



ヒト口腔扁平上皮癌細胞および組織片のヌードマウス舌への同所性移植による浸潤・リンパ節転移に関する実験的研究

川越, 弘就
梅田, 正博
島田, 桂吉

(Citation)

神戸大学医学部紀要, 58(1/2/3):89-101

(Issue Date)

1997-12

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00177385>



ヒト口腔扁平上皮癌細胞および組織片のヌードマウス舌への 同所性移植による浸潤・リンパ節転移に関する実験的研究

神戸大学医学部口腔外科学講座（主任：島田 桂吉教授）

川越 弘就，梅田 正博，島田 桂吉

（平成9年10月17日受付）

要 旨

ヒト口腔扁平上皮癌由来樹立細胞株3株（HSC-2, HSC-3, HSC-4）を単離細胞状および組織片で、また手術時採取しヌードマウスで継代中の可移植株7株（KOS-4, 5, 6, 7, 8, 9, 10）を組織片でそれぞれヌードマウス舌に同所性移植し、局所浸潤および所属リンパ節転移について組織学的に検討した結果、以下の所見を得た。

- 1) いずれの移植材料ともヌードマウス舌への生着に成功し、生着率は29～100%であった。
- 2) 舌移植腫瘍は組織学的に周囲組織へ浸潤性に増殖していた。単離細胞移植と組織片移植とで組織像に明らかな差はなかった。
- 3) HSC-2, 3, 4およびKOS-5, 7, 8で頸部リンパ節転移を認めた。転移率は13～80%であった。
- 4) 以上の所見より、本実験モデルは口腔癌の局所浸潤、頸部リンパ節転移の *in vivo* の研究に有用と考えられた。

緒 言

近年、癌の浸潤・転移のメカニズムを解明するために、多くの *in vitro*, *in vivo* の研究が報告されるようになった^{1)~10)}。これらの研究には適切な実験モデルが不可欠であるが、一般に動物では自然転移をきたすことはまれなため、*in vivo* の実験モデルとしては高転移性の特殊な癌細胞を血管内に移植し、肺などへの血行性転移を検討するものがほとんどであった。最近 Fidler ら^{11)~18)} は、癌をそれが発生した臓器と同じ臓器に移植する、いわゆる同所性移植により高率に転移がみられることを報告し、それ以来いくつかの領域の癌で同所性移植による転移実験が試みられている。

口腔癌の転移モデルとしては、Take ら¹⁹⁾ のDMBA

誘導ハムスター舌癌の頸部リンパ節転移実験や、Fitch ら²⁰⁾、Dinensmen ら²¹⁾、川尻ら^{22) 23)} の口腔癌由来細胞のヌードマウス口底移植による頸部リンパ節転移実験などがあるが、前者は臨床腫瘍に類似し癌の浸潤・転移の全過程を再現するという利点がある反面、実験期間が長く転移率が低いという問題点があり、また後者は遊離細胞の移植のため浸潤の初期の過程を再現できず、また特殊な高転移性細胞を用いた実験であるという問題点がある。

われわれはこれまで口腔癌の治療方法や予後因子に関する一連の臨床病理学的研究^{24)~38)}を行ってきたが、今回、口腔癌の治療上の大きな問題点である頸部リンパ節転移について基礎的に研究するために、臨床に類似した浸潤・転移モデルの確立を試みることにした。まず、従来多くの基礎研究に用いられてきたが、皮下移植では自然転移を生じにくいとされる口腔癌由来細胞株HSC-2, HSC-3, HSC-4³⁹⁾をヌードマウス舌に移植し、その浸潤・転移像を観察した。次にこれら樹立細胞株をヌードマウス皮下で一旦増殖させ、その組織片を同様に舌に移植し細胞移植と比較するとともに、さらに臨床腫瘍を組織片のまま舌に移植、同様に浸潤・転移について観察したので、その概要を報告する。

材料及び方法

実験動物には4～6週齢・雌ヌードマウスBALB/cANCrj-nu/nu（日本チャールズリバー社製）を用い、Specific-Pathogen-Freeの状態に飼育した。なお、すべての動物実験は神戸大学医学部動物実験に関する指針に従って実施した。

移植実験は、移植材料の種類により、1) ヒト口腔扁平上皮癌由来樹立細胞株を単離細胞浮遊液として移植したもの（細胞移植群）、2) 樹立細胞株をヌードマウス皮下に移植、形成された皮下腫瘍を組織片とし

て移植したもの（組織片移植群），3）臨床患者より採取した腫瘍組織をヌードマウス皮下に移植，形成された皮下腫瘍を組織片として移植したもの（臨床腫瘍移植群）の三群に分けた（表1）。

細胞移植群は3種類のヒト口腔扁平上皮癌株，HSC-2, HSC-3, HSC-4を用いた。それぞれの腫瘍細胞はJCRBバンクより供与され，10%の牛胎児血清を加えたRPMI-1640培地（GIBCO社）にてインキュベーター内（37度，5%CO₂）で継代培養し，対数増殖期にある細胞を採取， 4×10^5 個に調整し，27G注射針によりヌードマウス舌背中央部より刺入，舌中央部に移植した（写真1）。

組織片移植群は，これら3種類の腫瘍細胞 8×10^5 個をヌードマウス背部皮下に移植，生着した皮下腫瘍を約1～3か月後に無菌的に採取して，PBSで十分に洗浄，ハサミで1～2mm角に細切し，専用移植針を用いて舌中央部に移植した。

臨床腫瘍移植群は手術時採取した腫瘍組織をヌードマウス皮下に移植，生着した皮下腫瘍を1～3か月後に摘出してPBSで洗浄，1～2mm角に細切し，同様に移植針にてヌードマウス舌中心部に移植した。KOS-4～9は頸部リンパ節より，KOS-10は原発巣より採取したものである。

各群ともそれぞれ3～11匹のヌードマウスに移植を行った。移植3週後にヌードマウスを屠殺，舌および頸部リンパ節を取り出し，舌は正中部を通る矢状面で全割し，パラフィン切片を作製，ヘマトキシリンエオジン（HE）染色を施した（写真2）。舌腫瘍の組織学的所見として生着の有無の他，分化度を高分化型・中分化型・低分化型の3型⁴⁰⁾に，浸潤様式を境界明瞭型（W型）・中間型（M型）・びまん性浸潤型（D型）²⁶⁾の3型に分類した。リンパ節の組織学的所見としては，転移の有無，個数，転移の進展度⁴¹⁾などについて観察した。

表1 移植腫瘍（臨床腫瘍）

継代株	患者年齢	原発部位	stage
KOS-4	78	口底	IV
KOS-5	42	頬粘膜	III
KOS-6	64	舌	II
KSO-7	80	舌	I
KOS-8	63	口底	IV
KOS-9	54	舌	III
KOS-10	62	上顎洞	IV

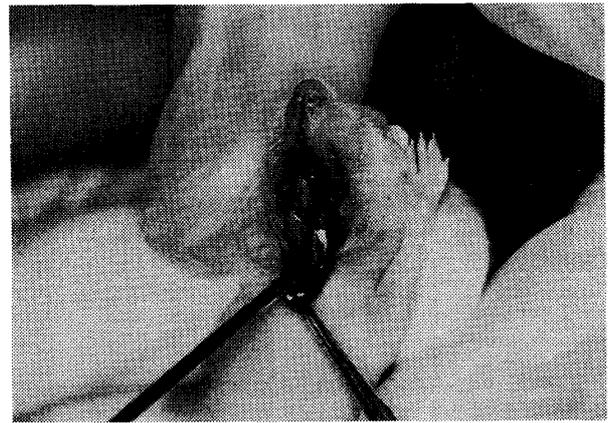


写真1：移植腫瘍（方法）

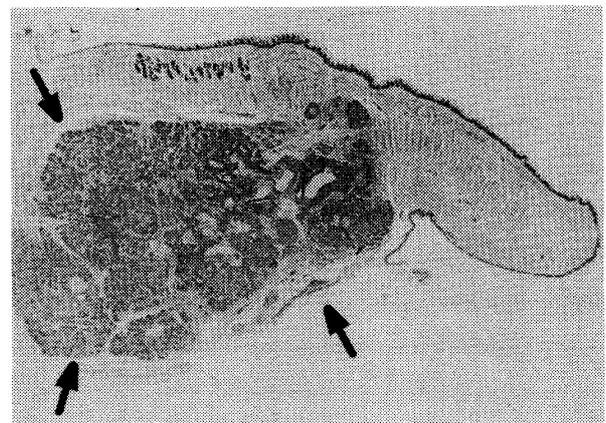


写真2：ヌードマウス移植舌腫瘍（HE染色×10）

結 果

1. 舌移植腫瘍の組織学的所見

1) 細胞移植群

HSC-2, 3, 4細胞の舌への生着率は，それぞれ3/6（50%），5/6（83%），8/11（73%）で，いずれも良好な生着率が得られた（表2）。

表2 移植腫瘍の生着率，リンパ節転移率と組織所見（HSC-2, 3, 4）

		生着率	リンパ節 転 移 率	舌移植腫瘍	
				分化度	浸潤様式
HSC-2	細胞株	3/6	1/3	高分化型	D型
	組織片	4/5	0/4	高分化型	D型
HSC-3	細胞株	5/6	2/5	低分化型	D型
	組織片	6/6	1/6	低分化型	D型
HSC-4	細胞株	8/11	1/8	中分化型	M型
	組織片	2/4	0/2	中分化型	M型

写真3, 4にHSC-2細胞移植群の舌の組織像を示す。舌筋内に細胞異型, 核分裂像を伴う腫瘍細胞の胞巣状増殖がみられ, 舌背部粘膜下から舌下部粘膜下まで舌可動部をほぼ充満していた。腫瘍胞巣内に角化のみられる部位を散在性に認め, 高分化型扁平上皮癌の所見を示していた。腫瘍胞巣と周囲舌筋組織との境界をみると, 粘膜はなく, 腫瘍細胞は小胞巣状あるいは索状に浸潤しており, 浸潤様式はD型であった。脈管浸潤像も散見されたが神経浸潤像はみられなかった。

HSC-3細胞移植群では, HSC-2と同様, 舌筋内に腫瘍細胞の胞巣状増殖を示したが, 角化はみられず, 細胞異型は高度で核分裂像も比較的多く, 低分化型扁平上皮癌の所見を示した(写真5, 6)。周囲組織との境界は弱拡大像では比較的明瞭にみえたが, 強拡大像では個々の細胞が胞巣を形成することなくびまん性に浸潤しており, 浸潤様式はD型であった。HSC-2細胞移植と同様に, 脈管浸潤像が散見された(写真7)。

HSC-4細胞移植群の組織像は, 中等度の異型性, 核分裂像を伴い, 散在性に角化がみられる中等度分化型扁平上皮癌の所見を示していた(写真8)。周囲組織との境界は, HSC-2, 3とは幾分異なり, 腫瘍細胞が大小の胞巣を形成しながら浸潤しており, 浸潤様式はM型であった(写真9)。脈管浸潤像はほとんどみられなかった。

2) 組織片移植群

HSC-2, 3, 4組織片の舌への生着率は, それぞれ4/5 (80%), 6/6 (100%), 2/4 (50%)であり, 細胞移植群と同様, いずれも良好な生着率が得られた(表2)。

組織片移植群の組織像は, 細胞移植群の組織像と類似しており, 腫瘍胞巣の形態や分化度も細胞移植群と同様であった。浸潤様式も細胞移植群と同様で, HSC-2, 3はD型, HSC-4はM型であった(写真10)。またHSC-2, 3では細胞移植群と同様, 脈管浸潤像が散見された(写真11)。

3) 臨床腫瘍移植群

KOS-4, 5, 6, 7, 8, 9, 10の舌への生着率は, それぞれ3/3 (100%), 3/4 (75%), 2/3 (67%), 3/3 (100%), 5/5 (100%), 3/5 (60%), 2/7 (29%)とKOS-10でやや生着率が低かったが, 他は良好な生着を示した(表3)。

臨床腫瘍移植群の組織像は写真12~25に示した通りで, 細胞移植群, 組織片移植群と同様, 舌筋内に胞巣状の腫瘍細胞を認め, 周囲組織の間には粘膜の形成はなく浸潤性に増殖していた。腫瘍細胞の角化度, 異型性, 核分裂像はいずれも採取元患者の生検組織像と類似していた。浸潤様式もすべて採取元患者の生検組

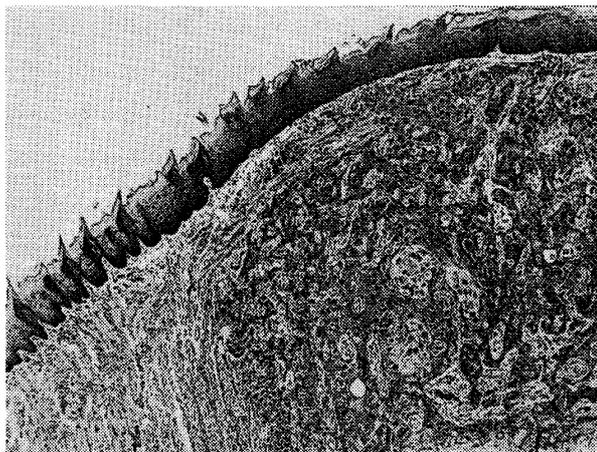


写真3 : HSC-2細胞株移植舌腫瘍 (HE染色×20)

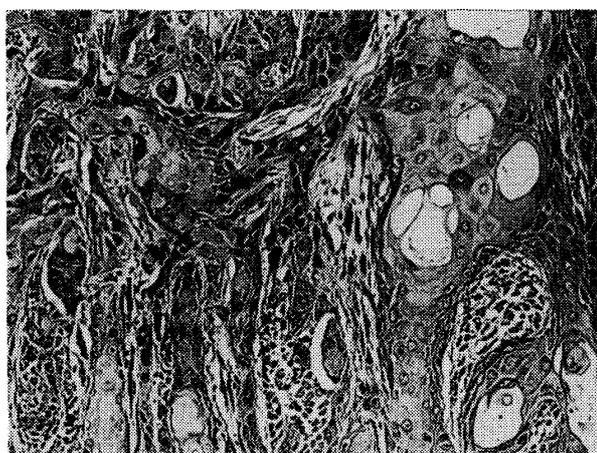


写真4 : HSC-2細胞株移植舌腫瘍 (HE染色×100)

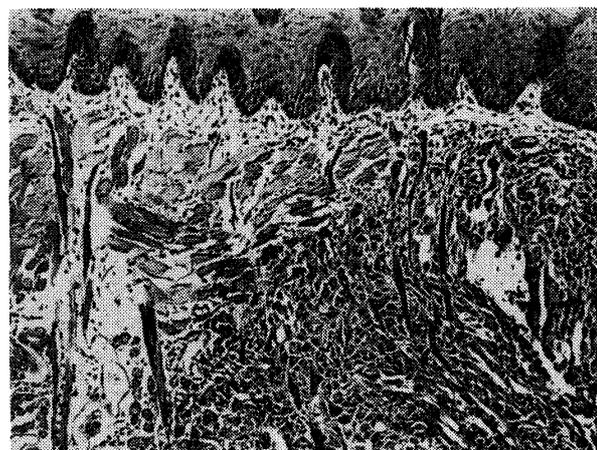


写真5 : HSC-3細胞株移植舌腫瘍 (HE染色×40)

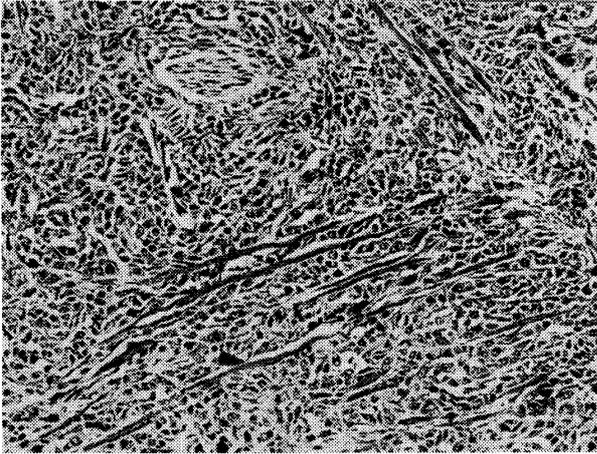


写真6 : HSC-3細胞株移植舌腫瘍 (HE染色×40)

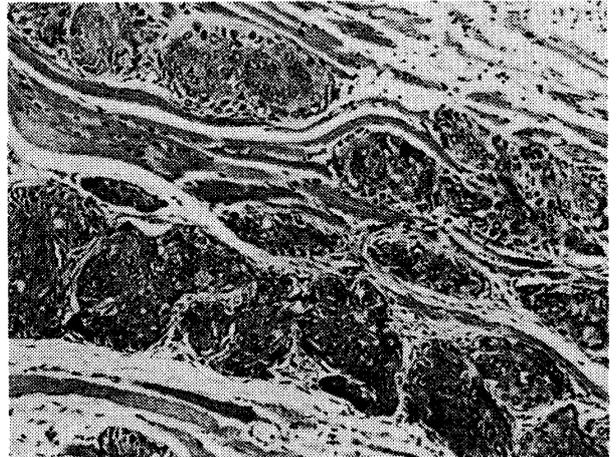


写真9 : HSC-4細胞株移植舌腫瘍 (HE染色×40)

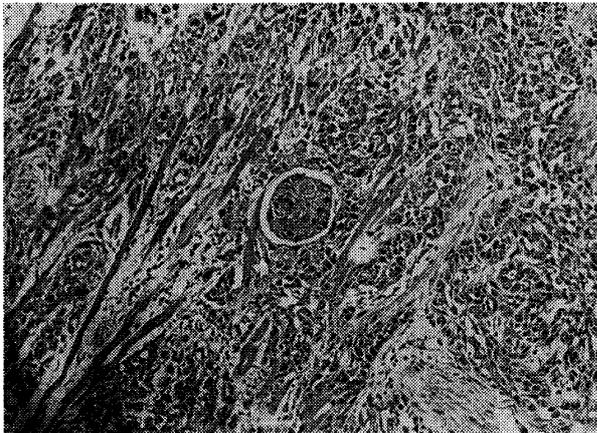


写真7 : HSC-3細胞株移植腫瘍脈管浸潤 (×40)

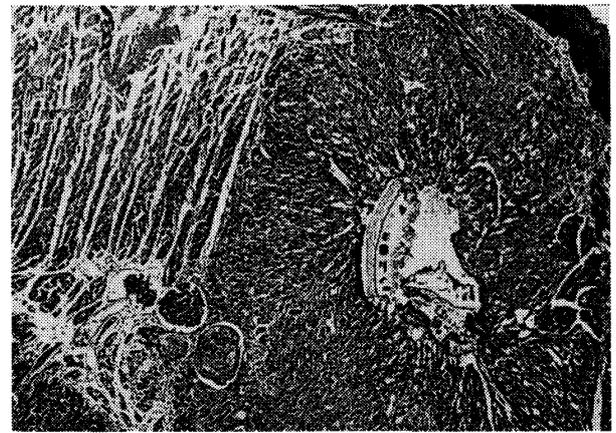


写真10 : HSC-3組織片移植舌腫瘍 (HE染色×20)

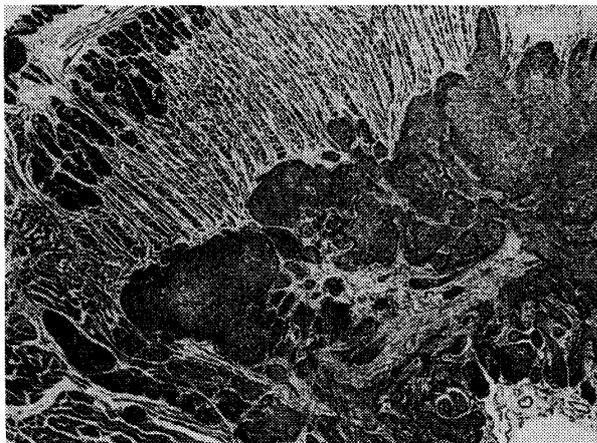


写真8 : HSC-4細胞株移植舌腫瘍 (HE染色×20)

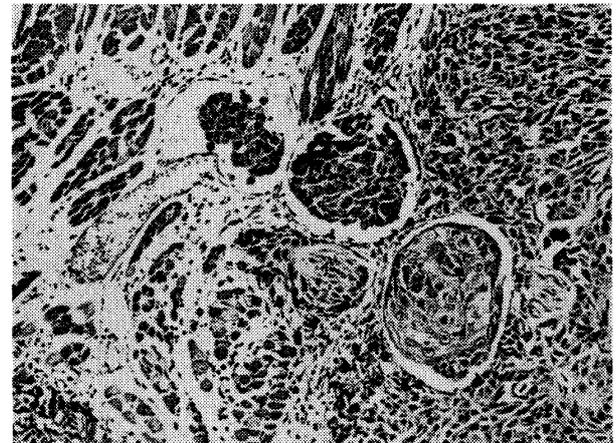


写真11 : HSC-3組織片移植舌腫瘍脈管浸潤 (×100)

織像とヌードマウス移植腫瘍の浸潤様式は類似していた(表3)。

2. 頸部リンパ節転移の組織学的所見

リンパ節転移は細胞移植群ではHSC-2, HSC-3, HSC-4に, 組織片移植群ではHSC-2, HSC-3に, 臨床腫瘍移植群ではKOS-5, KOS-7, KOS-8に認めれた(表2, 3)。写真26に転移リンパ節の肉眼像所見を示す。各群別の転移率に明らかな差はなかったが, 移植材料により転移のしやすさは異なり, 各移植材料別の転移率は13~80%と大きなばらつきが認められた。

いずれの転移巣もその組織像は原発巣の組織像と非常に類似していた。転移の進展度は辺縁洞限局型が1匹, 大半置換型が3匹, 節外浸潤型が7匹となっていた(写真27, 28)。

表3 移植腫瘍の生着率, リンパ節転移率と組織所見 (KOS-4~10)

継代株	生着率	リンパ節転移率	舌移植腫瘍分化度	浸潤様式	採取元患者の原発巣分化度	浸潤様式
KOS-4	3/3	0/3	中分化型	M型	中分化型	M型
KOS-5	3/4	1/3	高分化型	W型	高分化型	W型
KOS-6	2/3	0/2	高分化型	W型	高分化型	W型
KOS-7	3/3	1/3	高分化型	W型	高分化型	W型
KOS-8	5/5	4/5	低分化型	M型	低分化型	M型
KOS-9	3/5	0/3	高分化型	M型	高分化型	M型
KOS-10	2/7	0/2	低分化型	D型	低分化型	D型

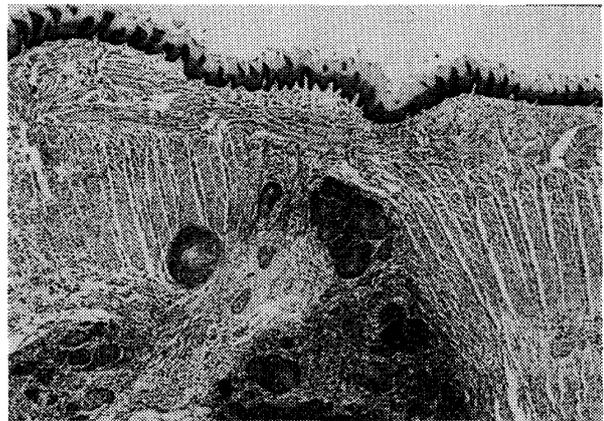
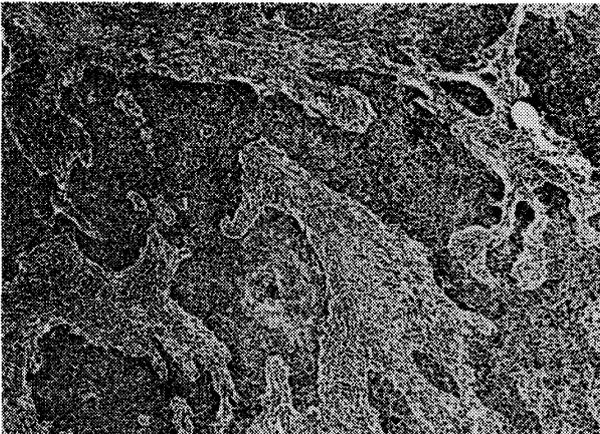


写真12, 13: KOS-4腫瘍. 1: 生検 2: ニードマウス移植舌腫瘍 (HE染色×40, ×20)



写真14, 15: KOS-5腫瘍. 1: 生検 2: ニードマウス移植舌腫瘍 (HE染色×40)



写真16, 17: KOS-6腫瘍. 1: 生検 2: ノードマウス移植舌腫瘍 (HE染色×40)

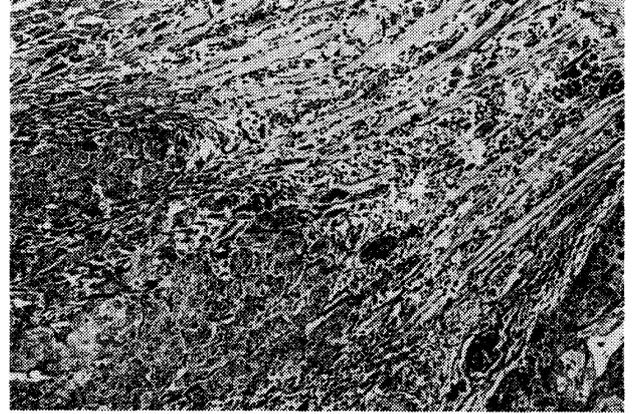
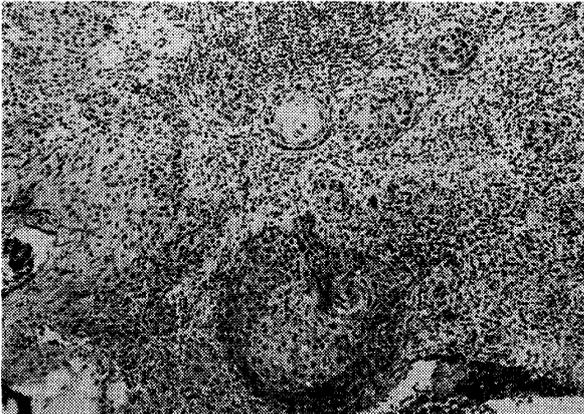


写真18, 19: KOS-7腫瘍. 1: 生検 2: ノードマウス移植舌腫瘍 (HE染色×40)

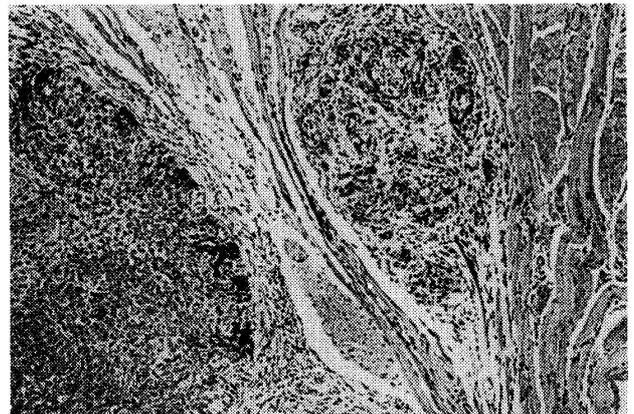


写真20, 21: KOS-8腫瘍. 1: 生検 2: ノードマウス移植舌腫瘍 (HE染色×40)

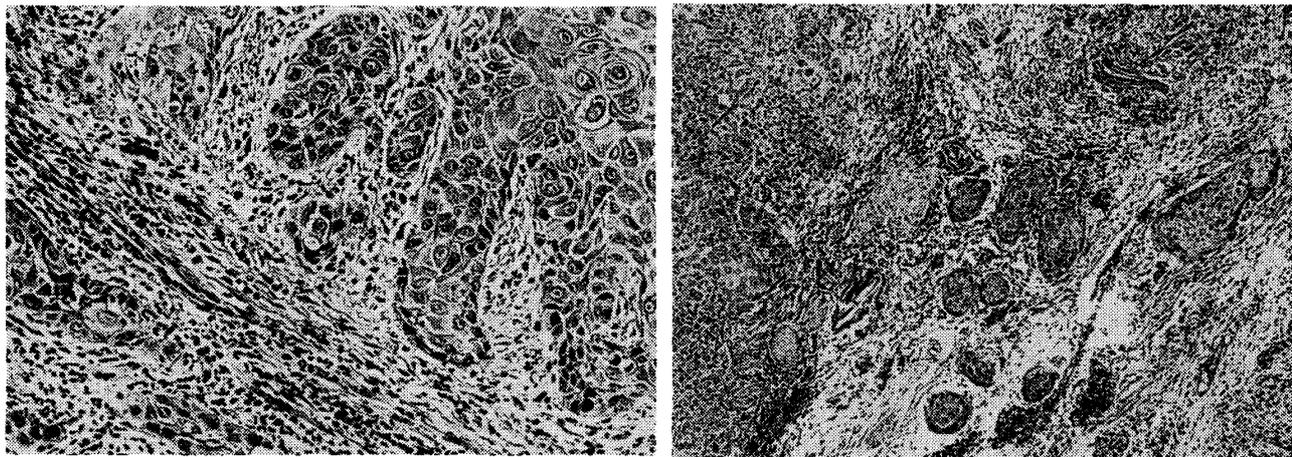


写真22, 23 : KOS-9腫瘍. 1 : 生検 2 : ノードマウス移植舌腫瘍 (HE染色×100, ×40)

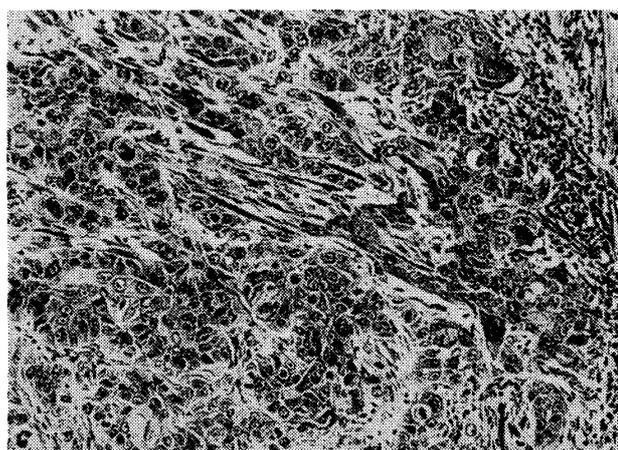
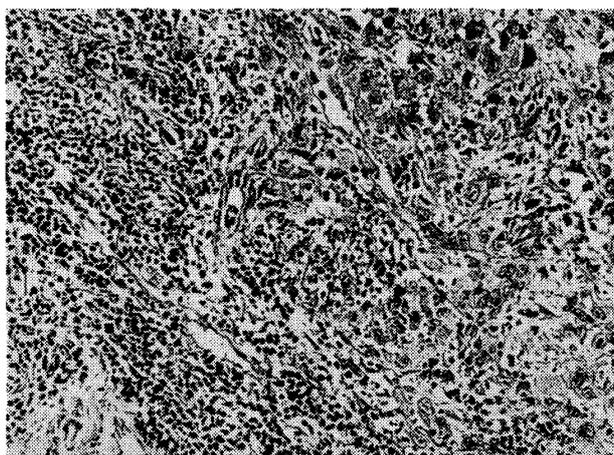


写真24, 25 : KOS-10腫瘍. 1 : 生検 2 : ノードマウス移植舌腫瘍 (HE染色×40, ×100)

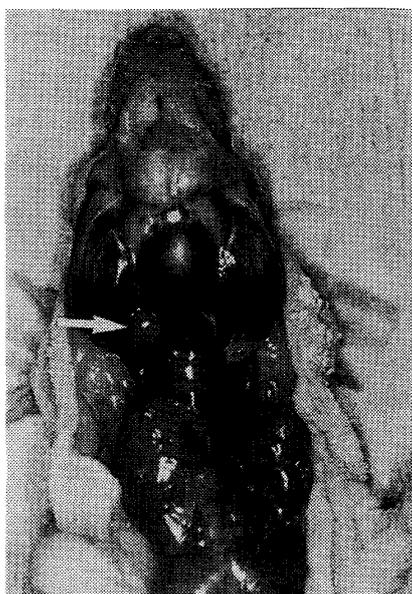


写真26 : 頸部リンパ節転移の肉眼像

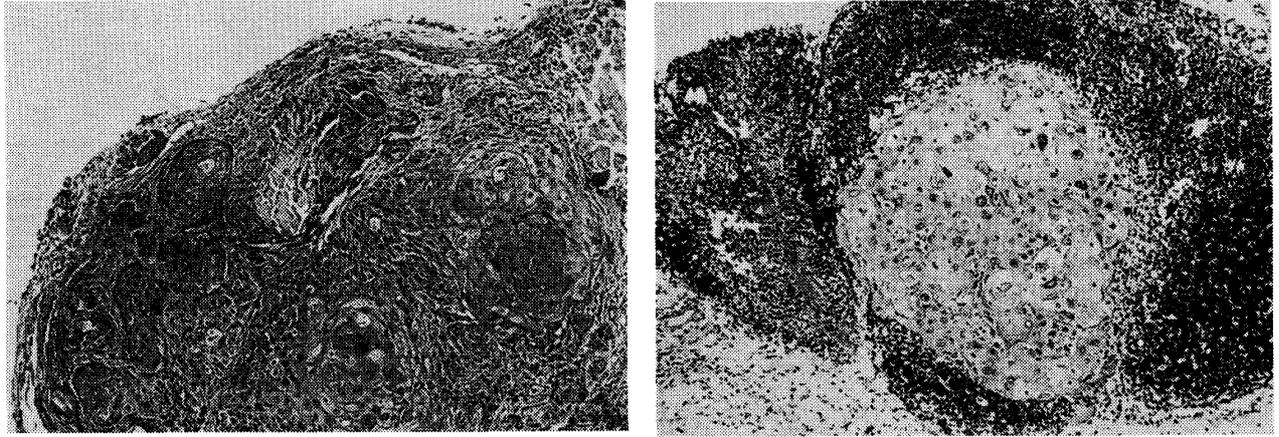


写真27, 28: 頸部リンパ節転の組織像. 1: KOS-7 2: HSC-3組織片移植 (HE染色×40)

考 察

転移は癌の最も特徴的な生物学的活性であり、転移を制することが癌を制するといわれる。実際の転移は癌細胞の原発巣からの離脱と周辺組織への浸潤、脈管への侵入、脈管内での播種、脈管からの脱出や塞栓、転移組織での血管新生および増殖、免疫機構からの逸脱などの多数の過程を経て成立するが、近年これら転移形成に関わる各因子についての研究がさかんになってきた。

癌転移の研究にはそれに適した実験モデルの開発が不可欠である。in vivo 転移モデルとしては経脈管転移モデルと自然転移モデルとがあるが、移植腫瘍が自然転移を生じることはまれなため、これまでは経脈管転移モデルの報告が多かった。移植部位としては尾静脈に移植し肺転移を観察するのが一般的であるが、門脈移植による肝転移モデルや左心室内移植による骨転移モデルなども報告されている。しかしこのようなモデルでは転移の初期の段階である腫瘍細胞の浸潤や脈管への侵入が再現できず、転移の全過程を再現するモデルとしては適当でない。これに対し、1990年 Nakajima ら²⁾は癌細胞をそれが発生した臓器と同じ臓器に移植する、いわゆる同所性移植により自然転移がみられることを報告し、以後肺癌、胃癌、大腸癌、膵癌、前立腺癌、膀胱癌などの同所性移植による転移(主に肝転移)モデルが開発されてきた。

一方、口腔癌の動物実験モデルとしては、Braakhuis ら⁴²⁾、安達ら⁴³⁾、加藤ら⁴⁴⁾による口腔癌由来細胞のヌードマウス皮下移植実験があるが、これらは生着はするものの、皮下における浸潤像はみられず、頸部リンパ節転移や肺転移も生じないといわれている。化学発癌としてはDMBAの反復塗布³⁹⁾や4NQO⁴⁵⁾の経口投与などによる舌癌モデルがあり、DMBAのは

うはリンパ節転移も認められると報告されている。

Take ら¹⁹⁾はDMBA誘導ハムスター舌癌のリンパ節転移について、原発巣の組織学的所見と関連づけて詳細に観察を行い、臨床腫瘍に類似した実験モデルであると報告しているが、実験期間が長期間を要することと、転移率が低いという欠点がある。口腔癌の同所性移植によるモデルとしては、Fitch ら²⁰⁾、Dinesmen ら²¹⁾、川尻ら^{22) 23)}の口腔癌由来細胞のヌードマウス口底移植実験や、O'Malley ら⁴⁶⁾のImmunocompetent Murine Modelを使用した口底移植による頸部リンパ節転移実験などが試みられている。

Fitch ら²⁰⁾は初めて樹立細胞を口底に移植したものであったが詳細な記述がなく、Dinesmen ら²¹⁾の実験では肺転移を認めたもののリンパ節転移はみられなかったとされている。また川尻ら^{22) 23)}は高率にリンパ節転移を生じたと述べているが、特殊な高転移性細胞であるOSC-19細胞を用いた実験であり、さらにこれらの報告のいずれもが単離細胞を移植材料として用いているため、浸潤の最も初期の過程である腫瘍塊からの細胞離脱という過程を評価できるかどうか疑問があった。今回のわれわれの実験は、皮下移植では転移を生じない口腔扁平上皮癌細胞HSC-2, HSC-3, HSC-4,あるいは手術時得られた扁平上皮癌組織を移植材料にしたものであるが、それでも局所浸潤やリンパ節転移がみられたことより、本実験モデルは、特殊な高転移性細胞に限らず広く応用可能な口腔癌の浸潤、リンパ節転移モデルであると思われた。

移植材料の形状の差に関しては、組織片よりも単離細胞のほうが細胞間の接着がすでに解けているため浸潤には有利で、転移の頻度も高いものと想像される。しかし Hoffman や古川ら¹⁷⁾は大腸癌の同所性移植実験において、単離細胞移植よりも組織片移植のほうが肝転移率が高く、腫瘍のもつ転移の潜在性能力がそ

の癌組織にあるであろうと述べている。また久保田ら⁵⁾も胃癌手術材料をヌードマウス胃壁に同所性移植しリンパ節転移や肝転移を起こさせるのに成功し、単離細胞よりも組織片のほうが生着、転移率がよいと述べているが、その理由として単離細胞移植では腫瘍細胞を単離する操作が腫瘍細胞の生物学的性状を修飾し細胞間接着の破壊が転移能の欠落に関与する可能性があることや、組織片移植における間質細胞の存在、あるいは腫瘍細胞間の細胞間接触などをあげている。しかし、彼らの実験は腫瘍を胃壁や腸壁に移植したもので、単離細胞よりも組織片のほうが移植手技が容易で確実に一定量の腫瘍細胞を移植することができるため、組織片移植の成績がよかったとも考えられる。それに対し、今回の舌移植実験は移植方法は容易で、単離細胞移植と組織片移植との間に手技的な差はないと考えられた。その結果、両者の生着率や転移率に明らかな差はなく、本実験モデルは単離細胞でも組織片でも応用可能な転移モデルであることが示された。また、単離細胞移植も組織片移植と同様な組織像がみられたことから、単離細胞の状態で移植されても、細胞は個別に増殖するのではなく、一旦腫瘍胞巣を形成しその後胞巣からの離脱、浸潤というステップを経るものと推測され、今後本モデルを用いて転移実験を行う場合は、単離細胞、腫瘍片のいずれを用いてもよいものと考えられた。しかし、臨床腫瘍移植群のうち原発巣から採取したKOS-10は、頸部転移巣より採取したKOS-4~9に比べて生着率がやや低く、今後検討の余地があるものと思われた。

口腔扁平上皮癌の予後を左右する因子として、腫瘍細胞の分化度だけではなく周囲組織との間の組織学的な浸潤様式が関係することを Willen⁴⁷⁾、Jakobsson⁴⁸⁾、Anneroth⁴⁹⁾、山本ら⁵⁰⁾は報告した。Umeda ら²⁶⁾も、腫瘍細胞の分化度と浸潤様式から判定した組織学的悪性度が、頸部リンパ節転移の頻度や転移部位、転移個数などと密接な関連性があると述べている。しかしそれらの浸潤様式の差が腫瘍細胞の性質によるのか宿主側の因子によるのか、また浸潤様式は腫瘍が小さな段階で決まっているのかある程度増大してから現れるのか、あるいは浸潤様式を決定する細胞学的因子は何かなど、不明な点が多い。Takeら¹⁹⁾は、DMBA誘導ハムスター舌癌において浸潤様式と頸部リンパ節転移との関連性について検討し、実験動物においても有意に両者の関連性が認められたと報告した。しかしヌードマウス皮下移植癌をはじめとする移植癌では、一般的に腫瘍は膨脹性の発育を示すことが多く、浸潤についても研究はこれまであまりされてこなかった。今回の実験で、まずHSC-2, 3, 4の細胞移植群では、川尻

ら²²⁾がOSC19細胞で報告したのと同様に、腫瘍細胞の周囲組織への直接浸潤が認められた。次いでHSC-2, 3, 4の組織片移植群でも細胞移植群と同様の所見が得られ、この浸潤性発育は細胞移植、組織片移植にかかわらず共通の所見であることが示された。さらに、臨床腫瘍移植群でも同様の浸潤性発育を認めたが、興味深いことに各腫瘍組織の浸潤様式は採取元患者の生検組織における浸潤様式と類似していることが明らかとなった。これらのことから腫瘍の浸潤様式は、患者側の免疫学的な因子や腫瘍の大きさなどには無関係の、腫瘍自身の性質により決定されるものと考えられたが、今後細胞外基質分解酵素や接着分子の産生などの見地からさらに検討していきたい。またリンパ節転移についてみると、採取元患者のリンパ節転移像と動物モデルにおけるリンパ節転移像は同様の組織像を示したものの、原発巣の浸潤様式とリンパ節転移の節外浸潤の差異に関しては詳しく検討できなかった。これは、ヌードマウスの頸部リンパ節は、摘出時期により節外浸潤が多くなった為と思われ、経時的なリンパ節転移の、節外浸潤モデル実験は今後検討してゆきたい。口腔癌の頸部リンパ節転移は予後を左右する重要な因子である。転移に対しては一般的に手術療法が適応となるが、臨床的に転移を認めない患者に対しては、原発巣切除時に同時に予防的頸部郭清を行うとする考えや、転移が明らかになってから治療的郭清を行うとする考えなど、さまざまな議論がある。また頸部郭清の術前、術後の放射線治療や化学療法の適応、あるいはその方法についても一定の見解は得られていないのが現状である。前述のようにこれまで口腔癌のリンパ節転移の有用な実験モデルがなかったため、これらの治療上の問題点に関する実験的研究の報告はほとんどなかったが、本実験モデルについて移植手技の統一化、適切な移植材料の選択、転移時期の確定などの問題点が明らかになれば、治療モデルとしても利用可能になるものと考えられる。今後、本実験モデルを用いて口腔癌の浸潤や転移の機序に関する *in vivo* の研究を進めていくと同時に、これらのような治療実験についても検討していく予定である。

結 語

ヒト口腔扁平上皮癌由来樹立細胞株3株(HSC-2, HSC-3, HSC-4)を単離細胞状および組織片で、また手術時採取しヌードマウスで継代中の可移植株7株(KOS-4, 5, 6, 7, 8, 9, 10)を組織片でそれぞれヌードマウス舌に同所性移植し、局所浸潤および所属リンパ節転移について組織学的に検討した結果、以下の所

見を得た。

1. いずれの移植材料ともヌードマウス舌への生着に成功し、生着率は29~100%であった。
2. 舌移植腫瘍は組織学的に周囲組織へ浸潤性に増殖していた。単離細胞移植と組織片移植とで組織像に明らかな差はなかった。
3. HSC-2, 3, 4およびKOS-5, 7, 8で頸部リンパ節転移を認めた。転移率は13~80%であった。
4. 以上の所見より、本実験モデルは口腔癌の局所浸潤、頸部リンパ節転移の *in vivo* の研究に有用と考えられた。

稿を終えるにあたり、組織標本作製に御協力頂いた神綱加古川病院臨床検査技師、山本敬子氏に感謝の意を表します。また、本研究に御協力戴きました神戸大学医学部口腔外科学講座の諸氏に感謝致します。

本論文の一部は、第6回日本口腔科学会近畿地方会(1994年11月、大阪)、第49回日本口腔科学会総会(1995年4月、岐阜)、第50回日本口腔科学会総会(1996年4月、鹿児島)において発表した。

引用文献

- 1) 矢守隆夫：世界における転移モデル動物実験系の総括。実験医学12：1060~1064, 1994
- 2) Nakajima, M., Morikawa, K., Fabra, A., Bucna, C, D., Fidler, I, J.: Influence of organ environment on extracellular matrix degradative activity and metastasis of human colon carcinoma cells. J Natl Cancer Inst 82 : 1890-1898, 1990
- 3) 渡辺昌彦, 久保田哲朗, 郭 宗宏, 古川俊治, 北島政樹：ヒト癌同所性移植による転移モデルの作製。実験医学12 (増刊) : 1065-1069, 1994
- 4) 浜田淳一, 永易裕樹, 武市紀年：ラット乳癌細胞株を用いた癌の悪性化・転移・浸潤モデル。鶴尾隆, 編。癌転移の分子機構, メジカルビュー社, 東京, 28-41, 1993.
- 5) 久保田哲朗：ヌードマウス転移モデル。鶴尾 隆, 編。癌転移の分子機構, メジカルビュー社, 東京, 42-53, 1993.
- 6) Fidler, I, J.: Rationale and methods for use of nude mice to study to the biology and therapy of human cancer metastasis. Cancer and Metastasis Rev. 5 : 29-49, 1986
- 7) Morikawa, K., Walker, S, M., Jessup, J, M., Fidler, I, J.: *In vivo* selection of highly metastatic cells from surgical specimens of different primary human colon carcinoma implanted into nude mice. Cancer Res 48 : 1943-1948, 1988
- 8) Fidler, I, J., : Critical factors in the biology of human cancer metastasis: Twenty-eighth G. H. A. Clowes memorial award lecture. Cancer Res 50 : 5130-5138, 1990
- 9) Giavazzi, R., Jessup, J, M., Cambell, D, E., Walker, S, M., Fidler, I, J.: Experimental nude mouse model of human colorectal cancer liver metastased. J Natl Cancer Inst 77 : 1303-1308, 1986
- 10) Bresalierr, S., Raper, S, E., Hujnen, E, S., Ken, Y, S.: A new animal model for human colon cancer metastasis. Int J Cancer 39 : 625-630, 1987
- 11) Morikawa, K., Walker, M., Nakajima, M., Pathak, S., Jessup, J, M., Fidler, I, J.: Influence of organ environment on the growth, selection, and metastasis of human colon carcinoma cells in mice. Cancer Res 48 : 6863-6871, 1988
- 12) Fu, X., Theodorescu, D., Kerbel, R, S., Hoffman, R, M.: Extensive multi-organ metastasis following orthotopic implantation of histologically-intact human bladder carcinoma tissue in nude mice. Int J Cancer 49 : 938-939, 1991
- 13) Furukawa, T., Kubota, T., Watanabe, M., Kitajima, M., Hoffman, R, M.: Orthotopic transplantation of histologically intact clinical specimens of stomach cancer to nude mice: correlation of metastatic sites in mouse and individual patient donors. Int J Cancer 53 : 608-612, 1993
- 14) Furukawa, T., Kubota, T., Watanabe, M., Tsong-Hong, K., Kitajima, M., Hoffman, R, M.: Differential chemosensitivity of local and metastatic human gastric cancer after orthotopic transplantation of histologically intact tumor tissue in nude mice. Int J. Cancer 54 : 397-401, 1993
- 15) Furukawa, T., Fu, X., Kubota, T., Watanabe, M., Kitajima, M., Hoffman, R, M.: Nude mouse metastatic models human stomach cancer constructed using orthotopic

- implantation of histologically intact tissue. *Cancer Res* 53 : 1204-1208, 1993
- 16) Furukawa, T., Kubota, T., Watanabe, M., Kitajima, M., Hoffman, R, M.: A novel "Patient-like" treatment model of human pancreatic cancer constructed using orthotopic transplantation of histologically intact human tumor tissue in nude mice. *Cancer Res* 53 : 3070-3072, 1993
- 17) Furukawa, T., Kubota, T., Watanabe, M., Tsong-Hong, K., Nisibori, H., Kase, S., Saikawa, Y., Tanino, H., Teramoto, T., Ishibiki, K.: A Metastatic Model of Human Colon Cancer constructed Using Cecal Implantation of Cancer Tissue in Nude Mice. *Surgery today Jpn J Surg* 23 : 420-423, 1993
- 18) Fu, X., Besterman, J, M., Monosov, A., Hoffman, R, M.: Model of Human metastatic colon cancer in nude mice orthotopically constructed by using histologically intact patient specimens. *Proc. Natl. Acad Sci. USA* 88 : 9345-9349, 1991
- 19) Take, Y., Umeda, M., Teranobu, O., Shimada, K: Lymph node metastasis of hamster tongue cancer induced with 9, 10-dimethyl-1, 2-benzanthracene (DMBA): Relationship of histologic findings to the frequency of neck metastasis, and its clinical implications to patients with tongue cancer. *Br J Oral Maxillofac Surg* 35, 1997(in press)
- 20) Fitch, K, A., Somers, K, D., Schecter, G, L.: The Development of a head and neck tumor model in the nude mouse. *Head and Neck Oncology Research*. 187-190, 1988
- 21) Dinensmen, A. Haughey, B. Gates, G, A., Aufdemorte, T., Von Hoff, D, D.: Development of a new in vivo model for head and neck cancer. *Otolaryngology Head and Neck Surgery*. 103(5) : 766-774, 1990
- 22) 川尻秀一, 熊谷茂宏, 児島伸也, 山本悦秀: 口腔扁平上皮癌の浸潤と転移の機序に関する実験的研究第2報: 新しい in vivo 浸潤モデルの開発. *日口科誌*42 : 480-486, 1993
- 23) 川尻秀一, 熊谷茂宏, 方 治, 児島伸也, 山本悦秀: 口腔扁平上皮癌の浸潤と転移の機序に関する実験的研究 第3報: ノードマウス口腔内移植法の口腔癌転移モデルとしての応用. *日口科誌*42 : 534-540, 1993
- 24) 梅田正博, 大森昭輝, 横尾 聡, 寺延治, 中西孝一, 島田桂吉: 口腔扁平上皮癌の頸部後発転移に関する臨床病理学的研究. *日口外誌*37 : 143-151, 1991.
- 25) Umeda, M., Omori, A., Yokoo, S., Take, Y., Teranobu, O., Nakanishi, K., Simada, K.: A Clinicopathological Study of Neck Metastasis in Oral Squamous Cell Carcinoma-Comparison between early Metastasis and dilayed Metastasis-. Shimizu M. and Yanagisawa S.: *Oral and Maxillofacial Surgery. Proceeding of the 16th Congress of IAMFS Saiki-Insatsu Co., Oita, 166-169, 1992.*
- 26) Umeda, M., Yokoo, S., Take, Y., Omori, A., Nakanishi, K., Shimada, K.: Lymph node metastasis in squamous cell carcinoma of the oral cavity: Correlation between histologic features and the prevalence of metastasis. *Head and Neck Surg*14 : 263-272, 1992.
- 27) 梅田正博, 奥 尚久, 李 進彰, 武 宜昭, 横尾 聡, 大森昭輝, 寺延 治, 中西孝一, 島田桂吉: 口腔粘膜扁平上皮癌の両側リンパ節転移に関する臨床病理学的検討. *頭頸部腫瘍*19 : 217-220, 1993.
- 28) 梅田正博, 横尾 聡, 大森昭輝, 寺延 治, 中西孝一, 島田桂吉: 組織内照射を施行した口腔扁平上皮癌における組織学的所見と局所制御率との関係について. *日口外誌*37 : 408-412, 1991.
- 29) 久我雅則, 梅田正博, 武 宜昭, 横尾 聡, 大森昭輝, 寺延 治, 中西孝一, 島田桂吉: 口底扁平上皮癌の臨床・病理組織学的検討. *日口外誌*38 : 119-126, 1992.
- 30) 横尾 聡, 梅田正博, 武 宜昭, 寺延 治, 中西孝一, 島田桂吉: 上顎歯肉癌の臨床的, 病理組織学的検討. *日口科誌*42 : 397-405, 1993.
- 31) 武 宜昭, 梅田正博, 横尾 聡, 李 進彰, 寺延治, 中西孝一, 島田桂吉: 口腔粘膜の高悪性型扁平上皮癌の臨床的検討. *日口外誌*39 : 721-729, 1993.
- 32) 武 宜昭, 梅田正博, 横尾 聡, 奥 尚久, 藤岡学, 川越弘就, 寺延 治, 中西孝一, 島田桂吉: 下顎歯肉扁平上皮癌の臨床的・病理組織学的検討. *日口科誌*43(2) : 263-269, 1994.
- 33) 横尾 聡, 梅田正博, 武 宜昭, 大森昭輝, 寺延

- 治, 中西孝一, 島田桂吉: 口腔粘膜扁平上皮癌の頸部リンパ節転移に関する検討—初回転移の実態と頸部郭清範囲について—. 日口科誌43(2): 676-684, 1994.
- 34) 梅田正博, 大森昭輝, 李進彰, 武宜昭, 横尾聡, 奥尚久, 川越弘就, 藤岡学, 中谷徹, 西松成器, 寺延治, 中西孝一, 島田桂吉: 口腔粘膜扁平上皮癌の手術後原発巣再発に関する臨床的検討. 口腔腫瘍7(2): 91-100, 1995.
- 35) 梅田正博, 川越弘就, 藤岡学, 中谷徹, 西松成器, 奥尚久, 武宜昭, 横尾聡, 寺延治, 中西孝一, 島田桂吉: 口腔扁平上皮癌の頸部非制御例に関する臨床的検討. 口腔腫瘍7(2): 101-110, 1995
- 36) 武宜昭, 梅田正博, 横尾聡, 奥尚久, 藤岡学, 川越弘就, 寺延治, 中西孝一, 島田桂吉: 上顎扁平上皮癌の頬部, 耳下腺リンパ節転移について. 日口外誌42(6): 587-589, 1996
- 37) 奥尚久, 梅田正博, 武宜昭, 横尾聡, 川越弘就, 藤岡学, 中谷徹, 西松成器, 寺延治, 中西孝一, 島田桂吉: 口底扁平上皮癌における下顎骨切除方法と原発巣再発との関係について. 日口科誌45(3): 263-268, 1996
- 38) 武宜昭, 梅田正博, 奥尚久, 横尾聡, 川越弘就, 藤岡学, 中谷徹, 西松成器, 寺延治, 中西孝一, 島田桂吉: 下顎歯肉扁平上皮癌における下顎骨切除方法と原発巣再発の関係について. 日口科誌45(1): 51-56, 1996
- 39) 百瀬文雄, 平田章二, 新井田俊雄, 田中信幸, 塩田重利: 3つの口腔扁平上皮癌由来細胞の性状について. 日口科誌35(2): 485-496, 1981.
- 40) WHO: Histologic typing of oral and oropharyngeal tumors. Geneva: 1971, 17
- 41) 本間義郎: 口腔癌の頸部リンパ節転移に関する研究. 日口外誌28(10): 1667-1684, 1982.
- 42) Braakhuis, B, J, M., Sneeuwloper, G., Snow, G, B.: The potential of the nude mouse xenograft model for the study of head and neck cancer. Arch Otorhinolaryngol. 239: 69-79, 1984.
- 43) 安達泉, 田中義弘, 清水谷公成, 湧本昇, 安岡田鶴子, 森田浩: ヒト口腔腫瘍のヌードマウスへの移植. 歯科医学42(5): 508-516, 1979.
- 44) 加藤隆三, 川尻秀一, 熊谷茂宏, 山本悦秀: ニュードマウス移植ヒト口腔扁平上皮癌に関する研究. 日口外誌37(7): 1285-1290, 1991.
- 45) 片倉朗, 大鶴洋, 外木守雄, 高木多可志, 望月彰, 関川一嘉, 小林朗男, 野間弘康: 発癌剤4-nitroquinoline-oxide溶解飲料水経口投与によるラット口腔扁平上皮癌発生実験—発癌剤の濃度差による影響について—. 日口外誌32(2): 176-186, 1986
- 46) O' Malley, Jr, B, W., Cope, K, A., Johnson, C, S., Schwartz, M, R.: A New Immunocompetent Murine Model for Oral Cancer. Arch Otolaryngol Head Neck Surg 123: 20-24, 1997.
- 47) Willen, R., Nathanson, A., Moberger, G., Anneroth, G.: Squamous cell carcinoma of the gingiva: Histological Classification and grading of malignancy. Acta Otolaryngol 79: 146-154, 1975
- 48) Jakobsson, P, A., Anneroth, G., Killander, D., Moberger G., Martensson B.: Histologic classification and grading of malignancy in carcinoma of the larynx. Acta Radiologica Therapy Physics Biology 12: 1-8, 1973
- 49) Anneroth, G., Batsakis, J., Luna, M.: Review of the literature and a recommended system of malignancy grading in oral squamous cell carcinomas. Scand J dent Res 95: 229-249, 1987
- 50) Yamamoto, E., Kohama, G., Sunakawa, H., Iwai, M., Hiratsuka, H.: Mode of invasion, Bleomycin sensitivity, and clinical course in squamous cell carcinoma of the oral cavity. Cancer 51: 2175-2180, 1983

Experimental study of invasion and lymph node metastasis by
orthotopic transplantation of human oral cancer cells
tissue into the tongue of nude mouse

Hironari Kawagoe, Masahiro Umeda, Keikichi Shimada

Department of Maxillofacial Surgery, Kobe University School of Medicine

(Chief : Prof. Keikichi Shimada)

Abstract

Three human oral cancer cell lines (HSC-2, 3 and 4), both in the form of single cell suspension and tissue, and seven cancer tissues obtained by operation materials and maintained in nude mouse (KOS-4, 5, 6, 7, 8, 9 and 10) were transplanted orthotopically into the tongue of nude mouse. A histologic study conducted to examine local invasion and lymph node metastasis in this experimental model, and the results were as follows;

- 1) Each material was transplantable into the tongue of nude mouse with the successful rate ranging from 29% to 100%.
- 2) Histologic examination of the transplanted tumor revealed invasive proliferation of cancer cells in the tongue of nude mouse. There were no apparent differences between the histologic features of single cells transplantation and those of cancer tissue transplantation.
- 3) Metastasis to the cervical lymph node was observed in animals into which HSC-2, HSC-3, HSC-4, KOS-5, KOS-7 and KOS-8 were transplanted. The rate of metastasis ranged from 13% to 80%.
- 4) These findings indicated that this experimental model is useful in in vivo studies of local invasion and lymph node metastasis of oral cancer.

Key Words: experimental model of invasion and metastasis
orthotopic transplantation
nude mice
oral cancer