喉頭癌；病理組織像からみた悪性度

—文献的考察—

和田 好 純

Laryngeal Carcinoma ; A Histopathological Evaluation of the Grade of Malignancy

—A Review of literature—

Yoshizumi Wada

(The University of Tokushima)

The TNM classification and histopathological diagnosis are important in making a prognosis for laryngeal carcinoma. However, there has been some difference in prognosis among cases in the same stage of the same histological diagnosis. Immunostaining of an antibody against the antigen present in the proliferating cycle of the tumor is a recently developed method for evaluating the tumor's proliferation activity. Evaluating the proliferation activity may be useful in deciding therapeutic policy, as well as in assuming prognosis, because it provides information which cannot be obtained by H and E staining. Of the proliferating cell antigens, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) is expected to be used clinically, because its antigenicity is said to be stable even after formalin fixation and paraffin embedding of the specimens. In this study, histopathological findings as a prognostic indicator for laryngeal carcinoma, and PCNA as an indicator of proliferation activity, are discussed with reference to literature.

Key words: laryngeal carcinoma, histopathological diagnosis, proliferating activity, PCNA

はじめに

癌は過剰な細胞増殖と定義¹⁾されている。喉頭癌において治療方針、予後推定には、腫瘍の進展度により規定される TNM 分類、病理組織診断が重要な因子である。一般に組織学的予後因子は組織型、分化度、増殖能を反映する因子、進行度を反映する因子²⁾に分類される。喉頭癌においてほとんどは扁平上皮癌³⁾であるが、同じ組織型でありながら同一 stage の症例間にも

予後の差があり、他の因子による悪性度診断が必要と思われる。分裂細胞数の多少 (mitotic index) は、従来より増殖能の指標とされているが観察者による相違などの問題⁴⁾が指摘されており、再現性が高いとはいえない。近年、細胞の増殖サイクルに連動して発現される抗原に対する抗体を使った免疫染色により、腫瘍の増殖能を推定することが行われるようになってきた。増殖能を推定することは従来の H-E 染色から

得られない情報を補完するため、治療方針、予後推定、あるいは治療効果判定に有用な補助診断となる可能性が示唆され、個々の喉頭癌の病態を理解する上で不可欠な課題と考えられる。

増殖細胞抗原のなかで proliferating cell nuclear antigen (PCNA) はホルマリン固定、パラフィン包埋切片においても抗原性が安定しているといわれ臨床応用が期待される。本論文では喉頭癌の予後因子としての病理組織診断および増殖細胞抗原としての PCNA につき文献的に考察した。

予後因子としての喉頭癌の 病理組織学的診断

1. 分化度からみた悪性度

現在、扁平上皮癌の悪性度は高分化型(1度)、中分化型(2度)、低分化型(3度)に分類されている⁵⁾。喉頭癌において1度が30%、2度が50%、3度が20%である⁶⁾。未分化細胞の割合にて組織学的に悪性度を4度に分類した Broders 分類に対し岩本⁷⁾は Broders の分類は目測に頼るものと批判し発育先端部の組織像を観察することを報告し、角化の程度、細胞間橋、核分裂の多少、細胞核の多形性により分化度を4度に分類し、未分化なものほど再発率が高く、リンパ節転移が多く、粘膜下進展が大きいと報告し、予後判定に有用した。内海⁸⁾は声帯癌を8型に分類し、細胞異型による組織学的悪性度判定をし、初期型の悪性度は低いものの、晩期型になるにつれて悪性度は高くなったと報告している。分化度と予後につき批判的な意見⁹⁾もあるが、分化度、角化度、構造異型、細胞異型などを参考に well-differentiated (grade 1), moderately-differentiated (grade 2), poorly-differentiated (grade 3) に分類され、一般に未分化なものほど発育が早く、リンパ節転移が多くなり予後は悪くなるといわれている³⁾。

2. 発育型からみた悪性度

組織学的構築像による悪性度判定には腫瘍の発育型を extensive type, expensive type, budding type に分けた今井の分類がある。exten-

sive type とは、癌実質が適当な幅をもって発育するもので声帯癌の85%がこの型とされる。expensive type とは、延伸型に比べ著しい厚みを増した実質が肥大し拡張発育するもので、声門上癌の75%がこの型とされる。budding type とは、癌胞巢の厚さが薄く細胞が浸透するように発育する型で、声門上癌の10%にみられ、その予後はよくない³⁾。岩本¹⁰⁾は240例の喉頭癌について検討し、細胞学的構築像による予後判定は組織学的悪性度による判定よりも有用と報告した。また、三吉¹¹⁾は組織学的悪性度と発育型について検討し、組織学的悪性度による予後判定は有用でなく、むしろ全体的組織学的構築像つまり発育型が予後判定に有用としている。

3. 間質反応からみた悪性度

石井¹²⁾は腫瘍の間質に注目し、喉頭癌150例につき腫瘍実質の示す態度と間質反応につき検討を行った。間質反応を結合組織の増殖、細胞浸潤、血管反応に分類し組織学的悪性度および腫瘍発育型と比較検討した結果、声門型、声門下型は増殖性反応が著明であり、声門上型は浸出性反応が著明であり、血管反応は声門上型において著しいと述べている。発育型と間質反応には一定の傾向を示し budding type において浸出反応が著明であり、組織学的悪性度の高いものでは血管反応が著明であったと述べ、浸出性反応、血管反応の著しいものに、予後不良のものが多かったと報告している。前田¹³⁾は放射線抵抗性喉頭癌について組織学的に間質反応を検討し、浸出反応、血管反応は低下し増殖反応は増大していたと述べ、放射線治療の適応を考えるにあたって、間質の動態を参考にすべきだと報告している。浸出反応については、現在のところ免疫応答反応と考えられ、浸出反応が強いほど臨床経過が良いとされる¹⁴⁾。1986年、Visser¹⁵⁾は喉頭癌生検材料に対し、基底膜の構成成分である type 4 collagen と Laminin を酵素抗体間接法にて染色した。その結果、type 4 collagen と Laminin の不整な断裂像を認め、喉頭癌の微細浸潤の証明に有用とした。堤¹⁶⁾は

声門上癌にに対し, type 4 collagen, Laminin の免疫組織学的検討を行い, 分化度と type 4 collagen の染色生が局所リンパ節の転移の有無に対し重要度が高いと述べ, 浸潤性と type 4 collagen の染色性の間に有意な差を認めたと報告している.

増殖細胞抗原としての PCNA について

1978年 miyachi ら¹⁷⁾は全身性エリテマトーデス患者の約 2%に増殖細胞の核とのみ反応する自己抗体を見出し, これに対応する抗原に対し PCNA と命名し, この抗体は増殖細胞の同定に有用となることを示唆した. 一方 Bravo ら¹⁸⁾は増殖細胞に特異的にみられる分子量 36 KD の酸性蛋白質を二次元電気泳動解析によって発見し cyclin と命名した. Tan ら¹⁹⁾はポリメラーゼ delta の活性を著しく高める補助蛋白因子の分離に成功した. 1984年, Mathews²⁰⁾によって PCNA は G1 期細胞が S 期にはいる直前にならず核内に出現する細胞周期依存性非ヒストン核内蛋白 cyclin と同一物質であることが明らかになった. 1987年 Prelich²¹⁾によって PCNA は DNA ポリメラーゼ delta の補助蛋白であることが判明した. この蛋白は二量体として DNA ポリメラーゼ delta と結合¹⁸⁾して, 核へ移行して DNA 複製フォークの leading 鎖の合成を行うと考えられている²²⁾.

蛍光抗体法で PCNA の観察はエタノールに固定した細胞では細胞周期の G1 後期より S 期の核にのみ存在し, その核内分布は特異なパターンを示す²³⁾. ホルムアルデヒドによる固定では増殖期にある多くの細胞核に PCNA が局在している²⁴⁾.

Robbins ら²⁵⁾は1987年ホルマリン固定, パラフィン切片のヒト腫瘍組織に増殖マーカーとして PCNA の免疫染色を行い, 組織学的悪性度や分裂細胞数に応じた PCNA 陽性細胞数を観察したと報告した. Garcia ら²⁶⁾はアルコール系固定, パラフィン切片にて PCNA 陽性細胞を確認し, 陽性細胞数とフローサイトメトリーによって得られた増殖分画がほぼ一致すると報

告している. ホルマリン固定, パラフィン切片で免疫染色が可能であることにより各領域の腫瘍に対し PCNA 陽性数を増殖能の指標とする報告がなされている. Tabuchi ら²⁷⁾はグリオーマ生検材料に対し PCNA 陽性細胞数と bromodeoxyuridine (BrdU) による標識率につき検討し両者間の標識率はほぼ一致する結果を得, 組織学的悪性度に一致したと報告している. Takahashi ら²⁸⁾は悪性黒色腫に対し PCNA 陽性細胞数を検討した結果, 組織学的悪性度, 臨床的悪性度と一致した結果となり, 増殖マーカーならびに予後推定に有用と報告している. Matsuno ら²⁹⁾は肝癌の結節内結節病変につき PCNA 陽性細胞数を検討した結果, 高分化を示す辺縁部には陽性細胞が少なく, 中心部のはっきりした癌領域に陽性細胞を多く認めたとし, 増殖マーカーとして悪性度判断とした. 胃癌において Jain ら³⁰⁾は97例につき病期, 予後などと PCNA 陽性細胞数につき検討し陽性細胞数が多いほど予後は悪かったと報告している.

しかし, PCNA 陽性細胞を免疫染色にて同定し症例間で比較するには, 染色性の影響を考慮すべきであり, 固定条件を一定にする必要があり³¹⁾今後の課題と思われる.

ま と め

喉頭癌の病理組織学的悪性度診断および今後検討されるべき増殖能(PCNA)につき文献的考察を行った. 固定条件を一定にすれば免疫染色にて PCNA 陽性細胞を同定し, 増殖能という生物学的悪性度を客観的に評価することは可能となり, 悪性度判定, 予後の推定に有用な補助診断になる可能性が示唆される.

参考文献

- 1) 武田勝男: 腫瘍. 新病理学総論 2 版. 401~461 頁, 南山堂, 東京, 1981.
- 2) 向井 清: 組織学的悪性度診断. 病理と臨床 9: 844~847, 1991.
- 3) 佐藤武男: 喉頭癌の病理組織学. 喉頭癌 その基礎と臨床 2 版. 89~144 頁, 金原出版, 東京, 1986.

- 4) Baak JPA : Mitosis counting in tumors. *Hum Pathol* **21** : 683~685, 1991.
- 5) 日本頭頸部腫瘍学会 : 病理組織分類. 臨床, 病理, 頭頸部癌取り扱い規約. 15~54頁, 金原出版, 東京, 1991.
- 6) 佐藤武男 : 喉頭癌. *耳喉* **50** : 331~342, 1978.
- 7) 岩本彦之丞 : 喉頭癌における喉頭全摘後の再発と癌組織像との関係. *耳喉* **23** : 179~182, 1951.
- 8) 内海重光 : 声帯癌の進展型式とその臨床病理組織学的研究. *日耳鼻* **73** : 1488~1505, 1970.
- 9) 中島重隆 : 大切片標本による喉頭癌の病理組織学的研究. *日耳鼻* **69** : 54~75, 1966.
- 10) 岩本彦之丞 : 喉頭癌の悪性度. *耳喉* **30** : 316~319, 1958.
- 11) 三吉康郎 : 喉頭癌の臨床的ならびに病理組織学的研究. *耳鼻臨床* **48** : 404~412, 1955.
- 12) 石井 学 : 喉頭癌の臨床的並びに病理組織学的研究. *日耳鼻* **69** : 833~861, 1966.
- 13) 前田和雄 : 放射線抵抗性喉頭癌の臨床病理組織学的研究. *日耳鼻* **82** : 141~156, 1979.
- 14) 大竹英夫 : 頭頸部扁平上皮癌症例における間質反応の臨床的意義. *日耳鼻* **88** : 1178~1192, 1985.
- 15) Visser R : Immunocytochemical detection of basement membrane antigens in the histopathological evaluation of laryngeal dysplasia and neoplasia. *Histopathology* **10** : 171~180, 1986.
- 16) 堤康一郎 : 生検組織形態からみた声門上癌の臨床病理学的研究. *日耳鼻* **91** : 570~579, 1988.
- 17) Miyachi K, Fritzler MJ and Tan EM : Autoantibody to a nuclear antigen in proliferating cells. *J Immunol* **121** : 2228~2234, 1987.
- 18) Bravo R, Fey SJ, Bellantini J, et al : Identification of a nuclear and of a cytoplasmic polypeptide whose relative proportion are sensitive to changes in the rate of cell proliferation. *Exp Cell Res* **136** : 311~319, 1981.
- 19) Tan CK, Castillo C, So AG, et al : An auxiliary protein for DNA polymerase delta from fetal calf thymus. *J Biol Chem* **261** : 12310~12316, 1986.
- 20) Mathews MB, Bernstein RM, Franza BR, et al : Identity of the proliferating cell nuclear antigen and cyclin. *Nature* **309** : 374~376, 1984.
- 21) Prelich G : Functional identity of proliferating cell nuclear antigen and a DNA polymerase delta auxiliary protein. *Nature* **326** : 517~520, 1987.
- 22) Prelich G and Stillman B : Coordinated leading and lagging strand synthesis during SV40 DNA replication in vitro requires PCNA. *Cell* **53** : 117~126, 1988.
- 23) Takasaki Y, Deng JS and Tan EM : A nuclear antigen associated with cell proliferation and blast transformation ; its distribution in synchronized cells. *J Exp Med* **154** : 1899~1909, 1981.
- 24) 堤 寛 : 免疫グロブリン, 3 自己抗体 b 各種自己抗体を応用した疾患の検討. *病理と臨床* **4** : 295~301, 1986.
- 25) Robbins BA, de la Vega D, Ogata K, et al : Immunohistochemical detection of proliferating cell nuclear antigen in solid human malignancies. *Arch Pathol Lab Med* **111** : 841~845, 1987.
- 26) Garcia RL, Coltrera MD and Gown AM : Analysis of proliferative grade using anti-PCNA/cyclin monoclonal antibodies in fixed, embedded tissues. *Am J Pathol* **4** : 733~739, 1989.
- 27) Tabuchi K, Honda C and Nakane PK : Demonstration of proliferating cell nuclear antigen (PCNA/cyclin) in Glioma cells. *Neurol Med Chir.* **27** : 1~5, 1987.
- 28) Takahashi H, Strutton GM and Parsons PG : Determination of proliferating fractions in malignant melanomas by anti-PCNA/cyclin monoclonal antibody. *Histopathol* **18** : 221~227, 1991.
- 29) Matsuno Y, Hirohashi S, Furuya M, et al : Heterogeneity of proliferative activity in nodule-in-nodule lesions of small hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res* **81** : 1137~1140, 1990.
- 30) Jain S, Filipe MI, Hall PA, et al : Prognostic value of proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma. *J Clin Pathol* **44** : 655~659, 1991.

- 31) 松野吉宏, 向井 清: 増殖細胞核抗原 (PCNA).
病理と臨床 9: 879~883, 1991.

(別刷請求先: 和田好純
〒770 徳島市蔵本町2-50-1
徳島大学医学部耳鼻咽喉科学教室)