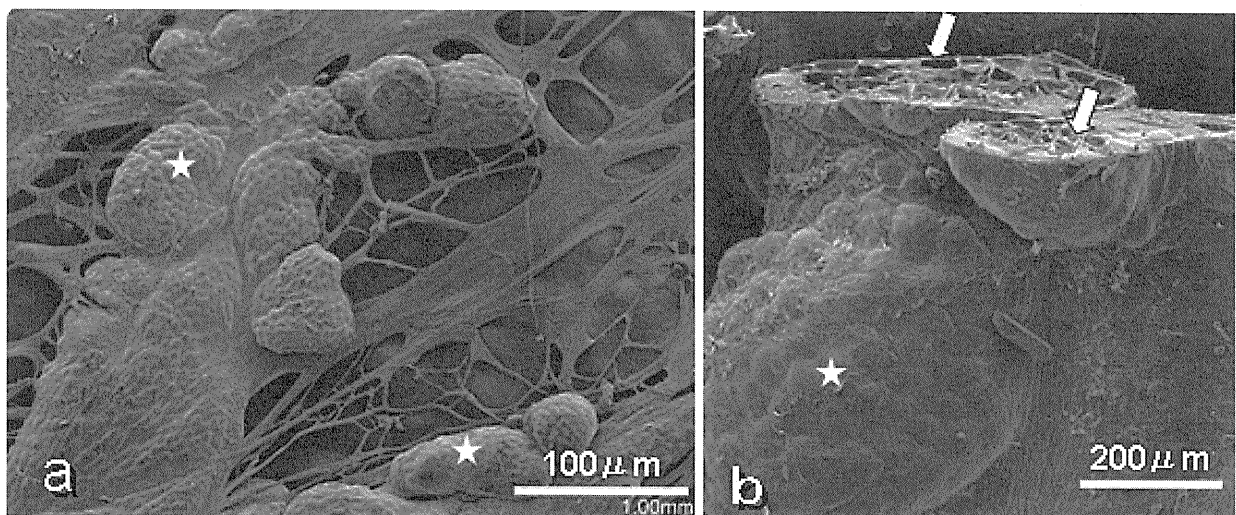
Fig.25 播種粘液細胞のSEMイメージ(小腸間膜)

a: 腹膜偽粘液細胞(PC)は粘液隙(M)に個々の細胞が近接してドーム状配列を呈する。腫瘍表面には比較的平坦で多数の微絨毛が存在する。b: 粘液細胞表面には大きな球状膨隆部(★)が出現する。隆起部の一部は破綻(arrows)して多数の粘液を開口放出(Exocytosis)する。



大網中皮領域では、散在して存在する乳斑を中心に播種転移と粘液細胞の増殖が同部で顕著に認められた(Fig.26, ☆)。

Fig.25 大網乳斑(OMS)に播種転移した粘液腫のSEMイメージ a: 大網中皮表面に散在するOMS(☆)を中心に播種転移が認められる。b: 播種転移したOMS(☆)の横断面。粘液細胞が重層するため多数の囊胞状構造(arrows)が認められる。



【考察】

本検索結果から、中皮下リンパ管系(SpLS)は、PMPの初期転移段階(小型腫瘍播種レベル)では粘液放出量を基準にした病態に適応して特定腹膜領域(横隔膜・モリソン窩・ダグラス窩、肝鎌状間膜)で発達し、特にこれらの腹膜領域からの経リンパ腹水吸収能の亢進することが示唆された。一方、腫瘍の播種レベルが高度となり、腹腔内を占める大型腫瘍嚢胞が増大ならびに密集する病態レベルに到達すると、腫瘍周囲の既存リンパ管網は縮小及び減少傾向を示し、粘液性腹水の産生と経リンパ腹水吸収能との急激なバランス破綻が生じることが推測された。また、播種腹膜全域において中皮下結合組織層の浅層領域にはリンパ球浸潤が層的に広がることで、本来中皮直下を密着して走行するSpLSは腹腔内の粘液腹水の吸収に直接関与し難い位置的關係に変更されることも経リンパ管腹水吸収能の低下に関係するものと考えられた。

嚢胞サイズが増大し、播種腹膜に密集して増殖した場合には、初期播種段階で発達したリンパ管網は、一転して狭小化した腫瘍中隔に痕跡程度まで減少することも播種転移にともなうSpLSの形態学的特徴と考えられた。

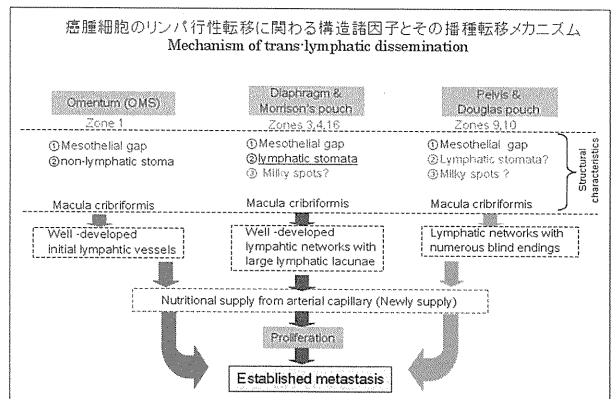
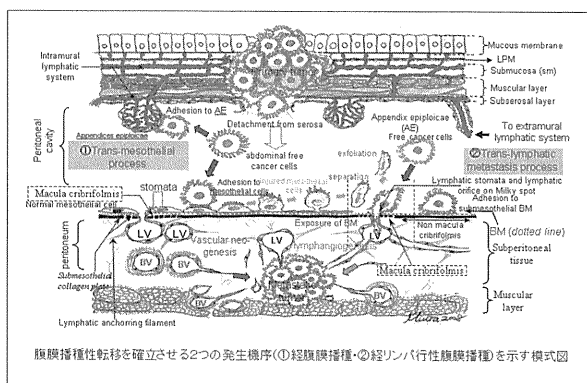
PMPの播種転移機構は、基本的には癌腫細胞の転移機構(Fig.26)と類似しており、中皮細胞の形態変化(変性)から基底膜への定着転移、そしてリンパ行性転移の2つの転移機構の存在が示唆された。播種性転移の形態学的特徴については、中皮小孔の存在、そしてとくに横隔膜ならびにモリソン窩に固有に発達するSpLNの中皮下膠原線維層に存在する篩状斑(MC)の形成に深く関係するものと考えられた。また初期播種段階で出現する腹膜小突起ならびに小嚢胞結節でもMCを介する経リンパ吸収路が存在することは、PMP固有の転移機構の1つとも考えられた。一方、腫瘍周囲の既存リンパ管網(PELN)から腫瘍中心部に向かってCentpetalにリンパ管新生がリンパ島を伴って誘発される形態的現象から、PMPの初期転移においてSpLSが重要な役割を担うことも推測された。

【結語】

PMPにおいても、特定腹膜領域に潜在する脈管外通液路(tissue lymphatic channel system)を介する経リンパ行性転移機構の存在が示唆された(Table.1)

Fig.26 腹膜播種転移を確立させる2つの発生機序

Table.1 癌腫細胞のリンパ行性転移に関わる構造諸因子とその播種転移メカニズム



腹膜偽粘液腫における遺伝子発現異常の解明-1

分担研究者: 金沢大学・がん研究所、遠藤良夫

今年度の成果

本年度は、7症例の腹膜偽粘液腫(PMP)の腫瘍の内、特に良好なtotalRNA試料が得られた3検体とヒト正常虫垂(BioChain社)、ヒト胃癌細胞MKN-45の網羅的遺伝子発現解析を実施した。遺伝子発現解析にはAgilent社のオリゴアレイ(SurePrint G3 Human Expression 8x60k)を用い、34,127の転写産物についてヒト正常虫垂およびMKN-45細胞に比較し、PMPに特徴的に発現が亢進している遺伝子の予備的検索を行った。その結果、3検体のすべてのPMPで発現が3倍以上亢進している遺伝子として8個の候補遺伝子を抽出した。これらの8遺伝子の8症例のPMPにおける発現をRT-PCR法により解析したところ、オリゴアレイ解析に供した3検体以外の4検体においてもMKN-45細胞に比較し発現が亢進していることが確認された。さらに、11種のヒト胃癌細胞における遺伝子発現をRT-PCRで解析したところ8遺伝子の内、3遺伝子は胃癌細胞では発現が認められず、PMPと特異的に発現する遺伝子である可能性が示唆された(現在特許申請中)。そこで、NCBI UniGeneデータベースに公開されているEST (expressed sequence tag) Profileの各種腫瘍組織での遺伝子発現データを参照したところ、これらの3遺伝子は腫瘍組織における発現頻度や発現レベルは極めて低いことも確認され、PMP診断の有用な腫瘍マーカーになる可能性が考えられる。

今後、これら3遺伝子については、腹膜播種を含む臨床腫瘍組織における遺伝子発現情報をWEB上で公開されているデータベースより取得し、PMP特異的な発現であるか否かをさらに検証するとともに、特異抗体を用いたPMPにおけるタンパクの発現を詳細に解析する。また、年間10症例を目標にAgilent社のオリゴアレイによる網羅的遺伝子発現解析を実施し、治療方針の決定に重要な所見となるPMP組織分類に有用な腫瘍マーカーの確立を目指す。オリゴアレイで得られる遺伝子情報は57,717シグナルに及ぶ。それらの中から有望な候補遺伝子を抽出する操作は容易ではない。その一番の原因は、遺伝子の発現解析を行う上で重要となる比較対象の正常組織がPMP患者から得ることが困難な点にある。PMPは粘液に取り囲まれた状態で腹腔内全体に及び、一見正常に見える組織に対してどのような影響を与えているかも不明である。PMPの多くは虫垂由来とされるが、卵巣など他の組織に由来するものもあるが損診断は極めて難しい。本年度の研究では比較対象として市販されている正常虫垂を用いたが、より多様な正常組織、がん組織における遺伝子発現情報をPMP遺伝子発現データベースに取り込み、比較解析することでより効率的で、的確なデータマイニングおよび候補遺伝子の抽出が可能となる。一方、ヒト腫瘍組織の遺伝子発現に関連するWEB公開データのプラットフォームは多様であり、データベース間の情報の結合には大きな労力を要する。そこで、ソフトコンピューティング、データ分析、システム最適化の専門研究者により網羅的遺伝子発現データに対する最適分析システムを構築し、PMPにおける遺伝子発現異常の解明とPMP診断の有用な腫瘍マーカーの探索研究を実施する。遺伝子発現解析における役割分担はいかのおりである: データに含まれる曖昧性を考慮した新しい分析手法の開発(桑野)、ソフトコンピューティングに基づく新しいデータ分析手法の開発及びプログラミング(加藤)、専門家の知識を考慮した対話型最適データ分析手法の開発及びプログラミング(宇野)、網羅的遺伝子発現データに対する最適分析システムの構築及び工学的アプローチに基づくデータ分析全体の統括(片桐)。さらに本研究では、得られた候補遺伝子をクローニングし、PMPの生物学的特性の発揮における機能的役割を解明するとともに治療の分子標的としての有用性について検討をおこなう。具体的には、腫瘍を含む種々の培養細胞にcDNA発現ベクターを導入し、PMP関連遺伝子を発現させ、生物学的な表現系を解析する。

腹膜偽粘液腫の病理 -1
分担研究者:草津総合病院、病理部、賀集一平

<はじめに>

腹膜偽粘液腫 pseudomyxoma peritonei は、腹腔内にゼラチン様に濃縮した粘液が貯留する、臨床的な病態を指す。腫瘍の増殖は緩やかであるが摘出後も再発を繰り返し、最終的に死に至る悪性の経過を辿る。病理学的には、異型性の乏しい粘液産生細胞が少数、粘液中に乳頭状、スリット状に増生しており、腹膜組織には長期の臨床経過を示す線維化が目立つ。腫瘍細胞の細胞異型が乏しいうえに組織破壊を伴わないため、通常の悪性腫瘍の浸潤像とは異なる増殖を示す。虫垂、ならびに女性では卵巣の粘液産生腫瘍が原発とされていたが、現在は卵巣原発とされたものの大部分が虫垂からの転移と考えられている。原発として、虫垂以外の消化管、膵、胆嚢、腹膜なども報告されている。

腹膜偽粘液腫の臨床病理学的な分類は、その原発の多くを占める虫垂の粘液産生腫瘍の理解が定まらず、病理医間の考え方に相違があるため、今なお混乱を来している。

このような状況下で、Ronnett 分類を用いて、腹膜偽粘液腫の診断を試みてきたが、十分な臨床医の理解や病理医の納得を得るにいたらず、今回、いくつかの分類法を比較検討し、臨床像、特に予後を反映する、より簡便な分類法を模索した。

問題点;

腺腫か、粘液腺癌か:

我々は、虫垂原発の腹膜偽粘液腫の症例や、虫垂原発を含む多くの再発症例を経験してきた。再発症例において、前医における虫垂腫瘍の診断の中で“腺腫”とされている症例が少なからずある。腹腔全体に粘液産生細胞がゼリー状の粘液性腹水を伴いながら持続的に増殖し、再発を繰り返す腹膜偽粘液腫の病態は、我々は基本的に悪性と考えている、あるいは、考えたい。従って、その様な腹膜偽粘液腫の病態は、原発の虫垂腫瘍の異型性が乏しく大腸癌取扱い規約上通常の腺腫にみえても、基本的に低悪性度の粘液腺癌と考えている。もし卵巣粘液性腫瘍が原発と考えざるを得ない場合でも、粘液嚢胞腺癌、少なくとも境界悪性と考えているが、症例は少なく、今後の検討を待ちたい。なお、腹腔内に拡がった腫瘍細胞は、異型が軽微であっても粘液腺癌と考えられ、腹水細胞診においても腺癌と診断している。

虫垂粘液性腫瘍の破綻か、浸潤か;

虫垂内腔に貯留した粘液と腫瘍細胞が腹腔内へ漏出し、最終的に腹腔全体に拡がる、最初のイベントは、単に物理的な破綻か、あるいは悪性細胞が組織破壊を伴った浸潤か、今なお意見が分かれている。病理診断において用いられる用語も、婦人科領域では、物理的に粘液が組織へ分け入る、dissecting mucin with fibrosis “線維化を伴う粘液解離”と表現されており、虫垂においても用いられている。通常の癌の浸潤とは異なり、分け入った粘液を後追いで細胞が伸展している印象が強く、penetration や herniating などの用語も使われており、日常の診断においても日本語の表現に苦慮することが多い。この病態を一言で端的に表す用語の統一が望まれる。

虫垂壁の筋層の消失と線維化;

虫垂壁の破綻に至る過程で、筋層の変性や消失、線維化の有無が、分類上の1つの考慮すべき項目と考えている病理医もいる。筋層の消失や線維化は、臨床経過の長さを示唆するものと考えるが、明らかな腺腫では、虫垂壁の破壊は目立たず、悪性細胞の緩徐な組織破壊の結果とも考えられる。

腹膜偽粘液腫の病理 -2

分担研究者: 草津総合病院、病理部、賀集一平

播種か、implant か;

典型的な腹膜偽粘液腫において、粘液産生細胞が、臓器実質へ組織破壊を伴わず、腹膜組織の比較的表層部を伸展、増殖している病態は、通常の癌の播種と異なり、implant と表現されているが、日本語で適当な用語が見つからない。また、卵巣への転移では、卵巣が完全に消失している症例もあり、転移として矛盾しない。脾臓では、粘液膿腫が、厚い被膜を伴いながら圧排性に内部まで陥入している症例では、通常の播種や転移とも異なり、implant と表現している。

無細胞性粘液;

腹膜疑粘液腫の粘液性腹水、粘液嚢腫や粘液湖内に、腫瘍細胞が確認できない場合がある。特に術中迅速診断中の限られた標本の場合、むしろその方が多い。そのような症例でも、手術標本を多数検索することによって、腫瘍細胞が確認できる。予後の良い症例として腫瘍細胞を欠いた粘液を診断に挙げてある分類もあるが、細胞異型にかかわらず、腫瘍細胞が多数認められる症例に比べ、細胞が少数の場合の方が、当然、予後に差がでるものと考えられる。また、粘液柱の細胞の多寡が、部位により異なることを経験する。

印環細胞様細胞の意義;

印環細胞の存在が、予後を左右すると考えられている。Ronnett分類では印環細胞が認められれば、高悪性度のPMCAと判断されるが、腹膜偽粘液腫の粘液中に浮遊している印環細胞は、通常の印環細胞に比べ、異型が弱いことが多く、全体的に低悪性度のDPAMと考えられる所見でも、ごく少数の印環細胞があればPMCAと判断すべきか、判断に悩む。異型の弱い粘液産生細胞が数個集まった集塊が散見されることがあるが、その存在の意義が不明で、今後の課題と考える。

限局性腹膜偽粘液腫:

腹膜偽粘液腫が、腺腫が破綻した病態か、粘液腺癌かの議論は合意に至っておらず、腹膜偽粘液腫とされる病態のなかに、虫垂周囲、あるいは右下腹部に粘液が限局した、予後の良好な病態が含まれており、粘液腺腫の破綻と考える立場や、過形成ポリープや粘液瘤などの腫瘍様病変までを含める立場の根拠となっているものと考えるが、限局性の腹膜偽粘液腫を、上記の腹腔全体に拡がり予後の決して良くない通常classicalの腹膜偽粘液腫と同一に扱えないと考える。通常の腹膜偽粘液腫には、腹腔臓器の漿膜や腹膜組織に、線維結合織の増生や中皮細胞の増生を伴ないことが多くみられ、経過の長さや陳旧化の結果として、硝子化や石灰化も認められる。リンパ濾胞を伴った巣状の炎症細胞浸潤が散見されるが、概ね軽微である。一方、限局性偽粘液腫のなかには、化膿性炎症を伴っている症例もあり、その有無が考慮すべき項目と考える。

悪性度不明な虫垂粘液腫瘍:

虫垂粘液性腫瘍が、良性か悪性か、腺腫か腺癌か、の問題は、その病理像において、基本的な細胞異型や構造異型の概念のみでは、判断できない、あるいは不可能と考える。多くの病理医は、通常の消化管の病理診断においても、腺腫か腺癌かの診断に苦慮する症例を経験しており、病理医間で意見の異なることがある。低悪性度の虫垂粘液腫瘍では、腫瘍本体の診断のみならず、虫垂壁が破綻して粘液が漏出している状況を踏まえ診断する必要があるが、将来の予後を予想することは不可能と考えざるを得ない。その結果として、悪性度が不明なuncertain malignant potential粘液腫瘍、あるいは、最近では、低悪性度(?)の粘液腫瘍 low-grade appendiceal mucinous neoplasia ; LAMNと、悪性度に関して曖昧にしたままに分類する立場が主流となりつつある。

腹膜偽粘液腫の病理 -3
 分担研究者: 草津総合病院、病理部、賀集一平

虫垂の粘液腫瘍の分類と、腹膜偽粘液腫の分類を、最近発表されたレビューを参考に、各分類を整理してみたい (Table 1,2,3,4)。

Joseph Misdraji, MD

Depart. Pathol. Massachusetts Gen. Hosp

Arch Pathol Lab Med Vol 134, June 2010

N C Panarelli, R K Yantiss, MD

Dept. Pathol. & Lab. Med. Weill Cronell Med. Coll. NY

Arch Pathol Lab Med Vol 135, October 2011

今後の研究の予定;

我々が2009年5月から20123月までに経験した、再発を含む腹膜偽粘液腫の手術症例124例を、Ronnett分類、Pai分類、WHO分類、その他の分類にあてはめ、主に予後との相関をみたい。また、多くの factor のなかで、上記に挙げた形態学的な特徴と共に、各種のムチンや、Ki67 などの免疫染色を試みたいと考えている。さらに、他の班員の先生方の協力を仰ぎ、腹膜偽粘液腫に特徴的なマーカー、免疫組織学的な抗体の探索を試みたい。

まとめ;

腹膜偽粘液腫の臨床病理学的な分類の多くは、虫垂の粘液産生腫瘍の分類に準じているが、比較的稀な症例であり、経過も長期にわたるため、臨床データや予後の系統的な解析が困難であったことや、大部分の症例において腫瘍細胞の細胞異型性が乏しく、病理医間に診断の解離が認められた点から、今なお混乱を来している。

虫垂に限局した粘液腫瘍、あるいは、右下腹部に限局した腹膜偽粘液腫様の病態は、たとえそれが腺癌であったとしても、切除することによって完治し、汎発性の腹膜偽粘液腫に発展なかった可能性も考えられる。

腹腔全体に粘液性腫瘍が拡がり再発を繰り返す、汎発性の腹膜偽粘液腫の病態は、多くの病理医が悪性と考えている。WHO 分類 版では、腹膜偽粘液腫を low grade と high grade の mucinous carcinoma peritonei に統一し、悪性としての carcinoma の用語を用いている。我々は WHO分類と共に、Ronnett 分類も併記しているが、大部分が該当する DPAMが、原発は腺腫とする点で、納得できていない。

翻って、虫垂の粘液腫瘍に関しては、良性から悪性に連続したspectrum の中間と捉える考え方は他臓器の腫瘍でもあり、病理医に受け入れられている。将来、腹膜偽粘液腫を来たすか否かが判然としない状態では、low-grade appendiceal mucinous neoplasia LAMN と捉えるのが、現時点では妥当と考える。

Characteristics	Carr and Sobin ^a	Pai and Longacre ¹⁰	Misdraji et al ¹¹
Confined to the appendix	Adenoma	Adenoma	LAMN ^a
Various alterations of the muscularis mucosae or wall	Uncertain malignant potential	Uncertain malignant potential	LAMN ^a
Associated with pseudomyxoma peritonei	Adenocarcinoma	Low malignant potential	LAMN with peritoneal spread ^a
Destructive invasion of the appendiceal wall	Adenocarcinoma	Invasive adenocarcinoma	Invasive adenocarcinoma

Abbreviation: LAMN, low-grade appendiceal mucinous neoplasm.

^a Used only for tumors with low-grade cytology. Tumors with high-grade cytology classified as *mucinous adenocarcinoma*.