シンポジウム

「頭頸部早期癌の臨床と病理」

口腔粘膜の扁平上皮内癌 SIN

—口腔癌取扱い指針の考え方—

出 雲 俊 之

はじめに

口腔癌を扱ういろいろな立場の人が、共通の認識を持って診断、治療、研究を進めるためには、基本的な考え方や具体的な取扱い方法の標準化が必要である。日本口腔腫瘍学会では、2002 年から学術委員会に「口腔癌取扱い指針」ワーキング・グループ (WG) を設け、口腔癌取扱いの標準化に向けて、外科病理学的諸問題を検討してきた。WG において口腔癌の解剖学的部位ごとに検討課題を決め、症例を収集しその検討結果から試案を作成した。その中での問題点を整理し、毎年の総会における外科病理シリーズとして、シンポジウムやワークショップの場で広く検討を重ねた。そして、これらの作業の結果を「舌癌取扱い指針」¹⁾「下顎歯肉癌取扱い指針」²⁾「頬粘膜癌・口底癌取扱い指針」³⁾「上顎歯肉癌・硬口蓋癌取扱い指針」⁴⁾としてまとめ、学会誌および学会 HP 上に掲載してきた。本演題では、検討を重ねた外科病理学的課題の中から口腔癌の早期病変、特に浸潤前の上皮内癌について、これまでの経過をまとめて WG の考え方を解説すると共に、最近の新たな知見やこれからの課題について言及する。

背 景

2005 年の WHO 分類⁵⁾では、口腔粘膜の上皮内癌 (CIS) は、細胞異型を伴う構造の異常が上皮全層あるいは全層に近く認められるものと定義されていて、この WHO の上皮内癌診断基準は、過去 30 年間変わっていない⁵⁻⁸⁾。上皮内癌は非浸潤期であるため前癌病変として記載されているが、さらにその早期病変として上皮性異形成が挙げられ、異型細胞の出現する上皮内の層を基底層から 3 層に分け、mild, moderate, severe の 3 段階の異形成に分類されている。CIS の組織像としては、粘膜上皮が全層性に基底細胞

様の異型細胞に置換された像が示されている。このような異型細胞の出現する層を診断基準とする考え方は、子宮頸癌の CIS に由来するが、非角化扁平上皮癌が多い子宮頸癌と、大部分が角化を伴い重層扁平上皮としての成熟・分化が明らかな口腔粘膜の扁平上皮癌 (SCC) とでは、浸潤前の組織像も異なるのではないかと疑うことから我々の仕事が始まった。

扁平上皮内腫瘍 SIN

扁平上皮内腫瘍 squamous intraepithelial neoplasia (SIN) という用語は、WHO の診断基準とは異なる CIS であることを表現するために、第 21 回総会 (沖縄, 2003) のワークショップ 1「口腔癌の外科病理：SIN system—dysplasia 評価法としての一試案」⁹⁾から使われている。SIN の仕事を始めるに際し、まず、埼玉がんセンターにおける開院以来の全口腔癌症例を検索し、SCC と診断される以前に病理標本がある生検症例、および、術後再発した症例の手術標本断端を再検討した。そこで得た検討結果を試案として上記ワークショップにおいて呈示し、これを基にして、浸潤癌に進展することが確認された「癌になる dysplasia」と 5 年以上の経過観察がなされても「癌にならない dysplasia」症例が、本学会において公募された。公募収集された症例の検索結果は、第 22 回総会 (金沢, 2004) のワークショップ 2「口腔癌の外科病理：舌 dysplasia の予後：募集症例の検討」¹⁰⁾において報告され、「舌癌取扱い指針」¹⁾の中にまとめられた。

以下は、「舌癌取扱い指針」¹⁾からそのまま引用するが、ここで検索された症例はプロトタイプの SIN と考えられるもので、SCC に進展することが経過観察から検証されている SIN である。

1) SIN の肉眼像

SIN の肉眼像は、陥凹性の赤色あるいは紅斑様病変で、胃癌、食道癌における IIc 病変に相当するもの。あるいは、白色の隆起性病変で、軽度の白斑様肥厚病変 (IIb 病変)

から明らかな隆起性病変 (IIa 病変) までその肉眼像は様々である。

SIN を臨床的に認識するには、ヨード生体染色が推奨される^{1-4, 11, 12)}。早期粘膜癌の内視鏡的な検索方法としては、食道癌に対するヨード生体染色が確立^{13, 14)}されているが、口腔粘膜におけるその有用性については、第 21 回総会 (沖縄, 2003) のワークショップ 1 において、信州大学の栗田先生¹⁵⁾ および東京歯科大学の矢島先生¹⁶⁾ に御講演頂いた。また、本シンポジウムにおいて大森先生にお話し頂いたように、近年食道や中・下咽頭では、narrow band imaging (NBI) を用いた拡大内視鏡における粘膜表層の微細血管構築像検索や、超拡大内視鏡を用いた細胞観察などによる早期癌診断法が開発されている。拡大内視鏡および NBI による口腔粘膜の検索については、柴原先生の論文を参照されたい。

図 1 は浅い陥凹性の紅斑様肉眼像を呈する SIN である。図 2 には内向型 + 表在型と分類される舌癌が認められ、表在型の部分が SIN である。図 3 のヨード染色では、前方の SIN は不染域として認められ、浸潤癌部は薄く染色されている。さらにトルイジンブルーの重染をすると、浸潤癌部が染まる。ヨード染色における問題点は、SIN や浸潤癌だけではなく、low-grade dysplasia (註参照) や反応性異型上皮、再生性異型上皮も不染域となることである (図 4)。これらを鑑別するためには、今後さらに不染の程度、大きさ、辺縁形態などの詳細な臨床的検討が必要である。

2) SIN の病理組織像

プロトタイプの SIN 病理組織像は、臨床病態も異なる 3 垂型に分類した (図 5)。全層置換型は WHO 分類の CIS に相当し、基底細胞様の異型細胞が全層にわたり認められるもので、basaloid type と呼ぶこともできる。一方表層分化型のものは重層扁平上皮としての成熟・分化形質が明らかに認められるもので、differentiated type と言える。「舌癌取扱指針」¹⁾では、分化型を著明な菲薄化を伴い滴下状を呈する表層分化萎縮型と肥厚した上皮像を呈する表層分化肥厚型に細分したが、その後の検索からは、分化型にはさらに多様な組織像が認められている^{17, 18)}。いずれも表層部分のみでは異型は明らかではなく、基底側の異常、特に基底 1 層目の細胞異型に注目することが重要である。

表層分化肥厚型では病理組織学的な診断が難しい症例も多いため、形態学的な判定を助ける客観的な指標を検討し、Ki-67 免疫染色 (図 6) が有用であることを明らかにした。Ki-67 は、cell cycle にある細胞核に陽性となり、正常な口腔粘膜では基底第 2 層に点在する。Ki-67 陽性と判定するための診断基準は、a) 基底細胞に核小体明瞭な大型核を有する陽性像が認められる。b) 傍基底細胞や有棘細胞に多層化した陽性像が認められる。c) これらの所見

図 1

図 2

図 3

図 4 ヨード不染域の組織像

図 5 扁平上皮内腫瘍 SIN

が一定の局面をもって存在するなどである。Ki-67 陽性所見は、あくまでも病理組織所見に対する参考所見であり確定因子ではないが、主観的判断を補弼する客観的指標として有用と考える。

3) SIN の臨床病態

これらプロトタイプ SIN の臨床病態は、3 亜型により浸潤癌に進展するまでの期間が大きく異なる。全層置換型が

1 年以内に SCC となるのに対し、表層分化肥厚型では 2 ～ 5 年と幅がみられ、少数ではあるが 5 年以上経過してから浸潤癌に進展した症例も認められる (図 7)。

図 8 に病理組織学的に分類した SIN3 亜型の臨床病態をまとめた。舌では表層分化型のものが大部分を占め、WHO の診断基準での CIS に相当する全層置換型はむしろ稀と言える。性別では SIN は女性に多く、臨床的に白斑

様の像を呈する表層分化肥厚型は、SCC に進展するまで平均約 4 年かかっている。

2005 年以降、私共の施設では病理組織学的診断基準を修正し、SIN は上皮内癌として粘膜切除手術の適応としているので、臨床経過から SCC への進展が確認できるプロトタイプの SIN 症例は増えていない。従って、症例を追加したさらに詳細な病態検索はできていない。

図 6 表層分化肥厚型 (Ki-67/MIB1)

SIN 研究の展開

それでは、その後私共 WG の仕事を基点として展開されている 3 名の共同研究者の近年の仕事を紹介する。

東京医科歯科大学口腔病理の坂本先生は、口腔癌早期病変における cytokeratin (CK) の発現について網羅的な検索を行った (図 9)。CK は上皮細胞の主たる構造蛋白で、中間径フィラメントの一つである。約 20 種類のサブタイプが存在し、等電点によって酸性ケラチンと塩基性ケラチンに分けられ、両者はそれぞれ 2 本ずつのケラチン線維が 4 量体を形成した形で発現する。私共はこれまで経験的に、SIN では CK13 の発現が抑制され、CK17 が発現してくることを知っていたが、この検索から CK13 と 4 量体ペアをなす CK4 も発現抑制されることが明らかになった。また、CK17 と共に CK10 も腫瘍化によって発現している。現在これらの現象の分子レベルでの機序解明が進められている。

私共の施設では、現在 Ki-67 以外に CK4, CK13, CK17, p53, CD31, CD34 をルーティーンに染色し、HE 標本に

図 7 SIN 亜型の浸潤癌進展期間

組織型	症例数	性 (M/F)	年齢 (平均年)	臨床像	癌化期間 (平均月)
全層置換型	3	0/3	47	erosion ?	6.7
表層分化					
萎縮型	8	1/7	63	erythroplakia	16.3
肥厚型	21	8/13	56	leukoplakia	46.7

図 8 SIN 亜型の臨床病態

図 9 口腔癌早期病変，前癌病変の cyokeratin 発現に関する網羅的検索
坂本 啓（東京医歯大 口腔病理学分野）

おける病理組織学的な検索の補助的所見として使っている（図 10）。CK4 は CK13 よりも感度は良いものの，形態学的な SIN 病変よりも広く陰性像を示すことが解ってきた。

次に，図 11 は昨年初日大学へ移られた，元防衛医大生化の近藤先生の論文¹⁹⁾ から引用した。口腔癌と前癌病変で発現が増加あるいは減少している遺伝子をマイクロアレイで検索したもので，CK13 と Transglutaminase3 (TG-3) の発現が，それぞれ p value 値 0.0003 と 0.007 の精度で有意に減少することが示されている。また，同氏の他論文²⁰⁾ では，癌化過程において CK4，CK17，TG-3 mRNAs は減少し，CK14，CK17 m-RNAs は増加することが明らかにされている。これらの知見は，SIN において CK4 や CK13 の発現が消失し，CK17 が発現する蛋白レベルでの免疫組織学的な所見と一致するデータであり，CK の分子量が変遷する機序は不明であるが，癌化の早期に起こる細胞内の現象を捉えたものと考えられる。このような口腔癌早期病変に対する検索ツールを増やすことによって，SIN 診断の客観性を向上することができるものと考え，TG-3 についても検討した。図 12 に SIN の CK-13 および TG-3 免疫染色像を示すが，TG-3 も CK13 同様に発現が消失することが確認できたので，SIN 診断の補助的所見として使用可能と考える。なお，TG-3 の抗体²¹⁾ は名古屋大学の人見先生に御供与頂いた。

老人研の相田先生は，埼玉がんセンターにおけるプロトタイプ以降の病理組織学的に診断した SIN 症例を使って，テロメア長の検討を行った²²⁾ が，これは同時に我々の SIN 診断の妥当性を検証する結果ともなった。図 13 は組織 FISH 法のイメージ画像で，染色体上のテロメアとセントロメアを in situ hybridization により標識し，核を DAPI 染色したものである。テロメア，セントロメア，核に各々赤，緑，青の疑似色を施し，赤と緑の蛍光光度比から，テロメア長の解析を行うことができる。正常では基底細胞層に赤いシグナルの強い細胞が認められるが，SIN では両重型いずれもその様な傾向は見られず，全体に緑色の蛍光が強く，テロメアが短縮していることを示している。これは左に示す浸潤癌においても同じ傾向が認められる。これらの結果から，プロトタイプ以降の病理組織学的に診断された SIN 症例は，テロメア長の観点からは，SCC に非常に近い病変であるということが認められた。

SIN の課題

私共 WG の「舌癌取扱い指針」¹⁾ 以降に，日本臨床口腔病理学会では，作業委員会を設けて口腔癌早期病変の検討を行った。委員が当 WG の病理担当者と重複していることもあって，用語や作業方針などの違いはあるが，内容的

図 10

図 11 <Kondoh N, et al. Gene expression signatures that can discriminate oral leukoplakia subtypes and squamous cell carcinoma. Oral Oncol. 43 : 455.>

図 12

図 13

には類似した結果となっている。図 14 は、2007 年の作業報告¹⁷⁾で、口腔病理専門医 25 名が CIS (JSOP) つまり SIN と認めた 39 症例の組織像が載せられている。病理組織学的な検索であるが、今後肉眼像や臨床病態との相関を

検討して、臨床病理学的に意味のある分類へと進展していくものと期待される。

また、既存の SIN 亜型以外に very well differentiated type あるいは superdifferentiated type とでも呼ばざるを

図 14 日本臨床口腔病理学会 診断基準策定作業委員会

図 15 very well (super) differentiated type

得ない、非常に分化の良い SIN (図 15) が存在することは、一部の口腔病理専門医に認識されている。しかし、front 形成が明らかではない場合に、その診断基準をどうするかということも今後の大きな課題である。

SIN と既存分類との対応関係

最後に、SIN と WHO 分類、頭頸部癌取扱い規約²³⁾ との対応関係を図 16 に示す。SIN と日本臨床口腔病理学会の CIS (JSOP) とは、概念上はほぼ同一と理解して良いと考えられ、臨床的対応としては、low-grade dysplasia (注参照) は長期にわたる経過観察、SIN は上皮内癌として粘膜切除の適応と考える。用語に関しては、いずれ最適なもの

のへと収束していくであろうが、この表の中で、dysplasia という用語に関して、頭頸部癌取扱い規約では異なった定義をしている²³⁾ ことに留意されたい。いずれにせよ、口腔癌早期病変の診断に関しては変革期にあることを認識して、それぞれの施設ごとに臨床と病理との間で意思の疎通を計ることが肝要である。

現時点での WG のメンバーを示す (図 17)。本論文は、これらのメンバーを代表して、口腔癌の早期病変、扁平上皮内腫瘍 SIN について進めてきた WG の仕事をまとめたものである。当 WG の基本的な考え方は、我が国の医療事情に合わせた口腔癌の取扱い方を標準化しようというものである。UICC 分類、WHO 分類との対応関係は明確に

* 形態学的に領域性を有し、細胞異型や配列の乱れ、増殖性の変化などにより、腫瘍性病変とされるもの。

図 16 各分類の対応関係

日本口腔腫瘍学会学術委員会	
「口腔癌取り扱い指針」ワーキング・グループ	
グループ長： 出雲 俊之 (埼玉がんセンター病理科)	
大関 悟	(福岡歯大口腔顎顔面外科)
岡田 憲彦	(東京医歯大口腔病態診断科学分野)
岡部 貞夫	(埼玉がんセンター口腔外科)
岡崎 雄一郎	(東京歯大口腔がんセンター)
桐田 忠昭	(奈良医大口腔外科)
草間 幹夫	(自治医大口腔外科)
佐藤 徹	(鶴見大歯学部第2口腔外科)
篠原 正徳	(熊本大医薬学部顎口腔病態学分野)
新谷 悟	(昭和大歯学部顎口腔疾患制御外科)
田中 陽一	(東京歯大市川総合病院臨床検査科病理)
中山 英二	(北海道医療大歯学部放射線学分野)
林 孝文	(新潟大顎顔面放射線学分野)
宮崎 晃亘	(札幌医大口腔外科)
柳下 寿郎	(日本歯大附属病院口腔病理診断室)
山根 正之	(東京医歯大顎顔面外科)

図 17

しておくが、我が国における口腔癌診療の現状を踏まえ、さらに詳細な検索が望ましい事項については、日本口腔腫瘍学会としての修正案を提唱してきた。口腔癌早期病変についてもその一環として、SIN という新たな診断基準を提言し、その検証を進めてきた。口腔癌を扱う者にとって有用な共通の認識として、本指針がさらに育っていくことを祈念する。

注) 本シンポジウムは 2009 年 1 月 29 日に行われたものであるが、その後「口腔癌取り扱い規約」¹⁸⁾において用語の変更を行った。扁平上皮内腫瘍 squamous intraepithelial neoplasia (SIN) は、口腔上皮内腫瘍 oral intraepithelial neoplasia (OIN) に変更されたが、疾患概念や診断基準の変更はない。なお、本文中の low grade dysplasia については、同規約に口腔上皮性異形成 oral epithelial dysplasia

(OED) として、より明確な定義が示されているので参照されたい。

文 献

- 1) 日本口腔腫瘍学会学術委員会「口腔癌取り扱い指針」ワーキング・グループ編：舌癌取り扱い指針. ワーキング・グループ案 (第1版). 口腔腫瘍 17 : 13-85, 2005.
- 2) 日本口腔腫瘍学会学術委員会「口腔癌取り扱い指針」ワーキング・グループ編：下顎歯肉癌取り扱い指針. ワーキング・グループ案 (第1版). 口腔腫瘍 19 : 37-124, 2007.
- 3) 日本口腔腫瘍学会学術委員会「口腔癌取り扱い指針」ワーキング・グループ編：頬粘膜癌・口底癌取り扱い指針. ワーキング・グループ案 (第1版). 口腔腫瘍 20 : 25-117, 2008.
- 4) 日本口腔腫瘍学会学術委員会「口腔癌取り扱い指針」ワーキング・グループ編：上顎歯肉癌・硬口蓋癌取り扱い指針. ワーキング・グループ案 (第1版). 口腔腫瘍 21 : 71-121, 2009.
- 5) Gale, N., Westra, W., et al.: Epithelial precursor lesions. Barnes, L., Eveson, J.W., et al.: WHO classification of tumours, Pathology and genetics of head and neck tumours, IARC Press, Lyon, 2005, 177-179.
- 6) Wahi, P.N.: International histological classification of tumours No. 4, Histological typing of oral and oropharyngeal tumours, WHO, Geneva, 1971.
- 7) Pindborg, J.J.: Definitions of terms related to oral cancer and precancer.; Oral cancer and precancer. John Wright & Sons Ltd, Bristol, 1980, 12-19.
- 8) Pindborg, J.J., Reichart, P.A., et al.: International histological classification of tumours, 2nd ed., Histological typing of cancer and precancer of oral mucosa. Springer, Berlin Heidelberg New York, 1997.
- 9) 出雲俊之：SIN system：dysplasia 評価法としての一試案. 口腔腫瘍 15 : 82-83, 2003.
- 10) 出雲俊之：舌 dysplasia の予後：募集症例の検討. 口腔腫瘍 16 : 92-93, 2004.
- 11) 栗田 浩, 倉科憲治, 他：口腔粘膜におけるルゴール染色の応用に関する研究—粘膜および病変の染色性および染色機序について. 口腔腫瘍 7 : 319-325, 1995.
- 12) 矢島安朝, 野間弘康, 他：口腔扁平上皮癌周囲にひろがるヨード不染部のテロメアーゼ活性定量と組織学的所見. 日口外誌 47 : 593-599, 2001.
- 13) 幕内博康：食道のヨード不染帯. 胃と腸 29 : 871-873, 1994.
- 14) 滝澤登一郎：食道 dysplasia について. 病理と臨床 20 : 529-533, 2002.
- 15) 栗田 浩：舌粘膜病変の肉眼的指標としてのヨード染色の有用性. 口腔腫瘍 15 : 82, 2003.
- 16) 矢島安朝：舌粘膜ヨード不染域とその病理組織像. 口腔腫瘍 15 : 82, 2003.
- 17) Working Committee of New Histopathological Criteria for Borderline Malignancies of the Oral Mucosa, Japanese Society for Oral Pathology; Oral CIS (JSOP) Catalog: histological variations. Sunashobo Publishing, Co. Ltd., Tokyo, 2007.
- 18) 日本口腔腫瘍学会編：口腔癌取り扱い規約, 第1版, 金原出版, 東京, 2010.
- 19) Kondoh, N., Ohkura, S., et al.: Gene expression signatures that can discriminate oral leukoplakia and squamous cell carcinoma. Oral Oncol 43 : 455-462, 2007.
- 20) Ohkura, S., Kondoh, N., et al.: Differential expression of the keratin-4, -13, -14, -17 and transglutaminase 3 genes during the development of oral squamous cell carcinoma from leukoplakia. Oral Oncol 41 : 607-613, 2005.
- 21) Hitomi, K., Presland, R.B., et al.: Analysis of epidermal-type transglutaminase (transglutaminase 3) in human stratified epithelia and cultured keratinocytes using monoclonal antibodies. J Dermatol Science 32 : 95-103, 2003.
- 22) Aida, J., Izumo, T., et al.: Telomere lengths in the oral epithelia with and without carcinoma. Eur J Cancer 46 : 430-438, 2010.
- 23) 日本頭頸部癌学会編：頭頸部癌取り扱い規約, 第4版, 金原出版, 東京, 2005.