

肝細胞癌の多段階発癌と血管新生因子の発現：生体顕微鏡所見と組織所見の対比

著者	松井 修
著者別表示	Matsui Osamu
雑誌名	平成17(2005)年度 科学研究費補助金 基盤研究(C) 研究成果報告書
巻	2004-2005
ページ	12p.
発行年	2006-04
URL	http://doi.org/10.24517/00049403



肝細胞癌の多段階発癌と血管新生因子の発現 －生体顕微鏡所見と組織所見の対比－

16591192

平成16年度～平成17年度科学研究費補助金
(基盤研究(C)) 研究成果報告書

平成18年4月

研究代表者 松 井 修

金沢大学大学院医学系研究科教授

金沢大学附属図書館



0700-03199-5

KAKEN

2006

27

肝細胞癌の多段階発癌と血管新生因子の発現 －生体顕微鏡所見と組織所見の対比－

16591192

平成16年度～平成17年度科学研究費補助金
(基盤研究(C)) 研究成果報告書

平成18年4月

研究代表者 松 井 修
金沢大学大学院医学系研究科教授

金沢大学附属図書館



0700-03199-5

<はしがき>

肝細胞癌（肝癌）はC型およびB型肝炎ウイルスによる慢性肝炎・肝硬変を基盤として発生する場合が大半を占め、これらを基盤とした多段階発癌過程が明らかとなっている。すなわち腺腫様過形成から高分化肝癌、中～低分化肝癌への多段階発癌である。我々は、動脈造影下CT（動注CT）と組織学的検討から、多段階発癌に伴って結節内の門脈血行が次第に低下し、一方、肝動脈血行は発癌過程の初期で一時低下しその後次第に増加することを明らかとしてきた（Matsui O, et al. Radiology 178: 493-497, 1991, Ueda K, Matsui O, et al. Human Pathology 23: 619-626, 1992, Hayashi M, Matsui O, et al. AJR 172 : 969-976, 1999）。この事実は早期肝癌の診断と治療に大きな進歩をもたらしたが、こうした血行動態の変化（血管新生）のミクロレベルの *in vivo* での解析はいまだなされていない。こうした多段階発癌過程における血管新生過程や周辺肝の血管系との相互関係をミクロレベルで知ることが発癌初期（早期）肝癌の病態のさらなる解析、治療法の開発や改良、早期診断法の開発に極めて重要である。これらを明らかにするために肝内類洞血流の変化に関する実験的研究やマウス実験肝癌における血行動態・Rat 実験肝癌における境界病変から肝癌への様々な悪性度の肝細胞性結節の *in vivo* での微小血行動態 (*micro-circulation*)などを実体顕微鏡や蛍光顕微鏡をもちいた生体顕微鏡下の観察で明らかにしてきた。

今回の研究の目的は従来の研究をさらに深め、転移性肝癌の成長過程に伴う腫瘍および周辺肝の微小循環の変化を蛍光生体顕微鏡所見と血管新生との比較で検討すること、肝細胞癌の多段階発癌過程における血管新生過程や周辺肝の血管系との相互関係を *in vivo* で同様に検討することである。同時に、臨床例でも肝細胞癌の多段階発癌における画像所見の変化を結節内血流の観点から分析し、基礎的治験と合わせて病態の理解をはかることである。

研究組織

研究代表者 : 松井 修 (金沢大学大学院医学系研究科教授)
(研究協力者 : 刘 屹)

交付決定額 (配分額)

(金額単位: 円)

	直接経費	間接経費	合計
平成16年度	1,800,000	0	1,800,000
平成17年度	1,700,000	0	1,700,000
総計	3,500,000	0	3,500,000

研究発表

(1) 学会誌等

1. Matsui O. Imaging of multistep human hepatocarcinogenesis by CT during intra-arterial contrast injection. *Intervirolgy*. 47(3-5):271-276, 2004.
2. Terayama N, Matsui O, Tatsu H, Gabata T, Kinoshita A, Hasatani K. Focal sparing of fatty liver in segment II associated with aberrant left gastric vein. *Br J Radiol*. 77(914): 150-152, 2004.
3. Miyayama S, Nishida H, Matsui O. Peritumoral fatty infiltration of the liver associated with venous drainage from metastatic liver tumor. *AJR* 182(2): 533-534, 2004.
4. Terayama N, Matsui O, Ueda F, Hattori Y, Nishijima H, Sanada J. CO2 demonstration of multiple extravasations into a subcapsular hematoma of the liver. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 27(3): 278-281, 2004.
5. Miyayama S, Matsui O, Taki K, Minami T, Ito C, Shinmura R, Takamatsu S, Kobayashi M, Notsumata K. Combined use of an occlusion balloon catheter and a microcatheter for embolization of the unselectable right inferior phrenic artery supplying hepatocellular carcinoma. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 27(6): 677-681, 2004.
6. Kobayashi S, Matsui O, Yoshikawa J, Gabata T, Kawamori Y, Sanada J, Terayama N, Kadoya M. Prevention of hepatic infarction as acute-phase complication of TIPS by temporary balloon occlusion in a patient with primary myelofibrosis. *Radiat Med*. 22(6): 432-436, 2004.
7. Miyayama S, Matsui O, Taki K, Minami T, Ito C, Shinmura R, Takamatsu S, Kobayashi M, Notsumata K, Toya D, Tanaka N, Kozaka K. Transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma fed by the reconstructed inferior phrenic artery: anatomical and technical analysis. *J Vasc Interv Radiol*. 15(8):815-823, 2004.
8. Kobayashi S, Matsui O, Gabata T, Terayama N, Sanada J, Yamashiro M, Minami M, Kozaka K, Harada K, Nakanuma Y. MRI findings of primary biliary cirrhosis: correlation with Scheuer histologic staging. *Abdom Imaging*. 30(1): 71-76, 2005.
9. Ontachi Y, Asakura H, Omote M, Yoshida T, Matsui O, Nakao S. Kasabach-Merritt syndrome associated with giant liver hemangioma: the effect of combined therapy with danaparoid sodium and tranexamic acid. *Haematologica*. 90 (Suppl), 2005.

10. Miyayama S, Matsui O, Taki K, Minami T, Ryu Y, Ito C, Nakamura K, Inoue D, Takamatsu S. Arterial blood supply to the posterior aspect of segment IV of the liver from the caudate branch: demonstration at CT after iodized oil injection. *Radiology* 237(3):1110-1114, 2005.
11. Shinmura R, Matsui O, Kobayashi S, Terayama N, Sanada J, Ueda K, Gabata T, Kadoya M, Miyayama S. Cirrhotic nodules: association between MR imaging signal intensity and intranodular blood supply. *Radiology* 237(2):512-519, 2005.
12. Matsui O. Detection and characterization of hepatocellular carcinoma by imaging. *Clin Gastroenterol Hepatol* 3(10 Suppl 2):S136-140, 2005.
13. Ueda F, Matsuura Y, Terayama N, Kobayashi S, Kobayashi T, Gabata T, Matsui O. [Effect of saline flush using dual injector on abdominal dynamic contrast enhanced computed tomography] *Nippon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi*. 65(1):23-29, 2005.
14. Liu Y, Matsui O. Collaterals through hepatic sinusoids after embolization of terminal portal venules: an in vivo study on mice. *Hepatol Res*. 31(1): 36-42, 2005.
15. Miyayama S, Matsui O, Taki K, Minami T, Ryu Y, Ito C, Nakamura K, Inoue D, Notsumata K, Toya D, Tanaka N, Mitsui T. Extrahepatic blood supply to hepatocellular carcinoma: angiographic demonstration and transcatheter arterial chemoembolization. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 29(1):39-48, 2006.

(2) 口頭発表

1. Liu Y, Matsui O. The microcirculation of hepatic metastatic tumor at early stage: In vivo study on mice. (第 63 回日本医学放射線学会総会、2004.4.8-10, 横浜)
2. Matsui O. Transarterial chemoembolization: Principles & outcomes. (10th Asian Oceanian Congress of Radiology, April 28-May 1, 2004, Singapore)
3. Matsui O. Radiologic-pathologic correlation: Malignant liver tumors. (10th Asian Oceanian Congress of Radiology, April 28-May 1, 2004, Singapore)
4. 松井 修. 肝細胞癌の多段階発癌と血行支配の変化: 動注 CT による解析. (第 40 回日本肝臓学会総会、2004.6.3-4、東京)
5. 松井 修. 肝癌の画像と I V R による治療. 第 13 回肝癌治療シンポジウム [特別講演] (2004.6.11, 名古屋)

6. 松井 修. 肝癌とその類似病変の血流画像と病態 - 動注 CT による解析. (第 40 回日本肝癌研究会[教育講演] 2004. 6. 24-25、つくば)
7. Kobayashi S, Matsui O, Gabata T, et al. The radiological and histopathological manifestations of hepatocellular nodular lesions concomitant of various congenital and acquired hepatic hemodynamic abnormalities. (90th Scientific Assembly and Annual Meeting, RSNA2004, Nov. 28 - Dec. 3, 2004, Chicago)
8. Matsui O. Hepatocellular carcinoma: Trans-arterial chemoembolization (TACE). (Asian Pacific Association for the Study of the Liver, Dec. 11-15, 2004, India)
9. Matsui O. Early hepatocellular carcinoma: imaging of multi-step hepatocarcinogenesis. (ECR2005, March 4-8, 2005, Vienna)
10. Shinmura R, Matsui O, Gabata T, et al. Detection of a hypervascular malignant focus in borderline lesions of hepatocellular carcinoma: comparison of dynamic CT, dynamic MR imaging and SPIO-enhanced MR imaging. (ECR2005, March 4-8, 2005, Vienna)
11. Liu Y, Matsui O. The blood supply of hepatic metastatic tumor at early stage: An in vivo study on mice. (第 64 回日本医学放射線学会総会、2005. 4. 8-10、横浜)
12. Matsui O. Detection and characterization of hepatocellular carcinoma by imaging. (Second Joint Meeting of the Japanese Society of Gastroenterology and the American Gastroenterological Association, April 16-17, 2005, Tokyo)
13. Terayama N, Sanada J, Matsui O, et al. Arterial embolization for subcapsular hematoma of the liver. (ISIR & JSAIR 2005, May 11-14, 2005, Awaji)
14. Matsui O. Hepatic nodules showing increased intranodular portal supply relative to the surrounding liver parenchyma: radiologic-pathologic correlation. (ESGAR 2005, May 28-31, 2005, Florence)
15. 小林 聡、松井 修、蒲田敏文、他. 動注 CT を用いた微小肝細胞癌診断 - 手技および肝細胞性結節性病変診断の実際 -. (第 41 回日本肝癌研究会、2005. 6. 2-3、千葉)
16. Matsui O. Transcatheter arterial embolization for hepatocellular carcinoma: principal and outcome. (The First International Congress of Comprehensive Interventional Therapy on Hepatocellular Carcinoma (HCC), June 25-26, 2005, China)

17. Sanada J, Matsui O, Ohtake, et al. Distal embolic protection with an intraaortic filter device during endovascular stentgrafting in a patient with severely atherosclerotic thoracic aortic aneurysm. (CIRSE2005, Sep. 10-14, 2005, Nice)
18. Matsui O. Subsegmental transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: principles and outcome. (第 13 回香港放射線科学会、Oct. 21-23, 2005, Hong Kong)
19. Matsui O. Endovascular stentgrafting for thoracic aortic aneurysms: Kanazawa experiences with homemade Matsui-Kitamura nitinol stent-graft (MKSG). (China Medical University-Kanazawa University Joint Symposium, Oct. 29, 2005, China)
20. 松井 修. 肝疾患の画像診断 - 肝細胞癌を中心に -. (第 36 回日本肝臓学会西部会[教育講演], 2005. 10. 25-26, 三重)
21. Matsui O. Imaging of multi-step hepatocarcinogenesis. (Fourth JSH Single Topic Conference, Dec. 2-3, 2005, Awaji)
22. 松井 修. 「肝・膵」肝良性疾患の診断と治療 肝膿瘍および肝癌類似病変. (平成 17 年度後期日本消化器外科学会教育集会、2006. 2. 10-11、横浜)
23. Kobayashi S, Kamura T, Matsui O, et al. Hypervascular hyperplastic nodule in severe alcoholic liver disease and alcoholic liver cirrhosis: distinction from hepatocellular carcinoma with MR imaging. (ECR2006, March 3-8, 2006, Vienna)

(3) 出版物

1. 小林 聡、松井 修、蒲田敏文、他. 【肝癌 今わかっていること、分かっていること】診断 血管造影、CT、MRI. カレントセラピー 22(5): 453-456, 2004, ライフメディコム.
2. 吉川 淳、松井 修. 【肝癌診療の最新の動向】肝癌診断の進歩 肝癌画像診断の進歩 MDCT、MRI、CTAP/CTA を中心に. Pharma Medica 22 (7): 23-26, 2004, メディカルビュー社.
3. 宮山士朗、瀧 圭一、松井 修、他. 【肝癌治療前後の画像】画像でみる治療前後の肝解剖 - 肝血流変異. 消化器画像 6 (4): 473-480, 2004, 医学書院.
4. 寺山 昇、松井 修、小林 聡、他. 【肝胆膵領域の画像診断】肝の微小循環動態 CT による腫瘍血流の微小循環動態. 臨床放射線 49 (11): 1581-1586, 2004, 金原出版.
5. 小林 聡、松井 修、蒲田敏文、他. 【良・悪性境界病変の画像診断】肝細胞癌 画像診断. 臨床画像 20 (12): 1408-1415, 2004, メジカルビュー社.

6. 小林 聡、蒲田敏文、松井 修、他. 【転移性肝癌のすべて 診断と治療方法の選択】画像から見た転移性肝癌 原発臓器によって画像は違うか. 外科治療 92 (2): 127-132, 2005, 永井書店.
7. 小坂一斗、佐藤保則、松井 修、他. 【転移性肝癌のすべて 診断と治療方法の選択】転移性肝癌の病理所見と予後. 外科治療 92 (2): 133-138, 2005, 永井書店.
8. 小林 聡、蒲田敏文、松井 修、他. 【肝良性腫瘍および腫瘍類似病変の画像診断】肝偽病変. 画像診断 25 (3): 309-317, 2005, 秀潤社.
9. 蒲田敏文、松井 修. 【肝良性腫瘍および腫瘍類似病変の画像診断】肝炎症性腫瘍 肝膿瘍を中心に. 画像診断 25 (3): 318-327, 2005, 秀潤社.
10. 吉川 淳、松井 修. 【肝良性腫瘍及び腫瘍類似病変の画像診断】その他の良性肝腫瘍. 画像診断 25 (3): 328-338, 2005, 秀潤社.
11. 小林 聡、松井 修、蒲田敏文、他. 【肝転移 その特性からみた診断と治療】肝転移の画像診断の進歩 動注 CT. 消化器画像 7 (4): 497-502, 2005, 医学書院.
12. 寺山 昇、松井 修、小林 聡、他. 【どう使うマルチスライス CT (MDCT)】Angio CT による血流動態分析と肝内転移診断. 胆と膵 26(増刊)253-258, 2005, 医学図書出版.
13. 寺山 昇、蒲田敏文、松井 修、他. 【肝の循環動態 基礎から臨床への展開】血流動態からみた肝の病態 その新たな展開 転移性肝癌. 肝・胆・膵 51 (3):427-432, 2005, 国際医書出版.
14. 松井 修、小林 聡、寺山 昇、他. 【早期肝細胞癌の画像診断基準に迫る】血行動態からみた早期肝細胞癌の画像診断 ダイナミック CT、ダイナミック MRI、CTHA、CTAP について. 消化器画像 8 (1): 27-33, 2005. 医学書院.
15. 宮山士朗、松井 修. 【肝細胞癌治療の最近の進歩】肝細胞癌の根治的治療法 Subsegmental TAE. 消化器病セミナー 97: 45-53, 2004, へるす出版.
16. 松井 修. 診断の動向 肝画像診断. Annual Review 消化器 2006: 141-146, 2006, 中外医学社.

研究成果

1. 実験的転移性肝癌の成長に伴う微小循環の変化：蛍光生体顕微鏡と免疫組織化学染色による解析

マウスに転移性肝癌(colon-26cancer cells の脾内注入で作成，乏血性の病変)を作成し，その発生初期(1mm 以下)の結節内血流変化を蛍光生体顕微鏡で観察・分析した。DDY マウスを金沢大学動物実験マニュアルの指針にそって実験研究に供した。腸間膜静脈より蛍光色素を注入後，肝を蛍光実体顕微鏡下で観察する。腫瘍内血洞の形成状況，周辺門脈あるいは類洞との関連を調べた。新しく開発した，数ミクロン径の蛍光粒子を静脈内注入することによってその経時的観察から，結節の動脈および門脈支配を観察する方法で転移性肝癌の動脈支配と門脈支配を解析した。観察部位は実験終了後摘出し，種々の組織学的検討を行った。すなわち，腫瘍内部と周辺部（腫瘍と周辺肝実質の移行部）の血管を通常の染色法で形態学的に計測するとともに，免疫染色による血管の多寡や類洞の血管化などについて検討した。さらに種々の血管新生の発現の多寡や局在を免疫染色法で調べ生体顕微鏡で得られた *in vivo* での血流動態と比較した。

転移性肝癌はその成長過程で4段階の血行支配パターンと血管新生の変化のパターンを示した。すなわち，着床後平均径180 μ 前後までは腫瘍内に明らかな新生血管は観察されず，腫瘍は周辺からの拡散による栄養を受けるものと考えられた。平均径290 μ 前後では腫瘍内に肝類洞の遺残とその変形をみとめ血流は周辺肝類洞からこれらの遺残類洞を通じて腫瘍内に流入した。その後腫瘍血管の増生がみられ平均径520 μ 前後では周辺肝類洞に連なる腫瘍内血洞の増生と動脈系の腫瘍血管の出現を認めた。血流は動脈系血流と周辺類洞からの還流が混在して認められた。その後2000 μ 前後に成長すると動脈系の腫瘍血管増生が強く発現し，血流はこれらから流入し，周辺肝類洞と連続する腫瘍内血洞を通じて周辺肝に還流するのが明らかとなった。すなわち，成長にしたがって，周辺からの拡散から門脈血流支配，門脈・動脈混合型の血流支配から全体が動脈支配へと変化する過程が明らかとなった。この事実は従来の様々な報告の差異の理由を明らかとするもので一連の血行支配のへんかを血管新生の過程との関連で *in vivo* で明らかにしたのはじめての報告である。Radiology 誌に掲載許可がでている段階である。論文1にその原稿を添付する。

2. Rat 肝細胞癌の多段階発癌における微小循環と血管新生の変化：蛍光生体顕微鏡と免疫組織化学染色による解析

Rat実験肝癌における境界病変から肝癌への様々な悪性度の肝細胞性結節のin vivoでの微小血行動態(microcirculation)を生体蛍光顕微鏡下の観察と組織像との比較で明らかにすることを目的に、上記の転移性肝癌と同様の観察を行った。生後8週のWistar系ratsをN-nitrosomorpholineを含有した水で18週間飼育し、過形成性結節(境界病変)、肝細胞癌を生じさせた。上記のマウスの転移性肝癌におけると同様の観察を行った。境界病変(図1)から肝細胞癌への進展に伴って腫瘍内に不整な血管腔(腫瘍性血洞が形成され、それが周辺肝類洞や門脈終末枝と様々に交通すること(図2)、また腫瘍近辺に通常では観察されない複雑な血管吻合が形成されることが示された。これらの由来や血行動態を現在CD34, α -SMA, anti-ephrinB2(図4)などによる免疫組織学的解析、蛍光粒子注入によるin vivo血行動態解析で検討中である(図3)。さらにRT-PCR解析によるangiopoietinとの比較を行い現在資料集積中である。肝癌の多段階発癌に伴い血管新生がみられ、動脈系血管新生の増加とともに門脈血行支配から動脈血行支配へと変化する結果を示唆する所見が得られている。

図1. Rat 肝に誘発された過形成性結節(境界病変)(矢印)(生体顕微鏡像)

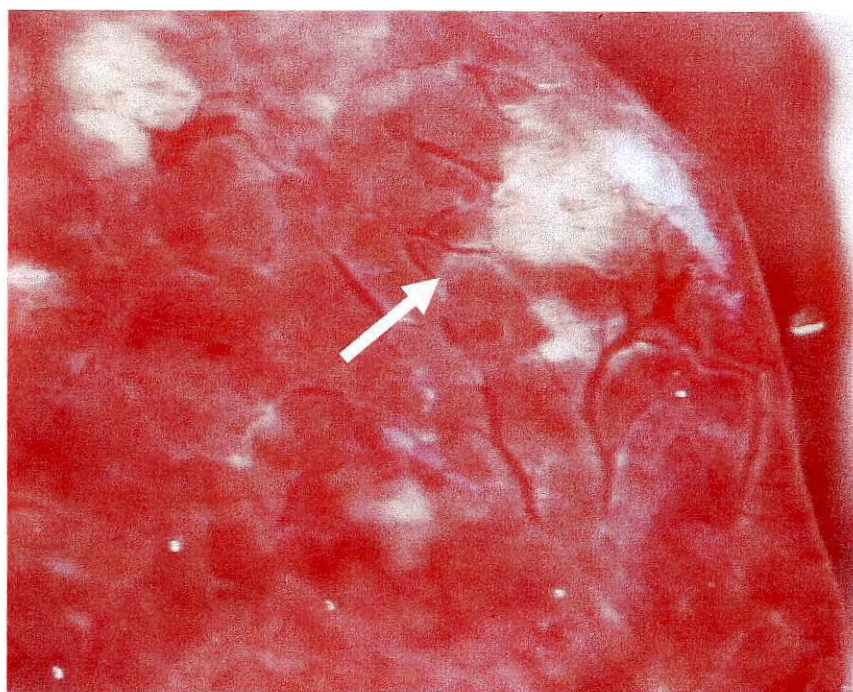


図 2. Rat 境界病変一肝細胞癌内腫瘍性血洞 (矢印) (蛍光生体顕微鏡像)



図 3. Rat 境界病変への門脈血行支配が蛍光粒子の門脈内注入像で明らかである。(蛍光生体顕微鏡像)

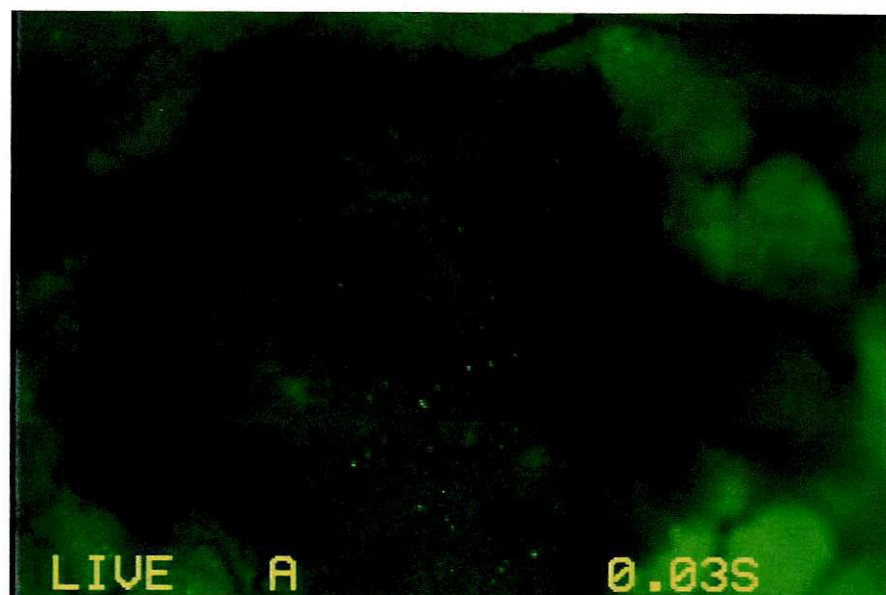


図4. Rat 肝細胞癌の ephrinB2 染色像



3. 臨床例における肝細胞癌の多段階発癌と血行支配変化：磁気共鳴画像との関連

肝細胞癌の多段階発癌に伴う血行支配の変化を一般的で非侵襲的な画像診断法で予測することは臨床的に重要である。また上記の *in vivo* での実験的研究はこれらの臨床画像の背景の理解に有用である。これらの観点から、臨床例で、動脈造影下 CT で得られた肝硬変に伴う肝細胞性結節性病変の結節内血行支配と磁気共鳴診断画像との比較を行った。その結果、肝細胞癌の多段階的発癌による結節内血行支配の変化と T2 強調像での信号強度の変化が良好に相関することが明らかとなった。その結果は論文 2 に掲載された。