

II ヒト肺腺癌細胞経気道的同所性移植

II.1 はじめに

肺癌は組織型が多彩であり、かつ臨床的にもさまざまな病態を示すのがその特徴である。いくつかに分類される組織型の中でも腺癌は最近増加が指摘されている組織型であり肺癌全体に占める割合は約40%以上とされ(38)、肺癌中最多の組織型である。肺癌は組織型により増殖・浸潤・転移形式が異なるが、なかでも腺癌は組織型や細胞型が多彩であり、また腫瘍の発育や臨床経過が早いものから遅いものまで、生物学的特性の異なったものが多い。このような生物学的特性の差異が生じる原因は何かを明らかにすることは肺腺癌の診断、治療の向上に重要である。これまでに肺腺癌手術材料や解剖検体を用いた臨床病理学的検討や分子生物学的検討、また肺腺癌由来の培養細胞株を用いた細胞生物学的、分子生物学的検討がなされ肺腺癌に対するさまざまな成果があげられてきている(5, 39)。この肺腺癌の研究手法の1つとして肺内への肺腺癌由来の培養細胞を同所性に移植する動物モデル実験がある。肺癌細胞の同所性移植は1987年McLemoreらが初めて報告して以来(22)、肺癌細胞の研究において肺の臓器特異性を考慮した検討ができるという利点から転移研究や薬剤感受性試験などの研究目的に応じたいくつかの同所性移植の手法が開発されてきたことは1章で述べたが、肺腺癌細胞を同所性移植し、肺内での増殖や浸潤、転移について検討する研究は殆ど行われておらず、従って肺腺癌培養細胞株の由来組織型や分化度の違いによる生体内での生物学的な振る舞いの差異はほとんど解明されていない。

II.2 目的

本章では肺腺癌培養細胞株の種類によって肺内での生物学

的な特徴にどのような差異が見られるのかを明らかにすることを目的とした。そこで原腫瘍の分化度の異なるヒト肺腺癌培養細胞株9株について本研究で改良した静脈内留置針を使用した経気道的移植法によりヌードマウス肺内に同所性移植を行い、それぞれのヒト肺腺癌培養細胞株の①肺内腫瘍形成率、②肺内での増殖形態、③遠隔臓器への転移などの増殖・浸潤・転移に関わる生物学的特性をその由来組織分化度等と対応させて検討を行った。

II.3 対象と方法

II.3.1 実験動物

4週齢の雄のSPF BALB/cヌードマウスを日本クレア（浜松、日本）より購入し使用した。これらの実験動物は筑波大学動物実験センター内近交系飼育室微生物制御飼育装置内でオートクレーブ滅菌したケージを用いて飼育した。飼育条件は一定温度および14時間の照明時間、10時間の消灯時間サイクル下に、オートクレーブした飼料および水を自由に与えた。この実験は筑波大学動物実験取扱規定に基づいた実験計画書を動物実験委員会に提出し、審議・承認後に筑波大学動物実験取扱規定に則り施行した。

II.3.2 使用薬物

II.3.2.1 細胞培養および細胞浮遊液作製に用いた薬物

ウシ胎児血清（SIGMA CHEMICAL CO, St. Louis, MO, USA）

MCDB153HAA培地（和光純薬工業株式会社、大阪、日本）

D-MEM/F12培地（GIBCO BRL, Grand Island, NY, USA）

RPMI1640培地（GIBCO BRL, Grand Island, NY, USA）

MEM培地（GIBCO BRL, Grand Island, NY, USA）

F12培地（GIBCO BRL, Grand Island, NY, USA）

EGF（TOYOBO、東京、日本）

Insulin, Hydrocortison, Transferrin, Sodium Selenite
（SIGMA CHEMICAL CO, St. Louis, MO, USA）

0.05%トリプシンEDTA（GIBCO BRL, Grand Island, NY, USA）

0.5%トリパンブルー液（GIBCO BRL, Grand Island, NY, USA）

II.3.2.2 麻酔に用いた薬物

2. 2. 2-Tribromoethanol (Aldrich CHEMICAL CO, Milwaukee, WI, USA)

2-Methyl-2-butanol (和光純薬工業株式会社、大阪、日本)

II. 3. 3 培養細胞株 (表 2)

分化度の異なる9つのヒト肺腺がん培養細胞株、PL16T、A549、NCI-H23、NCI-H322、NCI-H358、Calu-3、PC-14、RERF-LC-KJおよびLC-2/ad培養細胞株を用いた。

1. PL16T培養細胞株：

PL16T培養細胞株は当研究室にて樹立された培養細胞株である。PL16T培養細胞株は異型腺腫様過形成に類似している非常に高分化な肺腺癌にSV40大型T抗原を導入し不死化させ樹立した。

2. NCI-H23培養細胞株：

NCI-H23培養細胞株はAmerican Type Culture Collection(ATCC)(Rockville, MD, USA)より購入した。NCI-H23培養細胞株の由来組織の分化度は不明である(40)。

3. NCI-H322培養細胞株：

NCI-H322培養細胞株は、ATCCより購入した。NCI-H322培養細胞株は高分化型肺腺癌より樹立された培養細胞株である(41)。

4. NCI-H358培養細胞株：

NCI-H358培養細胞株は、ATCCより購入した。NCI-H358培養細胞株は高分化型肺腺癌より樹立された培養細胞株である(42)。

5. Calu-3培養細胞株：

Calu-3培養細胞株はATCCより購入した。Calu-3培養細胞株は肺癌患者胸水より樹立された培養細胞株である(43)。

6. A549培養細胞株：

A549培養細胞株はRIKEN Cell Bank(つくば、日本)より購入した。A549培養細胞株は高分化型肺腺癌より樹立された培養細胞株である(34)。

7. PC-14培養細胞株：

PC-14培養細胞株はRIKEN Cell Bankより購入した。PC-14培養細胞株は低分化型肺腺癌より樹立された培養細胞株である。

8. RERF-LC-KJ培養細胞株：

RERF-LC-KJ培養細胞株はRIKEN Cell Bankより購入した。RERF-LC-KJ培養細胞株の由来組織の分化度由来は不明である。

9. LC-2/ad培養細胞株：

LC-2/ad培養細胞株はRIKEN Cell Bankより購入した。LC-2/ad培養細胞株は中分化型肺腺癌より樹立された培養細胞株である(44)。

II. 3. 4 *in vitro*における培養細胞株の増殖形態：

PC-14培養細胞株を除くすべての培養細胞株は接着性増殖を示し、PC-14培養細胞株は浮遊性増殖を示す培養細胞株である。

II. 3. 5 培養細胞の培養条件：

1. PL16T培養細胞株：

2 %非働化ウシ胎児血清, 100 μ g/ml EGF, 10 mg/ml Insulin, 0.36 mg/ml Hydrocortison, 5 mg/ml Transferrin, および20 μ g/ml Sodium Seleniteを添加したMCDB153HAA培地を用いて、4型コラーゲンをコーティングした組織培養用ディッシュ上で、37 $^{\circ}$ C \cdot 5 % CO₂濃度条件下のCO₂インキュベーター内で培養した。

2. A549培養細胞株：

10 %非働化ウシ胎児血清を添加したD-MEM/F12培地を用いて、組織培養用ディッシュ上で、37 $^{\circ}$ C \cdot 5 %CO₂濃度条件下のCO₂インキュベーター内で培養した。

3. NCI-H23、NCI-H322、NCI-H358、PC-14およびRERF-LC-KJの各培養細胞株：

10 %非働化ウシ胎児血清を添加したRPMI1640培地を用いて、組織培養用ディッシュ上で、37 $^{\circ}$ C \cdot 5 %CO₂濃度条件下のCO₂インキュベーター内で培養した。

4. Calu-3培養細胞株：

10 %非働化ウシ胎児血清を添加したMEM培地を用いて、組織培養用ディッシュ上で、37 $^{\circ}$ C \cdot 5 %CO₂濃度条件下のCO₂インキュベーター内で培養した。

5. LC-2/ad培養細胞株：

15 %非働化ウシ胎児血清を添加したRPMI1640/F12培地を用いて組織培養用ディッシュ上で、37 $^{\circ}$ C \cdot 5 %CO₂濃度条件下のCO₂インキュベーター内で培養した。

II. 3. 6 細胞浮遊液作製

培養細胞は10 cm培養ディッシュに80 %コンフルエントになるまで培養し、0.05 %トリプシンEDTAを用いて分散後回収した。回収した細胞は血清無添加培地で2回洗浄し、 1×10^7 個/1 mlとなるように血清無添加培地を加え希釈した。細胞数は細胞浮遊液と等量の0.5 %トリパンプルー液を加え、死細胞を染色し、生細胞のみを血球計算盤を用いて計数した。

II. 3. 7 麻酔

2.5 %avertin(100 %avertin:2,2,2-Tribromoethanolと2-Methyl-2-butanolの1 : 1混合液)を実験動物の腹腔内に0.4-0.5 ml投与した。投与後約4-5分後に深麻酔を得た。

II. 3. 8 経気道的移植法

1. 全身麻酔下の実験動物を仰臥位に固定し、頸部を伸展する。
2. 胸骨切痕の頭側皮膚に約1 cmの横切開を加え、皮下および気管周囲の組織を剥離し気管前面を露出する。
3. 気管輪の間に24 G静脈内留置針(テルモ株式会社、サーフロ-F&F)を穿刺し内針を抜去、カテーテルのみを気管内に挿入する。その後末梢気管支までカテーテルを進める。
4. 細胞浮遊液0.1 ml(1×10^6 個)をこのカテーテルを用いて気管支末梢に注入する。
5. カテーテルを抜去後、切開した頸部皮膚をポリプロピレン糸で一針縫合する。
6. 覚醒するまでの約15分間実験動物を保温し、麻酔覚醒を確認後ケージに戻し、実験終了まで飼育する。

II. 3. 9 肉眼的および組織学的観察

実験動物は移植後28日または56日目に安楽死させ、肺、気管、心臓、縦隔組織、肝臓、脾臓、腎臓および副腎の各臓器を摘出し、肉眼的に観察した。また各臓器は10%中性緩衝ホルマリン液により24時間固定後、パラフィン包埋ブロックを作製した。各パラフィンブロックを4 μm の厚さに薄切しヘマトキシリン・エオジン染色を行い光学顕微鏡にて組織学的な検索を行った。

II. 3. 10 統計学的検討

ヌードマウス肺実質内におけるヒト肺腺癌培養細胞株の腫瘍形成数の有意差の検定はFisherの直接確率計算法を用い、有意水準を5%に設定し行った(36)。

II. 4 結果

II. 4. 1 実験動物数、死亡率

実験動物数は総計133匹を用いた。実験手技による死亡は23匹で、死亡率は17%であった。移植後観察可能であったマウスは110匹で、実験終了時に全体で腫瘍生着を認めたものは23匹(約21%)であった。移植術終了後、生着を確認する解剖の予定日前すなわち28日以内に死亡したマウスはA549培養細胞株を移植した1匹で、胸膜播種・胸水貯留による呼吸不全であった。他の培養細胞株を移植したマウスの移植後観察期間中の死亡は認めなかった。

II. 4. 2 移植結果(表3)

1. A549培養細胞株

移植後6匹の観察が可能であり、28日間の観察を行った。1匹は移植後27日目に呼吸不全により死亡した。6匹のマウスすべての肺内に多発性の腫瘍形成を認めた(図11)。3匹において肺門部リンパ節転移(図12)、縦隔リンパ節転移と胸膜播種を認めた(図11, 図13)。リンパ節転移と胸膜播種は3例で併存して観察された。肺内腫瘍と胸膜播種、肺内腫瘍とリンパ節転移のみの増殖・浸潤形態を示すものはなかった。胸郭外の遠隔臓器への転移は認めなかった。

肺内腫瘍の増殖形態は肺胞置換性増殖ではなく周囲を圧排するように肺胞内で充実性に増殖する低分化型腺癌様の増殖を示した(図14, 図15)。

またリンパ節転移を認めたマウスの一部において気管支腔内での増殖(図16, 図17)、気管支壁への浸潤(図18)および気管支周囲のリンパ管侵襲を認めた(図16, 図17)。

2. NCI-H358培養細胞株

移植後28日間の観察を行ったが、腫瘍の形成は認めず、移植後56日間観察実験を追加した。9匹が観察可能であり、6匹に肺内に腫瘍の形成を認めた。肺内の腫瘍は左肺に多発性に認めたが(図26)、気管支壁上での増殖や気管支壁への浸潤は認めなかった。縦隔リンパ節転移や胸膜播種は認めず、胸郭外臓器への転移も認めなかった。

肺内腫瘍の増殖形態は周囲を圧排するように肺胞内で充実性に増殖する低分化型腺癌様の増殖を示した(図27, 図28)。

3. PC-14培養細胞株

移植後8匹の観察が可能であり、28日間の観察を行った。8匹中5匹にリンパ節転移を含む腫瘍の形成を認めた。5匹中2匹は肺内に腫瘍を形成し、残りの3匹に縦隔リンパ節転移を認めた(図19-21)。縦隔リンパ節転移を認めた3匹は肺内に明かな腫瘍の形成は認めず、肺胞内に単独に腫瘍細胞を認めるのみであった(図22)。また縦隔リンパ節転移を認めた症例では気管支周囲のリンパ管の一部にリンパ管侵襲を認めた。A549培養細胞株移植例で認めた気管支壁上での増殖や気管支壁への浸潤は認めなかった。胸膜播種や胸郭外遠隔臓器への転移は認めなかった。

肺内腫瘍の増殖形態は周囲を圧排するように肺胞内で充実性に増殖する低分化型腺癌様の増殖を示した(図23, 図24)。また縦隔リンパ節転移の組織像は概ね充実性増殖ではあるが一つ一つの細胞同士の接触が弱く細胞が孤立性に存在している部分を認めた(図21, 図25)。

4. NCI-H322培養細胞株

移植後28日間の観察を行ったが、腫瘍の形成は認めず、移

植後56日間観察実験を追加した。8匹が観察可能であり、2匹に肺内に腫瘍の形成を認めた(図29)。肺内腫瘍は左肺に多発性に認めたが、気管支壁上での増殖や気管支壁への浸潤は認めなかった。縦隔リンパ節転移や胸膜播種は認めず、胸郭外臓器への転移も認めなかった。

肺内腫瘍の増殖形態は周囲を圧排するように肺胞内で充実性に増殖する低分化型腺癌様の増殖を示した(図30, 図31)。

5. NCI-H23培養細胞株

移植後28日間の観察を行ったが、腫瘍形成は1匹で肉眼的には確認できない大きさの肺内腫瘍であり、移植後56日間観察実験を追加した。6匹が観察可能であり、そのうち1匹に肺内に腫瘍形成を認めた(図32)。肺内腫瘍は右肺の1葉を占める大きさであった。気管支壁上での増殖や気管支壁への浸潤は認めなかった。縦隔リンパ節転移や胸膜播種は認めず、胸郭外臓器への転移も認めなかった。

肺内腫瘍の増殖形態は周囲を圧排するように肺胞内で充実性に増殖する低分化型腺癌様の増殖を示した(図33-35)。

6. Calu-3培養細胞株

移植後28日間の観察を行ったが、腫瘍の形成は認めず、移植後56日間観察実験を追加した。56日間観察症例は7匹であり、1匹に肺内に腫瘍形成を認めた(図36)。肺内腫瘍は右肺の1葉を占める大きさであった。縦隔リンパ節転移や胸膜播種は認めず、胸郭外臓器への転移も認めなかった。

肺内腫瘍の増殖形態は周囲を圧排するように肺胞内で充実性に増殖する低分化型腺癌様の増殖を示したが(図37-39)、一部で腺管様構造を示す部分を認めた。

7. LC-2/ad培養細胞株

移植後28日間の観察を行ったが、腫瘍形成は認めず、移植後56日間観察実験を追加した。56日間観察症例は7匹であり、2匹に肺内に腫瘍形成を認めた。1匹は右肺の1葉を占める大きさの腫瘍を形成し、1匹は左肺に肉眼では確認できない肺内腫瘍を形成した。縦隔リンパ節転移や胸膜播種は認めず、胸郭外臓器への転移も認めなかった。

肺内腫瘍の増殖形態は周囲を圧排するように肺胞内で充実に増殖する低分化型腺癌様の増殖を示したが(図40)、一部で腺管様構造を示す部分を認めた(図41)。

8. RERF-LC-KJ培養細胞株

培養細胞移植後28日間および56日間の観察実験を行ったが、腫瘍形成は認めなかった。

9. PL16T培養細胞株

培養細胞移植後28日間および56日間の観察実験を行ったが、腫瘍形成は認めなかった。

II. 4. 3 ノードマウス肺内ヒト肺腺癌培養細胞株腫瘍形成数と由来組織分化度

A549培養細胞株およびNCI-H358培養細胞株では比較的高率に肺内に腫瘍形成が認められ、肺内腫瘍の見られないRERF-LC-KJ培養細胞株およびPL16T培養細胞株との間には肺内腫瘍形成率に有意差を認めたが、PC-14、NCI-H322、NCI-H23、Calu-3、LC-2/adの各培養細胞株とRERF-LC-KJ培養細胞株およびPL16T各培養細胞株との間に肺内における腫瘍形成率に有意差は認めなかった(表3)。

肺内腫瘍形成率により50%以上のマウスに腫瘍を形成した細胞株と50%未満の細胞株および肺内腫瘍形成の見られなかった細胞株の3群に分類してみると(表3)、肺内腫瘍高

形成率群のA549培養細胞株とNCI-H358培養細胞株は由来組織の分化度は両細胞株ともに高分化度であるが、肺内腫瘍低形成率群ではPC-14培養細胞株が低分化、LC-2/ad培養細胞株が中分化、NCI-H322培養細胞株が高分化で、NCI-H23培養細胞株とCalu-3培養細胞株は由来腺癌の分化度が不明であり、肺内腫瘍形成率と由来腺癌の分化度との間には一定の傾向は見られなかった。

また肺内に形成された腫瘍の組織形態は肺内腫瘍を形成した7培養細胞株においてすべて充実性増殖を示し組織学的に低分化腺癌と診断され、必ずしも由来腺癌組織の分化度を反映していなかった。

11.5 考察

本研究ではヒト肺腺癌培養細胞株9株についてマウス肺内における腫瘍形成率により①50%以上の腫瘍形成を示す肺内腫瘍高形成率群、②50%未満の腫瘍形成を示す肺内腫瘍低形成率群、③肺内に腫瘍形成を認めない肺内腫瘍無形成群の3群に分類することができた。しかし高分化腺癌由来のA549やNCI-H358各培養細胞株では高率に肺内腫瘍が形成され、一方高分化腺癌由来のNCI-H322培養細胞株や低分化腺癌由来のPC-14培養細胞株や中分化腺癌由来のLC-2/ad培養細胞株では肺内腫瘍形成率が低いなど、それぞれの群に分類される細胞株の由来する腺癌の分化度と肺内腫瘍形成率の間に相関を示唆する一定の傾向は見られなかった。

本研究の結果では肺内腫瘍を形成した各培養細胞株ともに肺内腫瘍の組織形態は充実性で低分化の像を示しており肺腺癌細胞株の由来の組織分化度とは対応していなかったが、これは培養細胞株が継代培養されていく過程で増殖の速い分化度の低い細胞が繰り返し選択されていることによる可能性も考えられる。もちろんヒト肺腺癌培養細胞株をマウス肺に移植するという種特異性がありこのため高分化腺癌由来の細胞株でもマウス肺内では低分化腺癌の形態を示す可能性も考えられるが、平田らは高分化の肺腺癌由来の培養株をマウスに移植したところ肺胞上皮置換性の増殖形態が見られたと報告している(31)ことから、マウス肺内でもヒト肺癌細胞株が高分化腺癌の形態をとることは可能と考えられる。

同所性移植の利点は原発巣の形態を再現できること、高分化な腫瘍でも移植可能であること、腫瘍細胞の浸潤性増殖により転移を形成することとされる。Nagamachiらはマウス左胸腔に非小細胞肺癌培養細胞(腺癌由来および大細胞癌由来の培養細胞)を移植することにより胸膜播種、肺内腫瘍および縦隔リンパ節転移を形成し、腫瘍細胞の皮下移植や静脈内

投与にくらべ、肺内で腫瘍を高率に認め、しばしば縦隔リンパ節転移を認めたと報告している(32)。彼らはPagetにより提唱された‘seed and soil’仮説をあげ(26)、臓器特異的(同所的)に腫瘍細胞を移植することつまり臓器に特異的な環境下での移植が腫瘍細胞の増殖や進展に必要であり、腫瘍細胞の胸腔内移植モデルは非小細胞肺癌の胸郭内(胸腔、肺、縦隔)進展のモデルとして有用であるとしている。さらに本研究において行った経気道的移植法ではNagamachiらが胸腔内での増殖や肺内において腫瘍形成を認めなかったNCI-H23培養細胞株も肺内に腫瘍を形成した。このことから経気道的移植はよりヒト肺腺癌培養細胞にとって原発巣の環境を反映している移植方法といえる。

A549培養細胞株は気管支壁上での増殖や気管支壁への浸潤性増殖を示したが、A549培養細胞株を除いて肺内に腫瘍を形成したヒト肺腺癌培養細胞株は周囲組織への浸潤傾向は少なかった。移植を行ったヒト肺腺癌培養細胞株すべてにおいて胸郭外の遠隔臓器への転移は認めなかった。

A549培養細胞株とPC-14培養細胞株は多発性の肺内腫瘍を形成するだけではなくリンパ管侵襲から縦隔リンパ節転移も認めた。A549培養細胞株において認めたリンパ管侵襲やリンパ節転移の増殖形態は敷石状に充実性に増殖する低分化な形態であった。それに対してPC-14培養細胞株において認めたリンパ管侵襲やリンパ節転移の増殖形態は低分化な増殖であるが細胞同士の接着が少なく浮遊している印象を受ける増殖形態であった。これはA549培養細胞株はin vitroでは接着性増殖を示し、PC-14培養細胞株はin vitroでは浮遊性増殖を示すことに由来する可能性がある。特にPC-14培養細胞株は肺内腫瘍形成率が50%未満でNCI-H358培養細胞株に比べて肺内腫瘍形成率が低いにもかかわらずリンパ節転移はA549培養細胞株と同様に高率に認められ、今回解析したヒト肺腺癌

培養細胞株の中でもリンパ管との親和性が高い特殊な肺腺癌培養細胞株と言え、リンパ管浸潤の分子生物学的解析に有用な培養細胞株と考えられる。一方NCI-H23培養細胞株、Calu-3培養細胞株およびLC-2/ad培養細胞株は肺内に単発性の腫瘍形成のみでリンパ節転移は認めなかったのは選択的培養の結果これらの培養細胞株がすでに肺内環境では適応できないほどにその性格を変化させてしまっている可能性を示していると考えられる。

以上本研究ではヒト肺腺癌培養細胞株によって肺内腫瘍形成率や増殖形態、転移能等生物学的特性がさまざまであったが、肺内腫瘍形成率により培養細胞株を3群に分類することができた。ヒト肺腺癌培養細胞株による肺内腫瘍形成率の違いに関与する因子について検討することが、肺腺癌の生物学的特性を研究する上で重要と考えられた。

表 2

ヒト肺腺癌培養細胞株 9 株のまとめ

細胞名	由来組織の 分化度	In vitroにお ける増殖形態	分与機関
A549	高分化型	接着性	RIKEN CELL BANK
NCI-H23	不明	接着性	ATCC
NCI-H322	高分化型	接着性	ATCC
NCI-H358	高分化型	接着性	ATCC
Calu-3	不明 (肺癌患者の胸 水より樹立)	接着性	ATCC
PC-14	低分化型	浮遊性	RIKEN CELL BANK
LC-2/ad	中分化型	接着性	RIKEN CELL BANK
RERF-LC-KJ	不明	接着性	RIKEN CELL BANK
PL16T	超高分化型	接着性	当研究室で 樹立

ATCC : American Type Culture Collection

表 3. ヒト肺腺癌培養細胞株 9 株の移植結果

	細胞名	由来組織 の分化度	マウス肺内 腫瘍増殖形態	マウス肺内 腫瘍形成率 : % (*1)	リンパ節 転移 : % (*1)	胸膜播種 : % (*1)	遠隔臓器 転移 : % (*1)
高腫瘍 形成率群 (≥50%)	A549	高分化型	低分化型 腺癌様	100% (6 ^{*2} / 6)	50% (3/ 6)	50% (3/ 6)	0% (0/ 6)
	NCI-H358	高分化型	低分化型 腺癌様	66.7% (6 ^{*2} / 9)	0% (0/ 9)	0% (0/ 9)	0% (0/ 9)
低腫瘍 形成率群 (<50%)	PC-14	低分化型	低分化型 腺癌様	25% (2/ 8)	37.5% (3/ 8)	0% (0/ 8)	0% (0/ 8)
	NCI-H322	高分化型	低分化型 腺癌様	25% (2/ 8)	0% (0/ 8)	0% (0/ 8)	0% (0/ 8)
	NCI-H23	不明	低分化型 腺癌様	16.7% (1/ 6)	0% (0/ 6)	0% (0/ 6)	0% (0/ 6)
	LC-2/ad	中分化型	低分化型 腺癌様	28.6% (2/ 7)	0% (0/ 7)	0% (0/ 7)	0% (0/ 7)
	Calu-3	不明	低分化型 腺癌様	14.3% (1/ 7)	0% (0/ 7)	0% (0/ 7)	0% (0/ 7)
無形成群	RERF-LC-KJ	不明	—	0% (0/10)	0% (0/10)	0% (0/10)	0% (0/10)
	PL16T	超高分化型	—	0% (0/ 9)	0% (0/ 9)	0% (0/ 9)	0% (0/ 9)

*1 : 腫瘍を形成したマウス数/ヒト肺腺癌培養細胞を移植したマウス数

*2 : p<0.05 by Fisher's exact probability test.

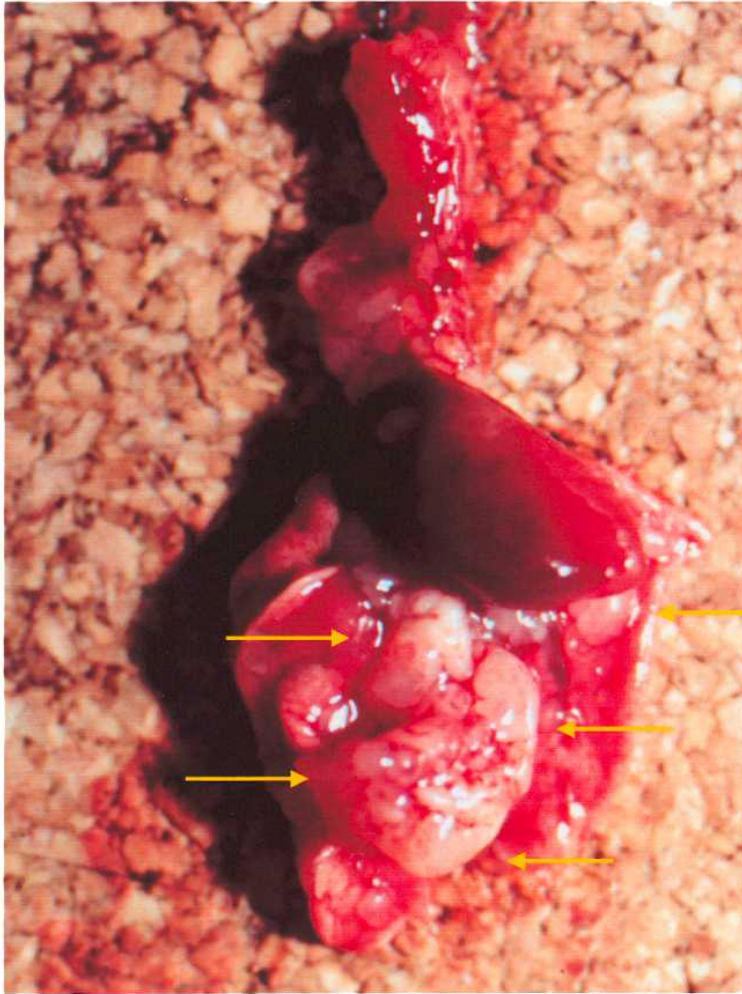


図 11. A549 培養細胞株移植結果
(肉眼像、胸膜播種形成)

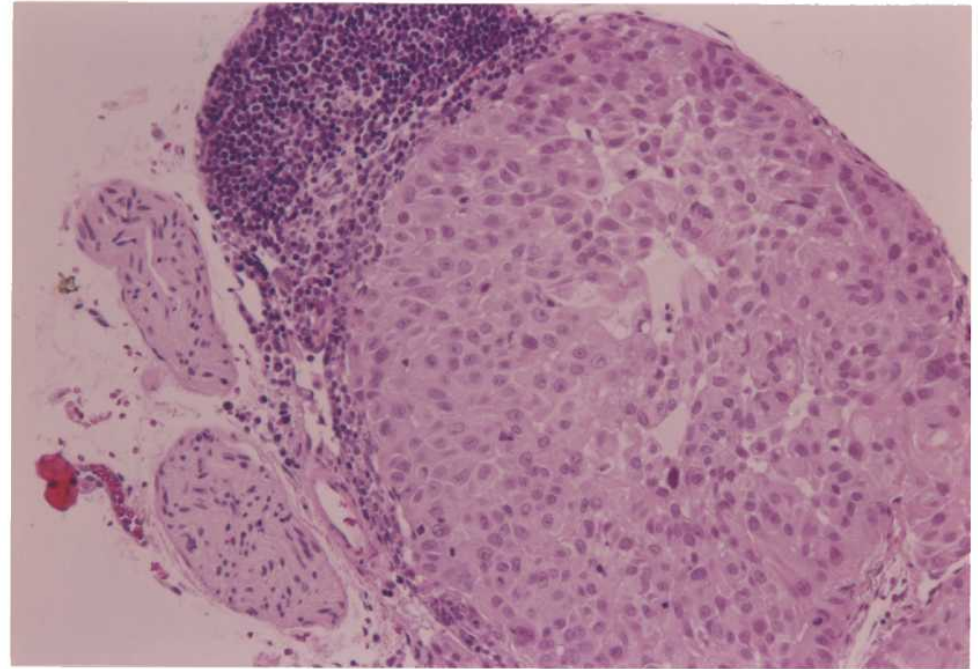


図 12. A549 培養細胞株移植結果
(肺門部リンパ節転移像、X50)

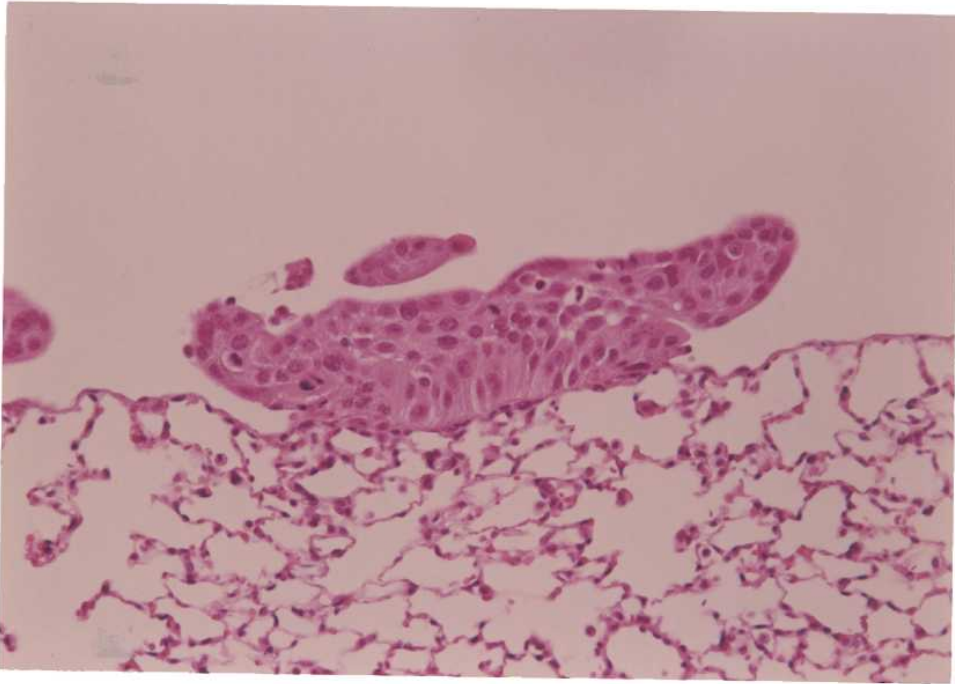


圖 13. A549 培養細胞株移植結果
(胸膜播種像、X50)

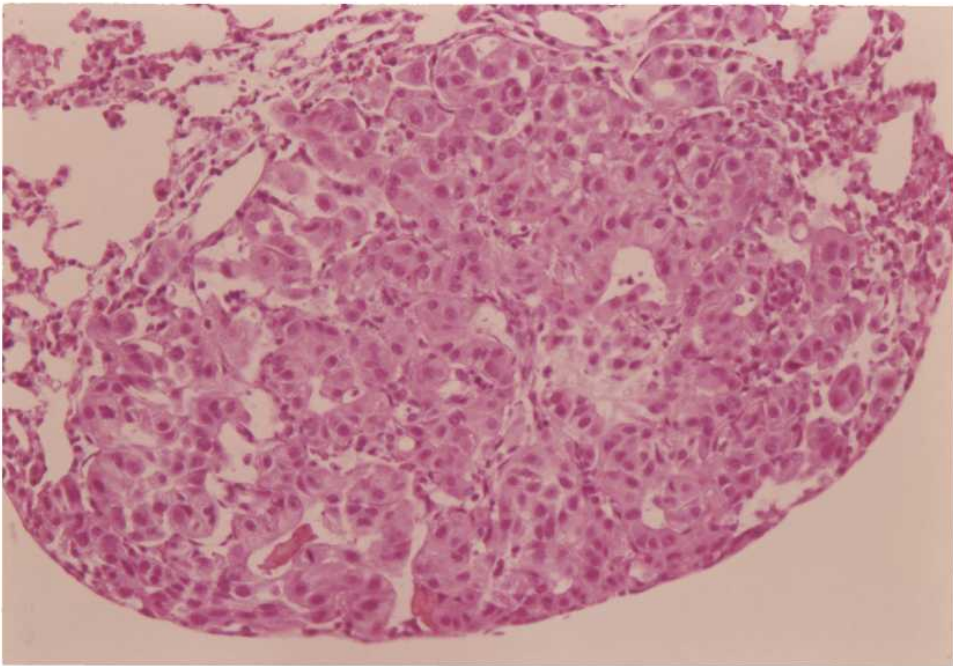


圖 14. A549 培養細胞株移植結果
(肺內腫瘍像、X50)

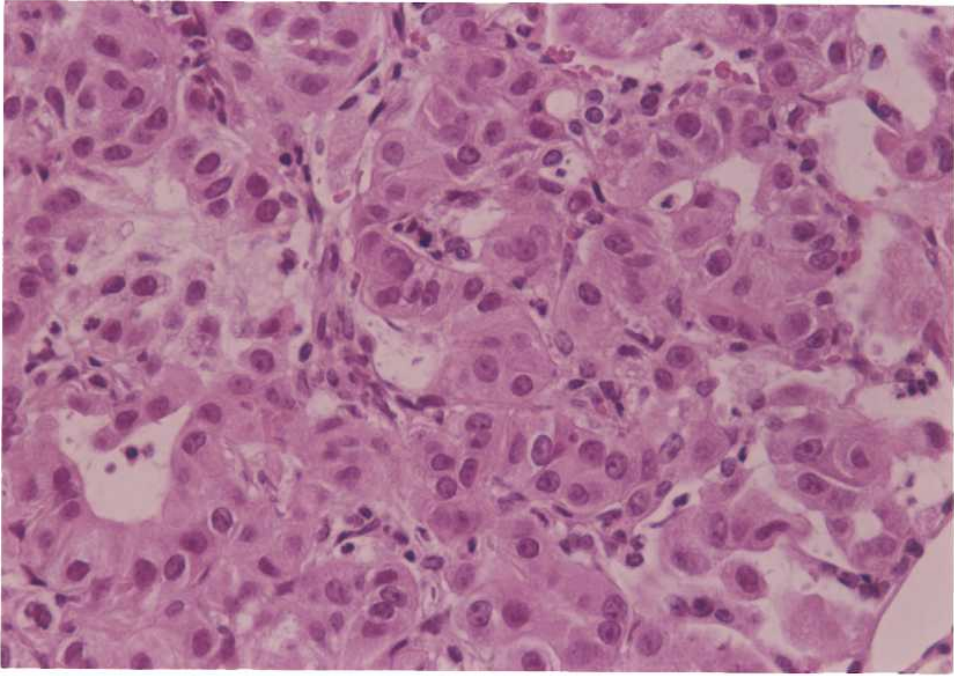


図 15. A549 培養細胞株移植結果
(肺内腫瘍 (低分化な増殖形態を示す)、X100)

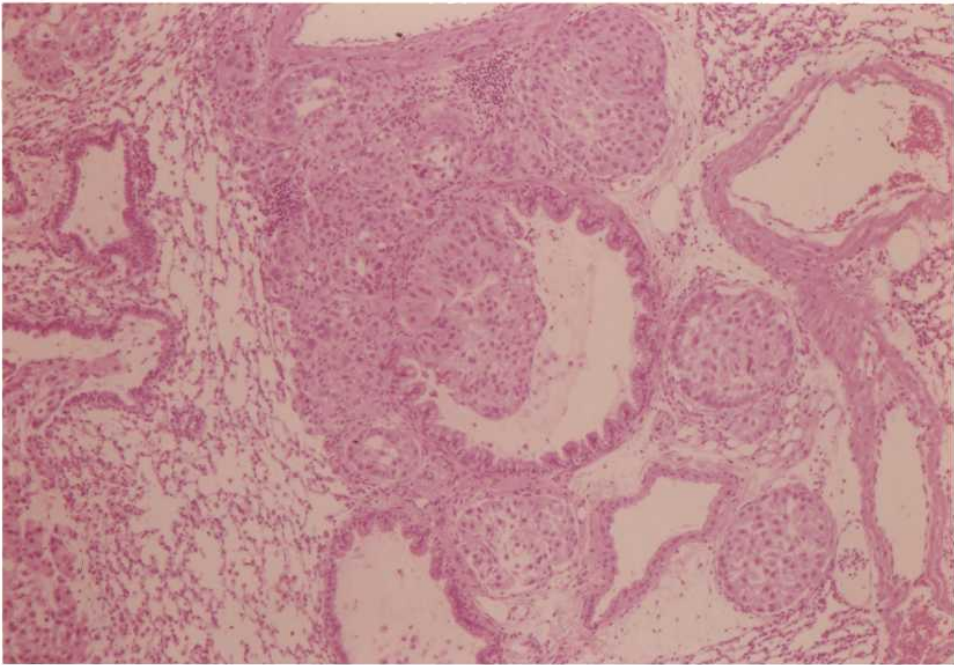


図 16. A549 培養細胞株移植結果
(気管支腔内増殖およびリンパ管侵襲像、X20)

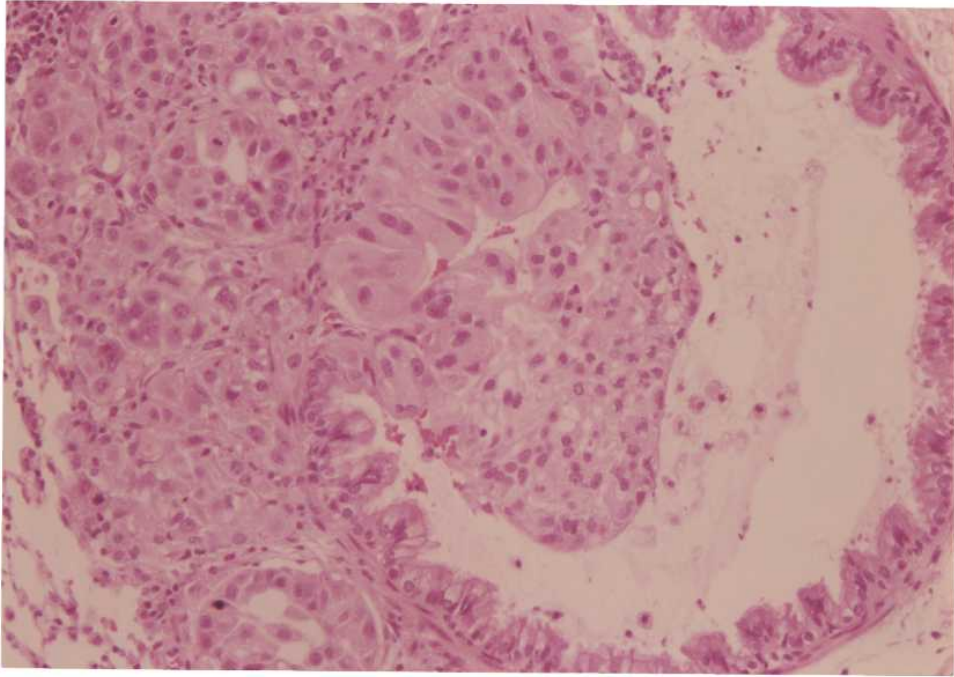


図 17. A549 培養細胞株移植結果
(気管支腔内増殖およびリンパ管侵襲像、X50)

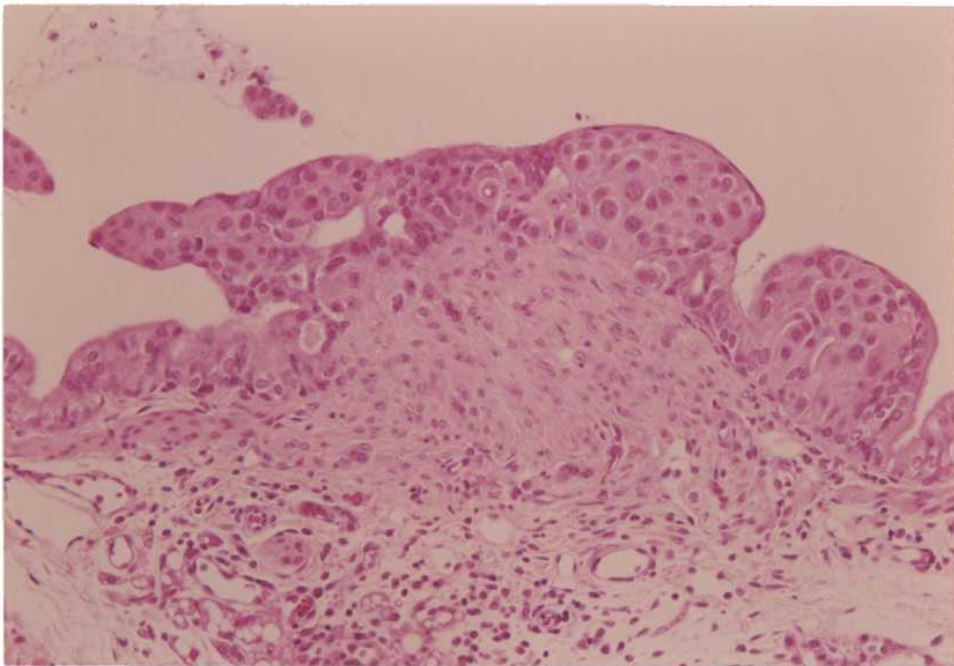


図 18. A549 培養細胞株移植結果
(気管支壁浸潤像、X50)

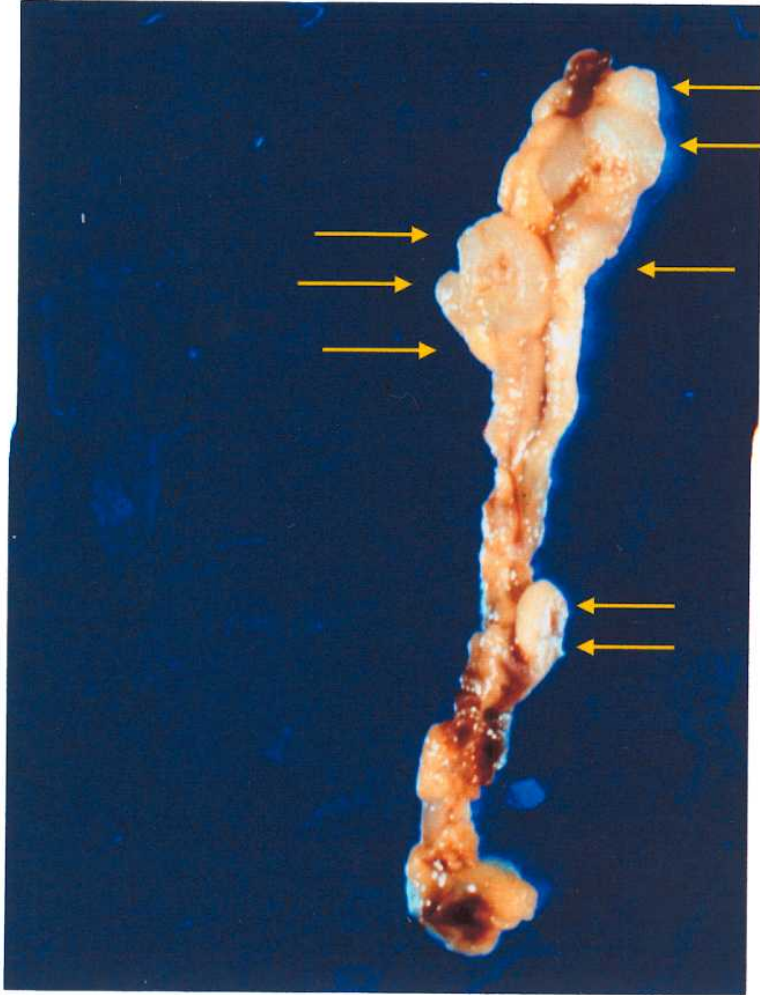


図 19. PC-14 培養細胞株移植結果
(肉眼像、縦隔リンパ節転移)

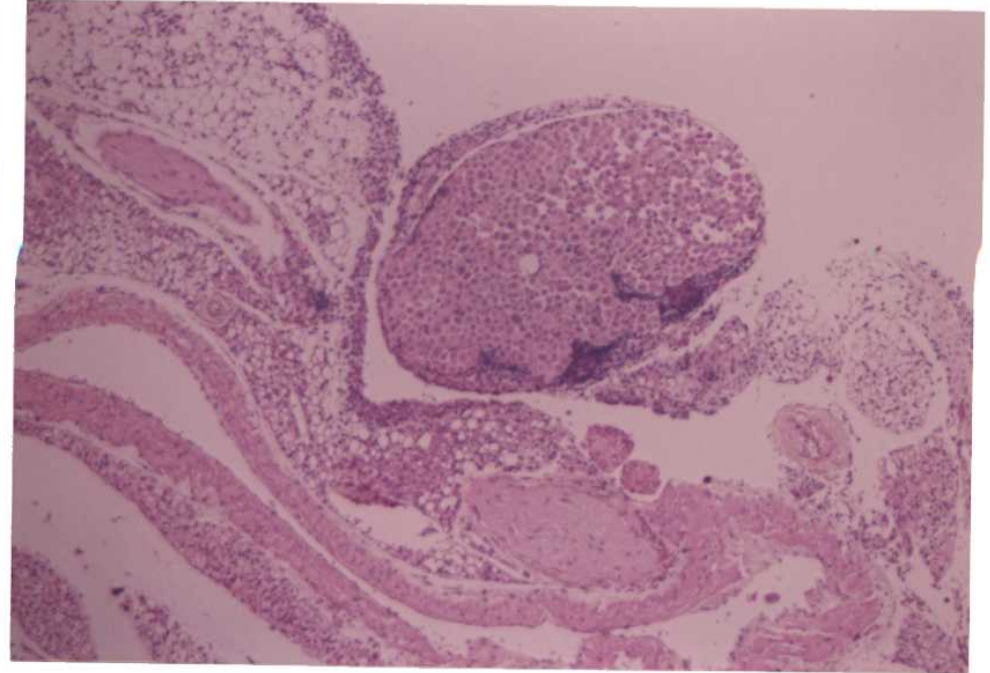


図 20. PC-14 培養細胞株移植結果
(縦隔リンパ節転移像、X20)

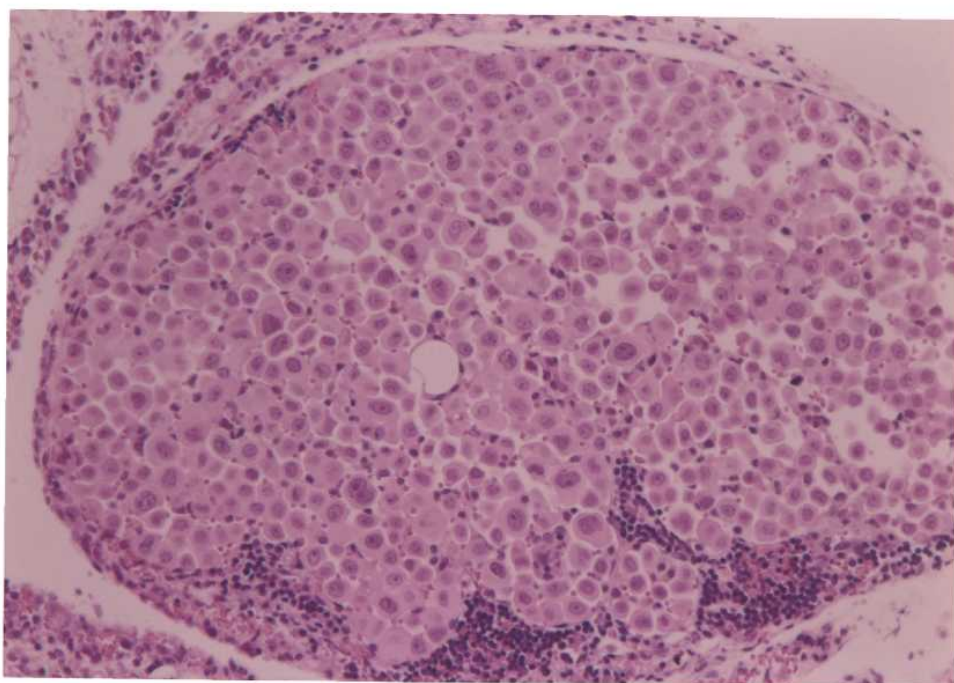


図 21. PC-14 培養細胞株移植結果
(縦隔リンパ節転移像、X50)

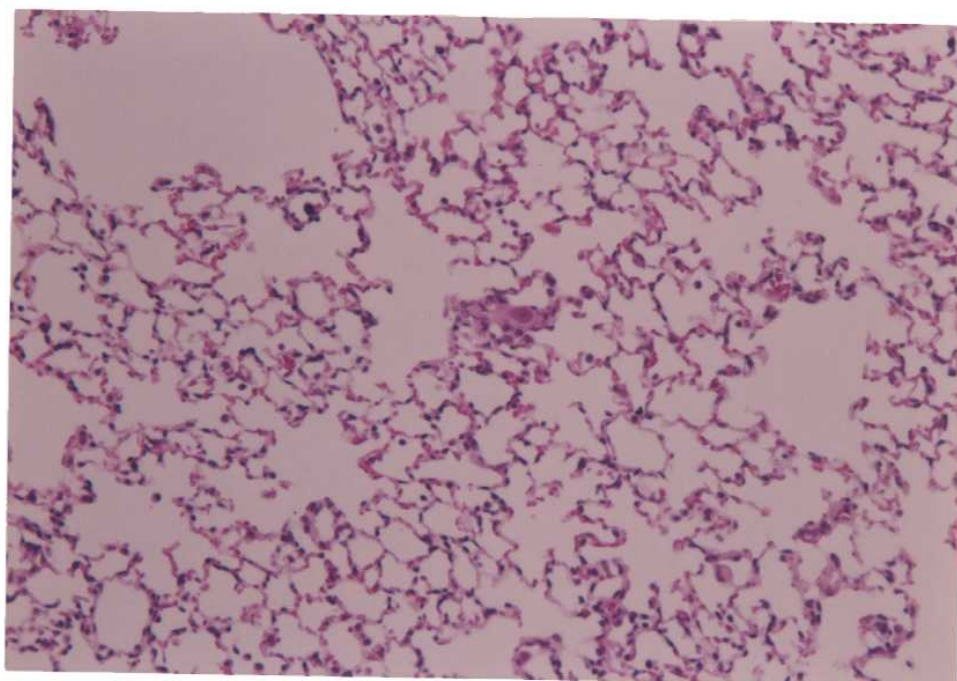


図 22. PC-14 培養細胞株移植結果
(縦隔リンパ節転移症例における肺内腫瘍細胞、X50)

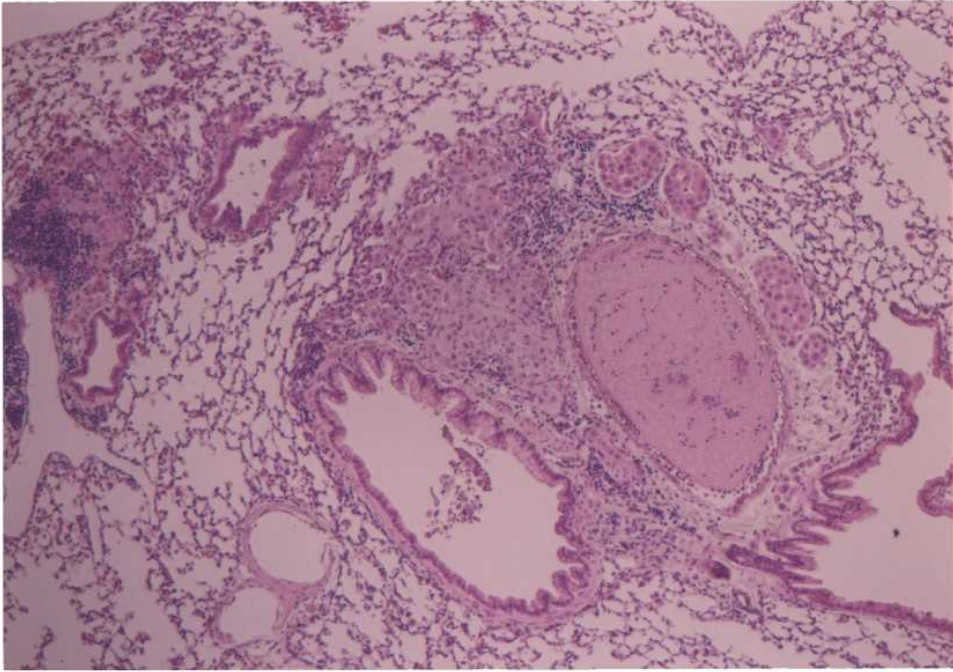


圖 23. PC-14 培養細胞株移植結果
(肺內腫瘍形成像、X20)

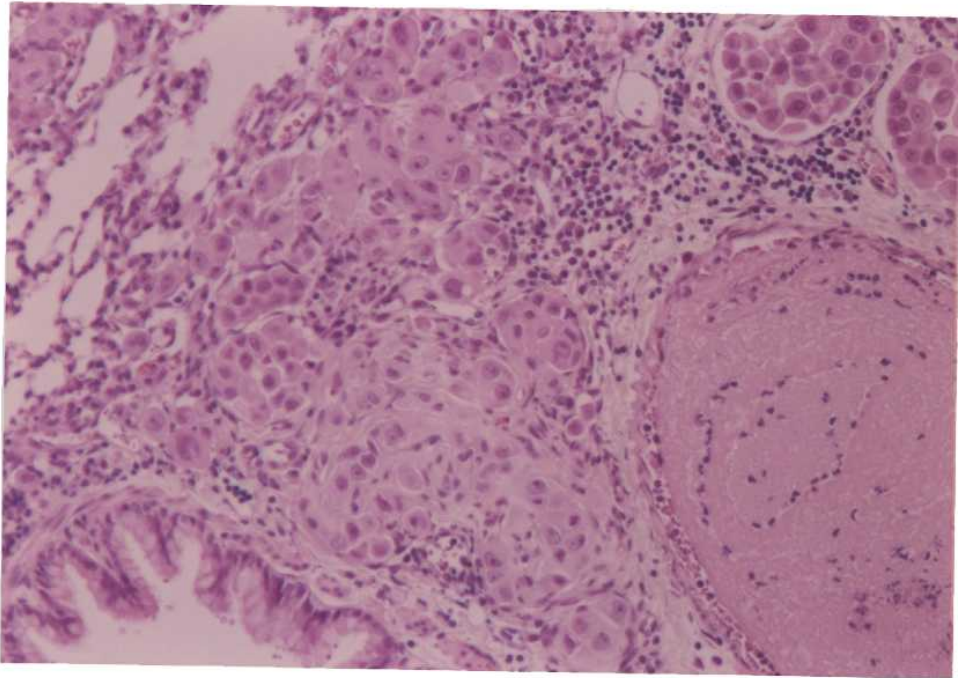


圖 24. PC-14 培養細胞株移植結果
(肺內腫瘍形成像、X50)

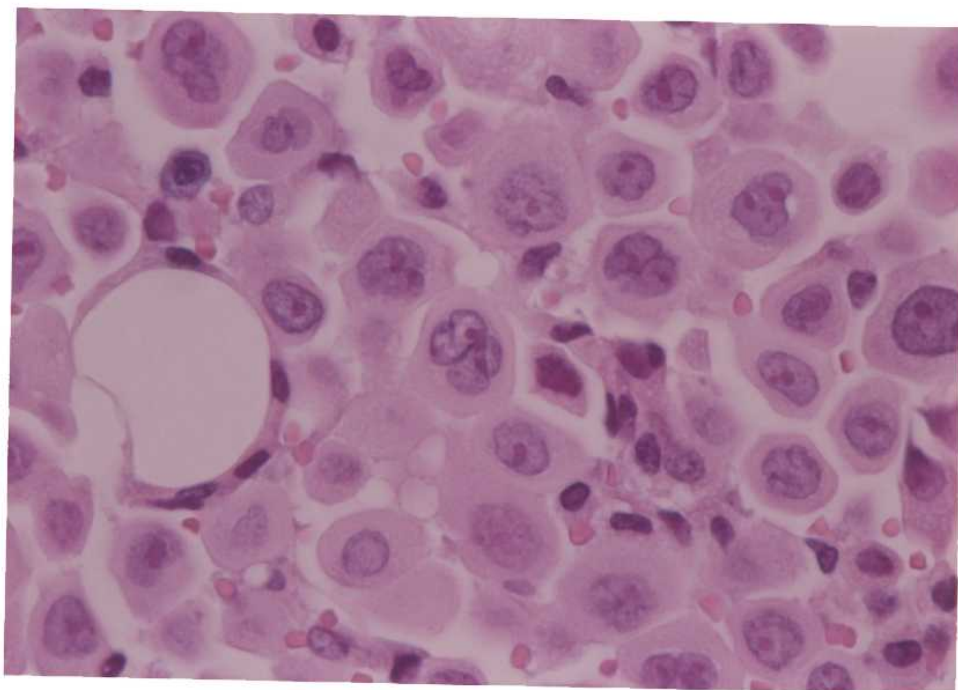


図 25. PC-14 培養細胞株移植結果
(縦隔リンパ節転移像 (低分化な増殖形態を示す)、X200)

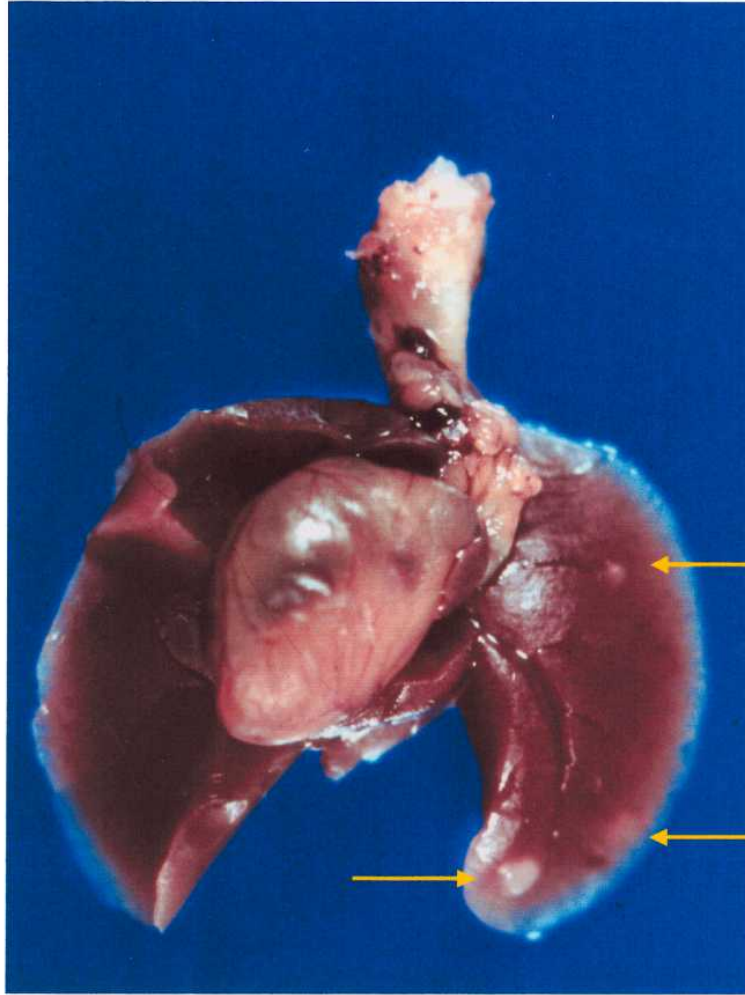


图 26. NCI-H358 培养细胞株移植结果
(肉眼像、肺内肿瘤形成)

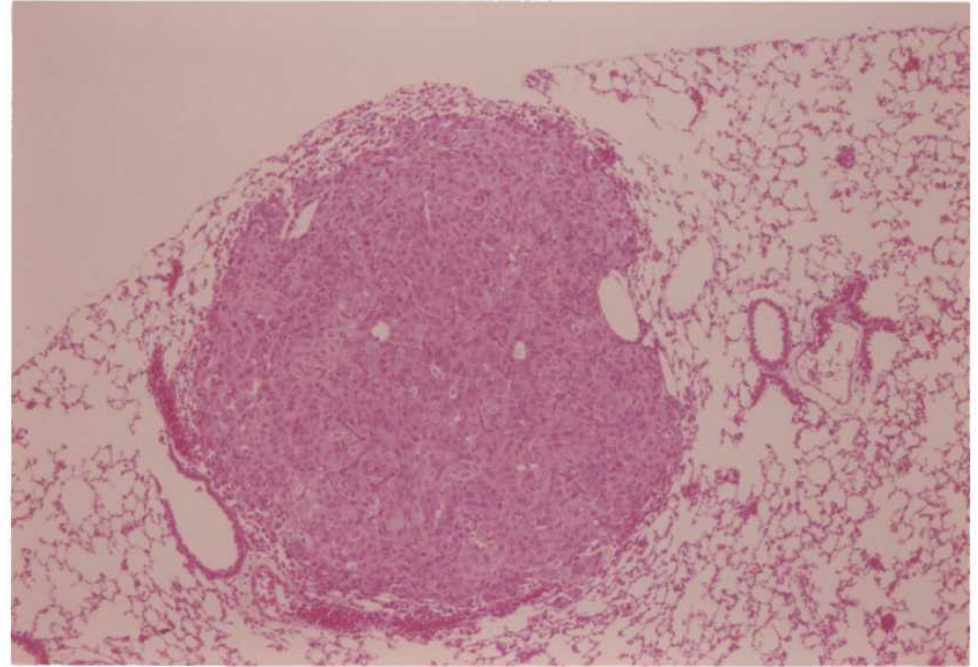


图 27. NCI-H358 培养细胞株移植结果
(肺内肿瘤像、X20)

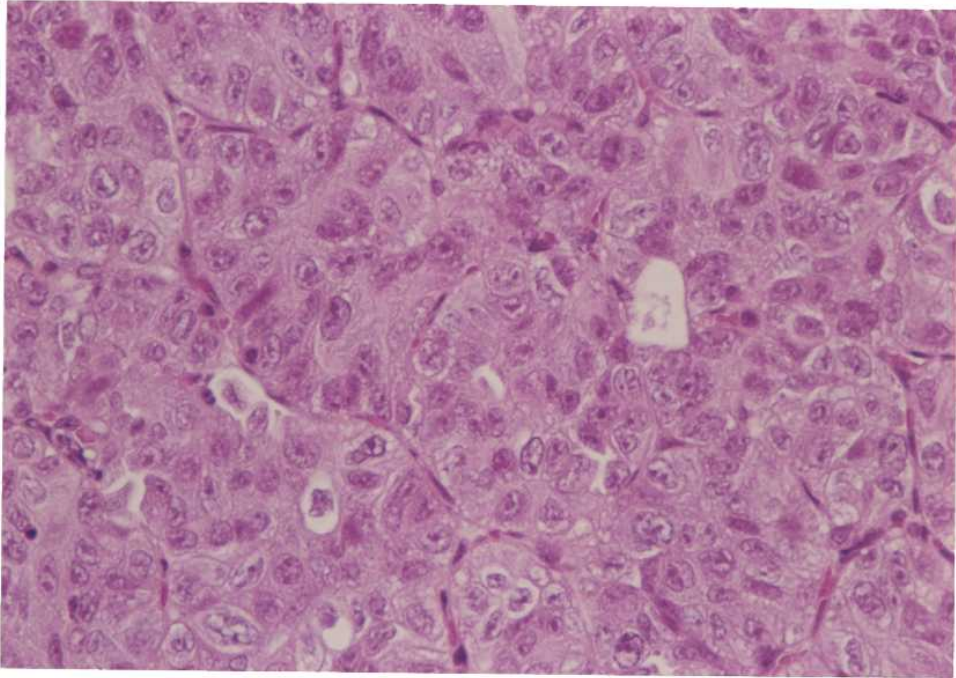


図 28. NCI-H358 培養細胞株移植結果
(肺内腫瘍像(低分化な増殖形態を示す)、X100)

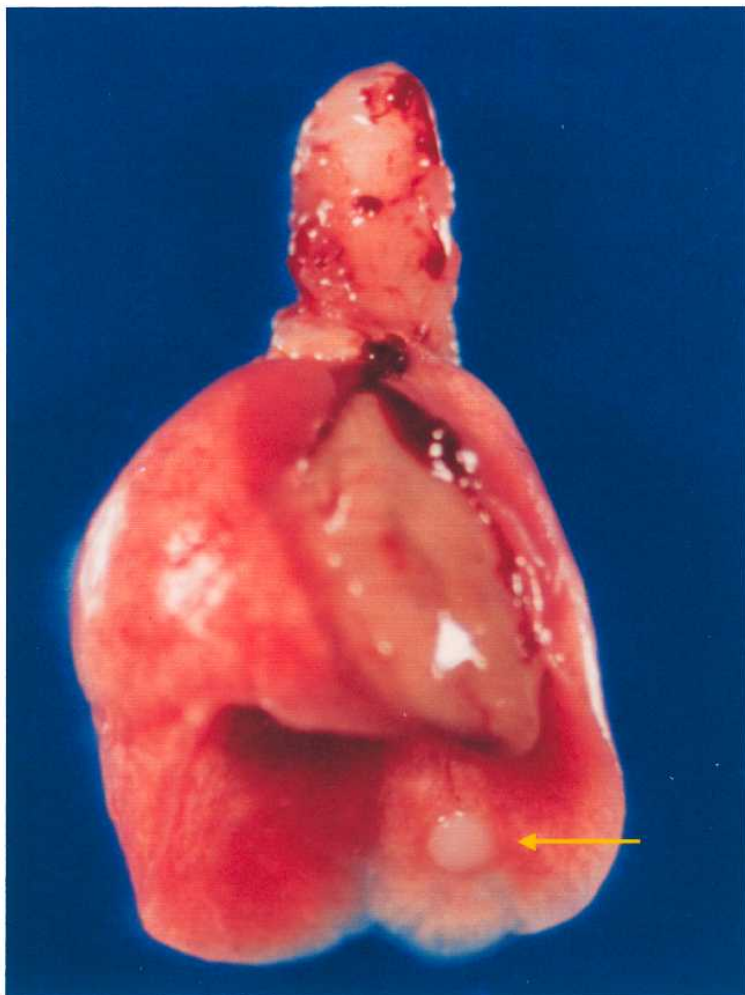


图 29. NCI-H322 培养细胞株移植结果
(肉眼像、肺内肿瘤形成)

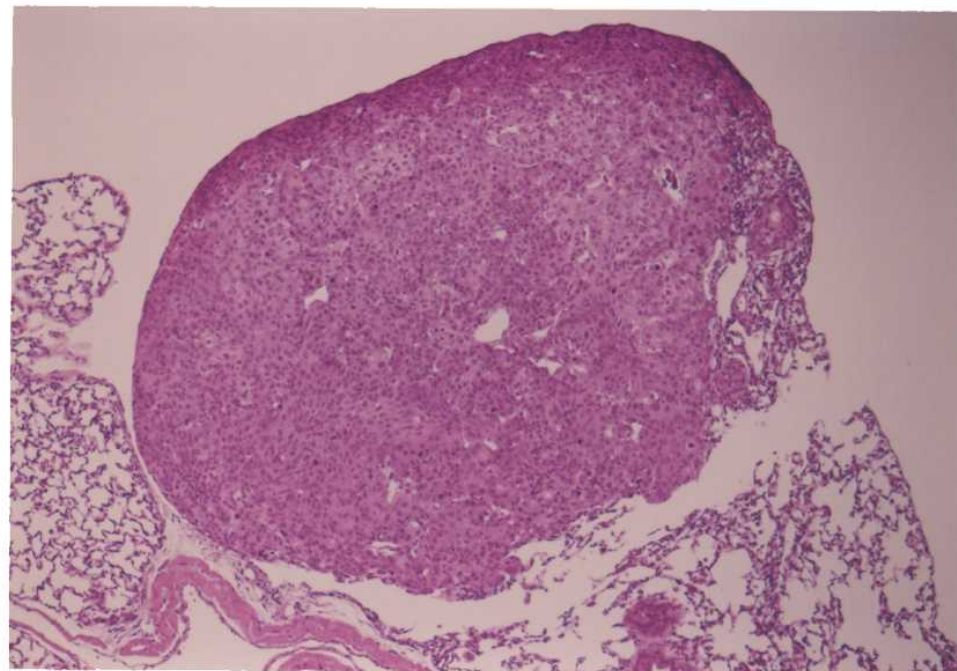


图 30. NCI-H322 培养细胞株移植结果
(肺内肿瘤像、X20)

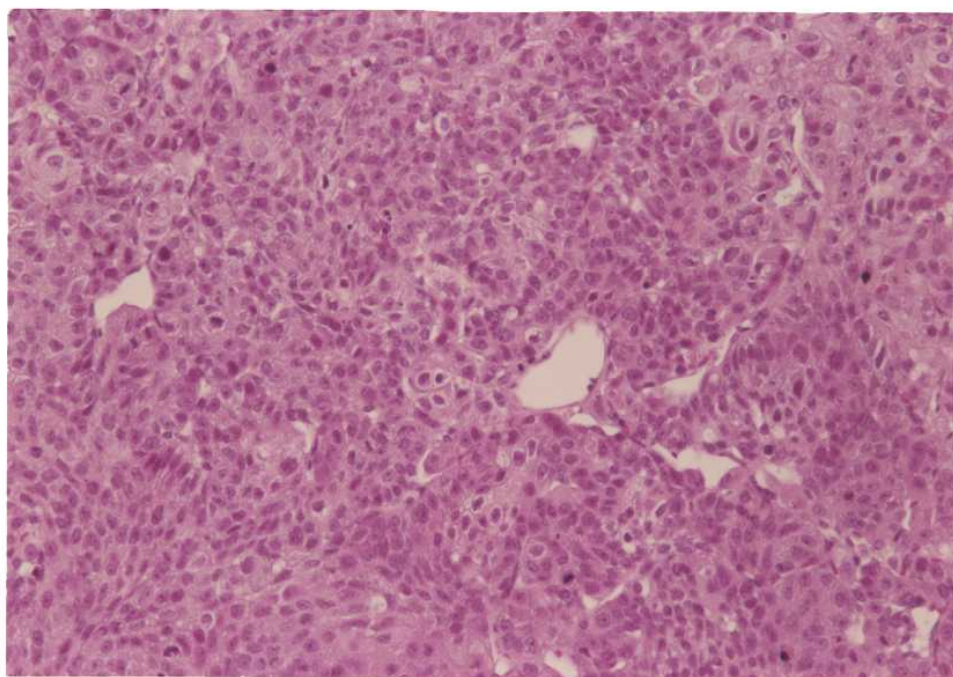


図 31. NCI-H322 培養細胞株移植結果
(肺内腫瘍像 (低分化な増殖形態を示す)、X50)

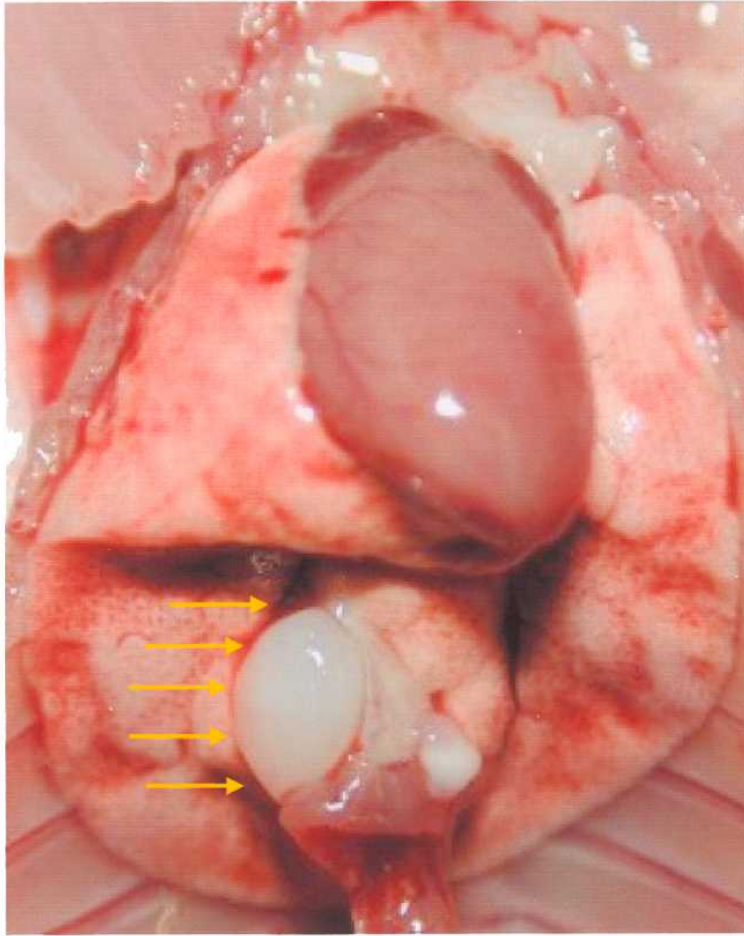


图 32. NCI-H23 培养细胞株移植结果
(肉眼像、肺内肿瘤形成)

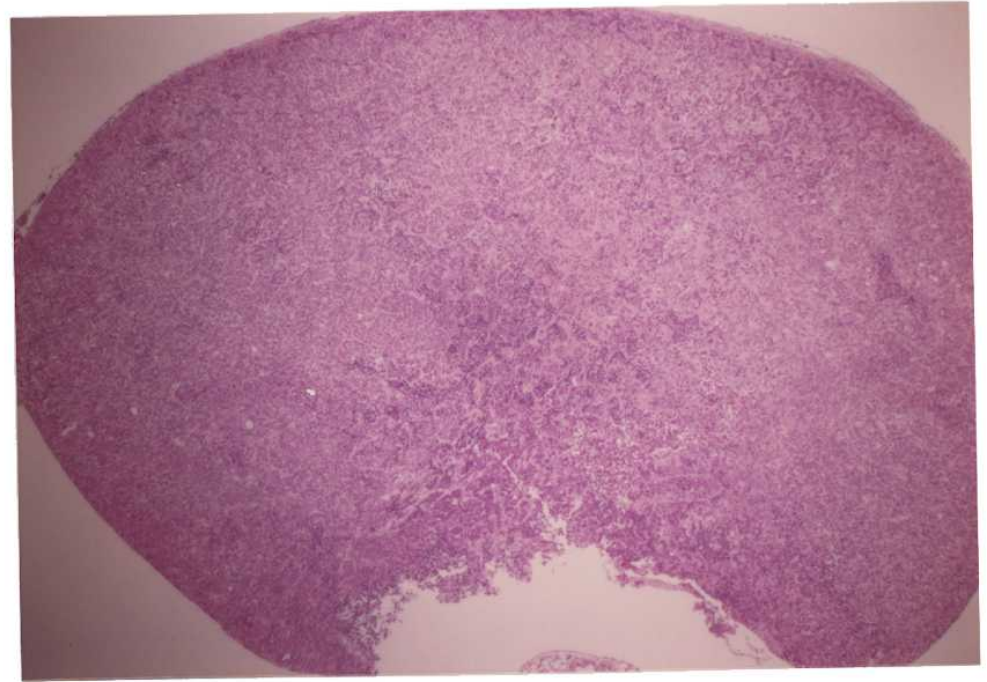


图 33. NCI-H23 培养细胞株移植结果
(肺内肿瘤像、X10)

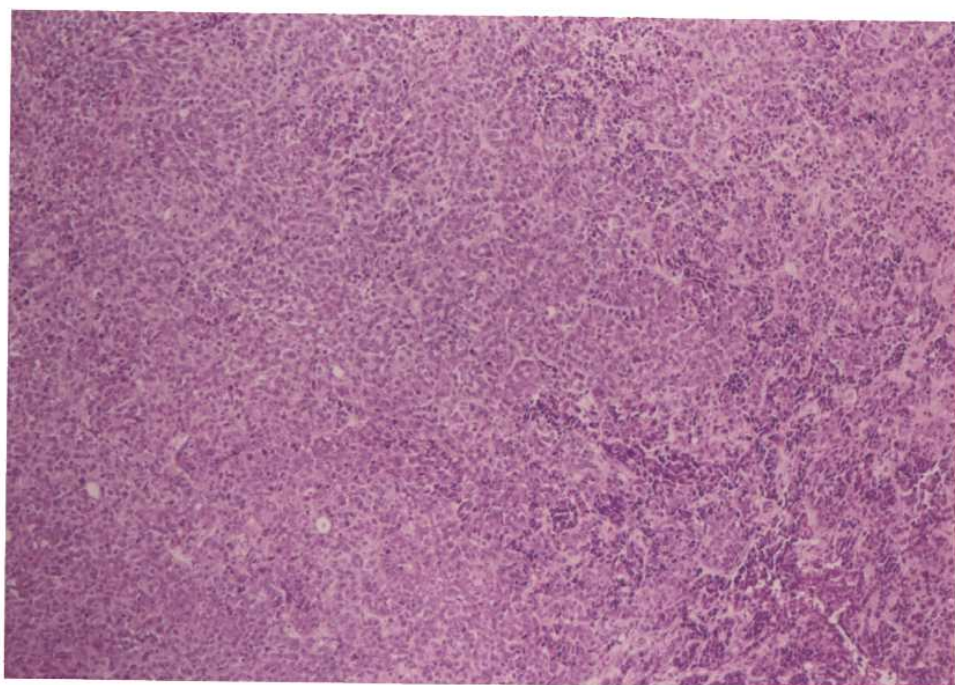


図 34. NCI-H23 培養細胞株移植結果
(肺内腫瘍像、X20)

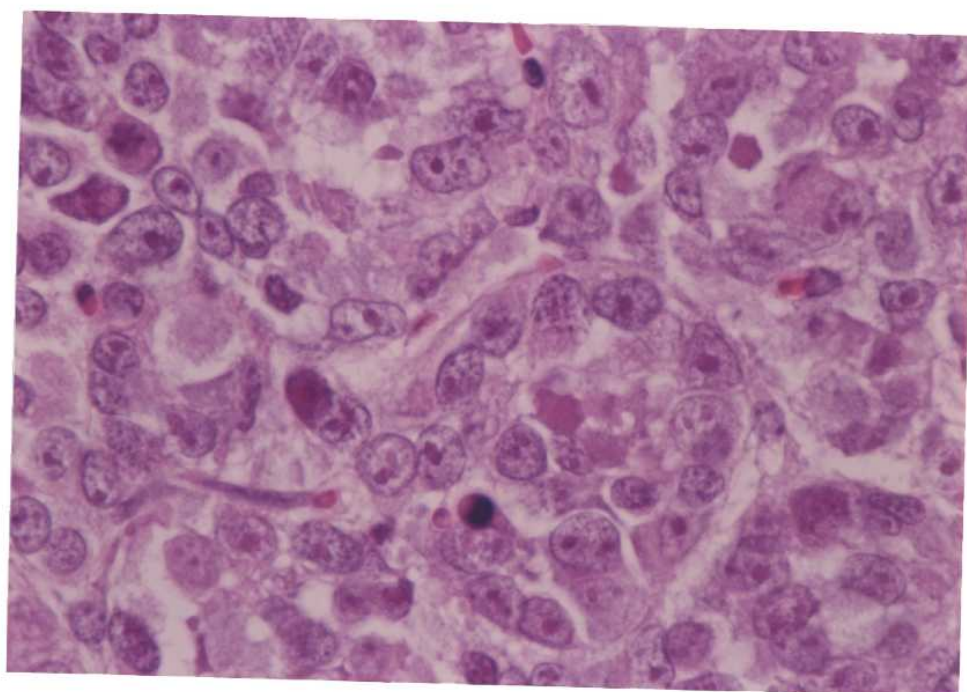


図 35. NCI-H23 培養細胞株移植結果
(肺内腫瘍像(低分化な増殖形態を示す)、X200)

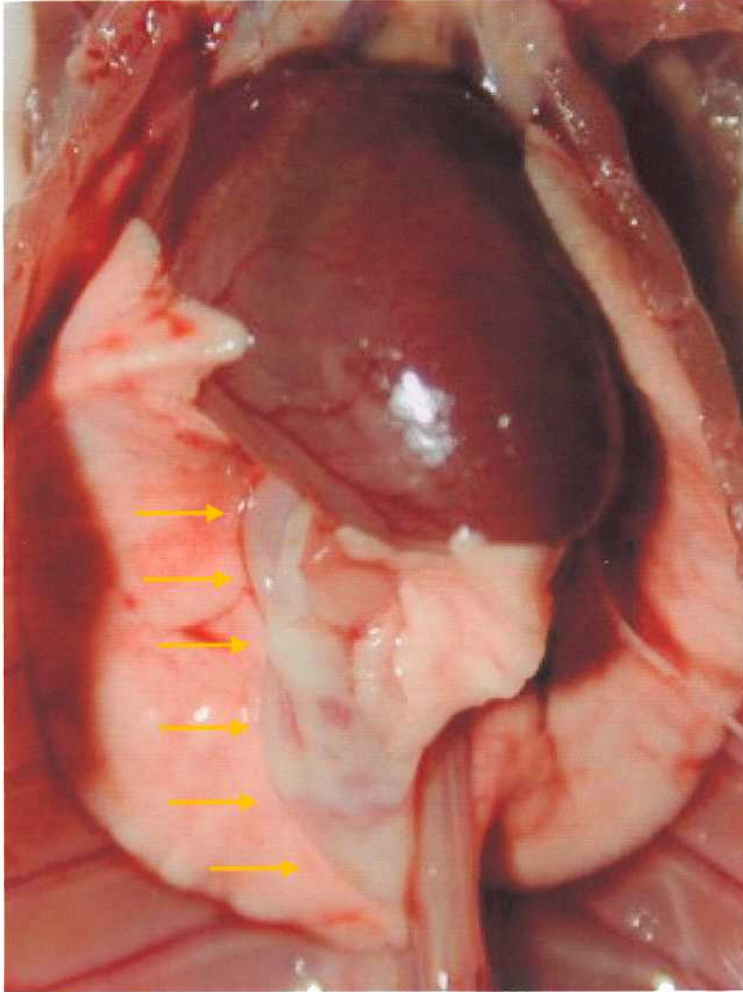


图 36. Calu-3 培养细胞株移植结果
(肉眼像、肺内肿瘤形成)

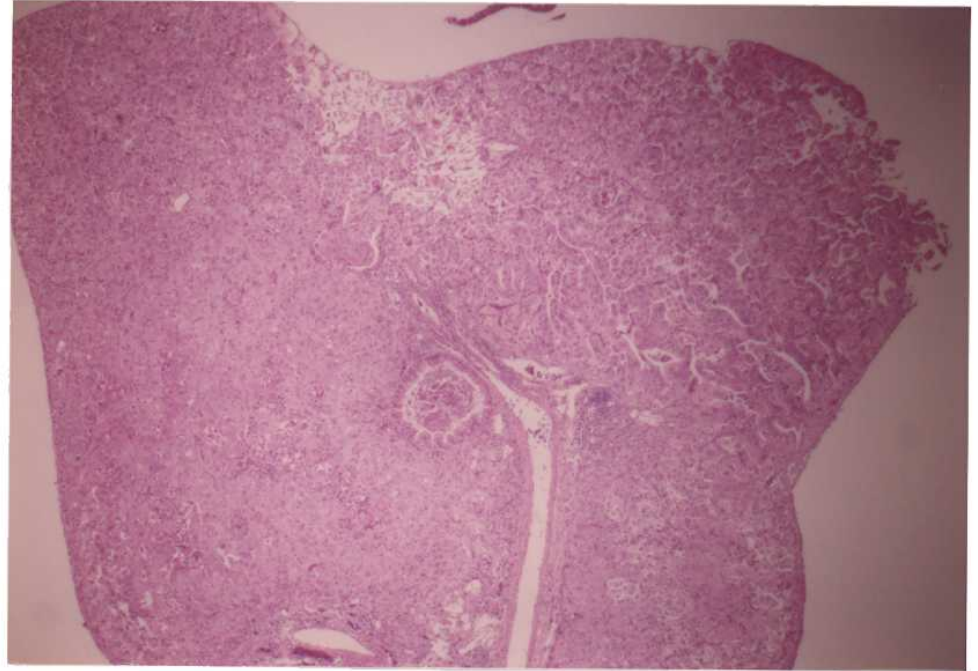


图 37. Calu-3 培养细胞株移植结果
(肺内肿瘤像、X10)

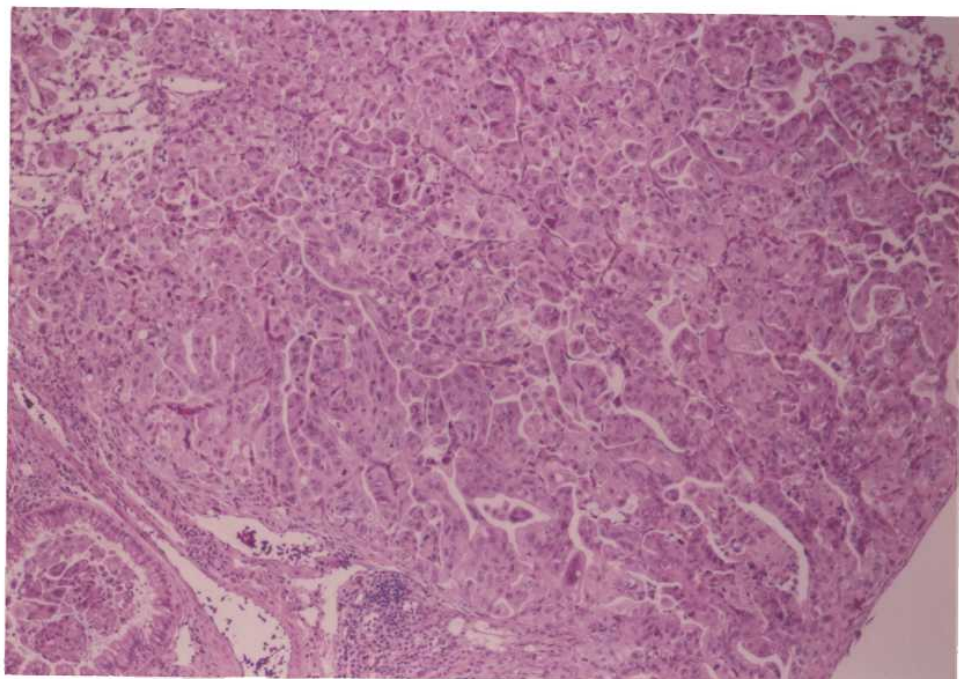


図 38. Calu-3 培養細胞株移植結果
(肺内腫瘍像、X20)

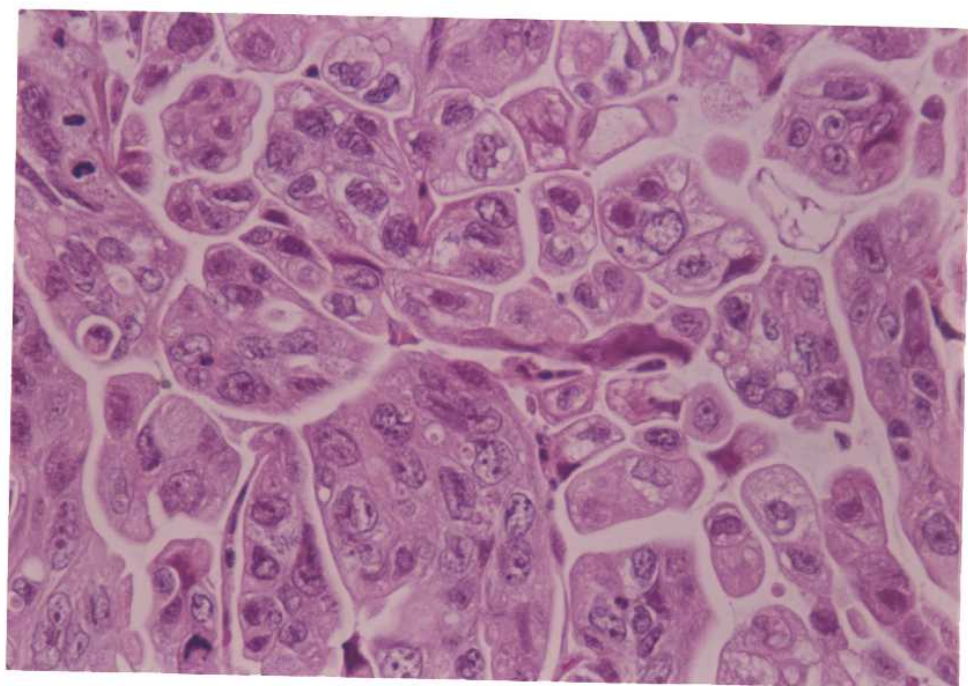


図 39. Calu-3 培養細胞株移植結果
(肺内腫瘍像(低分化な増殖形態を示す)、X100)

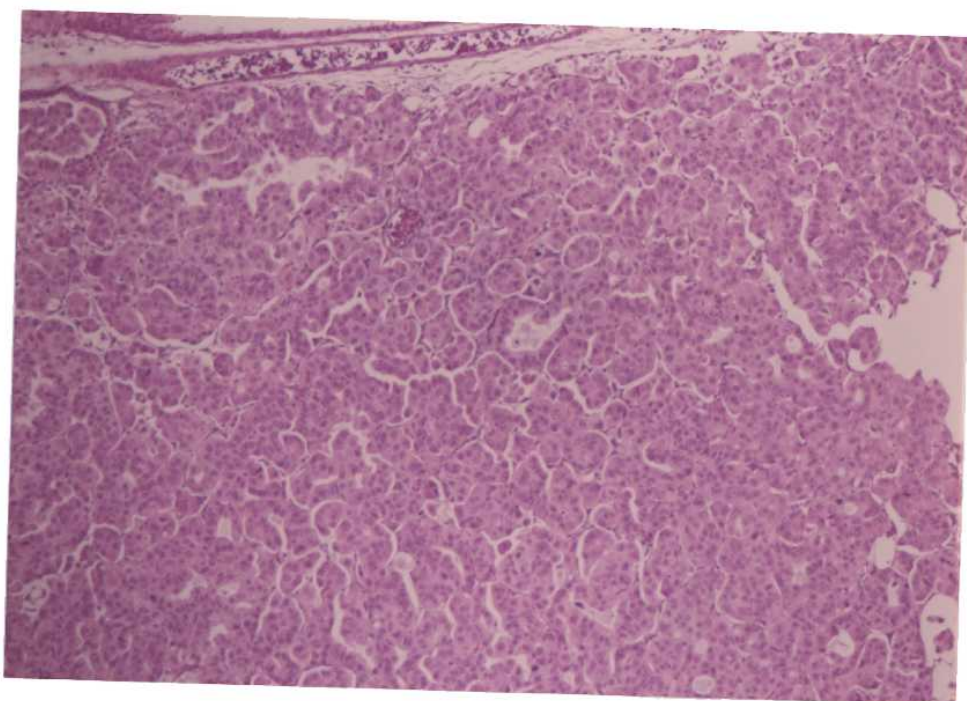


図 40. LC-2/ad 培養細胞株移植結果
(肺内腫瘍像、X20)

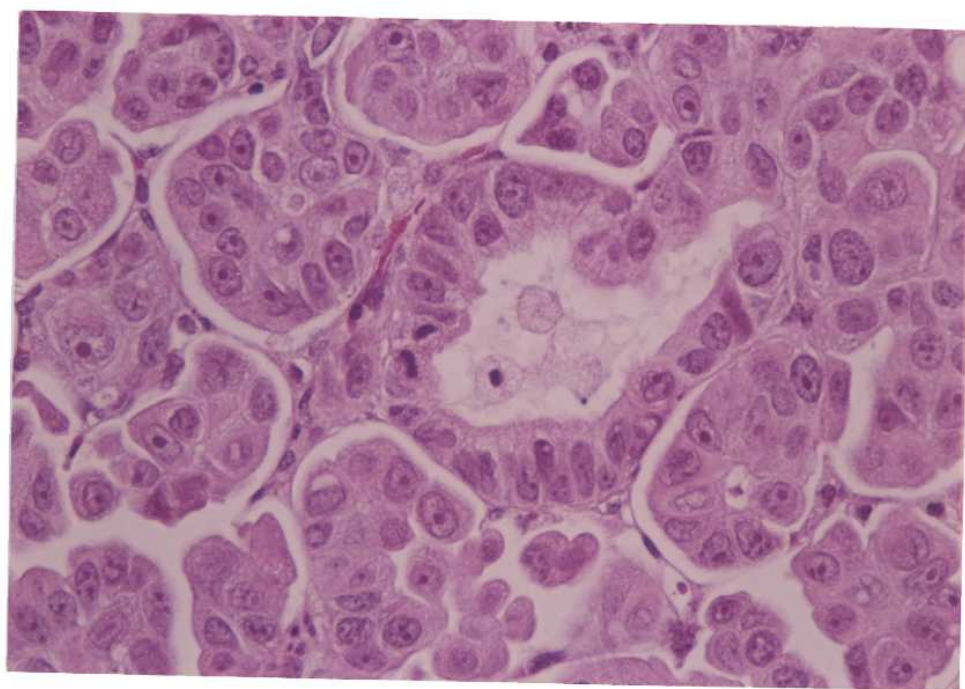


図 41. LC-2/ad 培養細胞株移植結果
(肺内腫瘍像(腺管様増殖および低分化な増殖形態を示す)、X100)