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

宋 時 澤

Expression of the adhesion molecule CD44 and its metastatic potential in squamous cell carcinoma of the oral cavity

Shi-Taek SONG

Abstract : In the present study, expression of the adhesion molecule CD44 in oral squamous cell carcinoma (SCC) cells was investigated by immunoperoxidase staining of 35 surgically removed SCC lesions. In addition, the relationship between metastasis of SCC to regional lymph nodes and the mode of expression of CD44 in SCC was evaluated. Likewise, the relationships between the mode of expression of CD44 and the T classification, degree of differentiation, and mode of invasion were also assessed.

Most SCC lesions were positive for CD44 staining. Among the 35 lesions, 17 were strongly positive for CD44 staining, 16 were moderately positive and 2 were negative. Comparative analysis between the 14 patients with metastasis and 21 patients without metastasis revealed that the strongly positive cases had a significantly higher rate of metastasis (12 of 17 cases, 70.6%) than that of moderately positive or negative (2 of 18 cases, 11.1%). Moreover, it was also suggested that strongly positive cases tended to form multiple metastasis. There was no significant correlation between the mode of expression of CD44 and the T classification, degree of differentiation, and mode of invasion.

This study demonstrates the following two points :

1. CD44 may play an important role in the metastasis of SCC to regional lymph nodes.
2. The examination of CD44 yields useful information about the metastatic potential of SCC.

Key words : oral squamous cell carcinoma (口腔扁平上皮癌), metastasis to regional lymph node (所属リンパ節転移), adhesion molecule (接着分子), CD44, immunohistochemistry (免疫組織化学)

緒 言

口腔は咀嚼・構音といった日常生活に不可欠な機能に関与する部位であると同時に顔面の一部を構成しており、しかも解剖学的に複雑な部位であるため、悪性腫瘍の根治的切除は必ずしも容易ではなかった。しかし近年の再建手術の進歩によって拡大切除が可能とな

り、従来は手術不能とされてきたような症例にも根治手術が適応となってきている。したがって、今日では口腔扁平上皮癌においても、よほどの進展例でない限りは原発腫瘍の制御に難渋することは比較的まれとなってきた。しかしながら所属リンパ節転移の制御に関しては、いまだ必ずしも満足できる結果が得られているとは言い難い。また進展例でない限り、口腔扁平上皮癌における遠隔転移は、腺系癌や非上皮性悪性腫瘍に比較すると少ない。したがって所属リンパ節転移の制御の可否は、本疾患の予後因子として決定的な重要性をもつようになってきていると考えられる。

一方、近年の分子生物学の進歩により、種々の細胞間相互作用には接着分子が密接に関与しており、癌の転移もまた例外ではないことがあきらかとなってき

東北大学歯学部口腔外科学第二講座

(主任：手島貞一教授)

Department of Oral and Maxillofacial Surgery II,
Tohoku University School of Dentistry (Chief :
Prof. Teiichi Teshima)

受付日：平成5年11月18日

た¹⁻⁴⁾、とりわけ転移における臓器選択性と呼ばれる現象は、接着分子の発現と密接に関連していると言われている^{2,4,5)}。近年、細胞膜表面に発現する糖蛋白質であり、種々の細胞外基質 (ECM: extra cellular matrix) に対する接着分子である CD44 と、悪性腫瘍との関係が注目を集めている。とりわけ悪性腫瘍の転移やリンパ腫における全身的な広がりにおいて、CD44 が重要な役割を果たしているとの報告が相次いでいる^{1,2,5-16)}。しかし、固型癌の所属リンパ節転移と CD44 との関連について検討した報告ははまだ少なく、口腔扁平上皮癌については著者の検索した限り皆無であった。

著者は、口腔扁平上皮癌の原発部位における CD44 の発現について免疫組織化学的に検索し、その発現様式と所属リンパ節転移、さらに TN 分類¹⁷⁾・分化度 (WHO の Grade¹⁸⁾・浸潤様式 (山本・小浜分類^{19,20)}) との関連について検討したので報告する。

対象症例および方法

対象症例は、1990 年 7 月から 1992 年 10 月にかけての期間内に東北大学歯学部附属病院第二口腔外科を受診した、口腔扁平上皮癌新鮮例 35 例である。原発部位別では、舌 19 例、下顎歯肉 10 例、上顎歯肉、口底、頬粘膜がそれぞれ 2 例であった。所属リンパ節に対する転移については、陰性例は 21 例、陽性例は 14 例であり、症例全体の平均転移率は 40.0% であった。転移陽性 14 例中 1 次転移症例が 10 例、後発転移症例が 4 例であった (表 1)。また TN 分類別では、T1 が 9 例、T2 が 13 例、T3 が 4 例、T4 が 9 例、N0 が 21 例、N1 が 7 例、N2b が 5 例、N2c が 2 例であり、N2a、N3 は認められなかった (表 2)。なお、全例 M0 であった。

転移陰性例の観察期間は、最短で退院後 1 年 10 か月であった。リンパ節転移は病理組織学的に確認されたものであることを原則とした。しかし腫瘍死の転帰をとった 2 例については病理組織学的確認はなされなかったが、触診および画像診断上転移があきらかであったので転移陽性例に含めた。

染色は未治療時の新鮮凍結標本を用いて、VECTOR 社製キットによる ABC 間接法 (indirect avidin-biotin-peroxidase complex method) で行った^{21,22)}。35 例中 32 例については生検時の標本を用い、術前療法を施行せずに全摘した 3 例については手術時の標本を用いた。

標本は採取後ただちに、OCT コンパウンドに包埋し、ドライアイス・アセトンを用いて急速凍結し、-80°C で保存した。この標本をクライオスタットを用いて 4 μ m に薄切し、30 分風乾後 4°C アセトンで 10 分固定し、1% 正常ウマ血清と室温で 30 分反応させて

表 1 部位別対象症例

	所属リンパ節転移		計
	陰性例	陽性例	
舌	11	8 (3)	19
下顎歯肉	5	5 (1)	10
頬粘膜	2	0	2
口底	2	0	2
上顎歯肉	1	1	2
計	21	14 (4)	35

() 内の数字は後発転移症例を示す。

表 2 TN 分類別対象症例

	T1	T2	T3	T4	計
N0	6	7	3	5	21
N1	2	3	0	2	7
N2b	1	1	1	2	5
N2c	0	2	0	0	2
計	9	13	4	9	35

非特異的反応を阻止した。次いで 200 倍希釈の Becton Dickinson 社製マウス抗ヒト CD44 単クローン抗体 (Leu44 精製抗体) と 4°C 一晚湿箱中で反応させた。翌日 2 次抗体として、10% 正常ヒト血清を含んだリン酸緩衝液で希釈した VECTOR 社製ビオチン化抗マウス IgG 抗体と湿箱中で室温 30 分反応させ、アビジン・ビオチン複合物と湿箱中で室温 30 分反応させた。次いで内因性ペルオキシダーゼ反応を阻止するためアジ化ナトリウムを添加した DAB (3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride: SIGMA CHEMICAL Co., USA) に 0.05% になるように過酸化水素水を加えて発色させ、メチルグリーンで核染し通法通り脱水・透徹・封入し、鏡検した。なお対照試験は 1 次抗体の代わりにリン酸緩衝液を用いて陰性であることを確認した。

凍結標本採取から薄切までの期間は、最短で凍結後ただちに薄切しており、最長で約 1 年 6 か月であったが、採取後 6 か月以内に薄切した症例が大部分であった。薄切後は全例ただちに染色操作を行った。

TN 分類については 1987 年 UICC 分類¹⁷⁾に従い、分化度については WHO の Grade¹⁸⁾に従い、浸潤様式については Jakobsson²³⁾ や Willén²⁴⁾ の分類を改良した山本・小浜分類^{19,20)}に従って判定した。なお分化度・浸潤様式については、ホルマリン固定標本と凍結標本の H-E 染色像両者を参照して判定し、さらに生検標本での判定が困難なものについては、手術標本の所見も参考にして判定した。

統計学的検定には χ^2 検定を用いた。

結 果

口腔扁平上皮癌においては CD44 の陽性率が高く、発現しない症例は 35 例中わずか 2 例のみであった。33 例の CD44 陽性例は、後述するように、強度に発現し

ているもの、中等度に発現しているものの 2 つに分類することが可能であった。すなわち CD44 の発現様式としては、強度発現・中等度発現・陰性の 3 段階の分類が可能であった(表 3 および写真 1～3)。なおすべての症例で扁平上皮癌の角化巣においては CD44 の発現を認めなかった。

CD44 強度発現例とは、すべての部分で均一に発現するものである(写真 1)。CD44 中等度発現例とは、かなりの部分であきらかな発現の減弱ないし欠損を認める、不均一な発現を示すものである(写真 2)。陰性例においては全く発現を認めない(写真 3)。

切片上に含まれた形態学的正常上皮においては、観

表 3 CD44 の発現様式

強 度	すべての部分で均一に発現
中 等 度	不均一な発現
陰 性	発現を認めない

写真 1 CD44 強度発現例

左：H-E 染色像，右：CD44 染色像 (いずれも凍結切片，×110)

写真 2 CD44 中等度発現例

左：H-E 染色像，右：CD44 染色像 (いずれも凍結切片，×110)

写真 3 CD44 陰性例

左：H-E 染色像，右：CD44 染色像（いずれも凍結切片， $\times 110$ ）

写真 4 癌に近接した正常上皮における CD44 発現例

左：H-E 染色像，右：CD44 染色像（いずれも凍結切片， $\times 110$ ）

察できたすべての症例で角化層を除くすべての部分で均一な発現を認めた。すなわち正常上皮の CD44 発現様式は、扁平上皮癌の CD44 強度発現例と同様であった（写真 4）。

この判定方法で染色結果を分類すると、CD44 強度発現例、中等度発現例、陰性例はそれぞれ 17 例、16 例、2 例であった。この CD44 発現様式と T 分類、および所属リンパ節転移の有無を比較検討したところ、CD44 発現様式ごとの T 分類の偏りは認められず、いずれの T 分類でも CD44 強度発現例に転移陽性例が多く、中等度発現例に陽性例が少ない傾向が認められた（表 4）。そこで CD44 発現様式と転移の有無について比較

検討した（表 5）。すると転移陰性群では CD44 陰性例が認められたのに対して、転移陽性群では認められなかった。転移陽性群では CD44 強度発現例が多く認められ、転移陰性群では中等度発現例が多く認められた。この CD44 発現様式と所属リンパ節転移の有無の間には、強い統計学的相関が認められた（Total $\chi^2 = 13.002$, $p = 0.0015$ ）。

さらに CD44 の各発現様式ごとの所属リンパ節に対する転移率を比較すると、CD44 強度発現例の転移率 17 例中 12 例、70.6%は、中等度発現例の転移率 16 例中 2 例、12.5%に対して有意に高かった（ χ^2 with continuity correction = 9.132, $p = 0.0025$ ）。また CD44 強

表 4 CD44 発現様式とT分類および転移の有無

	所属リンパ節転移	CD44発現様式		
		強度	中等度	陰性
T1	陰性例	1	5	0
	陽性例	2	1	0
T2	陰性例	1	4	2
	陽性例	6	0	0
T3	陰性例	1	2	0
	陽性例	1	0	0
T4	陰性例	2	3	0
	陽性例	3	1	0

表 5 CD44 の発現様式と転移の有無*

	強度	中等度	陰性	計
転移陰性群	5 (23.8%)	14 (66.7%)	2 (9.5%)	21
転移陽性群	12 (85.7%)	2 (14.3%)	0	14
計	17 (48.6%)	16 (45.7%)	2 (5.7%)	35

* : Total $\chi^2=13.002$, $p=0.0015$
() 内の％は各発現様式の発現率を示す.

表 6 CD44 の発現様式と転移率

	強度	中等度	陰性	平均
転移率	70.6% (12/17) *,*,*, ***	12.5% (2/16)*	0 (0/2)**	40.0% (14/35)
		11.1% (2/18)***		

* : χ^2 with continuity correction=9.132
 $p=0.0025$
** : N. S. χ^2 with continuity correction=1.399
 $p=0.2369$
*** : χ^2 with continuity correction=10.528
 $p=0.0012$
() 内の数字は転移陽性例数/各発現様式の症例数
を示す.

度発現例の転移率 70.6％は、陰性例に対しては症例数が少ないため有意ではなかったが (χ^2 with continuity correction=1.399, $p=0.2369$)、中等度発現例と陰性例をあわせたものの転移率 18 例中 2 例、11.1％に対しては有意に高かった (χ^2 with continuity correction=10.528, $p=0.0012$). 陰性例はわずか 2 例に留まったが、いずれも転移陰性であった (表 6).

N 分類との比較検討では、CD44 中等度発現例での転移陽性例 2 例がいずれも単発性の転移である N1 に留まっていたのに対し、強度発現例では多発性の転移

表 7 CD44 の発現様式とN分類

	強度	中等度	陰性	計
N0	5	14	2	21
N1	5	2	0	7
N2b	5	0	0	5
N2c	2	0	0	2
計	17	16	2	35

表 8 CD44 の発現様式とT分類*

	強度	中等度	陰性	計
T1	3	6	0	9
T2	7	4	2	13
T3	2	2	0	4
T4	5	4	0	9
計	17	16	2	35

* : N. S. Total $\chi^2=5.5$, $p=0.4814$

表 9 CD44 の発現様式と分化度*

	強度	中等度	陰性	計
高分化	8	13	2	23
中分化	7	2	0	9
低分化	2	1	0	3
計	17	16	2	35

* : N. S. Total $\chi^2=5.501$, $p=0.2369$

表 10 CD44 の発現様式と浸潤様式*

	強度	中等度	陰性	計
1	0	1	0	1
2	1	1	0	2
3	10	11	2	23
4C	4	2	0	6
4D	2	1	0	3
計	17	16	2	35

* : N. S. Total $\chi^2=3.236$, $p=0.9187$

である N2 症例が多く認められた. すなわち転移陽性 14 例のうち N 2 症例 7 例 (N2b5 例, N2c2 例) は、全例 CD44 強度発現例であった (表 7).

CD44 発現様式と T 分類 (Total $\chi^2=5.5$ $p=0.4814$), 分化度 (Total $\chi^2=5.501$, $p=0.2369$), 浸潤様式 (Total $\chi^2=3.236$, $p=0.9187$) との間には、いずれも統計学的相関は認められなかった (表 8～10).

考 察

近年の分子生物学の急速な進歩により、種々の生命現象においては、細胞間接着が重要な意義をもつことがあきらかとなってきた。今日では細胞間接着に関与する接着分子は単なる細胞間の“糊”ではなく、細胞間相互作用を調節する重要な役割を果たしているものであり、癌の転移においても例外ではないと考えられている¹⁻⁴⁾。とりわけ転移における臓器選択性という現象においては、接着分子との密接な関連が推測されている^{2,4,5)}。

CD44 は種々の細胞の細胞膜表面に発現する糖蛋白質であり、ヒアルロン酸、コラーゲン、フィブロネクチンなどの、種々の細胞外基質に対する接着分子である。CD44 は当初リンパ球のホーミングレセプターとして知られ研究されてきたが、今日では多彩な細胞に発現し、多彩な機能に関与するものと考えられている^{25,26)}。そして CD44 には多くの異性型 (isoform) があり、全体で1つのファミリーを形成していると考えられている。

CD44 は悪性腫瘍との関係についてもさまざまに研究されてきており、特にその転移や全身的な広がりとも CD44 との関連については多くの報告がなされている。熊谷ら¹⁾、樗木ら²⁾はマウスの肺転移を生ずる cell line には例外なく CD44 が発現していることを報告している。Pals ら⁶⁾、Jalkanen ら⁷⁾、Horst ら⁸⁾は、CD44 を強く発現する NHL (non Hodgkin's lymphoma) は発現の弱いものに比して病期進行例、予後不良例が多いことを報告している。Birch ら⁹⁾はヒトの悪性黒色腫の cell line を用いて、CD44 を強く発現する腫瘍は弱く発現する腫瘍に対して、著しく強い肺転移能を有することを示した。

本研究では CD44 の発現様式と口腔扁平上皮癌の所属リンパ節転移との統計学的相関が認められた。CD44 を強く発現する癌は転移しやすく、CD44 を中等度に発現する癌はあまり転移せず、CD44 を発現しない癌は症例数は少なかったが全く転移していないという結果であった。しかも CD44 を強く発現する癌は N2 症例が多く、多発性の転移を生じやすい可能性も示唆された。すなわちヒトの口腔扁平上皮癌のリンパ節転移においても、他の悪性腫瘍に関する従来の報告と合致する傾向が認められた。したがって口腔扁平上皮癌のリンパ節転移においても、CD44 が何らかの重要な役割を果たしている可能性が示唆される。

CD44 と悪性腫瘍の転移との関連については、基礎研究者によってさらに詳細な解明がなされつつある。Günthert ら¹⁰⁾はラットの膵臓腺癌の cell line を用いて、転移に関する CD44 は正常細胞に発現するものとは異なる、変異性の CD44 (CD44v : variant of CD44)

であることを示した。Hofmann ら⁵⁾は CD44v をヒトの肺癌、乳癌、大腸癌の cell line においても見出し出した。

Matsumura ら¹¹⁾はヒトの乳癌、大腸癌、甲状腺癌において CD44v の過剰発現を認め、転移陽性例と陰性例および非悪性疾患とで容易に識別できることを示した。Heider ら¹²⁾は CD44v をヒトの大腸癌、直腸癌とその転移巣においても見出し出した。Rudy ら¹³⁾は、CD44v にはさらに2つの異性型があり、それぞれ独立して転移に関与することを示した。Koopman ら¹⁴⁾は、病期進行例や予後不良例が多い高悪性度の NHL において CD44v の強い発現を認め、対照的に低悪性度の NHL においては発現を認めなかった。

Seiter ら¹⁵⁾は、Günthert ら¹⁰⁾が CD44v の発現を見出し出したラットの膵臓腺癌の cell line を用いて、抗 CD44v 抗体がリンパ節や肺に対する転移の遅延化ないし予防を可能とすることを示した。また彼らはこのような転移抑制効果は、癌細胞がリンパ節に着床する前に抗体を用いなければ得られないこと、抗体が癌細胞における CD44v の発現を減弱させることはないこと、また ADCC (antibody dependent cellular cytotoxicity) を含むいかなる免疫学的防御機構の発動による抑制効果でもないことを指摘している。そしてこれは、癌細胞がリンパ節に着床する段階でのリガンドとの相互作用を、抗体がブロックすることを示唆するものであると考察している。すなわちこれは、転移の過程で CD44 が実際に接着分子として働いていることを示唆するものである。しかしこの場合のリンパ節におけるカウンターリガンドが何であるかについては、いまだ明確ではない。

一方 Arch ら¹⁶⁾、Koopman ら¹⁴⁾はこの CD44v が、免疫応答の初期に種々の抗原や mitogen の刺激によって活性化されたリンパ球・マクロファージにおいて、一過性に発現するものと同一であることを示した。癌の転移における、癌細胞の脈管を介しての生体内移動と脈管内外への移行という現象が、免疫担当細胞のふるまいと似ていることから、癌が転移していく過程で、本来生体防御のために備っている機構を巧妙に利用している可能性が考えられてきた^{4,9,10,14,16)}。免疫担当細胞の活性化の過程で発現するものと、癌転移に関与するものが同一であるということは、そのような仮説を支持するものであると考えられる。そしてそれは癌の転移という現象が、少なくとも部分的には生体防御機構に根ざしたものであり、その制御が困難なものである可能性を示唆するものでもある。実際、Seiter ら¹⁵⁾は前記した転移抑制実験で、抗 CD44v 抗体が癌に対する宿主のいかなる免疫学的防御機構をも発動せず、むしろ免疫抑制作用を示すことを指摘している。

いずれにせよ今日では、悪性腫瘍に発現する変異性の CD44 が転移に関与していることが、分子生物学的

な裏付けを持ってあきらかにされつつある。

本研究では形態学的正常上皮においても CD44 の強い発現が認められた。すなわち、転移しやすく悪性度が高いと考えられる扁平上皮癌と正常上皮が、同様の CD44 発現様式を示した。ここで問題となるのは、癌に発現する CD44 と正常上皮に発現する CD44 が果たして同一の異性型をもつのかどうかである。著者が用いた抗体はさまざまな CD44 の異性型を識別できるものではなく、すべての CD44 に共通のコア蛋白に対する抗体である。したがってこの抗体では、癌と正常上皮とに発現する CD44 が同一のものかどうかを識別できない。

これについて Salmi ら²⁷⁾は、頭頸部の正常上皮、乳頭腫、扁平上皮癌について、抗 CD44v 抗体と、CD44 に対する一般的な抗体である Hermes-3 とを比較した結果を報告している。それによれば、正常上皮においては CD44v は基底細胞層で減弱しているものの、それ以外では角化層を除いて強く発現していた。そして Hermes-3 は角化層を除いて強く発現していた。乳頭腫は CD44v と Hermes-3 の両者について、正常上皮と同様の発現を示していた。これに対して扁平上皮癌においては CD44v の発現は著しく減弱していた。そして Hermes-3 は大部分で強く発現していた。

Hermes-3 は著者が用いた抗体と基本的に同一のものであり、扁平上皮癌と正常上皮におけるその染色結果も著者が検索した結果と基本的に同一である。重要なことは、CD44v の染色性が扁平上皮癌と正常上皮および乳頭腫との間では、あきらかな差異を示したことである。しかも、これまで転移との関連がさまざまな形で示されてきた CD44v の発現が、頭頸部扁平上皮癌においては減弱していたということである。これについて Salmi ら²⁷⁾は、Günthert ら¹⁰⁾が用いたのはラットの腺癌の cell line であり、Salmi らが用いたのはヒトの扁平上皮癌であるためにそのような差異が生じたのではないかと考察している。そして CD44 が癌の転移において果たす役割は、その種や組織型および宿主の微小環境によって異なるのではないかと考察している。

したがって頭頸部扁平上皮癌に発現する CD44 は、頭頸部の正常上皮や良性腫瘍に発現するものとは異なるものであると同時に、他の組織型の癌に発現するものとも異なるものである可能性が、Salmi ら²⁷⁾によって示唆された。しかし、頭頸部扁平上皮癌に発現する CD44 の異性型については、いまだあきらかではない。

口腔扁平上皮癌のリンパ節転移において CD44 が担う機能については、いまだその詳細はあきらかではない。しかし、本研究で CD44 発現様式が T 分類、分化度、浸潤様式のいずれとも相関していなかったことから、CD44 の機能はこれらの既知の予後因子とは独立したものである可能性が示唆される。

癌の転移は、原発巣からの遊離—脈管内への侵入とそれを介しての移動—標的臓器への着床—標的臓器実質内での増殖という一連の複雑な過程を経て成立すると考えられる。

T 分類は原発腫瘍の進展度を示すものであり、その進行につれて深部浸潤も強まり、周縁部の癌細胞が遊離して脈管内へ侵入する機会も増大すると考えられる。一方、扁平上皮癌は分化度が低下するにつれて角化傾向や上皮の層構造を失うとともに、細胞間橋が不明瞭になっていく。したがって低分化になるにつれて、癌細胞同士が遊離しやすくなると考えられる。また、扁平上皮癌は浸潤様式の進行につれてび慢性浸潤を示すようになり、癌細胞同士が遊離しやすくなると考えられる。すなわち分化度や浸潤様式は、原発巣から遊離して脈管内へ侵入しやすい傾向を示すものであると考えられる。したがって T 分類と分化度および浸潤様式は、原発巣からの遊離—脈管内への侵入という癌転移の初期に関与する因子であると考えられ、T 分類はそれを量的に、分化度や浸潤様式は質的に反映すると考えられる。

一方、CD44 発現様式は T 分類、分化度、浸潤様式のいずれとも相関していなかった。そして CD44 が細胞外基質に対する接着分子であることから、Seiter ら¹⁵⁾が腺癌の cell line を用いての転移抑制実験で示唆したのと同様に、扁平上皮癌においても CD44 は癌細胞がリンパ節に着床する段階で接着分子として作用する可能性が考えられる。すなわち CD44 は、標的臓器への着床という癌転移の後期に関与する因子であり、CD44 発現様式はその際の接着性を反映している可能性が考えられる。そして CD44 発現様式が癌転移の後期に関与する因子であるがゆえに、癌転移の初期に関与すると考えられる T 分類、分化度、浸潤様式とは相関を示さない、という考察も成立し得ると考えられる。

これらについては現時点ではいまだ推論の域を出ないが、少なくとも CD44 発現様式は、T 分類、分化度、浸潤様式といった既知の予後因子とは異なる、癌の転移に関するある種の生物学的性状を反映している可能性は示唆される。したがって CD44 の発現について検討することは、多種多様な因子が関与する複雑な過程である癌転移を総合的に把握する上で意義のあることと考える。

口腔扁平上皮癌の所属リンパ節転移と CD44 との関連について検討した報告は、著者が知る限りこれが最初のものである。少なくとも、著者が分類した CD44 の発現様式は口腔扁平上皮癌のリンパ節転移と強い統計学的相関を示し、CD44 を強く発現する癌は転移の危険性が高い可能性が示唆された。しかもそのような癌は多発性の転移を生じやすい可能性も示唆された。原発部位における CD44 の発現様式を検討することによって、リンパ節転移の危険性を把握できる可能性が

示唆されたことは、臨床的に有益であると考えらる。

結 語

口腔扁平上皮癌 35 例の原発部位における、接着分子 CD44 の発現を免疫組織化学的に検索し、その発現様式と所属リンパ節転移、さらに TN 分類、分化度、浸潤様式との関連について検討を加え、以下の結果を得た。

1. 大部分の口腔扁平上皮癌は CD44 染色陽性を示した。

2. CD44 の発現様式は、強度発現、中等度発現・陰性の 3 つの分類が可能であり、それぞれ 17 例、16 例、2 例に認められた。

3. CD44 強度発現例は転移陽性群において多く認められ、中等度発現例は転移陰性群において多く認められた。陰性例はわずか 2 例に留まったがいずれも転移陰性であった。この CD44 発現様式とリンパ節転移との間には、強い統計学的相関が認められた。

4. CD44 強度発現例は中等度発現例に対して、また中等度発現例と陰性例をあわせたものに対して、有意に高いリンパ節転移率を示した。しかも CD44 強度発現例は N2 症例が多く、多発性の転移を生じやすい可能性も示唆された。

5. 正常上皮においても CD44 の強い発現が認められたが、文献的考察からは扁平上皮癌に発現する CD44 と正常上皮に発現する CD 44 は、それぞれ異なる異性型をもつものである可能性が示唆された。

6. CD44 発現様式は、T 分類、分化度、浸潤様式のいずれとも相関していなかった。

7. 口腔扁平上皮癌のリンパ節転移において、CD44 が何らかの重要な役割を果たしている可能性が示唆された。そして癌細胞がリンパ節に着床する段階で、CD44 が接着分子として作用する可能性が考えられた。

8. 口腔扁平上皮癌における CD44 発現様式を検索することにより、リンパ節転移の危険性を把握できる可能性が示唆された。

稿を終えるにあたり、本研究の遂行に種々のご配慮を頂いた、東北大学歯学部口腔外科学第二講座の、恩師手島貞一教授に深甚なる謝意を表します。また、ご校閲を賜った東北大学歯学部微生物学講座の熊谷勝男教授、同口腔解剖学第二講座の加賀山 学教授に深謝します。さらに同口腔外科学第二講座の、免疫染色を指導して頂いた森士朗助手、斎藤哲夫助手、免疫学の初歩から指導して頂いた山口 泰講師、高橋 哲助手、竹田和由博士、分化度、浸潤様式の判定を指導して頂いた松田耕策助手、および有益な助言を与えてくださいました同微生物学講座の樗木俊聡助手に、謝意を表します。

本研究の一部は、第 16 回日本頭頸部腫瘍学会(1992 年 7 月：香川)、第 11 回日本口腔腫瘍学会(1993 年 1 月：新潟)、第 34 回大韓口腔顎顔面外科学会(1993 年 4 月：Seoul)、第 17 回日本頭頸部腫瘍学会(1993 年 7 月：東京)、第 38 回日本口腔外科学会(1993 年 10 月：新潟)、第 12 回日本口腔腫瘍学会(1994 年 1 月：福岡)で発表した。

また本研究の一部は、一般研究(B)課題番号 01480462 によった。

引 用 文 献

- 1) 熊谷勝男, 新田康隆, 他: 特集 接着分子とその臨床的意義 腫瘍の転移と接着分子. 最新医学 46: 2386-2395 1991.
- 2) 樗木俊聡, 新田康隆, 他: 特集 癌転移—分子機構解明の最前線 転移の臓器親和性を決定する接着分子と増殖因子. 実験医学 10: 236-241 1992.
- 3) 済木育夫, 米田純也: 特集 癌転移—分子機構解明の最前線 細胞接着分子と癌転移. 実験医学 10: 278-284 1992.
- 4) 矢守隆夫: がん浸潤・転移の分子機構 臓器選択的転移の分子レベルでの裏付け. 細胞工学 11: 48-56 1992.
- 5) Hofmann, M., Rudy, W., et al.: CD44 splice variants confer metastatic behavior in rats: Homologous sequences are expressed in human tumor cell lines. Cancer Research 51: 5292-5297 1991.
- 6) Pals, S. T., Horst, E., et al.: Expression of lymphocyte homing receptor (CD44) as a mechanism of dissemination in non-Hodgkin's lymphoma. Blood 73: 885-888 1989.
- 7) Jalkanen, S., Joensuu, H., et al.: Prognostic value of lymphocyte homing receptor and S phase fraction in non-Hodgkin's lymphoma. Blood 75: 1549-1556 1990.
- 8) Horst, E., Meijer, C. J. L. M., et al.: Adhesion molecules in the prognosis of diffuse large cell lymphoma: Expression of a lymphocyte homing receptor (CD44), LFA-1 (CD11a/18), and ICAM-1 (CD54). Leukemia 4: 595-599 1990.
- 9) Birch, M., Mitchell, S., et al.: Isolation and characterization of human melanoma cell variants expressing high and low levels of CD44. Cancer Research 51: 6660-6667 1991.
- 10) Günthert, U., Hofmann, M., et al.: A new variant of glycoprotein CD44 confers metastatic potential to rat carcinoma cells. Cell 65: 13-24 1991.
- 11) Matsumura, Y. and Tarin, D.: Significance of CD44 gene products for cancer diagnosis and disease evaluation. Lancet 340: 1053-1058 1992.

- 12) Heider, K. H., Hofmann, M., et al. : A human homologue of the rat metastasis-associated variant of CD44 is expressed in colorectal carcinomas and adenomatous polyps. *J Cell Biol* 120 : 227-233 1993.
- 13) Rudy, W., Hofmann, M., et al. : The two major CD44 proteins expressed on a metastatic rat tumor cell line are derived from different splice variants : Each one individually suffices to confer metastatic behavior. *Cancer Research* 53 : 1262-1268 1993.
- 14) Koopman, G., Heider, K. H., et al. : Activated human lymphocytes and aggressive non Hodgkin's lymphomas express a homologue of the rat metastasis-associated variant of CD44. *J Exp Med* 177 : 897-904 1993.
- 15) Seiter, S., Arch, R., et al. : Prevention of tumor metastasis formation by anti-variant CD44. *J Exp Med* 177 : 443-455 1993.
- 16) Arch, R., Wirth, K., et al. : Participation in normal immune responses of a metastasis-inducing splice variant of CD44. *Science* 257 : 682-685 1992.
- 17) UICC : TNM Klassifikation maligner Tumoren. Vierte Auflage. Springer-Verlag, Berlin, 1987.
- 18) WHO : Histological typing of oral and oropharyngeal tumours. International Histological Classification of Tumours No. 4, Geneva, 1971.
- 19) 山本悦秀, 砂川 元, 他 : 口腔粘膜癌の浸潤様式と Bleomycin 感受性. *癌の臨床* 27 : 1583-1589 1981.
- 20) Yamamoto, E., Kohama, G., et al. : Mode of invasion, Bleomycin sensitivity, and clinical course in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Cancer* 51 : 2175-2180 1983.
- 21) Hsu, S. M., Raine, L., et al. : Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques : A comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 29 : 577-580 1981.
- 22) Mori, S., Sawai, T., et al. : A new decalcifying technique for immunohistochemical studies of calcified tissue, especially applicable to cell surface marker demonstration. *J Histochem Cytochem* 36 : 111-114 1988.
- 23) Jakobsson, P. A., Eneroth, G. M., et al. : Histological classification and grading of malignancy in the cancer of the larynx. *Acta Radiol (Stockh)* 12 : 1-8 1973.
- 24) Willén, R., Nathanson, A., et al. : Squamous cell carcinoma of the gingiva. Histological classification and grading of malignancy. *Acta Otolaryng* 79 : 146-154 1975.
- 25) Haynes, B. F., Telen, M. J., et al. : CD44-a molecule involved in leukocyte adherence and T-cell activation. *Immunol Today* 10 : 423-428 1989.
- 26) Haynes, B. F., Liao, H. -X., et al. : The transmembrane hyaluronate receptor (CD44) : multiple functions, multiple forms. *Cancer Cells (Cold Spring Harbor)* 3 : 347-350 1991.
- 27) Salmi, S., Grön-Virta, K., et al. : Regulated expression of exon v6 containing isoforms of CD44 in man : Downregulation during malignant transformation of tumours of squamocellular origin. *J Cell Biol* 122 : 431-442 1993.