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

森川 秀 広

Expression of α -catenin and E-cadherin in oral squamous cell carcinoma and association with metastasis to regional lymph nodes and survival rate

Hidehiro MORIKAWA

Abstract: α -Catenin (α -cat), one of the E-cadherin (E-cad) associated cytoplasmic proteins that forms linkages to the cytoskeleton, regulates the functions of E-cad. Since the expression of E-cad, an intercellular adhesion molecule, has been suggested to contribute to metastasis of the same type of tumor, I hypothesized that the examination of α -cat may also help to evaluate the ability of a tumor to metastasize. In the present study, therefore, the expression of α -cat in oral squamous cell carcinomas (SCCs) obtained by biopsy from 84 patients was examined immunohistochemically with the use of a monoclonal antibody. The relationship between the staining patterns for α -cat and clinicopathological findings was analyzed and compared with that for E-cad. α -Cat showed circumferential staining and/or cytoplasmic staining in SCC cells, while E-cad showed circumferential staining. The expression of α -cat and E-cad was classified as follows: 1) positive, almost all cells were strongly stained and the staining was equivalent to that in normal oral squamous cells; 2) weakly positive, some cells were stained, but the remaining cells were not stained or were weakly stained. 3) negative, almost all cells were not stained. The incidence of metastasis to regional lymph nodes in cases negative for α -cat was significantly higher (66.7%) than that in the combined total of positive and weakly positive cases (23.3%) ($p=0.0005$). Moreover, the survival rate differed significantly between negative (64.3%) and weakly positive cases (91.3%), as well as between weakly positive and positive cases (100%) ($p<0.05$). As for E-cad expression, the incidence of metastasis and the survival rate in negative cases were similar to the results obtained for α -cat expression in this study. However, 69% (58/84) of the cases showed weakly positive staining for E-cad, and the incidence of lymph node metastasis in this group was 37.9% (22/58) which was similar to that in all 84 cases (30/84, 35.7%). The results suggest that the rate of lymph node metastasis could not be accurately estimated in more than half of the patients. By additionally performing α -cat staining, α -cat negative cases among weakly positive cases for E-cad were found to have a significantly higher incidence of lymph node metastasis than the combined total of weakly positive and positive cases did ($p=0.0423$).

In conclusion, the combined examination of α -cat and E-cad expression in oral SCC yields useful information concerning regional lymph node metastasis and prognosis.

Key words: oral squamous cell carcinoma (口腔扁平上皮癌), α -catenin (α カテニン), E-cadherin (E-カドヘリン), regional lymph node metastasis (所属リンパ節転移), survival rate (生存率)

結 言

近年の口腔扁平上皮癌の治療における即時再建術の進歩は、十分な安全域を設定した腫瘍組織の切除を可能とし、原発巣の制御率を著しく向上させてきた。一方、口腔扁平上皮癌患者の予後の重要な決定因子の一つである所属リンパ節転移の有無については、CT、MRI等の画像診断技術の発達に伴い、比較的早期の診断が可能となってきた。しかし、所属リンパ節における微小転移や後発転移の予測については満足すべき診断法が確立されていないのが現状であり、所属リンパ節転移を早期に予測しうる診断法の開発がさまざまな方面から試みられている。

口腔扁平上皮癌においては、これまで特に病理組織学的所見、すなわち、腫瘍の分化度、浸潤様式、間質反応等をパラメーターとした組織学的悪性度を指標とした診断法等が提唱されてきてはいる¹⁻³⁾が、その臨床的有用性については、今だ満足すべき成果は得られていない。一方、従来の病理組織形態学的検討に加え、口腔扁平上皮癌の生物学的性状を種々のモノクローナル抗体やレクチンを用いた組織化学的観点からとらえ、口腔扁平上皮癌の転移能を予測する試みもなされている。たとえば、口腔扁平上皮癌における *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin (L-PHA) 結合糖鎖⁴⁾、CD44⁵⁾、ヘパラン硫酸グリコサミノグリカン⁶⁾、E-カドヘリン^{7, 8)}などの発現が所属リンパ節への転移と関連するという報告がなされており、所属リンパ節転移の早期診断への有用性が示唆されている。

これらの組織化学的指標のうち、E-カドヘリンについては特に広く研究されている。すなわち、接着分子E-カドヘリンは、上皮細胞間の接着に密接にかかわっており、E-カドヘリンの発現の異常は、原発巣からの腫瘍細胞の遊離をもたらし、腫瘍の浸潤や転移能に強くかかわるものと考えられている⁹⁾。口腔扁平上皮癌におけるE-カドヘリンの発現については、最近、佐藤⁸⁾が臨床的な観点から詳細な解析を行い、E-カドヘリンの発現と所属リンパ節転移の有無および生存率との間に関連を認め、E-カドヘリンの発現の検討は、腫瘍の転移能あるいは患者の予後を予測する上で有用であることを示唆している。

一方、近年、カドヘリンの細胞内領域に結合する細胞質因子として、 α 、 β および γ カテニンが報告され¹⁰⁾、カドヘリンの接着機能を制御しているといわれている α および β カテニンの役割が注目されている。中でも、 α カテニンは高い浸潤性をもつタイプの癌細胞において高頻度で欠失していることが報告されてい

表1 原発部位

	N+	N-	計(転移率)
舌	15(7)	26	41(36.9%)
下顎歯肉	9(1)	12	21(42.9%)
上顎歯肉	3(1)	5	8(37.5%)
頬粘膜	1(1)	6	7(14.3%)
口底	2	5	7(28.6%)
計	30(10)	54	84例(35.7%)

N+：転移陽性 N-：転移陰性 ()：後発転移例

る¹¹⁻¹⁸⁾。

そこで、本研究においては、口腔扁平上皮癌の原発巣における α カテニンの発現について免疫組織化学的に観察し、その発現様式と所属リンパ節転移および生存率との関連を、E-カドヘリンの発現様式の場合と比較検討した。

対 象 症 例

対象症例は、1990年7月から1995年9月までの期間に■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84症例である。原発部位は舌41例、下顎歯肉21例、上顎歯肉8例、頬粘膜、口底各7例であった(表1)。T分類¹⁹⁾はT1：18例、T2：41例、T3：12例、T4：13例であった(表2)。

所属リンパ節転移については転移陽性30例、転移陰性54例であり、全体の転移率は35.7%であった。本研究においては、原則として頸部郭清術の手術標本の病理組織学的検査を行い、リンパ節転移を認めたものを転移陽性としたが、頸部リンパ節に著しい腫脹を認め、手術の対象とならなかった1例については病理組織学的検査を施行せず、触診および画像診断により転移と判断し転移陽性症例に含めた。転移陽性30例中一次転移症例は20例(66.7%)であり、後発転移症例は10例(33.3%)であった(表1)。また、所属リンパ節以外の他臓器に遠隔転移を認めた症例は5例であった。

転移陰性症例のうち、頸部郭清術を施行し組織学的に転移陰性であった症例は21例で、頸部郭清術を施行せず、臨床的に転移陰性であった症例は33例であった。また転移陰性例の観察期間は最短で初回手術後9か月であった。生存期間の最終確認日は1996年■

表2 T 分類, 分化度, 浸潤様式と所属リンパ節転移との関連

	T 分類*				分化度**			浸潤様式***					
	T 1	T 2	T 3	T 4	W	M	P	1	2	3	4 C	4 D	
N +	4	14	6	6	17	12	1	0	6	13	8	3	30
N -	14	27	6	7	46	7	1	3	9	35	4	1	54
計	18	41	12	13	63	19	2	3	17	48	12	4	84 例

N+ : 転移陽性 N- : 転移陰性 W : 高分化型 M : 中等度分化型 P : 低分化型
* : N. S.: Total $\chi^2=3.155$, $p=0.3684$
** : Total $\chi^2=8.502$, $p=0.0143$
*** : Total $\chi^2=10.922$, $p=0.0275$

31 日とした。なお, TNM 分類は 1987 年 UICC 分類¹⁹⁾にしたがい, 分化度は WHO 分類²⁰⁾により, Grade I : 高分化型, Grade II : 中等度分化型, Grade III : 低分化型とした。浸潤様式は Yamamoto らの分類^{21~23)}にしたがった。

方 法

一次治療前に腫瘍宿主境界部より採取した新鮮生検標本から凍結組織切片を作製し, α カテニンに対するモノクローナル抗体 α 18²⁴⁾ (京都大学永渕昭良先生より御供与いただいた) および E-カドヘリンに対するモノクローナル抗体 HECD-1⁹⁾ (京都大学竹市雅俊教授より御供与いただいた) を用いて avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) 法^{25, 26)}により免疫組織化学的に染色した。また, α カテニンおよび E-カドヘリン染色に際しては, 連続切片を用いて染色を行った。染色方法の概略は, 以下に示すとおりである。

- 1) 新鮮組織標本を O. C. T. Compound (Miles Inc. 社製) に包埋。アセトン・ドライアイスにて急速凍結。
- 2) クライオスタットにて薄切 (4 μ m)。スライド・ガラスには poly-L-lysine-coated slides を使用。
- 3) 室温風乾 (30 分間)。
- 4) アセトン固定 (4 $^{\circ}$ C, 10 分間)。
- 5) 室温風乾 (30 分間)。
- 6) 0.01M phosphate buffered saline, pH7.2 (以下 PBS) にて洗浄 (4 $^{\circ}$ C, 5 分間, 3 回)。
- 7) 1% 正常ウサギ血清 (α カテニン染色) あるいは 1% 正常ウマ血清 (E-カドヘリン染色) と反応 (PBS にて希釈, 室温 30 分間)。
- 8) PBS にて洗浄 (4 $^{\circ}$ C, 5 分間, 3 回)。
- 9) 1% bovine serum albumin (BSA) にて希釈した一次抗体, α 18 あるいは HECD-1, と反応 (4 $^{\circ}$ C, 1 晩)。
- 10) PBS にて洗浄 (4 $^{\circ}$ C, 5 分間, 3 回)。

- 11) 10% 正常ヒト血清加 PBS で 50 倍に希釈した二次抗体, ウサギ由来ビオチン化抗ラット IgG (α カテニン染色) あるいはウマ由来ビオチン化抗マウス IgG (E-カドヘリン染色) (Vector Laboratories, Inc. 社製) と反応 (室温, 30 分間)。
 - 12) PBS にて洗浄 (4 $^{\circ}$ C, 5 分間, 3 回)。
 - 13) ABC Kit (Vector Laboratories, Inc. 社製) と反応 (室温, 30 分間)。
 - 14) PBS にて洗浄 (4 $^{\circ}$ C, 5 分間, 3 回)。
 - 15) 3-3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (DAB) (SIGMA CHEMICAL 社製) 反応 (室温, 5~8 分)。
 - 16) PBS にて洗浄。
 - 17) 水洗 (3 分間)。
 - 18) 2% メチルグリーンで核染色 (30 分間)。
 - 19) 水洗, 脱水, 透徹, 封入。
- 一次抗体のコントロールには 1% BSA 加 PBS を用いた。

以上に示した免疫組織化学的染色の手法により, 口腔扁平上皮癌における α カテニンの発現様式を光学顕微鏡を用いて検討した。また, 正常口腔粘膜の染色性の検討については, 口腔扁平上皮癌症例の同一標本に含まれた正常口腔粘膜組織を対象として検討した。なお, 通常の組織形態学的検討には, α カテニンあるいは E-カドヘリン染色に用いた切片と連続した切片に, 通法にしたがって, ヘマトキシリン・エオジン染色を施行し用いた。

以上のようにして作製した標本を用いて以下の検討を行った。

- 1) α カテニンおよび E-カドヘリンの発現様式の検討
- 2) α カテニンおよび E-カドヘリンの発現様式と所属リンパ節転移との関連の検討
- 3) α カテニンの発現様式と T 分類, 分化度, 浸潤様式および E-カドヘリンの発現様式との関連の検討
- 4) E-カドヘリン中等度発現症例における α カテニン

写真1 細胞膜領域における α カテニンの発現

A: 正常口腔粘膜上皮 B: 強度発現症例 C: 中等度発現症例 D: 陰性症例 (いずれも $\times 66$)

の発現様式と所属リンパ節転移との関連の検討

5) 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との関連の検討

2)～5)の統計学的検定には χ^2 検定,あるいはFisherの直接確率法を用い, $p<0.05$ をもって統計学的に有意とした。

6) α カテニンおよびE-カドヘリンの発現様式と予後との関連について, Kaplan-Meier法による累積生存率を検討し, 統計学的検定にはCox-Mantel testを用い, $p<0.05$ をもって統計学的に有意とした。

結 果

1. α カテニンの発現様式

正常ヒト口腔粘膜では, α カテニンは角化層を含めて,基底細胞層および有棘細胞層の細胞膜領域に強く発現していたが,細胞質部分にもわずかではあるが,発現が認められた。また,基底膜に接する基底細胞層では,細胞膜領域および細胞質においてともに発現は認められなかった(写真1-A, 2-A)。

口腔扁平上皮癌においては,細胞膜領域および細胞

表3 腫瘍細胞膜領域における α カテニンの発現様式の分類

強度	正常口腔粘膜と同程度に発現しているもの
中等度	部分的に発現が減弱しているもの
陰性	大部分の腫瘍細胞に発現していないもの

質に α カテニンの発現を認めた。細胞膜領域における α カテニンの発現様式は,以下の3型に分類し得た(写真1-B, C, D)。すなわち,正常口腔粘膜と同程度に発現しているものを強度,部分的に発現が減弱しているものを中等度,大部分の腫瘍細胞に発現していないものを陰性と分類した(表3)。

細胞質においては,正常口腔粘膜の場合,前述のように細胞質部分での α カテニンの発現がわずかであるのに対し,腫瘍細胞では細胞質部分で正常口腔粘膜より強く発現している細胞が認められた。したがって,細胞質における発現様式は細胞膜領域と異なっていることから,腫瘍細胞質における α カテニンの発現様式は,大部分の細胞が正常口腔粘膜よりも強く発現しているものを強度,部分的にその発現が減弱しているも

写真2 細胞質における α カテニンの発現A: 正常口腔粘膜上皮 B: 強度発現症例 C: 中等度発現症例 D: 陰性症例 (いずれも $\times 66$)

のを中等度, 大部分の腫瘍細胞に発現していないものを陰性と分類した(写真2-B, C, D)。

2. E-カドヘリンの発現様式

正常ヒト口腔粘膜では, E-カドヘリンの発現は, 角化層を除く基底細胞層および有棘細胞層の細胞表面に強く発現しているが, 基底膜に接する基底細胞層の細胞表面には発現しなかった(写真3-A)。 α カテニンの細胞膜領域における発現様式と同様に, 3型に分類し得た。すなわち, 正常口腔粘膜と同程度に発現しているものを強度, 発現が減弱しているものを中等度, 大部分の腫瘍細胞表面に発現していないものを陰性とした(写真3-B, C, D)。

3. α カテニンの発現様式と所属リンパ節転移との関連

対象とした84症例の腫瘍細胞膜領域における α カテニンの発現は, 強度発現9例(10.7%), 中等度発現51例(60.7%), 陰性24例(28.6%)であった(表4)。これらの症例の所属リンパ節転移の頻度は, 強度発現症例では9例中0例(0%), 中等度発現症例では51例中14例(27.5%), 陰性症例では24例中16例(66.7%)であり, α カテニンの発現様式と所属リンパ節転移の有無との間に有意な関連を認めた(Total

$\chi^2=16.532$, $p=0.0003$) (表4)。

腫瘍細胞膜領域における α カテニンの発現様式別の所属リンパ節転移率を比較すると, 中等度発現症例の転移率が強度発現症例の転移率に比べて高い傾向が認められ(Fisherの直接確率法: $p=0.0745$), さらに, 陰性症例の転移率が中等度発現症例の転移率に比べて有意に高かった(χ^2 with continuity correction = 8.887, $p=0.0029$) (表5)。また, 陰性症例の転移率は, 強度発現症例と中等度発現症例をあわせたものの転移率に対しても有意に上昇していた(χ^2 with continuity correction = 12.197, $p=0.0005$) (表5)。

一方, 腫瘍細胞質における α カテニンの発現は, 強度発現4例(4.8%), 中等度発現73例(86.9%), 陰性7例(8.3%)であった。それぞれの所属リンパ節転移の頻度は, 強度発現症例では4例中1例(25.0%), 中等度発現症例では73例中27例(37.0%), 陰性症例では7例中2例(42.9%)であり, 細胞質における α カテニンの発現様式と所属リンパ節転移の有無との間に有意な関連を認めなかった(N.S.: Total $\chi^2=0.407$, $p=0.8159$) (表6)。

以下, 本研究においては, 「細胞質における」と言及しない限り, 「 α カテニンの発現」は「腫瘍細胞膜領域

写真3 E-カドヘリンの発現
A：正常口腔粘膜上皮 B：強度発現症例 C：中等度発現症例 D：陰性症例（いずれも×66）

表4 細胞膜領域におけるαカテニンの発現様式と所属リンパ節転移との関連*

	++	+	-	計
転移陽性	0	14	16	30
転移陰性	9	37	8	54
計	9	51	24	84 (例)

++：強度 +：中等度 -：陰性
*：Total $\chi^2=16.532$, $p=0.0003$

におけるαカテニンの発現」を指すものとする。
4. E-カドヘリンの発現様式と所属リンパ節転移との関連

E-カドヘリンの発現は、強度発現17例(20.2%)、中等度発現58例(69.0%)、陰性9例(10.7%)であった(表7)。これらの症例の所属リンパ節転移の頻度は、強度発現症例では17例中1例(5.9%)、中等度発現症例では58例中22例(37.9%)、陰性症例では9例中7例(77.8%)であり、E-カドヘリンの発現様式と所属リンパ節転移の有無との間に有意な関連を認めた(Total $\chi^2=13.694$, $p=0.0011$) (表7)。

表5 細胞膜領域におけるαカテニンの発現様式と所属リンパ節転移率との関連

	++	+	-	計
転移率	0 % (0 / 9) * ***	27.5 % (14 / 51) * **	66.7 % (16 / 24) ** *** ****	35.7 % (30 / 84) (例)
	23.3 % (14 / 60) ****			

++：強度 +：中等度 -：陰性
*：Fisherの直接確率法： $p=0.0745$
**： χ^2 with continuity correction=8.887,
 $p=0.0029$
***： χ^2 with continuity correction=9.131,
 $p=0.0025$
****： χ^2 with continuity correction=12.197,
 $p=0.0005$

表 6 細胞質における α カテニンの発現様式と所属リンパ節転移との関連*

	++	+	-	計
転移陽性	1	27	2	30
転移陰性	3	46	5	54
計	4	73	7	84 (例)

++ : 強度 + : 中等度 - : 陰性
* : N. S.: Total $\chi^2=0.407$, $p=0.8159$

表 7 E-カドヘリンの発現様式と所属リンパ節転移との関連*

	++	+	-	計
転移陽性	1	22	7	30
転移陰性	16	36	2	54
計	17	58	9	84 (例)

++ : 強度 + : 中等度 - : 陰性
* : Total $\chi^2=13.649$, $p=0.0011$

表 8 E-カドヘリンの発現様式と所属リンパ節転移率との関連

	++	+	-	計
転移率	5.9% (1 / 17) * *** *****	37.9% (22 / 58) * **	77.8% (7 / 9) ** ***	35.7% (30 / 84) (例)
	43.3% (29 / 67) *****			

++ : 強度 + : 中等度 - : 陰性
* : χ^2 with continuity correction=4.933, $p=0.0263$
** : Fisher の直接確率法: $p=0.0297$
*** : χ^2 with continuity correction=11.104, $p=0.0009$
**** : χ^2 with continuity correction=6.713, $p=0.0096$

E-カドヘリンの発現様式別の所属リンパ節転移率を比較すると、強度発現症例の転移率と、中等度発現症例の転移率との間に有意差が認められ (χ^2 with continuity correction=4.933, $p=0.0263$) (表 8), 中等度発現症例の転移率と陰性症例の転移率との間にも有意差を認めた (Fisher の直接確率法: $p=0.0297$) (表 8).

表 9 α カテニンの発現様式と T 分類, 分化度との関連

	T 分類*				分化度**			計
	T 1	T 2	T 3	T 4	W	M	P	
++	3	4	1	1	8	1	0	9
+	10	27	6	8	43	8	0	51
-	5	10	5	4	12	10	2	24
計	18	41	12	13	63	19	2	84 (例)

++ : 強度 + : 中等度 - : 陰性
* : N. S.: Total $\chi^2=2.287$, $p=0.8915$
** : Total $\chi^2=13.282$, $p=0.0100$

表 10 α カテニンの発現様式と浸潤様式との関連*

	浸潤様式					計
	1	2	3	4 C	4 D	
++	0	2	7	0	0	9
+	3	10	33	5	0	51
-	0	5	8	7	4	24
計	3	17	48	12	4	84 (例)

++ : 強度 + : 中等度 - : 陰性
* : Total $\chi^2=21.258$, $p=0.0065$

表 11 α カテニンの発現様式と E-カドヘリンの発現様式との関連*

α カテニン \ E-カドヘリン	++	+	-	計
++	7	2	0	9
+	10	41	0	51
-	0	15	9	24
計	17	58	9	84 (例)

* : Total $\chi^2=46$, $p=2.41E-09$

5. α カテニンの発現様式と T 分類との関連
 α カテニンの発現様式と T 分類の間には関連を認めなかった (N. S.: Total $\chi^2=2.287$, $p=0.8915$) (表 9).

6. α カテニンの発現様式と分化度との関連
高分化型では α カテニン強度発現症例が 63 例中 8 例 (12.7%) 認められたが、中等度分化型では、強度発現症例が 19 例中 1 例 (5.3%) に認められるのみであり、低分化型では全例陰性症例であり、 α カテニンの発現様式と分化度との間に有意な関連を認めた (Total $\chi^2=13.282$, $p=0.0100$) (表 9).

写真4

A : E-カドヘリン強度発現症例 B : α カテニン強度発現症例
 C : E-カドヘリン強度発現症例 D : α カテニン中等度発現症例
 (A と B, C と D は, 同一症例. いずれも $\times 66$)

7. α カテニンの発現様式と浸潤様式との関連

浸潤様式4D型の4例はすべて陰性症例で, 4C型の12例では, 強度発現症例を認めず, 中等度発現あるいは陰性症例であった. 3型および2型の65例では, 中等度発現症例が多く認められ, 1型の3例はすべて中等度発現症例であり, α カテニンの発現様式と浸潤様式との間に有意な関連を認めた (Total $\chi^2 = 21.258$, $p = 0.0065$) (表10).

8. α カテニンの発現様式と E-カドヘリンの発現様式との関連

α カテニンの発現様式と E-カドヘリンの発現様式との間に強い関連が認められた (Total $\chi^2 = 46$, $p = 2.41 \times 10^{-9}$) (表11). また, 発現様式, 特に強度発現と陰性の症例数を比較した場合, E-カドヘリンでは強度発現症例の方が多く認められ (強度発現 20.2%, 陰性 10.7%), α カテニンでは陰性症例の方が多く認められた (陰性 28.6%, 強度発現 10.7%) (表11). E-カドヘリン陰性症例はすべて α カテニンも陰性であり, E-カドヘリン強度発現症例では, α カテニン陰性症例は認められず, E-カドヘリン中等度発現症例においては, α カテニンはさまざまな発現パターンを示した (表

11, 写真4, 5, 6).

9. E-カドヘリン中等度発現症例における α カテニンの発現様式と所属リンパ節転移との関連

E-カドヘリン中等度発現症例58例における α カテニンの発現は, 強度発現2例 (3.4%), 中等度発現41例 (70.7%), 陰性15例 (25.9%) であり, 陰性症例ほど転移が多くなる傾向が認められた (Total $\chi^2 = 5.000$, $p = 0.0821$) (表12). これらの症例の所属リンパ節転移の頻度は, α カテニン強度発現症例では2例中0例 (0%), 中等度発現症例では41例中13例 (31.7%), 陰性症例では15例中9例 (60%) であった (表12, 13).

α カテニンの発現様式別に所属リンパ節転移率を比較すると, 陰性症例の転移率60% (15例中9例) は, 中等度発現症例と強度発現症例をあわせたものの転移率30.2% (43例中13例) に対して有意に上昇していた (Fisherの直接確率法: $p = 0.0423$) (表13).

10. 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との関連

α カテニンと E-カドヘリンの発現様式を強度発現; 0点, 中等度発現; 1点, 陰性; 2点と数値化し, それ

写真 5

A : E-カドヘリン中等度発現症例 B : α カテニン強度発現症例 C : E-カドヘリン中等度発現症例
 D : α カテニン中等度発現症例 E : E-カドヘリン中等度発現症例 F : α カテニン陰性症例
 (A と B, C と D および E と F は, 同一症例. いずれも $\times 66$)

それぞれの症例の α カテニンと E-カドヘリンの点数の合計点 (0 ~ 4 点) を α カテニンおよび E-カドヘリン染色による悪性度指標とし, 所属リンパ節転移との関連を検討した. その結果, 悪性度指標 0 点の症例 7 例中 0 例 (0%), 1 点の症例 12 例中 1 例 (8.3%), 2 点の症例 41 症例中 13 例 (31.7%), 3 点の症例 15 例中 9 例 (60%), 4 点の症例 9 例中 7 例 (77.8%) に転移が認められ, 悪性度指標と転移率との間に有意な関連を認めた (Total $\chi^2=18.883$, $p=0.0008$) (表 14).

11. 生存率

1) 全症例の生存率

他病死症例 3 例を含む全 84 症例の 5 年生存率は 84.5%であった (最長観察期間 2197 日) (図 1).

2) α カテニンの発現と生存率

強度発現症例の 4 年生存率は 100% (最長観察期間 1778 日), 中等度発現症例の 5 年生存率が 91.3% (最長観察期間 2197 日), 陰性症例の 5 年生存率が 64.3% (最長観察期間 1967 日) であり, 強度発現症例と中等

写真 6 A : E-カドヘリン陰性症例 B : α カテニン陰性症例
(A と B は、同一症例. いずれも $\times 66$)

表 12 E-カドヘリン中等度発現症例における α カテニンの発現様式と所属リンパ節転移との関連*

	++	+	-	計
転移陽性	0	13	9	22
転移陰性	2	28	6	36
計	2	41	15	58 (例)

++ : 強度 + : 中等度 - : 陰性
* : Total $\chi^2=5.000$, $p=0.0821$

表 13 E-カドヘリン中等度発現症例における α カテニンの発現様式と所属リンパ節転移率との関連

	++	+	-	計
転移率	0 % (0 / 2) *	31.7% (13 / 41) * **	60% (9 / 15) ** ***	37.9% (22 / 58) (例)
	30.2% (13 / 43) ***			

++ : 強度 + : 中等度 - : 陰性
* : N. S. : Fisher の直接確率法 : $p=0.4817$
** : Fisher の直接確率法 : $p=0.0545$
*** : Fisher の直接確率法 : $p=0.0423$

表 14 α カテニンおよび E-カドヘリン染色による悪性度指標と所属リンパ節転移率との関連

	悪 性 度 指 標					計
	0 点	1 点	2 点	3 点	4 点	
転移率	0 % (0 / 7) *	8.3% (1 / 12) *	31.7% (13 / 41) * **	60% (9 / 15) *	77.8% (7 / 9) *	35.7% (30 / 84) (例)
	5.3% (1 / 19) **			66.7% (16 / 24) **		

悪性度指標 = α カテニン染色の点数 + E-カドヘリン染色の点数
(0 ~ 4 点) (染色性の数値化 : 強度 ; 0 点, 中等度 ; 1 点, 陰性 ; 2 点)

* : Total $\chi^2=18.883$, $p=0.0008$
** : Total $\chi^2=17.975$, $p=0.0001$

図 1 全症例の生存率

図 2 α カテニンの発現様式と生存率

度発現症例および中等度発現症例と陰性症例の累積生存率の間に有意差を認めた (Cox-Mantel test: $p<0.05$) (図 2).

3) E-カドヘリンの発現と生存率

強度発現症例の 5 年生存率は 100% (最長観察期間 2011 日), 中等度発現症例の 5 年生存率が 84.7% (最長観察期間 2197 日), 陰性症例の 4 年生存率が 50.8% (最長観察期間 1626 日) であり, 中等度発現症例と陰性症例の累積生存率に有意差は認められなかったが, 強度発現症例と中等度発現症例および強度発現症例と陰性症例の累積生存率の間に有意差を認めた (Cox-

Mantel test: $p<0.01$) (図 3).

4) E-カドヘリン中等度発現症例における α カテニンの発現様式と生存率

α カテニン強度発現症例の 2 年生存率が 100 % (最長観察期間 870 日), 中等度発現症例の 5 年生存率が 88.9% (最長観察期間 2197 日), 陰性症例の 5 年生存率が 71.8% (最長観察期間 1967 日) であり, 陰性症例の生存率は, 強度発現症例の生存率に比べて有意に低下しており, また, 中等度発現症例の生存率も強度発現症例の生存率に比べて有意に低下していた (Cox-Mantel test: $p<0.05$) (図 4).

図3 E-カドヘリンの発現様式と生存率

図4 E-カドヘリン中等度発現症例におけるαカテニンの発現様式と生存率

5) αカテニンおよびE-カドヘリン染色による悪性度指標と生存率

前述のようにαカテニンとE-カドヘリンの発現様式を数値化し作成した悪性度指標別に生存率を検討した。0点症例7例の4年生存率は100%（最長観察期間1778日）、1点症例12例の5年生存率は100%（最長観察期間2011日）、2点症例41例の5年生存率は88.9%（最長観察期間2197日）、3点症例15例の5年生存率は71.8%（最長観察期間1967日）、4点症例9例の4年生存率は50.8%（最長観察期間1626日）であり、0点と1点間、2点と3点間および3点と4点間

以外のすべてに有意差を認めた（図5）。また、遠隔転移死亡症例5例のうち4例が悪性度指標4点の症例で、1例が3点の症例であった。

考 察

口腔扁平上皮癌の所属リンパ節転移あるいは悪性度を予測する方法として、これまでさまざまな検討がなされてきた。たとえば、病理組織形態学的な観点から、腫瘍の分化度、浸潤様式あるいは間質反応などを指標とした検討がなされている。

図5 α カテニンおよび E-カドヘリン染色による悪性度指標と生存率

山本ら^{21-23, 27)}は、強度び慢性浸潤型である 4D 型の予後が、他の浸潤型に比較し、きわめて不良であることを指摘している。本研究の対象症例においては、4D 型の症例は 84 例中 4 例であり、そのうち 3 例に所属リンパ節転移を認めたことは、4D 型は悪性度が高いという山本らの報告を支持する所見と思われる。しかし今回の対象症例のうち、4D 型以外の 80 例中 27 例にも転移が認められた。このことから浸潤様式の検討は、きわめて予後不良であるごく一部の症例を抽出するには有効であるが、多くの症例についての悪性度の評価は、なお満足できるものではないと思われた。また山本ら²⁷⁾は、浸潤様式の判定の際には腫瘍最深部の腫瘍と宿主の境界部の組織を採取することが望ましいとしている。しかし、原発巣が大きい場合、原発部位が口腔内後方部である場合、開口障害が存在する場合などには腫瘍最深部での採取が困難である。また歯肉癌においては、腫瘍最深部に骨組織が存在することから、腫瘍・宿主境界を採取することはきわめて困難であり、浸潤様式の判定に苦慮する場合がしばしば経験される。また腫瘍の間質反応が、予後決定因子のひとつになり得るとする報告もある¹⁻³⁾。しかし、腫瘍の潰瘍形成により非特異性炎症を伴っている場合、あるいは歯周疾患等の炎症性病変が隣接する場合などには、腫瘍周囲の炎症性細胞浸潤が腫瘍によるものか、非特異的な炎症によるものかの区別が困難であり、予後決定因子としての間質反応の有用性には疑問が残る。

一方、口腔扁平上皮癌の免疫組織化学的検討により、転移能あるいは悪性度を評価しようとする試みもなされている。たとえば、基底膜の主要構成成分であるラミニン²⁸⁾、IV 型コラーゲン²⁹⁾、フィブロネクチン³⁰⁾、

ヘパラン硫酸⁶⁾などの局在を免疫組織化学的に検討し、基底膜の断裂あるいは欠損と、腫瘍細胞の浸潤や転移との関連性を検討した報告が数多くなされている。しかし、基底膜の断裂あるいは欠損が、腫瘍の浸潤あるいは転移と関連するとする報告^{28, 31, 32)}と、関連しないとする報告³³⁻³⁵⁾がみられ、統一した見解は得られていない。さらに齋藤⁶⁾は、基底膜の断裂の有無は口腔扁平上皮癌の所属リンパ節転移と関連しなかったとする報告を行い、基底膜に断裂が認められる症例の多くは高度のリンパ球浸潤を伴っていることを指摘し、基底膜の破壊に関しては腫瘍細胞のみならず、間質に浸潤している炎症性細胞が関与している可能性を指摘している。したがって、口腔扁平上皮癌における基底膜の検討の有用性は今だ確立していないと思われる。

また、細胞増殖能に関連する増殖細胞抗原 (PCNA)³⁶⁻³⁹⁾や Ki-67 抗原⁴⁰⁾あるいは癌抑制遺伝子産物 p53 蛋白^{37, 39, 41)}などの発現を検討し、転移能あるいは悪性度を評価する試みもなされている。これらの報告においては、組織切片上で腫瘍細胞中の PCNA, Ki-67 あるいは P53 蛋白陽性細胞の比率を算出し、転移能あるいは悪性度の指標としうる可能性を示している。しかし、腫瘍組織における PCNA, Ki-67 あるいは p53 蛋白陽性細胞の分布は、間質に接する領域の腫瘍細胞に偏在していることが多く、腫瘍細胞の中から無作為に陽性細胞を抽出することは比較的困難と思われる。方法論的な検討が必要かと思われる。以上から、口腔扁平上皮癌の転移能あるいは悪性度を的確に予測するために、新しい指標の開発が望まれる。

ところで腫瘍細胞の転移形成は、原発巣からの腫瘍細胞の離脱、周辺結合組織への浸潤、組織基底膜の通

過、脈管系への侵入、管腔内の移動、内皮細胞への接着、管腔外への脱出と浸潤、血管新生を含む微小環境の確立と増殖という過程を経て成立すると考えられている。

Takeichi ら⁴²⁾によって命名された細胞間接着分子 E-カドヘリンは、原発巣からの腫瘍細胞の離脱に大きくかかわっていると考えられており⁹⁾、E-カドヘリンの発現が減弱した腫瘍において、転移能が高いとする報告が数多くなされている^{43~50)}。口腔扁平上皮癌においては、佐藤⁸⁾が詳細な解析を行っており、E-カドヘリンの発現パターンを強度、中等度、陰性の3型に分類し、強度発現症例の転移率は中等度発現症例と陰性症例を合わせたものの転移率に比較し、有意に低かったと報告している。佐藤⁸⁾の対象症例は59例であり、そのうち38例(64.4%)は中等度発現症例に属し、その38例中転移を認めた症例は21例(55.3%)であり、約半数を占めている。したがって、E-カドヘリンの発現を検討することは、口腔扁平上皮癌の転移を予測する上で有用ではあるが、半数以上の症例についてはE-カドヘリンの検討のみではなお満足できるものではないと思われた。さらに、E-カドヘリン強度発現症例においても、少ないながら転移する場合が知られており、E-カドヘリンの発現が細胞間接着と直接関連しているとは限らないとの意見もある^{51, 52)}。

今回の研究において検討を行った α カテニンは、 β 、ならびに γ カテニンとともにE-カドヘリンと結合して、機能的単位(カドヘリン・カテニン複合体)を形成し、これを介してアクチンフィラメントすなわち細胞質部の細胞骨格と結合していることが知られている^{10, 53)}。

α カテニンの機能については、Hirano ら⁵⁴⁾が、ヒト肺癌由来の細胞株におけるE-カドヘリンの発現について検討し、E-カドヘリンが強く発現しているにもかかわらず細胞凝集能が抑制されている細胞株が存在し、これに α カテニンの遺伝子を導入することにより細胞は凝集し、組織化された細胞塊を形成したことを報告している。このことは、 α カテニンがE-カドヘリンの機能を直接的に制御していることを示している。臨床的検討においても、E-カドヘリンを発現しているものの α カテニンが減弱あるいは欠失している癌が存在し、 α カテニンの発現と分化度、浸潤の深さ、あるいは転移などとの間に関連があることが、食道癌^{11~14)}、胃癌^{12, 14, 15)}、結腸癌^{12, 14, 16)}、乳癌^{17, 18)}において報告されている。

本研究では、口腔扁平上皮癌における α カテニンの発現を免疫組織化学的に検討し、E-カドヘリンの発現様式、所属リンパ節転移および生存率との関連を検討した。

1. α カテニンの発現様式について

榊ら⁵⁵⁾は口腔扁平上皮癌34例における α カテニン

の発現パターンを、Shiozaki ら⁵⁶⁾の方法にしたがってpreserved およびreducedに分類し、リンパ節転移の有無、腫瘍の分化度および浸潤様式などとの関連について報告している。しかし、榊ら⁵⁵⁾の報告では、食道癌、胃癌、乳癌を対象としたShiozaki ら⁵⁶⁾の分類をそのまま口腔扁平上皮癌にも適応しており、かつ α カテニンの腫瘍細胞における局在について詳細な記載がなされていない。また前述した食道癌^{11~14)}、胃癌^{12, 14, 15)}、結腸癌^{12, 14, 16)}についての報告においても、同様に腫瘍細胞における α カテニンの局在に関しては詳細な記載がなされていない。

今回、 α カテニンに対するモノクローナル抗体 α 18²⁴⁾を用いて、口腔扁平上皮癌における α カテニンの局在を検討したところ、光学顕微鏡レベルにおいて、腫瘍細胞の細胞膜領域および細胞質に発現が認められた。さらに、細胞膜領域における α カテニンの発現と所属リンパ節転移の有無との間に関連を認めたのに対し、細胞質における α カテニンの発現に関しては所属リンパ節転移との間に関連は認められなかった。

E-カドヘリンは膜貫通型糖タンパクであり⁵⁷⁾、その細胞内ドメインが α カテニンと結合することにより機能を発揮するものと考えられている¹⁰⁾。本研究において、細胞膜領域に発現した α カテニンが所属リンパ節転移と関連し、細胞質における α カテニンの発現が所属リンパ節転移と関連しなかったことは、細胞膜に近接した細胞質領域においてE-カドヘリンと結合した α カテニンが、細胞接着能に直接関与していることを示唆するものと思われた。

さらに、従来より病理組織形態学的見地から、低分化型および慢性浸潤型の腫瘍は細胞間接着能が低下していると考えられているが、本研究において、細胞膜領域における α カテニンの発現が、腫瘍の分化度および浸潤様式と関連を示したことも、細胞膜に近接した領域に発現する α カテニンが、細胞接着能に関与しているという考えを支持していると思われる。

2. α カテニンの発現様式と所属リンパ節転移および生存率との関連について

α カテニンの発現様式と所属リンパ節転移との関連を検討した結果、陰性症例の転移率が、中等度発現症例の転移率あるいは強度発現症例の転移率に比べて有意に高かったことから、 α カテニンの発現が減弱しているほど、細胞間接着能が低下し、原発巣からの腫瘍細胞の離脱、さらには転移を起こしやすい状態になっていることが示唆された。

また、 α カテニンの発現と生存率との検討では、強度発現、中等度発現、陰性の順に有意に生存率が低下しており、口腔扁平上皮癌における α カテニンの発現様式は所属リンパ節転移の関連因子であるばかりでなく、予後関連因子としてもきわめて重要であることが示唆された。

3. α カテニンの発現と T 分類, 分化度および浸潤様式との関連について

α カテニンの発現と T 分類との間に関連を認めなかったが, これは佐藤⁸⁾ が E-カドヘリンの場合で考察しているように, α カテニンにおいても, その発現様式は腫瘍発生の初期の段階からすでに確立されており, 原発巣の大きさが小さくても転移能あるいは悪性度の高い症例が存在する可能性が示唆される。

一方, α カテニンと分化度および浸潤様式との間に関連を認め, 分化度が低いほどあるいはびまん性浸潤型であるほど, α カテニンの発現が減弱あるいは欠失する傾向があったことは, 腫瘍細胞間の接着能が低下していることを示唆するものである。しかし, 高分化型症例の 27.0% (17/63), および浸潤様式 1~3 型症例の 27.9% (19/68) にも転移が認められ, 全例が α カテニン陰性あるいは中等度発現症例であった。このことは, 高分化型あるいは浸潤様式 1~3 型症例においても腫瘍細胞間の接着が弱く, 転移能が高い症例が含まれることを示しており, それらの症例の転移能を予測する上で, α カテニンの発現様式を検討することは有用であると考えられる。

4. α カテニンの発現と E-カドヘリンの発現との関連

E-カドヘリンの発現様式と所属リンパ節転移との関連について検討を行ったところ, 佐藤の報告⁸⁾ とほぼ同様の結果を得た。しかし, 今回の検討においては, 強度発現症例, 中等度発現症例および陰性症例, 各群の転移率の間にそれぞれ有意差が認められ, さらに, 生存率に関しても, 強度発現症例と中等度発現症例あるいは陰性症例との間に有意差を認めた。これらの結果は, 本研究における対象症例が, 佐藤⁸⁾ の対象症例よりかなり多く, 統計学的信頼性が増したことによると思われる。

また, E-カドヘリンの発現様式別の症例数については, 中等度発現症例が 69% をしめており, そのうち 37.9% に転移が認められた。この転移率は, 全症例における転移率 35.7% と同程度であることから, 佐藤⁸⁾ の結果と同様に, E-カドヘリンの発現の検討のみでは, 転移の予測には, なお不十分であるものと思われた。そこで, E-カドヘリン中等度発現症例における α カテニンの発現様式と所属リンパ節転移および生存率との関連を検討した。その結果, α カテニン陰性症例の 60% (9/15) に転移を認め, α カテニン中等度発現症例と強度発現症例を合わせたものの転移率 30.2% (13/43) に比べて, 有意に高率であった。また, α カテニン陰性症例の生存率は強度発現症例の生存率と比較して有意に低く, また中等度発現症例の生存率は, 強度発現症例の生存率と比較し, 有意に低下していた。

以上より, E-カドヘリン中等度発現症例において, さらに α カテニンの発現についても検討することによ

り, E-カドヘリン中等度発現症例を高悪性度群と低悪性度群に分類しうる可能性が示唆された。

5. α カテニンおよび E-カドヘリンの発現による悪性度指標の有用性について

今回の研究結果より, α カテニンと E-カドヘリンの発現を同時に検討することにより, 口腔扁平上皮癌の悪性度をより的確に予測しうる可能性が示唆された。そこで, α カテニンと E-カドヘリン染色による新たな悪性度指標を考案してみた。すなわち, α カテニンと E-カドヘリンの発現様式を強度発現; 0 点, 中等度発現; 1 点, 陰性; 2 点と数値化し, それぞれの症例の α カテニンおよび E-カドヘリンの点数の合計 (0~4 点) を悪性度指標とした。その結果, 悪性度指標の点数が高いほど, 所属リンパ節転移率が段階的に増大し, かつ, 生存率が段階的に低下することが示された。したがって, α カテニンおよび E-カドヘリン染色による悪性度指標は, 口腔扁平上皮癌の予後を予測する上で有用な指標のひとつになりうる可能性が示唆された。

以上から, 口腔扁平上皮癌における α カテニンおよび E-カドヘリンの発現を検討することは, 転移能および悪性度を予測する上で, さわめて有用であり, 口腔扁平上皮癌の治療成績の向上に著しく貢献するものと思われる。

結 語

口腔扁平上皮癌新鮮例 84 症例の原発巣における α カテニンおよび E-カドヘリンの発現様式を, 抗 α カテニンモノクローナル抗体 α 18, および抗 E-カドヘリンモノクローナル抗体 HECD-1, を用いて免疫組織化学的に検討した。また, α カテニンおよび E-カドヘリンの発現様式と所属リンパ節転移の有無, T 分類, 分化度, 浸潤様式, および予後との関連について検討した。さらに α カテニンの発現様式と E-カドヘリンの発現様式を比較し, α カテニンと E-カドヘリンの免疫染色によって点数化した悪性度指標と所属リンパ節転移および生存率との関連について検討した。

以上の検討により, 以下に示す結果を得た。

1. α カテニンの発現は, 光学顕微鏡レベルにおいて細胞膜領域および細胞質に認められ, 細胞膜領域におけるその発現様式は強度; 正常口腔粘膜と同程度に発現しているもの, 中等度; 部分的に発現が減弱しているもの, 陰性; 大部分の腫瘍細胞に発現していないものの 3 型に分類された。また, 腫瘍細胞の細胞質における α カテニンの発現様式は, 強度; 大部分の腫瘍細胞が正常口腔粘膜よりも強く発現しているもの, 中等度; 部分的にその発現が減弱しているもの, 陰性; 大部分の腫瘍細胞に発現していないものに分類された。

2. 腫瘍細胞膜領域における α カテニン陰性症例の転移率は, 中等度発現症例あるいは強度発現症例の転

移率より、有意に高かった。しかし、細胞質における α カテニンの発現様式と所属リンパ節転移の有無との間には関連は認められなかった（以下、「 α カテニンの発現」は「細胞膜領域に発現している α カテニン」を指す）。

3. E-カドヘリンの発現パターンを腫瘍細胞膜領域における α カテニンの場合と同様に強度、中等度および陰性の3型に分類し、所属リンパ節転移との関連を検討した。E-カドヘリン陰性症例の転移率は、中等度発現症例あるいは強度発現症例の転移率より有意に高かった。また、中等度発現症例の転移率は強度発現症例の転移率より有意に高かった。

4. α カテニンの発現様式は、T分類とは関連を認めなかった。しかし、中等度分化型、低分化型、および慢性浸潤型の症例では、 α カテニンの発現が一部あるいは大部分が減弱あるいは欠失する傾向を認めた。

5. α カテニンの発現様式とE-カドヘリンの発現様式との間には強い関連が認められた。

6. E-カドヘリン中等度発現症例において α カテニン陰性症例の転移率が、中等度発現症例と強度発現症例をあわせたものの転移率より有意に高かった。

7. E-カドヘリン中等度発現症例において、 α カテニン陰性症例の生存率は、強度発現症例の生存率に比べて有意に低下しており、また、中等度発現症例の生存率も強度発現症例の生存率に比べて有意に低下していた。

8. α カテニンおよびE-カドヘリンの発現様式を点数化し（強度；0点、中等度；1点、陰性；2点）、その合計点（0～4点）を悪性度指標としたところ、悪性度指標が高くなるほど転移率が上昇し、悪性度指標と転移率との間に関連が認められた。

9. 生存率は、 α カテニンの発現が減弱あるいは欠失するほど低く、また、E-カドヘリンの発現が減弱あるいは欠失するほど低かった。さらに α カテニンとE-カドヘリン染色による悪性度指標が高いほど、生存率は低かった。

10. 口腔扁平上皮癌における α カテニンの発現の検討は、腫瘍の転移能および患者の予後を予測する上できわめて有用であり、また、E-カドヘリンの発現と併せ検討することで、さらに有用性が増すものと思われ、口腔扁平上皮癌患者の治療成績の向上に著しく貢献するものと思われた。

稿を終えるにあたり、今回の研究で用いた抗 α カテニンモノクローナル抗体 α 18を快く御供与下さいました京都大学永淵昭良先生、E-カドヘリンモノクローナル抗体HECD-1を快く御供与下さいました京都大学竹市雅俊先生、 α 18入手の際、御尽力下さいました大阪大学加藤逸郎先生に厚く謝意を表します。また、御校閲を賜りました東北大学歯学部口腔外科学第一講座茂木克俊教授、歯

科麻酔科岩月尚文教授、口腔解剖学第二講座加賀山学教授に厚く謝意を表します。さらに、本研究に際し終始御指導と御助言をいただいた口腔外科学第二講座の森 士朗講師、ならびに種々の御援助、御協力をいただきました佐藤 敦博士をはじめ、口腔外科学第二講座の諸先生方に深謝いたします。また、種々のご協力をいただきました森川敦子先生に心から謝意を表します。

本研究の概要は、第17回日本頭頸部腫瘍学会（1996年7月：福井）および第41回日本口腔外科学会総会（1996年11月：東京）で発表した。

引用文献

- 1) 佐野和生, 井口次夫, 他：口腔領域扁平上皮癌の臨床病理学的観察—組織像と予後との関連を中心として。日口外誌 31: 1-9 1985.
- 2) 今井 裕, 佐々木忠昭, 他：顎口腔領域扁平上皮癌の臨床病理学的検討。日口外誌 38: 450-455 1992.
- 3) 黒川英雄, 山下善弘, 他：口腔扁平上皮癌の組織学的悪性度についての検討—予後との関連について—。日口外誌 42: 1-7 1996.
- 4) 丹田奈緒子：口腔扁平上皮癌における β 1—6分岐糖鎖の局在の検討—所属リンパ節への転移との関連について—。日口外誌 40: 585-593 1994.
- 5) 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.
- 6) 齋藤哲夫：口腔扁平上皮癌におけるヘパラン硫酸の局在に関する免疫組織化学的研究：所属リンパ節転移との関連について。日口外誌 41: 585-592 1995.
- 7) 榊 敏男, 和唐雅博, 他：口腔原発扁平上皮癌におけるE-カドヘリン発現と浸潤様式との関連。日口外誌 39: 639-644 1993.
- 8) 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.
- 9) Shimoyama, Y., Hirohashi, S., et al.: Cadherin cell-adhesion molecules in human epithelial tissues and carcinomas. Cancer Res 49: 2128-2133 1989.
- 10) Nagafuchi, A. and Takeichi, M.: Cell binding function of E-cadherin is regulated by the cytoplasmic domain. EMBO J 7: 3679-3684 1988.
- 11) Kadowaki, T., Shiozaki, H., et al.: E-cadherin and α -catenin expression in human esophageal cancer. Cancer Res 54: 291-296 1994.
- 12) Shiozaki, H., Iihara, K., et al.: Immunohistochemical detection of α -catenin expression in human cancer. Am J Pathol

- 144: 667-674 1994.
- 13) 田村茂行, 塩崎 均, 他: 食道表在癌のリンパ節転移に関する臨床病理学的, 免疫組織学的検討—E 型カドヘリンおよび α カテニンの発現について—. 日外会誌 96: 550-556 1995.
- 14) 塩崎 均, 五福淳二, 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 53: 1602-1606 1995.
- 15) Matsui, S., Shiozaki, H., et al.: Immunohistochemical evaluation of α -catenin expression in human gastric cancer. *Virchows Arch* 424: 375-381 1994.
- 16) Breen, E., Clarke, A., et al.: Poorly differentiated colon carcinoma cell lines deficient in α -catenin expression express high levels of surface E-cadherin but lack Ca^{2+} -dependent cell-cell adhesion. *Cell Adhes Commun* 1: 239-250 1993.
- 17) Ochiai, A., Akimoto, S., et al.: Frequent loss of α -catenin expression in scirrhous carcinomas with scattered cell growth. *Jpn J Cancer Res* 85: 266-273 1994.
- 18) Rimm, L.D., Sinard, J.H., et al.: Reduced α -catenin and E-cadherin expression in breast cancer. *Lab Invest* 72: 506-512 1995.
- 19) UICC: TNM Classification malignant tumours. Forth, fully revised edition. Inter National Union Against Cancer, 1987, p13-18.
- 20) Wahi, P.N., Cohen, B., et al.: Histological typing of oral and oropharyngeal tumours. W. H. O., Geneva, 1971, p17-18.
- 21) 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.
- 22) 山本悦秀, 砂川 元, 他: び慢性浸潤型口腔扁平上皮癌に関する研究. 日口外誌 28: 1471-1479 1982.
- 23) 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.
- 24) Nagafuchi, A., Tsukita, S.: The loss of the expression of α catenin, the 102 kD cadherin associated protein, in central nervous tissues during development. *Develop. Growth and Diff.* 36: 59-71 1994.
- 25) Hsu, S., Raine, L., et al.: Use of avidine-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedure. *J Histochem Cytochem* 29: 577-580 1981.
- 26) 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.
- 27) 山本悦秀, 堤田良二, 他: 強度び慢性浸潤型 (4D 型) 口腔扁平上皮癌に関する検討. 日口外誌 33: 1400-1409 1987.
- 28) 野口 誠, 小浜源郁, 他: 口腔扁平上皮癌における laminin の局在様式と組織学的悪性度. 癌の臨床 35: 880-885 1989.
- 29) 関口 隆, 野口 誠, 他: 口腔扁平上皮癌における型別コラーゲン (I, III, IV, V, VI, VII) の免疫組織化学的分布. 日口外誌 41: 6-14 1995.
- 30) 渡辺裕之: 高分化型口腔扁平上皮癌におけるフィブロネクチン遺伝子の発現と予後に関する研究. 日口外誌 40: 1115-1130 1994.
- 31) Visser, R. Van Der Beek, J.M.H., et al: Immunohistochemical detection of basement membrane antigens in the histopathological evaluation of laryngeal dysplasia and neoplasia. *Histopathology* 10: 171-180 1986.
- 32) 平本隆介: 口腔白板症ならびに口腔粘膜扁平上皮癌の免疫組織学的研究—ラミニン, IV 型コラーゲンの反応態度からみた基底膜の存在様式について—. 鶴見歯学 13: 65-86 1987.
- 33) Gusterson, B.A., Warburton, M.J., et al: Invading squamous cell carcinoma can retain a basal lamina. *Lab Invest* 51: 82-87 1984.
- 34) Carter, R.L., Burman, J.F., et al: Immunohistochemical localization of basement membrane type IV collagen in invasive and metastatic squamous cell carcinomas of the head and neck. *J Pathol* 147: 159-164 1985.
- 35) Sakr, W.A., Zarbo, R.J., et al: Distribution of basement membrane in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Hum Pathol* 18: 1043-1050 1987.
- 36) 前田寛治, 辻 龍雄, 他: 口腔扁平上皮癌におけるモノクローナル抗 PCNA 抗体による細胞動態の解析とその意義について. 日口外誌 37: 1961-1965 1991.
- 37) 辻 龍雄, 文 樹民, 他: p53 癌抑制遺伝子関連抗原と増殖細胞核抗原 (PCNA) の免疫組織学的発現と DNA aneuploidy との関連性について. 日口外誌 39: 1330-1333 1993.
- 38) 永峰浩一郎, 冲津光久, 他: 口腔扁平上皮癌における増殖細胞核抗原 (PCNA) の免疫組織化学的検討. 日口外誌 41: 1-5 1995.
- 39) 米本嘉憲, 西嶋克巳, 他: 口腔扁平上皮癌にお

- ける p53 癌抑制遺伝子産物と増殖細胞核抗原 (PCNA) の免疫組織化学的検討. 日口外誌 41: 746-750 1995.
- 40) 小宮山和正: 舌癌の増殖能に関する免疫組織化学的研究: Ki-67 抗原発現と組織学的悪性度との関連性について. 日口外誌 41: 179-190 1995.
- 41) 西岡博人, 上林豊彦, 他: 口腔扁平上皮癌における p53 癌抑制遺伝子産物の免疫組織化学的検索: PCNA 染色との比較および臨床病理学的関連性について. 日口外誌 39: 201-206 1993.
- 42) Takeichi, M.: Cadherin cell adhesion receptors as a morphogenetic regulator. *Science* 251: 1451-1455 1991.
- 43) Dorudi, S., Sheffield, J.P., et al.: E-cadherin expression in colorectal cancer. An immunocytochemical and in situ hybridization study. *Am J Pathol* 142: 981-986 1993.
- 44) Pignatelli, M., Ansari, T.W., et al.: Loss of membranous E-cadherin expression in pancreatic cancer: correlation with lymph node metastasis, high grade, and advanced stage. *J Pathol* 174: 243-248 1994.
- 45) Oka, H., Shiozaki, H., et al.: Expression of E-cadherin cell adhesion molecules in human breast cancer tissues and its relationship to metastasis. *Cancer Res* 53: 1696-1701 1993.
- 46) Sakuragi, N., Nishiya, M., et al.: Decreased E-cadherin expression in endometrial carcinoma is associated with tumor dedifferentiation and deep myometrial invasion. *Gynecol Oncol* 53: 183-189 1994.
- 47) Shiozaki, H., Doki, Y., et al.: E-cadherin expression and cancer invasion and metastasis. *Hum Cell* 6: 94-99 1993.
- 48) Oka, H., Shiozaki, H., et al.: Immunohistochemical evaluation of E-cadherin adhesion molecule expression in human gastric cancer. *Virchows Arch* 421: 149-156 1992.
- 49) van-der-Wurff, A.A., Arends, J.W., et al.: L-CAM expression in lymph node and liver metastases of colorectal carcinomas. *J Pathol* 172: 177-181 1994.
- 50) 本田修司: 正常子宮頸部組織および頸部扁平上皮癌における上皮型 cadherin の発現に関する免疫組織学的解析. 日産婦誌 44: 517-523 1992.
- 51) Palacios, J., Benito, N., et al.: Anomalous expression of P-cadherin in breast carcinoma: Correlation with E-cadherin expression and pathological features. *Am J Pathol* 146: 605-612 1995.
- 52) Kinsella, A.R., Green, B., et al.: The role of the cell-cell adhesion molecule E-cadherin in large bowel tumour cell invasion and metastasis. *Br J Cancer* 67: 904-909 1993.
- 53) 金井弥栄, 広橋説雄: 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.
- 54) Hirano, S., Kimoto, N., et al.: Identification of neural α -catenin as a key regulator of cadherin function and multi cellular organization. *Cell* 70: 293-301 1992.
- 55) 榊 敏男, 和唐雅博, 他: 口腔扁平上皮癌の細胞間接着分子と予後. 頭頸部腫瘍 22: 173-179 1996.
- 56) Shiozaki, H., Tahara, H., et al.: Expression of immunoreactive E-cadherin adhesion molecules in human cancers. *Am J Pathol* 139: 17-23 1991.