

悪性黒色腫における基底膜成分および  
 インテグリン  $\beta_1$  サブファミリーの  
 免疫組織学的検討

新潟大学医学部皮膚科学教室（主任：佐藤良夫教授）

兼子 泰行

Immunohistochemical Alterations of Basement  
 Membrane Components and Fibronectin  
 Receptor in Malignant Melanoma

Yasuyuki KANEKO

*Department of Dermatology, Niigata University School of Medicine  
 (Director: Prof. Yoshio SATO)*

To investigate alterations in the basement membrane (BM) and of fibronectin receptor (FNR) in malignant melanoma (MM), the tumor were studied immunohistochemically by double immunofluorescent staining using monoclonal antibodies to the core protein of heparan sulfate proteoglycan (HSPG), collagen type III (C-3) and chondroitin 6-sulfate (C6S) as well as antiserum to laminin, collagen type IV (C-4), fibronectin and fibronectin receptor. In MM in situ, C-4, laminin and HSPG were preserved as a continuous linear band on the dermo-epidermal junction (DEJ), while C6S is extensively lost from the DEJ and fibronectin is remarkably decreased in the papillary dermis compared with the normal skin. In invasive MM, although the distribution pattern was varied case by case, the BM components were not decreased. The cases were divided into two groups by the distribution pattern; a great amount of each BM component were localized on the surface of tumor cells, or surrounded tumor nests, forming the large nests. In all but one cases examined, however, C6S was absent from the BM zone of the melanoma nests in the dermis. These data indicates that although C6S was absent, the other BM components were actively synthesized by tumor cells, and that the BM components were altered in phase of MM in situ.

Intensity of FNR of melanoma cells were generally more fainter than those of infiltrating lymphocytes in the dermis, basal cells of the epidermis and endothelial cells

Reprint requests to: Yasuyuki KANEKO  
 Department of Dermatology, Niigata  
 University School of Medicine, Asahimachi-  
 dori 1, Niigata City, 951, JAPAN.

別刷請求先：〒951 新潟市旭町通1番町  
 新潟大学医学部皮膚科学教室

兼子 泰行

of small vessels. There were no significant differences in their intensity of melanoma cells between each tumor progression phase. Therefore, the present study may reveal that these receptors do not relate to invasion or metastasis of the tumor.

Key words: malignant melanoma, basement membrane, extracellular matrix, fibronectin receptor, integrin

悪性黒色腫, 基底膜, 細胞外物質, フィブロネクチンレセプター, インテグリン

## はじめに

皮膚の悪性黒色腫は、腫瘍初期から転移に至る段階的進展を肉眼的かつ組織学的に捉えやすいため癌進展の研究の対照としてよく研究されている<sup>1)2)</sup>。臨床的には結節や腫瘤を伴わない色素斑の状態であるメラノーマ in situ の時期では、組織学的には長期間にわたり異型メラノサイトが緩やかな平面的拡大を続け、ときに真皮浅層に滴落したり、小さい腫瘍巣を形成する。この段階までを radial growth phase (RGP)<sup>1)2)3)</sup> という。やがて肉眼的には急激に増大する隆起性腫瘍が出現し、組織学的には悪性度のより高い腫瘍細胞が出現し、真皮内に大きな結節を形成しながら、真皮深層や皮下組織に浸潤する。この段階を vertical growth phase (VGP)<sup>1)2)3)</sup> といい、高率に転移する。VGP の腫瘍細胞は、RGP のそれよりも高い増殖能と浸潤能を持ち、高い転移能を獲得している<sup>3)</sup>。

腫瘍細胞と細胞外物質の相互作用はその浸潤および転移と密接に関連している<sup>4)5)6)</sup>。Liotta の三段階説によれば、まず腫瘍細胞はその細胞表面の基底膜成分に対するレセプターを介して基底膜に接着する。次に種々のプロテアーゼを分泌し基底膜を破壊する。そしてそこを通り移動する。腫瘍細胞はこれらの過程を繰り返すことにより、その転移が可能となる<sup>4)</sup>。そのため RGP および VGP の各時期における腫瘍細胞の細胞生物学的な差は腫瘍細胞周囲の細胞外物質の分布および腫瘍細胞表面の細胞外物質に対するレセプターの発現に反映されている可能性が考えられている。本研究では悪性黒色腫の各進展段階における皮膚基底膜の普遍的成分であるⅣ型コラーゲン (C4)、ラミニン (LN)、ヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG)<sup>7)8)9)</sup>、コンドロイチン 6-硫酸 (C6S)<sup>9)10)11)</sup> さらにフィブロネクチンレセプター (FNR) の変化を免疫組織学的に検討した。

## 材料と方法

### 抗体と酵素

Timpl ら<sup>12)</sup>の方法に従い LN を、Glanville ら<sup>13)</sup>

の方法に従い C4 を、Ruoslahti<sup>14)</sup>らの方法によりフィブロネクチン (FN) をそれぞれ精製し、これらを抗原として家兎抗血清を作成した。HSPG に対する単クローン性抗体 HS47 は、静岡県立大学食品栄養科学科の伊勢村護博士により供与されたものを使用した。C6S に対する単クローン性抗体 (3B3) は生化学工業社 (東京)、Ⅲ型コラーゲン (C3) に対する単クローン性抗体および FNR に対する抗家兎抗血清は Chemicon 社 (El Segundo, CA) より購入した。二次抗体として用いたローダミン標識抗家兎 IgG 山羊血清は Tago 社 (Burlingame, CA)、FITC 標識抗マウス免疫グロブリン家兎血清は Dakopatts 社 (Glostrup, Denmark) より購入した。コンドロイチナーゼ ABC (Proteus vulgaris 由来) は、生化学工業社より購入した。

### 材料

悪性黒色腫の18例を検討した。病型の内訳はメラノーマ in situ 6例、表在性拡大型2例、末端黒子型5例、結節型5例であった。腫瘍の進展度別症例数はメラノーマ in situ 6例、RGP (メラノーマ in situ を除く) 3例、VGP 6例、皮膚転移6例。のべ21病変について検討した。皮膚生検あるいは切除された腫瘍組織は液体窒素で急速冷凍し-70℃に保存した。

### 方法

腫瘍組織を6ミクロンの厚さで薄切して新鮮凍結標本切片を得、室温で30分間乾燥固定し、phosphate-buffered saline (PBS) で洗浄した後、切片に抗 C4 抗体または抗 LN 抗体、抗 FN 抗体、抗 FNR 抗体を反応させた。さらに洗浄後、二次抗体としてローダミン標識抗家兎 IgG 山羊血清を反応させた。次に二重染色を行う目的で、抗 C3 単クローン性抗体、HS47 あるいは 3B3 を反応させ、洗浄後 FITC 標識抗マウス免疫グロブリン家兎血清を反応させた。C6S の検出には前処理として、Fine ら<sup>11)15)</sup>の方法に従い、4%パラホルムアルデヒドで30分間固定、洗浄後 0.1M 塩化アンモニウムに15分間浸漬し、洗浄後コンドロイチナーゼ ABC (0.1IU/ml トリス酢酸溶液, pH 7.3, BSA 1mg/ml 含有) と30分間反応させた切片を用いた。この前処理の対照としてコ

ンドロイチナーゼ ABC を含まない同じ緩衝液を用いた。

すべての操作は室温で行われ、各抗体の反応時間は30分間。PBS 洗浄は5分間を3回繰り返した。家兎抗血清に対する対照は正常家兎血清、モノクローナル抗体に対する対照には PBS を用いた。全ての抗体を反応させた後、切片は PBS 洗浄後、90%グリセリン/PBS (p-phenylenediamine 含有) で封入し、Zeiss 蛍光顕微鏡で観察した。

### 結 果

正常皮膚において C4, LN, HSPG は表皮真皮境界部、血管周囲、付属器周囲の基底膜に線状かつ連続性に共存して認められた (図 1)。FN は真皮乳頭層において表皮基底膜から真皮網状層に向かって網状、線維状に認められ、次第に減弱する分布を示した (図 2-a)。以下、悪性黒色腫における基底膜成分の変化を述べていくが、一般に C4, LN, HSPG は共存していた。

メラノーマ in situ では C4, LN, HSPG は表皮基底膜において断裂することなく、線状を呈していた。しかし、その蛍光強度は正常皮膚基底膜と比較してところどころ減弱する傾向が認められた。

メラノーマ in situ の表皮基底膜における C6S の蛍光強度は著明に減弱し、さらに異型メラノサイトで完全に置換わっている表皮の基底膜では C6S の蛍光は消失



図 1 正常皮膚の抗ラミニン抗血清を用いた蛍光抗体法所見

表皮真皮境界部 (J)、血管周囲 (V) の基底膜に線状かつ連続性に認めらる。

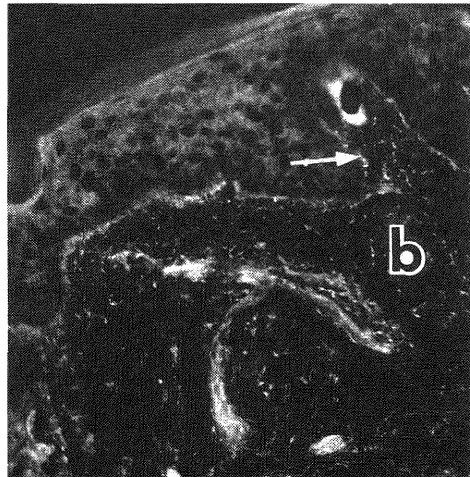
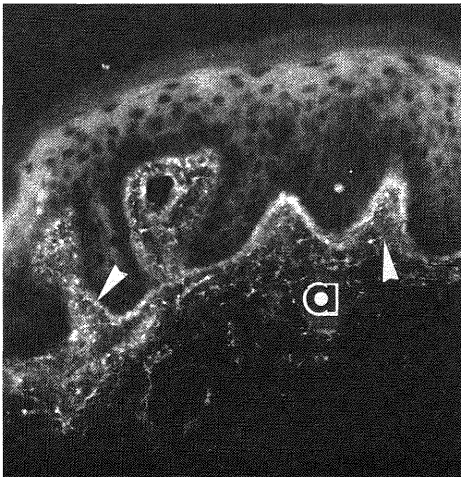


図 2 正常皮膚 (a) とメラノーマ in situ (b) における抗フィブロネクチン (FN) 抗血清を用いた蛍光抗体法所見

正常皮膚 (a) では FN は真皮乳頭層において表皮基底膜から真皮網状層に向かって網状、線維状に認められ (▲)、次第に減弱する分布を示している。それに対しメラノーマ in situ (b) では FN が表皮基底膜直下に僅かに認められる (↑) のみである。

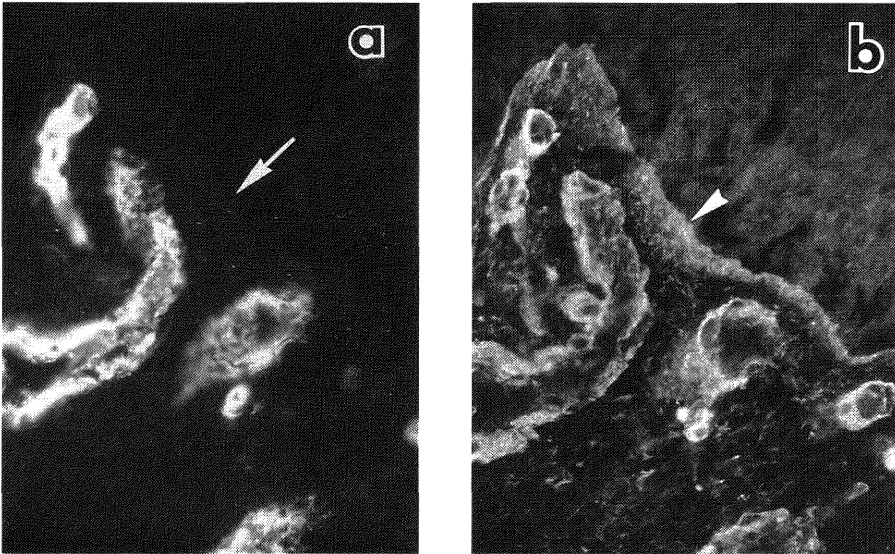


図3 メラノーマ in situ におけるコンドロイチン6硫酸 (C6S) に対する単クローン性抗体 (a) と抗IV型コラーゲン (C4) 抗血清 (b) を用いた蛍光抗体法二重染色所見

表皮基底層は腫瘍細胞に完全に置換されている。C4 (b) では減弱しているものの表皮基底膜にはほぼ連続性に認められる (▲) のに対し、C6S (a) の蛍光は消失している (↑)。

していた (図3-a)。しかし、二重染色法により同一基底膜を観察すると C4, LN, HSPG は減弱するもののほぼ連続して認められた (図3-b)。さらにメラノーマ in situ では、真皮乳頭層における FN が、正常皮膚との比較では6例中5例で明らかに減弱していた (図2-b)。

C6S の蛍光の消失は悪性黒色腫の進展度に拘らず全18症例中1症例を除きすべての症例で観察された。

RGP に属する真皮乳頭層の個々の腫瘍細胞または小さい腫瘍巣は、C4, LN, HSPG を保持する基底膜に囲まれており、それら基底膜成分は一樣な太さの線状を呈し、正常表皮基底膜と同程度の蛍光強度を有していた (図4)。RGP を認めた3症例はいずれも同様の染色態度を示した。

VGP と皮膚転移巣では C6S を除けば豊富な基底膜成分の沈着を認め、その分布パターンは2型に分類された。第一のパターンは、大きな腫瘍巣を囲むようにほぼ連続性を保って線状に分布していた (図5)。少量の基底膜成分は腫瘍巣内にも存在するが、二重染色でみると、間質成分の C3 を伴って腫瘍内に存在するもの他にこの間質コラーゲンを伴わずに腫瘍細胞間に存在

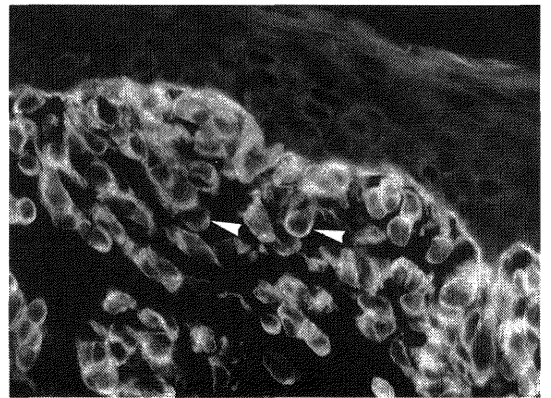


図4 表在性拡大型悪性黒色腫のヘパラン硫酸プロテオグリカン (HSPG) に対する単クローン性抗体を用いた蛍光抗体法所見

真皮乳頭層に滴落した radial growth phase の腫瘍細胞 (▲) が、おのおの HSPG を保持した基底膜に囲まれており、その蛍光は明瞭で一樣な太さの線状を呈している。

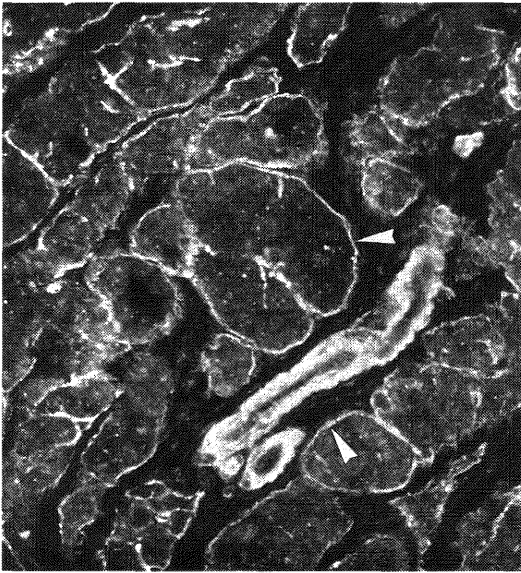


図 5 真皮深層の腫瘍細胞巣における抗 LN 抗血清を用いた蛍光抗体法所見  
LN は大きな腫瘍巣を囲むようにほぼ連続性を保って線状に分布している (▲).

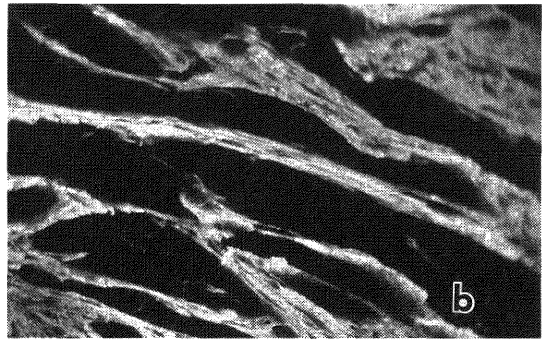
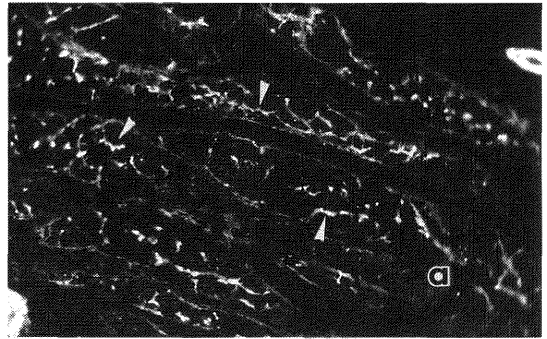


図 6 真皮深層の腫瘍細胞巣における抗 LN 抗血清 (a) と抗 III 型コラーゲン (C3) 単クローン性抗体 (b) を用いた蛍光抗体法二重染色所見

図 5 と同じパターンを示す腫瘍細胞巣の内部に、C3 と共存しない C4 が腫瘍細胞間に存在している (▲).

表 1 基底膜成分の分布パターン  
A\*, B\*\*

症 例	真皮深層の腫瘍巣	真皮深層の腫瘍巣	皮転移巣
1 ALM☆	A	B	B
2 SSM☆☆	A	B	
3 NM☆☆☆		B	
4 ALM	A		A
5 NM		B	
6 SSM		B	
7 NM			B
8 ALM			A
9 NM			A
10 NM			B

\*：腫瘍巣の外周を囲む様に線状の基底膜成分がほぼ連続性を保って存在するパターン。

\*\*：腫瘍細胞間に線状または顆粒状を呈して不規則に存在するパターン。

☆：acral lentiginous melanoma.

☆☆：superficial spreading melanoma.

☆☆☆：nodular melanoma.

するものがあつた (図 6-a, b). 第二のパターンは、基底膜成分が腫瘍細胞間に不規則に存在するもので、線状を呈する部分や顆粒状を呈する部分があり、その蛍光強度は一定でなかつた (図 7). 二重染色では基底膜成分は間質成分 (C3) と共存しているようにみえた. しかし、一部では間質成分の共存しない部分にも基底膜成分は認められた. これらの 2 つのパターンは、同一切片のなかでも両者が認められることがあつたが、いずれかが明らかに優位であつた (表 1).

抗家兎血清の代わりに正常家兎血清または単クローン性抗体の代わりに PBS を用いたコントロール切片では前者の場合ローダミンの蛍光は認めないが、FITC の特異染色は認められ、さらに後者の場合ローダミンの特異蛍光は認められるものの FITC の蛍光は認められなかつた. このことはそれぞれの蛍光は適切な対応する抗原のみを認識していることを示している.

正常皮膚において FNR は表皮基底細胞、血管内皮



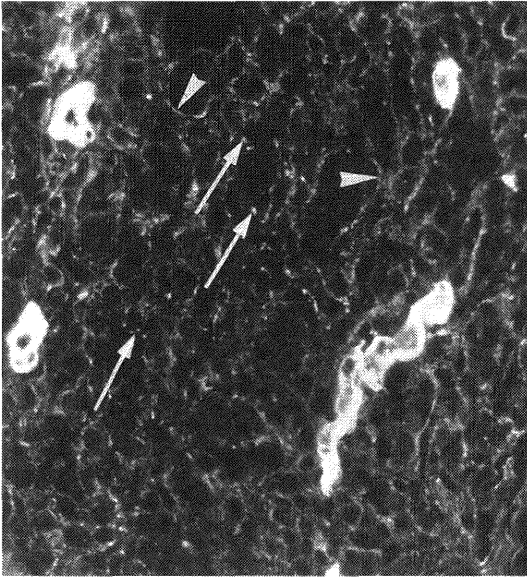


図7 真皮深層の腫瘍細胞巣の抗LN抗血清を用いた蛍光抗体法所見

LNは腫瘍細胞間に不規則に存在しており、線状(▲)または顆粒状(↑)を呈し、蛍光強度も一定していない。

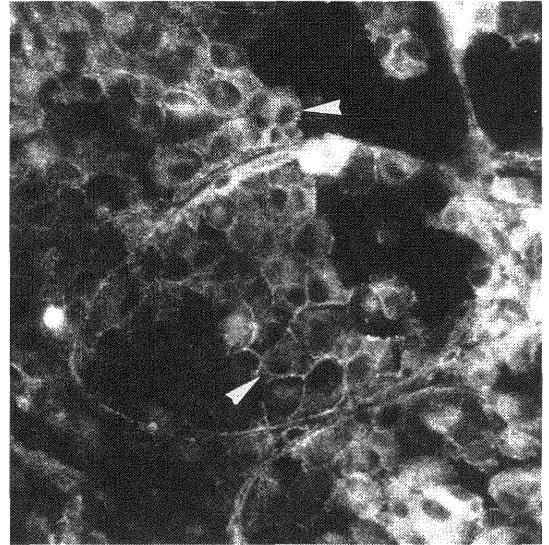


図9 悪性黒色腫の皮膚転移巣における抗フィブロネクチンレセプター抗血清を用いた蛍光抗体法所見

腫瘍細胞のほとんどが、血管内皮細胞と同等の強い蛍光をその細胞表面に持っている(▲)。

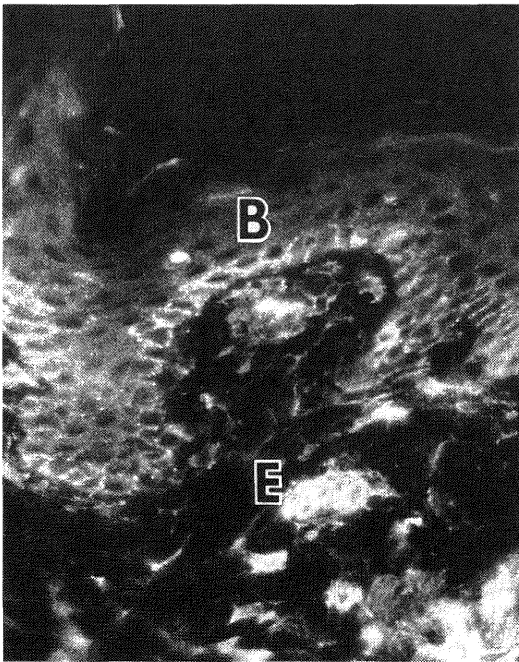


図8 正常皮膚の抗フィブロネクチンレセプター抗血清を用いた蛍光抗体法所見

表皮基底細胞(B)と血管内皮細胞(E)が強い蛍光を細胞表面に持っている。

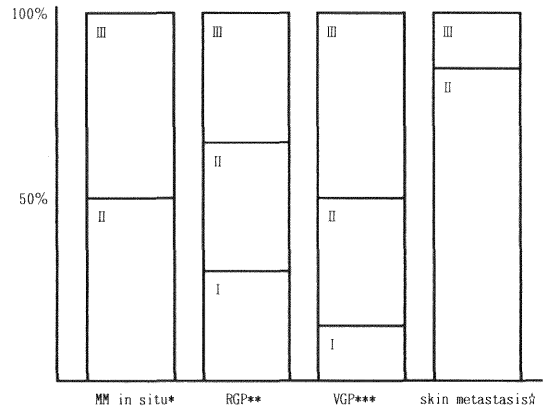


図10 悪性黒色腫の各進展段階における蛍光強度別の割合

悪性黒色腫の進展と腫瘍細胞のフィブロネクチンレセプターの発現強度の間に有意な関係は認められない。

\*: melanoma in situ n=6.

\*\* : radial growth phase (MM in situを除く) n=3.

\*\*\*: vertical growth phase n=6.

☆: n=6.

Ⅲ: 表皮基底細胞や血管内皮細胞と同等の蛍光を持つ腫瘍細胞が目立つもの。

Ⅱ: ⅢとⅠの中間。

Ⅰ: 微弱。

細胞の細胞表面で検出された。さらに浸潤した炎症細胞表面にも基底細胞と同様の蛍光強度で認められた(図8)。腫瘍細胞表面の FNR の蛍光強度を定量することはできないので、同一切片内の表皮基底細胞または血管内皮細胞と比較することによってその蛍光強度を三段階に分けて評価した。すなわち第一段階；微弱，第二段階；第一と第三段階の中間，第三段階；表皮基底細胞または血管内皮細胞と同等または近い蛍光強度をもつ腫瘍細胞が目立つものである(図9)。悪性黒色腫の各進展段階における蛍光強度別症例数の割合を示した(図10)。悪性黒色腫の進展と腫瘍細胞の FNR の発現強度の関係に相関は認められなかった。

## 考 案

悪性黒色腫の RGP と VGP における黒色腫細胞の細胞生物学的な違いに関する研究は数多くあるが、それらによれば VGP の腫瘍細胞は細胞生物学的に RGP の腫瘍細胞とは異り、むしろ転位巣を形成する腫瘍細胞に近いと考えられている<sup>16)17)</sup>。RGP の腫瘍細胞は強い浸潤能を持たず、真皮乳頭層にとどまり転移することはない<sup>18)</sup>のに対し VGP の腫瘍細胞は真皮に深く浸潤し、高率に転移する<sup>1)2)3)</sup>。より高い浸潤能、転移能を有する悪性腫瘍細胞は、プロテアーゼ活性がより高く<sup>4)5)19)</sup>、基底膜破壊が高度に進んでいると考えられる。皮膚癌で最も多く見られる有棘細胞癌では高分化型でも基底膜はよく保たれているのに対し、低分化型では基底膜の断裂や消失が認められ、基底膜成分は著明に減少していた<sup>20)</sup>。さらに腫瘍巣のプロテアーゼ活性も低分化型が高分化型より高かった<sup>21)</sup>。そのため悪性黒色腫においては、VGP の腫瘍巣や転移巣における基底膜が高度に破壊されていると予想された。

しかし、悪性黒色腫の VGP 腫瘍巣および転移巣の基底膜成分は、2つの分布パターンを呈したが、いずれも断裂はあるものの腫瘍巣周囲や腫瘍巣内に不規則に分布しており、むしろ C6S 以外の基底膜成分は有棘細胞癌に比べると量的に著明に増加していた。

電顕的には真皮に深く浸潤している腫瘍細胞の周りには lamina densa は確認されない<sup>22)</sup>。今回データには示さなかったが我々も同様の電顕所見を得ている。これは生成された基底膜成分がうまく集合体を作れない<sup>23)</sup>ことを示唆する。また基底膜成分の一部は間質コラーゲンと共存せず、細胞表面と思われる部位に線状、顆粒状に沈着していた。

近年、in vitro において腫瘍細胞の浸潤および転移

に 67kd のラミニンレセプターやインテグリンの他に、細胞表面の LN が重要な役割を担っていることが示唆されてきた<sup>4)5)6)24)25)</sup>。また早期に転移を来した有棘細胞癌の症例の腫瘍細胞表面にも基底膜成分を認めたものもありその転移との関係が考えられている<sup>26)</sup>。特に悪性黒色腫では基底膜成分産生能が高まっていると考えられるが、これらの腫瘍細胞表面の細胞外物質が多分子結合性を介して転移に利用されている可能性も示唆される<sup>27)</sup>。

C6S は18症例中17症例で検出できなかった。有棘細胞癌では C6S は全く基底膜上に認められないが、基底細胞癌では C6S を保持している<sup>20)</sup>ことからこの現象は皮膚癌の全てで認められるものではない。C6S が検出されなかったのは、C6S が腫瘍細胞の生成するプロテアーゼに対する感受性が非常に高いために消失した可能性もあるものの、その選択的で完全な蛍光の消失はむしろ悪性黒色腫細胞自身の C6S 生成能の喪失のためである可能性が高い。一方、今回データに示さなかったが、母斑細胞母斑において C6S は表皮内、真皮内を問わず、その細胞巣の基底膜に減弱してはいるが残存していたことから、今後症例数の積み重ねが必要であるが、C6S の有無により悪性黒色腫と母斑細胞母斑の鑑別に利用できるかもしれない。

有棘細胞癌の carcinoma in situ と考えられるポーン病や光線角化症では C6S は腫瘍基底膜上によく保持されていた<sup>20)</sup>ことから、有棘細胞癌における C6S 産生能は carcinoma in situ から carcinoma に進展する過程で失われると考えられた<sup>20)</sup>。この点、悪性黒色腫では in situ ですでに C6S は検出されず、さらに FN も減弱している。これらの所見はメラノーマ in situ の時期ですでに基底膜の性状が変化していることを示唆している。それがどのような意味があるのか今後の検討により明らかにしなければならない。

最近、インテグリンと呼ばれる細胞接着因子を特異的に認識するレセプターの一群の存在が明らかとなった。インテグリンは  $\alpha$  サブユニットと  $\beta$  サブユニットからなる二量体を形成し  $\beta$  サブユニットにより  $\beta_1$  から  $\beta_3$  の3群に分類される。 $\beta_1$  サブファミリーは VLA-1 から VLA-6 まであり C4 や LN, FN などの主に細胞外物質をリガンドとし、種々の細胞表面に認められるのに対し、 $\beta_2$  サブファミリーは白血球表面に限って認められる。ビトロネクチンレセプターと血小板の gp II b/III a が  $\beta_3$  に属する<sup>28)</sup>。

今回用いた抗 FNR 抗体は、インテグリン  $\beta_1$  サブ

ファミリーに属する  $\alpha_5 \beta_1$  を抗原として作成されたものであるが、ポリクローナル抗体であり、さらにその染色態から VLA-5 を特異的に認識しているというより  $\beta_1$  サブファミリーを広く認識していると考えられる<sup>29)</sup>。

これまでの *in vitro* の実験系で、正常細胞と腫瘍化した細胞間でインテグリンの差を検討した報告はいくつかあるが、悪性化に伴い増加するもの<sup>30)</sup>、減少するもの<sup>31)</sup>、変化をみないものがあり<sup>32)</sup>、一定した法則は見い出せない。一方、基底細胞癌や有棘細胞癌の組織上では正常表皮と比較すると、前者では  $\beta_1$  インテグリンが増加しているのに対し、後者では消失、減少など症例によりいろいろな変化を示す<sup>33)</sup>。

今回、ヒトの悪性黒色腫における  $\beta_1$  の発現強度と腫瘍の進展の関係をみた。細胞接着因子とそのレセプターの関係は複雑なシステムを形成している<sup>34)</sup> ため簡単な結論は出せないが、いずれの進展段階においても  $\beta_1$  インテグリンの発現強度は症例間に大きな差があり、 $\beta_1$  の発現強度と腫瘍の進展の間に相関が認められなかったことは転移能が高い細胞は細胞外物質に対するレセプターが必ずしも増加しているわけではないことを示す。

しかし、 $\beta_3$  インテグリンがヒトの悪性黒色腫の RGP にある腫瘍細胞には認められないのに対し、VGP や転移巣の腫瘍細胞には強く発現するという報告<sup>17)</sup> や、 $\alpha II b \beta_3$  インテグリンに対する抗体がヌードマウスに移植したヒトの悪性黒色腫細胞の増殖を著明に抑制したとする報告<sup>35)</sup> は悪性黒色腫細胞の浸潤、転移に  $\beta_3$  サブファミリー、特にビトロネクチンに対するインテグリンが深く関与していることを示唆していると思われる。

接着分子のリガンドを模した合成ペプチド<sup>25)36)37)38)</sup> や抗接着分子抗体<sup>35)</sup> による悪性腫瘍の増殖、浸潤、転移の抑制が試みられている。しかし、実際のヒトの悪性腫瘍の治療に応用するためには各接着分子の機能を *in vitro* の実験で検討するだけでなく、さらに動物実験における転移抑制実験や、実際のヒトの癌組織におけるこれらのインテグリンがどのように発現しているかについての免疫組織学的検討を行う必要があると考えられる。

## 結 語

悪性黒色腫の各進展段階における基底膜成分の変化および腫瘍細胞のフィブロネクチンレセプターの発現を免疫組織学的に検討して以下の結果を得た。

① コンドロイチン6硫酸とフィブロネクチンの消失および減弱はメラノーマ *in situ* ですでに始まってい

る。

② vertical growth phase の腫瘍巣および転移巣における基底膜成分の分布パターンは2型に分類できるが、そのパターンとそれを形成する腫瘍細胞の転移能の間には有意な関係は認められない。

③ 悪性黒色腫におけるコンドロイチン6硫酸の広汎な消失はその鑑別診断に利用できる可能性が示唆された。

④ 悪性黒色腫細胞のフィブロネクチンレセプターは、表皮基底細胞や血管内皮細胞と同等またはより弱く発現しており、腫瘍進展とその発現強度の間に有意な関係は認められなかった。

稿を終えるにあたり御指導、御校閲を戴きました佐藤良夫教授に深謝いたします。また直接御指導いただきました風間 隆博士、貴重な抗体を御供与くださった伊勢村護博士に御礼申し上げます。

## 参 考 文 献

- 1) Clark, W.H., Elder, D.E., Guerry, D., Epstein, M.N., Greene, M.H. and Van Horn, M.: A study of tumor progression: the precursor lesions of superficial spreading and nodular melanoma. *Hum. Pathol.*, **15**: 1147~1165, 1984.
- 2) Imber, M.J. and Mihm, M.C.: Pathology and recognition of malignant melanoma, Williams & Wilkins, Baltimore, 19~34, 1987.
- 3) Clark, W.H., Ainsworth, A.M., Bernardino, E.M., Yang, C.H., Mihm, M.C. and Reed, R.J.: The developmental biology of primary human malignant melanoma. *Semin. Oncol.*, **2**: 83~103, 1975.
- 4) Liotta, L.A., Rao, C.N. and Barsky, S.H.: Tumor invasion and the extracellular matrix. *Lab. Invest.*, **49**: 636~649, 1983.
- 5) Terranova, V.P., Hujanen, E.S. and Martin, G.R.: Basement membrane and the invasive activity of metastatic tumor cells. *J. Natl. Cancer. Inst.*, **77**: 311~316, 1986.
- 6) Terranova, V.P., Williams, J.E., Liotta, L.A. and Martin, G.R.: Modulation of the metastatic activity of melanoma cells by laminin and fibronectin. *Science*, **226**: 982~985, 1984.
- 7) Laurie, G.W., Leblond, C.P. and Martin, G.R.: Light microscopic immunolocalization of type IV



- collagen, laminin, heparan sulfate proteoglycan, and fibronectin in the basement membranes of a variety of rat organs. *Am. J. Anat.*, **167**: 71~82, 1983.
- 8) **Martinez-Hernandez, A. and Amenta, P.S.**: The basement membrane in pathology. *Lab. Invest.*, **48**: 656~677, 1983.
- 9) **Hayman, E.G., Oldberg, A., Martin, G.R. and Ruoslahti, E.**: Codistribution of heparan sulfate proteoglycan, laminin, and fibronectin in the extracellular matrix of normal rat kidney cells and their coordinate absence in transformed cells. *J. Cell Biol.*, **94**: 28~35, 1982.
- 10) **Engvall, E. and Ruoslahti, E.**: Binding of soluble form of fibroblast surface protein, fibronectin, to collagen. *Int. J. Cancer*, **20**: 1~15, 1977.
- 11) **Fine, J-D. and Couchman J.R.**: Chondroitin-6-sulfate-containing proteoglycan: A new component of human skin dermoepidermal junction. *J. Invest. Dermatol.*, **90**: 283~288, 1988.
- 12) **Timple, R., Rohoe, H., Robey, P.G., Rennard, S.P., Foidart, J.M. and Martin, G.M.**: Laminin-A glycoprotein from basement membranes. *J. Biol. Chem.*, **254**: 9933~9937, 1979.
- 13) **Glanville, R.W., Rauter, A. and Fietzek, P.P.**: Isolation and characterization of a native placental basement-membrane collagen and its component chains. *Eur. J. Biochem.*, **95**: 383~389, 1979.
- 15) **Fine, J-D. and Couchman, J.R.**: Chondroitin 6-sulfate proteoglycan but not heparan sulfate proteoglycan is abnormally expressed in skin basement membrane from patients with dominant and recessive dystrophic epidermolysis bullosa. *J. Invest. Dermatol.*, **92**: 611~616, 1989.
- 16) **Herlyn, M., Thurin, J., Balaban, G., Bencicelli, J.L., Herlyn, D., Elder, D.E., Bondi, E., Guerry, D., Nowell, P., Clark, W.H. and Koprowski, H.**: Characteristics of cultured human melanocytes isolated from different stages of tumor progression. *Cancer Res.*, **45**: 5670~5676, 1985.
- 17) **Albelda, S.M., Mette, S.A., Elder, D.E., Stewart, R., Damjanovich, L., Herlyn, M. and Buch, C.A.**: Integrin distribution in malignant melanoma: Association of the  $\beta_3$  subunit with tumor progression. *Cancer Res.*, **50**: 6757~6764, 1990.
- 18) **Elder, D.E., Guerry, D., Epstein, M.N., Zehngbot, L., Lusk, E., Van Horn, M. and Clark, W.H.**: Invasive malignant melanoma lacking competence for metastasis. *Am. J. Dermatopathol.*, **6**: 55~61, 1984.
- 19) **Liotta, L.A., Tryggvason, K., Garbisa, S., Ian Hart, Foltz, C.M. and Shahie, S.**: Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature*, **284**: 67~68, 1980.
- 20) 小黒啓子：皮膚悪性腫瘍における基底膜の変化—ポーエン病，光線角化症，基底細胞上皮腫，有棘細胞癌の免疫組織化学的検討—。日皮会誌，**101**: 1991，印刷中。
- 21) **Tsuboi, R., Yamaguti, T., Kurita, Y., Nakao, H., Ogawa, H. and Ishihara, K.**: Comparison of proteinase activities in squamous cell carcinoma, basal cell epithelioma, and seborrheic keratosis. *J. Invest. Dermatol.*, **90**: 869~872, 1988.
- 22) **Schmoeckel, C., Stolz, W., Sakai, L.Y., Burgeson, R.E., Timple, R. and Krieg, T.**: Structure of Basement Membranes in malignant melanoma and nevocytic nevi. *J. Invest. Dermatol.*, **92**: 663~668, 1989.
- 23) **Kleinman, H.K., McGarvey, M.L., Hassell, J.R. and Martin, G.R.**: Formation of a supramolecular complex is involved in the reconstitution of basement membrane components. *Biochemistry*, **22**: 4969~4974, 1983.
- 24) **Wewer, U.M., Tarabozetti, G., Sobel, M.E., Albrechtsen, R. and Liotta, L.A.**: Role of laminin receptor in tumor cell migration. *Cancer Res.*, **47**: 5691~5698, 1987.
- 25) **Iwamoto, Y., Robey, F.A., Graf, J., Sakai, M., Kleinman, H.K., Yamada, Y. and Martin, G.R.**: *Science*, **238**: 1132~1134, 1987.
- 26) 吉田伸江，風間 隆，伊藤雅章，坂本ふみ子，小黒啓子，手塚匡哉，田沢敏男，佐藤良夫：偽腺性有棘細胞癌。癌皮，**44**: 275~280, 1990.
- 27) **Barsky, S.H., Rao, C.N., Williams, J.E. and Liotta, L.A.**: Laminin molecular domains which

- alter metastasis in a murine model. *J. Clin. Invest.*, **74**: 843~848, 1984.
- 28) 島田眞路, 窪田泰夫: Cell adhesion molecules について. *皮膚病診療*, **12**: 17~22, 1990.
- 29) **Konter, U., Kellner, I., Klein, E., Kaufmann, R., Mielke, V. and Sterry, W.**: Adhesion molecule mapping in normal human skin. *Arch. Dermatol. Res.*, **281**: 454~462, 1989.
- 30) **Dedhar, S. and Saulnier, R.**: Alterations in integrin receptor expression on chemically transformed human cells: Specific enhancement of laminin and collagen receptor complex. *J. Cell Biol.*, **110**: 481~489, 1990.
- 31) **Plantefaber, L.C. and Hynes, R.O.**: Changes in integrin Receptors on oncogenically transformed cells. *Cell*, **56**: 281~290, 1989.
- 32) **Akiyama, S.K., Larjava, H. and Yamada, K.M.**: Differences in the biosynthesis and localization of the fibronectin receptor in normal and transformed cultured human cells. *Cancer Res.*, **50**: 1601~1607, 1990.
- 33) **Peltonen, J., Larjava, H., Jaakkola, S., Gralnick, H., Akiyama, S.K., Yamada, S.S., Yamada, K.M. and Uitto, J.**: Localization of integrin receptors for fibronectin, collagen, and laminin in human skin. *J. Clin. Invest.*, **84**: 1916~1923, 1989.
- 34) 下岡政志, 林 正男: 細胞接着因子の生物学的意義と臨床への応用. *臨床検査*, **34**: 1719~1724, 1990.
- 35) **Boukerche, H., Berthier-Vergnes, O., Bailly, M., Doré, J.F., Leung, L.L.K. and McGregor, J.L.**: A monoclonal antibody (LYP18) directed against the blood platelet glycoprotein IIb/IIIa complex inhibits human melanoma growth in vivo. *Blood*, **74**: 909~921, 1989.
- 36) **Saiki, I., Inda, J., Murata, J., Ogawa, R., Nishi, N., Sugimura, K., Tokura, S. and Azuma, I.**: Inhibition of the metastasis of murine malignant melanoma by synthetic polymeric peptides containing core sequences of celladhesive molecules. *Cancer Res.*, **49**: 3815~3822, 1989.
- 37) **Gehlsen, K.R., Argraves, W.S., Pierschbacher, M.D. and Ruoslahti, E.**: Inhibition of in vitro cell invasion by Arg-Gly-Asp-containing synthetic peptides. *J. Cell Biol.*, **106**: 925~930, 1988.
- 38) **Humphries, M.J., Yamada, K.M. and Olden, K.**: Investigation of the biological effects of anti-cell adhesive synthetic peptides that inhibit experimental metastasis of B16-F10 murine melanoma cells. *J. Clin. Invest.*, **81**: 782~790, 1988.

(平成3年1月31日受付)