

学位論文題名

胆道癌の進展様式

—微小脈管浸潤と神経浸潤—

学位論文内容の要旨

I. 目的

胆道癌の局所進展は浸潤性進展とリンパ管、静脈、神経などへの微小浸潤に分けられる。手術の根治性を得るには局所進展、とくに脈管、神経などへの微小浸潤の進展様式の理解が重要である。しかし、リンパ管浸潤、静脈浸潤、神経浸潤の相互関係、臨床的意義についての基礎的検討は十分にはされていない。このような観点より、本研究では胆道系の血管、リンパ管、神経構造を実験的に検討し、これらと臨床における局所微小浸潤の形態と比較検討し、微小転移の成立過程と、相互関係、臨床的意義について検討した。

II. 対象と方法

1. 臨床例の検討：胆管癌84例、胆嚢癌86例の切除標本を用い、壁深達度と、リンパ管浸潤、静脈浸潤、神経浸潤の出現頻度、相互関係を検討した。また、神経分布、微小神経浸潤の形態についてneurofilament protein、s-100 protein、また、血管分布、血管と神経の関連性はFactor VIIIを、腫瘍細胞はPCNA抗体を用いて行った。

2. 実験的検討：体重8～11Kgの雑種成犬を用い、静脈内麻酔下で開腹し、以下の実験を行った。リンパ系は肝十二指腸間膜下部リンパ路を結紮切離したリンパうっ滞群と正常群について、肝十二指腸間膜漿膜下層、胆嚢漿膜下層に india inkを注入し、観察した。血管構築は大動脈を腹腔動脈前後で結紮し、これにcanulationを行い、ヘパリン加生食灌流後、水溶性青色樹脂系色素を注入して検討した。100 $\mu$ m切片を作成し光学顕微鏡にて観察した。さらに1mm切片を脱パラフィン後、実体顕微鏡にてリンパ系、神経構造を観察した。神経構築の検索では10 $\mu$ m切片をHormes法による鍍銀染色を行い観察した。

III. 結果

1. 臨床例切除標本からみた胆道系構築

1) 神経構造：肝十二指腸間膜漿膜下層漿膜下層の神経基本構造は神経周膜、周囲腔、神経束からなり、神経周膜は、数層の膠原線維の膜で構成されていた。総胆管ではこの神経の基本構造は筋層の神経まで観察でき、それぞれに血管が分布していたが、線維筋層の粘膜に近い部分ではこの構造は観察できず、神経束のみ観察された。また、この部では線神経構造内に血管は認めず、血管が神経周膜周囲に隣接するのみであった。さらに粘膜層に接する部分の神経はS100、Neuro-filament protein等による神経染色でのみ観察された。

2) リンパ系：リンパうっ滞例ではリンパ管拡張が漿膜下層、筋層に観察された。さらに周膜層の離開、周囲腔拡大を認め、この拡大した周囲腔内や離開した周膜間にリンパ球充満像や好中球が存在する像が観察された。

## 2. 実験でみられた胆道の血管、リンパ管、神経構築

1) 血管系：胆管には総胆管線維筋層外縁を長軸方向に走行する血管があり、この血管と肝動脈の間に粗な血管網が存在した。この血管は線維筋層を貫き、粘膜層の毛細血管網へと移行していた。神経内では、漿膜下層血管網より神経周膜内を走行した後に周囲腔を貫き神経束に入り、他の部位からの血管と合流していた。また、肝動脈や太い動脈では神経へ直接血管が分枝していた。胆嚢では胆嚢動脈からの血管は漿膜下層を走行した後に固有筋層外縁を囲むように分布した後に筋層を貫き、粘膜血管網へと移行した。

2) 神経系：イヌの神経は肝動脈周囲より分枝した。胆嚢では胆嚢動脈とともに胆嚢枝が胆嚢に分枝した。胆嚢、胆管ともに漿膜下層では周膜、周囲腔、神経束を認め、それぞれに血管が分布していた。線維筋層内の神経は鍍銀染色により確認できるが血管を認めなかった。粘膜層では細い神経線維のみ観察された。さらにうっ滞群で神経周囲腔拡張、周膜各層の離開が観察できたが神経にリンパ管と同定できるものは認めなかった。

3) リンパ系：リンパうっ滞作成犬の肝十二指腸間膜を実体顕微鏡で観察すると胆道系のリンパ管は漿膜下層で発達し、リンパ管網を形成していた。非リンパうっ滞群で胆嚢漿膜下層に india ink を注入すると、局所リンパ管に入り、漿膜下層のリンパ管に合流し胆嚢管へ流れた後、門脈に沿って肝十二指腸下部へと流れた。正常群、うっ滞群で神経への ink の流入はなかった。リンパうっ滞群では肝門部リンパ管への ink の流入を認めた。うっ滞群では神経周囲のリンパ管は拡張し、この部への ink の流入を認めた。

## 4. 臨床における微小転移の特徴

a) 壁深達度と微小転移：胆管癌で、リンパ管浸潤は fm 癌でも 43% と高率に認められたが、静脈浸潤、神経浸潤は深達度が外膜以上で発生した。とくに ss 癌以上では微小転移の発生は高率であった。胆嚢癌では深達度 pm 以内では、3 因子ともに認めず、fm でもリンパ管浸潤を認めた胆管癌とは異なったが、ss 以上では 3 因子ともに高率であった。

2) 局所微小浸潤の相互関連：胆管癌ではリンパ管浸潤と神経浸潤、リンパ管浸潤と静脈浸潤の間には有意に関連性が認められたが、神経浸潤と静脈浸潤の間に関連は認めなかった。胆嚢癌では因子間の全てに有意に関連性を認めた。

## 5. 臨床例での神経浸潤の形態的特徴

s-100 protein 抗体を用い、粘膜層直下結合織内で、神経末梢での直接浸潤を認めた。線維筋層の粘膜層に近い部分では周膜内に腫瘍が局限する浸潤形式が多く、この部分の神経内血管分布と一致した。この他に神経内の血管内に腫瘍細胞を認める例、拡張したリンパ管から神経内へ腫瘍細胞が進展する所見、周膜最外層に接するリンパ管内に腫瘍細胞を認める所見など認め、リンパ行性にも神経浸潤が形成されることが判明した。

## IV. 考 察

胆道癌のリンパ管浸潤、静脈浸潤、神経浸潤の発現頻度は壁深達度と関連し、さらに相互の発生頻度に関連性があった。しかし、胆管と胆嚢ではこれら 3 因子の頻度が異なることが判明した。この点から局所進展因子発現には解剖学的なリンパ管、神経、血管などの相互の局所微細構造が関係すると考えた。実験的にはリンパ系と神経には直接の連絡はないが、リンパうっ滞でリンパ管拡張とともに周膜離開、周囲腔拡大などが観察され、従来より報告されてきた周囲の組織とリンパ管との体液の交通（脈管外通路）の概念が重要な要素と考える。また、神経と血管では胆嚢、胆管漿膜下層の血管網と神経内の血管の間に吻合が存在し、臨床例での神経浸潤の腫瘍局在が血管分布と近似していることから神経への血行性転移によって発生する神経浸潤が存在すると考える。リンパ管浸潤、静脈浸潤、神経浸潤の出現頻度に関連性は胆嚢と胆管では異なる。つまり、胆嚢癌ではこれら因子相互の頻度に関連性を認めるのに対し、胆管癌では静脈浸潤と神経浸潤の間は関連を認めなかった。この理由として胆管癌進展の主体はリンパ管浸潤であり、静脈浸潤、神経浸潤はリンパ管浸潤に引き続き出

現するためと考えられた。神経浸潤にはその臨床形態から直接神経に浸潤したものと、リンパ管、静脈を介して発生したものがあり、その発生機序が多岐にわたるためであり、特に出現頻度の低い静脈浸潤とは関連しないと考えられた。

#### V. おわりに

胆道系手術の根治度を向上させるには局所因子の解析結果に基づいた手術をすることと  
考えられる。しかし、局所転移の成立、進展には不明な点がまだまだ少なく、今後、さら  
なる基礎的検討が必要と考えられる。

# 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 内 野 純 一  
副 査 教 授 加 藤 絃 之  
副 査 教 授 阿 部 和 厚

学 位 論 文 題 名

## 胆道癌の進展様式

### — 微小脈管浸潤と神経浸潤 —

胆道癌の局所進展様式として胆道癌取り扱い規約で規定される微小浸潤にはリンパ管浸潤、静脈浸潤、神経浸潤がある。胆道癌手術の根治性には、まず局所根治性、ついでリンパ節転移などの遠隔転移の根治性を追求することが重要である。これら微小浸潤は胆道癌では主腫瘍より離れた部に出現することがあり、これが腫瘍遺残となり、再発の一因となる。このような微小浸潤は局所の根治性に重要な要素である。本研究の目的は胆道癌の微小浸潤の成立機序と微小浸潤相互の関連性を明らかにすることにある。

臨床例の検討には胆管癌84例、胆嚢癌86例、計 170例の切除標本を用い、腫瘍壁深達度とリンパ管浸潤、静脈浸潤、神経浸潤発現の関係、微小浸潤相互の関連性、神経浸潤の形態を検討した。実験形態学的検討には雑種成犬 8 頭を用いた。リンパ系の検討には INDIA INK を胆嚢、肝十二指腸間膜の漿膜下層に注入する間接法を用い、正常群と肝十二指腸間膜下部を結紮したうっ滞群を比較した。血管系は腹腔動脈前後で大動脈を結紮後、大動脈、門脈より色素を注入、実体顕微鏡にて観察した。神経系は鍍銀染色によって観察した。

まず臨床症例の検討では 1)腫瘍壁深達度と微小浸潤出現頻度：胆嚢癌、胆管癌ともに壁深達度が深いほど微小浸潤の出現頻度は高かった。2)神経浸潤と微小脈管浸潤との関連性：胆嚢癌では神経浸潤の発現と静脈浸潤、リンパ管浸潤ともにその発現に関連性を認めたが胆管癌ではリンパ管浸潤と神経浸潤の間に関連性を認めたが静脈浸潤と神経浸潤の間に有為な関係は認めなかった。3)リンパ系と神経との関連性：リンパうっ滞例での神経の形態変化には周膜の離開、周囲腔拡大を認めた。さらに離開した周膜内にリンパ球浸潤を伴う場合があった。4)神経浸潤の基本形態：s-100 protein染色で腫瘍細胞が神経線維束に接した神経への直接浸潤所見、さらに神経内の血管に腫瘍塞栓を認める血行性転移の所見がみられた。さらに神経浸潤の基本形態を、周膜内に腫瘍が存在する周膜型、周囲腔内に腫瘍が進展する周囲腔型、さらに神経線維束内に腫瘍が存在する神経束型、周囲より神経に腫瘍浸潤を認める浸潤型の 4 型に分類することができた。

実験形態学的検討では 1)肝十二指腸間膜の神経分布：肝十二指腸間膜には神経が豊富に存在し、とくに肝門部では神経叢を形成していた。2)胆道系のリンパ管分布の検討：リンパうっ滞では肝十二指腸間膜のリンパ管は、拡張し、網の目状に分布する状態を示した。このリンパうっ滞状態の神経では臨床例切除標本と同様に周囲腔拡大、周膜離開の所見が観察さ

れた。3)リンパ系と神経の交通：胆嚢漿膜下層、肝十二指腸間膜漿膜下層にINDIA INKを注入する間接法でリンパ管と神経の関係を観察すると INKは組織間隙よりリンパ管内に流入した後、リンパ管内を所属リンパ節へと流れたが、神経周囲腔内には流入せず、さらに神経内にリンパ管も認めなかった。4)神経と血管の関係：鍍銀法にて神経基本構造を検討すると神経は周膜、周囲腔、神経束によって構成され、周膜は数層の膠原線維膜で形成されていた。それぞれに血管が分布してたがリンパ管は認めなかった。これら神経の血管と胆道系の血管の関係を血管内に色素を注入すると肝十二指腸間膜、胆嚢内の血管は周膜を貫き、周膜内を走行した後に神経内の血管と交通していた。

以上の結果から 1. 胆道癌の微小浸潤は壁深達度に相関し、相互に関連性を持ち、その発現には胆道系の解剖学的、機能的な構築が関与する。

2. 神経浸潤形態の基本分類より神経浸潤はいくつかの成立機序があると推測した。

3. リンパ管浸潤と神経浸潤の発現に関連性を認めた。両者にリンパ管を介した直接の交通を認めないが、リンパうっ滞状態で周膜離開、周囲腔拡大を認め、神経とリンパ系には管腔を介さない体液交通があり、これを介しての腫瘍進展が神経浸潤成立の1因と考えた。

4. 胆道系の神経と血管の関連性については神経の血管と肝十二指腸間膜の血管の間には豊富な交通を認め、臨床例において神経内の血管に腫瘍塞栓を認めたことより神経浸潤には血行性転移によって成立する様式も存在すると考えた。

5. 胆道癌微小浸潤の成立機序は、まず、腫瘍より直接神経に浸潤する場合には浸潤型神経浸潤となる。ついで血管内に進展した場合、静脈浸潤となり、さらに血管内を神経に進展、着床すると、その着床部位によって周膜型、周囲腔型、神経束型神経浸潤となる。組織間液に腫瘍が進展する場合、リンパ管に入った腫瘍は、リンパ管浸潤となる。神経周囲にはリンパ管が豊富に存在するため、この部のリンパ管に着床進展した腫瘍は神経へ浸潤して行く。また、組織間液に進展した腫瘍の一部はリンパ管を介さない神経との体液の交通によって周膜間、周囲腔内へ進展し、それぞれ周膜型、周囲腔型神経浸潤となることが考察された。

審査にあたって、加藤教授より組織構築と癌着床の関係、神経浸潤様式と癌の進行度との関係、組織液を介さない体液交換の概念、組織うっ滞と微小浸潤緒関連について、阿部教授より脈管外通液路の流れについて、さらに胆嚢癌と胆管癌での微小浸潤発現の違いと解剖構築との関係について、第二病理 藤岡助教授より微小浸潤と遠隔転移の関係、神経浸潤基本形滞の分類についてなどに関し、質疑があったが申請者は概ね妥当な回答を行った。

本研究では臨床標本、実験形態学的に胆道癌の微小浸潤の成立、関連性を検討した。微小浸潤は固形癌において腫瘍進展の性質を知る重要な要素であり、これらの進展について臨床面と実験形態学両面から総合的に検討を加え、多くの興味ある知見を与えたことで意義深い。審査員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、申請者が博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。