

学位論文題名

腎盂尿管癌症例における膀胱内再発・転移と
予後に関する検討

学位論文内容の要旨

【背景と目的】尿路上皮癌は上部尿路（腎盂，尿管）と下部尿路（膀胱，尿道）の尿路上皮より発生する腫瘍である。膀胱に多いが，約 5-10%の頻度で上部尿路にも発生する (Hall, 1998)。尿路上皮癌は多発・再発しやすい特徴を有し，その原因として腫瘍細胞の播種 (seeding) が主因とされる (Habuch, 1993)。腎盂尿管癌（腎盂癌や尿管癌）では，根治的治療である腎尿管全摘除術を実施しても 20-50%の症例で膀胱内再発をきたし (Hendin, 1999; Raman, 2010)，また 60%の症例で診断時すでに浸潤性腫瘍であり，予後は不良である (Babjuk, 2008)。近年の細径尿管鏡および生検鉗子を代表とする補助診断器具の進歩により，鮮明な画像で観察することが可能になるとともに，診断目的の組織採取も可能になっている。さらに症例によっては，腎温存を目指した尿管鏡下治療も可能となっている (Thompson, 2008)。しかし腎盂や尿管は壁が薄く内腔も狭いため，理論的には尿管鏡操作や尿路内圧の上昇により腎盂尿管壁の損傷や尿路外への溢流が生じ，壁内リンパ脈管へ腫瘍細胞が逸脱する可能性がある。また，尿管鏡操作により腫瘍細胞の尿路内への播種が惹起される可能性も考えられるが，これらの点について多数例を用い検討した研究はない。腎盂尿管癌術後の膀胱内再発については，年齢，膀胱癌の既往や合併，原発巣の腫瘍径，腫瘍多発，尿管発生，深達度，異型度が有意な臨床病理学的因子であるとされる (Raman, 2005; Zigeuner, 2006)。予後に関しては，異型度，深達度，リンパ節転移，リンパ脈管浸潤，上皮内癌 (CIS) の随伴，腫瘍多発，尿管発生が独立した予後因子であると報告されている (Chromiecki, 2011; Otto, 2011)。しかし，診断的尿管鏡の実施を臨床的因子に加え検討されたことはない。一方，前述のように腎盂尿管癌は診断時より浸潤性腫瘍で，腎尿管全摘除術を施行しても高率に転移が出現するという問題がある。腫瘍内微小環境は癌の形成と進展に大きく関与することが知られており (Albini, 2007)，中でも腫瘍の血管新生は癌の増殖と転移に重要な役割を果たしている (Folkman, 1995)。尿路上皮癌をはじめとする多くの癌で，腫瘍の悪性度と血管新生能、微小血管密度 (Microvessel density: MVD) および予後との間に相関関係が報告され (Fidler, 1998; Inoue, 2000)，癌治療における腫瘍血管新生の制御は極めて重要と考えられる (Kerbel, 2006)。近年，血管の主要な構成成分である血管内皮細胞 (EC: endothelial cell) を腫瘍組織から分離培養することが可能となり，腫瘍血管内皮細胞

(TEC:Tumor endothelial cell) が正常血管内皮細胞 (NEC: Normal endothelial cell) とは異なる性質を有することが明らかになってきている。NEC と比較して、TEC は高い増殖能および運動能を有し、低栄養下での生存能も高い(Matsuda, 2009; Hida, 2004)。また TEC では血管新生因子を含む増殖因子受容体の発現が亢進するとともに、血管新生因子に対する感受性が高いことが示されている(Hida, 2004; Amin, 2006)。さらに TEC は染色体異常を有し遺伝学的に不安定で、TEMs (Tumor endothelial markers) や APN (Aminopeptidase N) 等の特異な遺伝子を発現していることが報告されている(St Croix, 2000; Pasqualini, 2002)。TEC の生物学的特性が次第に明らかになってきていたが、MVD の異なる腫瘍間や転移能の異なる腫瘍間で TEC の生物学的特性に違いがあるか、などの点は未だに不明である。

【方法】 主研究では、腎盂尿管癌に対する診断的尿管鏡が、腎尿管全摘除術後の膀胱内再発率の上昇や癌特異的生存率の悪化など臨床的な問題を引き起こすかについて、208 症例を対象に検討を加える。基礎研究では、転移能に差があるヒト腫瘍細胞株（高転移株，低転移株）を用い、それぞれのヌードマウス移植腫瘍から分離培養した TEC を用いてその特性を比較検討する。

【結果】 主研究の結果、腎盂尿管癌に対する診断的尿管鏡は膀胱内再発および癌特異的生存率には影響を与えない事が明らかになった。さらに腫瘍の部位（下部尿管）は、腎盂尿管癌術後の膀胱内再発の有意な危険因子であることが判明した。また腎盂尿管癌の臨床病理学的因子のうち、リンパ脈管浸潤の有無は有意な予後因子であり、深達度とリンパ節転移の有無が独立した予後因子であった。基礎研究の結果、低転移性腫瘍由来の血管内皮細胞と比較して、高転移性腫瘍由来の血管内皮細胞は高い増殖能や運動能および VEGF-A に対する感受性を有し、血管新生因子やその受容体、幹細胞マーカー、接着因子の遺伝子発現が亢進していた。

【考察と結論】 今回の主研究によって腎盂尿管癌に対する診断的尿管鏡は、その後の臨床経過に悪影響を及ぼさない事が明らかになった。尿管鏡操作によって理論的には腫瘍細胞の迷入や播種が起こり得るため、これまで我々は診断的尿管鏡や尿管鏡を用いたが内視鏡的治療を施行する際に、その後の臨床経過に悪影響を及ぼす事を危惧していた。泌尿器科医のそのような懸念を払拭する意味で、本研究の結果は意義深いものであったと考えられる。今後、腎盂尿管癌に対する腎温存治療の普及によって、尿管鏡がますます重要な役割を果たすようになると思われる。治療の適応の決定に際して、リンパ脈管浸潤や深達度、および腫瘍の微小血管密度等の重要な予後因子を正確に診断するためにも、生検鉗子等の診断補助器具も含む更なる発達を期待したい。また、基礎研究によって転移能の異なる腫瘍間では、それぞれの腫瘍血管内皮細胞の生物学的特性にも差があることが示された。血管新生因子をターゲットとした分子標的薬が次々に臨床使用されつつあり、今後腎盂尿管癌を含め尿路上皮癌にも適応が広がると考えられている。腫瘍血管内皮細胞の特異性を解明することで、尿路上皮癌においても腫瘍特異的な血管新生阻害療法が樹立される可能性に期待したい。

学位論文審査の要旨

主査	准教授	篠原	信雄
副査	教授	櫻木	範明
副査	教授	武藏	学
副査	教授	野々村	克也

学位論文題名

腎盂尿管癌症例における膀胱内再発・転移と 予後に関する検討

本研究は、主研究において腎盂尿管癌に対する診断的尿管鏡が、腎尿管全摘除術後の膀胱内再発率や癌特異的生存率の悪化など臨床的な問題を引き起こすかについて、208症例を対象に検討した。また基礎研究において転移能に差があるヒト腫瘍細胞株（高転移株、低転移株）を用い、それぞれのヌードマウス移植腫瘍から分離培養した腫瘍血管内皮細胞（TEC:Tumor endothelial cell）を用いてその特性を比較検討した。主研究の結果から、診断的尿管鏡が膀胱内再発や癌特異的生存率に負の影響を及ぼさない事を明らかにした。また基礎研究の結果、低転移性腫瘍と比較して高転移性腫瘍由来のTECは高い増殖能と運動能を有し、血管新生因子やその受容体、および幹細胞マーカーの遺伝子発現が亢進していることを示し、転移能の異なる腫瘍間ではそれぞれの腫瘍血管内皮細胞の生物学的特性にも差があることを明らかにした。

審査において、副査櫻木教授より、尿管鏡で生検を施行した際に生検前後で尿中に現れる腫瘍細胞数の変化の有無と膀胱内再発への影響の有無について質問があった。今回の検討では尿管鏡の前後での尿細胞診は施行しておらず、腫瘍細胞数の変化については不明であるが、生検の有無で膀胱内再発率に差を認めなかったと回答した。またTECは腫瘍幹細胞とマウスのいずれに由来するかについて質問があった。TECを分離する過程でヒト細胞を特異的に死滅させるジフテリア毒素で処理しているため、人由来の細胞は死滅しておりマウス由来の細胞のみが分離されていることから、TECはマウス由来であると回答した。副査武藏教授より、腫瘍部位（下部尿管）のみが膀胱再発因子であるという今回の結果について、どのようなメカニズムの関与が考えられるかという質問があった。腫瘍細胞の運動能や生存能、接着能等の腫瘍細胞側の要因に加えて、変動する尿のpHや、腫瘍と膀胱の位置関係など、腫瘍を取り巻く環境側の要因も考えられるが、それらを検討した報告は無く今後の課題であると回答した。また高転移性腫瘍由来のTECは幹細胞マーカーが強く発現している点について、血管内皮前駆細胞や幹細胞の由来と考えられるのか、また

Stemness をみるための実験は行っているのかという質問があった。高転移腫瘍においては血管内皮前駆細胞や幹細胞由来の細胞が腫瘍内に誘導され、血管新生に大きく関わっていると思われること、また共同実験者の Stemness spheroid assay の結果から高転移性腫瘍由来の TEC は Stemness を有する可能性が示唆されたと回答した。副査野々村教授より、下端の腫瘍が膀胱内再発しやすいことの要因として下端の腫瘍の方が grade が悪い等、上部尿管と下部尿管で腫瘍の特徴に差が無かったかについて質問があり、差が無かったと回答した。また高転移性腫瘍由来の TEC で VEGF や HIF-1 α 等が発現亢進していたが、虚血や傷などで生じる血管新生の際にもそれらの増殖因子の発現が亢進するのかとの質問があり、正常血管内皮でも虚血時に増殖因子の発現が亢進する報告が有ると回答した。主査の篠原准教授より、腎盂尿管癌のリンパ節廓清範囲に関する検討がなされていないが、予後に大きく関わる因子であり廓清の意義についてどのように考えるかという質問があった。pNx の症例で有意に予後不良であることから微小転移が予後に影響を及ぼしていると考えられ、腎盂尿管癌でも廓清はしっかり行った方が良いと思われると回答した。また高転移性腫瘍で腫瘍細胞と TEC が類似した特性を有しているが、このような TEC の特性はどのようにして獲得されるのかという質問があった。それに対し、現時点ではその機序は不明であるが、高転移性腫瘍由来の TEC で Aneuploidy の比率が高いというデータがあることを説明し、その原因として腫瘍細胞と血管内皮細胞の癒合や、腫瘍由来の Microvesicle が取り込まれることによる遺伝的な変化、またウイルス感染の可能性などが検討されていると回答した。また低転移性と高転移性の TEC 間で Stemness に差が認められる原因について質問があり、低転移性腫瘍の血管新生では前駆細胞の関与が少ないが、高転移性腫瘍では前駆細胞が血管新生に大きく関与していると思われると回答した。

主研究に関する論文は、診断的尿管鏡がその後の臨床経過に悪影響を及ぼさない事を明らかにした初めての論文であり、泌尿器科医が尿管鏡を施行する際に抱いていた懸念を払拭した点が高く評価された。また基礎研究で、転移能の異なる腫瘍間では、それぞれの腫瘍血管内皮細胞の生物学的特性にも差があることを初めて明らかにした点が高く評価された。今後、より腫瘍特異的な血管新生阻害療法が樹立されることが期待される。

審査員一同は、これらの成果を高く評価し、大学院課程における研鑽や単位取得なども併せ申請者が博士（医学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定した。