

— 総説 —

癌 の 転 移

中 島 民 雄

新潟大学歯学部口腔外科学第一講座

Cancer Metastasis

Tamio Nakajima

First Department of Oral and Maxillofacial Surgery, School of Dentistry, Niigata University

は じ め に

ここ十数年、わが国の癌による死亡率は第1位を占め、4人に1人が癌で死んでいる。癌全体の2%程度を占める口腔癌の死亡者数も過去4-50年の間に約5倍になり、年間で3000人を越えている¹⁾。しかし、癌は以前思われていたような不治の病ではなくなり、最近の口腔癌の5年生存率も60-70%となっている²⁾。因みに、当科の舌癌の5年生存率は73%で、4人に1人しか死んでいない。これは手術法の進歩、とくに血管吻合を用いた再建術の導入、放射線療法や化学療法と手術との併用療法の普及、麻酔法の進歩による患者の術中、術後の全身管理の向上、CT, MR, USによる診断技術の進歩などのためである。ところが、臨床的にリンパ節転移が疑われた舌癌の5年生存率は46%で、転移なしとされた症例の86%に比較して有意に低くなっている。また、組織学的に転移が確認された舌癌の5年生存率は36%とさらに低く、転移なしの98%と好対照をなしている。口腔癌で臨床的にリンパ節転移が疑われる症例は40%を越えるとされており、これが患者の予後を左右する最も大きな要因となっている³⁾。

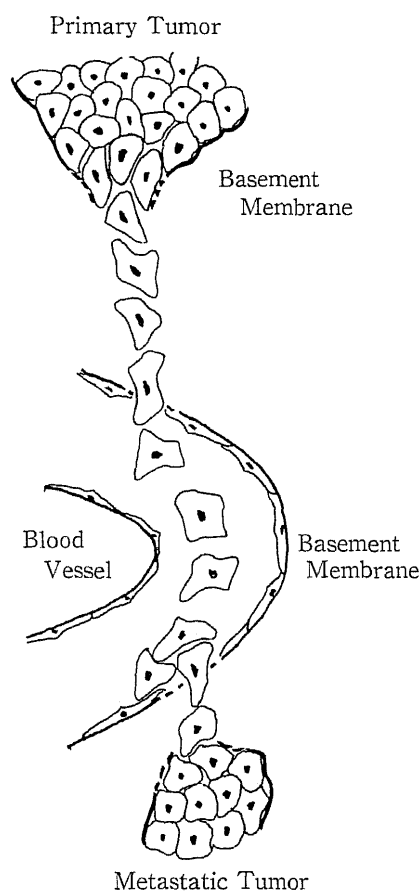
癌の転移の研究は、1973年のFidlerの肺に高頻度に転移する悪性黒色腫の細胞株の樹立と1986年のLiottaの基底膜浸潤における接着、分解、移動に関与する因子の提唱以来急速に発展し、血行性転移を中心にその機序が分子生物学的レベルで解明されつつある^{4,5)}。しかし、口腔癌の80-90%をしめる扁平上皮癌の転移の大部分はリンパ行性で、リンパ管には血管にみられるようなしっかりとした基底膜がないとかリンパ節内のリンパ管分布はほかの臓器の血管分布とは違うことから、リンパ節転移の機序は血行性の臓器転移と異なる可能性がある。そこで、今回は、主に癌の血行性転移の研究結果から考えら

れている転移機序を解説するとともに我々の教室の口腔癌リンパ節転移の研究結果を紹介する。

癌 の 転 移 機 序

言うまでもなく癌は遺伝子の病気である。癌化は化学物質、放射線、ウイルスなどの作用で始まり、initiation, promotion, progressionの過程を経て臨床的に認められる癌に成長する。この過程には癌遺伝子、癌抑制遺伝子がさまざまな形でかかわり合っており、この間に、癌は単クローンから多クローンの細胞集団へと発展し、その中に転移クローンの出現をきたすようになる。事実、フローサイトメーターで測定した核DNA量はひとつの腫瘍の中でも部位によって異なっており、また原発巣と再発巣、および原発巣と転移巣の間でもheterogeneityがみられる⁶⁾。したがって、癌は進行し続ける病気で、大きくなればなるほど転移能のあるクローンの現れる確率も増してくる。

転移は癌を特徴づける最も基本的特性のひとつで、血行性転移の場合、原発巣での細胞接着の低下、隣接組織への浸潤、血管内侵入、血中での運搬、遠隔組織での定着、血管外脱出、増殖を経て成立する(図1)。この過程には腫瘍細胞と腫瘍細胞、間質細胞、血管内皮細胞、免疫細胞などとの関係や接着因子、基質分解酵素、血管新生因子、細胞運動性、免疫、機械的因子などが複雑に関与している。そのかかわり方は腫瘍によって異なり、それが転移する時のリンパ行性か血行性かの分かれ道となったり、腫瘍毎の転移臓器特異性を示すことになったりする。口腔扁平上皮癌ではリンパ節転移が問題となるが、唾液腺腫瘍の腺様嚢胞癌の転移は大部分が血行性の肺転移である。以下、転移の機序とその過程で関係しているとされている主な因子について述べる。



1. Loosening of Cell Adhesion
Cadherin
Catenin
2. Invasion into Surrounding Tissues
MMP, TIMP
Motility Stimulating Factor
3. Vascular Invasion
Integrin
MMP, TIMP
4. Transport in Blood Stream
Mechanical Strength
Immunologic Reaction
5. Attachment to blood Vessel
CD44
Carbohydrate Antigen, Selectin
6. Extravasation and Proliferation
Integrin
MMP, TIMP

図1 癌転移の機序とそれに拘わる因子。

表1 E-カドヘリン, α カテニン, MMP-2, 3の発現と口腔癌リンパ節転移との関係^{10,21)}

| | E-カドヘリン | | | α カテニン | | | MMP-2 | | MMP-3 | |
|-----|---------|-------|-------|---------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | ++ | + | - | ++ | + | - | + | - | + | - |
| 転移率 | 5.9% | 37.9% | 77.8% | 0% | 27.5% | 66.7% | 81.5% | 25.0% | 88.9% | 50.0% |

1. 細胞接着の低下

正常な上皮細胞同士は細胞間接着帯やデスモゾームに存在する接着分子より強固に連結している。上皮から発生する癌細胞も同様に、それが転移をきたすためには、まず、細胞同士の接着が弱められ、癌細胞が胞巣から離脱する必要があるとされている。

癌転移の第一段階に関与している接着分子として注目されているのは、個体発生の過程で組織あるいは器官の形成に際して同種の細胞が集合する機構に中心的役割を演じているカドヘリンである。カドヘリンは接着帯を構成する約120kDaの Ca^{2+} 依存性の細胞膜貫通糖蛋白で、E-カドヘリン(epithelial), P-カドヘリン(placental), N-カドヘリン(neural)などがあり、デスモゾームに存在するデスモコリン, デスモプラキンなどとともにカドヘリンスーパーファミリーを構成している⁷⁾。E-カド

ヘリンはジッパーのように細胞外ドメイン同士が結合し、細胞内ドメインがカテニンを介して細胞骨格のアクチンフィラメントに結合することによって細胞を接着させている(図2)。E-カドヘリンは正常の上皮では細胞膜に強く発現している。一方、癌細胞についてみると、臨床材料では、その発現様式はさまざまであるが、リンパ節転移率は扁平上皮癌、腺癌いずれにおいても発現の弱い症例の方が強度発現例に比較して有意に高くなっている^{8,9)}。このような傾向は口腔扁平上皮癌でも確かめられている(表1)^{10,11)}。また、癌は低分化で浸潤傾向の強いものほど転移しやすいとされているが、カドヘリンの発現程度は、癌の分化度や浸潤様式ともよく関係している⁹⁾。ただ、臨床では癌転移の多くはリンパ節転移なので、血行性転移との関係をみたものは少なく、それとも有意な相関がありとするものとそうでないものがある

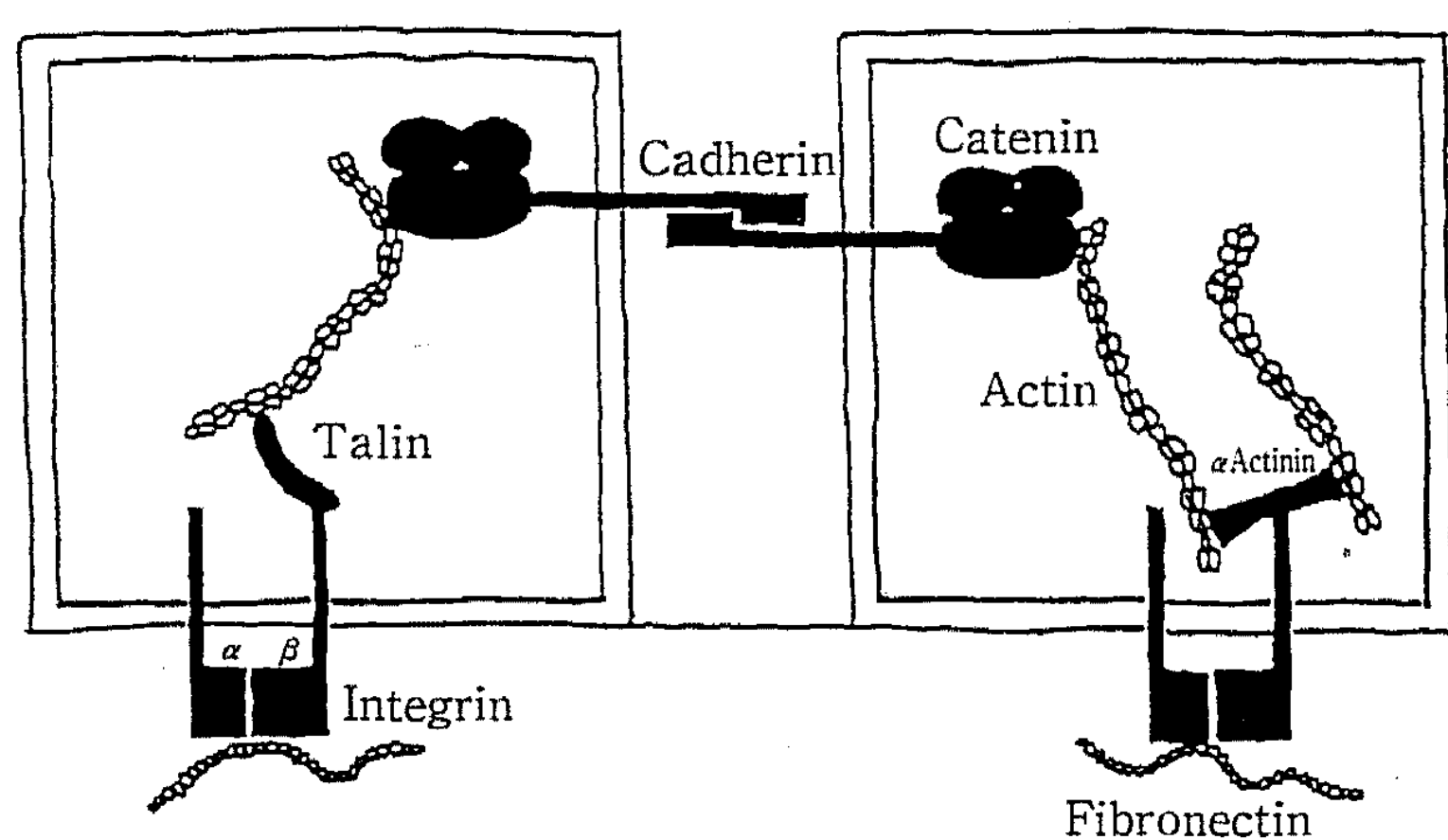


図2 カドヘリン、カテニン、インテグリンの接着を示すシエーマ

る^{8,12)}。さらに、培養細胞を用いた検索でも、浸潤性増殖を示す細胞にE-カドヘリンのcDNAを導入するとその浸潤能が消失し、逆に、浸潤能のない細胞に抗E-カドヘリン抗体を添加したり、E-カドヘリン特異的アンチセンスRNAを導入して接着性を障害してやると浸潤能を獲得するようになる^{13,14)}。よって、カドヘリンが癌転移と関係していることはほぼ間違いないと考えられている。

ところが胃癌の中に、カドヘリンがよく発現しているにもかかわらず細胞接着を示さず、scattered typeの増殖するものがあることが分かってきた¹⁵⁾。その原因としてはカドヘリン分子の構造異常あるいはこれを細胞骨格に結びつけているカテニンの障害が考えられる。事実、カドヘリンを発現しながら細胞接着を欠いているヒト癌由来細胞株についてカドヘリンとカテニンの遺伝子異常を検索してみると、カドヘリン、 α -カテニン、 β -カテニンの遺伝子異常が見つかった^{16,17)}。また、臨床材料でも、カドヘリンを発現しているも α -カテニンを発現していない症例では癌転移が多く認められ、カテニンの異常によるカドヘリンの機能障害がリンパ行性、血行性いずれの癌転移にも関与していることを示唆する結果が得られている(表1)^{8,10,12)}。

2. 周囲組織への浸潤

癌細胞はIV型コラゲンやラミニンなどを主成分とする基底膜および線維性蛋白質、プロテオグリカン、糖蛋白などの細胞外マトリックス(ECM)と線維芽細胞や炎症細胞よりなる間質にとりかこまれている。したがって、癌がそれ特有の浸潤性増殖を示すには細胞接着が弱められると同時にそれを取りまく組織の破壊が不可欠とされている。ECMの分解酵素で癌浸潤に関係するものとして注目されているのはマトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)である¹⁸⁾。現在までにMMPは15種類が知られており、その基質特異性からコラゲンを分解するコラゲナーゼ群(MMP-1, 8, 13)、基底膜の主成分であるIV型コラゲンを分解するゼラチナーゼ群(MMP-2, 9)、

プロテオグリカン、ラミニン、フィブロネクチンなど広い基質特異性を示すストロメライシン群(MMP-3, 10)、細胞膜貫通機構を持つ膜型群(MT₁₋₄-MMPまたはMMP-14-17)、その他(MMP-7, 11, 12, 18)の5つのグループに分類されている。これらの遺伝子発現は増殖因子やサイトカインなどで調節されており、そのほとんどは活性中心のZn²⁺がCys残基によりマスクされているPro-MMPとして分泌され、主にプラスミンやトリプシンなどにより活性化される。しかし、最近になってストロメライシン群は他のMMPを活性化し、コラゲナーゼ群は多種類のMMPで活性化され、また活性化機構が不明であったMMP-2がMT-MMPにより活性化されることなどが判明し、MMP間でのカスケードが解明されつつある^{18,19)}。一方、MMPの特異的インヒビターとしては4種類のtissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)が知られており、ECMの分解はMMPの合成、活性化とともにTIMPとのバランスにより微妙に調節されている¹⁹⁾。

さて、癌組織では基底膜の分解酵素であるMMP-2, 9をはじめ各種のMMPが種々の癌細胞あるいは間質細胞で発現しており、口腔癌もその例外でない。MMPの発現は浸潤傾向の強いものほど強く、転移とも有意な相関を示している(表1)^{20,21)}。最近、特に注目されているのは、MT-MMPが癌細胞のみに発現していることで、これによりMMP-2を活性化し、リンパ管浸潤やリンパ節転移をきたすらしいことが判明してきている^{18,22)}。事実、転移傾向の強い浸潤性の増殖を示す癌ではしばしばその浸潤端で基底膜が消失している²³⁾。一方、TIMPについては、rTIMPを前投与した動物やそのcDNAを導入した悪性黒色腫や胃癌細胞株などでその肺あるいは肝転移が抑制されるが、それらの転移実験の多くは腫瘍細胞を静脈内注入したもので、皮下に注入して形成された腫瘍からの自然転移は抑制されない^{24,25)}。また、TIMPは間質細胞に発現していることが多く、そのみでは必ずしも癌転移との相関関係は得られていない。したがって、MMPとTIMPとのバランスが重要であると思われる²⁰⁾。

なお、基底膜や間質を分解した癌細胞が脈管に到達するには癌細胞自身が移動していく必要があり、それには自己分泌型運動因子(AMF, ATX)、上皮成長因子(EGF)、血小板由来成長因子(PGDF)などの運動促進因子が関与しているとされている。

3. 脈管侵入

癌細胞が転移する経路としてはリンパ管と血管がある。リンパ節転移したものも遠隔臓器へは血行性あるいはリンパ行性に転移するので、脈管侵入は転移の大きなバリエーションとなっている。脈管侵入はそれへの癌細胞の接

着に始まる。細胞と ECM との接着に重要な役割を演じているのがインテグリンである。これは接着班に存在する α , β 鎖が非共有結合してできたヘテロダイマーで、細胞内ドメインはタリンや α -アクチニンを介して細胞骨格と結合し、細胞外ドメインはコラゲン、ラミニン、フィブロネクチンなどのリガンドを介して ECM と結合している(図2)。現在、 α 鎖に16種、 β 鎖に8種が知られている²⁶⁾。

癌についてみると、以前から癌細胞の接着はフィブロネクチンの RGD 配列やラミニンの YIGSR 配列を介して行われ、これらのペプチドの投与により悪性黒色腫、肺癌、胃癌、悪性リンパ腫などの肺転移や肝転移が抑制されることが知られていた^{27,28)}。事実、肺癌 ($\alpha_6\beta_4$)、胃癌 ($\alpha_3\beta_1$)、大腸癌 ($\alpha_3\beta_1$)、前立腺癌 ($\alpha_6\beta_4$) などさまざまな癌で各種インテグリンの発現と臓器転移との関係が示唆されている^{26,27)}。また、横紋筋肉腫細胞は $\alpha_2\beta_1$ をもっていないが、これを導入すると肺、腎、骨などへの血行性転移が認められるようになる²⁹⁾。ただ、インテグリンの扁平上皮癌のリンパ節転移との関連を示唆する結果は少ない。

血管やリンパ管にも基底膜が存在するので、脈管侵入に際しては MMP などによる基底膜の破壊も必要とする。

4. 血中での運搬

血流中は癌細胞にとって極めて過酷な環境で、物理的圧力や NK 細胞、マクロファージなどの免疫細胞の攻撃により、その99%は早期に死滅する。勿論、免疫機序は原発巣や転移巣でも働いている。

5. 遠隔臓器への定着

かろうじて生き延びた癌細胞の標的臓器での定着に関係する因子としては CD44 と糖鎖抗原がある。

CD44 は種々の細胞の膜表面に発現する糖蛋白で、多くのアイソフォームからなる接着分子である。細胞内ドメインはアクチンフィラメントと結合し、細胞外ドメインにヒアルロン酸、コラゲン、フィブロネクチンなどの ECM と結合する部位を持っている。はじめリンパ球がリンパ節の高内皮細静脈に接着する時のホーミングレセプターとして注目されていたことから、癌転移においても標的臓器の血管内皮細胞への接着と関係づけて研究された。事実、膵癌由来の細胞株では転移株に CD44 異型がみられ、肺癌や乳癌の脳転移、大腸癌の肝転移などでもその変異型の発現が高頻度にみられている³⁰⁾。しかし、大腸癌の肝転移に関連した CD44 変異型 mRNA の発現は認められないとする報告もあり、子宮内膜癌でもリンパ節転移との関連性は明らかでない^{31,32)}。口腔癌については、CD44 の発現は T 分類、分化度、浸潤様式には相関し

ていないが、強度発現例ではリンパ節転移が極めて多いとする報告と、CD44v6 の発現が低い口腔癌の方がリンパ節転移率が高いとする報告がある^{33,34)}。その抗体をリンパ節着床前に用いるとリンパ節転移を抑制する事から、転移の後期の段階でなんらかの役割を演じているとも考えられるが、その機能については今後の検討が必要である。

細胞膜の糖質は血液型の決定、細菌やウイルスの結合、リンパ球のホーミングや好中球の血管内皮への接着など様々な機能を果たしている。細胞表面の糖鎖と結合する接着分子にセレクトインがある。セレクトインには血管内皮細胞に発現する E-セレクトイン、血小板に発現する P-セレクトイン、リンパ球に発現する L-セレクトインがあり、それらのリガンド糖鎖としてはシアリル Le^x、シアリル Le^a、硫酸化糖鎖がある。E-セレクトインは炎症性サイトカインの刺激で血管内皮細胞に発現し、in vitro ではリガンド糖鎖を発現している大腸癌、膵癌、肺癌など多くの癌細胞との接着を媒介する³⁵⁾。また、転移との関係を見ると、多くの消化器癌で転移をしたもののの方が転移のないものよりシアリル Le^x、シアリル Le^a の発現が強いこと、原発巣と転移巣を比較すると転移巣の方がこれらの発現が強いこと、E-セレクトインの発現は腫瘍胞巣に近い血管ほど強く、しかも転移巣の方が原発巣より強いことなど血行性転移との関連が示唆されている^{36,37)}。ただ、リガンド糖鎖の発現は扁平上皮癌では腺癌に比べて低く、リンパ節、遠隔臓器転移との関係は必ずしも明らかでない³⁸⁾。P-セレクトインはトロンビンなどの刺激で血小板顆粒から移行してその細胞表面に発現し、癌細胞と血小板を接着させる。血小板を介して出来た癌細胞塊により標的臓器の血管内で癌細胞血栓が形成されれば転移をきたす確率は高くなる。また、P-セレクトインは血管内皮細胞にも発現するので E-セレクトインと同じ機構でも癌転移に関与していると考えられる³⁵⁾。事実、血小板の少ない動物では癌は転移しにくい。L-セレクトインは広く白血球に発現しており、P-セレクトインと同様、白血球を介した癌細胞の血栓形成に寄与している。ただ、癌細胞は白血球の攻撃により破壊されるので、これが本当に転移にどれだけ関係しているかは明らかでない。

5. 脈管外脱出と増殖

内皮細胞に接着した癌細胞はローリングしながらその間隙を抜け、内皮細胞の産生するサイトカインにより活性化されたインテグリンを介して基底膜に接着する。その後は、血管侵入と逆の過程を経て血管外に脱出し転移巣を形成すると考えられる。遠隔臓器への転移の形成には、それが解剖学的に腫瘍細胞が引っかかりやすいことのほか、その臓器の環境が癌細胞の増殖に適しているかどうかにもかかっている。

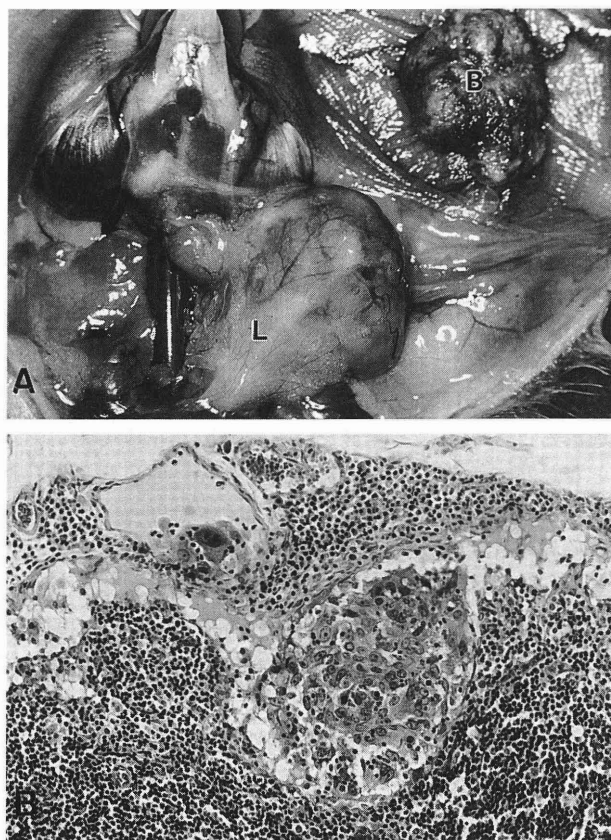


図3 O-INのリンパ節転移。A。頰部移植腫瘍(B)と転移リンパ節(L)。B。初期リンパ節転移を示す組織所見。輸入リンパ管と辺縁洞に腫瘍細胞がみられる。(HE染色, $\times 150$)。

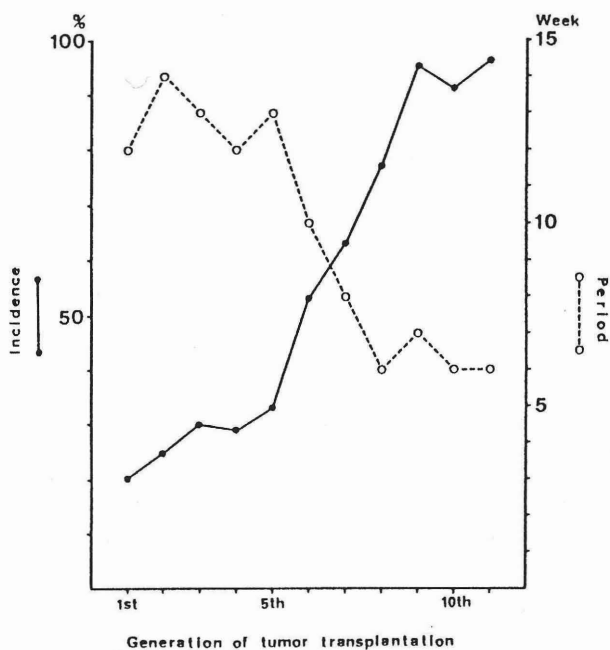


図4 継代移植後のリンパ節転移率と転移までの期間の変化。継代とともに転移率は上昇し、転移に要する期間は短縮している。

口腔癌のリンパ節転移機序

1. リンパ節転移モデル O-IN の作成

リンパ節転移の研究には早期にしかも確実に転移する動物モデルが不可欠である。動物における口腔扁平上皮癌の誘発には dimethyl benzanthrane (DMBA) がよく用いられ、そのリンパ節転移率は20%程度とされてい

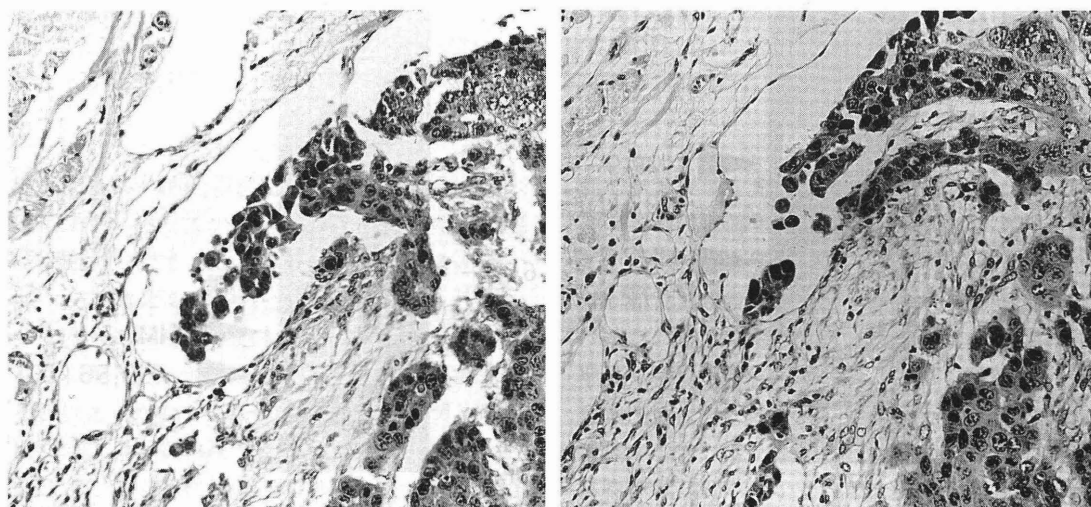


図5 O-INのリンパ管侵入部連続切片の組織所見。リンパ管内に侵入した腫瘍は周囲の胞巣と連続しており、その先端では細胞塊が分離している。(HE染色, $\times 200$)。

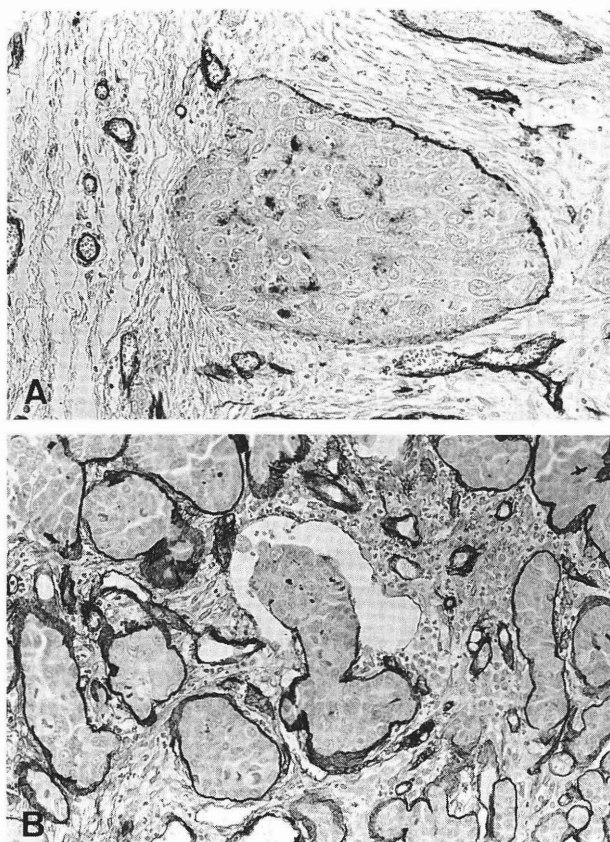


図6 O-1N の腫瘍浸潤部およびリンパ管侵入部の組織所見。A. 腫瘍浸潤部。浸潤先端では基底膜が消失している。(ラミネン免疫染色, ×200)。B. リンパ管侵入部。基底膜は胞巣先端では消失しているが、頸部から基底部では存在している。(ラミネン免疫染色, ×200)。

た。我々はハムスターの舌に DMBA 誘発扁平上皮癌をつくり、ステロイド投与や放射線照射、腫瘍の切開などを行ったところ、転移率はそれぞれ26%, 46%, 66%と上昇した^{39,40)}。しかし、この方法は発癌から転移までに30週以上を要し、実験モデルとして使えるものではなかった。そこで、リンパ節転移した腫瘍組織をさらに別のハムスターの頬嚢に移植してみた。すると面白いことに、頬嚢に移植された原発腫瘍組織は10%しか生着せず、リンパ節転移も生じないのに対し、転移腫瘍組織の生着率は81%にも達し、その20%に転移が認められた(図3)。これは転移腫瘍は原発腫瘍と異なり、宿主の免疫反応を逃れることが出来る性質を持った細胞から成っていることを示しているように思われた。さらに転移腫瘍の移植操作を繰り返していくと、5代目までは20—30%だった転移率は6代目から急上昇し、9代目には90%達し、以後高い転移率を維持するようになった。しかも、転移までに要する期間は継代とともに短縮し、はじめ12週を要したものが6—7週で肉眼的に転移が確認されるようになった(図4)⁴¹⁾。

組織学的には、本腫瘍は浸潤性増殖を示す扁平上皮癌で、移植後3週で頬嚢では脈管侵襲をきたし、顎下リンパ節では輸入リンパ管に腫瘍細胞塊、辺縁洞、髄洞には定着、増殖し始めた腫瘍が認められるようになった(図3)。5週になるとリンパ節全体が腫瘍に置きかわり、節外浸潤を示すものも現れ、8週では25%に肺転移も生じていた⁴²⁾。これらの所見はヒト口腔癌の転移所見と極めて類似していた。また、転移リンパ節を早期に切除する

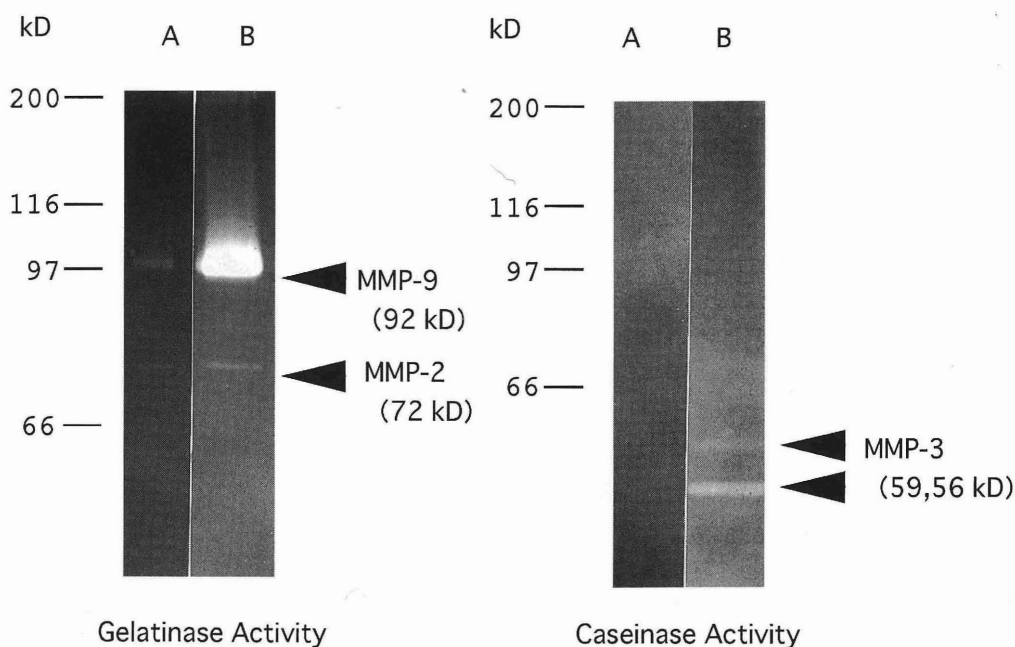


図7 O-1N 由来非転移性細胞(A)および転移性細胞(B)の MMP 活性の比較。転移性細胞では非転移性細胞に比べ強いMMP-9 と MMP-3 活性が認められる。

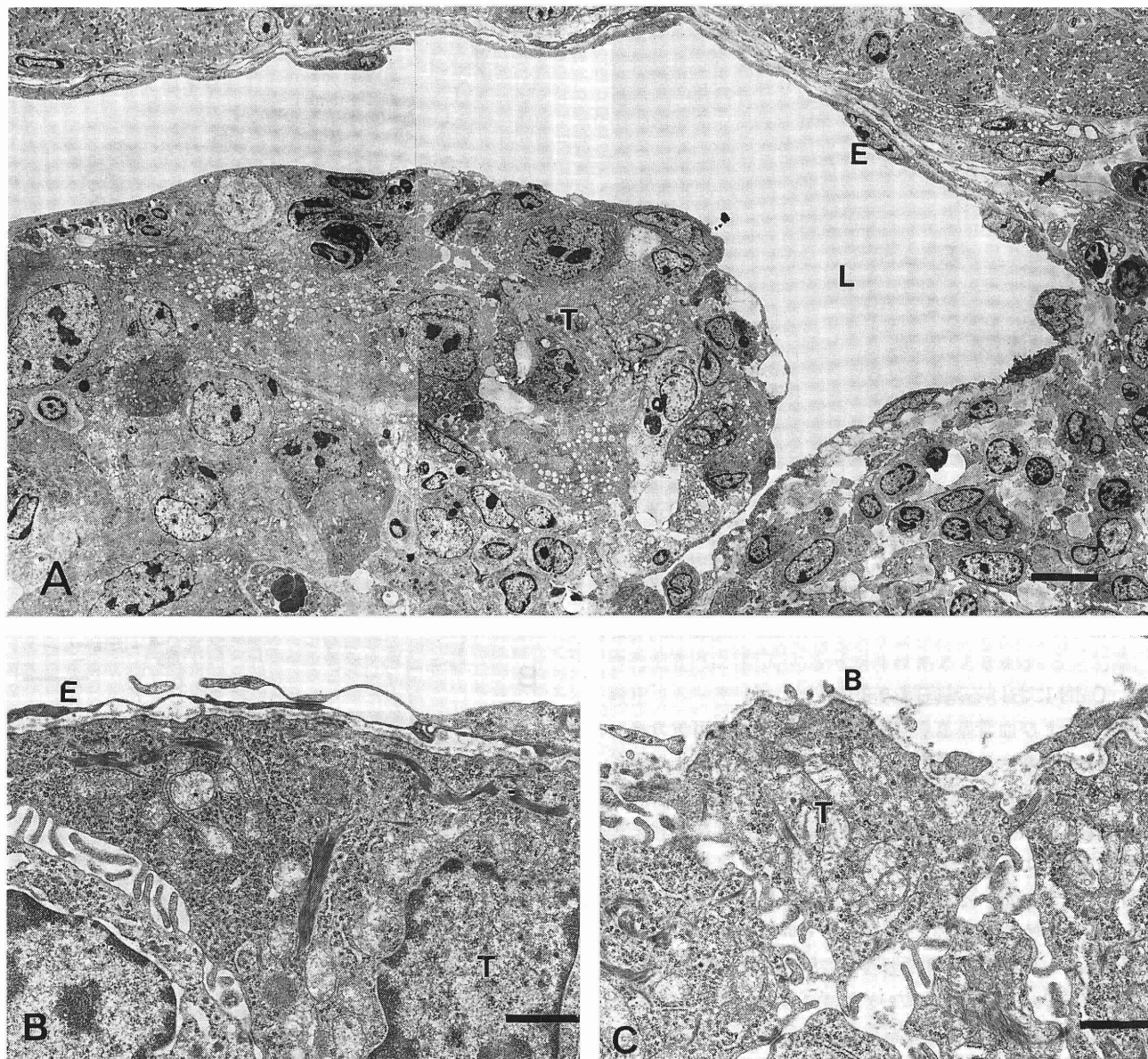


図8 O-IN リンパ管侵入部の電顕所見。A。リンパ管内に張り出した腫瘍胞巣。腫瘍胞巣(T), 内皮細胞(E), リンパ管(L), Bar=10 μ m。B。変性過程の内皮細胞。腫瘍細胞(T), 内皮細胞(E), Bar=1 μ m。C。内皮細胞断裂部からリンパ管内に露出しかけた腫瘍細胞。基底膜は存在している。腫瘍細胞(T), 基底膜(B), Bar=1 μ m。

と頰嚢腫瘍があっても肺転移は生じず, これも日常臨床で経験する結果と一致していた⁴³⁾。通常, 癌転移の動物実験には, 癌細胞が生着する必要からヌードマウスあるいはスキッドマウスなどの免疫不全動物が用いられている。しかもその多くが培養細胞を静注して転移の有無を調べている。しかし, これでは固形癌の自然転移能を検索しているとはいえない。この点, 我々のモデルはヒト口腔癌転移の全過程を再現した非常に良いモデルといえ, これを作成した大竹に因んで O-IN と命名した⁴¹⁾。

2. O-IN における脈管侵襲の免疫組織学的観察

癌転移は脈管侵襲に始まる。そこで O-IN を舌に移植

して脈管侵襲を免疫組織学的に観察した。血管とリンパ管の判別は血管平滑筋をマッソントリクローム染色で確認したほか, 血管マーカーとしてラミニン, IV型コラーゲン, 脈管内皮細胞マーカーとしてパンディラマメ凝集素の結合の免疫染色により行った。リンパ管は移植腫瘍の増殖に伴い数も径も増し, このようなリンパ管には腫瘍細胞塊の侵入が認められた。しかも, それを連続切片で観察すると, リンパ管内の腫瘍細胞塊はリンパ管外の腫瘍胞巣に連続していた。また, 部位によっては, リンパ管内に侵入した腫瘍細胞塊が引きちぎられ, 単離した細胞塊を形成する様子も観察され, このような細胞塊には基底膜は見られなかった(図5)。また, O-IN の血管侵



図9 O-IN リンパ管内の腫瘍細胞塊の電顕所見。細胞塊が保たれている。腫瘍細胞(T), リンパ球(L), Bar=10 μ m。

襲は認められなかった⁴⁴⁾。

3. O-IN における基底膜の変化

腫瘍および血管基底膜の破壊が癌転移の不可欠な条件とされており、口腔扁平上皮癌でも転移傾向が強いものはその基底膜が消失しているものが多い。そこで、O-INを頬嚢に移植し、その浸潤、脈管侵襲の過程における基底膜の動態についてラミニンとIV型コラーゲンの免疫染色にて検索した。その結果、腫瘍胞巣ははじめ線状の陽性反応をしめす基底膜にかこまれているが、腫瘍の浸潤増殖とともに、胞巣は小型化、索状化し、基底膜の断裂、消失が認められるようになった。さらに興味あることに、その傾向は浸潤先端で顕著であった(図6)。一方、リンパ管侵襲部位では、リンパ管内にある腫瘍胞巣あるいは単離した細胞塊の周囲には基底膜は見られなかったが、リンパ管外の腫瘍胞巣に連続した管壁侵入部の胞巣では基底膜は保存されていた(図6)。なお、リンパ節転移と基底膜の消失程度には有意な相関が認められた⁴⁵⁾。

そこで、O-IN由来の転移性細胞⁴⁶⁾および非転移細胞を用いて、基底膜の構成成分のひとつであるラミニンのmRNAと蛋白レベルでの発現とMMPの発現について検索した。その結果、ラミニンmRNAの発現は転移性細胞では顕著であったが、非転移細胞ではほとんどみられなかった。しかし、ラミニンについては、いずれの細胞も類似した陽性反応を示した。また、MMP-2の発現は弱く両細胞間に差は認められなかったが、MMP-9は転移性細胞の方が30倍も強く、MMP-3についても転移性細胞にのみ認められた(図7)⁴⁷⁾。

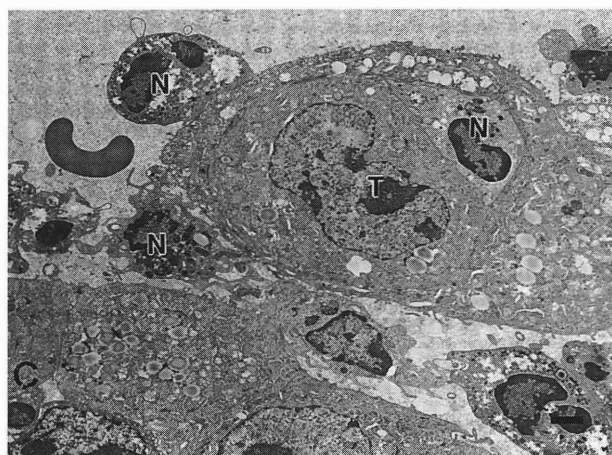
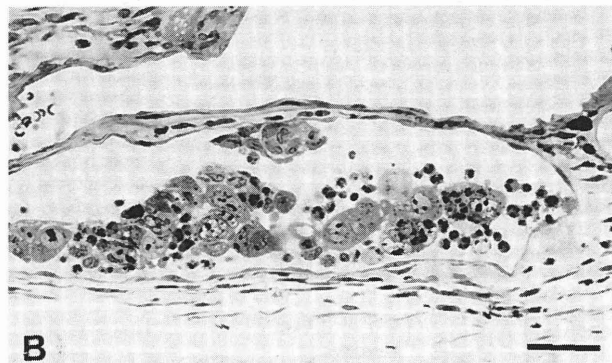
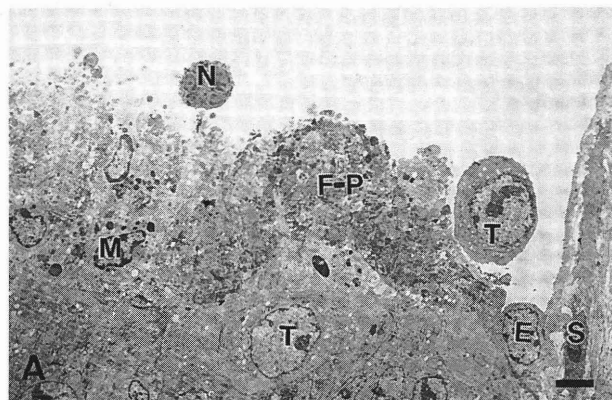


図10 O-IN 血管侵入部および血管内の電顕、組織所見。A. フィブリン、血小板、マクロファージ、好中球を伴って血管内に侵入した腫瘍胞巣。腫瘍細胞(T), フィブリン血小板(F-P), マクロファージ(M), 好中球(N), 内皮細胞(E), 平滑筋細胞(S), Bar=3 μ m。B. 炎症細胞により分断された血管内の腫瘍細胞。(トルイジンブルー染色, Bar=50 μ m)。C. 好中球にかこまれた腫瘍細胞。腫瘍細胞(T), 好中球(N), Bar=1 μ m。

4. O-IN における脈管侵襲の電顕的観察

転移性細胞のMMP活性は高く、基底膜は胞巣の浸潤先端では消失しているにも拘わらず、リンパ管侵入胞巣の頸部から基底部では保存されていた。そこで、脈管侵襲の様相およびそれと基底膜との関係をさらに詳しく検

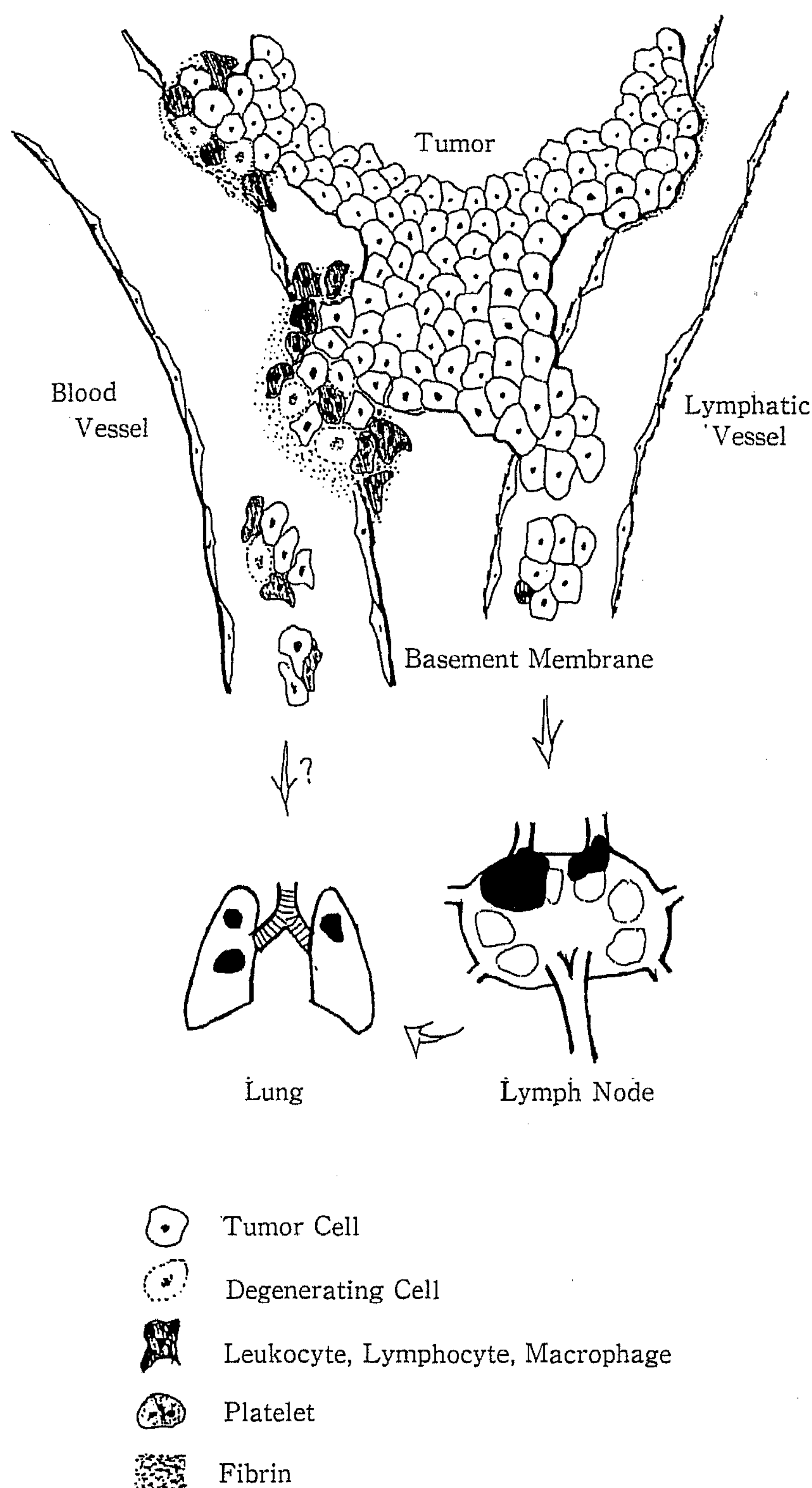


図11 O-IN の転移機序

討するため、舌に移植した O-IN を用いて電顕的に観察した。電顕的には、リンパ管侵襲のみならず血管侵襲も観察された。O-IN の胞巣が脈管に接近して脈管壁を圧迫すると、リンパ管では内皮細胞が変性傾向を示し、そこから腫瘍が基底膜を保って胞巣のまま管腔内に侵入していた(図8)。リンパ管に侵入した腫瘍胞巣には基底膜はなく、リンパ球やマクロファージの反応は見られるものの細胞塊の大きさはよく保たれていた(図9)。一方、血管では、内皮細胞やその周囲の平滑筋細胞、線維芽細胞、腫瘍胞巣も変性、壊死し、ここにマクロファージや好中球の浸潤が観察され、血管および腫瘍胞巣の基底膜は断裂、消失していた。内皮細胞の断裂部にはフィブリンおよび血小板が付着し、胞巣はそれを付着したまま管腔内に侵入し、その後、好中球の浸潤により小さく分断されていた(図10)⁴⁸⁾。

5. O-IN の転移機序

以上の結果から推察される転移機序は今まで述べられているものとはかなり異なるものであった。O-IN はその増殖に伴い周囲に増生した脈管を機械的に圧迫する。その結果、リンパ管では、内皮細胞の変性をきたし、その断裂部から基底膜を保ったまま腫瘍胞巣ごと管内に侵入する。その後、胞巣周囲の基底膜が失われ、単離した細胞塊となり、リンパ球やマクロファージの反応は見られるものの、その形態をよく保存したままリンパ管中を移動し、リンパ節に定着、増殖する。一方、血管侵襲部位では、強い圧迫と凝固機転および炎症細胞浸潤のため、腫瘍細胞、内皮細胞、基底膜などが変性、破壊される。一部の腫瘍細胞が凝固塊を伴ったまま血管内に侵入するが、炎症細胞の反応により細胞塊は早期に分断され、腫瘍細胞は変性するため、遠隔臓器には転移しない(図11)。単離した細胞より細胞塊の方が転移しやすいことは他の腫瘍細胞でも証明されている⁴⁹⁾。なお、リンパ節からの血行転移についてはまだ検索していないが、リンパ節の血管はその形態が結合組織などのものとは異なるので、大きな細胞塊が侵入する可能性はあると思われる。勿論、輸出リンパ管から血行への侵入経路も考えられる。また、MMP の関与を示唆する結果が得られているので、現在、TIMP を転移性細胞に導入して転移能の変化を検討している。さらに、O-IN で得られた所見がヒト口腔癌でも認められるかを検索中である。

おわりに

最近の癌転移の研究の発展にはめざましいものがあり、その機序もかなり明らかにされてきている。しかし、現在までのところ、その知識は転移の各過程の断片的な集約にすぎない。それを確かめるには、組織学的に異なる癌毎に、臨床材料とその転移をよく反映する動物モデルを用いた in vivo での癌転移の現場の検証が必要であろう。癌転移の克服が癌克服の鍵となっている現在、その研究成果が、臨床に役立つ日が来ることを期待してやまない。

謝 辞

ここに紹介した口腔癌リンパ節転移の研究は当教室の新垣助教授はじめ歴代の大学院生が行ったものである。その研究にあたりご指導、ご協力いただいた新潟大学歯学部口腔病理学教室、口腔解剖学第一教室、新潟大学医学部病理学第二教室、遺伝子実験施設の諸先生に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 桐田忠昭, 他: わが国の口腔癌の疫学的検討—その推移と将来予想—. 日口外誌. 43: 140-147, 1997
- 2) 金沢春幸, 他: 口腔癌の臨床統計—教室過去10年間の治療成績—. 日口外誌. 36: 2509-2517, 1990
- 3) 内田安信: 口腔腫瘍に関する口腔外科全国統計による疫学的研究. 歯医学誌 6: 17-31, 1987
- 4) Fidler, I. J.: Selection of successive tumor lines for metastasis. *Nature New Biol.* 242: 148-149, 1973
- 5) Liotta, L. A., et al: Tumor invasion and metastasis—Role of extracellular matrix. *Cancer Res.* 46: 1-7, 1986
- 6) Mahmood, J. U., et al: Heterogeneity of squamous cell carcinomas of the head and neck. In *oral oncology*, Vol. IV B, ed. Varma, A. K. P. 177-180, Macmillan, India, 1995
- 7) 金井弥栄, 他: 癌浸潤・転移とカドヘリン・カテニン細胞接着系の異常. 実験医学 12: 918-924, 1994
- 8) 塩崎均, 他: 細胞間接着分子カドヘリン—臨床例におけるカドヘリン発現と転移の相関. 消化器系癌(食道癌, 胃癌, 大腸癌). 日本臨床 46: 1602-1606, 1995
- 9) Schipper, J. H., et al: E-cadherin expression in squamous cell carcinomas of head and neck: Inverse correlation with tumor differentiation and lymph node metastasis. *Cancer Res.* 51: 6328-6337, 1991
- 10) 森川秀広: 口腔扁平上皮癌における α カテニンおよびE-カドヘリンの発現と所属リンパ節転移および生存率との関連. 日口外誌 43: 447-464, 1997
- 11) 佐藤敦: 口腔扁平上皮癌におけるE-カドヘリンの発現: 所属リンパ節転移との関連および癌化学療法による発現への影響. 日口外誌 42: 331-346, 1996
- 12) Matsui, S., et al: Immunohistochemical evaluation of alpha-catenin expression in human gastric cancer. *Virchows Archiv.* 424: 375-381, 1994
- 13) Frixen, U. W., et al: E-cadherin-mediated cell-cell adhesion prevents invasiveness of human carcinoma cells. *J. Cell Biol.* 113: 173-185, 1991
- 14) Vleminckx, K., et al: Genetic manipulation of E-cadherin expression by epithelial tumor cells reveals an invasion suppressor role. *Cell* 66: 107-119, 1991
- 15) Shimoyama, Y., et al: Expression of E- and P-cadherin in gastric carcinomas. *Cancer Res.* 51: 2185-2192, 1991
- 16) Oda, T., et al: E-cadherin gene mutations in human gastric carcinoma cell lines. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91: 1858-1862, 1994
- 17) Kawanishi, J., et al: Loss of E-cadherin-dependent cell-cell adhesion due to mutation of the β -catenin gene in a human cancer cell line, HSC-39. *Mol. Cell Biol.* 15: 1175-1181, 1995
- 18) 今井一志: がん細胞の浸潤・転移とマトリックスメタロプロテアーゼ. 蛋白質核酸酵素 42: 1694-1700, 1997
- 19) 滝野隆久, 他: MMPs, TIMPsの分子生物学と癌における発現の制限. 日本臨床 53: 1791-1797, 1995
- 20) 緒方裕, 他: 大腸癌転移におけるMMP-9およびTIMP-1産生の意義. 日本臨床 53: 1811-1815, 1995
- 21) 楠川仁悟, 他: 口腔癌とmatrix metalloproteinases. II 口腔扁平上皮癌におけるmatrix metalloproteinase 2および3の発現とリンパ節転移に関する臨床病理学的検討. 日口外誌 38: 576-583, 1992
- 22) Tokuraku, M., et al: Activation of the precursor of gelatinase A/72 kDa type IV collagenase/MMP-2 in lung carcinomas correlates with the (MT-MMP) and with lymph node metastasis. *Int. J. Cancer* 64: 335-359, 1995
- 23) Kumagai, S., et al: Immunohistologic distribution of basement membrane in oral squamous cell carcinoma. *Head Neck* 16: 51-57, 1994
- 24) Montgomery, A. M. P., et al: Effect of tissue inhibitor of the matrix metalloproteinase-2 expression on the growth and spontaneous metastasis of a human melanoma cell line. *Cancer Res.* 54: 5467-5473, 1994
- 25) Tsuchiya, Y., et al: Tissue inhibitor of metalloproteinase 1 is a negative regulator of the metastatic ability of a human gastric cancer cell line, KKLS, in the chick embryo. *Cancer Res.* 53: 1397-1402, 1993
- 26) 松浦成昭: 癌の転移におけるインテグリンの意義. 実験医学 12: 925-930, 1994
- 27) 高村博之, 他: ヒト胃癌, 大腸癌の原発巣, 転移巣におけるインテグリンの発現. 日本臨床 53: 1678-1682, 1995
- 28) Iwamoto, Y., et al: YIGSR, a synthetic laminin pentapeptide, inhibits experimental metastasis formation. *Science* 238: 1132-1134, 1976
- 29) Chan, B. M. C., et al: In vitro and in vivo conse-

- quences of VLA-2 expression on rhabdomyosarcoma cells. *Science* 251 : 1600-1602, 1991
- 30) 五井孝憲, 他: 接着分子 CD44 の発現, 分子構造, 機能と癌の浸潤転移における役割. *日本臨床* 53 : 1688-1693, 1995
- 31) 菅谷芳樹, 他: 大腸癌における CD44 Metastatic Variant mRNA の発現と腫瘍の浸潤. *日本臨床* 53 : 1699-1703, 1995
- 32) 藤田信弘, 他: 子宮内膜癌における CD44 の発現と転移. *日本臨床* 53 : 1716-1720, 1995
- 33) 宋時澤: 口腔扁平上皮癌における接着分子 CD44 の発現様式と所属リンパ節転移との相関. *日口外誌* 40 : 883-891, 1994
- 34) Kunishi, M., et al: Down-regulated expression of CD variant 6 in oral squamous cell carcinomas and its relationship to regional lymph node metastasis. *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 26 : 280-283, 1997
- 35) 神奈木玲児, 他: セレクチン・ファミリーの細胞接着分子の構造, 機能と癌転移. *日本臨床* 53 : 1721-1728, 1995
- 36) 鄭容錫, 他: 癌細胞の血管内皮 E-セレクチン (ELAM-1) 接着と糖鎖抗原の関与. *日本臨床* 53 : 1747-1752, 1995
- 37) 桐山幸三, 他: 大腸癌における血清および組織 E-セレクチン (ELAM-1) の発現動態と血行転移. *日本臨床* 53 : 1760-1764, 1995
- 38) 矢満田健, 他: ヒト肺癌組織における sialyl-Lewis 糖鎖抗原の発現. *日本臨床* 53 : 1776-1780, 1995
- 39) Shingaki, S., et al: Regional lymph node metastasis in carcinoma of the hamster tongue. *Oral Surg.* 64 : 190-196, 1987
- 40) Ohtake, K., et al: Effects of incision and irradiation on regional lymph node metastasis in carcinoma of the hamster tongue. *Oral Surg.* 70 : 62-69, 1990
- 41) Ohtake, K., et al: A model for the study of lymph node metastasis from oral carcinoma by serial transplantation of metastatic tumor in hamsters. *Oral Surg.* 69 : 701-707, 1990
- 42) Ohtake, K., et al: Histologic study on the metastatic process in the experimental model of lymph node metastasis. *Oral Surg.* 75 : 472-478, 1993
- 43) Ohtake, K., et al: Experimental study on metastasis of oral carcinomas. In *oral oncology*, Vol. II, ed. Varma, A. K. P. 319-322, Macmillan India Limited, New Delhi, 1991
- 44) Yoshizawa, M., et al: Histopathological study of lymphatic invasion in squamous cell carcinoma (O-IN) with high potential of lymph node metastasis. *Clin. Exp. Metastasis.* 12 : 347-356, 1994
- 45) Kobayashi, Y., et al: Loss of basement membranes in the invading front of O-IN, hamster squamous cell carcinoma with high potential of lymph node metastasis. An immunohistochemical study for laminin and type IV collagen. *Path. Inter.* 45 : 327-334, 1995
- 46) Takada, M., et al: Establishment of a cell line derived from squamous cell carcinoma with a high metastatic potency to regional lymph node. *Asian J. Oral Maxillofac. Surg.* 6 : 91-96, 1994
- 47) Chuujoh, T., et al: Differential Expressions of laminin and matrix metalloproteinases by metastatic and non-metastatic cells isolated from squamous cell carcinoma (O-IN). *Oral Med. pathol.* 2 : 81-87, 1997
- 48) Ono, Y., et al: Vascular invasion of O-IN, hamster squamous cell carcinoma with high potential of lymph node metastasis: ultrastructural comparison between lymphatics and blood vessels. *Path. Inter.* in press
- 49) Raz, A., et al: Modulation of the metastatic capability in B16 melanoma by cell shape. *Science* 221 : 1307-1310, 1983