口腔癌におけるフィブロネクチンおよびフィブリノーゲンの 動態に関する実験的研究

永井 省二

Experimental studies on dynamics of fibronectin and fibrinogen in oral cancer

Syoji NAGAI

Abstract: Fibronectin (FN), one of the glycoproteins existing in plasma and extracellular matrix, is found in the connective tissue stroma and basement membrane of cancer. It is also reported that fibrinogen (Fbg) cross-links to FN deposited in the tumor stroma and shows a high serum level in cancer patients. The purpose of this study was to examine the tissue localization and distribution of FN and Fbg with time lapse in experimentally induced carcinoma (VX 2 carcinoma implanted in tongue) and its metastatic lesions in rabbits and to compare with those observed in wound healing process of normal oral mucosa in rabbits.

Distribution of FN and Fbg was examined with direct immunoperoxidase technique. The plasma FN and Fbg levels in rabbits bearing VX 2 carcinoma and foreign body granuloma were also quantitatively measured by a single radial immunodiffusion method.

The results obtained were as follows:

- 1) The tumor enlarged aggressively, and metastasized to cervical lymph nodes and lungs on 10 days after implantation.
- 2) FN deposits were found in the tumor stroma on 7 days after implantation and in a capsulelike connective tissue around the tumor nest on 14 days after.
- 3) Fbg was present as a fibrin nets surrounding the tumor nest on 7 days after implantation and it disappeared after 10-14 days.
- 4) In the metastatic tissues (cervical lymph nodes' and lungs), FN and Fbg showed no marked deposits except around the tumor cells in the early stage of metastasis.
- 5) In the experimentally induced wound of oral mucosa, FN and Fbg deposits were consistent with the distribution of fibroblast, collagen fiber, and histiocyte in immature granulation tissue. This reaction was similar to that observed in stroma of early VX 2 carcinoma.
- 6) The plasma FN level in rabbits bearing VX 2 carcinoma increased gradually in 26% on 21 days after implantation comparing with the control value. The plasma Fbg also showed increased levels in 68% on 28 days after implantation comparing with the control value.

The results suggested that the stromal fibroid production in malignant tumors might be one of the vital defense reactions against tumor growth similar to the case of wound healing reactions. It is also suggested that the tissue distribution of FN and Fbg as well as plasma FN and Fbg levels would be a good biological marker of tumor growth and metastatic process in oral cancers.

鹿児島大学歯学部第1口腔外科学教室
(主任：山下佐英教授)
First Department of Oral and Maxillofacial sur-

gery, Kagoshima University Dental School (Chief:
Prof. Sukehide Yamashita)
受付日：平成元年11月13日

Key words: VX 2 carcinoma (VX 2 癌), fibronectin (フィブロネクチン), fibrinogen (フィブリノーゲン)

緒 言

癌組織には癌細胞からなる癌実質と、血管や結合組織を主な構成成分として癌実質を支持し栄養を供給する間質が存在している。この間質の生理学的、病理学的意義はきわめて大きく、間質成分の一部は、癌細胞の運動や増殖などに関与していることが明らかになってきている¹⁻⁴⁾。現在行われている癌の診断や治療は、主に癌実質を中心にとらえたものが多いが、癌組織の間質形成や間質成分の変化などを利用した新しい癌の診断法や治療法も必要になってくると考えられる。

フィブロネクチン (Fibronectin, 以下 FN と略) は、分子量が約23万のサブユニットからなる糖蛋白で、血液中に存在する血漿 FN と細胞表面に存在する細胞性 FN とに分けられる。FN は、細胞外基質を構成する主な糖蛋白の一つで、細胞と細胞間および細胞と基質間の接着、細胞の移動や分化、形態維持、創傷治癒、凝固、オプソニン作用など、多様な生物学的活性を有するとされている⁵⁻⁷⁾。FN は1948年 Morrison ら⁸⁾ によって血漿中の低温で沈殿するグロブリン (cold insoluble globulin) として初めて報告され、さらに癌化すると細胞表面から激減することを Yamada ら⁹⁾ が報告して以来、一躍注目を浴びるようになった。癌組織では、その基底膜や間質に広く分布し¹⁰⁻¹⁷⁾、間質の線維化と深く関係していると考えられている¹⁸⁻²⁰⁾。さらに、一部の癌患者では血中の FN 濃度が上昇し²¹⁾、FN の断片化が起こっていることや²²⁾、尿中の FN 濃度が上昇していることなどを利用して、癌の診断に応用しようとする試みもなされている²³⁾。

一方、血漿第Ⅷ因子の作用により、この FN と架橋結合するとされているフィブリノーゲン (fibrinogen 以下 Fbg と略) は²⁴⁾、古くから癌間質に存在することが知られており^{25, 26)}、担癌生体ではその血中濃度が著明に上昇すると報告されている²⁷⁻³¹⁾。

今回、著者は、癌間質成分の一つである FN およびその関連血漿蛋白の Fbg に着目し、VX 2 癌移植による家兎舌癌モデルを用いて、移植部 (舌) と転移部 (リンパ節、肺) における両蛋白の組織局在を経時的に観察し、癌の浸潤や増殖の指標としての有用性や、移植部 (舌) と転移部 (リンパ節、肺) における癌間質形成の差について検索することを目的として、実験的研究に着手した。また、各種実験的創傷の治癒過程における両蛋白の組織局在についても経時的に観察し、癌間質形成と創傷治癒反応とを比較し、癌の増殖や転移に対する

FN や Fbg および癌間質の役割を検討した。さらに、VX 2 癌移植家兎および異物肉芽腫形成家兎における両蛋白の血中濃度の経時的变化についても検索し、口腔癌の診断における指標としての FN と Fbg の意義について検討を行った。

実験材料ならびに方法

I. 実験材料

1. 実験動物

実験動物は、体重約 3 kg の雑系白色家兎 94 羽を使用し、本学動物実験施設内の恒温 (24±1°C)、恒湿 (60±5%) 環境下において、少なくとも 2 週間以上固形飼料および飲料水で飼育し、異常がないことを確認した後に実験に供した。

2. 実験腫瘍

実験腫瘍は、1940 年に Rous ら³²⁾ により可移植性の癌として誘導された VX 2 癌で、1985 年より、当教室で家兎大腿部に累代移植しているものを使用した。

II. 実験方法

1. 実験群

家兎 94 羽は、正常家兎 5 羽、VX 2 癌移植家兎 35 羽、創傷形成家兎 54 羽 (潰瘍形成家兎: 18 羽、切開創形成家兎: 18 羽、異物肉芽腫形成家兎: 18 羽) に分類した。

1) 正常家兎群

未処置家兎 5 羽を正常家兎群として採血後屠殺し、頬粘膜、口蓋粘膜、舌、頸部リンパ節、肺を切除した。なお、頸部リンパ節は、長径が 3 mm 以上のものを選択的に摘出し、その数および大きさ (長径・巾径・厚径) を 0.1 mm まで計測した。

2) VX 2 癌移植家兎群

移植法は外山ら³³⁾の方法に準じ、最終的に生理食塩水にて容積比 50% (5×10⁶ 個/ml) に調整した癌細胞浮遊液を、舌尖より後方 1/3 の左舌側縁に 0.1 ml (5×10⁵ 個) 注入した。移植後、3 日、5 日、7 日、10 日、14 日、21 日、28 日と経時的に家兎 35 羽 (各 5 羽) について採血後屠殺し、舌、頸部リンパ節、肺を切除した。舌では、硬結の触知できる範囲を癌の大きさとし、長径・巾径・厚径を 0.1 mm まで計測した。頸部リンパ節では、正常リンパ節と同様に長径が 3 mm 以上のものを選択的に摘出し、その数および大きさ (長径・巾径・厚径) を 0.1 mm まで計測した。肺は、肺表面における転移結節数の観察を行ったのち、結節部の組織を任意に 3 箇所切除した。

3) 創傷形成家兔群

a) 潰瘍形成家兔群：家兔頬粘膜に、アルコールランブで加熱したピンセットを約5秒間接触させ、直径約3mmで円形の熱性潰瘍を形成した。熱性潰瘍形成後、3日、5日、7日、10日、14日、21日目と経時的に家兔18羽(各3羽)の創部頬粘膜組織を切除した。

b) 切開創形成家兔群：家兔頬粘膜に尖刃刀にて長さ約10mm、深さ約10mmの切開創を形成し、3-0絹糸にて一針縫合を行い、一次閉鎖創とした。切開創形成後、3日、5日、7日、10日、14日、21日目と経時的に家兔18羽(各3羽)の創部頬粘膜組織を切除した。

c) 異物肉芽腫形成家兔群：舌尖より後方1/3部分の左舌側縁に、60℃で溶解したパラフィン0.2mlを注入し、異物肉芽腫を形成した。パラフィン注入後、3日、5日、7日、10日、14日、21日目と経時的に家兔18羽(各3羽)について採血後屠殺し、舌を切除した。

2. 酵素抗体法(直接法)

それぞれの摘出材料は、10%中性ホルマリンで12時間固定後、通法に従ってパラフィン包埋した。VX2癌移植舌は、それぞれの観察日で、3羽は前額断剖面、2羽は矢状断剖面とし、リンパ節およびその他の組織はすべて長軸方向の断面とした。パラフィンブロックは、3~4μの厚さの半連続切片とし、スライドガラスに付着後、37℃のインキュベーター内で一晩十分に乾燥させたのち、4℃(遮光)で保存し、染色時に適宜使用した。

FNおよびFbgの組織局在は、Cappel社製抗家兔抗体を使用した酵素抗体法(直接法)で観察した。通法に従って、脱パラ、アルコール脱水後、0.1%トリプシン溶液(Sigma社)で、37℃・30分間前処理を行った。内因性ペルオキシダーゼ活性の阻止(0.3% H₂O₂メタノール溶液で30分間)、非特異反応阻止(4%正常ウシ血清で室温40分間)後、一次抗体にペルオキシダーゼ標識(ヒツジ)抗家兔FN抗体(Cappel社)およびペルオキシダーゼ標識(ヤギ)抗家兔Fbg抗体(Cappel社)を使用し、湿箱内で、4℃、12時間反応させた。3-3,ジアミノベンチジン(DAB-H₂O₂溶液)で発色後、メチルグリーンで核染色を行った。対照試験として、一次抗体に非標識(ヒツジ)抗家兔FN抗体(Cappel社)および非標識(ヤギ)抗家兔Fbg抗体を使用したブロッキング・テストを行った。また、非特異反応の確認のために、一次抗体にペルオキシダーゼ標識抗家兔IgG(Cappel社)およびペルオキシダーゼ標識抗家兔アルブミン(Cappel社)を使用した免疫染色も行った。使用した各抗体の希釈倍数は表1に示す。なお、一般染色としてヘマトキシリン・エオジン染色(H-E染色)、さらにアザン染色、鍍銀染色を行った。

3. 血中濃度測定法

VX2癌移植家兔および異物肉芽腫形成家兔の耳静脈

表 1 酵素抗体法に使用した抗家兔抗体と希釈倍数

免疫動物	抗家兔抗体	希釈倍数
ヤギ	抗家兔 FN (ペルオキシダーゼ標識 IgG 留分)	1/200
ヤギ	抗家兔 FN (非標識全血清)	1/200
ヒツジ	抗家兔 Fbg (ペルオキシダーゼ標識 IgG 留分)	1/160
ヒツジ	抗家兔 Fbg (非標識全血清)	1/160
ヤギ	抗家兔 アルブミン (ペルオキシダーゼ標識 IgG 留分)	1/300
ヤギ	抗家兔 IgG (ペルオキシダーゼ標識 IgG 留分)	1/300

より採血して分離した血漿(3.8%クエン酸ナトリウム1/10容を含む)は、プラスチック製ストックチューブに分注して、測定日まで-80℃で凍結保存した。なお、測定時の凍結溶解は1回限りとした。血中濃度測定は、一次免疫拡散法(single radial immunodiffusion method)で行った。カッターテンプレートキット(Milles社製)を使用して、表2に示した条件で各抗血清(Cappel社)を加えた抗体含有寒天板を作製した。ゲルバンチャーで直径3mmの小孔をあけ、各小孔に被検血漿を5μlずつ注入し、湿箱内で、4℃、48時間反応させた。沈降輪の直径を0.01mmまで測定し、正常家兔保存血漿の沈降輪の直径を100%とし、これに対する各血漿の沈降輪の直径を%で示して、血中濃度の変化を観察した。測定値の有意差の検定はt(p<0.01)検定で行った。

実 験 結 果

I. 癌増殖の推移

1. 移植部(舌)における癌増殖の推移

VX2癌移植後、5日目には腫瘍が触知され、10日目には肉眼的に舌の膨隆が認められ、さらに14日目以降は潰瘍形成も認められた。移植後10日目に切除した移植部(舌)の肉眼的所見、およびその矢状断、前額断のH-E所見を写真1~3に示す。癌の増殖は、舌の左右的増殖の方が前後の増殖に比べ著明で、その体積(長径×巾径×厚径)は、移植後7日目を境に急増した(図1)。

2. 転移部(頸部リンパ節、肺)における癌増殖の推移

1) 頸部リンパ節転移：VX2癌移植後、7日目、14日目の頸部リンパ節所見を写真4、5に示す。リンパ節は、西田ら³⁴⁾の報告に準じて、頸下リンパ節、浅頸リンパ節、深頸リンパ節に分類した。頸部リンパ節は、移植

表 2 SRID 法における条件

蛋白名	使用抗体	寒天量	抗体量	血漿添加量	反応時間	温 度
FN	抗家兎 FN 抗体 (全血清)	4.5 (ml)	0.5 (ml)	5 (μ l)	48 (h)	4 ($^{\circ}$ C)
Fbg	抗家兎 Fbg 抗体 (全血清)	4.5 (ml)	0.5 (ml)	5 (μ l)	48 (h)	4 ($^{\circ}$ C)

図 1 移植部 (舌) における癌の体積変化と転移形成

部 (舌) の癌増殖とともにその数が増加し、正常家兎と比較すると、21日目では平均 2.5 個の増加となった。また、リンパ節の体積も漸増増加し、特に深頸リンパ節では 10 日目以降急増した (図 2)。摘出リンパ節の H-E 所見では、この深頸リンパ節に 10 日目以降すべてに転移が認められ (写真 6, 7)、移植部 (舌) における癌の急激な増殖時期とリンパ節転移との間に関連が認められた (図 1)。

2) 肺転移: VX 2 癌移植後 21 日目の肺の H-E 所見を写真 8 に示す。肺転移は、移植後 10 日目 2 羽、14 日目 4 羽、21 日目以降はすべてに認められ、リンパ節転移同様、移植部 (舌) における癌の急激な増殖と肺転移との間に関連が認められた (図 1)。肺表面の転移結節は粟粒大から米粒大ぐらいまでの大きさで、その数は 28 日目で平均 45 個であった (表 3)。

II. FN と Fbg の組織局在の変化

1. 正常家兎組織における FN と Fbg の組織局在

口腔粘膜 (舌、頬、口蓋) では、FN は血管内皮細胞に僅かに認められるのみであった。Fbg の局在は認められなかった。

リンパ節では、FN は被膜部および梁柱部、リンパ組織内の細網線維や血管内皮細胞、リンパ管内皮細胞に認められた。Fbg の局在は認められなかった。

肺では、FN は肺胞壁や血管内皮細胞に認められた。Fbg の局在は、認められなかった。

図 2 頸部リンパ節の体積変化および増加数

2. 移植部 (舌) における FN と Fbg の組織局在の変化

1) 移植後 3 日目: 移植後 3 日目では、移植部に線維芽細胞や新生毛細血管からなる肉芽組織が認められ、癌細胞はこの肉芽組織内に島状に散在していた。FN は、肉芽組織部に一致して認められ、線維芽細胞や血管内皮細胞が陽性を示したが、癌細胞は陰性であった。周囲の正常組織では、血管内皮細胞や神経周膜が陽性を示した (写真 9)。Fbg も FN とほぼ同様に肉芽組織部に一致して認められた。

2) 移植後 5 日目: 移植後 5 日目では、島状に散在していた癌細胞は互いに増殖集合して、しだいに癌胞巣を形成し始めていた。FN は、一部に残存した肉芽組織と癌間質に認められた。また癌胞巣に近接した正常組織の血管内皮細胞は FN 陽性を示したが、離れた部位では僅かに陽性を示す程度であった。Fbg も肉芽組織と癌間質に認められた。

3) 移植後 7 日目: 移植後 7 日目には、癌胞巣は、舌の前断面剖面の約 1/3 を占めるまで増殖していた。癌間質は線維芽細胞と膠原線維からなり、各癌胞巣を網目状に区分していた。FN は、癌間質で認められ (写真 10)、線維芽細胞、微細な膠原線維が陽性を示した (写真 11)。癌胞巣周囲の正常組織では、癌胞巣より離れた部位でも、血管内皮細胞が FN 陽性を示した。Fbg は、癌胞巣を取り囲むように、線状あるいは帯状に認められ、フィブリン網の存在が示唆された (写真 12)。

表 3 肺転移結節数

	3～7日目	10日目	14日目	21日目	28日目
転移結節数	0	2±2.8	36.2±30.3	48.4±43.8	45.5±40.5

単位：個   数値：平均値±標準偏差

- 4) 移植後10日目：移植後10日目では、癌胞巣は舌前額断断面のほぼ全体を占めるまで増殖し、中心部には壊死巣が認められた(写真3)。癌胞巣は、癌細胞が密に増殖し、その周囲に比較的豊富な間質の存在する第一層(最外層)、その内側で間質の量的減少に伴い胞巣構造の不明瞭となった第二層(中間層)、そして第三層の壊死巣という VX2 癌に特徴的な三層構造を呈し、一部では第一層の外側に、帯状の被膜様の結合組織が認められた。FN は、この被膜様の結合組織や第一層の癌間質に認められたが、第二層や壊死層では癌間質の減少とともにその局在部位も減少した(写真13)。また、癌胞巣内の血管内皮細胞(写真14)は FN 陽性を示した。Fbg の癌胞巣を取り囲むような帯状の局在は、減弱あるいは消失し、癌胞巣に近接した正常組織の組織間隙や一部の血管内でび漫性に認められたのみであった(写真15)。
- 5) 移植後14日目：移植後14日目では、癌胞巣はさらに増大して一部に潰瘍形成も認められ、壊死巣が増加した。癌胞巣周囲では、被膜様の結合組織が肥厚し、多形核白血球、リンパ球、形質細胞の浸潤が著明となり、末梢側のリンパ管内には、癌細胞の浸潤している所見が多数認められた。FN は、癌胞巣周囲の肥厚した被膜様の結合組織と第一層の癌間質で認められたが(写真16)、第二層や壊死巣では血管内皮細胞以外にその局在は認められなかった。Fbg の癌胞巣を取り囲むような局在は完全に消失し、癌胞巣に近接した正常組織の組織間隙に、び漫性に認められるのみであった(写真17)。
- 6) 移植後21～28日目：移植後21日目では、癌胞巣はその長径ならびに巾径がさらに増加した。移植後28日目には、長径がさらに増加し、舌の矢状断断面の約2/3を占めるまで増大した。癌間質は減少し、癌胞巣周囲の被膜様の結合組織も不明瞭となった。FN の癌間質における局在は依然認められ、血管内皮細胞や一部に残存した被膜様の結合組織部でも認められた。Fbg の局在は14日目とはほぼ同様で、フィブリン網を示唆するような局在は認められなかった。
3. 転移部(頸部リンパ節、肺)における FN と Fbg の組織局在の変化
- 1) 頸部リンパ節(深頭リンパ節)における FN と Fbg の組織局在の変化
- α) 移植後3～7日目：移植後3～5日目では、小リンパ球を主体とした傍皮質の肥厚とリンパ洞での組織球の増生が認められた。移植後7日目では、傍皮質の肥厚

- とリンパ洞での組織球の増生がさらに著明となり、胚中心の形成も一部に認められた。肥厚した傍皮質では、小リンパ球にかわって、リンパ芽球や組織球が増加し、リンパ洞での組織球の増生は中間洞や辺縁洞にも認められた。FN は、肥厚した傍皮質で認められ、細網線維や血管内皮細胞、リンパ管内皮細胞が陽性を示し、リンパ小節周囲にもこれを取り囲むように認められた(写真18)。また、組織球の増生が著明なリンパ洞でも、組織球や細網線維が陽性を示した。Fbg は、一部のリンパ洞に認められるのみであった。
- b) 移植後10日目：移植後10日目では、辺縁洞部に癌細胞の転移が認められた(写真6)。皮質部では、胚中心の形成と傍皮質の肥厚がさらに著明となり、特に転移した癌細胞周囲には、組織球と細網線維の増生が認められた。リンパ洞では、組織球の増生とリンパ球のうっ滞が目立ち、赤血球や異物を貪食した組織球が多数認められた。FN は、癌細胞を取り囲むように認められ、増生した細網線維や組織球が陽性を示した(写真19)。Fbg も癌細胞を取り囲むように認められ、フィブリン網の存在が示唆されたが、移植部(舌)で認められたほど著明ではなかった(写真20)。
- c) 移植後14日目：移植後14日目では、転移した癌細胞は、直接皮質内に浸潤して癌胞巣を形成し、リンパ節の約1/3を占めていた(写真7)。癌胞巣は大部分が壊死巣および第二層からなり、第一層は最外層に一部認められるのみであった。癌間質は、第一層に僅かに認められるのみで、移植部(舌)で認められたような癌胞巣周囲の被膜様の結合組織も認められなかった。皮質部は癌胞巣に圧排され、リンパ洞は拡張して、多数のリンパ球や異物を貪食した組織球が認められた。FN は、第一層の癌間質および血管内皮細胞で認められたが、移植部(舌)で認められたような FN 陽性の被膜様の結合組織は不明瞭であった(写真21)。Fbg は、リンパ洞の一部に認められるのみで、フィブリン網の存在を示唆するような局在は認められなかった。
- d) 移植後21～28日目：移植後21～28日目では、癌胞巣は、リンパ節のほぼ全体を占めるまで増殖した。FN は、第一層の癌間質と血管内皮細胞で認められたが、癌胞巣を取り囲むような局在は認められなかった。Fbg も、14日目とはほぼ同様で、残存したリンパ洞の一部に認められるのみで、フィブリン網の存在を示唆するような局在は認められなかった。

2) 肺における FN と Fbg の組織局在の変化

a) 移植後3～7日目: 移植後7日目までは肺転移は認められず、肺組織では毛細血管の増生が認められる程度であった。FN は、正常家兎の肺とほぼ同様で、肺胞壁や血管内皮細胞に認められた。Fbg は、一部の血管内に認められるのみであった。

b) 移植後10～14日目: 移植後10～14日目では、肺腔内に浸出した癌細胞がそれぞれ増殖集合して癌巣を形成し、肺組織内に島状に多数散見された(写真8)。癌巣は、第一層と中心部の壊死巣とからなり、第二層は不明瞭であった。移植部(舌)と比較すると癌間質は少なく、癌巣周囲の被膜様の結合組織も認められず、多形核白血球やリンパ球、肺胞マクロファージの浸潤も僅かであった。FN は、癌間質や肥厚した肺胞壁、血管内皮細胞に認められたが、癌巣を取り囲むような局在は認められなかった(写真22)。Fbg も癌間質の一部や血管内で認められたが、フィブリン網の存在を示唆するような癌巣周囲での局在は認められなかった。

c) 移植後21～28日目: 移植後21～28日目では、島状に散在した癌巣はさらに増大し、一部ではそれらが集合して大きな癌巣を形成していた。癌巣周囲の組織は、毛細血管が拡張し、組織液が漏出して浮腫状を呈し、多核白血球やリンパ球、肺胞マクロファージも認められた。FN は、癌間質や肥厚した肺胞壁、血管内皮細胞に認められるのみであった。Fbg は、一部の血管内で認められるのみであった。

4. 各種創傷治療過程における FN と Fbg の組織局在の変化

1) 熱性潰瘍の治療過程における FN と Fbg の組織局在の変化

a) 受傷後3日目: 受傷部上皮は完全に剥離脱落し、比較的浅い潰瘍を形成していた。FN は、潰瘍底の線維素析出部や肉芽組織で認められ、潰瘍辺縁の上皮基底膜部にも線状あるいは帯状に認められた(写真23)。さらに、血管内皮細胞や神経周膜も FN 陽性を示した。Fbg は、潰瘍底の線維素析出部や出血部、潰瘍辺縁の上皮基底膜部に線状に認められ、FN の局在部とほぼ一致したが(写真24)、血管内皮細胞や神経周膜には認められなかった。

b) 受傷後5日目: 上皮の再生が潰瘍底の線維素析出部上を這うように進行している。FN は、潰瘍底の肉芽組織および潰瘍辺縁の上皮基底膜部で認められた。Fbg は、FN と同様に、新生上皮直下の線維素析出部および上皮基底膜部で認められた。

c) 受傷後7～10日目: 潰瘍は完全に被覆され、再生上皮直下には細胞成分に富んだ肉芽組織と瘢痕組織が認められた。FN は、再生した上皮の基底膜部とその直下の肉芽組織部で認められたが、瘢痕組織では血管内皮細胞を除いて認められなかった(写真25)。Fbg は、新生

した上皮の基底膜部に線状に認められ、瘢痕組織にも僅かに認められたが、肉芽組織部には認められなかった。

d) 受傷後14～21日目: 再生した上皮直下の肉芽組織は消失し、瘢痕組織に置き換わった。FN は、受傷後14日目では上皮基底膜部と血管内皮細胞に認められたが、21日目には、上皮基底膜部での線状の局在は消失した。Fbg の著明な局在は認められなかった。

2) 切開創の治療過程における FN と Fbg の組織局在の変化

a) 受傷後3日目: FN は、切開部の線維素析出部や肉芽組織部で認められ、受傷部の上皮基底膜部にも線状あるいは帯状に局在が認められた(写真26)。Fbg も、切開部の線維素析出部や上皮基底膜部に認められた(写真27)。

b) 受傷後5～7日目: 切開部は、線維芽細胞や微細な膠原線維を主体とした肉芽組織で満たされていた。FN は、肉芽組織部で認められ、線維芽細胞や膠原線維、血管内皮細胞が陽性を示した(写真28)。また、受傷部上皮の上皮基底膜部でも認められた。Fbg は、肉芽組織の一部と、受傷部上皮の基底膜部に線状に認められたが、その局在は減弱した。

c) 受傷後10～14日目: 切開部は、成熟した膠原線維で修復され、肉芽組織は上皮下に一部残存するのみであった。FN は、残存した肉芽組織に認められるのみで、上皮基底膜部での局在も消失した。Fbg の著明な局在は認められなかった。

d) 受傷後21日目: 切開面は、瘢痕組織形成し、FN・Fbg とも著明な局在は認められなかった。

3) 異物性肉芽組織の治療過程における FN と Fbg の組織局在の変化

a) パラフィン注入後3～5日目: 3～5日目では、注入したパラフィン周囲を取り囲むように線維素の析出、線維芽細胞や膠原線維が認められた。FN は、パラフィン周囲を取り囲むように線維素析出部および線維芽細胞と膠原線維に認められ、さらに、周囲組織の血管内皮細胞や神経周膜部にも認められた(写真29)。Fbg も、FN と同様にパラフィン周囲を取り囲むように線維素析出部と線維芽細胞や膠原線維に認められた(写真30)。

b) パラフィン注入後7～10日目: パラフィンは、細胞成分に富んだ肉芽組織によって網目状に区分されていた。FN は、肉芽組織部で認められ、線維芽細胞やパラフィンに近接した組織球、多形核白血球などが陽性を示した。Fbg は、一部に残存した線維素析出部および線維芽細胞や膠原線維の一部に認められたが、その局在は減弱した。

c) パラフィン注入後14～21日目: 細胞成分に富んだ肉芽組織は増加し、パラフィンをさらに細かい網目状に区分していた。FN は、増生した肉芽組織部で認められた(写真31)。Fbg の局在はしだいに減弱し、一部の膠

図3 VX2癌移植家兎におけるFN・Fbgの血中濃度の変化

図4 異物肉芽腫形成家兎におけるFN・Fbgの血中濃度の変化

原線維に認められるのみであった。

III. FN と Fbg の血中濃度の変化

1. VX2癌移植家兎におけるFNとFbgの血中濃度の変化

FNの血中濃度は、移植後7日目頃よりしだいに増加し始め、21日目では正常より約26%の増加が認められたが、全体的に緩やかな増加傾向であった。Fbgの血中濃度は、移植後7日目頃より急激に増加し始め、28日目には正常より約68%の増加が認められた(図3)。

2. 異物肉芽腫形成家兎におけるFNとFbgの血中濃度の変化

FNは、受傷後3日目では一過性の減少を示し、その後は徐々に増加して受傷後7日目には正常より約15%の増加となり、その後正常へと回復した。Fbgは、受傷後から徐々に増加し、10日目では正常より約30%の増加が認められ、その後正常へと回復した(図4)。

考 察

1 正常組織におけるFNとFbgの組織局在

FNは、全身の臓器に広く分布し、なかでも肺、消化管、泌尿器、皮膚などにおいて、その上皮基底膜、血管内皮細胞、皮下組織・粘膜下組織などの結合組織に存在する線維芽細胞に認められ、また膠原線維ではTypeⅢコラーゲンや好銀線維との関連が深いとされている³⁵⁻³⁸⁾。口腔領域においてLindeら³⁹⁾は、ヒト口腔粘膜の種々の部位(口唇、頬、舌、口蓋)で、その上皮基底膜と上皮下結合組織、さらに血管内皮細胞や神経周膜にもFNの局在が認められ、特に舌背と口蓋部で著明であったと報告している。著者の正常家兎における検索結果では、FNはリンパ節や肺組織では諸家の報告³⁵⁻³⁸⁾とほぼ一

致し、リンパ節の被膜や細網線維、肺胞壁、血管内皮細胞に認められた。口腔粘膜(口蓋、頬、舌)ではLindeら³⁹⁾の報告と異なり、血管内皮細胞がわずかに陽性を示す程度であったが、VX2癌を移植した舌や各種創傷を形成した口腔粘膜では、血管内皮細胞、神経周膜、上皮基底膜部に局在が認められた。これはヒト口腔粘膜と家兎口腔粘膜での環境の違いや、FNの局在機構の違い、あるいは正常組織では酵素抗体法で検出できないほど微量であるが、VX2癌の移植や炎症による刺激で、周囲組織の活性が高まり、FNが産生されたり、あるいは血中のFNが移行したためと考えられた。

2. 癌組織におけるFNとFbgの組織局在の変化

癌組織におけるFNの組織局在に関しては、Stenmanら¹⁰⁾の報告をはじめ、消化器¹¹⁾、生殖器¹²⁾、乳腺¹³⁾、皮膚¹⁴⁾、肺^{15,16)}、口腔¹⁷⁾などの組織において報告されている。一般に、癌組織では癌細胞の基底膜部での局在が減少あるいは消失し、間質部に著明な局在を示すとされている。さらに、癌の浸潤状態や組織型により、その局在に変化が認められ、癌の増殖や転移と深い関係があるとされている。間質におけるFNの局在に関しては、前田¹⁸⁾が胃癌で、大山¹⁹⁾が乳癌で、また、大竹²⁰⁾が頭頸部扁平上皮癌で観察し、FNが間質の線維化に深く関与し、癌の増殖に対して抑制的に働いていると報告している。一方、癌の間質にはFbgあるいはフィブリンの存在することは古くから知られており、Hiromotoら²⁵⁾やOguraら²⁶⁾の報告が認められる。この癌周囲に認められるフィブリン網は、癌のもつprocoagulant活性⁴⁰⁾がもたらす結果と解釈され、その意義については、Peterson⁴¹⁾、Dvorak⁴²⁾、田中ら⁴³⁾が、癌間質の線維化に関与し、

癌の発育を抑える生体防御反応であると主張している。このように癌間質には FN や Fbg が局在し、癌の増殖や転移にさまざまな影響を与えていると考えられるが、癌の増殖や転移の指標とする目的で、間質における両蛋白の経時的な局在変化を観察した報告はなく、さらに、VX 2 癌における FN・Fbg の組織局在の報告は認められない。VX 2 癌は、人の口腔癌に多い扁平上皮癌とよく似た組織型であることから、口腔癌の実験腫瘍としてはよく用いられているものであるが、間質は癌胞巣の最外層部を除くと、全体的に少ないとされている^{32,33)}。しかし、短期間に急速に増大し、好発にリンパ節や肺に転移する VX 2 癌の間質の変化を観察することは、癌の発育に対する宿主の反応を検索する上で、好材料と考えられるため、VX 2 癌移植による家兎舌癌モデルを用いて検索を行った。

著者の移植部(舌)における組織局在の検索結果では、FN は、移植後 7 日目までの増殖の緩やかな時期には、癌間質に一致して癌胞巣全体に網目状に局在していたが、癌の増殖が急激となり転移の形成された 10 日目以降は、発育先端部の間質の豊富な部分に認められ、さらに癌胞巣周囲に、FN 陽性の被膜様の結合組織が増生した。この結果から、前田¹⁵⁾、大山¹⁹⁾、大竹²⁰⁾の報告と同様、FN は癌間質や癌胞巣周囲での線維化を促進し、癌の浸潤や増殖あるいは転移に対して防御的な役割を果たしているものと考えられた。一方 Fbg は、移植後 7 日目までの癌の増殖が穏やかな時期には、癌胞巣を取り囲むような帯状の局在が認められ、フィブリン網の存在が示唆されたが、増殖が急激となった 10 日目以降は、その局在は減少あるいは消失した。これは、癌細胞からのプラスミノゲンアクチベーター^{41,42)}をはじめとする各種の分解酵素⁴³⁾が、フィブリン網を溶解したためと考えられるが、この結果は、Peterson⁴¹⁾、Dvorak⁴²⁾、田中ら⁴³⁾の報告と一致し、癌胞巣周囲のフィブリン網は、癌の浸潤や増殖あるいは転移を抑制しているものと考えられた。これらの結果から、癌組織における癌間質の形態的観察と同様に、FN や Fbg の局在の観察が、癌の浸潤増殖の程度や転移形成の時期を知るひとつの指標となる可能性が示唆され、宿主の生体防御反応を知る上で重要であると考えられた。

転移リンパ節においては、FN は、移植後 10 日目には、転移した癌細胞周囲の組織球や、増生した細網線維に認められた。しかし、14 日目以降は消失し、移植巣(舌)のような FN 陽性の被膜様の結合組織も認められなかった。また、癌胞巣の間質は少なく、FN は発育先端部にわずかに認められたのみであった。肺転移巣においても、わずかな癌間質に FN が認められたのみで、FN 陽性の被膜様の結合組織は認められなかった。Fbg も同様に、リンパ節転移の初期に、転移した癌細胞周囲に一部認められたのみで、移植部(舌)で認められたフ

ィブリン網の存在は明瞭ではなかった。これらの結果から、転移部(リンパ節、肺)においても、転移初期に認められた FN 陽性の細網線維の増生や、わずかなフィブリン網の存在により癌の増殖が抑制されていると思われるが、移植部(舌)と比較するとその抑制力は弱く、転移部(リンパ節、肺)では移植部(舌)に比べ、より癌の増殖しやすい状態になっていると考えられた。

3. リンパ節の反応形態と FN の組織局在

リンパ節は、各種の病変で種々の反応形態を示し、代表的な反応に germinal center hyperplasia (以下 GCH と略)、paracortical area hyperplasia (以下 PH と略)、および sinus histiocytosis (以下 SH と略)があるとされている⁴⁶⁾。担癌生体においては、胃癌⁴⁷⁾、子宮癌⁴⁸⁾、乳癌⁴⁹⁾などで予後との関係が報告され、口腔領域でも本間⁵⁰⁾が口腔癌の頸部リンパ節の反応形態について観察している。各種の移植腫瘍を用いた報告もいくつか認められ、Carr ら⁵¹⁾は、ラット 13762 乳癌を用いた実験で、移植後 4 日目に転移が認められ、7~10 日目頃から PH が目立つが、その後は何の変化もなく腫瘍に置換されたと報告している。また、三上⁵²⁾は、マウスの腹水肝癌 MH 134 を用いて、リンパ節のそれぞれの反応形態を 4 つの Grade に分類して経時の変化を観察し、近位の転移陽性リンパ節では、SH および PH とも増加傾向にあると報告している。しかし、VX 2 癌を用いた担癌家兎の頸部リンパ節反応形態に関する報告はなく、また、転移リンパ節の反応形態の変化と FN の局在の経時的变化の関係を観察した報告も認められない。

著者の家兎深頸リンパ節における検索結果では、転移前は SH が増加傾向にあるが、癌転移が辺縁洞に認められる 10 日目には PH と GCH が増加し、その後は著明な変化はなく癌組織に置換された。FN は、特に反応の著明な PH や SH の部分で認められ、10 日目では、転移した癌細胞周囲の組織球や、増生した細網線維に局在が認められた。一般に PH の高度なリンパ節には、細胞障害性の亢進⁵³⁾や、T 細胞率の上昇⁵⁴⁾など細胞性免疫の亢進が認められ、癌の転移に対して防御的な役割を果たしていると考えられている。さらに FN が単球やマクロファージによる腫瘍細胞に対する細胞障害性を高めるとする Perri⁵⁵⁾の報告や、FN がマクロファージの存在下で、混合リンパ球の増殖を促進したという Lauséら⁵⁶⁾の報告などから、FN にはなんらかの免疫調節機能があり、マクロファージの遊走能や貪食能あるいはリンパ球の増殖を促進させることで、癌のリンパ節転移や浸潤増殖に対して防御的な働きをしていると考えられた。

4. 癌間質と創傷治癒過程における FN と Fbg の組織局在の比較

FN は、Fbg とともに創傷の治癒過程にさまざまに関与しているとされている⁵⁷⁾。切開創における FN の組織局在に関しては、松田は、ヒト皮膚の切開創⁵⁸⁾で、

また、Grinnell ら⁵⁹⁾は guinea pig の腹部の切開創で報告している。どちらも創傷治癒の初期には線維芽細胞や膠原線維に FN や Fbg が認められるが、組織の修復とともに局在は減弱したとしている。潰瘍形成後の治癒過程における FN と Fbg の局在変化に関して、Fujikawa ら⁶⁰⁾は、家兎眼球角膜において、両蛋白ともに上皮の欠損した部分に出現し、角膜の治癒とともに創部から消失したと報告している。また、濱崎⁶¹⁾は、家兎頬粘膜に形成した褥瘡性潰瘍の治癒過程における Fbg の局在を観察し、創傷初期には肉芽組織に局在が認められるが、組織の修復とともに局在は減弱したと報告している。異物性肉芽組織における局在に関してもいくつかの報告が認められ、Kurkinen ら⁶²⁾は、マウスの皮下へセルロースを移植して異物肉芽腫を形成し、移植後5週間までの幼若な肉芽組織には FN が認められるが、肉芽組織が成熟するにつれて局在は減弱したと報告している。また、竹内⁶³⁾はモルモットの側腹部皮内に活性炭素およびカンジダ菌を注入して、経上皮性排除現象における FN の局在について観察し、FN はこれらの異物と好中球との接着、あるいは組織球の貪食に関与していると推測している。これらの報告から、FN は、Fbg とともに創傷の初期に多量に出現し、膠原線維が成熟し組織が修復されるまでの間、一次的に組織の編成と構成の枠組みを与えるほか、創傷部位への線維芽細胞の遊走やオプソニンとして働くと考えられる。この創傷治癒反応と癌間質形成に関して、前田¹⁵⁾は、胃癌組織における FN、Fbg、 α_2 -プラスミン・インヒビターの局在と胃潰瘍におけるこれらの蛋白の局在が一致したことから、胃癌間質の線維化には、生体一般に認められる創傷治癒と同様の反応が関与していると報告している。

著者の各種創傷（熱性潰瘍、切開創、パラフィン注入による異物肉芽腫）の治癒過程における組織局在の検索結果でも、諸家の報告⁵⁷⁻⁶³⁾と同様に、FN や Fbg は創傷初期には肉芽組織の線維芽細胞や膠原線維に認められたが、組織が修復し膠原線維が成熟してくると、その局在は減弱した。これらの各種創傷治癒過程における、FN、Fbg の局在は、癌間質における局在とはほぼ一致するもので、癌の増殖のために常に破壊と修復を繰り返している癌間質が、創傷治癒の初期に認められる線維化と同じメカニズムで形成されていることが示唆され、前田¹⁷⁾の報告と同様、癌間質形成は癌の組織破壊に対する宿主の防御反応のひとつであると考えられた。

5. FN と Fbg との架橋形成

FN は、血漿Ⅷ因子の作用により Fbg と架橋形成することが知られている²⁴⁾。Fujikawa ら⁶⁰⁾は角膜創傷において、また前田¹⁷⁾は胃癌組織において FN と Fbg の局在が一致したことから、創傷部や癌間質においても FN と Fbg の架橋形成が存在している可能性が大きいと報告している。

著者の VX 2 癌の増殖過程や各種創傷治癒過程における両蛋白の局在も、癌の増殖や組織修復の初期では同じような局在を示し、Fujikawa ら⁶⁰⁾や前田¹⁷⁾の報告と一致した。しかし、癌の増殖や組織修復が進むに従って、Fbg の局在は FN より早く消失した。これは、癌の増殖や組織修復の初期には血漿 FN が主体で、Fbg との間に架橋形成が存在しているが、しだいに分解排除され、代って細胞性 FN が主体となってくるためと推測されるが、その証明には血漿 FN と細胞性 FN に対する特異抗体による免疫染色が必要であろう。

6. 癌間質および創傷部における FN の由来

FN は、種々の細胞で合成分泌され、主な細胞では線維芽細胞⁶⁴⁾、血管内皮細胞⁶⁵⁾、マクロファージ⁶⁶⁾などがあげられる。癌間質や創傷部に存在する FN に関しても、これらの細胞が関与していると考えられ、特にマクロファージより産生された FN は線維芽細胞に対する化学走化性を促進するという Tsukamoto⁶⁷⁾の報告などから、マクロファージと線維化は、肺の線維化⁶⁸⁾などにおいて注目されている。癌組織において大山¹⁵⁾は、乳癌間質の線維化の著しい部位では FN 陽性のマクロファージが多く、マクロファージが癌間質線維化にも関与している可能性があるとして報告している。著者の検索結果でも、パラフィン注入による異物肉芽腫やリンパ節転移の初期において、組織球が FN 陽性を示し、諸家^{67,68,17)}の報告と同様に、線維化にもこのマクロファージが関与している可能性が示唆された。

これら間葉系の細胞以外に、ある種の癌細胞が FN を産生するという報告^{69,70)}もあり、VX 2 癌に関しても吉川⁷¹⁾は、その培養液中より腫瘍増殖因子を抽出し、この物質中に FN が含まれていたと報告している。しかし著者の検索結果では、VX 2 癌細胞はすべて陰性であり、癌細胞由来の FN は否定的であった。

一方、癌間質や創傷部の FN が血漿由来であるとする報告も認められる。森ら⁷²⁾は、ラットの切開創において、また、Ueda ら⁷³⁾はラットの吉田肉腫において、¹²⁵I 標識 FN を用いたオートラジオグラフィーを行い、癌組織や創傷部への集積を報告している。このように癌間質や創傷部には、血漿 FN と細胞性 FN が混在しているものと考えられるが、森ら⁷²⁾は受傷後5日目、Ueda ら⁷³⁾は移植後6日から8日目と比較的初期の集積を観察しており、著者が前項（FN と Fbg の架橋形成）で示したように、癌の増殖や創傷の初期には血漿 FN が主体であり、癌の増殖や組織修復が進行してくると、細胞性 FN が主体になってくるものと推測された。

7. 血管系における FN の局在

血管内皮細胞での FN の局在に関する検索で Clark ら⁷⁴⁾は、ヌードマウスに移植したラットの組織片で、血管内皮細胞の増殖や遊走が、血漿由来の FN ではなく、血管内皮細胞自身より産生される FN に大きく影響さ

れると報告している。また、Bowersox ら⁷⁵⁾は、ウシの血管内皮細胞を用いた遊走試験で、FN が内皮細胞の遊走を促進することから、腫瘍組織における血管新生においても重要な役割を果たしていると報告している。さらに、高橋ら⁷⁶⁾は、婦人科領域悪性腫瘍において、腫瘍局所の血漿中 FN 濃度の増加や腫瘍局所流入動脈血中の FN が増加していることから、血管内皮細胞による FN 産生亢進の可能性を報告している。

著者の検索結果でも、血管内皮細胞での FN の局在に変化が認められた。正常家兎の血管内皮細胞は、わずかに FN 陽性を示すのみであったが、VX 2 癌を移植した舌や各種創傷を形成した口腔粘膜では、血管内皮細胞に FN の局在が認められた。また、VX 2 癌を移植した舌では、移植後 7 日目までは、癌胞巣に近接した正常組織の血管内皮細胞が FN 陽性を示したが、移植後 10 日目以降は、癌胞巣から比較的離れた正常組織の血管内皮細胞も FN 陽性を示した。また、癌胞巣内の腫瘍血管は、癌の増殖の全過程を通して FN 陽性を示した。このように、創傷部や癌胞巣周囲あるいは癌胞巣内での血管内皮細胞における FN の局在は、血管内皮細胞由来の FN が増加し、これが血管内皮細胞自身の増殖や遊走、ひいては腫瘍組織における血管新生にも関与している可能性があると推測された。

8. FN と Fbg の癌の早期診断や治療への応用

FN は、担癌生体においてもその血中濃度や尿中の濃度に変化が認められるため、これをもとに癌の早期発見に利用しようとする試みがなされている^{21,22,77,78)}。一般に、担癌生体では、血中 FN 濃度は上昇するとされている^{21,22,77,78)}が、病期の進行した症例では逆に低下するという報告も認められる^{12,79)}。また、Persons ら²²⁾が報告しているように、一部の癌患者の血中に MAD-2 と呼ばれる FN のフラグメントが上昇していることなど、担癌生体と FN とは複雑に関係しているものと考えられている。この FN の上昇に関して Saba⁸⁰⁾は、FN のオプソニン作用による単球マクロファージ系の抗腫瘍反応であると推測しているが、統一した見解は得られていない。一方、担癌生体において血中 Fbg 濃度が上昇していることは古くから知られ、癌の増殖や転移と強い相関をするとされ²⁷⁻³¹⁾、VX 2 癌でも椿木⁸¹⁾が、血中 Fbg の濃度と肺転移が相関したと報告している。

著者の血中濃度の測定結果では、FN、Fbg ともに癌の増殖や転移巣形成の時期に関連して増加したことから、担癌生体における両蛋白の血中濃度の経時的な測定は、癌の増殖状態や転移巣形成の一つの指標として有用であると考えられた。

FN と Fbg のこのような性質を利用した癌治療はまだ研究段階で、Ueda ら⁷³⁾は、癌組織へ血漿 FN が集まる性質を利用して、血漿 FN に抗癌剤を結合させた新しい化学療法の可能性を示し、また杉立ら⁸²⁾は、血漿第

XIII 因子や Fbg などを配合した組織停滞性の抗癌剤の開発などを報告している。癌組織に存在する FN が全て血漿由来だとは考えにくい、著者の検索結果でも、FN はその全過程を通して癌間質に認められたため、Ueda ら⁷³⁾の報告した化学療法や、あるいは抗 FN 抗体と抗癌剤とを結合させた化学療法の開発などが期待される。

結 論

1. 家兎舌に移植した VX 2 癌は、移植後 10 日目頃より急激に増殖し始め、この時期に関連してリンパ節・肺ともに転移が認められた。

2. 移植部(舌)における FN は、移植後 7 日目までは、癌胞巣全体の間質に認められ、転移の始まる 10 日目頃からは、癌間質の豊富な最外層部で著明となった。さらに 14 日目では、癌胞巣周囲を取り囲むように FN 陽性の被膜様の結合組織が認められた。

3. 移植部(舌)における Fbg は、移植後 7 日目までは癌胞巣周囲を取り囲むように認められ、フィブリン網の存在が示唆されたが、転移の始まる 10~14 日目には、その局在は減弱あるいは消失した。

4. 転移部(リンパ節、肺)においては、移植後 10 日目の転移初期には、癌細胞の周囲に FN、Fbg とも局在が認められたが、その後は消失し、移植部(舌)で認められたような FN 陽性の被膜様の結合組織もフィブリン網の存在も認められなかった。

5. 各種創傷(熱性潰瘍、切開創、パラフィン注入による異物肉芽腫)における FN および Fbg は、創傷初期には肉芽組織の線維芽細胞や膠原線維に認められ、癌間質における両蛋白の局在と類似していた。

6. VX 2 担癌家兎における FN の血中濃度は移植後 10 日目頃より増加し始め、21 日目では正常より約 26% の増加が認められた。Fbg も移植後 10 日目頃より急激に増加し始め、28 日目には正常より約 68% の増加となった。

以上の結果から、癌間質における線維化およびフィブリン形成は、創傷治療反応と同様に生体防御反応のひとつと考えられ、癌組織における FN や Fbg の局在の観察と血中濃度の経時的な測定は、癌の浸潤増殖の程度や転移巣形成の時期を知る一つの指標となる可能性が示唆された。

稿を終えるにあたり、本研究に終始ご懇切なるご指導とご校閲を賜りました鹿児島大学歯学部口腔外科学第 1 講座山下佐英教授、ならびにご校閲を賜りました鹿児島大学歯学部口腔病理学講座浦郷篤史教授に深く感謝致します。また、ご援助、ご鞭撻を戴きました第 1 口腔外科学講座杉原一正講師はじめ教職員各位に厚く御礼申し上げます。なお、本論文の要旨は、第 50 回日本口腔外科学会

九州地方部会（昭和62年2月，長崎），第41回日本口腔科学会総会（昭和62年4月，東京），第32回日本口腔外科学会総会（昭和62年11月，東京）において口頭発表した。

引用文献

- 1) Vlodavsky, I. and Gospodarowicz, D.: Respective roles of laminin and fibronectin in adhesion of human carcinoma and sarcoma cells. *Nature* 289: 304-306 1981.
- 2) Mensing, H., Albini, A., et al.: Enhanced chemotaxis of tumor-derived and virustransformed cells to fibronectin and fibroblast-conditioned medium. *Int J Cancer* 33: 43-48 1984.
- 3) McCarthy J.B. and Furcht L.T.: Laminin and fibronectin promote the haptotactic migration of B16 mouse melanoma cells in vitro. *J Cell Biol* 98: 1474-1480 1984.
- 4) Rieber, M., Gil, F., et al.: Substrate-dependent effect of epidermal growth factor on intercellular adhesion and synthesis of triton-insoluble proteins in human carcinoma A 432 cells. *Int J Cancer* 37: 411-418 1986.
- 5) Mosher, D.F.: Fibronectin. In *progress in hemostasis and thrombosis* (Spaet T H, Ed). vol. 5, 1st Ed, Grune and Stratton, New York, 1980, p 111-151.
- 6) Hynes, R.O. and Yamada, K.M.: Fibronectin: Multifunctional modular glycoproteins. *J Cell Biol* 95: 369-377 1982.
- 7) Pearlstein, E, Gold, L.I., et al.: Fibronectin: A review of its structure and biological activity. *Mol Cell Biochem.* 29: 103-130 1980.
- 8) Morrison, P.R., Edsall, J.T., et al.: Preparation and properties of serum and plasma proteins. XVIII. The separation of purified fibrinogen from fraction I of human plasma. *J Am Chem Soc.* 70: 3103-3108 1948.
- 9) Yamada, K.M. and Olden, K.: Fibronectins-adhesive glycoproteins of cell surface and blood. *Nature* 275: 179-184 1978.
- 10) Stenman, S. and Vaheri, A.: Fibronectin in human solid tumors. *Int J Cancer* 27: 472-435 1981.
- 11) 松田泰次, 浜田 宏, 他: 大腸組織における酵素抗体法による fibronectin の組織化学的研究. *日消外会誌* 15: 1798-1806 1982.
- 12) 高橋修三, 斎藤良治, 他: 婦人科における悪性腫瘍とフィブロネクチン. *最新医* 39: 2066-2069 1984.
- 13) Alon, Y., Horowitz, A.T., et al.: Immunofluorescent characterization of fibronectin, laminin, and keratin in normal and neoplastic human mammary epithelial cells in culture and breast tissue sections. *Int J Tissue React* 8: 401-410 1986.
- 14) Nelson, D.L., Little, C.D., et al.: Distribution of fibronectin and laminin in basal cell epitheliomas. *J Invest Dermatol* 80: 446-452 1983.
- 15) Natali, P.G., Giacomini, P., et al.: Heterogeneous distribution of actin, myosin, fibronectin and basement membrane antigens in primary and metastatic human breast cancer. *Virchows Arch (A)* 405: 69-83 1984.
- 16) 大橋昌彦, 白田信光, 他: 原発性肺癌組織における Fibronectin の局在様式. *癌の臨* 32: 1787-1794 1986.
- 17) Meyer, J.R., Silverman, S., et al.: Distribution of fibronectin and laminin in oral leukoplakia and carcinoma. *J Oral Pathol* 14: 247-255 1985.
- 18) 前田 守: 胃癌組織における fibronectin および関連血漿蛋白の分布—胃癌間質線維化形成に関する考察. *日外会誌* 85: 1454-1463 1984.
- 19) 大山 泉: 乳癌間質の線維形成機序に関する免疫組織化学的研究. *聖マリアンナ医大誌* 13: 492-500 1985.
- 20) 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. *日耳鼻会報* 88: 1178-1192 1985.
- 21) 河村研一, 田中正信, 他: 各種癌患者における血漿フィブロネクチンの測定. *最新医* 38: 416-418 1983.
- 22) Parsons, R.G., Aldenderfer, P.H., et al.: Detection of a human serum DNA-binding protein associated with malignant disease. *J Natl Cancer Inst* 63: 43-47 1979.
- 23) 竹内節夫, 高塚 純: 転移と尿フィブロネクチン. *最新医* 41: 2275-2280 1986.
- 24) Mosher, D.F.: Cross-linking of cold-insoluble globulin by fibrin-stabilizing factor. *J Biol Chem* 250: 6614-6621 1975.
- 25) Hiramoto, R., Bernecky, J.A., et al.: Fibrin in human tumors. *Cancer Res* 20: 592-593 1960.
- 26) Ogura, T., Tatsuta, M., et al.: Localization of fibrinogen in the tumor tissue. *Gann* 58: 403-412 1967.
- 27) Ambrus, J.L., Ambrus, C.M., et al.: Hematologic changes and thromboembolic complications in neoplastic disease and their relationship to metastasis. *J Med* 6: 433-458 1975.
- 28) Poggi, A., Polentarutti, N., et al.: Blood coagulation changes in mice bearing Lewis lung carcinoma, a metastasizing tumor. *Cancer Res* 37: 272-277 1977.

- 29) 吉元睦男：口腔領域腫瘍における線溶系の動態に関する研究。鹿児島大医誌 27: 533-559 1976.
- 30) 杉原一正, 堂原義美, 他：口腔領域各種疾患患者の凝固線溶系の動態について。日口腔科会誌 28: 226-235 1979.
- 31) 川島清美：口腔領域各種疾患における凝固線溶系と血清糖蛋白の動態に関する研究。医研究 51: 56-78 1981.
- 32) Rous, P., Kidd, J.G., et al.: Experiments on the cause of the rabbit carcinomas derived from viruss-induced papillomas. *J Exp Med* 96: 159-174 1952.
- 33) 外山勤吾：VX 2 癌移植による家兎舌癌の病理組織学的研究。九州歯会誌 32: 340-356 1978.
- 34) 西田邦彦：家兎のリンパ管系に就いて。熊本医会誌 28: 295-318 1954.
- 35) 田草川君彦, 佐藤俊夫, 他：人肺におけるフィブロネクチンの免疫電子顕微鏡的観察。日胸疾患会誌 23: 895-901 1985.
- 36) Stenman, S. and Vaheri, A.: Distribution of a major connective tissue protein, fibronectin, in normal human tissues. *J Exp Med* 22: 1054-1064 1978.
- 37) Linder, E., Stenman, S. et al.: Distribution of fibronectin in human tissues and relationship to other connective tissue components. *Ann NY Acad Sci* 77: 151-159 1978.
- 38) D'Arcenne, A.J., Burns, J. et al.: Comparative distribution of fibronectin and type III collagen in normal human tissues. *J Pathol* 141: 55-69 1983.
- 39) Linde, A. and Jonsson, R.: Immunofluorescent localization of fibronectin in human oral mucosa. *Arch Oral Biol* 27: 1047-1052 1982.
- 40) Gordon, S.G., Franks, J.J., et al.: Cancer procoagulant A: A factor X activating procoagulant from malignant tissue. *Thromb Res* 6: 127-137 1975.
- 41) Peterson, H.I., Kjartansson, I., et al.: Fibrinolysis in human malignant tumours. *Acta Chir Scand* 139: 219-223 1973.
- 42) Dvorak, H.F., Dvorak, A.M., et al.: Fibrin gel investment associated with line 1 and line 10 solid tumor growth, angiogenesis and fibroplasia in guinea pigs. Role of cellular immunity, myofibroblasts, microvascular damage, and infarction in line 1 tumor regression. *J Natl Cancer Inst* 62: 1459-1472 1979.
- 43) 田中健蔵：癌と凝固・線溶—とくに線溶阻止による癌の増殖、転移の抑制。癌の臨 26: 117-122 1980.
- 44) Ljungner H., Bjorlin, G., et al.: Immunological identification of plasminogen activators in normal and malignant tissues of the oral cavity in man. *Int J Oral Surg* 13: 334-338 1984.
- 45) Baici, A., Gyger-Marazzi, M., et al.: Extracellular cysteine proteinase and collagenase activities as a consequence of tumor-host interaction in the rabbit VX 2 carcinoma. *Invasion Metastasis* 4: 13-27 1984.
- 46) Black, M.M., Kerpl. S., et al.: Lymph node structure in patients with cancer of the breast. *Am J Pathol* 29: 505-521 1953.
- 47) 大森幸夫, 藤巻雅夫, 他：胃癌の所属リンパ節における Sinus histiocytosis について。最新医 22: 162-171 1967.
- 48) 佐藤安子, 上田外幸, 他：子宮癌所属リンパ節の組織像と予後。日産婦会誌 27: 175-180 1975.
- 49) Hunter, R.L., Ferguson, D.J., et al.: Survival with mammary cancer related to the interaction of germinal center hyperplasia and sinus histiocytosis in axillary and internal mammary lymph nodes. *Cancer* 36: 528-539 1975.
- 50) 本間義郎：口腔癌の頸部リンパ節転移に関する研究。日口腔外会誌 28: 1667-1684 1982.
- 51) Carr, I., Carr, J., et al.: Lymphatic metastasis of mammary adenocarcinoma. *Invasion Metastasis* 1: 34-53 1981.
- 52) 三上直文：担癌生体の所属リンパ節の機能的、形態的反応に関する実験的研究。日外会誌 79: 1368-1380 1978.
- 53) Check, I.J., Cobb M., et al.: The relationship between cytotoxicity and prognostically significant histologic changes in lymph node from patients with cancer of the breast. *Am J Pathol* 98: 325-338 1980.
- 54) Kaufmann, M., Wirth, K., et al.: Immunomorphological lymph node changes in patients with operable bronchogenic squamous cell carcinoma. *Cancer* 39: 2371-2377 1977.
- 55) Perri, R.T., Kay, N.E., et al.: Fibronectin enhances in vitro monocyte-macrophage-mediated tumoricidal activity. *Blood* 60:430-435 1980.
- 56) Lause, D.B., Beezhold, D.H., et al.: Induction of lymphocyte blast transformation by purified fibronectin in vitro. *J Immunol* 132: 1294-1299 1984.
- 57) 松田道生：フィブロネクチンおよびその関連物質と組織修復。結合組織 13: 177-184 1982.
- 58) 松田道生：創傷治癒と第 XIII 因子。日血会誌 40: 143-150 1977.
- 59) Grinnell, F., Billingham, R.E., et al.: Distribution of fibronectin during wound healing in vivo. *J Invest Dermatol* 76: 181-189 1981.
- 60) Fujikawa, L.S., Foster, C.S., et al.: Fibrone-

- tin in healing rabbit corneal wounds. *Lab Invest* 45: 120-129 1981.
- 61) 濱崎栄作: 口腔領域癒着性潰瘍の線溶動態に関する実験的研究. *医研究* 51: 33-55 1981.
  - 62) Kurkiken, M., Vaheiri, A., et al.: Sequential appearance of fibronectin and collagen in experimental granulation tissue. *Lab Invest* 43: 47-51 1980.
  - 63) 竹内誠司: 実験的経上皮性排除現象における fibronectin の免疫組織学的研究. *日皮会誌* 95: 743-755 1985.
  - 64) Couchman, J.R., Rees, D.A., et al.: Fibronectin has a dual role in locomotion and anchorage of primary chick fibroblasts and can promote entry into the division cycle. *J Cell Biol* 93: 402-410 1982.
  - 65) Jaffe, E.A. and Mosher, D.F.: Synthesis of fibronectin by cultured human endothelial cells. *J Exp Med* 601: 1779-1791 1978.
  - 66) Alitalo, K., Hovi, T., et al.: Fibronectin is produced by human macrophages. *J Exp Med* 151: 602-613 1980.
  - 67) Tsukamoto, Y., Helsel W.E., et al.: Macrophage production of fibronectin, a chemoattractant for fibroblasts. *J Immunol* 127: 673-678 1981.
  - 68) 永井宏美, 下田 茂, 他: 肺線維化とフィブロネクチン (FN). *最新医* 42: 1866-1873 1987.
  - 69) Grimwood, R.E., Huff, J.C., et al.: Fibronectin in basal cell epithelioma: Sources and significance. *J Invest Dermatol* 82: 145-149 1984.
  - 70) Grimwood, R.E., Ferris, C.F., et al.: Basal cell carcinomas grown in nude mice produce and deposit fibronectin in the extracellular matrix. *J Invest Dermatol* 87: 42-46 1986.
  - 71) 吉川文弘: VX 2 癌細胞の運動性に関する細胞生物学的および生化学的研究. *大阪大歯誌* 30: 87-109 1985.
  - 72) 森敬一郎, 熊田 馨, 他: 創傷治癒機転における plasma fibronectin の動態. *最新医* 37: 1836-1838 1982.
  - 73) Ueda, Y., Tanaka, K., et al.: Selective distribution of fibronectin to a tumor cell line. *Cancer Lett* 31: 261-265 1986.
  - 74) Clark, R.A.F., Quinn, J.H., et al.: Fibronectin is produced by blood vessels in response to injury. *J Exp Med* 156: 646-651 1982.
  - 75) Bowersox, J.C. and Sorgente, N.: Chemotaxis of aortic endothelial cells in response to fibronectin. *Cancer Res* 42: 2547-2551 1982.
  - 76) 高橋信三, 斎藤良治, 他: 婦人科的悪性腫瘍における fibronectin の分布 (抄). *結合組織* 14: 228-229 1982.
  - 77) Puricelli, L., Bal de Kier Joffe, E., et al.: Levels of plasmatic fibronectin in mice bearing adenocarcinomas of different metastasizing ability. *Cancer Lett* 29: 189-195 1985.
  - 78) Zardi, L., Cecconi, C., et al.: Concentration of fibronectin in plasma of tumor bearing mice and synthesis by Ehrlich ascites tumor cells. *Cancer Res* 39: 3774-3779 1979.
  - 79) Mosher, D.F. and Williams E.M.: Fibronectin concentration is decreased in plasma of severely ill patients with disseminated intravascular coagulation. *J Lab Clin Med* 91: 729-735 1978.
  - 80) Saba, T.M. and Antikazides T.G.: Humoral mediated macrophage response during tumour growth. *Br J Cancer* 32: 471-482 1975.
  - 81) 椿本雅有: 上顎洞に移植した VX 2 担瘤家兔における線溶・凝固系の変化と転移形成に関する研究. *大阪大歯誌* 19: 6-18 1974.
  - 82) 杉立彰夫, 高塚雄一, 他: 局所的 fibrin 形成材料の研究—組織停滞性抗腫瘍材料の開発. *血と脈管* 15: 559-561 1984.

写真 1 移植後10日目舌肉眼所見 ($\times 2$)

写真 4 移植後7日目リンパ節肉眼所見 ($\times 1/2$)

写真 2 移植後10日目舌矢状断 H-E 所見 ($\times 2.5$)

写真 5 移植後14日目リンパ節肉眼所見

深頸リンパ節の腫大(矢印)が認められる ($\times 1/2$)

写真 3 移植後10日目舌前額断 H-E 所見 ($\times 2.5$)

写真 6 移植後10日目深頸リンパ節 H-E 所見
辺縁洞部に癌の転移（矢印）が認められる（ $\times 2.5$ ）

写真 9 移植後7日目移植巣（舌）癌胞巣周囲正常
組織，FN
神経周膜や血管内皮細胞に局在が認められる（ $\times 40$ ）

写真 7 移植後14日目深頸リンパ節 H-E 所見
転移した癌細胞は直接皮質内に浸潤して癌胞巣(T)
を形成している（ $\times 2$ ）

写真 10 移植後7日目移植巣（舌），FN.
癌間質に局在が認められ，癌胞巣（T）を網目状に
区分している（ $\times 10$ ）

写真 8 移植後21日目肺 H-E 所見. 肺胞内に浸出
した癌細胞が増殖して癌胞巣（T）を形成
している（ $\times 2.5$ ）

写真 11 移植後7日目移植巣（舌）癌間質部，FN
線維芽細胞や膠原線維に局在が認められる（ $\times 100$ ）

写真 12 移植後7日目移植巣(舌), Fbg.
癌胞巣(T)周囲に線状あるいは帯状の局在(矢印)
が認められる(×20)

写真 15 移植後10日目移植巣(舌), Fbg
癌胞巣(T)周囲での局在は減弱している(矢印)
(×20)

写真 13 移植後10日目移植巣(舌), FN
癌胞巣(T)周囲の被膜様の結合組織(矢印)や、
第一層(I)の癌間質に局在が認められる(×20)

写真 16 移植後14日目移植巣(舌), FN
癌胞巣(T)周囲の被膜様の結合組織(矢印)と第
一層の癌間質に局在が認められる(×20)

写真 14 移植後10日目移植巣(舌)第二層, FN
血管内皮細胞に局在が認められる(×40)

写真 17 移植後14日目移植巣(舌), Fbg
癌胞巣(T)周囲での局在は消失し、周囲組織の
組織間隙(矢印)に局在が認められるのみである
(×20)

写真 18 移植後7日目リンパ小節，傍皮質部，FN
胚中心（G）周囲の細網線維や血管内皮細胞，リン
パ管内皮細胞に局在が認められる（×20）

写真 21 移植後14日目リンパ節，FN
癌細胞（T）周囲にFN陽性の被膜様結合組織は認
められない（×10）

写真 19 移植後10日目リンパ節，FN
転移した癌細胞（T）周囲の増生した細網線維に局
在が認められる（×20）

写真 22 移植後14日目リンパ節，FN
癌細胞（T）周囲に局在は認められない（×20）

写真 20 移植後10日目リンパ節，Fbg
転移した癌細胞（T）周囲に局在が認められる
（×20）

写真 23 受傷後3日目（熱性潰瘍），FN
潰瘍底の線維素析出部や肉芽組織部に認められる
（×10）

写真 24 受傷後3日目(熱性潰瘍), Fbg
潰瘍底の線維素析出部に認められる (×10)

写真 26 受傷後3日目(切開創),
FN
線維素析出部や肉芽組織部に認められる (×10)

写真 25 受傷後10日目(熱性潰瘍), FN
新生した上皮直下の肉芽組織部に認められるが、
瘢痕組織部には認められない (×20)

写真 27 受傷後3日目(切開創),
Fbg
線維素析出部や肉芽組織部に認められる (×10)

写真 28 受傷後14日目 (切開創),
FN
肉芽組織部に認められる (×10)

写真 30 受傷後3日目 (異物肉芽腫), Fbg
パラフィン (P) 周囲の肉芽組織部や線維素析出部
で認められる (×10)

写真 29 受傷後3日目 (異物肉芽腫), FN
パラフィン (P) 周囲の肉芽組織部や線維素析出部
に認められる (×10)

写真 31 受傷後14日目 (異物肉芽腫), FN
パラフィン周囲の肉芽組織に認められる (×10)