

原 著

食道表在癌における血管新生についての臨床病理学的検討

東海大学医学部第2外科, 同 病理*

水谷 郷一 幕内 博康 三富 利夫 長村 義之*

食道表在癌の血管新生の状態と臨床病理学的因子との関係を検討する目的で, 食道表在扁平上皮癌切除例37例に第VIII因子関連抗原染色を行った。染色標本はコンピューター画像解析装置を用いて腫瘍内部(以下, 腫瘍内)と腫瘍辺縁正常部(以下, 腫瘍外)の微小血管をおのおの3視野ずつ計測し, 1視野あたりの平均血管数と平均血管面積(%)を算出し, 各臨床病理学的因子別に比較検討した。腫瘍内平均血管面積(%)は, m_1 , m_2 が他の $m_3 \sim sm_3$ に比べて有意に低かった。腫瘍外平均血管面積(%)は, 深達度で差は認められなかった。 m_3 , sm_1 ではリンパ節転移(n)や脈管侵襲(ly, v)を認めない症例は, 腫瘍外が腫瘍内に比べて有意に平均血管数が低かった($p < 0.01$)。よって食道表在癌が m_1 , m_2 から m_3 に増殖する過程に腫瘍内血管新生の関与が示唆された。また内視鏡的粘膜切除術の適応を決める1つの指標に, 腫瘍内と腫瘍外の平均血管数の検討が有用である可能性が示唆された。

Key words: superficial esophageal cancer, angiogenesis, factor VIII-related antigen, computer image analysis

I. 緒 言

食道表在癌は, 近年深達度によって粘膜上皮内にとどまる m_1 癌から, 粘膜下層の深層まで浸潤する sm_3 癌まで6つに分類されて, さまざまな検討が報告されている¹⁾²⁾。そして食道表在癌といえども深達度によってその病態は著しく異なり, その治療法の選択が臨床問題になっている。しかし癌の増殖や悪性度との関係が注目されている血管新生の面から, 食道表在癌の検討を行った報告は少ない。今回食道表在癌の血管新生の状態と深達度, リンパ節転移, 脈管侵襲, 病型, 分化度, 腫瘍長径, などの種々の臨床病理学的因子との関係を検討し, かつ近年食道表在癌の治療として急速に普及している内視鏡的粘膜切除術の血管新生の状態からみた適応について考察する。

II. 対象と方法

東海大学第2外科で1981年から1995年に外科的切除術を施行した, 術前未治療の食道表在扁平上皮癌37例を対象とした。男性33例, 女性4例で年齢は45歳から80歳で平均年齢は62.2歳であった。

方法は各症例の切除標本を10%ホルマリンで固定後, 病巣部を各3~4 μ mのパラフィン包埋切片を作成

し, そのうちの代表的切片(最も深達度の深い切片)を1枚取り出し, 第VIII因子関連抗原染色(DAKOPATTS, Denmark)を酵素抗体間接法(diaminobenzidin (DAB) 発色)により行った。第VIII因子陽性部位(血管内皮)を抽出する目的で干渉フィルター-IF436(Olympus)を使用し, コンピューター画像解析装置VIDAS(Carl Zeiss, Germany)を用いて腫瘍内部(以下, 腫瘍内)と腫瘍辺縁正常部(以下, 腫瘍外)の血管新生の最も多いところの血管数と血管面積を3視野(1視野=1.65 $\times 10^5 \mu$ m²に換算)ずつ計測し, 1視野あたりの平均血管数と平均血管面積(%)を算出し, 種々の臨床病理学的因子(深達度, リンパ節転移, リンパ管侵襲, 血管侵襲, 病型, 分化度, 最大腫瘍径)と比較検討した。

画像解析の手順は, ①干渉フィルター-IF436により, DAB陽性部位を強調した像を入力(Fig. 1)。②2値化処理によりDAB陽性部位を抽出(Fig. 2)。③血管の輪郭のトレースと, 残存する人工物や核やリンパ管の除去。また血管内腔の面積を求めるため, 血管内を穴埋めする(Fig. 3)。④1視野あたりの血管数と各々の血管の面積の総和を計測(Fig. 4)。⑤1視野の面積を計測し, それに対するおのおの血管面積の総和の比率(%)を算出する。なお1視野あたりの血管数は, 1.65 $\times 10^5 \mu$ m²あたりに換算して算出した。

Fig. 1 Image input with an interference filter (IF436). DAB-positive sites are accentuated.

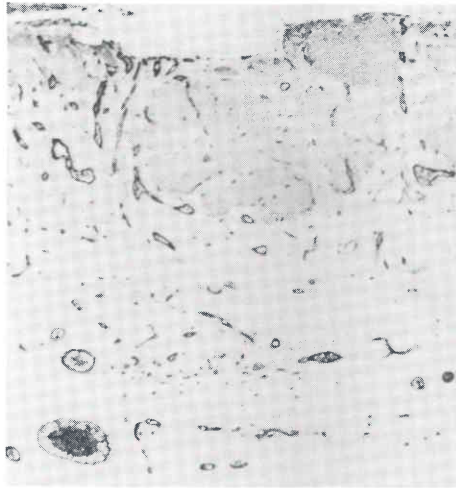


Fig. 2 Two-level segmentation image. DAB-positive sites are extracted.



深達度は食道疾患研究会の臨床病型分類検討委員会案に従い, m_1 : 粘膜上皮内にとどまるか, わずかに基底膜を破るもの, m_2 : 粘膜固有層にとどまるもの, m_3 : 粘膜筋板に接するか浸潤するもの, sm_1 : 粘膜下層の上3分の1まで浸潤するもの, sm_2 : 粘膜下層の中3分の1まで浸潤するもの, sm_3 : 粘膜下層の下3分の1まで浸潤するものとした。

病型, 分化度は臨床・病理食道癌取扱い規約³⁾に従った。2つ以上の病型が混在する場合は, そのうちの主たる病型を採用した。また分化度は角化の程度により

Fig. 3 Image showing only the blood vessels. Blood vessel contours, artifacts, nuclei, and lymphatics were eliminated from Fig. 2, and only the blood vessels are depicted. The vessels have been filled in so as to determine the luminal area.



Fig. 4 The vessels to be measured have been traced on the input image shown in Fig. 1. Each of the vessels is assigned a number starting with "1", and the area of each is measured. The number of blood vessels and the blood vessel area per visual field are then totalled. The letters show a classification of blood vessel diameter.

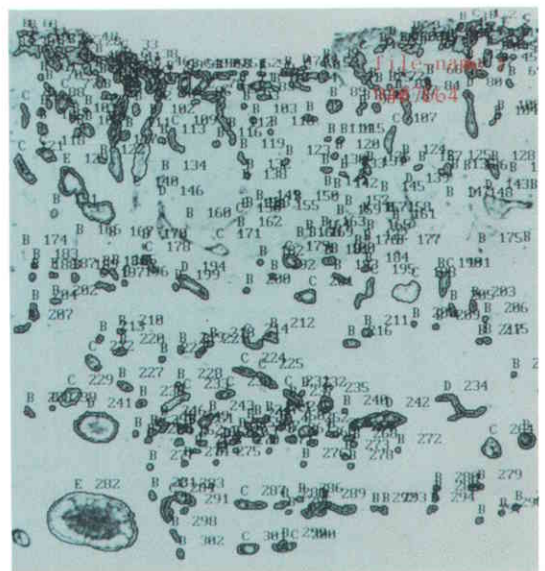


Table 1 Clinicopathologic characteristics in the superficial esophageal cancer

Depth	No.	n		ly		v		Gross classification					Histologic classification			Max. size(cm) (mean±SD)	
		-	+	-	+	-	+	O-I	O-IIa	O-IIb	O-IIc	O-III	wel.	mod.	por.		
m1	4	4	0	4	0	4	0	0	0	3	1	0					1.25±0.53
m2	3	3	0	3	0	3	0	0	2	1	0	0	0	3	0		2.80±1.13
m3	7	6	1	4	3	5	2	0	3	0	4	0	2	5	0		4.41±1.72
sm1	9	6	3	2	7	8	1	1	3	0	5	0	2	6	1		3.56±1.61
sm2	5	3	2	0	5	3	2	4	0	0	1	0	0	3	2		3.96±2.38
sm3	9	4	5	3	6	5	4	6	0	0	0	3	2	5	2		3.64±1.88

wel. : well differentiated squamous cell carcinoma ;
 mod. : moderately differentiated squamous cell carcinoma ;
 por. : poorly differentiated squamous cell carcinoma ;
 Max. : Maximum

*p<0.01

高分化, 中分化, 低分化に分類した。規約に従い m₁ 癌の分化度は検討から除外した。

最大腫瘍径は, 2cm 未満・2cm 以上5cm 未満・5cm 以上の3群に分けて検討した。

血管内皮が褐色に染色されているが, 管腔を形成していない繊維芽細胞様のもので微小血管として同定し計測した。各計測視野は対物レンズ Plan apochromat×20を使用した。使用した顕微鏡は AXIO-PHOT (Carl Zeiss, Germany) で, 画像解析装置への入力用のカメラは CTC-2600 (池上通信) を使用した。

なお, 統計学的検討は Student's t-test, Welch's t-test を用い, p<0.05をもって有意差ありとした。

III. 結 果

1. 臨床病理学的背景因子

37例の深達度別の内訳は, m₁ : 4例, m₂ : 3例, m₃ : 7例, sm₁ : 9例, sm₂ : 5例, sm₃ : 9例であった。各深達度別リンパ節転移率・リンパ管侵襲率・血管侵襲率(それぞれ%)は, m₁, m₂はすべて0%であった。m₃はそれぞれ14.3, 42.9, 28.6, sm₁は33.3, 77.8, 11.1, sm₂は40, 100, 40, sm₃は55.6, 66.7, 44.4であった。病型はO-I : 11例(29.7%), O-IIa : 8例(21.7%), O-IIb : 4例(10.8%), O-IIc : 11例(29.7%), O-III : 3例(8.1%)であった。分化度は高分化6例(18.2%), 中分化22例(66.7%), 低分化5例(15.1%)であった。最大腫瘍径(mean±SDcm)は m₁ : 1.25±0.53, m₂ : 2.80±1.13, m₃ : 4.41±1.72, sm₁ : 3.56±1.61, sm₂ : 3.96±2.38, sm₃ : 3.64±1.88であり, m₁は m₃, sm₁, sm₃に比べて有意に小さかった(p<0.01) (Table 1)。

2. 平均血管面積(%, mean±SD)と臨床病理学的

因子との関係

1) 平均血管面積と深達度との関係

腫瘍内は m₁ : 1.80±1.05, m₂ : 1.57±0.67, m₃ : 6.97±2.45, sm₁ : 7.80±2.32, sm₂ : 6.01±3.11, sm₃ : 5.75±2.00であった。腫瘍内平均血管面積(%)は m₁, m₂が m₃, sm₁, sm₃に比べて有意に小さかった(p<0.01)。m₃, sm₁, sm₂, sm₃の間には有意差は認められなかった。腫瘍外は, 各深達度で有意差は認められなかった。腫瘍内と腫瘍外との差を各深達度ごとに検討してみると m₁, m₂は腫瘍外が腫瘍内に比べて有意に大きく(p<0.05), その他は腫瘍内と腫瘍外で差はなかった。

2) 平均血管面積とリンパ節転移(n), リンパ管侵襲(ly), 血管侵襲(v)との関係

n, ly, vがいずれも認められない m₁, m₂を除く m₃ ~ sm₃, 30例で検討した。

腫瘍内は n, ly, vの有無により有意差は認められなかった。腫瘍外は, n(+): 7.75±4.45, n(-): 6.40±3.21, ly(+): 7.31±3.72, ly(-): 5.93±3.68, v(+): 9.42±4.43, v(-): 5.81±2.81であり, v(+)は v(-)に比べて有意に大きかった(p<0.05)が n, lyでは有意差は認められなかった。腫瘍内と腫瘍外の差を検討すると, n, ly, vの有無にかかわらず腫瘍内と腫瘍外の有意差は認められなかった。

また m₃, sm₁の16症例について同様に検討してみたが, 腫瘍内, 腫瘍外とも同様に n, ly, vの有無により有意差は認められなかった。腫瘍内と腫瘍外の差を検討すると, ly(-)とv(-)の症例は有意に腫瘍内に比べて腫瘍外が小さかった(ly(-): p<0.05, v(-): p<0.01)。その他は腫瘍内と腫瘍外で有意差は認められなかった (Table 2)。

Table 2 Correlation between vessel area (%) and depth, n, ly, v

	No.	Intra-tumor (mean±SD)	Extra-tumor (mean±SD)
Depth			
m1	4	1.80±1.05	5.76±2.50
m2	3	1.57±0.67	7.79±1.75
m3	7	6.97±2.45	6.45±4.36
sm1	9	7.80±2.32	6.61±2.99
sm2	5	6.01±3.11	8.98±4.90
sm3	9	5.75±2.00	6.37±3.32
m3~sm3	30		
n (+)	11	6.12±2.99	7.75±4.45
n (-)	19	7.02±2.06	6.40±3.21
ly (+)	21	6.55±2.71	7.31±3.72
ly (-)	9	7.02±1.71	5.93±3.68
v (+)	9	6.06±2.44	9.42±4.43
v (-)	21	6.96±2.44	5.81±2.81
m3. sm1	16		
n (+)	4	6.84±3.85	8.44±5.29
n (-)	12	7.04±1.79	5.91±2.74
ly (+)	10	7.16±2.87	7.44±3.88
ly (-)	6	7.90±1.05	5.04±2.41
v (+)	3	6.47±4.13	11.63±4.56
v (-)	13	7.66±1.92	5.37±2.01

*p<0.01, **p<0.05

3) 平均血管面積と病型との関係

腫瘍内はO-I : 5.48±2.23, O-IIa : 5.96±3.74, O-IIb : 1.35±0.56, O-IIc : 7.06±2.26, O-III : 7.21±2.64であり、O-IIbはO-IIa, O-IIc, O-Iに比べて有意に小さく(p<0.01), O-IIIとは有意差は認められなかったが小さい傾向が認められた。O-IIa, O-IIc, O-I, O-IIIの間には有意差は認められなかった。腫瘍外は、各病型による有意差は認められなかった。各病型ごとに腫瘍内と腫瘍外の差を検討すると、O-IIbは腫瘍外が腫瘍内に比べて有意に大きかった(p<0.05)が、その他では有意差は認められなかった。

4) 平均血管面積と分化度との関係

腫瘍内、腫瘍外とも同様に各分化度による有意差は認められなかった。各群における腫瘍内と腫瘍外の差の検討でも有意差は認められなかった。

5) 平均血管面積と最大腫瘍径との関係

腫瘍内、腫瘍外とも同様に最大腫瘍径による有意差は認められなかった。各群における腫瘍内と腫瘍外の

Table 3 Correlation between vessel area (%) and Gross classification, Histologic classification, Maximum size

	No.	Intra-tumor (mean±SD)	Extra-tumor (mean±SD)
Gross classification			
O-I	11	5.48±2.23	7.82±4.32
O-IIa	8	5.96±3.74	7.34±4.01
O-IIb	4	1.35±0.56	6.76±2.59
O-IIc	11	7.06±2.26	5.88±2.83
O-III	3	7.21±2.64	5.62±1.13
Histologic classification			
well	6	6.80±2.07	7.55±2.52
moderately	22	6.07±3.16	6.66±3.48
poorly	5	6.22±1.64	7.68±5.29
Maximum size			
2cm>	8	3.70±3.45	6.01±2.27
2≤・<5cm	18	6.10±2.53	6.55±3.05
5cm≤	11	6.66±2.83	7.94±4.63

*p<0.01, **p<0.05

差の検討でも有意差は認められなかった (Table 3)。

3. 平均血管数 (mean±SD) と臨床病理学的因子との関係

1) 平均血管数と深達度との関係

腫瘍内、腫瘍外とも同様に、各深達度による平均血管数の有意な差は認められなかった。深達度別の腫瘍内と腫瘍外の差の検討ではm3とsm1は腫瘍内が腫瘍外に比べて有意に多かった(m3 : p<0.01, sm1 : p<0.05)。その他には有意差は認められなかった。

2) 平均血管数とn, ly, vとの関係

m3~sm3の30症例で検討してみると、腫瘍内、腫瘍外とも同様に、n, ly, vの有無による平均血管数の有意な差は認められなかった。腫瘍内と腫瘍外の差をn, ly, vの有無で検討してみると、n(-) (p<0.01), ly(-) (p<0.05), v(-) (p<0.01), ly(+) (p<0.05)、と有意な差を認めた。その他には有意差は認められなかった。

またm3, sm1の16症例について同様に検討してみたが、腫瘍内、腫瘍外とも同様に、n, ly, vの有無による平均血管数の有意な差は認められなかった。腫瘍内と腫瘍外の差をn, ly, vの有無で検討してみると、n(-) (p<0.01), ly(-) (p<0.01), v(-) (p<0.01)と有意差を認めた。その他には有意差は認められなかった。

以上よりリンパ節転移や脈管侵襲を認めない症例

Table 4 Correlation between vessel count and depth, n, ly, v

	No.	Intra-tumor (mean±SD)	Extra-tumor (mean±SD)
Depth			
m1	4	35.2±16.2	17.4±9.8
m2	3	37.6±13.9	19.2±13.6
m3	7	28.6±11.1	11.8±5.6
sm1	9	46.8±27.2	19.6±19.2
sm2	5	33.4±31.3	27.9±17.3
sm3	9	33.1±22.9	22.8±16.2
m3~sm3	30		
n (+)	11	31.8±27.8	20.7±16.9
n (-)	19	38.7±21.4	19.8±15.7
ly (+)	21	37.1±27.4	20.9±15.7
ly (-)	9	34.0±12.7	18.3±17.0
v (+)	9	31.8±25.9	19.1±10.8
v (-)	21	38.1±23.1	20.6±17.8
m3, sm1	16		
n (+)	4	47.5±37.9	29.8±26.7
n (-)	12	35.9±17.2	11.7±4.7
ly (+)	10	39.1±28.3	18.7±18.7
ly (-)	6	38.4±12.2	12.0±3.5
v (+)	3	36.9±28.3	14.0±6.8
v (-)	13	39.2±23.0	16.7±16.5

*p<0.01, **p<0.05

は、1視野当たりの平均血管数が、腫瘍外が腫瘍内に比べて有意に少ないことが明らかになった (Table 4)。

3) 平均血管数と病型との関係

腫瘍内、腫瘍外とも同様に、各病型と平均血管数との有意な差は認められなかった。また腫瘍内と腫瘍外との差を病型ごとに検討してみると O-IIb, O-IIc では有意に腫瘍内が多く (それぞれ p<0.05, p<0.01), その他には有意差は認められなかった。

4) 平均血管数と分化度との関係

腫瘍内は各分化度で有意差はなかった。腫瘍外は高分化: 11.6±3.6, 中分化: 22.5±17.9, 低分化: 19.4±8.4であり、中分化は高分化に比べて有意に多かった (p<0.05)。その他には有意差は認められなかった。また腫瘍内と腫瘍外との差を分化度別に検討

Table 5 Correlation between vessel count and Gross classification, Histologic classification, Maximum size

	No.	Intra-tumor (mean±SD)	Extra-tumor (mean±SD)
Gross classification			
O-I	11	28.3±23.5	24.2±18.6
O-IIa	8	39.2±30.1	20.3±21.8
O-IIb	4	32.4±13.7	12.7±6.0
O-IIc	11	40.6±12.4	17.0±6.7
O-III	3	46.3±33.0	21.7±8.7
Histologic classification			
well	6	28.7±22.2	11.6±3.6
moderately	22	37.8±22.4	22.5±17.9
poorly	5	38.7±28.5	19.4±8.4
Maximum size			
2cm>	8	25.6±15.7	14.2±7.2
2≤・<5cm	18	39.2±23.7	23.8±17.9
5cm≤	11	38.9±22.4	17.1±12.4

*p<0.01, **p<0.05

してみると中分化は有意に腫瘍内が腫瘍外に比べて多かった (p<0.05)。その他は有意差は認められなかった。

5) 平均血管数と最大腫瘍径との関係

腫瘍内、腫瘍外とも同様に、最大腫瘍径と平均血管数との有意な差は認められなかった。腫瘍内と腫瘍外との差を各群で検討してみると、2cm以上・5cm未満、5cm以上では腫瘍内が腫瘍外に比べて有意に多かった (p<0.05)。2cm未満では有意差はなかった (Table 5)。

IV. 考 察

血管新生とは、通常既存の血管から新しく毛細血管が作られる angiogenesis のことをさし、正常の固体では性周期に応じて変化する卵巣や子宮など特殊な場合でしか観察されない⁴⁾。しかし癌は血管新生を起こすことにより、ある一定の大きさ (1~2mm³) 以上に急速に増殖することが報告され⁵⁾、癌における血管新生の臨床病理学的検討がいろいろと報告されている^{6)~9)}。しかし、食道癌とくにその早期病巣である表在癌について、第VIII因子関連抗原染色を行いコンピューター画像解析装置を用いて血管新生についての臨床病理学的検討を行った報告はこれまで認められない。

今回の検討では第Ⅷ因子関連抗原染色でリンパ管の内皮細胞も染色された。しかし血管内皮細胞に比べて明らかに染色性は弱く鑑別可能であった。斉藤ら¹⁰⁾も、正常リンパ管およびリンパ管腫の管内皮細胞は第Ⅷ因子関連抗原染色で弱陽性反応がえられるが、その陽性度は血管内皮に比較すると明らかに弱いことを報告している。

第Ⅷ因子関連抗原染色で陽性となったものがすべて血管新生を見ているかは、議論のあるところである。しかし今回の検討では、癌周囲の正常扁平上皮には陽性部位はまったく認められず、粘膜固有層以下の部位に認められた。このことから、この粘膜固有層以下の血管から腫瘍内・腫瘍外に血管新生をおこし、それを第Ⅷ因子関連抗原染色で陽性部位としてとらえていると考えられた。

コンピューター画像解析装置は近年、数量、面積、濃度などの多くのパラメーターの定量解析に用いられている。今回、伊東ら¹¹⁾が乳腺疾患に行った画像解析方法を用いて血管の数、面積について検討したが、その他に、最大径、最小径、縦横比、血管径に応じた血管のクラス分けなどの定量解析が可能であり血管新生の評価に有用であった。

血管新生の検討部位に関して、鮫島ら⁹⁾は食道癌症例において、腫瘍内の血管は腫瘍の増殖に伴って伸展、圧迫、破壊などの修飾を受けやすいとの報告¹²⁾から、減少することが多いことを考慮し判定から省き、腫瘍周囲の血管についてのみ検討している。しかし本研究では、 m_3 , sm_1 の癌は腫瘍外に比べて腫瘍内に有意に平均血管数は多く、さらに m_3 , sm_1 癌のly(-)やv(-)の症例では、平均血管面積(%)も腫瘍内に腫瘍外に比べて有意に大きかった。鮫島らの研究は、主にhematoxyline eosine染色(以下、H.E.染色)での検討であり、微小な血管の同定は困難であったと考えられること、また対象となったのが主に筋層以上に浸潤している進行食道癌であったため、本研究と差異が生じたと考えられる。

今回の検討で、1視野あたりの腫瘍内平均血管面積(%)が、 m_1 , m_2 から m_3 に癌が浸潤増殖する過程において有意に増加した。一方、腫瘍外平均血管面積(%)は、深達度で有意差は認められなかった。これにより食道表在癌において、粘膜筋板に達しない m_1 , m_2 から粘膜筋板に接するか、或は浸潤する m_3 に増殖する過程において、腫瘍外血管新生ではなく腫瘍内血管新生が強く関与している可能性を示唆するものと考えられ

た。このように平均血管面積(%)を用いて血管新生について検討した報告は認められない。一方、腫瘍内平均血管数は、深達度で差がなかった。このように血管面積と結果が異なった理由は、本研究では加藤ら⁷⁾の研究と同様に、赤血球が1個だけ含まれているような毛細血管や、内皮が褐色に染色されているが管腔を形成していない線維芽細胞様のものまでも微小血管として同定し、計測したためであると考えられる。この結果より m_1 , m_2 の癌では、まず管腔を形成しないような微小血管新生が腫瘍内に起こり、粘膜筋板に浸潤する m_3 に増殖する過程でそれら微小血管が管腔形成を起こして面積を増していくのではないかと推測された。このような血管新生の過程における管腔形成は比較の後期の現象と報告されている¹³⁾。

食道表在癌の治療法は、近年の内視鏡的粘膜切除術の開発とその進歩¹⁴⁾により、 m_1 , m_2 の癌は内視鏡的粘膜切除術を、 m_3 ~ sm_3 の癌には、頸・胸・腹の3領域リンパ節郭清を伴う開胸・開腹の外科的切除術が原則的には適応となることが報告されている¹²⁾。さらに三富ら¹¹⁾は m_3 , sm_1 の癌のリンパ節転移率はそれぞれ9.1%, 16.7%と低率であり、これらの約80%は内視鏡的粘膜切除術で根治可能である可能性があることを報告している。本研究では、リンパ節転移や脈管侵襲を認めない癌は、腫瘍外が腫瘍内よりも有意に1視野あたりの平均血管数が少なかった。また m_3 , sm_1 に限って検討してみると、リンパ管侵襲や血管侵襲を認めない癌は1視野あたりの平均血管面積(%)も腫瘍外が腫瘍内に比べて有意に小さかった。一方、 m_3 , sm_1 でリンパ節転移や脈管侵襲を認める癌は、腫瘍内、腫瘍外で1視野あたりの平均血管数に有意差は認められなかった。このことから m_3 , sm_1 の癌にまず内視鏡的粘膜切除術を施行し、その腫瘍内と腫瘍外の1視野あたりの平均血管数と平均血管面積(%)を測定することにより、食道表在癌の外科的切除術の適応を決める1つの指標になることが示唆された。このように腫瘍内と腫瘍外の血管数と血管面積を比較して、臨床病理学的因子との関係を検討した報告は認められない。

加藤ら⁷⁾は乳癌症例における第Ⅷ因子関連抗原染色を用いた検討で最大微小血管数とリンパ節転移との相関関係は認められず、血管侵襲および組織学的波及度との間にのみ有意な相関関係があったと報告している。またSamejimaら⁹⁾は乳癌症例におけるH.E.染色での検討で、腫瘍周囲血管数とリンパ節転移、リンパ管侵襲、血管侵襲との相関関係は認められないと報告

している。一方、Weidnerら⁹⁾は、乳癌症例に対して第VIII因子関連抗原染色を行い、微小血管数の最も多いところを計測し、微小血管数とリンパ管転移との間に、有意な相関関係があると報告している。また鮫島ら⁶⁾は、食道癌症例で腫瘍周囲の血管増生とリンパ節転移およびリンパ管侵襲との関係は、外膜浸潤を認めるa₁以上では血管増生陽性例は陰性例に比べていずれも有意に高率であったが、外膜浸潤を認めないa₀例では相関関係は認められず、血管増生と血管侵襲との相関関係は深達度に関係なく認められなかったと報告している。

血管新生とリンパ節転移との関係について、中山ら¹⁵⁾は、増大した腫瘍の辺縁では、腫瘍細胞とリンパ管の直接的な接触が増え、さらに血管内の腫瘍細胞がリンパ系へ移行するために必要な血管リンパ管接合部の数が増加することにより、腫瘍血管新生はリンパ系への転移も助長していると報告している。腫瘍内間質には一般にリンパ管はない¹⁶⁾ため、腫瘍外での血管新生がリンパ系への転移と関係していると考えられた。

血管新生と腫瘍の大きさとの関係については、Samejimaら⁸⁾は、乳癌において腫瘍周囲血管数と腫瘍径との相関関係はなく、乳癌においては増殖速度は腫瘍径に関係なく一定である可能性があることを示唆している。またKusamaら¹⁷⁾は、乳癌症例においてdoubling timeは腫瘍径やリンパ節転移に関連しないということを報告している。今回の研究でも、平均血管数と平均血管面積(%)は、腫瘍内、腫瘍外ともに最大腫瘍径と相関関係を認めなかったことから、食道表在癌においても、増殖速度は腫瘍の大きさに関連がない可能性が示唆された。

今回食道表在癌の血管新生の状態と臨床病理学的因子との関係を検討し、腫瘍内、腫瘍外の平均血管数と平均血管面積(%)の比較検討が食道表在癌のリンパ節転移やリンパ管侵襲、血管侵襲の有無の1つの指標になることが示唆された。そして食道表在癌の外科的手術を決定する際に、computed tomography, endoscopic ultrasonographyなどで明らかな転移の認められない症例において、内視鏡的粘膜切除術で安全に切除できる深達度sm₁までの症例には、まず内視鏡的粘膜切除を施行し腫瘍内、腫瘍外の平均血管数と平均血管面積(%)を調べることが、内視鏡的粘膜切除後の追加治療の要非を決定するうえで有用である可能性が示唆された。

稿を終えるにあたりコンピューター画像解析方法につい

て直接御指導を頂いた本学共同利用研究室細胞生物伊東丈夫博士に深謝いたします。また免疫組織染色に御協力頂いた本学第2外科学教室田中真紀子嬢に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 三富利夫, 水谷郷一, 幕内博康: 遠隔成績からみた食道表在癌の治療方針. 消外 17: 1299-1304, 1994
- 2) 磯野可一, 神津照雄, 小出義雄ほか: 臨床病理からみた食道表在癌の治療方針. 消外 17: 1305-1309, 1994
- 3) 食道疾患研究会編: 臨床・病理食道癌取扱い規約, 第8版. 金原出版, 東京, 1992
- 4) 神田 滋, 宮園浩平: 血管新生の生物学. 実験医 13: 115-118, 1995
- 5) Folkman J, Klagsbrun M: Angiogenic factors. Science 235: 442-447, 1987
- 6) 鮫島夏樹, 池田康一郎, 平田 哲ほか: 食道癌の腫瘍周囲血管増生. 癌の臨 31: 1673-1680, 1985
- 7) 加藤孝男, 木村恒人, 村木 博ほか: 乳癌の血管新生についての臨床病理学的検討. 日外会誌 96: 709-717, 1995
- 8) Samejima N, Yamazaki K: A study on the vascular proliferation in tissues around the tumor in breast cancer. Jpn J Surg 18: 235-242, 1988
- 9) Weidner N, Semple JP, Welch WR et al: Tumor angiogenesis and metastasis-correlation in invasive breast carcinoma. N Engl J Med 324: 1-8, 1991
- 10) 斉藤 脩, 笠原健弘, 三田村美紀子: 第八因子関連抗原(F VIII R: Ag)の病理診断への応用とその問題点. 臨検 28: 1011-1018, 1984
- 11) 伊東丈夫, 長村義之, 渡辺慶一ほか: 人乳腺腫瘍の免疫組織化学標本における血管増生のコンピューター画像定量解析. 日医写真会誌 30: 117-122, 1992
- 12) Rubin P, Casarett G: Microcirculation of tumors. Part I: anatomy, function, and necrosis. Clin Radiol 17: 220-229, 1966
- 13) 井藤英喜: 血管新生機序. 室田誠逸編. 現代化学増刊16, 血管細胞の培養法とその応用. 東京化学同人, 東京, 1989, p13-20
- 14) Makuuchi H, Machimura T, Mizutani K et al: Endoscopic mucosal resection for early carcinomas of the esophagus. Recent advances in management of digestive cancers. Springer-Verlag, Tokyo, 1993, p94-97
- 15) 中山善文, 後 信, 小野真弓ほか: 血管新生と癌転移. Mol Med 32: 406-413, 1995
- 16) Blood CH, Zetter BR: Tumor interactions

with the vasculature: angiogenesis and tumor metastasis. *Biochim Biophys Acta* 1032 : 89–118, 1990

17) Kusama S, Spratt JS, Donegan WL et al: The gross rates of growth of human mammary carcinoma. *Cancer* 30 : 594–599, 1972

A Clinicopathological Study of Angiogenesis in Superficial Esophageal Cancer

Kyoichi Mizutani, Hiroyasu Makuuchi, Toshio Mitomi and Yoshiyuki Osamura*
Second Department of Surgery and *Department of Pathology,
Tokai University School of Medicine

We performed factor VIII-related antigen staining of 37 resected superficial esophageal squamous cell carcinomas in order to determine the relationship between angiogenesis and clinicopathological factors. A computer image analysis system was used to measure microvessels inside the tumor (intratumor) and in the normal tissue around the tumor (extratumor) in 3 visual fields from each stained specimen. The mean number of blood vessels and mean blood vessel surface area (%) per visual field were calculated, and then compared with each of the clinicopathological factors. The mean intratumor blood vessel surface area (%) was significantly smaller in m1 and m2 lesions than in the other lesions (m3-sm3). No differences in mean extratumor blood vessel surface area (%) were found in relation to depth of invasion. The mean number of extratumor blood vessels was significantly ($p < 0.01$) lower than the mean number of intratumor blood vessels in m3 and sm1 patients without lymph node metastases (n) or vascular invasion (ly, v). Thus, intratumor angiogenesis appears to contribute to the process by which superficial esophageal cancer grows from m1/m2 to m3. These results also suggest that determining the mean number of intratumor and extratumor blood vessels may be useful when deciding on the suitability of endoscopic mucosal resection.

Reprint requests: Kyoichi Mizutani Second Department of Surgery, Tokai University School of Medicine
Bohseidai, Isehara, 259-11 JAPAN
