声門癌の喉頭軟骨浸潤に関する免疫病理学的研究

前 田 明 輝

Immunopathological Study of Cartilage Invasion in Laryngeal Glottic Carcinoma

Akiteru Maeda

Utilizing laryngeal tissue removed from glottic-type laryngeal cancer patients, immunohistopathologic evidence of invasion into surrounding cartilage was examined. The 40 subjects of this study were glottic carcinoma patients who had undergone total laryngectomies at the Kurume University Hospital between 1988 and 2002. Laryngeal cartilage invasion was observed in 22 of the 40 subjects. The cause of death by primary disease was observed predominantly in patients with cartilage invasion. Using immunohistochemical techniques, it became evident that the perichondrium of normal laryngeal cartilage was constructed of type 1 and type 3 collagens. In some glottic carcinomas, immunohistochemical positive staining of types 1 and 3 collagenases detected expression of matrix metalloproteinases [MMPs] 1, 3 and 8. These findings suggest the possibility that glottic carcinomas secrete MMP, damage the membranous portion of cartilage and, as a result, facilitate the invasion of cancer cells. Analyses of consecutive sections revealed the distribution of S-100 protein positive (Langerhans) cells. These results also demonstrate that MMP-2 and S-100 positive cells are useful as markers for indicating invasion of glottic carcinomas into laryngeal cartilage.

Key words: 声門癌, 喉頭軟骨, 軟骨膜, matrix metalloproteinase, S-100蛋白

はじめに

喉頭癌の浸潤様式に関する臨床病理学的研究はこれまで様々な角度より、多くの研究がなされてきた。Kirchner¹⁾, Kurita²⁾, 山田³⁾らは、摘出喉頭の連続段階切片を詳細に検討し、とくに喉頭癌の浸潤形式と声帯麻痺の関連を解析・報告した。一方、額川⁴⁾, 森⁵⁾, 松岡⁶⁾らは、浸潤様式の検討結果をもとに、喉頭機能温存術式の可能性について臨床病理学的に検討している。

本研究では、摘出喉頭の大切片を用いて声門癌の浸潤様式の病理学的検討を行い、内喉頭筋浸潤、軟骨破壊、喉頭外進展について検討した。さらに、声門癌が周囲組織へ浸潤し、喉頭の軟骨を破壊して喉頭外へ進展する機序について、喉頭の軟骨破壊に注目した。とくに軟骨破壊を認めた症例と軟骨浸潤のない症例に分類し、癌浸潤のバリアとなるべき軟骨膜に注目して免疫組織学的検討を行った。

コラーゲンは細胞外マトリックスを構築する基本構造に関与しており、線維性コラーゲンであるⅠ～Ⅲ型コラーゲンや基底膜の主成分であるⅣ型コラーゲンなどのサブファミリーが知られている^{7, 8)}。軟骨膜の線維層や移行層にはⅠ型、Ⅲ型コラーゲンが分布することが知られているが^{9, 10)}、喉頭の枠組みを構成する軟骨での分布は十分に解析されていない。一方、生体には間質コラーゲンを分解するコラゲ

ナーゼが幅広く分布しており¹¹⁾、Ⅳ型コラーゲンを分解する酵素であるⅣ型コラゲナーゼは、癌の浸潤や転移に関与することで注目されている。Ⅳ型コラゲナーゼ群として metalloproteinase (MMP)-2 が知られているが、このほかにいくつかの MMP ファミリーが報告され組織構築に様々な役割が考えられている^{7, 8, 11)}。正常喉頭軟骨におけるコラーゲンの分布を確認すると共に、喉頭癌組織におけるコラーゲン分解酵素 (MMP ファミリー) および局所生体反応因子^{12, 13)}としての S-100 蛋白陽性細胞 (Langerhans 細胞) の発現・分布を検討することで、声帯癌の進展に伴う局所の浸潤の機序と生体側の反応について考察する。

対象と方法

I: 摘出喉頭における喉頭癌の浸潤様式についての検討対象 [I]

1988年～2002年に久留米大学付属病院耳鼻咽喉科で喉頭全摘術を行った、術前治療のない声門癌40症例を対象とした。性別は男性38例、女性2例、男女比は19:1、年齢は45歳から83歳であった。TN分類 (UICC1987) は、pT2N0: 4例、pT2N1: 1例、pT3N0: 12例、pT3N1: 1例、pT3N2b: 1例、pT4N0: 20例、pT4N2c: 1例であった (表1)。全例初治療時に遠隔転移は認めなかった。

表1 大切片標本による検討を行った声門癌症例の pTN 分類

	T2	T3	T4	計
N0	4	12	20	36
N1	1	1	0	2
N2b	0	1	0	1
N2c	0	0	1	1
計	5	14	21	40

方法 [I]

手術により摘出された喉頭を10%ホルマリンで24～36時間固定し、5%塩酸で24～36時間脱灰を行った後、厚さ5mmの前額断の連続段階切片に分割した。各分割切片をパラフィン包埋し、8～10 μ mの薄切片を作成して、Hematoxylin-Eosin 染色を行った。標本作製後、光学顕微鏡下に観察し、以下の項目について記録して病期 (T 分類) との関連を検討した。

1) 内喉頭筋浸潤

甲状披裂筋、外側輪状披裂筋、披裂筋、後輪状披裂筋、輪状甲状筋の各内喉頭筋への癌組織の浸潤の有無。

2) 声門上部への進展

喉頭室、仮声帯、披裂部、喉頭蓋への浸潤の有無。

3) 喉頭外進展

輪状甲状間穿破、気管浸潤、甲状舌骨間穿破の有無。

4) 軟骨浸潤

甲状軟骨、輪状軟骨、披裂軟骨への浸潤の有無。

また、喉頭外進展、軟骨浸潤の症例については、予後 (原病死) との関係についても検討した。

II: 喉頭軟骨膜におけるコラーゲンの発現

対象 [II]

喉頭には病変はないが、難治の嚥下障害に対する治療として喉頭全摘出術を行った、46歳男性 (進行性筋萎縮性側索硬化症) の喉頭を用いて甲状軟骨を切り出し、軟骨膜におけるコラーゲンの発現を検討して、喉頭癌症例と比較検討した。

方法 [II]

喉頭全摘後の正常喉頭を固定・脱灰後、甲状軟骨を含む切片を分割して切り出して包埋後、約5 μ m薄切片を作成した。抗I型コラーゲン抗体、抗III型コラーゲン抗体 (第一ファインケミカル社) を一次抗体として、免疫組織染色を以下の如く行った。免疫組織細胞化学染色用試薬はダコLSAB2キット/HRP (ダコ・サイトメーション社) を使用して下記のように行った。まずパラフィン包埋薄切片を脱キシレン (5分ずつ3回)、脱エタノール (100%エタノール3分ずつ2回、95%、80%、70%、50%エタノール3分を1回ずつ) 後、蒸留水 (3分ずつ2回)、トリス塩酸緩衝液 (3分を1回) で洗滌した。ブロッキング試薬を滴下して5分間常温で反応させた後トリス塩酸緩衝液で

表2 免疫染色による検討を行った声門癌症例の pTN 分類

	T3	T4	計
N0	6	12	18
N1	1	0	1
N2b	1	0	1
計	8	12	20

洗滌し、一次抗体を4℃で24時間反応させた。反応終了後二次抗体を10分間常温で反応させてトリス塩酸緩衝液で洗滌し、DAB酵素試薬を10分間常温で反応させて発色し、Hematoxylin で核染色して封入した。

III: 喉頭癌における MMP の発現と S-100 蛋白陽性細胞の分布

対象 [III]

研究Iで対象とした40症例の中で、標本の保存状態が良好で再切り出しによっても免疫染色を行うことが可能であった20症例を対象に検討した。TN 分類 (UICC1987) では、pT3N0:6例、pT3N1:1例、pT3N2b:1例、pT4N0:12例であった (表2)。

方法 [III]

研究Iに沿って癌浸潤様式を判定した後、甲状軟骨部分を含めてパラフィンブロックを切り出し、再包埋した。検索対象の標本から約5 μ mの薄切連続切片を作成した。これらの切片を対象に方法 [II] と同様の手技で、I型、III型コラーゲンの分解酵素である抗MMP-1抗体、抗MMP-8抗体、抗MMP-3抗体、抗MMP-2抗体 (富士薬品工業) を一次抗体として免疫染色を施行し、1) 軟骨浸潤、2) 喉頭外進展との関係を調べた。MMPファミリーの染色結果の判定基準は、全視野でMMPの発現が癌細胞の30%以上認めたものを陽性、30%未満のものを陰性とした。

また連続切片を対象に抗S-100抗体 (ダコ・サイトメーション社) を一次抗体として免疫染色を行い、S-100蛋白陽性細胞 (Langerhans 細胞) の分布を観察した。S-100蛋白陽性細胞分布の評価は10視野で50個以上の陽性細胞を認めたものを陽性、それ以下のものを陰性と判定した¹⁴⁾。

結 果

[I] 喉頭癌の浸潤様式

図1に各内喉頭筋浸潤の例として、外側輪状披裂筋浸潤 (a)、披裂筋浸潤 (b)、後輪状披裂筋浸潤 (c)、甲状披裂筋浸潤 (d)、輪状甲状筋浸潤 (e) の例を提示した。

1) 内喉頭筋浸潤 (図1)

摘出喉頭における病理組織学的検索の結果、検索対象40例の中で、内喉頭筋浸潤としては甲状披裂筋浸潤が38例 (95%)、外側輪状披裂筋浸潤が21例 (53%)、輪状甲状筋浸潤が8例 (20%)、披裂筋浸潤が10例 (25%)、後輪状披

図1 内喉頭筋浸潤像 (HE 染色)
(T: 甲状軟骨, A: 披裂軟骨, C: 輪状軟骨)
a. 外側輪状披裂筋浸潤
b. 披裂筋浸潤
c. 後輪状披裂筋浸潤
d. 甲状披裂筋浸潤
e. 輪状甲状筋浸潤

裂筋浸潤が3例(8%)に認められた。40例中38例(95%)ではいずれかの内喉頭筋に浸潤があり、内喉頭筋浸潤のないのは、T2の2例(5%)のみであった。T別の内喉頭筋浸潤の頻度を表3にまとめた。甲状披裂筋浸潤がT2は3例、T3は14例、T4は21例で、内喉頭筋浸潤の全例に認めた。外側輪状披裂筋浸潤ではT3は7例、T4は14例の計21例(53%)、輪状甲状筋浸潤ではT3は1例、T4は7例の計8例(20%)、披裂筋浸潤ではT3は1例、T4は9例の計10例(25%)、後輪状披裂筋浸潤はT4の3例(8%)に認められた(表3)。

2) 声門上部への進展頻度と浸潤部位

声門上部への進展は喉頭室浸潤が40例中20例(50%)、仮声帯浸潤が40例中8例(20%)、披裂部浸潤が40例中2例(5%)、喉頭蓋浸潤が40例中7例(18%)に認められた。いずれかの声門上部に浸潤あるものが40例中37例(93%)であり、声門上部進展のないものは、3例(8%)であっ

表3 内喉頭筋浸潤の頻度

	T2	T3	T4	計
内喉頭筋浸潤 (-)	2	0	0	2 [5%]
内喉頭筋浸潤 (+)	3	14	21	38 [95%]
甲状披裂筋	3	14	21	38 (95%)
外側輪状披裂筋	0	7	14	21 (53%)
披裂筋	0	1	9	10 (25%)
輪状甲状筋	0	1	7	8 (20%)
後輪状披裂筋	0	0	3	3 (8%)

た。声門上進展例をT別に検討するとは喉頭室浸潤がT2は2例、T3は10例、T4は8例の計20例(50%)、仮声帯浸潤がT2は0例、T3は1例、T4は7例の計8例(20%)、披裂部浸潤がT3は1例、T4は1例の計2例(5%)、喉

表4 声門上部への進展頻度と浸潤部位

	T2	T3	T4	計
声門上部進展 (－)	0	2	1	3 [7%]
声門上部進展 (+)	5	12	20	37 [93%]
喉頭室浸潤	2	10	8	20 (50%)
仮声帯浸潤	0	1	7	8 (20%)
披裂部浸潤	0	1	1	2 (5%)
喉頭蓋浸潤	3	0	4	7 (18%)

表5 喉頭外への進展頻度と浸潤部位

	T2	T3	T4	計
喉頭外進展 (－)	5	14	10	29 [72%]
喉頭外進展 (+)	0	0	11	11 [28%]
輪状甲状間穿破	0	0	10	10 (25%)
気管浸潤	0	0	1	1 (3%)
甲状舌骨間穿破	0	0	1	1 (3%)

図2 喉頭外進展像 (HE 染色)
(T: 甲状軟骨, O: 舌骨, C: 輪状軟骨)
a. 甲状舌骨間穿破
b. 輪状甲状間穿破
c. 気管浸潤

頭蓋浸潤が T2 は 3 例, T4 は 4 例の計 7 例 (18%) に認められた (表 4)。

3) 喉頭外進展 (図 2)

喉頭外浸潤例の病理大切片 HE 像を図 2 に示す。喉頭外浸潤は輪状甲状間穿破が 40 例中 10 例, 気管浸潤が 40 例中 1 例, 甲状舌骨間穿破が 40 例中 1 例に認められた。いずれかの喉頭外浸潤があるものが 40 例中 11 例 (28%) であり, 喉頭外浸潤のないものでは, 40 例中 29 例 (73%) であった。T 別では輪状甲状間穿破が T4 の 10 例 (25%), 気管浸潤が T4 の 1 例 (3%), 甲状舌骨間穿破が T4 の 1 例 (3%) に認められた (表 5)。

4) 軟骨浸潤 (図 3)

軟骨浸潤は甲状軟骨浸潤が 40 例中 21 例 (53%), 輪状軟骨浸潤が 40 例中 6 例 (15%), 披裂軟骨浸潤が 40 例中 9 例 (23%) に認められ, いずれかの軟骨に浸潤のあるものが 40 例中 22 例 (55%) であり, 軟骨浸潤のないものでは, 40 例中 18 例 (45%) であった。T 別では甲状軟骨浸潤が T4

は 21 例 (52%), 輪状軟骨浸潤が T4 は 6 例 (15%), 披裂軟骨浸潤が T3 は 1 例, T4 は 8 例, 計 9 例 (23%) に認められた (表 6)。

5) 軟骨浸潤と予後

40 例中 8 例が原病死していたが, その内訳はリンパ節死が 2 例, 遠隔転移死は 6 例 (肺転移 5 例, 肝転移 1 例) であった。この原病死した 8 例中 6 例 (75%) に軟骨浸潤を認め, 軟骨浸潤を認めなかった 2 例は, 1 例が T3N1 症例で stomal recurrence によるリンパ節死, もう 1 例が T2N0 症例で肝転移死であった。

結果 [Ⅱ] 正常喉頭軟骨膜におけるコラーゲンの発現

正常喉頭を用いた免疫組織染色では, 軟骨膜の最も表層にある線維層とその内側の移行層に I 型, III 型コラーゲンの豊富な分布を認めた。一方, 軟骨層には I 型, III 型コラーゲンの分布は認めなかった (図 4)。

図3 軟骨浸潤像 (HE 染色)
(T: 甲状軟骨, A: 披裂軟骨, C: 輪状軟骨)
a. 甲状軟骨浸潤
b. 輪状軟骨浸潤
c. 披裂軟骨浸潤

表6 軟骨浸潤の頻度

	T2	T3	T4	計
軟骨浸潤 (-)	5	13	0	18 [45%]
軟骨浸潤 (+)	0	1	21	22 [55%]
甲状軟骨	0	0	21	21 (53%)
輪状軟骨	0	0	6	6 (15%)
披裂軟骨	0	1	8	9 (23%)

結果 [Ⅲ] 喉頭癌軟骨膜におけるコラーゲンの発現と S-100蛋白陽性細胞の分布

喉頭癌摘出標本の中で免疫組織学的検索が可能であった例での各 MMP 抗体での陽性像を図5に示す. MMP-1 (図5a) は20例中16例 (80%), MMP-2 (図5b) は20例中4例 (20%), MMP-3 (図5c) は20例中6例 (30%), MMP-8 (図5d) は20例中7例 (35%) で発現が観察された.

1) MMP の発現と軟骨浸潤の関係

MMP-1 陽性16例中10例 (63%), MMP-2 陽性4例中4

表7 軟骨浸潤と MMP の発現

	MMP-1		MMP-2		MMP-3		MMP-8		計
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	
軟骨浸潤あり	10	3	4	9	4	9	5	8	13
軟骨浸潤なし	6	1	0	7	2	5	2	5	7
計	16	4	4	16	6	14	7	13	20

表8 喉頭外進展と MMP の発現

	MMP-1		MMP-2		MMP-3		MMP-8		計
	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	
喉頭外進展あり	6	1	3	4	3	4	4	3	7
喉頭外進展なし	10	3	1	12	3	10	3	10	13
計	16	4	4	16	6	14	7	13	20

図4 免疫組織学的検索

- a. I型コラーゲン：正常喉頭軟骨膜の線維層，移行層にI型コラーゲンの分布を認める。
 b. III型コラーゲン：正常喉頭軟骨膜の線維層，移行層にIII型コラーゲンの分布を認める。

図5 喉頭癌組織における MMP の発現

- a. MMP-1 b. MMP-2 c. MMP-3 d. MMP-8

それぞれの MMP が癌細胞の細胞質に発現している。

例（100%），MMP-3 陽性 6 例中 4 例（67%）および MMP-8 陽性 7 例中 5 例（71%）に軟骨浸潤を認めたが，いずれも有意差は認めなかった（表 7）。

2) MMP の発現と喉頭外進展の関係

MMP-1 陽性 16 例中 6 例（38%），MMP-2 陽性 4 例中 3 例（75%），MMP-3 陽性 6 例中 3 例（50%）および MMP-8 陽性 7 例中 4 例（57%）に喉頭外進展を認めたが，いずれも有意差は認めなかった（表 8）。

3) S-100 蛋白陽性細胞の分布と軟骨および喉頭外進展

S-100 蛋白陽性細胞（Langerhans 細胞）は樹状突起をもつ細胞として観察された（図 6）。10 視野中に 50 個以上の S-100 蛋白陽性細胞の分布する陽性例は，軟骨浸潤陽性 13 例中 6 例（46%），軟骨浸潤陰性 7 例中 5 例（71%）であった。一方，喉頭外進展陽性例では 5 例中 2 例（40%）および喉頭外進展陰性 15 例中 9 例（60%）に S-100 蛋白陽性を認めた。しかしいずれの浸潤様式においても S-

図6 喉頭癌組織における，S-100蛋白陽性細胞（Langerhans細胞）の分布
癌組織内に樹状突起をもつS-100蛋白陽性細胞が観察された。

表9 軟骨浸潤，喉頭外進展とS-100蛋白陽性群との関係

	S-100蛋白 陽性群	S-100蛋白 陰性群	計
軟骨浸潤 あり	6	7	13
なし	5	2	7
喉頭外進展あり	2	3	5
なし	9	6	15
計	11	9	20

100蛋白陽性細胞の有無との間に有意差は認めなかった（表9）。

考 察

摘出喉頭を用いた段階的大切片標本による喉頭進展様式に関する研究はこれまでも報告されてきた。森は喉頭癌T2以上の摘出喉頭22例を対象に検討し、15例（62.5%）に内喉頭筋浸潤を認めたと述べている⁵⁾。その中でも甲状披裂筋浸潤が10例（41.7%）と頻度が最も高く、以下、外側輪状披裂筋浸潤3例（12.5%）、輪状甲状披裂筋浸潤3例（12.5%）で、披裂筋、後輪状披裂筋浸潤はそれぞれ1例（4.2%）の順に浸潤が認められた。一方、松岡⁶⁾は内喉頭筋浸潤を90%に認め、中でも甲状披裂筋浸潤が90%と頻度が最も高く、以下、外側輪状披裂筋浸潤は58%、輪状甲状筋浸潤48%、披裂筋浸潤28%に認め、後輪状披裂筋浸潤8%に認めたことを報告している。今回の検討でも、内喉頭筋浸潤は、甲状披裂筋（内側）、外側輪状披裂筋（外側）、後輪状披裂筋（後方）の順で多く認められた。

声門上部への進展について、松岡⁶⁾が声門上部への進展は63%に認め、喉頭室浸潤が58%と最も高く、次いで仮声帯浸潤53%、披裂部浸潤28%、喉頭蓋浸潤18%の順に認めたことを報告しているのに対し、穎川⁴⁾は25%、森⁵⁾は16.7%に声門上部への進展を認め、ともにその全てが仮声帯浸潤であったことを報告している。森⁵⁾は喉頭室の構造が癌の声門上部への進展に際しバリアとなり、また仮声帯、

喉頭蓋喉頭面浸潤は前交連を介して進展するが、頻度は少ないとしている。今回の検討では喉頭室、仮声帯浸潤の割合が高く、病理組織学的に声門上部へ進展している殆どがparaglottic spaceを介して癌が上下に進展していると考えられ、声門癌が脈管の豊富なparaglottic spaceに浸潤した後に容易に上下方向に進展する^{2, 4-6)}ことが示唆された。

喉頭外浸潤について、山田³⁾は16.7%に、森⁵⁾は3.4%に認めており、全例で輪状甲状間穿破であったことを報告している。松岡⁶⁾は35%に認め、うち輪状甲状間穿破が最も頻度が高く30%に認めたことを報告している。今回の検討でも、輪状甲状間穿破が最も頻度が高く、松岡⁶⁾と同様の結果であった。輪状甲状間穿破のルートとしては前交連腱から直接甲状軟骨に浸潤し、そこより下方進展するルート、軟骨の化骨部から進展するルート、paraglottic spaceを下方に進展し、後外側から進展するルート^{2, 4, 6)}がいわれており、今回検討の病理切片でも軟骨の化骨部からの喉頭外進展も多く、化骨部の新生血管から軟骨、そして喉頭外へ進展することが考えられた。

軟骨浸潤については、松岡⁶⁾は68%に認め、甲状軟骨が55%、輪状軟骨が35%に、披裂軟骨が45%であったと報告している。また症例の進行度は異なるが、甲状軟骨浸潤の頻度は、Kirchner¹⁾は20%、諸家の報告^{4, 6)}では0～40%で、輪状軟骨浸潤の頻度は8～20%と報告されている。今回の検討でも、軟骨浸潤は55%に認められ、甲状軟骨が52%、輪状軟骨が15%、披裂軟骨は23%であった。軟骨浸潤の部位及び浸潤様式については、Kirchner¹⁾、Kurita²⁾、平岡¹⁴⁾、竹田¹⁵⁾らは軟骨浸潤の好発部位は甲状軟骨下端、輪状軟骨上端であり、軟骨の骨化部に一致すると報告している。さらにKirchner¹⁾、Kurita²⁾、竹田¹⁵⁾らは、前交連より直接、甲状軟骨へ浸潤する様式があることを報告している。甲状軟骨下縁部及び輪状軟骨上縁部で癌が浸潤しやすい理由は、1. 喉頭の骨化は甲状軟骨では下方から上方へ進み、輪状軟骨では後上方から前下方へ進むこと、2. この骨化部に一致して、新生血管が軟骨内に入っているため、3. またこの部は完全な軟骨膜を欠き、軟骨膜からの膠原線維が直接軟骨内に入っているためと言われている^{1, 2, 14, 15)}。前交連部で甲状軟骨への浸潤をきたすのは、前交連部には前交連腱があり、これがリンパ管や血管を含む線維組織の帯であり、またこの部で軟骨膜を欠き、前交連腱の膠原線維が直接軟骨内に入っているため、これに沿って癌が軟骨へ浸潤すると考えられている^{1, 2)}。今回の検討では、前交連腱部の観察はできなかったが、全例軟骨膜を欠く部位からの軟骨浸潤で過去の報告と一致していた。

本研究で、著者はこれまで述べた喉頭癌の周囲組織への浸潤は、癌組織の増殖に伴う機械的な刺激だけでなく、癌細胞そのものが有する浸潤増殖能にも起因するのではないかと考察し、特に喉頭の枠組みをなす喉頭軟骨膜に注目した。軟骨膜について石川ら⁹⁾は、ウサギの耳介軟骨膜を外層の線維層、内層の移行層の2層に分類し、大木本ら¹⁰⁾

は、気管軟骨膜の線維層、移行層にⅠ型、Ⅲ型コラーゲンの豊富な分布を報告している。今回の検討ではまず正常喉頭の甲状軟骨の軟骨膜のコラーゲンの分布を調べ、軟骨膜の線維層、移行層にⅠ型、Ⅲ型コラーゲンの分布を観察したが、基底膜の主成分とされるⅣ型コラーゲンは認められなかった。癌の浸潤にはマトリックスメタロプロテアーゼ (MMP) などの基質分解酵素による細胞外マトリックスの分解と細胞外マトリックスを足場とした細胞の運動が必要であるといわれている⁷⁾。癌細胞がⅠ型、Ⅲ型コラーゲンの分解酵素である MMP-1 (組織コラーゲナーゼ) と MMP-8 (好中球コラーゲナーゼ)、Ⅲ型コラーゲンの分解能を持つ MMP-3 (ストロムライシン-1) を分泌するとすれば、生体側に喉頭の軟骨に骨化が生じなくとも、癌細胞が直接に軟骨膜を破壊し浸潤する能力があると考えた¹⁶⁾。今回の検討では MMP の免疫染色陽性例と軟骨破壊症例との間に有意差は認められなかったが、声門癌の癌細胞は MMP-1, MMP-3, MMP-8 を分泌しており、癌細胞が軟骨膜を破壊し浸潤する可能性が示唆された。一方、癌の浸潤、転移との関係があるとされているⅣ型コラーゲナーゼ群の MMP-2 において Miyajima¹⁷⁾ は下咽頭扁平上皮癌の予後について、河田ら¹⁸⁾ は頭頸部扁平上皮癌の頸部リンパ節転移との相関性について報告している。今回の検討で MMP-2 陽性例 100% に軟骨浸潤を、75% に喉頭外進展を認めたことより MMP-2 が声門癌においても悪性度の指標となる可能性が示唆された。

声門癌の進展にともなう喉頭軟骨破壊には、軟骨膜を破壊し直接軟骨に浸潤する経路と、軟骨の骨化部分を経由して浸潤し軟骨を破壊する 2 つのルートがあると考えられる。今回の検討では軟骨膜を破壊し直接軟骨に浸潤する経路を中心に検討をしたが、声門癌の癌細胞の MMP の分泌と軟骨破壊に明らかな相関は認められなかった。これは癌が軟骨の骨化部分を経由して浸潤し軟骨を破壊する症例も多く、癌細胞が獲得した性質のみではなく、軟骨の骨化という生体側の要素が大きいことを示している。しかし、癌細胞が MMP-1, MMP-3, MMP-8 の分泌能を有するようになることは、骨化部がなくとも軟骨膜・軟骨を破壊し喉頭外に浸潤する能力を示すものである。

S-100 蛋白陽性細胞 (Langerhans 細胞) は T-histiocyte とも呼ばれ、その発現は癌細胞浸潤に対する局所での T リンパ球浸潤・細胞性免疫の指標と考えられている^{12, 13)}。また悪性腫瘍において局所に分布する Langerhans 細胞は、宿主免疫機能の局所での活性を測る因子として注目されており¹⁹⁻²¹⁾、頭頸部癌でも喉頭癌¹³⁾ や上咽頭癌²²⁾ において S-100 蛋白陽性細胞の分布と予後との有意な関連を報告している。Nakashima らは喉頭癌の原発巣で S-100 蛋白陽性細胞の減少した例には遠隔転移症例が多かったと報告し、S-100 蛋白陽性細胞が予後と密接な関連を有すると述べている¹³⁾。今回の検討で、軟骨浸潤陰性例の 71%、喉頭外進展陰性例の 60% が S-100 蛋白陽性例であったことより、S-100 蛋白陽性の Langerhans 細胞による局所免疫反

応は喉頭癌の軟骨浸潤、喉頭外進展防止にも関与する可能性が示唆された。

ま と め

1. 声門癌 40 例の摘出喉頭から作成した大切片を病理組織学的に検討し、22 例に軟骨浸潤を認め、軟骨浸潤例に原病死を多く認めた。
2. 喉頭の軟骨膜はⅠ型、Ⅲ型コラーゲンで構成されていた。
3. 声門癌の癌細胞はⅠ型、Ⅲ型コラーゲンの分解酵素である MMP-1, MMP-3, MMP-8 を分泌し、癌細胞が軟骨膜を破壊し浸潤する可能性が示唆された。
4. MMP-2 と S-100 蛋白陽性 Langerhans 細胞は、声門癌の浸潤の指標となる可能性が示唆された。

稿を終るに臨み、終始御懇篤な御指導ならびに御校閲を賜った恩師中島 格教授に深甚なる謝意を捧げます。また、本研究に際して終始御指導、御協力を頂いた耳鼻咽喉科・頭頸部外科学講座宮嶋義巳講師、教室員各位に心から感謝します。

本研究の一部は、第 18 回日耳鼻九州連合地方部会学術講演会 (2003 年 7 月 19, 20 日, 霧島)、第 105 回日本耳鼻咽喉科学会 (2004 年 5 月 13, 14, 15 日, 広島)、第 57 回日本気管食道科学会 (2005 年 11 月 17, 18 日, 京都) で発表した。

文 献

- 1) Kirchner JA: One hundred laryngeal cancers studied by serial section. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 78: 689~709, 1969.
- 2) Kurita S, Hirano M, Matsuoka H, et al: A histopathological study of carcinoma of the larynx. *Auris Nausua Larynx* 12: 172~177, 1985.
- 3) 山田篤伸: 段階的連続大切片標本による喉頭癌の臨床病理組織学的研究. *耳鼻* 26: 375~392, 1980.
- 4) 頰川一信: 喉頭癌の大切片組織標本による進展形式の検討とその治療成績. *耳展* 30: 129~153, 1987.
- 5) 森 茂樹: 喉頭癌の段階的大切片標本による病理組織学的研究. *藤田医会誌* 8 増: 99~138, 1989.
- 6) 松岡秀隆: 大切片標本による声門癌の病理組織学的研究. *耳鼻* 34: 890~906, 1988.
- 7) 妻木範行, 木村友厚: コラーゲンの構造と機能. 細胞外マトリックス (坂倉照好編), 26~38, メディカルサイエンス, 羊土社, 東京, 1995.
- 8) Liotta LA, Tryggvason K, Garbisa S, et al: Metastatic potential correlates with enzymatic degradation of basement membrane collagen. *Nature* 284: 67~68, 1980.
- 9) 石川浩三, 一色信彦: 軟骨膜の軟骨形成能に関する研究. *日形会誌* 8: 419~434, 1988.
- 10) 大木本和也, 毛利光宏, 天津陸郎ほか: 気管外膜,

軟骨膜および輪状靱帯の組織学的研究—正常構造の検討—。日耳鼻 100:1394~1400, 1997.

- 11) 松浦成昭, 加藤玲子: 癌の浸潤, 転移と細胞外マトリックス, (坂倉照好編) 160~170, メディカルサイエンス, 羊土社, 東京, 1995.
- 12) Furukawa T, Watanabe S, Kodama T, et al: T-zone histiocytes in adenocarcinoma of the lung in relation to post-operative prognosis. Cancer 56: 2651~2656, 1985.
- 13) Nakashima T, Yano G, Hayashi I, et al: Epithelial membrane antigen and S-100 protein-labeled cells in primary and metastatic laryngeal carcinomas. Head and neck 14: 445~451, 1992.
- 14) 平岡尚三: 喉頭癌における喉頭硝子軟骨の破壊について. 耳鼻 3: 17~40, 1957.
- 15) 竹田千里: 喉頭癌の発育と進展. 耳喉 30: 322~329, 1958.
- 16) 岡田保典: 癌転移に関連する MMPs の産生細胞と細胞外マトリックス構成分子. 日本臨床 53: 1558~1561, 1995.
- 17) Miyajima Y, Nakano R, Morimatsu M: Analysis of expression of matrix metalloproteinases-2

and -9 in hypopharyngeal squamous cell carcinoma by in situ hybridization. Ann Otol Rhinol Laryngol 104: 678~684, 1995.

- 18) 河田 了, 四ノ宮隆, 安田範夫ほか: 頭頸部扁平上皮癌組織の Matrix metalloproteinase (MMP)-2 濃度とその臨床的意義. 日耳鼻 99: 299~305, 1995.
- 19) 石田春彦, 岩江信法, 天津睦郎: ヒト喉頭粘膜の抗原提示細胞について. 日気食会報 48: 216~220, 1997.
- 20) 星野 光, 小林身哉: ランゲルハンス細胞と免疫. 細胞 12: 16~24, 1980.
- 21) Choi KL, Sauder DN: The role of Langerhans cells and keratinocytes in epidermal immunity. J Leukoc Biol 39: 343~350, 1986.
- 22) Lauriola L, Michetti F, Sentinelli S, et al: Detection of S-100 labeled cells in nasopharyngeal carcinoma. J Clin Pathol 37: 1235~1238, 1984.

別刷請求先 〒830-0011 福岡県久留米市旭町67

久留米市医学部耳鼻咽喉科・

頭頸部外科学講座 前田明輝

Tel 0942-31-7575 Fax 0942-37-1200