

上皮悪性腫瘍の肉腫様変化は骨芽細胞分化の側面を有する：骨分化マーカーを用いた検討と解析

村上哲平 井上敬夫* 西村俊司 伊藤彰彦* 赤木将男

近畿大学医学部整形外科学教室 *近畿大学医学部病理学教室

抄 録

上皮悪性腫瘍では腫瘍組織内の一部において間葉系由来の細胞増生を認める現象がしばしば確認され、その現象は肉腫様変化 (sarcomatoid change) として認識されている。しかし、その間葉系組織の分類を定義した研究報告はない。近年、上皮性の細胞接着分子である cell adhesion molecule 1 (CADM1) が骨肉腫細胞株および肉腫摘出標本、正常骨芽細胞などの骨性間葉系細胞に強発現していることが明らかとなり、CADM1 が骨分化マーカーの側面を持っている可能性が示された。本研究は上皮悪性腫瘍の肉腫様変化に CADM1 も含めた骨分化マーカーの発現の有無を検討し、その間葉系組織において骨形成性の変化を伴う一群の存在を確認することで、分類が可能であるか検証を行うことである。我々は肉腫様変化を伴う上皮悪性腫瘍の症例に対し免疫染色を施行し組織内の各種骨形成性マーカー (CADM1, ALP, Osterix, CD151) の発現を確認した。その結果をスコア化し、各骨分化マーカーと細胞形態変化の結果を統計学的に検証した。その結果、肉腫様変化における間葉系細胞の骨芽細胞分化においては、CADM1 が統計学的に最も優れていた。一方で組織学的な形態変化による骨芽細胞分化に対する関連性は認められなかった。これらの結果より、上皮悪性腫瘍の肉腫様変化による間葉系細胞組織の一部は骨芽細胞分化の側面を有しており、その分化マーカーとして CADM1 の有用性が示唆された。

Key words : sarcomatoid change, CADM1, bone differentiation, osteoblast, Epithelial-Mesenchymal Transition, EMT

緒 言

CADM1 (cell adhesion molecule 1) は、2003年に SgIGSF と呼ばれるマスト細胞と神経細胞に発現する細胞接着分子として発見され、神経免疫相互作用を増強する作用を有している¹⁻²。2007年に CADM1 (cell adhesion molecule 1) という名称に改名された。CADM1 の構造は、細胞外に免疫グロブリン様ループを3つ持つ1回膜貫通型の糖タンパクで、ほぼすべての上皮細胞、神経組織やマスト細胞、胆管細胞、肺胞上皮細胞、膵島細胞などに生理的発現を認める²。上皮悪性腫瘍における CADM1 は、非小細胞性肺癌をはじめ腎癌、乳癌、膵癌など上皮悪性腫瘍の浸潤・転移メカニズムに対する癌抑制遺伝子として作用する²⁻⁵。一方で、成人T細胞白血病や小細胞肺癌、悪性中皮腫では異所性に発現し、血管内皮細胞との接着を促進、浸潤・転移を促進するこ

とが知られている⁶。さらに CADM1 では、上皮細胞の接着による細胞の正常性を保つ機能だけでなく、正常性破綻時に NK 細胞によって認識される癌抗原としての役割やアポトーシスの誘導を起こす、二重の機能が示されたがん抑制分子として近年注目を集めている²。

井上らは、骨芽細胞前駆体の骨分化誘導の過程で新たな細胞間接着分子として CADM1 が関与しているかを検討した結果、骨肉腫細胞や幼弱な骨芽細胞に発現していることを報告し、骨分化マーカーの役割を果たしていることが示された⁷。

そこで我々は上皮悪性腫瘍の中で上皮間葉移行により生じるとされる肉腫様変化 (sarcomatoid change) に注目した。肉腫様変化は上皮悪性腫瘍組織内にまれに起こる組織形態変化であり肝細胞癌、腎明細胞癌、乳癌、肺小細胞癌、大腸癌、女性器腫瘍など様々な癌種で起こりうる⁸⁻¹²。典型的な肉腫

様変化は組織内に限局性に存在し、通常組織学的に pleomorphic spindle cell で構成される¹³。しかし、実際には症例によって肉腫様変化を観察するとその組織形態は様々であり、立方状(cuboidal)、紡錘状(spindle)、卵円状(ovoidal)など多様な細胞骨格が認められる。肉腫様変化を伴った癌種は臨床的に高い転移率と増殖能を有するために予後不良とされており、肉腫様変化をより詳細に研究することは臨床的に非常に重要である¹³。これまでに詳細な形態学的な特徴を明記した報告はなく、個々の肉腫様変化を組織形態学的に解析し、検討を行うことで新たな分類として評価できる可能性がある。

我々は、肉腫様変化を伴う組織の一部において骨分化マーカーが陽性となることを発見した。そこで本研究の目的は、癌組織の肉腫様変化に伴う組織学的特徴や細胞特性を検討することにより、肉腫様変化の新たな分類が可能であるか検索を行うことである。また、その分類の指標として使用可能な分子マーカーの可能性を考察した。

方 法

1) 倫理委員会の承認について

本研究の研究試料は全て、近畿大学附属病院および泉大津市民病院で摘出された試料である。本研究は、近畿大学附属病院倫理委員会および泉大津市立病院職員倫理委員会の承認の上で行われた。

2) 症例の選択

近畿大学附属病院において2005年から2013年までのすべての上皮性腫瘍摘出手術症例を検索し、病理診断の結果、上皮悪性腫瘍に肉腫様変化を認めた9症例(腎細胞癌4例、食道癌2例、上顎癌1例、乳癌2例)の手術摘出組織のパラフィン包埋ブロック

と、協力を得た泉大津市民病院の2症例(乳癌2例)を使用した。(表1)

3) ヘマトキシリン-エオジン(以下HE)染色

11症例のパラフィン包埋切片を使用し、HE染色施行をした。

染色方法は切片を3 μ mでスライスし、脱水からキシレン化までは、希釈倍率の異なるエタノール(50%, 70%, 90%, 99.5%, 100%), 50%エタノール・50%キシレン混合液, 100%キシレンの順に約20~30秒間ずつスライドを浸した。

HE染色は、ヘマトキシリン液に4分間浸した後10分間水洗した。その後、1%エオジン液に1分間浸し、脱水、キシレン化、封入した。

染色後、プレパラートを観察し、各上皮悪性腫瘍組織内に肉腫様変化を有する組織が存在することを確認した。

4) 免疫学的染色

11症例すべての症例においてCADM1, ALP, Osterix, CD151に対する免疫染色施行した。染色方法として、対象のパラフィン包埋切片を厚さ3 μ mでスライドガラスに配し、脱パラフィン後、クエン酸緩衝液内で95°C, 15分反応させ、PBS洗浄後(5分×3回)、1%過酸化水素による前処置15分の後、PBS洗浄施行(5分×3回)。その後2%BSA溶液、室温30分反応させブロッキングを行った。PBS洗浄後(5分×3回)、1次抗体としてCADM1(C末端認識抗体:wak), ALP(SANTA CRUZ社 Rabbit Polyclonal ALP(H-300)sc-30203), Osterix(abcam社 Rabbit polyclonal Anti-SP7/Osterix ab22552), CD151(AbD Serotec社 MOUSE ANTI HUMAN CD151 antibody)を使用し2%BSA含有PBSで各種1次抗体を希釈(CADM1 1:400,

表1 使用症例一覧。

症例	病理診断	年齢	性別	臓器
1	Clear cell carcinoma with spindle cell carcinoma component	67	男性	腎臓
2	Clear cell carcinoma with spindle cell carcinoma component	63	女性	腎臓
3	Clear cell carcinoma with spindle cell carcinoma component	70	男性	腎臓
4	Clear cell carcinoma with spindle cell carcinoma component	73	男性	腎臓
5	Squamous cell carcinoma and spindle cell carcinoma	53	男性	食道
6	Squamous cell carcinoma and spindle cell carcinoma	77	男性	食道
7	Squamous cell carcinoma with sarcomatoid component	75	男性	上顎
8	Solid tubular carcinoma with Spindle cell carcinoma	35	女性	乳房
9	Solid tubular carcinoma with Spindle cell carcinoma	54	女性	乳房
10	Solid tubular carcinoma with Spindle cell carcinoma	84	女性	乳房
11	Solid tubular carcinoma with Spindle cell carcinoma	48	女性	乳房

すべて腫瘍組織内部に肉腫様変化を部分的に有する上皮悪性腫瘍。

症例1~9は当院の手術摘出症例、症例10・11は泉大津市立病院の手術摘出症例。

各症例すべて手術摘出標本パラフィン包埋切片を使用した。

ALP 1:150, Osterix 1:300, CD151 1:150) した溶液を 4°C, 24時間反応させた。PBS 洗浄後(5分×3回), 2次抗体ヒストファインシンプルステイン MAX-PO (R) (ニチレイバイオサイエンス) 室温, 90分反応させ PBS 洗浄(5分×3回)。発色は ImmPACT™ AEC (VECTOR; CA) 室温, 2分反応させ PBS 内で反応停止させた。10倍希釈ヘマトキシリン使用し 5 秒間染色し全例核染色を行った。

染色後のプレパラートの観察を行い, 腫瘍組織内で肉腫様変化を起こしている部位に一致して各抗体が発現を認めている症例を陽性とし, 一部において発現を認める症例を部分的陽性とした。判定には病理医 2 名立会いの下で全症例の検討を行った。

また, 免疫染色の結果を検討する目的で, 我々はスコアリングを行った。スコアリングの方法としては, 4 種の骨分化マーカー(CADM1, ALP, Osterix, CD151) の免疫学的染色の結果を

- ・陽性: 1 点
- ・部分的陽性: 0.5 点
- ・陰性: 0 点

と点数化して, その合計値を集計し骨形成性スコアとして利用した。

各症例において, 肉腫様変化により間葉系細胞が骨形成性の性質を有するかを判定するために, 骨形成性スコアを利用した。骨形成性スコアが 2 点以上を陽性とする条件と 3 点以上を陽性とする条件を設定し, 各骨分化マーカーの発現との関連を検討した。

4) ウェスタンブロット (western blotting)

各症例の中で同一腫瘍内に肉腫様変化を認める部位と認めない部位が存在し, 組織が大きくそれぞれの部位よりパラフィン包埋切片が作成されている症例を選択し, ウェスタンブロット法を用いて各部位における CADM1 の発現量を比較検討した。

パラフィン包埋切片を使用しタンパクを抽出する方法として, Rodriguez らのプロトコールに従い施行した¹⁴。各症例パラフィン切片を 5 μm で 3 スライス使用し 1.5 μl チップ内にとり, ミネラルオイル (Dako 社) 500 μl を加え混和し 95°C で 2 分熱し, 15000 rpm 25°C で 5 分間遠心分離を施行した。上清を除去し再度ミネラルオイル 500 μl 添加し十分に混和, 95°C 2 分, 同条件で遠心分離施行し, 上清を除去することでパラフィンの除去を行った。残った資料を十分に PBS にて洗浄し上清の PBS を除去した。同様に Citrate-SDS buffer にて洗浄し, 上清を可能な限り除去した。再度 Citrate-SDS buffer を 100 μl 加え 100°C で 20 分, その後 80°C で 2 時間熱し, その間 30 分ごとに混和を行った。15 分間遠心分離行いタンパクの溶出した上清を回収し, そのタンパク

溶液を各組織切片ごとに作成した。

ウェスタンブロットには 10% SDS-ポリアクリルアミドゲルを作成し, 40 mA 定電流で電気泳動による分離を施行した。転写膜として PVBF を使用し転写を施行した。

その後 1000 倍希釈した一次抗体 CADM1 抗体 (C 末端認識抗体 No4) を 4°C, 24 時間反応させた。二次抗体として 3000 倍希釈 ECL™-Anti-Rabbit IgG Horseradish (GE healthcare; UK) 使用し, 室温, 1 時間反応させた。反応したバンドを, Amersham™ ECL Prime Western Blotting Detection Reagent (GE healthcare; UK) 使用し発色させ, 現像を行った。同様に同一膜を使用し β-actin も発色させた。抗体は一次抗体として β-actin (Santa Cruz Biotech; Santa Cruz), 二次抗体として ECL™-Anti-mouse IgG Horseradish (GE healthcare; UK) 使用した。β-actin の結果をもとにタンパク量を調整し, 再度 CADM1 の発現を観察し, 発現の程度の比較を行った。

5) 統計解析

各データは各症例ごとに, 陽性症例数, 陰性症例数を実数で表記し χ^2 検定を用いて統計学的に解析した。(Microsoft 社 Excel)

結 果

まず HE 染色において 11 症例すべてに上皮悪性腫瘍の一部で間葉系と思われる組織学的変化を確認した。組織像の特徴としては, 各症例ごとに間葉組織の細胞形態には 2 種類の細胞骨格を認めた。N/C 比が比較的 low, 細胞骨格は紡錘様 (spindle) の形態変化を認める症例と, N/C 比が高く, 核の偏移があり, 方形 (cuboidal) の形態変化を認める症例である (図 1)。細胞形態としては spindle な形態変化は 5 例, cuboidal な形態変化は 6 例であった。

各症例における骨分化マーカーの免疫学的染色の結果を図 2 a, 2 b に示す。CADM1 は陽性 6 例, 陰性 5 例, ALP は陽性 4 例 (2 例は部分的陽性), 陰性 7 例, Osterix は陽性 7 例 (1 例は部分的陽性), 陰性 4 例, CD151 は陽性 9 例 (1 例は部分的), 陰性 2 例であった。

この結果より, 各症例で骨形成性スコアを算出し, 3 点以上の条件と, 2 点以上の条件各々で骨形成性の有無の判定を行った。各症例の免疫染色の結果と, 骨形成性スコアの判定のを表に示す。(表 2)

この結果をもとに, 部分的陽性を陰性とみなし, 各染色・細胞形態変化の相互関係について検証を行った。結果は図の通りである (図 3)

その結果, CADM1-CD151 間と CADM1-細胞形

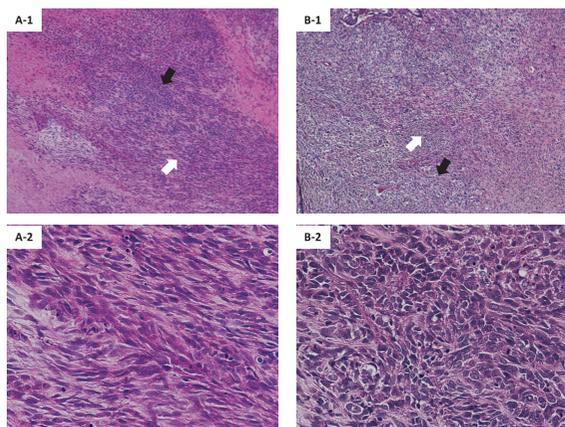


図 1 肉腫様変化の組織像：HE 染色
 白矢印：肉腫様変化部
 黒矢印：上皮性組織部
 A-1：spindle (紡錘状) な細胞形態変化を伴う上皮悪性腫瘍の肉腫様変化 (40倍)
 A-2：A-1 の肉腫様変化部 (200倍)
 B-1：cuboidal (立方状) な細胞形態変化を伴う上皮悪性腫瘍の肉腫様変化 (40倍)
 B-2：B-1 の肉腫様変化部 (200倍)

態間には有意差を認め、その発現に関連を認めるものの、他のマーカー間では有意差を認めず、明らかな関連性を説明できなかった。そこで、骨形成性スコアと各骨分化マーカーの関連性の検討を行った。結果を (図 4) に示す。

2点以上を骨形成性スコア陽性の基準と設定した場合、各マーカーともに偽陽性となる症例は顕著に少なかったが (CADM1, ALP で 0 例, Osterix, CD151 で 1 例ずつ), ALP と Osterix において偽陰性の出現が顕著であった。CADM1 と CD151 において骨形成性スコアとの相関を認めた ($P < 0.05$)。3点以上を骨形成性スコア陽性の基準へと設定を厳しくした場合、各症例で偽陽性が増加するものの CADM1 では有意差を認め ($P < 0.05$)、骨形成性スコアとの関連性が保たれている。この結果より、上皮悪性腫瘍の肉腫様変化において CADM1 が優れた骨分化マーカーであることが示された。

また骨形成性スコアと細胞形態間に対しても検定も行い、形態変化による骨分化マーカーの発現に対する関連を確認した。(図 5)

骨形成性スコアの基準が 2 点以上、3 点以上の場合もともに $P > 0.05$ となり、有意差は得られなかった。このため、cuboidal な細胞形態変化と骨形成マーカーの発現との明らかな関連は認められなかった。

ウェスタンブロットの結果を示す (図 6)。組織の小さい症例ではタンパクの抽出が困難であり、今回使用可能な症例は症例 5、症例 7、症例 9 の 3 症例

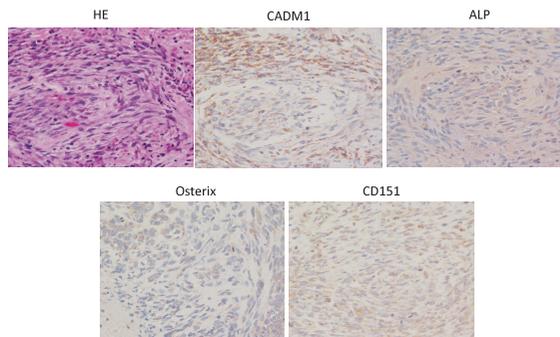


図 2-a spindle 型肉腫様変化：各種免疫染色陽性例 (200倍)
 Spindle な細胞形態変化を伴っている上皮悪性腫瘍で、HE, CADM1, ALP, Osterix, CD151 の免疫染色施行し、同一部位における陽性像を示す。

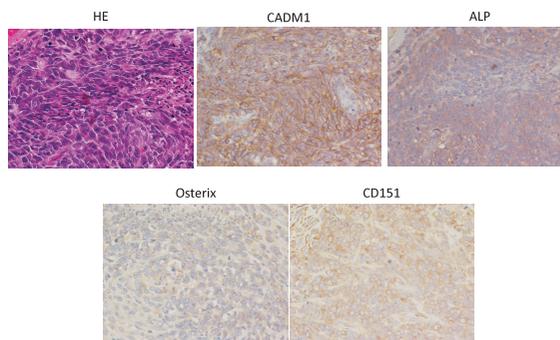


図 2-b cuboidal 型肉腫様変化：各種免疫染色陽性例 (200倍)
 cuboidal な細胞形態変化を伴っている上皮悪性腫瘍で、HE, CADM1, ALP, Osterix, CD151 の免疫染色施行し、同一部位における陽性像を示す。

であった。full lengthCADM1 は 100 kD で陽性となる。各症例の肉腫様変化を伴う切片で明らかに full lengthCADM1 の発現量の増加を認めている。今回の 3 症例はともに骨形成性スコアは 3 点以上で、免疫染色で肉腫様変化部が CADM1 陽性となっており、免疫染色の結果と整合性が得られた。

考 察

まず我々は肉腫様変化内に 2 種類の組織学的な特徴を持った組織が存在することを発見し、各形態により分類が可能ではないかと考えた。cuboidal な細胞は形態学上、骨芽細胞に酷似しており、骨芽細胞分化時に陽性となる、CADM1 の発現を観察した。しかしながら cuboidal な細胞変化と CADM1 の発現に有意差はなく、明確な関連は認められなかった。その結果を踏まえ、肉腫様変化に対し各種骨分化マーカーの免疫染色を行い、骨形成性の性質を持つ組

表 2 免疫染色結果

症例	病理診断	細胞形態	CADM1	ALP	Osterix	CD151	score
1	Clear cell carcinoma with spindle cell carcinoma component	spindle	-	-	-	+	1
2	Clear cell carcinoma with spindle cell carcinoma component	spindle	-	-	-	-	0
3	Clear cell carcinoma with spindle cell carcinoma component	spindle	-	P+	+	+	2.5
4	Clear cell carcinoma with spindle cell carcinoma component	cuboidal	+	P+	P+	+	3
5	Squamous cell carcinoma and spindle cell carcinoma	cuboidal	+	-	+	+	3
6	Squamous cell carcinoma and spindle cell carcinoma	spindle	-	-	+	-	1
7	Squamous cell carcinoma with sarcomatoid component	spindle	+	+	+	+	4
8	Solid tubular carcinoma with spindle cell carcinoma	cuboidal	-	-	-	±	0.5
9	Solid tubular carcinoma with spindle cell carcinoma	cuboidal	+	+	+	+	4
10	Solid tubular carcinoma with spindle cell carcinoma	cuboidal	+	-	+	+	3
11	Solid tubular carcinoma with spindle cell carcinoma	cuboidal	+	-	-	+	2

細胞形態は cuboidal な変化を伴うものと、spindle な変化を伴うものを顕微鏡下で判定を行った。各免疫染色は各症例の肉腫様変化に一致して、陽性となるものを+と判定し、陰性のものを-と判定した。また、肉腫様変化の一部で陽性となるものを P+ (partly+) と記載している。CADM1, ALP, Osterix, CD151 の各陽性を 1 点、部分的陽性を 0.5 点、陰性を 0 点として、症例ごとに合計点をスコア化した。

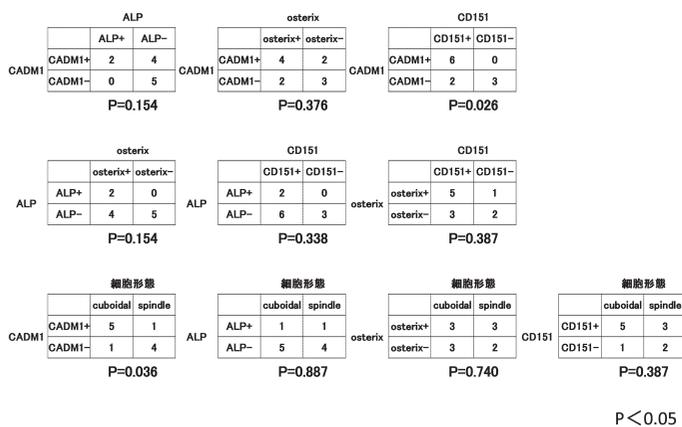


図 3 各種免疫染色結果ごとの関連性の検索
CADM1, ALP, Osterix, CD151 の免疫染色結果を踏まえ、各マーカー同士の関連性を、 χ^2 検定により P 値を算出し P < 0.05 有意差の有無の検定を行った。同様に、各マーカーと細胞形態との関連性も検定を行った。

P < 0.05

織が存在することが示された。新たに分類を行う中で、CADM1 が骨分化マーカーとして有用であった背景には、骨細胞分化過程において、各骨分化マーカーが陽性となる期間に相違があるためと考えられる。

間葉系幹細胞は、骨芽細胞をはじめ脂肪細胞、筋細胞、軟骨細胞などに分化する。骨芽細胞への分化は bone morphogenetic protein (BMPs), insulin-like growth factor (IGF-1), fibroblast growth

factor 2 (FGF-2), parathyroid hormone (PTH), tumor necrosis factor- α (TNF- α) などのホルモン、サイトカインや、Wnt シグナル、細胞外マトリックスなどの刺激によって誘導され、骨前駆細胞、前骨芽細胞、骨芽細胞と順に分化していく。成熟骨芽細胞はオステオカルシンの分泌が増加し細胞外マトリックスの石灰化により骨マトリックスが形成される¹⁵⁻¹⁶。

骨芽細胞分化の過程では、各段階でタンパク質の

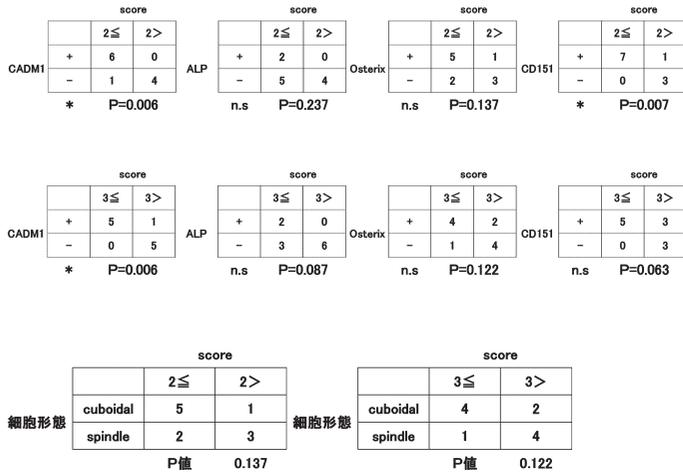


図5 骨形成性スコアと細胞形態の関連性の検討
骨形成性スコアを算出し、2点以上で骨形成性陽性とした群と3点以上で陽性とする群をともに集計し、細胞形態(spindle, cuboidal)との関連性の検討を行った。(P<0.05)

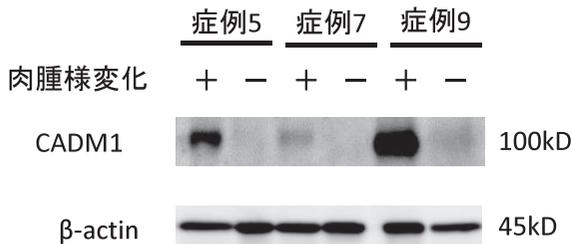


図6 ウェスタンブロット
肉腫様変化部でCADM1陽性の3症例で、肉腫様変化を有する切片と、認めていない切片よりタンパクの抽出を行い、ウェスタンブロット法でCADM1の発現を確認した。肉腫様変化部で有意にCADM1の発現の増加が認められた。

発現パターンが変化していくのが特徴的であり、骨分化マーカーとして利用されている。骨芽細胞分化前・中期にはALPやオステオポンチンの発現が増加し、分化後期にはオステオカルシンなどが誘導される。さらに、骨芽細胞分化の進行には核転写因子の働きがあり、RUNX2, Osterix, ATF4, Fosなどが挙げられ、それぞれの過程の促進、抑制を司っている¹⁵⁻¹⁷。

インテグリンなどの接着分子を細胞膜上の微小領域に配置することで細胞機能を調節する膜4回貫通型蛋白ファミリーであるCD151は、肺線維症などに関与が認められるタンパクとして有名であるが、近年骨肉腫細胞株での陽性が報告された。骨分化においても発現が認められ、骨分化初期の前駆細胞の分化の段階より強く発現を認めることが特徴である¹⁸。また、CADM1は幼若な骨芽細胞から発現を認

図4 骨形成性スコアと各骨分化マーカーの関連性の検討

骨形成性スコアを算出し、2点以上で骨形成性陽性とした群と3点以上で陽性とする群をともに集計し、各骨分化マーカーとの関連性の検討を行った。(P<0.05)

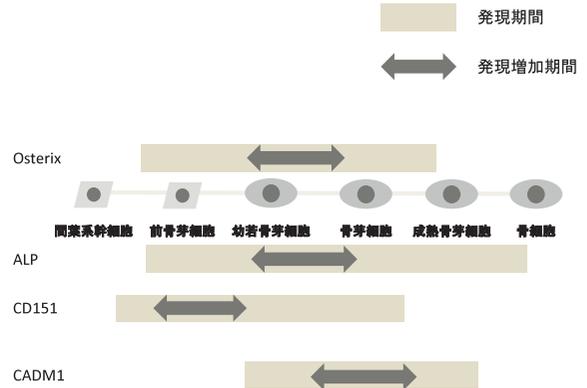


図7 各骨分化マーカーの骨細胞系分化における発現の期間

各骨分化マーカーが発現を認める期間を、灰色の期間で示し、矢印で強く発現を認める期間を示した。

めるが、骨細胞では発現が消失していることが報告されている。骨髄由来の間葉系幹細胞から骨細胞への分化の過程と、今回の実験で使用した骨分化マーカーが強く陽性となる期間をまとめた¹⁵⁻¹⁹。(図7)。

このように、CADM1は幼若骨芽細胞から成熟骨芽細胞までの短期間で発現するのに対して、他の骨分化マーカーは骨性分化初期から後期まで発現し、発現が増加する時期も異なることが、他のマーカーと比較してCADM1が骨形成性スコアと強く関連を認める原因となったと考えられる。つまり、今回示された骨形成性スコア陽性症例は、CADM1の発現を認める骨芽細胞と同様の分化度の細胞と考えられる。今後は、成熟骨芽細胞で有意に増強するオステオカルシンや、前骨芽細胞で増加するオステオポンチン、幼若骨芽細胞時に増加する骨シアロタンパクなど、発現期間の限定された骨分化マーカーと組み合わせで検討することでさらに正確な診断を行える可能性がある¹⁶。

そこで、肉腫様変化で生じる腫瘍内変化は主に紡錘細胞癌、多形癌、癌肉腫などと病理学的診断されることが多く、その構成細胞はspindleな細胞(紡錘細胞)が大部分を占める^{13,20,21}。本研究の結果ではcuboidalな細胞変化と骨芽細胞様変化を伴った肉

腫様変化との間に有意な相関は見られなかったが、形態的な特徴として、cuboidalな細胞は骨芽細胞と類似した特徴(N/C比が高く、核の偏移がつよく、明瞭な核小体、方形～円形の細胞骨格)を有している。実際 cuboidalな細胞6例中4例で骨形成性スコアが3点以上、6例中5例が2点以上となっている。今回は症例数も少ないため有意差が認められなかったが、症例数を増やし検定を行うことにより関連を認められる可能性を有している。

一方で、肉腫様変化の起こる原因としては上皮間葉転換(Epithelial-Mesenchymal Transition, 以下EMT)と呼ばれる現象が関係している²²。EMTは上皮細胞が有する細胞極性の消失、細胞間接着の減少、細胞遊走能の亢進、アクチン系細胞骨格の改築が起こり、間葉系細胞へ変化するプロセスである。生体内では原腸陥入や神経管形成などの発生段階に関わる現象として報告されてきた。しかし、近年EMTが癌の浸潤や転移の機序に深く関与していることが報告されている¹³。肉腫様変化に関与するEMTと転移-浸潤カスケードに関与するEMTは現象としては同じだが、相互の関係性は証明されていない。EMTにより上皮悪性腫瘍が間葉系細胞へと変化する現象には各種細胞接着分子の関連が判明しており、E-カドヘリンの減弱がEMT開始の一つの要因となっているが、今回使用した接着分子であるCADM1の関与は指摘されていない。

肉腫様変化を来した上皮悪性腫瘍は、一般的に転移-浸潤能が強く予後不良とされている¹³。今までの肉腫様変化の研究は、各癌種における肉腫様変化の影響や、上皮性腫瘍が間葉系組織へと分化することへの研究が主であり、転換された間葉系組織の分類まで触れられているものはない²³⁻²⁴。本実験により肉腫様変化の中にも複数の組織型に分類し得ることが示され、それぞれの分類ごとに転移-浸潤リスクや予後の相違がある可能性は高い。しかし経過の追跡が行えていない症例も多いため、現段階で予後の判定は難しい。

肉腫様変化の組織内に複数の骨分化マーカーを発現する一群が認められ、分子マーカーとしてCADM1を使用し分類が可能であることが判明した。CADM1は癌抑制分子としての一面も持ち合わせており、この分類化が上皮悪性腫瘍の肉腫様変化における予後判定基準の一つとなる可能性がある。今後は症例、検討項目を増やし肉腫様変化に対する分類の明確化や、他の要素による新たな分類の検討が必要である。

結 語

上皮悪性腫瘍の肉腫様変化による間葉系組織の一部は骨芽細胞様の特性を有し、その分化マーカーとしてCADM1が有効である。

謝 辞

稿を終えるに当たりご指導をいただきました。近畿大学医学部病理学教室伊藤彰彦教授、井上敬夫先生並びに整形外科学教室赤木将男教授、西村俊司医学部講師に謝意を表します。また本研究に際し多大なるご協力をいただきました病理学教室の先生方、ライフサイエンス研究所赤星保光先生、ご協力いただいた当教室員の皆様、実験助手の皆様方に心から感謝申し上げます。

文 献

- Hagiyama M, et al. (2001) Enhanced nerve-mast cell interaction by a neuronal short isoform of cell adhesion molecule-1. *J Immunol* (2011) 186, 5983-5992
- Ito A, et al. (2010) Heterotypic cell-cell interaction mediated by cell adhesion molecule-1, CADM1: Physiological, pathological and physical aspects. *Acta Med Kinki Univ*35(2), 77-85
- Nagara Y, et al. (2011) Tumor suppressor cell molecule 1 (CADM1) is cleaved by a disintegrin and metalloprotease 10 (ADAM10) and subsequently cleaved by γ -secretase complex. *BBRC*417, 462-467
- Ito A, et al. (2008) Expression of cell adhesion molecule 1 in malignant pleural mesothelioma as a cause of efficient adhesion and growth on mesothelium. *Laboratory Investigation* (2008) 88, 504-514
- Sakurai M, et al. (2009) Tumor suppressor CADM1 is involved in epithelial cell structure. *J BBRC* (2009) 390, 977-982
- Murakami Y, et al. (2009) Involvement of a tumor suppressor protein CADM1/TSCL1 in human non-small cell lung cancer. *Japanese Journal of Lung Cancer* (2009) 49, 910-916
- Inoue T, et al. (2013) Cell adhesion molecule 1 is a new osteoblastic cell adhesion molecule and a diagnostic marker for osteosarcoma. *Life Sciences* 92 91-99
- Carboni F, et al. (2013) Gastric sarcomatoid carcinoma. *J Gastrointest Surg* (2013) 17, 2025-2027
- Kane JR, et al. (2014) Sarcomatoid (spindle cell) carcinoma of the pancreas. *ONCOLOGY LETTERS* (2014) 7, 245-249
- Cho MS, et al. (2004) Sarcomatoid hepatocellular carcinoma with hepatoblastoma-like features in a adult. *Pathology International* (2004) 54, 446-450
- Kwon MS, et al. (2003) Extensive and divergent chromosomal losses in squamous and spindle-cell components of esophageal sarcomatoid carcinoma. *Virchows Arch* (2003) 443, 635-642
- Shuch B, et al. (2012) Sarcomatoid renal cell carcinoma: a comprehensive review of the biology and

- current treatment strategies. *Oncologist* (2012) 17, 46-54
13. Sung CO, et al. (2012) Sarcomatoid carcinoma represents a complete phenotype with various pathways of epithelial mesenchymal transition. *J Clin Pathol*. 2013 Jul; 66(7) : 601-606
14. Rodríguez-Rigueiro T, et al. (2011) A novel procedure for protein extraction from formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *Proteomics* (2011) 11, 2555-2559
15. Mathuguchi T, et al. (2009) JNK signaling in osteoblast differentiation. *JBS* 81(8), 703-707
16. Nakashima K, et al. (2002) The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell*, 108 (2002), pp. 17-29
17. Yamada S, et al. (2006) Transcriptional factors and signal transduction pathways on osteoblast differentiation and osteogenesis. *JSMBE* (2006) 44(4), 490-495
18. Zhang W, et al. (2010) Retinoic acids potentiate BNP9-induced osteogenic differentiation of mesenchymal progenitor cell. *PLoS ONE*5(7), e11917
19. Zhang Z, et al. (2010) Comparative proteomic analysis of plasma membrane proteins between human osteosarcoma and normal osteoblastic cell lines. *BMC Cancer*, 10 206
20. Pillay N, et al. (2008) Mucinous tubular and spindle cell carcinoma with aggressive histomorphology -a sarcomatoid variant. *Human Pathology* (2008) 39, 966-969
21. Carter MR, et al. (2006) Spindlencell (sarcomatoid) carcinoma of the breast: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of 29 cases. *Am J Surg Pathol* (2006) 30, 300-309
22. Boström AK, et al. (2012) Sarcomatoid conversion of clear cell renal cell carcinoma in relation to epithelial-to-mesenchymal transition. *Human Pathology* (2012) 43, 708-719
23. Galichon P, et al. (2013) EMT-MET in renal disease: should we curb our enthusiasm? *Cancer letters*341 (2013) 24-29
24. Conant JL, et al. (2011) Sarcomatoid renal cell carcinoma is an example of epithelial-mesenchymal transition. *J Clin Pathol* (2011) 64(12), 1088-1092
25. Leibl S, et al. (2005) Metaplastic breast carcinomas: Are they of myoepithelial differentiation? Immunohistochemical profile of the sarcomatoid subtype using novel myoepithelial markers. *Am J Surg Pathol* (2005) 29, 347-353