〔東女医大誌　第65巻　臨時増刊号
頁　52～56　平成7年12月〕

総　説

大腸癌肝転移予知と接着分子

東京女子医科大学　第二外科学教室
斎藤（サイトウ）　登（ノボル）・亀岡（カメオカ）　信悟（シンゴ）・浜野（ハマノ）　恭一（キョウイチ）

（受付　平成7年7月31日）

はじめに

大腸癌はその悪性度のなかでも肝転移により予後が左右されることが多く，的確な肝転移危険群の把握が今日の大きな課題である．われわれは癌の浸潤や転移の過程で細胞接着分子が重要な役割を担っていることに着目し細胞外マトリックスに存在する接着分子ラミニンの動態を血清学的定量および免疫組織染色の両面より検討を加えてきた[1)2)]．これは肝転移予知因子を求め肝転移危険群に対する予防的補助化学療法を押し進めることにつながると考えられる．現在までの研究成果ならびにラミニンレセプターであるインテグリンなど最近手がけている他の接着分子の現況ついても概説する．

1．接着分子の概念

生体を構成する細胞間の構築は接着分子を介する機能や情報伝達に基づいていることが，近年の分子生物学的研究の発達により解明されてきた．単に細胞同士を結びつけている接着剤としての役割だけでなく，細胞と外界の認識や情報の伝達などの機能が癌の進展の過程でも大きく関与していることが推定されるようになった．

かつて“接着因子”という表現で細胞外マトリックス（extracellular matrix：ECM）などに存在するラミニン，フィブロネクチン，タイプIVコラーゲン，ビトロネクチンをはじめとする細胞外基質構成蛋白をさしていわれていた[3)]（図1）．ところが最近分子レベルの解明により“接着分子”としていくつかのファミリーよりなる分子群の総称として用いられるようになった（表1）．

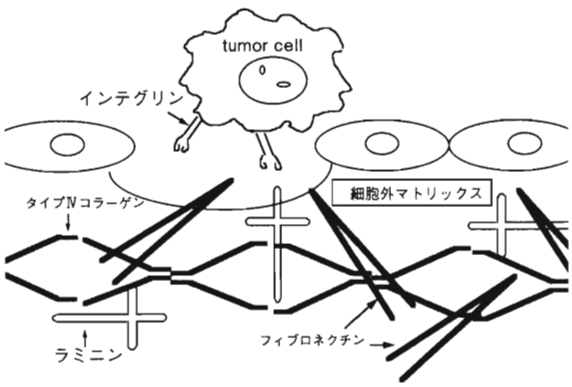


図1　癌細胞と細胞外マトリックス

表1　接着分子の分類

細胞外マトリックス（ECM）：	ラミニン，フィブロネクチン，タイプIVコラーゲン，ビトロネクチン
カドヘリンファミリー：	E，N，P-カドヘリン
Igスーパーファミリー：	CD4，CD8，ICAM-1，CEA，LFA-3，NCAMなど
インテグリンファミリー：	β1インテグリン（VLA-1,2,3,4,5,6） β2インテグリン（LFA-1,Mac-1） β3インテグリン（gpIIb/IIIa,VNR）
セレクチンファミリー：	ELAM-1,LAM-1など
その他：	CD44など

われわれは癌細胞が原発巣より浸潤する最初の段階で基底膜の破壊が生じることがまず重要と考え[4)5)]，ECMに存在するラミニンについて検討し，ついでラミニンのレセプターであるインテグリ

Noboru SAITO, Shingo KAMEOKA and **Kyoichi HAMANO**〔Department of Surgery II, Tokyo Women's Medical College〕：The prediction of liver metastasis of colo-rectal cancer and adhesion molecule

ン[6]について検討しはじめたところである．

2．接着分子の分類

1）細胞外マトリックス

(1) ラミニン

1979年 Timpl らにより発見された糖蛋白質である．分子量820kDa で A 鎖と B1-2鎖よりなり，基底膜に主として存在する．

(2) フィブロネクチン

1973年 Hynes らが癌化に伴い激減する細胞表面蛋白質を発見し，それ以前の寒冷不溶性グロブリンと同一物質であることが判明した．分子量240 kDa で基底膜や血液中に存在する．

(3) ビトロネクチン

1983年 Ruoslahti が細胞伸展因子を精製し命名した．分子量75kDa で基底膜や血液中に存在する．

2）接着分子ファミリー[7)~10)]

(1) カドヘリンファミリー

E 型（上皮組織），N 型（神経組織），P 型（胎盤組織）の3種あり，癌組織での発現の低下は原発巣からの遊離を促すとされている．

(2) Ig スーパーファミリー

免疫グロブリン(Ig)類似のドメインを有する分子群で，免疫系で働く CD4，CD8や ICAM-1，VCAM-1，NCAM，LFA-1および腫瘍マーカーとして有名な CEA も含まれる．

(3) インテグリンファミリー

インテグリン（integrin）は情報を伝達（integrate)する分子という意味より名付けられ，分子量140～200kDa の α 鎖と90～110kDa の β 鎖よりなる．共有する β 鎖により β1，β2，β3のサブファミリーに分けられ，β1は VLA-1，2，3，4，5，6よりなる．β2サブファミリーは主に白血球に発現し，β3サブファミリーは β1と共にラミニンなどの ECM に対するレセプターとして機能する[11)]．

(4) セレクチンファミリー

血管内皮細胞上で好中球や単球の接着に関与する分子群で，ELAM-1は CA19-9抗原である sialyl Lewis X 糖鎖に結合するため，癌転移との関連が指摘されている．

3．大腸癌肝転移と接着分子

当教室では1989年より斎藤[1)]，泉[2)]がラミニンを，1994年より林[12)]がインテグリンを，永田[13)]が主に神経浸潤との関係で NCAM を検討しているので提示する．

1）ラミニン

(1) 血清ラミニン測定

＜対象＞東京女子医科大学第二外科において1989～1993年までの大腸癌手術症例のうち179例，うち肝転移例28例，非肝転移例151例である．内訳は結腸癌102例，直腸癌77例であり，stage I 28例，stage II 58例，stage III 44例，stage IV 27例，stage V 22例，また男性119例，女性60例で年齢分布は23～90歳（平均61歳）である．

＜方法＞術前の患者血清を RIA 法および1991年よりは EIA 法にて測定した．また154例について CEA，CA19-9，CA125を同時に測定しこれらを比較検討した．cut off 値は健常人より設定し RIA 法で1.42U/ml，EIA 法で192.96ng/ml とした．肝転移の診断は超音波検査や CT scan などの画像診断および肝切除例では組織学的に確認した．

＜結果＞

① 腫瘍マーカーとしての陽性率

陽性率は全症例で53%を呈した．これは CEA 36%，CA19-9 23%，CA125 9%より高い陽性率を誇り，肝転移例では96%を示した（表2）．

② stage と陽性率

stage が上がるにつれラミニン陽性率は高くなり，stage V では90%を示した（表3）．

③ 血清ラミニン値と肝転移予知

肝転移予知については，術後3～4年経過しているなかで，血清ラミニン値高値より肝転移リスクありとしたものについて検討した．RIA 法で高

表2　血清ラミニン陽性率
＜他の腫瘍マーカーとの比較＞

陽性率(%) マーカー	全症例 (154例)	肝転移例 (28例)	非肝転移例 (126例)
Laminin	53%	96%	44%
CEA	36	89	24
CA19-9	23	52	17
CA125	9	36	2

表3　Stageと陽性率

マーカー＼Stage	I	II	III	IV	V
Laminin	50%	51%	60%	63%	90%
CEA	10	26	42	45	90
CA19-9	12	11	38	19	48
CA125	0	5	1	3	42

表4　血清ラミニン値と肝転移予知

血清ラミニン値		異時性肝転移	同時性肝転移	肝転移なし
RIA法 (U/ml)	1.42以上	3人	14人	41人
	1.41以下	2	1	55
EIA法 (ng/ml)	192.96以上	4	12	51
	192.95以下	4	8	100

値群58例中，同時性肝転移14例，異時性肝転移3例であった．EIA法では高値群67例中，同時性肝転移12例，異時性肝転移4例であった（表4）．

(2) 組織ラミニン染色

＜対象＞同じく大腸癌症例200例，うち肝転移症例25例，非肝転移症例175例である．

＜方法＞凍結切片およびエタノール固定パラフィン切片より標本を作製し，抗ラミニン抗体を用いてABC法にて染色した．染色性の判定は正常毛細管基底膜と同等の染色性をスコア4とし，全く染色されないものをスコア1，その間をスコア2，スコア3とした．これによりスコア2～4を陽性，スコア1を陰性とした．

＜結果＞

① stageとラミニン染色

stage Iでは陽性率97%（30/31例）であるのに対し，stageが上がるにつれ染色陰性例が多くなる傾向が認められ，stage Vではスコア1～2が88%（22/25例）を示した（表5）．

② 肝転移予知と組織ラミニン染色

ラミニンスコア4では45症例のうち肝転移は1例のみであり，ラミニンスコア1では50症例のうち肝転移は11例と，染色陰性例に肝転移が多い傾向を認めた．同時性肝転移21例に比べ異時性肝転移例は3例とまだ症例が少なく，肝転移予知については一定の傾向を認めるに至っていない（表6）．

表5　Stageとラミニン染色

染色スコア＼Stage	1	2	3	4	
I	1(3.2%)	11(35.5%)	4(12.9%)	15(48.4%)	n=31
II	12(18.5)	19(29.2)	17(26.1)	17(26.1)	n=65
III	10(20.4)	16(32.7)	14(28.6)	9(18.4)	n=49
IV	16(53.3)	6(20.0)	5(16.7)	3(10.0)	n=30
V	11(44.0)	11(44.0)	2(8.0)	1(4.0)	n=25

正常血管基底膜と同等の染色性をスコア4とし，全く染色されないものをスコア1，その間をスコア2，3とした．

表6　組織ラミニン値と肝転移予知

組織ラミニン	異時性肝転移	同時性肝転移	肝転移なし
1	0人	11人	39人
2	2	8	53
3	1	1	40
4	0	1	44

正常血管基底膜と同等の染色性をスコア4とし，全く染色されないものをスコア1，その間をスコア2，スコア3とした．

2) インテグリン

(1) 血清インテグリン測定

＜対象＞1994年9月～1995年2月の当科での大腸癌症例38例，うち肝転移例2例，非肝転移例36例である．内訳は結腸癌21例，直腸癌17例であり，男性25例，女性13例，年齢23～79歳（平均59歳）であった．コントロールとして健常人および非癌患者19例を対照とした．

＜方法＞術前の患者血清をELISA法にて測定した．

＜結果＞測定値分布は非癌患者症例で平均値193±131ng/mlに対し，大腸癌症例で325±204ng/mlと両群間に有意差（$p<0.05$）を認めた．肝転移例はまだ同時性肝転移2例のみであり，一定の傾向は認められなかった（図2）．

(2) 組織インテグリン染色

＜対象＞同じく大腸癌手術症例でラミニン染色を施行した20例，うち肝転移例は10例である．

＜方法＞ABC法による免疫組織染色であり，1次抗体として抗VLA-6（ラミニンレセプター）抗体を用い，新鮮凍結標本より作製した．染色性の測定はラミニンと同様にスコア化し，スコア2

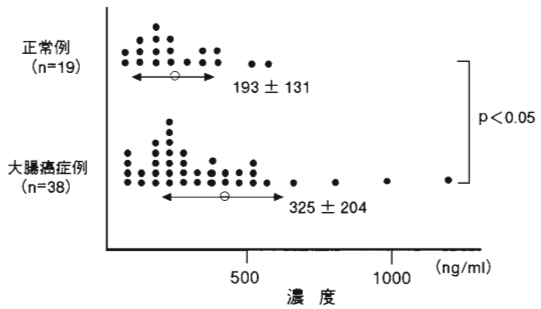


図2　血清 β1インテグリン濃度の分布

～4を陽性，スコア1を陰性とした．

＜結果＞肝転移例10例ではインテグリン染色陽性2例，陰性8例であり，非肝転移例10例では陽性6例，陰性4例となり，肝転移例はインテグリン染色陰性に多いことがわかった．

3）接着分子診断の併用

(1) インテグリンとラミニン

肝転移例10例ではインテグリン染色陰性かつラミニン染色陰性のものが6例となり，他の組み合わせより有意に多かった．一方，非肝転移例10例ではインテグリン染色陽性かつラミニン染色陽性のものが6例を示し，また非肝転移例は全てラミニン染色陽性であった（表7）．

肝転移症例はラミニン染色，インテグリン染色ともに陰性例に多く，両染色陰性例は肝転移のhigh risk groupであることがわかった．一方，非肝転移例ではラミニン染色，インテグリン染色ともに陽性例が多い傾向を示したことから，両染色陰性が肝転移の危険因子としての妥当性が示唆された．

以上述べてきたようにインテグリンについての研究はまだ開始したばかりであるが，従来のラミニン単独での肝転移予知能力の向上に寄与することが大いに期待される．

(2) 他の接着分子

教室では直腸癌の神経浸潤の指標として神経接着分子（NCAM）を検討しており，ラミニンやインテグリンと同様に血清NCAM定量や組織NCAM染色を行っている．血清NCAMは腫瘍マーカーとしてやはり大腸癌症例で高く，さらに

表7　インテグリン染色とラミニン染色

ラミニン	肝転移		非肝転移	
インテグリン	陽性	陰性	陽性	陰性
陽性	2	0	6	0
陰性	2	6	4	0

神経浸潤例や局所再発例で有意差をもって高値であった．NCAMは癌抑制遺伝子であるDCC遺伝子と相同性があるといわれており[14]，DCC遺伝子は肝転移との関係が報告されていることからNCAMも肝転移予知につながる可能性を秘めていると考えられる．組織NCAM染色では神経浸潤例や局所再発例は有意に陽性例に多く，ここでも接着分子の関与が大きく注目されるところである．

おわりに

癌腫が原発巣から基底膜に接着しそれを破壊して浸潤，遊離していく初期段階のみでなく，血管内への侵入，血管内の移動，血管壁への侵入，転移先臓器での血管外侵出および転移癌同士の接着と増殖などいずれの段階でも細胞接着分子の関与なくしては癌の転移は成り立たないと考えられる．

癌細胞同士のインテグリンにラミニンなどが接着するとタイプIVコラーゲンの分解酵素である各種コラゲナーゼが分泌され，基底膜の破壊が行われるとされている[7][8]．

このように接着分子は転移に関係することから予知因子としての研究面以外に最近転移阻害に応用しようという試みがなされつつある．われわれも接着分子の細胞接着ドメインを転移抑制剤として投与し，レセプター上での競合阻害をめざした実験をマウス肝転移モデルによって開始し，約50%の抑制効果を得て報告しはじめたところである．このように接着分子は肝転移予知の診断面だけでなく，肝転移予防の治療面にも発展する意義をもちあわせており，さらなる研究の必要性を物語っていると考えられた．

本稿の研究は厚生省がん研究助成金および文部省

科学研究費助成金「大腸癌の肝転移機序に関する研究(課題番号05671093)」に基づき行われた.

文　献

1) **斎藤　登**：大腸癌肝転移予知因子としてのラミニンの血清学的および組織学的研究．日本大腸肛門病会誌　**44**：898-905，1990
2) **泉　公成**：大腸癌肝転移予知因子としての血清ラミニン濃度に関する研究．日消外会誌　**24**：1234-1242，1992
3) **藤本大三郎 編**：細胞外マトリックスのバイオサイエンスとバイオテクノロジー．アイピーシー，東京，(1990)
4) **Liotta LA, Rao NC, Barsky SH et al**: The laminin receptor and basement membrane dissolution. Role in tumour metastasis. Ciba Found Sympo **108**：146-162，1984
5) **Forster SJ, Talbot IC**: Laminin and fibronectin in rectal adenocarcinoma: Relationship to tumor grade, stage and metastasis. Br J Cancer **50**：51-61，1984
6) **Stallmach A, Lampe BV, Matthes H et al**: Diminished expression of integrin adhesion molecules on human colonic epithelial cells during the benign to malign tumour transformation. Gut **33**：342-346，1992
7) **宮坂昌之 編**：接着分子．メジカルビュー社，東京(1991)
8) **鶴尾　隆 編**：癌転移の分子機構．メジカルビュー社，東京 (1993)
9) **村松政実**：分子医学への招待．南江堂，東京(1992)
10) **宮坂昌之 監修**：接着分子ハンドブック．秀潤社，東京 (1994)
11) **西村元一，高村博之，二宮　致ほか**：大腸癌肝転移とインテグリン．外科　**55**：1099-1103，1993
12) **林　達弘**：大腸癌肝転移における接着分子インテグリン $\alpha 6$ $\beta 1$の意義に関する研究．東女医大誌 **65**(11)：883-890，1995
13) **永田　仁**：直腸癌神経浸潤における神経接着分子の臨床的意義に関する研究．東女医大誌 **65**(11)：946-953，1995
14) **平本孔彦，合地　明，片岡正文ほか**：細胞接着分子NCAMとDCC癌抑制遺伝子．日消外会誌 **27**：2308-2311，1994