HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	早期舌扁平上皮癌における頸部リンパ節後発転移・局所再発に関連する因子の臨床病理学的検討
Author(s)	長, 太一
Citation	北海道歯学雑誌, 36(2), 110-119
Issue Date	2016-03
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/60950
Type	journal article
File Information	36-02_09_Cho.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北海道歯誌　36：110−119，2016.

原　著

早期舌扁平上皮癌における頸部リンパ節後発転移・局所再発に関連する因子の臨床病理学的検討

長　　太一

抄　録：

【目的】口腔癌の術後再発や頸部リンパ節後発転移は患者の予後と密接な関係を有している．舌扁平上皮癌早期症例を臨床病理学的に検索し，局所再発と頸部リンパ節後発転移との関連性をもつ因子について検討した．

【材料と方法】1988年から2012年までの25年間に北海道大学歯学部付属病院口腔外科および北海道大学病院口腔外科で根治切除を行った舌扁平上皮癌の中でStage 1，Stage 2の早期症例は98例だった．この98例中，病理学的に後向きな検索が可能であった81例を対象とし，臨床病理学的な検索を行った．検索症例の浸潤様式はTotsukaらに従い浸潤型と膨張型に分類した．摘出物の腫瘍に隣接する粘膜上皮を病理学的に検索し，異型のみられたものは頭頸部癌取り扱い規約に準じてLow grade dysplasiaとHigh grade dysplasiaに分類した．さらにp53，Ki-67，ALDH1，Podoplaninに対する免疫染色を行い，腫瘍細胞における陽性細胞率の計測と，腫瘍に隣接する上皮におけるp53，Ki-67，Podoplanin，ALDH1陽性細胞率の計測とPodoplanin陽性細胞の分布について検討した．

【結果と考察】対象とした81例中，10例に局所再発，20例に頸部リンパ節後発転移を認めた．再発，転移の両方を認めたものは２例あった．頸部リンパ節後発転移をきたした症例では，腫瘍が浸潤性増殖をしめすものとPodoplanin陽性細胞比率の高い症例で有意の相関を認めたが，p53，Ki-67，ALDH1陽性細胞比率との有意な相関は認めなかった．さらに膨張型増殖を示す腫瘍でもPodoplanin陽性細胞比率の高い症例は転移活性が高いことが示された．再発症例と非再発症例間で，腫瘍に隣接する上皮におけるp53，Ki-67，ALDH1陽性細胞比率と再発との有意な差は認められなかったが，細胞異型の程度とPodoplaninの陽性細胞比率，発現様式と再発との間に有意の相関を認め，異型のないものやLow grade dysplasia症例でもPodoplanin陽性細胞率とPodoplanin Scoreとの間に有意な相関を認めた．

以上の所見は，頸部リンパ節後発転移は腫瘍細胞の浸潤活性に加えてPodoplanin陽性細胞の増加が関与していること，腫瘍の再発には腫瘍に隣接する粘膜上皮の異型の有無および癌幹細胞で発現することが報告されているPodoplanin発現が術後再発の因子であることを示しており，従来の病理組織学的検索に加えてPodoplanin発現について検索することが，再発や転移の予測因子の指標となることが考えられた．

キーワード：舌扁平上皮癌，局所再発，頸部リンパ節後発転移，癌幹細胞

緒　　言

口腔癌治療の成績向上のためには局所および転移リンパ節の制御が重要である．早期舌癌において一般的に局所再発率は11～24％[1-6]，頸部リンパ節後発転移率は4.9～24.9％[1, 4, 7, 10] 程度と言われている．口腔領域の悪性腫瘍手術では，機能温存のために必要最小限の切除が理想であり，術中迅速診断で切除断端に腫瘍や異型細胞のみられない症例では追加切除を行わない．これまでに浸潤様式と頸部リンパ節後発転移との関連や異型上皮と局所再発の関連は多く報告されている．浸潤型を示すものと転移，High grade dysplasiaからの再発などは多く報告されているが，浸潤様式が膨張型であるのにも関わらず頸部リンパ節後発転移する症例や異型上皮がみられないのに局所再発する症例がある．このため，従来の臨床病理学的解析に加えて局所再発や頸部リンパ節転移に関与する因子の解明ができれば，治療の一助になる．今回の検索では，舌に発生した口腔扁平上皮癌早期症例の切除標本を用いて，臨床病理学的に検索するとともにp53，Ki-67，ALDH1，Podoplaninの発現と局所再発･頸部リンパ節後発転移との関連を検討した．

〒060−8586 札幌市北区北13条西７丁目
北海道大学大学院歯学研究科　口腔病態学講座　口腔顎顔面外科学教室（主任：鄭　漢忠　教授）

対象および方法

1．検索対象

1988年から2012年までの期間に北海道大学病院口腔外科で根治切除を行った舌扁平上皮癌Stage 1，Stage 2症例98例中病理学的に後向き検索が可能であった81例を対象とした．試料が不十分だったものおよび再発・転移のなかったものは経過観察期間が２年未満のものは除外した．

2．研究方法

⑴　病理組織学的検索

10%中性緩衝ホルマリン固定パラフィン包埋試料から，５μm連続薄切切片を作製後，一部はH-E染色を施し，浸潤様式をTotsukaら[11]の分類に準じて膨張型と浸潤型に分類した（図１）．腫瘍に隣接する粘膜上皮で異型の有無を検索し，異型のみられたものでは異型の程度を頭頸部癌取扱い規約[12]に準じてLow grade dysplasiaとHigh grade dysplasiaに分類した（図２）．

⑵　免疫組織学的検索

薄切切片を脱パラフィン，脱水処理後，Tris-EDTA（TE）バッファー中で熱処理抗原賦活化を行い，３% H_2O_2で５分間処理し内因性ペルオキシダーゼ活性を阻害した．リン酸緩衝液（PBS）で洗浄し，3% bovine serum albmin（BSA）を用いて30分間処理し非特異的反応の阻止を行った．一次抗体は適切な濃度に希釈後（Podoplanin, p53, Ki-67 ; 1 : 100, ALDH1 ; 1 : 1000）（Santa Cruz, Santa Cruz, CA, USA），室温で60分間反応させた．二次抗体としてSimple Stain Max PO（M）（Nichirei Bioscience, Tokyo, Japan）を37℃で30分間作用させた．その後Chem Mate EnVision kit/HRP（Dako, Tokyo, Japan）にて発色を行い，ヘマトキシリンで核染色を行った．水洗後，脱水，透徹を行い封入し，光学顕微鏡にて検鏡した．腫瘍細胞のおよび腫瘍に隣接する上皮の陽性率は，任意に選んだ３か所より総数1000個の細胞を観察し，そのうち陽性細胞の占める平均の割合をその個体の陽性率とした．またPodoplaninの陽性細胞分布はKawaguchiら[13]のスコアリングに準じて，Score 0を発現のないもの，Score 1を基底細胞層にリニアに発現のあるもの，Score 2を基底細胞層から上層に１個のスポットで発現があるもの，Score 3を基底細胞層から上層に２個のスポットに発現があるもの，Score 4は基底細胞層から上層に３個以上のスポットのあるものとした（図３）．

3．統計学的解析

統計学的解析には，統計ソフトSPSSⅡ（IBM，東京）を使用し，Mann-Whitney-U検定およびFischerの直接（確立）法を用い，危険率5%以下を有意とした．

結　　果

検索対象とした81例の内訳は男性45例（55.6%），女性36例（44.4%），初診時の年齢は19～86歳で中央値は63歳だった．腫瘍の大きさはT1が39例，T2が42例で初診時にリンパ節転移，遠隔臓器への転移は認められなかった．治療法は75例が手術単独，手術と放射線療法を併用したものが６例，経過観察期間は１か月から22年３か月だった．81例中10例（12.3%）に局所再発，20例（24.7%）に頸部リンパ節後発転移を認めた．局所再発と頸部リンパ節後発転移の両方を認めたものは２例あった．局所再発までの期間は５か月から９年７か月で中央値は31か月であった．頸部リンパ節後発転移までの期間は１か月から12か月で中央値は３か月であった．なお，いずれの症例でも摘出物切除断端上皮に腫瘍は認めなかった．

腫瘍の浸潤様式と頸部リンパ節後発転移について検討した．膨張型47例中，40例では転移がみられず後発転移は７

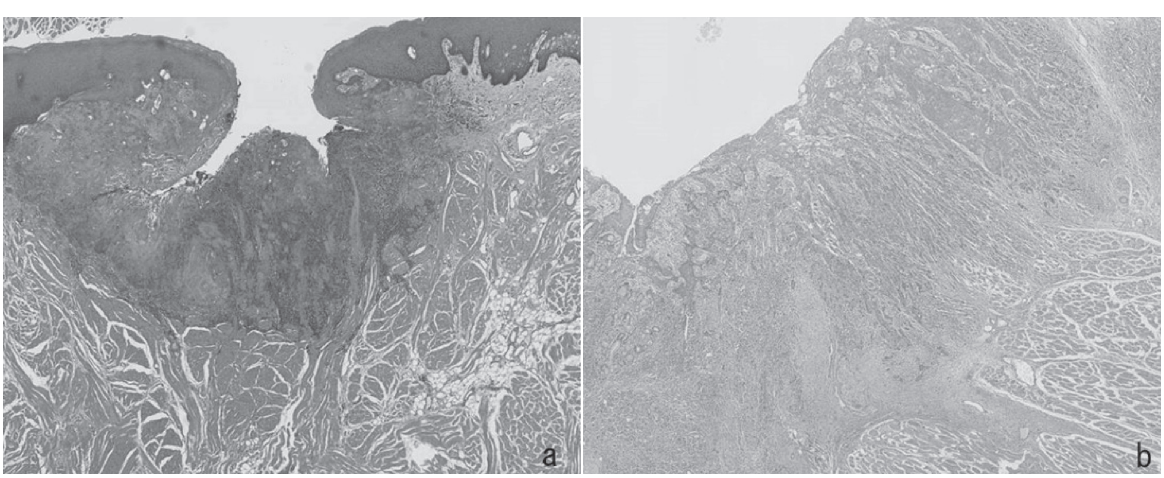

図１　浸潤様式

a）膨張型増殖を示す腫瘍では浸潤性増殖はみられるものの腫瘍と深部筋組織との境界は比較的明瞭である．

b）浸潤型のものでは筋線維束間に腫瘍細胞が小型の胞巣を形成しながら浸潤している．

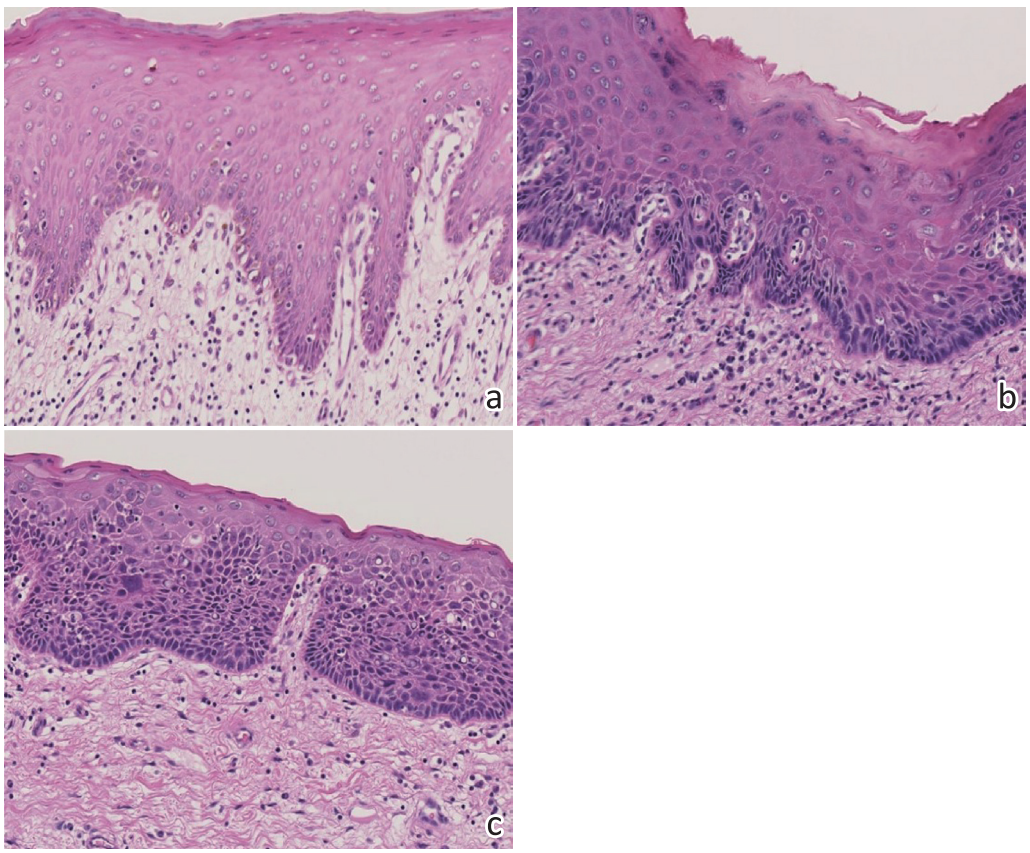

図２　上皮異型の程度

a）異型のないものでは表層の角化亢進はみられるが，基底細胞は単層で細胞異型はみられない．b）Low grade dysplasiaでは，多層化した基底細胞に軽度の異型がみられるが，分化の方向性は保たれている．c）High grade dysplasiaでは，異型を増した基底細胞様細胞が表層近くまで分布している．

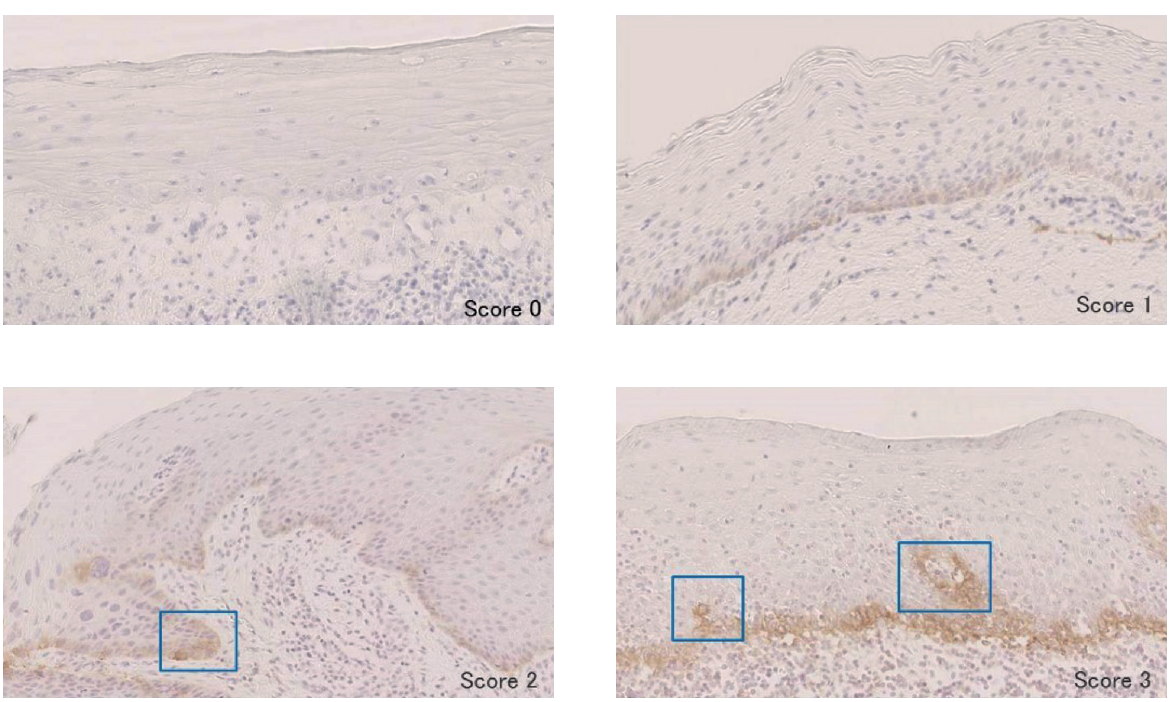

図３　Podoplaninの陽性細胞分布

Score 0は発現のないもの，Score 1は基底細胞層にリニアに発現のあるもの，Score 2は基底細胞層から上層に１個のスポットで発現があるもの，Score 3は２個のスポットに発現があるものとした．

例みられたのみだったが，浸潤型増殖を示す腫瘍では34例中13例に転移がみられ，浸潤様式と転移には有意な相関が認められた（P=0.01）（表１）．

腫瘍細胞のp53, Ki-67, ALDH1, Podoplaninの発現と頸部リンパ節後発転移について検索した結果，腫瘍細胞のp53陽性細胞率（平均陽性率±標準誤差）は非転移症例では17.2%±2.,2，転移症例では20.1%±1.3（P=0.38）．Ki-67陽性細胞率は非転移症例では16.5%±1.3，転移症例では17.5%±1.5（P=0.36）．ALDH1陽性細胞率は非転移症例では13.3%±1.3，転移症例では14.7%±1.5（P=0.20）（図４）で，いずれもリンパ節後発転移と有意の差は認められなかったが，腫瘍細胞のPodoplaninの陽性細胞率は非転移症例では9.3%±1.0，転移症例では19.6%±2.3で，Podoplanin陽性細胞率と非転移・転移症例の間には有意な相関を認めた（P=0.001）（図５）．

表１　浸潤様式と後発転移の有無

	膨張型（N=47）	浸潤型（N=34）
転移なし	40	21
転移あり	7	13

膨張型47例中７例に転移を認め，浸潤型34例中13例に転移を認めた．浸潤様式と非転移・転移症例間には有意な相関を認めた（P＝0.01）．

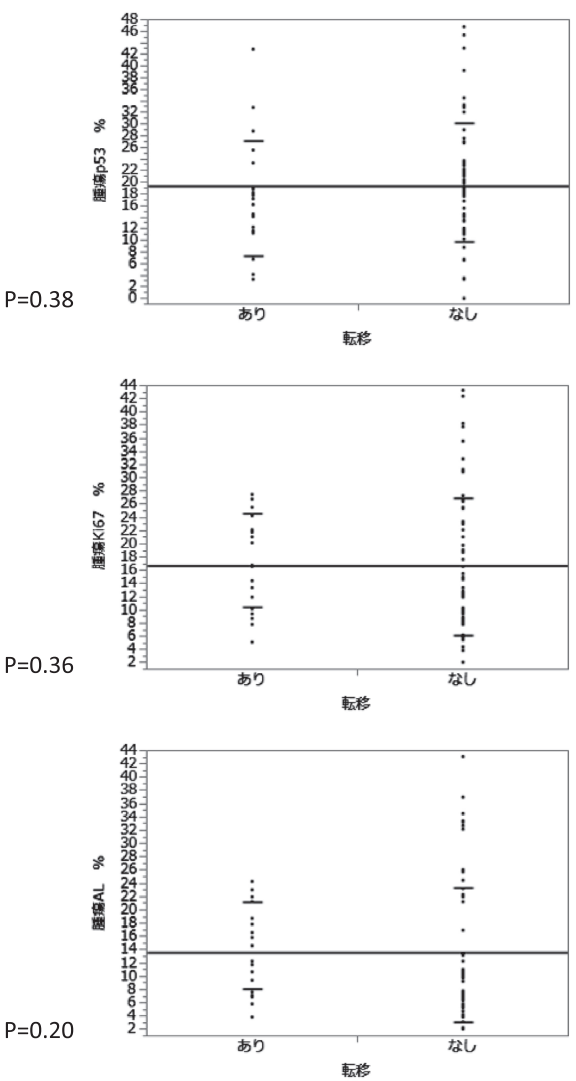

図４　腫瘍細胞におけるp53, Ki-67, ALDH1陽性細胞率と後発転移の有無

腫瘍細胞におけるp53, Ki-67, ALDH1陽性細胞率と後発転移との間には有意な相関は認められなかった（P=0.38, P=0.36, P=0.20）．

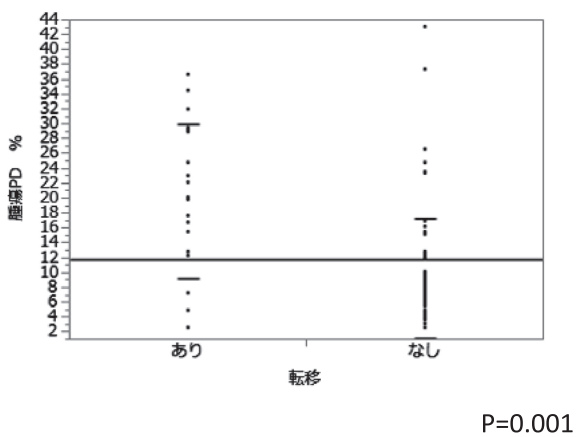

図５　腫瘍細胞におけるPodoplanin陽性細胞率と後発転移の有無

腫瘍細胞におけるPodoplanin陽性細胞率と後発転移との間には有意な相関を認めた（P=0.001）．

膨張型増殖を示す腫瘍では浸潤型増殖を示す腫瘍に比較して頸部リンパ節後発転移が有意に少なかったが，膨張型増殖を示す腫瘍でも７例に転移がみられたため，膨張型増殖を示す腫瘍における腫瘍細胞のPodoplanin，ALDH1発現と頸部リンパ節頸部後発転移について検討した．腫瘍細胞のALDH1陽性細胞率は非転移症例では12.9%±1.6，転移症例では16.1%±2.6で，非転移・転移症例の間には有意な相関を認められなかった（P=0.28）が，Podoplanin陽性細胞率は非転移症例では9.9%±1.2，転移症例では18.3%±3.2で，膨張型増殖を示す腫瘍でもPodoplanin陽性細胞率の高い症例では有意に転移活性が高いことが示された（P=0.03）（図６）．

局所再発は10例に認められ，９例は切除断端からの再発で深部再発は１例のみだった．再発症例の病理学的浸潤様式は膨張型腫瘍47例中４例，浸潤型増殖腫瘍34例中６例で，深部断端に再発したものは浸潤増殖型腫瘍だった．浸潤型増殖を示すものに局所再発がやや多い傾向があったが，浸潤様式と局所再発の間に有意な相関は認められなかった（P=0.3）（表２）．

腫瘍に隣接する粘膜上皮の性状を病理学的に検索し，異型のみられなかった65例では４例に再発がみられ，軽度異

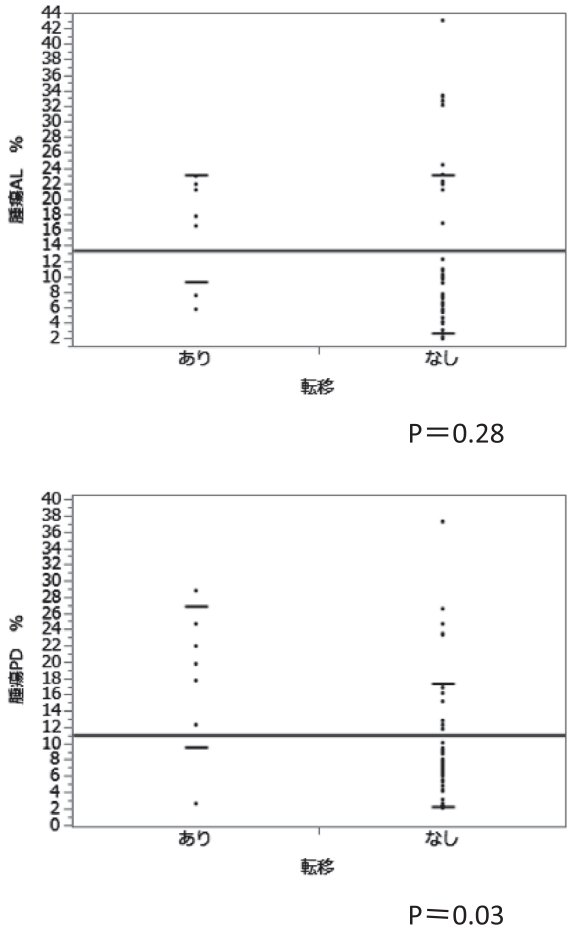

図６　膨張型での腫瘍細胞のALDH1, Podoplanin陽性細胞率と後発転移の有無

膨張型での腫瘍細胞のALDH1陽性細胞率と後発転移には有意な相関は認めなかったが（P＝0.28），Podoplanin陽性細胞率と後発転移の間には有意な相関を認めた（P＝0.03）.

表２　浸潤様式と局所再発の有無

	膨張型 (N=47)	浸潤型 (N=34)
再発なし	43	28
再発あり	4	6

膨張型47例４例に浸潤型34例中６例に局所再発を認めた. 浸潤型を示すものに局所再発がやや多い傾向を示す浸潤様式と局所再発の間には有意な相関は認められなかった (P=0.3).

型を示すLow grade dysplasiaでは８例中３例，高度異型を示す細胞がみられたHigh grade dysplasia８例中３例に再発が認められた．有意差検定を行ったところ，高度異型を示す症例とその他の群には再発リスクについて有意の差が認められた（P=0.02）（表３）.

p53，Ki-67，ALDH1，Podoplaninの腫瘍に隣接する粘膜上皮における発現と再発について関係では，p53陽性細胞率は非再発症例では11.6%±0.7と再発症例では13.6%±2.4（P=0.39）．Ki-67陽性細胞率は非再発症例では11.5%±

表３　上皮異異型と局所再発の有無

上皮異型	なし (N=65)	Low grade dysplasia (N=8)	High grade dysplasia (N=8)
再発なし	61	5	5
再発あり	4	3	3

異型のないものとLow grade dysplasia群・High grade dysplasia群と非再発･再発症例間には有意な相関を認めた(P＝0.02).

0.7，再発症例では14.0%±2.2（P=0.28），ALDH1陽性細胞率は非再発症例では8.1%±0.8，再発症例では12.4%±3.0（P=0.08）（図７）で，いずれも陽性細胞率と非再発・再発症例の間には有意な相関を認めなかった．これに対して，

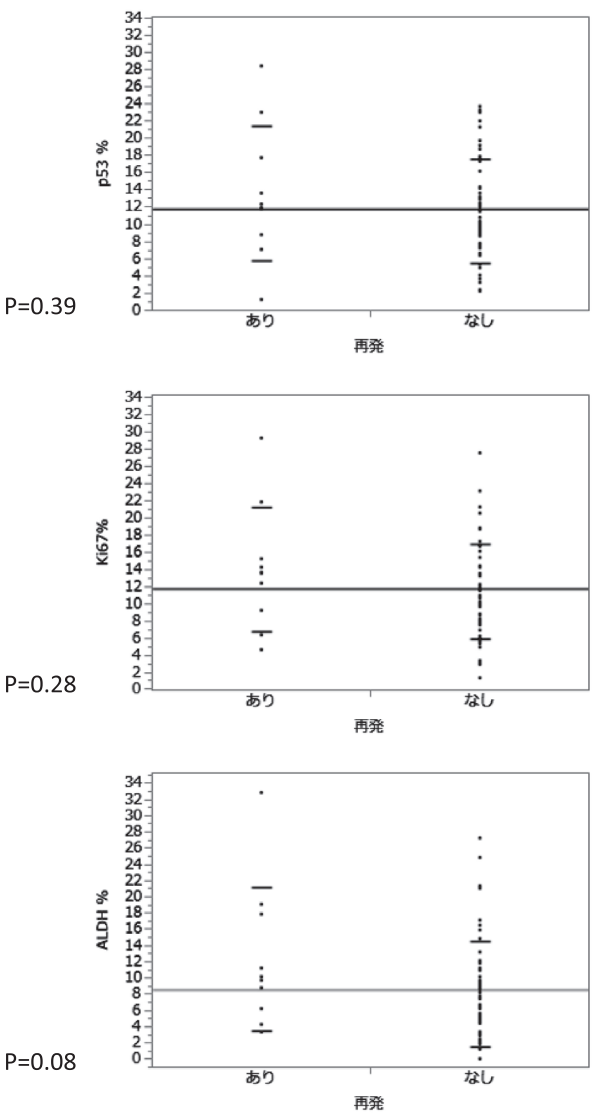

図７　腫瘍に近接する上皮におけるp53, Ki-67, ALDH1陽性細胞率と局所再発の有無

腫瘍に近接する上皮におけるp53, Ki-67, ALDH1陽性細胞率と局所再発との間に有意な相関を認めなかった（P=0.39, P=0.28, P=0.08）.

腫瘍に隣接する粘膜上皮のPodoplanin陽性細胞率は非再発症例では5.8%±0.9，再発症例では11.2%±1.6（P=0.01）でPodoplanin陽性細胞率と再発に有意に相関がみられた（図８）．さらに，腫瘍に隣接する上皮のPodoplaninの陽性細胞の分布様式についてPodoplanin陽性細胞がみられないScore 0，基底細胞層にリニアな発現のみられるScore 1，基底細胞層に加えて上層１カ所にスポット状に陽性細胞のみられるScore 2，２カ所のスポット発現のみられるScore 3に分類し，Score 0～１群およびScore 2～3群との間で検討を行った．なお，３カ所以上のスポット発現のみられるScore 4症例は今回の検索では認めなかった．非再発症例ではScore 0～1群は59例，Score 2～3群は12例，再発症例ではScore 0～1群は６例，Score 2～3群は４例で腫瘍に隣接する上皮のPodoplanin陽性細胞の分布と非再発・再発症例の間には有意な相関を認めた（P=0.03）（表４）．

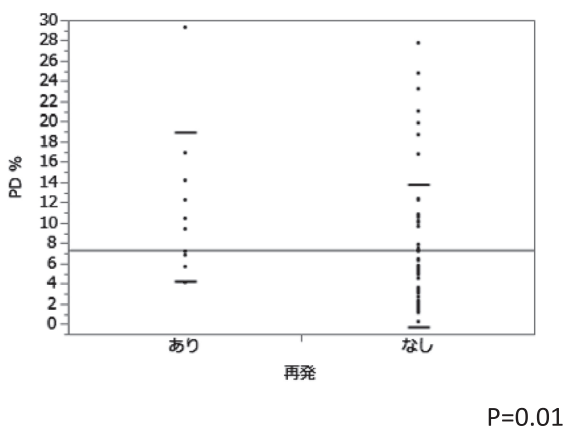

図８　腫瘍細胞とPodoplanin陽性細胞率と局所再発の有無
Podoplanin陽性細胞率と局所再発との間に有意な相関をみとめた（P=0.01）．

表４　腫瘍に近接する上皮におけるPodoplaninの分布と局所再発の有無

Score	0～1 (N=65)	2～3 (N=16)
再発なし	59	12
再発あり	6	4

Score 0～1群では65例中6例，Score 2～3群では16例中4例に再発を認めた．腫瘍に隣接する上皮のPodoplanin陽性細胞の分布と非再発･再発症例間に有意な相関を認めた(P=0.01)．

腫瘍に隣接する上皮に高度の異型がみられた症例での再発が有意に多いことが示されたが，異型がみられなかった65例およびLow grade dysplasiaで８症例でも７例に再発がみられたことから，これらの症例におけるPodoplanin，ALDH1発現と局所再発について検討した．73例において腫瘍隣接粘膜上皮におけるALDH1陽性細胞率は非再発症例では7.7%±0.7，再発症例では10.8%±3.8で有意の差は認められなかったが（P＝0.43），Podoplanin陽性細胞率は非再発症例では5.8%±0.9，再発症例では10.7%±1.6でPodoplanin陽性細胞率と非再発・再発症例の間には有意な相関を認めた（P=0.01）（図９）．さらにPodoplanin陽性細胞の分布においても，再発はScore 0～1群61例中４例，Score 2～3群12例中３例にみられ，Podoplanin陽性細胞の分布と非再発・再発症例の間には有意な相関を認めた（P=0.04）（表５）．

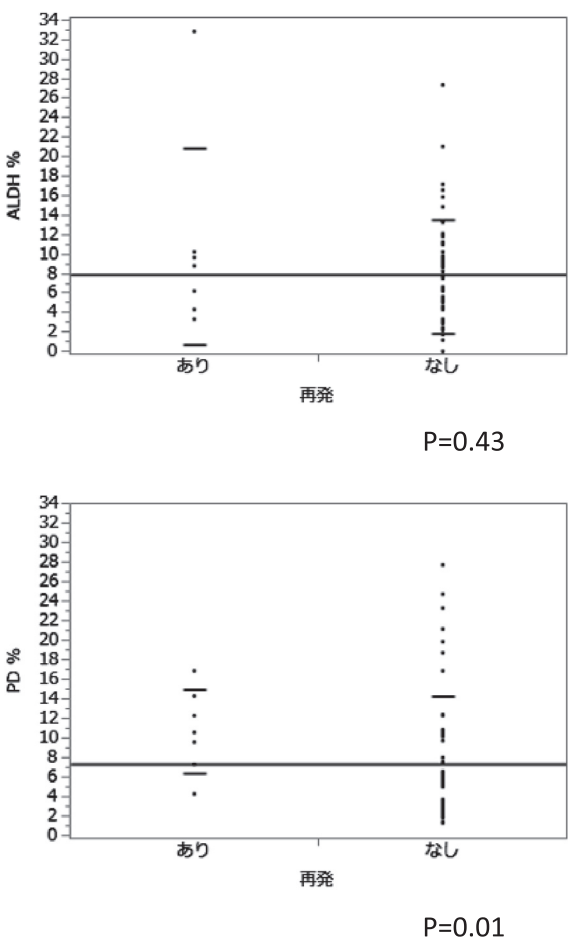

図９　異型がないもの，Low grade dysplasiaでの腫瘍に隣接する上皮のPodoplanin，ALDH1陽性細胞率と局所再発の有無
腫瘍に隣接する上皮のALDH1陽性細胞率と局所再発との間には有意な相関は認められなかったが（P=0.43），Podoplanin陽性細胞率と局所再発には有意な相関を認めたが（P=0.01）．

表５　異型がないもの，Low grade dysplasiaでの腫瘍に隣接する上皮のPodoplaninの分布と局所再発の有無

Score	0～1 (N=61)	2～3 (N=12)
再発なし	57	9
再発あり	4	3

Score 0～1群では61例中4例に再発を認めた．Score 2～3群では12例中３例に再発を認めた．Podoplanin陽性細胞の分布と非再発･再発間には有意な相関をみとめた(P=0.04)．

考 察

早期癌の治療にあたっては，外科的切除が治療法として選択され腫瘍を完全に除去することで完治することが多いが，早期癌においても腫瘍の再発と転移がみられることがあり，患者の予後に大きな影響を及ぼす．口腔扁平上皮癌の予後を左右する因子として腫瘍の浸潤様式が重要であることが示されている[14]．今回の検索でも，浸潤性発育を示す症例では有意に後発転移が多く，初診時頸部リンパ節転移が臨床的に認められない症例でも十分な経過観察をする必要があることを示している．外科的切除の際には周囲に安全域を設定しているが，今回の検索では81例中10例に再発が認められた．腫瘍の浸潤様式と再発には有意の差は認められず，再発部位は摘出物の切除断端から発生するものが大部分を占めていたため，腫瘍周囲の粘膜上皮の病理学的検索を行った．これまで，異型程度と再発率の相関は明らかではないという報告[14]や原発巣再発率は上皮異型のない症例では7.6%，上皮異型ある症例では17.9%と上皮異型ある症例で有意に高い報告がある[15]が，今回の検索では上皮異型の程度と再発との間に有意の相関が認められ，摘出物の腫瘍に隣接する上皮の異型の有無および程度を検索する重要性が示された．

p53は代表的ながん抑制遺伝子で，転写因子としての機能をもち，細胞周期の停止，遺伝子修復，アポトーシスの誘導など多彩な機能をもつことが知られている．がん細胞では高頻度に変異がみられることが報告され，口腔癌でも50%以上の症例で変異が認められている．変異したp53はユビキチン化されることなく核に蓄積されることからがん細胞の免疫染色で陽性を示すものが多いときには変異型p53をゲノムにもっていると考えられる．今回対象とした症例でp53陽性比率を検討したが，転移症例と非転移症例で有意の差はみられず，再発との関連も認められなかった．このような所見はp53の変異は細胞がん化の際には重要な役割を演じているが，がん化した細胞の浸潤とは直接関与しないため転移との関連性が少ないこと，再発においてもp53変異の有無とは関連しないことが考えられた．

細胞増殖は成長因子の刺激を受けた細胞がG1期からS期やG2期を経てM期に至る細胞周期の回転として現れ，Ki-67は細胞周期に入っている増殖細胞の核に発現し，細胞の増殖活性の指標となる．口腔扁平上皮癌では分化度が低いほど陽性細胞数の増加が認められ，特に浸潤部におけるKi-67の発現頻度と再発，転移との相関が報告[16–19]されている一方で，腫瘍増殖マーカーであるKi-67が再発，転移の適切な評価になり得ていないとの報告もある[20, 21]．今回の検索では，Ki-67の陽性細胞比率局所再発および後発転移との間に有意な相関は認められず，細胞増殖活性は口腔扁平上皮早期癌の予後予測因子とはならないことが示された．

細胞がん化の過程でがん細胞は必ずしも均質な細胞の集塊ではなく，癌細胞の分化や増殖を長期にわたり維持する癌幹細胞が存在し，抗がん剤への治療抵抗性や転移能，再発など悪性化に密接な関わりをもつと考えられている[22]．ALDH1は細胞内のアルデヒドをカルボン酸への酸化を触媒する酵素で，一般に解毒酵素とみなされているが，その一方で，幹細胞に発現するマーカーの一つとしても報告されている．口腔粘膜にはほとんど発現しておらずWeiら[23]が白板症の悪性転化のリスクファクターとして報告している．また，腫瘍血管内皮細胞ではALDH1を高発現し，このような細胞では血管新生機能が高いことが示されている．今回の研究では局所再発，後発転移とALDH1陽性細胞比率との間には有意の相関は認めなかったが，これはALDH1陽性細胞は腫瘍細胞の増殖には関与しているが，再発・転移との直接の関連性が低いことが考えられた．

Podoplaninは，162個のアミノ酸からなり38～43kDaの分子量をもつC末端に膜貫通部位を有した１型糖タンパク質で，1988年に渡辺ら[24]によりマウス結腸癌に高発現し，血小板凝集活性がある糖タンパク質としてみいだされた．マウスではヒトのPodoplaninの相同体であるPA2.26が発癌時に上昇し[25]，上皮角化細胞の細胞間連結装置不安定化，細胞膜の伸長，運動能の向上を示し，悪性進行に関与することが示唆されている[26, 27]．さらに，Martin-Villarら[28]はPodoplaninがRhoAを活性化してepthelial-mesenchymal transition（EMT）を誘導し，細胞の運動や浸潤を促進すると報告している．一方で，PodoplaninはEMTとは無関係に集合細胞での浸潤に関与すると相反する報告もある[29, 30]．腫瘍細胞の浸潤・転移におけるPodoplanin の関与が注目され，皮膚扁平上皮癌で腫瘍細胞の脱分化によりPodoplaninが高発現し，とくに再発した症例において強い陽性反応がみられることが示されている[31]．またMatsuwakiら[32]は肺扁平上皮癌でリンパ節転移と相関していると報告している．Vicenteら[33]，Kreppelら[34]により白板症などの前癌病変でもその発現が認められ，Podoplaninの高い発現が癌化のリスクファクターの１つとして紹介されている．今回の研究では腫瘍に近接する異型を認める上皮の基底層の細胞にPodoplaninの高い発現を認めた．高いPodoplanin Scoreや高い陽性率のものは幹細胞が局在している可能性を示し，Podoplanin陽性細胞は細胞間結合の不安定化，運動能亢進により転移に関与したこと，上皮細胞の脱分化・上皮間葉移行などの悪性転換活性の亢進により再発が生じたのではないかと考えられた．

以上から，浸潤様式や上皮の異型の程度などの従来からの病理組織学検索加え，幹細胞マーカーであるPodoplaninを免疫組織学的検索に用いることは再発や転移を予測するのに有用である可能性が示唆された．

結　　論

腫瘍の再発には癌幹細胞で発現することが報告されているPodoplaninの発現が異型上皮細胞にみられる症例では，術後再発の危険性が増していること，頸部リンパ節後発転移は腫瘍細胞の浸潤活性に加えてPodoplanin陽性細胞の増加が関与していることを示しており，従来の病理組織学的検索に加えてPodoplanin発現を免疫組織学的に明らかにすることが，再発や転移などの予後を判定する一つの指標となることが考えられた．

謝　　辞

稿を終えるにあたり，本研究に多大なるご支援とご協力をいただきました北海道大学歯学研究科口腔顎顔面外科学教室の諸先生方に心よりお礼を申し上げます．

参 考 文 献

1）松浦一登, 林　隆一, 海老原敏, 斎川雅久, 山崎光男, 門田伸也, 清野洋一, 木股敬裕, 桜庭　実, 菱沼茂之：舌扁平上皮癌一次治療症例（274例）の手術治療成績. 頭頸部癌, 30 : 550-557, 2004.

2）黒川英雄, 山下善弘, 松本　忍, 高橋　哲, 迫田隅男：Stage I，II舌扁平上皮癌における周辺上皮の上皮異形成について. 頭頸部癌, 32 : 455-458, 2006.

3）Po Wing Yuen A, Lam KY, Lam LK, Ho CM, Wong A, Chow TL, Yuen WF, Wei WI : Prognostic factors of clinically stage I and II oral tongue carcinoma-A comparative study of stage, thickness, shape, growth pattern, invasive front malignancy grading, Martinez-Gimeno score, and pathologic features. Head Neck, 24 : 513-520, 2002.

4）楠川仁悟，亀山忠光：口腔扁平上皮癌に対するExcisional biopsyの適応と実際. 口腔腫瘍, 13 : 261-265，2001.

5）日本口腔腫瘍学会学術委員会編：舌癌取扱い指針　ワーキング・グループ案（第１版）．口腔腫瘍, 21 : 121-185, 2009.

6）姉川絵美子, 古賀　真, 岩本　修, 楠川仁悟：臨床発育様式からみたT1，T2舌扁平上皮癌の悪性度評価に関する臨床病理学的検討. 口腔腫瘍, 18 : 83-89, 2006.

7）丸岡靖史, 安藤智博, 星野　真, 三宮慶邦, 扇内秀樹：舌癌N0症例の臨床的検討. 頭頸部腫瘍, 29 : 51-57, 2003.

8）狩野岳史，砂川　元：舌扁平上皮癌の臨床病理学的所見と口腔内超音波所見との関連について. 頭頸部癌, 31 : 8-14, 2005.

9）Kurokawa H, Yamashita Y, Takeda S, Zhang M, Fukuyama H, Takahashi T : Risk factors for late cervical lymph node metastasis in patients with stage I or II carcinoma of the tongue. Head Neck, 24 : 731-736, 2002.

10）亀卦川昭宗：口腔扁平上皮癌及びその前癌病変におけるp53癌遺伝子産物の発現に関する研究. 口病誌, 68 : 51-59, 2001.

11）Totsuka Y, Usui Y, Tei K, Fukuda H, Shindo M, Iizuka T, Amemiya A : Mandibular involvement of squamous cell carcinoma of the lower alveolus: analysis and comparative study of histologic and radiologic features. Head & Neck, 13 : 40-50, 1991.

12）日本頭頸部腫瘍学会・編：頭頸部癌取扱い規約. 改訂第５版，51，金原出版，東京，2012.

13）Kawaguchi H, El-Naggar AK, Papadimitrakopoulou V, Ren H, Fan YH, Feng L, Lee JJ, Kim E, Hong WK, Lippman SM, Mao L : Podoplanin : a novel marker for oral cancer risk in patients with oral premalignancy. J Clin Oncol, 26 : 354-360, 2008.

14）Barnes L, Eveson J W, Reichart P, Sidransky D : WHO Classification of Tumours, Pathology and Genetics of Head and Neck Tumours, IARC Press, London, 168-175, 2005.

15）楠川仁悟, 亀山忠光：口腔扁平上皮癌に対するExcisional biopsyの適応と実際. 口腔腫瘍, 13 : 261-265, 2001.

16）Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H : Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. Int J Cancer, 31 : 13-20, 1983.

17）Tumuluri V, Thomas GA, Fraser IS : Analysis of the Ki-67 antigen at the invasive tumor front of human oral squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med, 31 : 598-604, 2002.

18）Tumuluri V, Thomas GA, Fraser IS : The relationship of proliferating cell density at the invasive tumor front with prognostic and risk factors in human oral squamous cell carcinoma. J Oral Pathol Med, 33 : 204-208, 2004.

19）Tsukinoki K, Kamoi Y, Watanabe Y : Immunohistochemical Study of DNA Topoisomerase Type II Alpha and Ki-67 in Oral Squamous Cell Carcinoma. Oral Med Pathol, 6 : 79-84, 2001.

20）Meis-Kindblom JM, Kindblom LG, Enzinger FM : Sclerosing epithelioid fibrosarcoma. A variant of fibrosarcoma simulating carcinoma. Am J Surg Pathol, 19 : 979-993, 1995.

21）Leonardi E, Girlando S, Serio G, Mauri FA, Perrone G, Scampini S, Dalla Palma D, Barbareschi M : PCNA and Ki67 expression in breast carcinoma : correlations with clinical and biological variables. J Clin Pathol, 45 : 416-419, 1992.

22) Hanahan D, Weinberg R A : Hallmarks of cancer : the next generation. Cell, 144 : 646-674, 2011.
23) Wei L, Lan W, Xue-Min S, Lin-Jun S, Chen-Ping Z, Li-Qun X, Zeng-Tong Z : Expression patterns of cancer stem cell markers ALDH1 and CD133 correlate with a high risk of malignant transformation of oral leukoplakia. Int J Cancer, 132 : 868-874, 2013.
24) Watanabe M, Okochi E, Sugimoto Y and Tsuruo T : Identification of a platelet-aggregating factor of murine colon adenocarcinoma 26 Mr 44,000 membrane protein as determined by monoclonal antibodies. Cancer Res, 48 : 6411-6416, 1988.
25) Gandarillas A, Scholl FG, Benito N, Gamallo C, Quintanilla M: Induction of PA2.26, a cell-surface antigen expressed by active fibroblasts, in mouse epidermal keratinocytes during carcinogenesis. Mol Carcinog, 20, 10-18, 1997.
26) Scholl FG, Gamallo C, Vilaró S, Quintanilla M : Identification of PA2.26 antigen as a novel cell-surface mucin-type glycoprotein that induces plasma membrane extensions and increased motility in keratinocytes . J Cell Sci, 112 : 4601-4613, 1999.
27) Scholl FG, Gamallo C, Quintanilla M : Ectopic expression of PA2.26 antigen in epidermal keratinocytes leads to destabilization of adherens junctions and malignant progression.Lab Invest, 80 : 1749-1759, 2000.
28) Martín-Villar E, Megías D, Castel S, Yurrita MM, Vilaró S, Quintanilla M : Podoplanin binds ERM proteins to activate RhoA and promote epithelial-mesenchymal transition. J Cell Sci, 119 : 4541-4553, 2006.
29) Wicki A, Lehembre F, Wick N, Hantusch B, Kerjaschki D, Christofori G : Tumor invasion in the absence of epithelial-mesenchymal transition : podoplanin-mediated remodeling of the actin cytoskeleton. Cancer Cell, 9 : 261-272, 2006.
30) Wicki A, Christofori G. : The potential role of podoplanin in tumour invasion.Br J Cancer, 96 : 1-5, 2007.
31) Schacht V, Dadras SS, Johnson LA, Jackson DG, Hong YK, Detmar M : Up-regulation of the lymphatic marker podoplanin, a mucin-type transmembrane glycoprotein, in human squamous cell carcinomas and germ cell tumors. Am J Pathol, 166 : 913-921, 2005.
32) Matsuwaki R, Ishii G, Zenke Y, Neri S, Aokage K, Hishida T, Yoshida J, Fujii S, Kondo H, Goya T, Nagai K, Ochiai A : Immunophenotypic features of metastatic lymph node tumors to predict recurrence in N2 lung squamous cell carcinoma. Cancer Sci, 105 : 905-911, 2014.
33) Vicente JC, Rodrigo JP, Santamarta TR, Fernández PL, Allonca E, Juana María García-Pedrero : Podoplanin expression in oral leukoplakia : Tumorigenic role. Oral Oncology, 49 : 598-603, 2013.
34) Kreppel M, Kreppel B, Drebber U, Wedemayer I, Rothamel1 D, Zöller JE, Scheer M : Podoplanin expression in oral leukoplakia : prognostic value and clinicopathological implications. Oral Diseases, 18 : 692-699, 2012.

ORIGINAL

The clinicopathologic examination of local recurrence and secondary metastases to cervical lymph nodes factors in the tongue squamous cell carcinoma

Taichi Cho

ABSTRACT : Oral carcinoma in the early stages is now curable ; however, cases with local recurrence and subsequent metastasis have poor prognoses. I conducted experiments to identify the factors concerning recurrence and metastasis. Eighty-one cases of T1 and T2 tongue squamous cell carcinoma were investigated. Clinical examination showed local recurrences were found in 10 cases and secondary metastasis was observed in 20 cases. The invasion pattern of carcinoma was useful to predict secondary metastasis, and the degree of cellular atypia in epithelium adjacent to the carcinoma also had significant correlation with local recurrences. In addition to histological findings, the podoplanin expression ratio in cancer cells had a close relationship with metastasis. Podoplanin highly expressed cases of carcinoma tended to metastasize even in an expansive growth pattern of carcinoma. Podoplanin expression ratio and expression patterns in cancer adjacent epithelium also showed a correlation with local recurrences that were significant among histologically low-risk types of epithelium. It has been reported that podoplanin is expressed in cancer stem cells. The results suggest that the risk of recurrence and subsequent metastasis of early oral carcinoma could be predicted by podoplanin expression in combination with conventional histopathological findings.

Key Words : Tongue squamous cell carcinoma, Recurrence and metastasis, Podoplanin, Cancer stem cell

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Division of Oral Patho-biological Science, Graduated School of Dental Medicine, Hokkaido University (Chif : Prof. Kanchu Tei) Kita 13 Nishi 7, Kita-ku, Sapporo, Hokkaido, 060-8586, Japan