

細胞間接着因子 (E-カドヘリン) の発現からみた 食道癌リンパ節転移のメカニズム

大阪大学第2外科

塩崎 均 宮田 幹世 小林 研二 田原 秀晃
田村 茂行 矢野 浩司 岡 博史 土岐祐一郎
飯原 啓介 森 武貞

京都大学理学部生物物理学教室

平野 伸二 竹市 雅俊

癌のリンパ節転移の過程には、癌細胞間の解離接着が重要な役割を担っている。この細胞間接着因子の1つであるE型カドヘリンの発現性から食道癌のリンパ節転移について検討した。対象は食道癌切除例35例で、抗ヒトE型カドヘリンモノクローナル抗体(HECD-1)を使用し、免疫組織染色を行った。癌巣での染色パターンをpositive(全体がほぼ均一に染色される)、negative(染色されない)mixed(両者が混在)の3者に、染色強度を強いもの(A群)、弱いもの(B群)に分類した。深達がsm層までの7例中ではpositiveが3例、negativeが1例みられたが、pm以上では全例mixedを示し、リンパ節転移症例もすべてmixedであった。一方、リンパ管内(ly)の癌巣はpositiveが大多数を占め、A群に転移リンパ節の個数が多かった。以上から、癌巣がmixedで解離しやすい状態から、リンパ管内では接着性を十分保った腫瘍塊を形成し、遠隔リンパ節に転移着床することが示唆された。

Key words: lymphnode metastasis of esophageal cancer, E-cadherin

はじめに

癌の転移過程を考えると、まず癌細胞が周辺組織に浸潤し、リンパ管や血管に侵入する。次いで癌細胞が解離し流れに乗って遠隔の臓器に到達し、そこで生着・増殖する。以上のような一連の過程を経て癌の転移は成立する。今回は細胞間接着因子(E-カドヘリン)に注目し、癌細胞の解離・生着の面から食道癌のリンパ節転移につき検討した。

I. 対象と方法

対象は術前無治療のヒト食道扁平上皮癌35例で、うち20例に関してはリンパ節転移巣についても検討した。方法は新鮮手術摘出標本をドライアイスアセトンにて迅速凍結させ、クライオスタットにて4 μ mに薄切し、バラホルムアルデヒドで固定した。次いで0.3%過

酸化水素加メタノールで内因性ブロックをかけ、抗ヒトE型カドヘリンモノクローナル抗体(HECD-1)を1次抗体とし、酵素抗体法(ABC法)にて免疫組織染色を行った。癌組織中でのカドヘリンの発現性は、非癌部食道上皮の染色性を対象として判定した。

II. 結果

1. 免疫組織染色における染色性

1) 正常食道

ヒト正常食道におけるE-カドヘリンは、基底層から有棘層にかけて強く、角質層では弱く発現していた。またその発現は、隣接する細胞と細胞の間に局限していた(Fig. 1)。

2) 異型上皮

異型上皮では、食道上皮全層にE-カドヘリンの発現がみられ、正常上皮とは異なる染色性を示した。

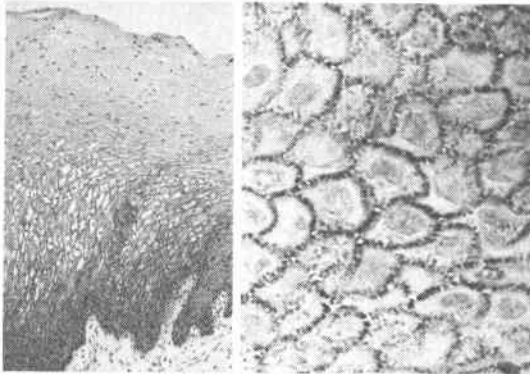
3) 癌巣

癌巣でのE-カドヘリンの染色強度は正常上皮の基底層から有棘層にみられるように強く染色されるもの(A群)から、減弱しているか全く染色されないもの(B

*第36回日消外会総会シンポジウム・消化器癌転移のメカニズム

<1990年10月11日受理>別刷請求先: 塩崎 均
〒553 大阪市福島区福島1-1-50 大阪大学医学部第2外科

Fig. 1 Immunohistochemical E-cadherin expression of normal esophageal mucosa. High power view on right side reveals that E-cadherin molecules are expressed on cell-cell boundaries.



群)まで存在した。また、染色パターンは全癌巣が広範、均一に染まる positive type, 全く染まらない negative type, 染まる部分と染まらない部分が混在する mixed type (Fig. 2) の3種類に分類された。

4) リンパ管侵襲 (ly)

原発巣近傍のリンパ管内に浸潤した癌巣ではE-カドヘリンの染色性は強く保たれ、しかも均一に染色される positive type が大部分を占めた。ごくまれに一部にE-カドヘリンの発現が減弱している mixed type のものも認められた。リンパ節近傍の節外リンパ管内転移巣におけるE-カドヘリンの発現も原発巣近傍で認められたものと全く同じ所見を呈していた。

5) リンパ節転移巣

採取された20例の転移リンパ節の転移巣におけるE-カドヘリンの発現は、全例が、染色される部分とされない部分が混在する mixed type を呈しており、原発巣もまたすべて mixed type であった。

2. E-カドヘリンの発現性と病理組織学的所見

症例は、34歳から79歳の男性34例、女性1例の合計35例である。リンパ節転移を認めた症例は27例であり、転移の認められなかったものは8例にすぎなかった。原発巣におけるE-カドヘリンの発現パターンとリンパ節転移の関係をみると、転移症例27例全例が mixed type であったのに対し、非転移例は positive type が3例、negative type が1例、mixed type が4例であった。組織型はすべて扁平上皮癌であり、分化度別では、高分化型扁平上皮癌7例、中分化型17例、低分化型11例であったが、分化度・組織型とカドヘリンの発現性

Fig. 2 Mixed type E-cadherin expression of esophageal cancer. The tumor cells in upper half were strongly stained, but the tumor cells in lower half were weakly stained.

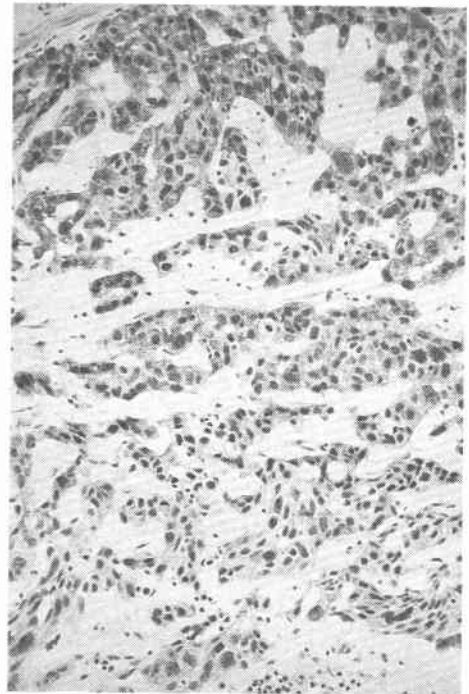


Table 1 Pattern of E-cadherin expression and depth of tumor invasion

	ep	sm	mp	a
Positive	1 (1)	2 (2)		
Negative	—	1 (1)		
Mixed	—	3 (2)	9 (1)	19 (1)

() : number of patients with no lymph node metastasis

ep : intraepithelium

sm : invade submucosa

mp : invade muscularis propria

a : invade adventitia

の間には一定の傾向はみとめられなかった。深達度との関係についてみると、positive type 3例と negative type を示した1症例は、全て深達度が sm までの症例であり、mp 層以上の症例はすべて mixed type であった (Table 1)。

3. E-カドヘリンの発現強度と転移リンパ節個数

E-カドヘリンの発現強度を前述のごとく、正常食道上皮と同様に強く発現する A 群と減弱しているかあ

Table 2 Correlation between intensity of E-cadherin expression of tumor and number of lymph node metastasis of the patient

Expression	0 ≤ n ≤ 5	6 ≤ n
A	6 (55%)	12 (80%)
B	5 (45%)	3 (20%)

n : number of lymph node metastasis

A : tumor with strong E-cadherin expression

B : tumor with faint E-cadherin expression

Table 3 Intensity of E-cadherin expression of primary and metastatic lesion

Patient	Age	Sex	Primary lesion	Lymphatic vessel	Lymph node metastasis
1	62	M	A	A	A
2	51	M	A	A	A
3	49	M	A	A	A
4	67	M	A	A	A
5	67	M	A	—	A
6	62	M	A	—	A
7	56	M	A	—	A
8	72	M	A	—	A
9	55	M	B	A	A
10	52	M	B	B	A
11	54	M	B	A	B
12	48	M	B	B	B
13	73	M	B	B	B
14	64	M	B	B	B
15	79	M	B	—	B
16	65	M	B	—	B
17	44	M	B	—	B
18	59	M	B	—	B
19	64	M	B	—	B
20	79	M	B	—	B

A : strong expression

B : faint expression

るいは発現していないB群に分類した。リンパ節転移症例で深達度がmp以上の症例について、転移リンパ節の個数との関係を見ると、転移個数が5個以内の症例では、原発巣におけるカドヘリンの発現強度がA群6例(55%)B群5例(45%)であったのに対し、6個以上ではA群12例(80%)B群3例(20%)であり、染色強度の強いA群に転移個数が多い傾向がみられた(Table 2)。

4. 原発巣・リンパ管浸潤部・リンパ節転移巣におけるE-カドヘリンの発現強度

リンパ節転移を認めた20例におけるE-カドヘリン

の発現強度を原発巣・リンパ管浸潤部・リンパ節転移巣につき検討した。原発巣がA群の8例は、全例リンパ管浸潤部・リンパ節転移巣もA群であったのに対し原発巣がB群であった12例では、リンパ管浸潤部・リンパ節転移巣のおおの2例にA群が認められた(Table 3)。

III. 考 察

癌の転移メカニズムを究明することは、癌を取扱う研究者にとっては、大きな課題であるとともに夢である。近年、この方面の幾多の新しい研究が報告されている。従来、Fidler¹⁾やNicolson²⁾の癌細胞の着床に関する研究から始まり、次いで癌細胞の浸潤に関する研究がintegrin familyに代表される基底膜や間質の構成成分³⁾へと進んできた。今回検討したカドヘリンは、細胞膜に存在する分子量約120,000のカルシウム依存性の細胞間接着分子の1つで、E型(上皮型)・N型(神経型)・P型(胎盤型)などのサブセットからなり、カルシウムの存在下では各種のプロテアーゼに対しても抵抗性を示す特有な性質を有する³⁾。E-カドヘリンは正常上皮細胞に存在し細胞間の接着・解離に重要な役割を演じている⁴⁾⁵⁾。使用した抗ヒトE型カドヘリンモノクローナル抗体(HECD-1)は、竹市ら⁶⁾により作成されたものである。癌細胞の接着・解離は従来研究の糸口がつかめず手がつけられていなかったが癌の転移を考える上で欠くことのできない一過程である。食道上皮では、正常上皮においては基底層から有棘層にかけて細胞間に強く発現し細胞接着の役割を果たしている。異型上皮・上皮内癌では全層にわたり強く均一に発現するが、浸潤がsm層に及ぶと、その発現は多彩となる。すなわち、E-カドヘリンの発現は、強い部分と弱い部分が混在する、mixed typeを呈するようになり、mp層以上では全例mixed typeとなる。このことは、癌細胞の解離を考えると好都合のようである。E-カドヘリンの発現の弱い部分は細胞間の接着が弱く、その部分で細胞は解離し遠隔へと転移することができるのである。また、脈管内に侵入する場合も自由自在に形態を変えることができ便利である。ところが原発巣の近辺や、転移リンパ節近傍のリンパ管内に浸潤した癌細胞におけるE-カドヘリンの発現をみると、全体が均一に染色されており、原発巣でみられたmixed typeとは異なったものであった。このことは、癌細胞の解離を考えると、不都合であるが、癌細胞の転移先での生着を考えると好都合のように思われる。癌細胞は、ある集団を形成したまま脈管内を流れ、転

移先に漂着する。漂着先では、集団を形成していた方が、生着には有利なはずである。食道癌における E-カドヘリンの発現パターンから、前述のような仮説を考えてみたが、食道癌での E-カドヘリンの染色強度に関しても興味ある治験が得られた。染色強度の強い部分が dominant な症例は、リンパ節への転移個数が多く、原発巣での染色強度が強いものは転移先でも強く染色されたのに対し、原発巣での染色強度の弱いものの中には、リンパ管浸潤部・リンパ節転移巣での染色強度が強い症例がみられた。このことから、染色性の強いものの方が転移しやすいことが推測される。先に述べた発現パターンの結果と考え合わせると、カドヘリンにより強固に接着した小細胞集団塊が転移先で生着しやすいと考えられる。以上、細胞間接着因子を取り上げ、癌細胞の解離・接着の点から癌細胞の転移について検討してきたが、癌細胞の転移のメカニズムの複雑な一過程のさらに微細な過程を検索したに過ぎない。

なお、本研究の一部は厚生省がん研究助成金(No. 63-2)

によった。

文 献

- 1) Fidler IJ, Nicolson GL: Organ selectivity for implantation survival and growth of B16 melanoma variant tumor lines. *J Natl Cancer Inst* 57: 1199-1202, 1976
- 2) Nicolson GL: Organ specificity of tumor metastasis: Role of preferential adhesion, invasion and growth of malignant cells at specific secondary sites. *Cancer Metastasis Rev* 7: 143-189, 1988
- 3) 米田雅彦, 木全弘治: 細胞外マトリックスと転移, *実験医* 25: 534-541, 1989
- 4) Nagafuchi A, Takeichi M: Cell binding function of E-cadherin is regulated by the cytoplasmic domain. *EMBO J* 7: 3679-3684, 1988
- 5) 竹市雅俊: 癌細胞の結合と脱離の制御機構, *代謝* 23: 119-123, 1986
- 6) 平野伸二, 竹市雅俊: 細胞間接着分子の免疫学的検出法, *生体の科学* 38: 491-493, 1987

Correlation between E-cadherin Expression and Lymphnode Metastasis in Human Esophageal Cancer

Hitoshi Shiozaki, Mikiyo Miyata, Kenji Kobayashi, Hideaki Tahara, Shigeyuki Tamura, Hiroshi Yano, Hiroshi Oka, Yuuichiro Doki, Keisuke Iihara, Takesada Mori, Shinji Hirano* and Masatoshi Takeichi*

Department of Surgery II, Osaka University Medical School

*Department of Biophysics, Faculty of Science, Kyoto University

The process of lymph node metastasis from a malignant neoplasm consists of sequential steps, some of which can be largely affected by intercellular adhesion between cancer cells. Since E-cadherin (E-CD) is one of the major molecules involved in adhesion between cells in normal and malignant epithelial tissues, we investigated the correlation between E-CD expression and lymph node metastasis in human esophageal cancer by immunohistochemical staining (IHS) using HECD-1. IHS evaluation was performed on surgically resected specimens from 35 patients. The pattern of staining of the tumor with IHS was evaluated as "positive" (all of the tumor cells were positively stained), "negative" (non of the tumor cells were positively stained), or "mixed" (some tumor cells were positively stained, but the rest were not stained). The staining intensity of the tumor with IHS was evaluated as "strong" (Group A) or "faint" (Group B). Though 7 superficial tumors (ep and sm) consisted of 3 "positive", 1 "negative", and 3 "mixed" tumors, the remaining 28 tumors with the deeper invasion consisted solely of "mixed" tumors. All of the tumors with lymph node metastasis were evaluated as "mixed". In contrast, most of the tumor nests in lymph vessels consisted of "positive" tumor cells. The mean number of lymph node metastases from tumors in Group A was greater than that in Group B. These results indicate that a firmly formed cluster of tumor cells might detach from the tumor nests with unstable adhesiveness ("mixed" E-CD expression) and form metastatic foci in distant lymph nodes.

Reprint requests: Hitoshi Shiozaki Department of Surgery II, Osaka University Medical School
1-1-50 Fujushima, Fukushima-ku, Osaka, 560 JAPAN