

最終講義 (1997年10月25日, 京都大学医学部臨床第1講堂)

膀 胱 発 癌

京都大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 吉田 修教授)

吉 田 修*

私はいつも午後の講義が始まる最初に、「私は長年教授をしてきたけれども、講義が終わるまでの90分間だれ一人として居眠りをしなかったという記録が1回もないから、きょうはその記録を作りたいのでぜひとも協力してほしい」と言うのですが、未だに成功したことはありません。今日は最終講義ですから、是非とも一人も居眠りをしないという講義を試してみたいと思います (笑い)。

自分もとうとう最終講義をする時が来たかという感慨は確かにあります。最終講義で思い出すのは、早石修名誉教授が『失敗は成功のもと』という非常に含蓄のある最終講義をなさしまして、まさに名講義でありました。また、この講堂で故村地 孝教授がやはり名講義をなさいました。そういう名講義が昨夜思い出されて、長い間教授をやっていると心臓に毛がはえているつもりですが、昨夜はあまり眠れませんでした。というのは少し誇張しすぎですけども (笑い)。いずれにしても少し緊張しております

今日は膀胱発癌の話ですが、私が癌の研究を始めたころは未だ癌の原因とか癌のメカニズムというものはいくらもわかっていない時代でした。皆さんもご存じのように、この世紀において癌の概念が変わりました。初めのころは、肺なら肺、胃なら胃、そういう器官の病気であると思われていたのが、細胞の病気であるということに変わってきて、そして現在はまさに遺伝子の変異の蓄積によるものであるというパラダイムができあがっているわけでありまして 私は細胞の病気であるという時代からこの癌の研究に取り組んできた訳ですが、なぜ膀胱癌に興味を持ったかと言いますと、膀胱あるいは尿路上皮に癌を起こさせる原因物質は間違いなく尿中にあるということ。胃癌とか、肺癌とか、その他の癌を例にとりますと、非常に複雑なんですね。しかし膀胱癌の場合は原因となる物質は尿中にある。従って chemical なアプローチができるということに興味を持ち、膀胱癌をやろうと考えた訳であります。

この人は Dr. Rehn というドイツの開業医です 当時、泌尿器科は独立していませんでしたから、外科医です ただ19世紀末になりますと、もう外科医が膀胱

鏡を使って膀胱の中を見るということが可能でした。

この Dr. Rehn は、ドイツで fuchsin (結核菌を真赤に染める色素) を作っている工場にいた40~50名の工員のうち4名に膀胱腫瘍が発生したという事実が気が付きました。そして、どうも fuchsin を作る原料となる aniline という物質が蒸気になって、それを吸ったものが体の中で代謝され尿中に排泄されて、尿路上皮に作用して発癌するのである、という論文を書いた訳であります。これが有名な aniline tumor と呼ばれているものです。

その前にイギリスの Potts という人が、煙突掃除夫に陰嚢癌が発生するということを報告しておりますが、scientific に報告をした職業性癌の始まりはこの Rehn であろうと思います。それが1895年であります。1895年頃のことをちょっと考えてみると分るんですが、極端な例を挙げますと、胃癌は寄生虫によって発生するという大論文を書いた病理学者が (これは完全に間違いだったのですが)、動物実験でラットの胃にゴキブリの寄生虫を寄生させて癌ができるという大論文を書いてノーベル賞をもらったのが1910何年です。山際、市川両先生が、タールをウサギの耳に塗って初めて人工癌を発生させることができたのが1915年ですね。それよりも20年ぐらい前に、一開業医と言っては語弊がありますが、外科医が臨床の症例を通じて、fuchsin の染料工場に働いている40名のうち4名に膀胱腫瘍が発生した原因は fuchsin の原料にあるのではないかとこのころに着目し、しかもそれが蒸気となって吸入されることによって工員たちの体内に aniline が入り、それが代謝されたものが尿中に出て発癌するという、この speculation といいますか、考え方は、特にその時代のことを考えると非常に scientific であったかと思えます。

これはある教科書から取ったのですが、芳香属アミンによる職業性膀胱癌の研究史です (Fig. 1)。1895年の Rehn が今申し上げた aniline tumor であります。Aniline というのはベンゼン核に1つアミノ基がついているだけの簡単な構造ですが、実はこの aniline は本当は発癌物質ではなくて、その後で Hueper というアメリカ人が aniline も含めた多くの芳香属アミンの動物実験を行い、一番強い発癌性を持っているのは β -naphthylamine であるということを発表しました。

* 現: 東亜大学大学院長

Studies of Occupational Bladder Cancer by Aromatic Amines		
1895	Rehn	Aniline dyes
1937	Goldblatt	Nonox s (1-, 2-naphthylamine)
1938	Hueper	2-Naphthylamine
1950	Maguigan	Benzidine
1950	Spitz	Benzidine
1952	Walpole	4-Aminobiphenyl
1954	Case	1-Naphthylamine, 2-Naphthylamine, Benzidine, Auramine, Magenta
1955	Mellick	4-Aminobiphenyl
1973	Yoshida	Benzidine azo dyes (Direct Deep Black EX, Direct Dark Black B)
1975	Thieda	Chlornaphazin

Kyoto University

Fig. 1

その間随分時間がたっているわけですが, aniline 自体は発癌物質ではなかったとはいふものの, やはり Rehn の仕事は高く評価されるべきであります. この Hueper はどういふことをしたかと言いますと, Rehn の論文以来, aniline, β -naphthylamine, α -naphthylamine, benzidine も含め多くの芳香族アミンの発癌性をテストする動物実験が行われました. しかし1つには動物実験のやり方が拙かった. それはラットあるいはウサギに大量投与し, しかも長期間飼育しなかった. Hueper はアメリカの NIH の人だと思いますが, イヌに長期間 β -naphthylamine を投与して膀胱癌の発生に成功し, これを発癌物質として報告したわけです. その後, benzidine とか 4-aminobiphenyl いったようなものが発癌物質であるということが証明されました. ここ1973年に私どもがやった仕事が引用されております. 今まで間違いなくヒトの膀胱に対して癌原性を有しているものは, α -naphthylamine, 4,4'-diaminodiphenyl, benzidine です (Fig. 2). それから 4-aminobiphenyl, Chlornaphazine. これはちょっとおもしろいものでして職業に関係がありません. 北欧で白血病に化学療法として chlornaphazine が使われておりましたが, この薬

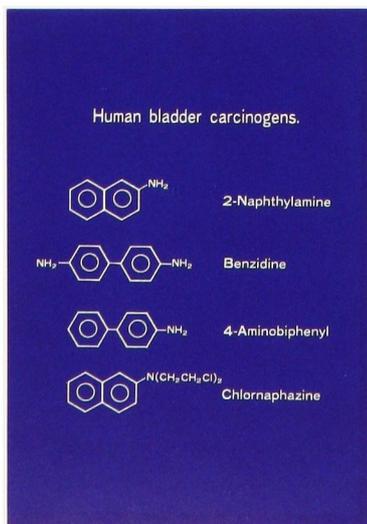


Fig. 2

を投与した人に膀胱癌が発生したということですので発売禁止になりました. このように, これらの化学物質はヒトの膀胱に対して明らかな癌原性を有しています.

実は約30年前になろうかと思いますが, 私が benzidine 系のアゾ色素について研究するに至った動機はある患者さんとの出会いです. この方は手書き友禅を職業としている方でして, ご覧頂いてお分かりのように口が少し赤くなっています. 手書き友禅というのは, 筆先につける染料の量を微妙に調整しなければ, きれいなぼかし模様を出すことができない. 従ってこの人は筆に含ませた染料を口で吸りながら友禅を描いているということが分かりました. どういう契機でそれが分かったかと言いますと, 私はその当時助手が講師でまだ患者を持っており, この人の手術前日に病室を訪ねていろいろ手術の話をしておりましたら, 当時まだ小学校5~6年生の娘さんが「お父ちゃんの膀胱を開くよりも, 胃を開いて見ると, きれいに染まっているはずやけどね」というようなことを言いました. 私は非常に不思議に思って「それはどういうことですか?」とこの患者に聞きますと, 「私はこうやっているいろいろな染料を吸りながら絵を描いていて, 私が修行時代はバケツに1杯ぐらい吸らなければ一人前になれないと言われた位です」という答えが返ってきました. その時は私は, この染料自体に癌原性があるのではなくて恐らく benzidine など, 他の明らかな癌原性物質の contamination があるのではないかと思った訳です. そこで手術後に, この方に「今使っている染料を見せてくれませんか」と申し上げ, 染料を沢山持って来てもらいました. 調べてみますと benzidine 系のアゾ染料があります. ところが薄層クロマトグラフィでも benzidine は全く検出されない. つまり contamination はなかったという訳です. これはちょっとおかしいぞと思ひ研究を開始した次第です. 退院された後に実際の職場を見せてもらいに行きました. 一流の手書き友禅の方でした. この方は2, 3年前に癌が再発して亡くなられましたが, 私にとっては忘れることのできない患者さんの1人です.

そこで, まず京大泌尿器科に入院された患者さんのカルテ・問診からもう一度徹底的に調べ直してみますと, この25年間に9名の方が手書き友禅に従事しているということが分かりました. Low grade, high grade の方いろいろで, 治療はスライドに示す如くであります. 亡くなった方も4名おられました. こういふことから, やはりこの方1人だけではないのだということで, 少し調べを進めました. 京都府立医大, 京都市立病院などにも協力を求めまして, 膀胱癌の患者さんの中で, 手書き友禅あるいはそういう染色業に従事している方がどのくらいおられるかを調べるととも

染色業従事者と膀胱がん¹⁴⁾

Dye exposure	Cases (male)		Controls	
	No.	%	No.	%
Yes	17	8.5	2	1.4
No	183	91.5	146	98.6
Total	200	100.0	148	100.0

Relative to a risk of 1.0 for no exposure=6.8, $\chi^2=8.4$, $p<0.01$
 Total No. of patients: 394
 No. of men : 200
 No. of dyers : 17

Fig. 3

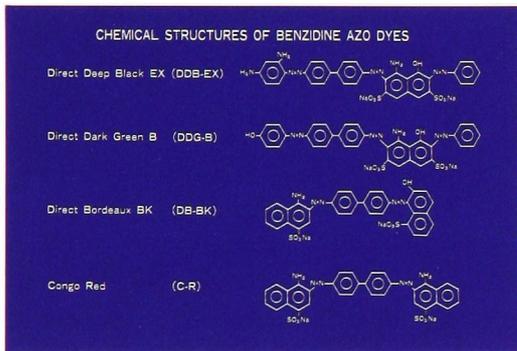


Fig. 4

に control をとりました。Case が200名, control が約150名 (Fig. 3)。今考えてみますと非常にグローブな疫学調査でありましたけれども, relative risk を出してみると6.8という大変高い数値でした。Benzidine 系のアゾ色素をスライドに示します (Fig. 4)。ちょっとこれを見ていただきたいのですが, これは biphenyl がアゾ結合をしています。Congo red というのは染色には使わないようですが, これはよく我々も使うもので, やはりここでアゾ結合している。このアゾ結合が色を出す原子群だそうなんです。アゾ色素というのはこの結合があるから色が出るのだということです。従って, 後でちょっと触れますけれども, これが細菌などによって切れますと色はなくなります。ですから非常に実験もやりやすかったですね。

こういうものを1つずつ調べていった訳ですが, 是非調べなければいけないと思ったのは, 先ほどの患者さんが特別ではなくて, 一般の手描き友禅の職人さんも染料を舐めたり吸ったりして筆先を調節するような習慣があるのかどうかということです。本研究に大変興味を持ってくれた京都市労働基準局の協力も得たと思います (随分昔の話ですから記憶が定かではありませんが)。141名の手書き友禅の業者にアンケートを送りまして, 非常に協力的で98%の回答がありました (Fig. 5)。その約半数ぐらいが, そういう (今から思えば) 大変危険なことをしていた訳です。

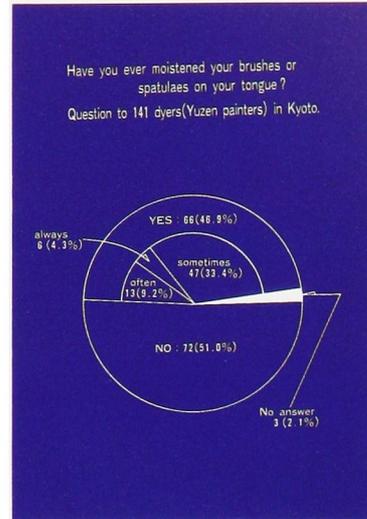


Fig. 5



Fig. 6

それでいろいろな検査をしてみました, そのうちの検査の1つに Ames test があります。この Ames test というのは, サルモネラ菌 TA98 株, TA100 株という変異株 (histidine 要求株) が, 非常に弱い mutagen を加えることによって histidine 非要求株への復帰変異を起こすことを調べる検査です。例えば, 先ほどの direct deep black EX (DDBEX) により復帰変異を起こしますと, histidine を含まないプレート培地の中でもこうやって生えてくるわけです (Fig. 6)。S9 というのは種々の肝酵素が誘導された状態でのラット肝臓抽出物です。この DDBEX に S9 を加えて incubate した後に Ames test をやりますと, *in vivo* 代謝後と同様の状態になり mutagenicity が増強されていることを示しています。

また, DDBEX をマウスに投与するとき綺麗な肝臓ができますが, 残念ながら膀胱癌はできません。これは肝臓の組織ですが, 当時, 翠川 修先生に見ていただいたら「これ, 面白いものを作ったな」と大変感心されました。膀胱に腫瘍はできておりませんが, ³H-thymidine 取込みを見ますと, コントロールと比べてこれだけ上がっているということが分かりました (Fig. 7)。³H-thymidine 取込みを増強させる物

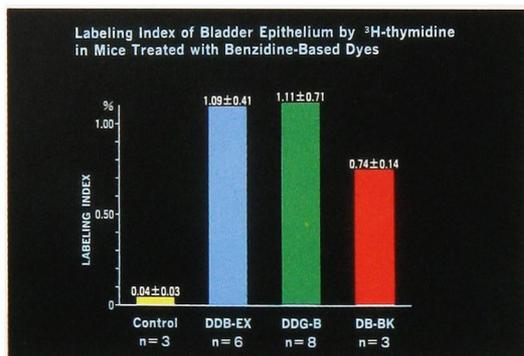


Fig. 7

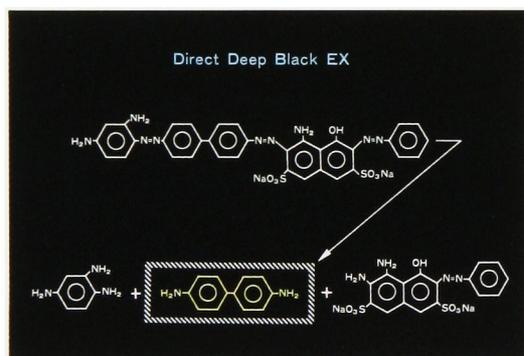


Fig. 8

質が尿中に出ていることは間違いない訳です。要するに、友禅業をしている方々の習慣によって DDBEX が体内に入ると、こういう現象が起きて benzidine が出て代謝され膀胱に癌ができるというのは当然のことであろうかと思う訳です (Fig. 8)。

先ほど岡田裕作助教授からのお話で、化学物質による環境汚染という話がありました。当時丸太町をちょっと上がったところにかかなり大きな染料工場がありました。あそこから鴨川を見ると、いつもダークグリーンの水がパーッと流れているんですね。このスライドはアメリカで膀胱癌の cancer mortality by county をプロットしたもので、非常に古いんですが (Fig. 9)、これを見ますとちょっとぞっとしましてね。というのは、こういう赤くなっているところは大体工業地帯なんですね。土壌細菌をアゾ色素入りのブ

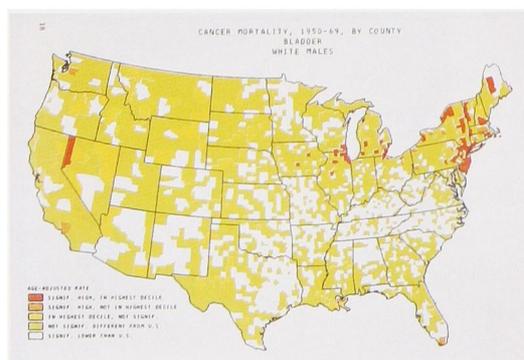


Fig. 9

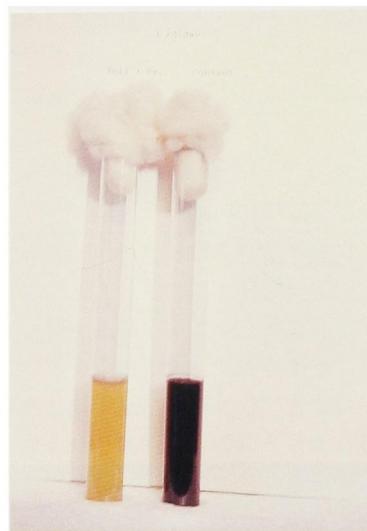


Fig. 10

イオンに入れて2日ぐらい経つと、左側のように色がこんなに変わってきます (Fig. 10)。つまりアゾ結合が着色の原因ですから、これは完全にアゾ結合が両方切れたことを示している訳です。この中から benzidine を多量に検出することができました。だからと言ってこれが環境汚染で、この下流にいる人が全部膀胱癌になるというようなことはないのですが、こういう可能性もある。今は殆ど膀胱癌の患者さんでそういう特殊な職業性のもはありません。特にこの研究を発表してから後は、労働基準局が京都ではこのような習慣を断絶するように、また危険な benzidine 系アゾ色素は使わないように指導して、最近では友禅業者からの患者さんは殆どなくなったと言ってもいいと思います。

しかし、一番大きな原因として考えられるのはやはり喫煙なんです。喫煙者の尿の変異原性を先ほどの Ames test で調べてみますと、喫煙者、これは高い順からずっと並べている簡単なものですが (Fig. 11)、喫煙者はやっぱり尿の変異原性が非常に高いことが分かります。ところが非喫煙者の受動喫煙では少ししか上がりませんでした。カンファレンスルームでタバコをバンバン吸ってもらって (笑い)、タバコを吸わな

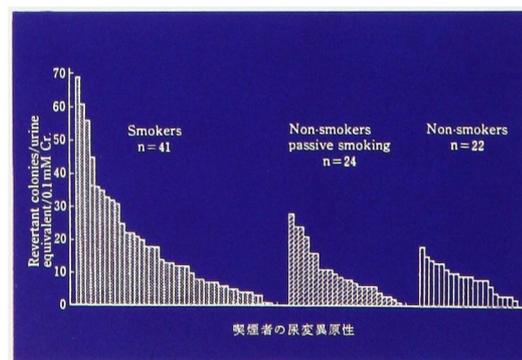


Fig. 11

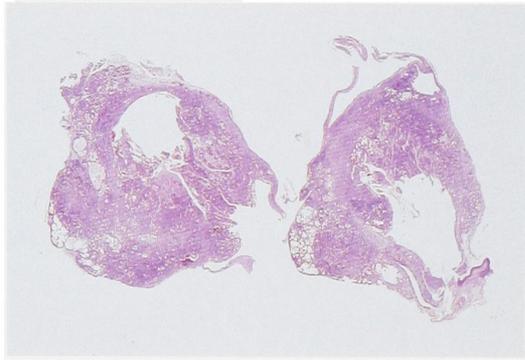


Fig. 14

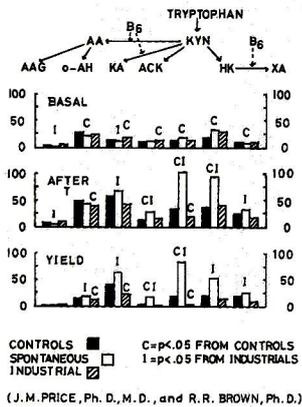


Fig. 15

トファンを负荷し、尿中代謝物質を調べた結果です (Fig. 15)。ちょっと busy なスライドで恐縮ですが、自然発生膀胱腫瘍の患者だけが尿中のトリプトファン代謝物質が非常に多量に出ています。それから、これは私が Brown らと一緒にやった仕事で、随分昔で 1971年ですね (Fig. 16)。これは再発をよくする患者

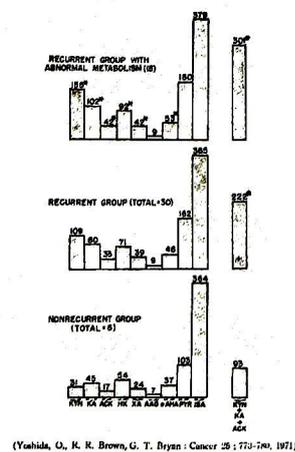


Fig. 16

とそうでない患者に分けて、発癌あるいは少なくとも co-promoter 作用が知られているという物質の総和を調べて比較してみますと、recurrent group に多く出ているということが分かりました。

しかし、これは単に尿中に出て尿路上皮細胞に作用し、腫瘍が de novo に出てきているという説明にはならないと思っております。何か他に作用があるのではないかと今でも思っているのですがまだ解明されておりません。そういうことをずっとやって感じたのは、喫煙にしてもトリプトファン代謝にしても benzidine 系アゾ色素にしても、尿中に原因物質が入って腫瘍ができるかできないかということであって、もうひとつ発癌のメカニズムにアプローチしていない。その物質が、例えば DNA にどのように作用してどのような変化を起こしていくのかということに何かアプローチしていないという感じがありました。幸い、教室に若い優秀な人たちが入ってきましたので、その人たちを中西重忠教授の教室等へ送って分子生物学を勉強してもらった訳です。

徐々に私どもの教室で分子生物学をやる準備が整いつつあった頃に、非常にびっくりする paper が出ました。それは ras 遺伝子の変化、つまり正常の細胞に ras proto-oncogene があり、それが突然変異を起こして oncogene ができるという Weinberg らの論文であります。これを少し図式化します (Fig. 17) と、こちらは正常です。ここに H-ras 遺伝子があります。この ras 蛋白 p21 はちょうどこの codon が GGC ですから glycine がアミノ酸としてある訳ですね。ところが、点突然変異により proto-oncogene が活性化され oncogene になると、GGC が GTC に点突然変異を起こし glycine が valine になりこのような p21 蛋白ができる。これが活性化つまり癌化したものであるという論文でありまして、しかもこの論文はどういう癌細胞を使ったかと言いますと、T24 という膀胱癌の細胞なんです。T24 は77歳の Caucasian の膀胱癌の手術摘除組織から株化したものです。これでもうすべて癌の説明は可能だというような非常にショッキ

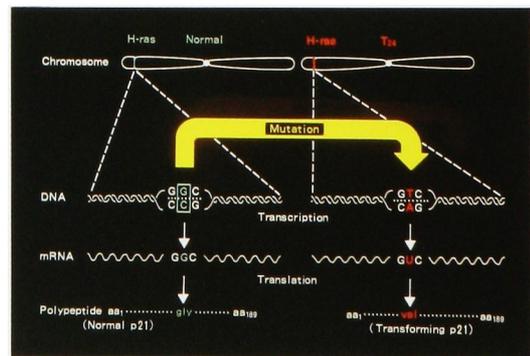


Fig. 17

ングな paper だった訳です。

畑中正一教授と2人でゴルフに行く車の中でこの話をし出して、ゴルフをやっている間中考えていたことを今でも覚えています(笑)。というのは、T24は株化している細胞ですので、培養を何遍も何遍も繰り返しているとこういった変異ぐらひは起こると。だから実際に我々が取り扱っている患者さんの膀胱腫瘍において、こういう現象が見られているということを証明しない限り、これは artifact を取り上げているのに過ぎない可能性だってあるというのが私の考えでした。畑中先生は「いやそうかも知れないけれど、そうじゃないと思う」と言う。大分この議論がありました。じゃあやろうじゃないかということで、私どもの方で手術で採った膀胱腫瘍から DNA をパーッと集めまして、それで transfection 法等いろいろな方法で研究を始めてもらったんですが、そのときにこの研究をやったのが当時の大学院生で今教授をやっている藤田 潤君です。彼は非常に activity の高い人でして、詳しいことは言いませんが、NIH3T3 という細胞を使って transfection を起こす実験をいくらやってもうまくいかないんですね。そこで畑中先生に話したところ、もう NIH に直接行けということになり、NIH の Aaronson の元で研究したんです。彼に話を聞きますと、Aaronson のところに行ったら、着くなり「おれはおまえに教えてやらなきゃいけないような義務は全くない。あそこの机が空いてるから、あの机で3週間だけ使ってよろしい。邪魔になるようだったら、3週間目には帰ってもらう」と言われたそうです(笑)。そういうときに「なにをっ」と怒るのが藤田君の良いところでありまして(笑)、そこで研究を始めたわけです。

そうしますと (Fig. 18), T24で認められたような同じ場所の codon ではなくて、61番目、ここにあります JPT26 というのは、Japan の J と P は Pelvic, T は Tumor にできた26という番号。また JBT44 というのは Japan, Bladder, Tumor の略です。それらを使って調べてみますと、61番目の codon は T24

では何も変化が起こってないんですけども、JPT26は A→G の、JBT44 では A→T の点突然変異を起こしているということが証明されました。こういうことが証明されて、これは確か『Nature』に出したと思うんですけども。そしたら Aaronson が「なかなかやるな」ということで、あと1年か2年ここにおらんかと。3週間おれと言ったのが1年か2年に延びて(笑)、彼は3年ぐらひおったんですかね。それで次々に仕事していった訳です。要するに腫瘍における proto-oncogene の活性化、実際に我々が日常接している患者さんの膀胱腫瘍では、ras 蛋白の gene の61番目の codon の突然変異があり、これは後天的なもので先ほどから述べているような、恐らく化学発癌物質がそれに作用して生じたのであろうというように一歩前進を見ました。これで殆ど説明できると思っていましたら、そうではなくて、膀胱腫瘍の場合には確か10%位しか変異が見られません。

研究のほうもだいぶ活性化してきました、共同研究もかなりうまくいくようになりました。Loss of heterozygosity (LOH) を利用しての癌抑制遺伝子を検出したわけでありまして、こういった染色体のところにある癌抑制遺伝子を膀胱腫瘍を使っていろいろやってみました。これは羽瀨友則君らが中心でやってくれましたけれども、そのときに p53 に注目したのはいくつかの理由があります。1つの大きな理由は、全ての癌患者の約半数において p53 遺伝子の変異が見られるということ。それから膀胱腫瘍の場合には、grade が悪性化するに従って、また stage が進むに従って p53 が変異を起こしている頻度も高まる (Fig. 19) ということが非常にはっきりしておりますので、他はさておき p53 を集中的にやろうということで、いろんな方面から研究を始めていった訳です。1993年の Science の表紙 (Fig. 20) に p53 : Molecule of the Year という見出しが出ましたが、これらの印で示される部位の癌には p53 の異常が見られるということを示しています。A genetic key to cancer と書いてあります。

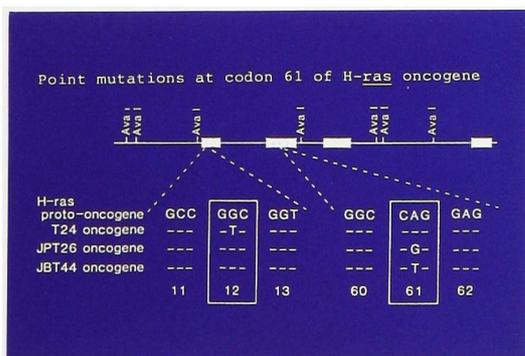


Fig. 18

p53 GENE MUTATION IN BLADDER CANCER	
Histopathology	p53 mut/ total cases
Grade 1	0/9 (0)
Grade 2	4/20 (20)
Grade 3	13/17 (76)
Stage pTa	0/11 (0)
pT1	5/17 (29)
pT2-4	12/18 (67)

Fig. 19

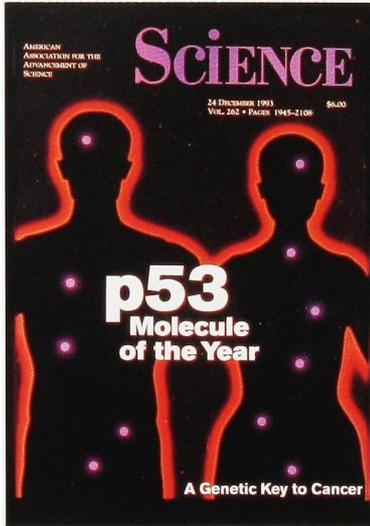


Fig. 20

Tumor	Mutation	Possible carcinogen
Lung cancer	G : C → T : A	Benzo [a] pyrene (smoking)
Hepatoma	G : C → T : A	Aflatoxin B
Skin cancer	$\begin{pmatrix} C-C \\ G-G \end{pmatrix} \rightarrow \begin{pmatrix} T-T \\ A-A \end{pmatrix}$	U - V exposure
Colon cancer	G : C → A : T at CpG site	(spontaneous or enzymatic deamination)

Fig. 21

p53 に関してはいろいろなことをやりましたけれども、時間の関係で1, 2のことだけ申します。まず1つは、発癌物質は p53 の mutation の上に指紋を残しているということです。つまりある種の発癌物質によって mutation を起こすパターンは大体決まっているわけです。例えば肺癌、肝癌、皮膚癌、大腸癌、こういうふうには大体決まっております (Fig. 21)。膀胱癌はどうだろうかということで、エジプトのカイロの癌研と共同研究をしました。エジプトではナイル川河畔に生息する住血吸虫が卵をリンパ系に産んで、リンパ系から卵が尿路上皮の方に尿路の方に出てきまして、それが異物になって非常に長期の感染を起こします。したがって尿路上皮が扁平上皮化生して扁平上皮癌ができるということで有名です。ずーっとエジプト人達を苦しめてきた寄生虫で、BC 1900年前の Kahun のパピルスにはこのように血尿の記載があります (Fig. 22)。日本人のうち p53 の gene mutation を起こしていたのは33%、エジプト人では86%に見られました。その変異パターンを調べてみますと、何と日本人の喫煙者だけが AT→GC の変化を起こしていて、その他の住血吸虫等ではこの AT→GC の塩基変異を起こしている例が全くないということでありまし

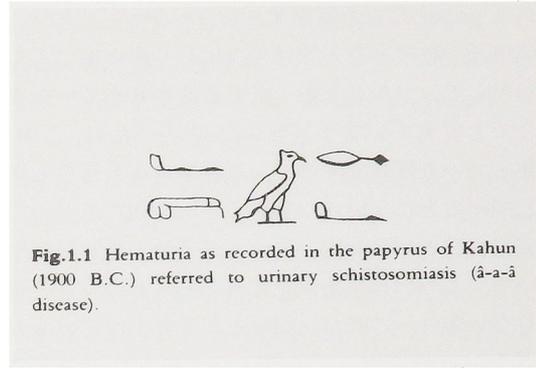


Fig.1.1 Hematuria as recorded in the papyrus of Kahun (1900 B.C.) referred to urinary schistosomiasis (â-a-â disease).

Fig. 22

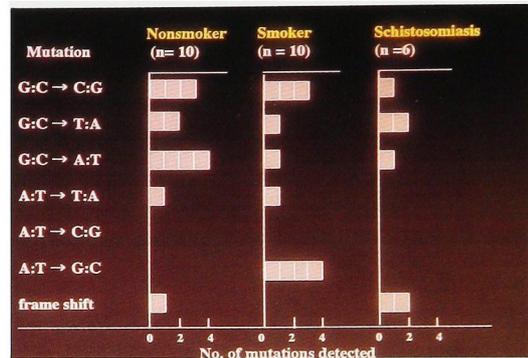


Fig. 23

て、やはり指紋が残っている訳です (Fig. 23)。

指紋が残っているんだったら、その指紋を何か他にも利用できないかといろいろとディスカッションしました。Johns Hopkins のグループが出した論文にも刺激されたんですけども、膀胱癌の特徴である多中心性の原因を解明するのに、発癌物質が残した指紋を利用しようということになったわけです。多中心性に関する仮説は二つあるんですね (Fig. 24)。一つは腫瘍細胞が播種して他の方向に移るという seeding and implantation 説、すなわち monoclonal 説です。もう一つは de novo にできてくるという polyclonal 説です。私はずっと後の説を考えていたんですけども、もし polyclonal であるならば、発癌物質が残した指紋は違うであろうし、monoclonal であるならば、複数できている腫瘍の塩基変異は同じであろう

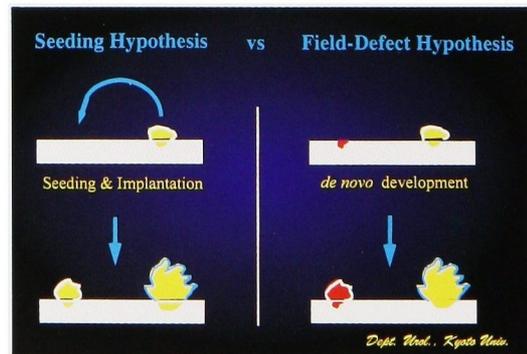


Fig. 24

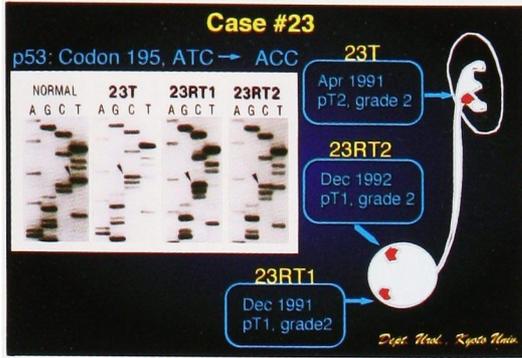


Fig. 25

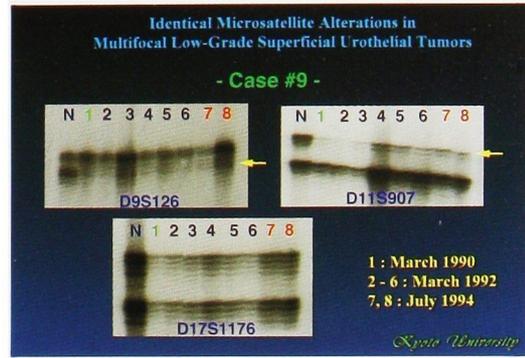


Fig. 27

case	tumor	op date	codon	base change
10	BT	1991.4	246	ATG to GTG
	UT	1992.6	246	ATG to GTG
23	RPT	1991.4	195	ATC to ACC
	BT1	1991.12	195	ATC to ACC
	BT2	1992.12	195	ATC to ACC
30	UT	1988.4	183	TCA to TGA
	BT1-3	1991.5	183	TCA to TGA
72	RPT	1992.4	257	CTG to CCG
	BT	1993.2	257	CTG to CCG

Fig. 26

と、そういう仮説を立てた訳です。そうしてみますと、この症例は (Fig. 25), 1991年4月に grade 2, pT2 の腎盂腫瘍ができ尿管全摘除術を行いました。ところが1991年12月と1992年12月に膀胱腫瘍が再発したため、腫瘍切除を行いました。これらを調べたところ、全部 p53 遺伝子の mutation が見られ、しかも同じ codon に同じ塩基変異を起こしていました。すなわち同じ指紋が見つかったということでありまして、この3つの腫瘍の origin は1つである、monoclonal であるということの証明になる訳であります。偶然の一致というのは確率論的にはちょっと考えられない位低いものであります。同様な症例が4例ありましたが (Fig. 26), この4例すべてで codon の変異パターンが同一でありました。たった4例ですけども、原著にして『Lancet』に送りましたら、すぐ掲載したのを今でも覚えております。

しからば、p53 の mutation を起こしているのは high grade に多いが、膀胱腫瘍の場合には非常に low grade, papilloma に近いものでも多発しているのではないか。これは polyclonal かもしれないのではないかという反論が当然出てきます。その証明はなかなかやりにくいんですけども、今年中に論文する予定ですが、microsatellite の alteration を使って確率論的にやりますと、この症例 (Fig. 27) では腫瘍が3回再発し合計8つの腫瘍ができております。その8つの腫瘍の microsatellite alteration を調べれば、変異が

父母どちら側の allele 由来かが分かる訳ですけども、同じ9番染色体上の allele (恐らく 9q にある tumor suppressor gene だと思っております) に起こっております。こういう現象が起きる確率は2の7乗分の1になります。しかもこの症例は11番目染色体上の allele でも同様な microsatellite alteration が起こっておりますので、4の7乗分の1の確率でない偶然の一致は起こらないということです。こういうふうにもどうも low grade の表在性膀胱腫瘍についても seeding, monoclonal 説のほうが当てはまるのではないかということをお最近考えるに至っております。そうやって大学院生と一緒にやることによってこういったことが究明されてきたわけです。またこのスライド (Fig. 28) で見ますと、転移というのは dissociation がまず起こり、次いで脈管内に invasion し、locomotion が起こって、attachment, re-invasion, そして colonization が起こるけれども、seeding というのは dissociation, locomotion, attachment, colonization から成り立っています。従って、これをどこかでブロックすることにより再発を防止できるのではないかということで、現在、大学院生が研究しているところだと思います。これは私の定年までに間に合いませんでした。

ところで尿中の剝離細胞には、剝離してどんどん落ちていく細胞、これから死に至るような細胞ではなくて、かなり vivid な細胞が多く含まれています。この

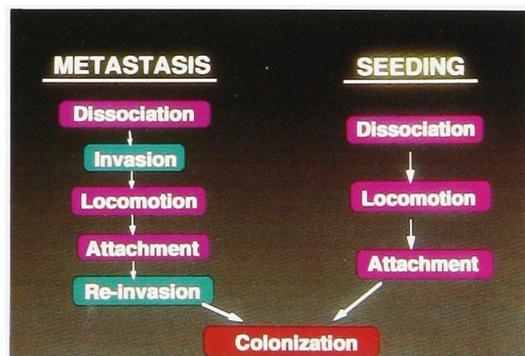


Fig. 28

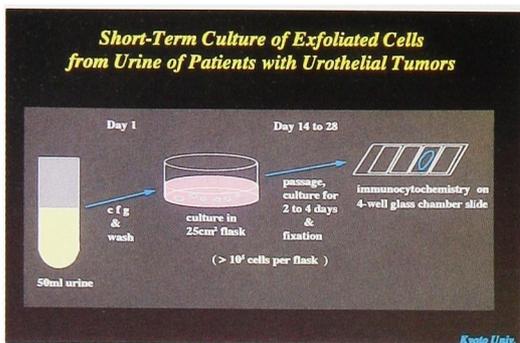


Fig. 29

点に着目し、奥野 博君が中心となってこのような尿中剝離細胞の短期培養系を確立しました (Fig. 29)。培養4日目には初期細胞生着が見られ、14日目で confluent growth の状態になります。非常に驚くべきことに、健常人ボランティアの約半数に初期細胞生着が認められ、更に sufficient cell growth (10⁵ 個以上の細胞増殖と定義する) は約13%に見られました (Fig. 3)。また、尿路上皮腫瘍のある症例では約60%に sufficient cell growth が認められるという結果が得られましたが、中でも上部尿路腫瘍の場合には100%に初期細胞生着、88%に sufficient cell growth が起こるといことが分かりました (Fig. 31)。これは非常に意外な結果でした。腎盂尿管腫瘍術後の膀胱内再発とどう関係があるかということで follow してみますと (Fig. 32), sufficient cell growth 群は in-

Total	Primary Cell Outgrowth		Sufficient Cell Growth	
N	N	%	N	%
<i>Pts with tumors</i>				
129	112	86.8 *	77	59.7 **
<i>Healthy volunteers</i>				
53	29	54.7 *	7	13.2 **

*, **p<0.0001

Fig. 30

	No. of patients	No. of successful primary outgrowths *	No. of successful adequate growths *
Bladder	113	99 (87.5%)	67 (59.3%)
Upper urinary tract	25	25 (100%)	22 (88.0%)

* primary outgrowths : identification of islet-like cell colonies grown in the flask
 * adequate growths : more than 10⁵ cells per flask just before first passage
 * P<0.005

Fig. 31

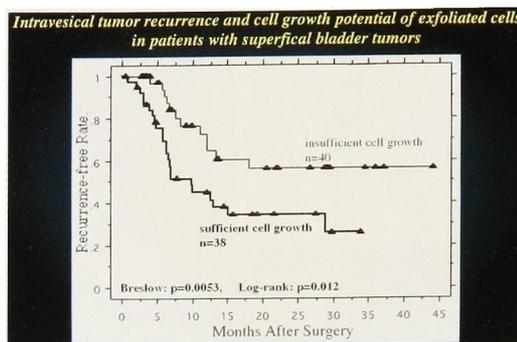


Fig. 32

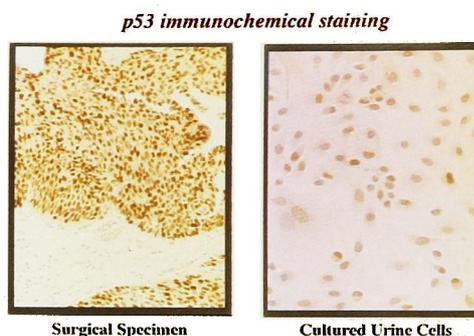


Fig. 33

sufficient cell growth 群に比べて非再発率がずっと低い、すなわち再発し易くなっているということが分かりました。また、p53 染色では手術摘除組織も尿中剝離細胞培養系も染まりますし (Fig. 33), アクリジンオレンジを使いますと腫瘍細胞は真っ赤に、正常細胞は黄色に染め分けることができます (Fig. 34)。このように、非侵襲的に採取できる材料を使って色々な情報を集めることが可能になって参りました。

さらに、そのような材料を用いて telomerase 活性を調べてみました。ご存じのように正常体細胞の分裂回数には限度があります。これは、正常体細胞が分裂する度に染色体の末端にある telomere DNA が短くなっていくために分裂回数に限りがあると言われていた訳であります。生殖細胞とか癌細胞では、telomere DNA の短縮が起らないようにする telomerase 活

Fluorescent staining with acridine orange on cultured cells from urine

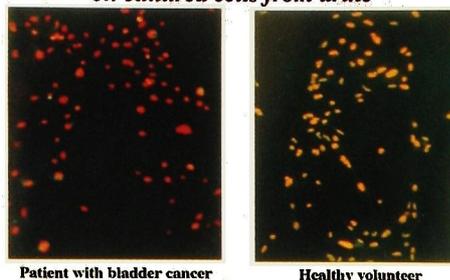


Fig. 34

性があると言われており、1994年に Kim らは、100例の transformed または cancer cell line で telomerase 活性がほとんど100%近く発現しているという結果を報告しています。生検標本も同様でした。じゃあ我々もやってみようというのでこれをやりますと、膀胱癌組織では100%近く telomerase 活性が陽性でした (Fig. 35)。ただし、理由は不明ですが8例中1例だけ正常の尿路上皮にも telomerase 活性が認められました。さらに、尿中剝離細胞の telomerase 活性を調べることにより非侵襲的な癌の診断ができるのではないかと考えてやってみましたところ、膀胱癌患者の自然排尿あるいは洗浄尿で高率に telomerase 活性が認められました (Fig. 36)。今後はもっと短時間で経済的に検査できれば、非侵襲的な診断法として非常に有用ではないかと期待しております。

非常に駆け足で話しましたが、時間もちょうど今で1時間たちました。考えてみますと、私が教授になってから入ってきた150名の若い人たちと一緒にいろいろな研究をやって来ました。ただ、いつも考えていますことは、やはり臨床医学というのは、William



Fig. 37

Osler 卿が100年前に言ったことを私はその通り拳拳服膺しておる訳ですが、“Science”と、science に基づいた skill すなわち “Art”と、それから “Humanity” から成り立っていると考えております。私はいろいろな研究をやって来ました。常に臨床に役に立つといたら非常に平凡に聞こえますけれども、我々のような臨床家がやる研究というのは自ずから目的をはっきりさせなければいけないと考えております。先日行われた日本癌治療学会総会の会長講演では、21世紀の癌治療を “Science” と “Art” と “Humanity”, あるいは social economics, そういう面から見て講演したのですが、科学と医術と人間性、社会性、これを常に守って考えていかなければならないと思っております (Fig. 37)。Science も基礎研究からと言いましたが、もう少し “from benchside to bedside” をいつも心がけていて欲しい。ある場合は逆に bedside から benchside に、こういうことを常に考えながら、研究のための研究ではなくて、目的をちゃんと持ったものを持って欲しいということを、私は今まで申して参りました。最後のスライド、現在のスタッフですがこれ以外にもたくさんおります。岡田助教授は大きな口を開けて笑ってますし (笑い)、ここに寺地敏郎講師、笥 善行講師、皆それぞれ個性のある大変心強い強力な味方に、同僚に支えられまして、今日まで充実した日々を送ることができたことを私は大変幸せに思っております。同僚の諸君、それからここにはおりませんが今まで一緒にやってきた諸君に心から感謝の意を捧げて、本日の最終講義を終わりたいと思います。どうぞ拙い講義を最後まで熱心に、今日私が拝見したところでは一人も居眠りしないでお聞き頂いたと思います。どうぞ本当に有り難うございました (拍手)。

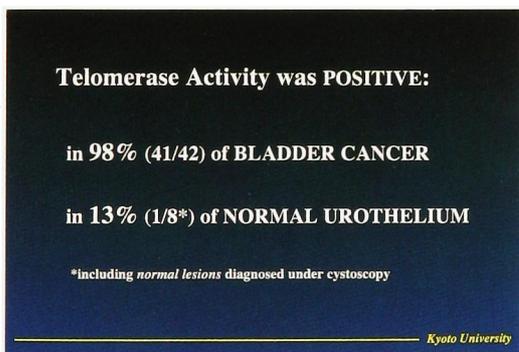


Fig. 35

Procedure	Sensitivity (%)	95% CI	Specificity (%)	95% CI
Telomerase activity				
Tumor tissues	98 [41/42]	87-100	88 [7/8]	47-100
Exfoliated cell				
Void	55 [23/42]	39-70	ND	ND
Washing	84 [36/43]	69-93	100 [12/12]	74-100
Void or Washing	89 [40/45]	76-96	100 [12/12]	74-100
Cytologic examination	42 [19/45]	28-58	99 [125/126]	96-100

Fig. 36