

論文の内容の要旨

氏名：鈴木 隆

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

論文題名：イヌの悪性間葉系腫瘍に関する病理学的研究

序論

近年、イヌ、ネコの高齢化に伴い腫瘍性疾患に遭遇する機会が増加している。その中でイヌの悪性間葉系腫瘍である血管肉腫、血管周皮腫は組織形態学的、生物学的性状に大きな差異が知られている。血管内皮細胞への分化を示す骨髄多能性幹細胞由来と考えられている血管肉腫、血管周囲で渦巻き状に増殖する由来細胞が未確定の血管周皮腫などその構築に血管が関わっていることのみ一致した悪性腫瘍で、臨床、治療や予後で大きな問題になる。

そこで本研究では、イヌで多発するこれらの腫瘍を組織学的および免疫組織化学的手法を用いて、それぞれの腫瘍の病理学的特徴を明らかにするとともに血管肉腫の治験例および血管周皮腫の病理組織学的分類に関して検討した。

第1章 イヌの血管肉腫の病理学的検索および治験例

1-1 イヌの血管肉腫の病理組織学的および免疫組織化学的検索

イヌの血管肉腫は骨髄由来で血管内皮への分化能を有する悪性腫瘍で、一般的にイヌに好発し、全腫瘍の2%にみられると報告されている。好発部位は脾臓、骨、右心房で、皮膚、肝臓などでも認められ、非常に進行が速く、急速に浸潤、転移する。本研究ではイヌの血管肉腫43症例について病理組織学的および免疫組織化学的に特徴づけることを目的とした。免疫組織化学では従来のイヌの血管肉腫に用いられる抗vWF抗体、抗CD31抗体に加え、抗Claudin-5抗体および抗Endothelin-1抗体、また細胞増殖マーカーである抗PCNA抗体を用いて免疫組織化学的検討を行った。

検索の結果、抗vWF抗体は血管内皮由来の腫瘍細胞の検出に有用であるが、現在推奨されている抗CD31抗体は反応性が不安定であり、市販抗体の選択や技術的に改善の余地が示された。さらに高い反応性ではないが、抗Claudin-5抗体も補助的なマーカーとして有用であることが証明された。また抗PCNA抗体は全症例で陽性反応を示したことより、増殖活性の指標として有用であることを発見した。

1-2 イヌの血管肉腫の分化度における病理組織学的および免疫組織化学的所見の関連性に関する検討

イヌにおいて血管肉腫は転移性、浸潤性の高い悪性腫瘍として組織学的グレード分類は考慮しないのが一般的である。しかしながら積極的な対処あるいは治療報告において予後の変化すなわち生物学的性状の相違が示唆されている。これらを踏まえ本研究では血管肉腫において組織形態学的、免疫組織化学的に差異が認められるか、またそれらに相関性が存在するか検索した。血管肉腫と診断された32症例を形態学的特徴や腫瘍細胞の増殖、核の異型性を評価し、さらに免疫組織化学的に抗vWF抗体および抗CD31抗体の発現との関連性を検討した。

HE染色における組織学的所見の評価は、高分化は37.5%、中程度の分化は37.5%、低分化は25%であることから、組織形態学的差異が存在し、中程度から低分化である血管肉腫が半分以上を占めることがわかった。免疫組織化学的には抗vWF抗体でスコア0が12.5%、スコア1が28.1%、スコア2が28.1%、スコア3が21.9%、また判定不可が9.4%であった。腫瘍の分化度と、vWFの発現強度に明らかな関連性は認められなかった。抗CD31抗体において評価はスコア0が53.1%、スコア1が28.1%、スコア2が9.4%、スコア3が9.4%であった。腫瘍の分化度と、CD31の発現強度には関連性が認められ、分化度の高いものほどCD31の発現は認められず、分化度の低いものほどCD31の発現が顕著に認められた。

本研究においてイヌの血管肉腫において組織形態学的な差異が存在することを示した。しかしながら、抗 vWF 抗体の反応性と形態との関連性は認められなかった。また CD31 の発現性の（半定量的）差が明らかになり、イヌの血管肉腫の生物学的性状を特徴付ける上で重要な発見であった。

1-3 イヌの血管肉腫における塩酸ドキシソルピシンの治験例

イヌの脾臓に発生する血管肉腫は自壊や転移の有無によりステージ分類されている。ステージが I から III と臨床上的悪性度が高くなり、ステージ III では VAC (ビンクリスチン・アドリアマイシン・サイクロフォスファミド) を用いた多剤併用化学療法はすべて無効であったとする報告と有効性を示唆する報告がある。本研究ではステージ分類を加味した血管肉腫 6 症例に対し、外科単独処置と外科および化学療法併用を併用した例の生存日数を比較した。

結果として、外科手術単独の症例 3 例に比べ外科手術に化学療法を併用した 3 症例は生存日数が長く、さらにステージ III の症例でも、外科手術後に塩酸ドキシソルピシンの化学療法を併用した症例において、外科単独症例と比較し、生存日数の延長が認められた。本研究は 6 症例で、統計学的有意差を考慮するには少ないが、ステージが進んだ症例においても化学療法の有益性が示唆された貴重な結果である。今後、さらに症例数を増やし検討すべきであると考えられた。

第 2 章 イヌの血管周皮腫の病理学的検索

2-1 イヌの血管周皮腫の病理組織学および免疫組織化学的検索

イヌの血管周皮腫は血管周皮細胞由来とされているが、組織発生はいまだに明らかにされていない。血管周皮腫は大型犬の成犬から高齢犬に多く認められ、好発部位は四肢の関節部、胸壁と考えられている。血管周皮腫の典型的な組織学的特徴は指紋様の増殖パターンで、血管を中心に同心円状に取り囲んだ紡錘形細胞の層から構成される。本研究は犬の血管周皮腫を病理組織学および免疫組織学的に特徴づけるため、血管周皮腫様構築を示す間葉系腫瘍で血管周皮腫と組織学的に診断された 15 症例において組織学的構築の特徴付けと分類、さらに間葉系マーカーである抗 Vimentin 抗体、筋系マーカーである抗 Calponin 抗体、抗 Desmin 抗体、抗 α -SMA 抗体、神経系マーカーである抗 S100 抗体を用いて免疫組織化学的検索を行った。腫瘍は体幹部 67%、四肢 33% で認められ、組織学的構築は花むしろ型 53%、血管周囲性渦状型 27%、混合型 20% であった。Vimentin 抗体以外の反応性は認められず、Avalone ら (2007) の報告の血管線維腫 (Angiofibroma) に相当すると考えられた。この研究により血管周皮腫は線維系腫瘍の特徴を示すものが多いことが示された。

2-2 再発したイヌの血管周皮腫の病理組織学および免疫組織化学的検索

血管周皮腫は転移することは稀だが再発率は高く、繰り返しの再発することで転移能を獲得することが報告されている。原発腫瘍では細胞の異型性は認められず、増殖活性も低いが、再発を重ねることで細胞異型度が増加する傾向があると考えられている。

本研究は再発した 3 症例における原発および再発組織を病理組織学的そして免疫組織化学的に比較検討した。検索の結果、1 症例のみ原発と再発で組織学的パターンが異なったが、2 症例は同じ花むしろ状の構築を示した。原発の組織像は核が濃縮されクロマチンが濃く、小型で円形から楕円形を示すものが多く、また血管構築を示していたが、再発症例は細胞密度が増加し、核の大小不同、核小体の大型化や複数化が認められ、血管構築数は減少していた。免疫組織化学的には原発および再発腫瘍ともにビメンチンにのみ陽性を示した。本研究より再発腫瘍は細胞形態学的に悪性度が増加しており、外科的切除におけるマージン部位の設定の重要性が示された。また免疫組織化学的には発現の差異が認められなかったことより、退形成にともない細胞性状が変化しないことを発見した。

2-3 ヒトの古典的血管周皮腫に類似するイヌの間葉系腫瘍の病理学的検索

獣医領域では Avalone ら (2007) が組織学的そして免疫組織化学的特徴をもとに、筋系の血管平滑筋腫、

筋周皮細胞腫、線維系の血管線維腫、血管筋線維芽細胞腫そして血管周皮腫に細分類できることを示唆した。この報告は成書にも記載され、血管周皮腫の項目には同義語として Myopericytoma や Perivascular wall tumor と併記されている。しかしながらイヌの血管周皮腫という診断名は存続されており、いまだ分類学的位置付けは不明瞭とされている。今回、イヌのボーダーコリーで組織学的所見は Staghorn pattern や胎盤様構造など、ヒトの古典的な血管周皮腫と同様な構築を示す腫瘍に遭遇したので、組織形態学および免疫組織化学的に検索し、獣医領域の既存の血管周皮腫と比較検討した。

組織学的所見は豊富な膠原線維をとめない好酸性の細胞質を持つ紡錘形細胞が豊富な線維性間質をとめない疎に増殖していた。線維の走行に規則性は認められないが、胎盤状の構築を示す部位や血管が鹿角状構造を形成する部位、間質粘液が多量に存在する粘液腫様増殖が混在していた。免疫組織化学染色では、抗 Cytokeratin AE1/3 抗体、抗 Desmin 抗体、抗 α -SMA 抗体、抗 Calponin 抗体が陰性、抗 Vimentin 抗体、抗 CD34 抗体、抗 c-kit 抗体で細胞質が陽性を示した。

Avallone らの分類を参考にすると本症例は組織学的特徴から血管周皮腫に診断された。ヒトにおいて血管周皮腫と孤立性線維性腫瘍は共通の遺伝子異常 (NAB2-STAT6 遺伝子融合) を有する一連の腫瘍群という考え方が主流になっている。孤立性線維性腫瘍スペクトラムのなかの線維型と細胞型が移行しあうことで複雑な組織像を呈すると考えられ、未分化な多能性幹細胞のマーカーである CD34 の発現強度が組織形態に関わることが示されている。本症例も形態学的類似性に加え CD34 反応性も一致しており、ヒトの旧名の血管周皮腫すなわち孤立性線維性腫瘍の細胞型に分類された。獣医領域の Avallone らの分類では血管周皮腫に診断されるが、獣医腫瘍分類でも孤立性線維性腫瘍として再分類すべきと考えられた。

本研究では小動物臨床でしばしば遭遇する悪性間葉系腫瘍の血管肉腫、血管周皮腫に関して病理組織学および免疫組織化学的手法を用いて、その特徴を明らかにしたものである。本研究で明らかにしたとおり、その組織形態学的特徴、生物学的性状はそれぞれの腫瘍で特異的であり、病理学的特徴・性質を獣医師は十分に理解して対応すべきことが示された。これらの新知見は獣医学領域において診断、治療に大いに寄与するものと考えられる。