

課題番号 18

## 癌関連静脈血栓塞栓症の病理と病態

### [1] 組織

代表者：山下 篤

(宮崎大学医学部病理学講座)

対応者：堀内 久徳

(東北大学加齢医学研究所)

分担者：

魏 峻光 (宮崎大学医学部病理学講座)

研究費：物件費 20 万 0 千円，旅費 0 千円

### [2] 研究経過

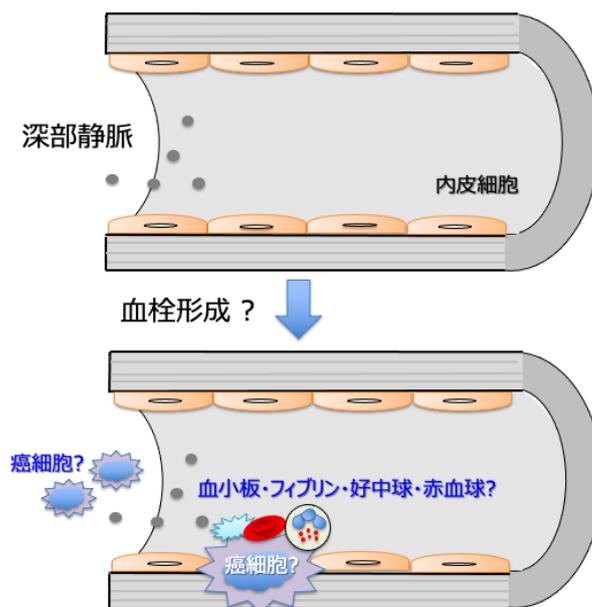
悪性腫瘍を有する症例（担癌症例）においては、血栓傾向になることが知られており、癌関連血栓症として概念化されている。担癌症例の 4-20% に静脈血栓塞栓症が発症するとされ、発症 1 年後の生存率は 50% と極めて不良である。このため癌関連血栓症の発症機序の解明は喫緊の課題となっている。

癌関連血栓症の発症機序に関して、多くの癌種において血液凝固の開始因子である組織因子の発現が報告され、易血栓性状態であることが示されている。また、これまでの培養細胞や動物モデルを用いた基礎研究から、悪性腫瘍の原発巣によって静脈血栓塞栓症の血栓形成機序や発症リスクが異なることが示唆され、癌組織由来のサイトカイン、微小小胞、好中球細胞外トラップなど、様々な因子の関与が推定されている。しかし、癌関連血栓症の血栓形成部位で、癌細胞の直接的関与を証明した病理学的報告はない。

申請者らはこれまでに静脈血栓塞栓症の剖検例の血栓形成、静脈血栓の経過時間に伴う組成変化、新鮮血栓の検出に有用な非侵襲的な画像診断技術の開発などを報告してきた。また婦人科癌を用いた検討で組織因子や血小板活性化作用を持つポドプラニンの発現の程度が組織型により異なること、浸潤リンパ球数が血栓症発症に関連することから、癌関連血栓症の発症リスクを原発巣で予測しうる可能性が示唆された。

本共同研究では、近年ますますその重要性を増している癌関連静脈血栓や肺血栓塞栓の病理を明らかにすることを目的として病理学的研究及びモデル動

物を用いた基礎研究を行った。



以下、研究活動状況の概要を記す。

昨年度に、癌関連静脈血栓および肺血栓塞栓の 27% に癌細胞が存在すること、その癌細胞が静脈周囲から浸潤し静脈内腔に至っていること、血栓内に小集簇巣として混在すること、組織因子、ポドプラニン、組織プラスミノゲン活性化因子などの血栓性因子を発現すること等を報告した。

本年度は、癌細胞に観察された壊死所見と血栓成分の関連、担癌解剖症例 (114 例) と非担癌解剖症例 66 例) の静脈血栓と肺血栓塞栓の病理所見を比較した。また、隣癌細胞株とモデル動物を用いて、静脈血栓に癌細胞が存在しうるか、血栓形成に影響するかを検討した。

なお、本共同研究を行うにあたり、2 ヶ月に一度、計 6 回の Web 会議を継続した。

### [3] 成果

#### (3-1) 研究成果

本年度は、以下に示す研究成果を得た。

まず第 1 に、癌関連静脈血栓塞栓に観察された癌細胞の壊死と周囲の血栓成分を免疫組織化学で検討した。癌細胞の壊死により damage associated

molecular patterns が放出され、血小板凝集や血液凝固反応が促されると考えられる。ヘマトキシリンエオジン(HE)染色で癌細胞の壊死部位では核が崩壊し細胞外に存在していた。細胞内成分の細胞外への逸脱は細胞の中間径フィラメントであるサイトケラチンの免疫組織化学で確認した。また、免疫組織化学で壊死部周囲に血小板膜タンパク(GP)IIb/IIIa とフィブリンいずれも存在した。以上の結果より、癌細胞の壊死により血液凝固や血小板凝集が促進することが示唆された。

第2に、担癌解剖症例(114例)と非担癌解剖症例(66例)の静脈血栓と肺血栓塞栓の病理所見を比較した。まずHE染色で、血栓の大きさや器質化(好中球浸潤の程度、内皮細胞の増生、線維芽細胞の増生、膠原線維沈着、ヘモジデリン沈着)の相違を検討した。担癌症例の静脈血栓面積は非担癌症例と比して有意に大きく、担癌症例の血管内皮細胞の増生・線維芽細胞の増生・ヘモジデリン沈着の頻度は非担癌症例と比して有意に高かった。一方、好中球浸潤の程度は担癌症例と比して非担癌症例で高度であった。肺血栓塞栓では2群間の器質化反応に差を認めなかった。以上の結果より、担癌症例の静脈血栓血栓ではより時間が経過した血栓が多く含まれること、癌細胞の浸潤が器質化反応に影響していること等が示唆された。次に血栓組成をglycophorin A、GPIIb/IIIa、フィブリンの免疫組織化学で比較した。静脈血栓、肺血栓塞栓症いずれも、赤血球、血小板、白血球、フィブリンを含んでいたが、担癌解剖症例と非担癌解剖症例において、血栓における各因子の陽性面積率に差を認めなかった。

第3に、血栓内に小集簇巣として混在する癌細胞の意義を明らかにするため、ヒト膀胱癌細胞株(SUIT-2)とウサギ静脈血栓モデルを用いて、静脈血栓に癌細胞が存在しうるか、血栓形成に影響するかを検討した。SUIT-2はウサギ血液を凝固される活性を有し、ヒト組織因子阻害物質によってその凝固活性が抑制された。トロンボエラストメトリーで計測される全血凝固動態では、細胞数依存性に凝固開始時間が短縮された。一方、ウサギ洗浄血小板を用いた血小板凝集活性に影響を与えなかった。ウサギ耳静脈より癌細胞懸濁液を投与すると15分後に血中に孤在性の癌細胞が検出され、周囲に血小板や白血球の付着が観察された。採血した動静脈血液を用いたトロンボエラストメトリーでは、細胞数依存性に凝固開始時間が短縮された。耳静脈から癌細胞懸濁液の投与では頸静脈に血栓は形成されなかったが、バルーンカテーテルで頸静脈の内皮を剥離して壁在血栓を作成すると、壁在血栓中に投与した癌細胞が検出された。以上のことより、静脈血中に侵入

した癌細胞は流血中で血小板や白血球を付着させ、血栓形成部位に接着することが示唆された。流血中の癌細胞の存在そのものによる静脈血栓形成の開始は否定的で、血栓の成長に影響することが示唆された。

#### (3-2) 波及効果と発展性など

本共同研究により、学外研究者との交流が飛躍的に活性化し、国際的な共同研究に発展している。本共同研究で明らかにしようとしている研究成果は、癌関連静脈血栓塞栓症の予防や治療法の開発に結びつくと考えられ、今後の発展が期待される。

#### [4] 成果資料

(1) 魏 峻洸、桑原 彩、松田俊太郎、前川 和也、盛口 清香、佐藤 勇一郎、浅田 祐士郎、山下 篤. 癌関連静脈血栓塞栓症における浸潤性・小集簇性癌細胞の血栓内局在と血栓関連因子の発現. 第45回日本血栓止血学会. 北九州 (2023)

(2) Gi T, Kuwahara A, Yamashita A, Matsuda S, Maekawa K, Moriguchi-Goto S, Sato Y, Asada Y. Presence of intrathrombus cancer cells as vascular wall invasion and cell cluster patterns in human cancer-associated venous thromboembolism. 31st Congress of International Society on Thrombosis and Haemostasis (Montreal, June 24-28, 2023)

(3) 魏 峻洸. 癌関連血栓症：人体病理からの新規知見(招待講演). 第1回阿蘇熊本血栓ウェビナー (Web, 12/5, 2023)