

ハイリスク膀胱がんの自然史

福島 昭治, 鰐淵 英機, 魏 民, 森村圭一朗

大阪市立大学大学院医学研究科都市環境病理学

DEVELOPMENT OF INVASIVE URINARY BLADDER CARCINOMAS

Shoji FUKUSHIMA, Hideki WANIBUCHI, Min WEI and Keiichirou MORIMURA

The First Department of Pathology, Osaka City University Medical School

In this paper, we report on invasive urinary bladder carcinomas as follows, (1) p53 mutations have an important role in promotion and progression stages of carcinogenesis, (2) invasive bladder carcinomas occur multi-centrally in the bladder, (3) an organic arsenic, dimethylarsinic acid exerts carcinogenicity in the bladder of rats, (4) p53 mutations in carcinomas are caused by different carcinogens, and (5) bladder urothelium of people living in ^{137}Cs -contaminated areas of Ukraine showed chronic proliferative atypical cystitis (so-called Chernobyl cystitis).

(Hinyokika Kiyo 52 : 451-455, 2006)

Key words : Mouse bladder carcinomas, Arsenic carcinogenicity, Chernobyl cystitis

緒 言

1895年 Rehn が染料工場従業員に膀胱がんが多発したことを報告して以来、職業がんとしての膀胱がんが多数、見つかっており、また、その原因が明らかになっている。しかし、一般の膀胱がんの原因を同定することは困難である。したがって、通常みられるハイリスク膀胱がんを発がん因子との関連で追究するのは不可能である。

そこで、本稿では、(1) 膀胱発がん物質である N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN) 実験膀胱がん、特にマウス BBN 浸潤性膀胱がんとその多中心性発生、(2) 砒素膀胱がんの本態、さらに (3) ウクライナ チェルノブイリ膀胱病変：原子力発電事故による放射能汚染地区住民に発生した膀胱上皮内がんおよび p53、酸化ストレス、ユビキチンと細胞増殖の関連について述べる。

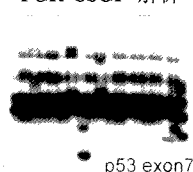
1. マウス BBN 膀胱がん

雄性 NON/Shi 系マウス（実験開始時 6 週齢）に 0.05% BBN 含有飲料水を12週間以上投与すると、非乳頭状浸潤がんが発生し、時に局所リンパ節や肺転移をもたらし、さらに散布性に腹腔内に播種する。このマウス膀胱がんの p53 遺伝子変異を検索すると、上皮内がんから浸潤がん、さらに転移をとまなう症例になるにつれて、変異が高率になる (Fig. 1)¹⁾

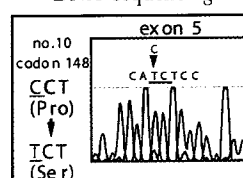
また、p53 ノックアウトマウスのヘテロ接合体 (p53+/-) に種々の濃度の BBN を飲料水投与 (20週間) すると、ヘテロ接合体での膀胱尿路上皮がんの発生は、野生型に比較して低用量から認められ、BBN に対して高感受性を示した (Fig. 2)²⁾ とくにより悪性度の強い扁平上皮がんはヘテロ接合体にのみ認められた。

そこで、発がん感受性と細胞増殖感受性との相関性を検討した。発がん高感受性臓器の膀胱とそれが文献上、知られている皮膚、低感受性の肝と肺、腎における p53 蛋白の発現を p53 ノックアウトマウス、ヘテ

PCR-SSCP 解析



DNA sequencing



	上皮内癌	浸潤癌	転移を伴う癌
p53 変異頻度 [NON/Shi]	4/11 (36%)	14/18 (78%)	9/10 (90%)
p53 LOH [(NON/Shi×C3H/He/Shi)F ₁]	—	1/14 (7%)	—

Fig. 1. マウス膀胱癌および前癌病変における p53 遺伝子変異の頻度

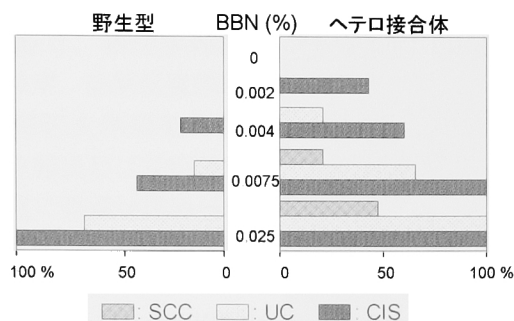


Fig. 2. p53 ノックアウトマウスにおける BBN 膀胱発癌感受性の亢進

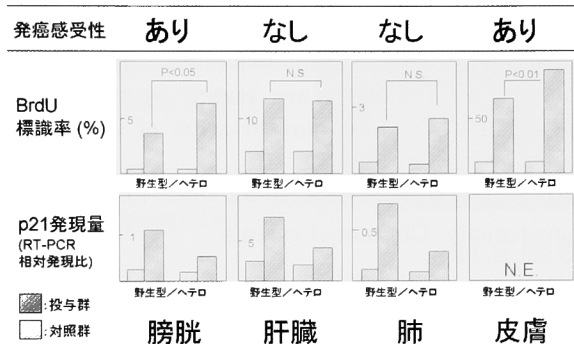


Fig. 3. 発癌物質投与時の細胞増殖と p21^{WAF1/cip1} の発現

ロ接合体に種々の発がん物質を投与し、免疫組織学的に検索すると、膀胱と皮膚などの発がん感受性臓器に p53 陽性細胞が認められた³⁾。また、Fig. 3 の様に、BrdU 標識率はいずれの臓器においても発がん物質投与群で増加しており、とくに膀胱と皮膚においてはヘテロ接合体の標識率は野生型のそれに比し有意に増加し、この差が発がん感受性につながったと思われる。しかし p21 の mRNA 発現に関しては臓器間で差がな

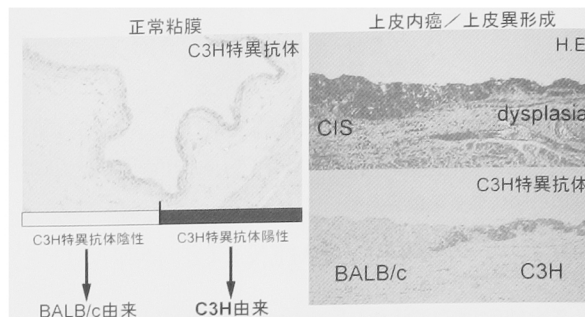


Fig. 4. 浸潤性膀胱癌の多中心性発生：キメラマウス C3H BALB/c 膀胱の正常粘膜および BBN 誘発非浸潤性病変

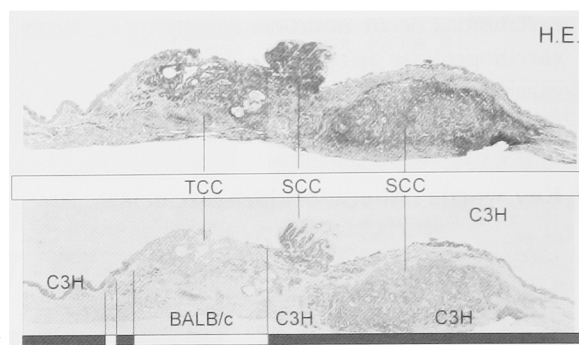


Fig. 5. キメラマウス BBN 誘発膀胱癌の多中心性発生

く、p21 の面から臓器間の細胞増殖の差を説明することはできなかった。

2. 上皮内がんからの浸潤性膀胱がんの多発：キメラマウス膀胱がんによる解析

膀胱がんの多中心性発生についてはこれまで種々論議されているところである。本稿では浸潤性膀胱がんの多中心性発生に関する当教室におけるキメラマウス

No.	性別/屠殺時期		膀胱癌			腎盂癌			Clonality
			CIS	UC	SCC	CIS	UC	SCC	
1	M/26w	6 週	—	—	—	—	—	—	—
2	M/22w	6 週	—	—	—	C	—	—	C
3	M/25w	6 週	—	—	—	—	—	—	—
4	M/26w	6-20週	—	—	—	C	—	—	C
5	M/24w	20週	—	C	—	—	—	—	C
6	F/24w	20週	—	C	—	—	—	—	C
7	M/28w	20週	—	—	BB	B	—	—	B
8	M/28w	20週	—	—	C	—	—	C	C
9	F/31w	20週	BC	C	C	—	—	—	BC
10	F/31w	20週	—	B	CC	—	—	—	BC
11	M/30w	20週	—	BC	CC	—	—	—	BC
12	M/30w	20週	—	—	C	—	B	—	BC
13	M/20w	20週	—	B	CCC	—	C	—	BC
14	M/30w	20週	—	B	—	—	—	—	B

B, BALB/c; C, C3H.

Fig. 6. BBN により誘発したキメラマウス多発性尿路上皮癌

BBN 誘発膀胱がんについて述べる⁴⁾

C3H×BALB/c のキメラマウスに, 0.05% BBN を 6 週から 20 週投与し, 膀胱がんを作製し, 発生した膀胱がんの C3H 由来か BALB/c 由来かを抗 C3H 抗体を用いて免疫組織学的に判定した. Fig. 4 は免疫組織像で, 左側図の正常膀胱粘膜において右側は C3H 由来, 左は BALB/c 由来を示し, また, 右側図の上皮内がんは BALB/c, 異形成は C3H 由来であることを示している.

Fig. 5 では少なくとも 3 つの浸潤性膀胱がんが発生しており, それぞれが BALB/c と C3H 由来のガンであることを例示している. Fig. 6 はその結果で, BBN 20 週間投与群では尿路上皮がんが多発しており, それらの大部分は C3H と BALB/c のいずれかの由来であることが判明した. すなわち, がんは多中心性に発生することを示している.

3. 砒素膀胱がんの実験的証明

砒素は日本においては九州, 宮崎の登呂久地区における汚染, また職業がんとしての皮膚がん, 膀胱がん

の発生, さらに台湾の南西地区における井戸水を介した砒素汚染と皮膚, 膀胱, 肺および肝がんが指摘されており, 1987 年 WHO はヒト発がん物質と認定している. しかし, 実験的にその発がん性が証明されていない唯一の発がん物質である. 現在, 中国, バングラディシュ, インドを中心にして広範囲の汚染状態で, 4~500 万人の汚染者がおり, 将来多数の人にがんが発生するだろうと推測されており, 地球規模での問題となっている.

一般に, 汚染地域の住民は 5, 3 価の無機砒素に曝露されており, 摂取された砒素は肝で代謝され, 有機砒素である monomethylarsonic acid, dimethylarsinic acid (DMA) さらに trimethylarsine oxide に代謝され, 尿中から排泄される. 無機砒素は細胞毒性が非常に強く, 有機砒素になると減少する. しかし, DMA は mitotic arrest や 4 倍体形成能をもつ. そこで, DMA に着目して 2 年間の発がん実験を行ってみた. Table 1 はそのラット発がん性試験の結果を示す 膀胱腫瘍の発生は 50, 200 ppm (飲料水投与) と用量相関を

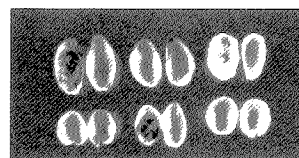
Table 1. ジメチルアルシン酸 (DMA) 誘発ラット膀胱の上皮性病変

DMA (ppm)	PN 過形成 (%)	担腫瘍ラット数 (%)		
		乳頭腫	UC	総数
0	0	0	0	0
12.5	0	0	0	0
50	12 (39%)	2 (6%)	6 (19%) ^a	8 (26%) ^a
200	14 (45%)	2 (6%)	12 (39%) ^b	12 (39%) ^b

PN 過形成: 乳頭状あるいは結節状過形成.

UC: 尿路上皮癌.

^a p<0.05, ^b p<0.001 (vs 0 ppm).



DMA 200 ppm

	p53	H-ras	Cyclin D1	LOH	MSI
BBN 継続投与	50% (9/18)	11% (2/18)	↑↑	14% (3/22)	33% (4/12)
DMA 継続投与	0% (0/20)	10% (2/20)	↑↑	—	—
Uracil 継続投与	0% (0/14)	0% (0/14)	↑↑	—	12% (2/17)

BBN, DMA: 遺伝毒性発癌物質, Uracil: 非遺伝毒性発癌物質.

Fig. 7. 様々な発癌物質により誘発したラット乳頭状非浸潤性膀胱癌の遺伝子変異

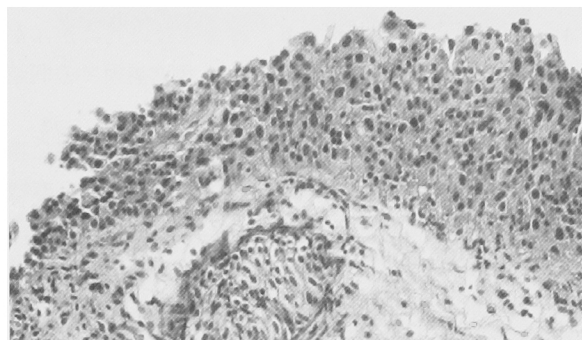
Table 2. 膀胱粘膜における上皮異形成および腫瘍の発生頻度

	汚染放射線濃度 (Ci/km ²)	症例数	上皮異形成	膀胱癌		
				CIS	UC	計
A 群	5-30	73	71 (97)*	47	6	53 (73)*
B 群	0.5-5	58	48 (83)*	34	3	37 (64)*
C 群	—	33	9 (27)	0	0	0 (0)

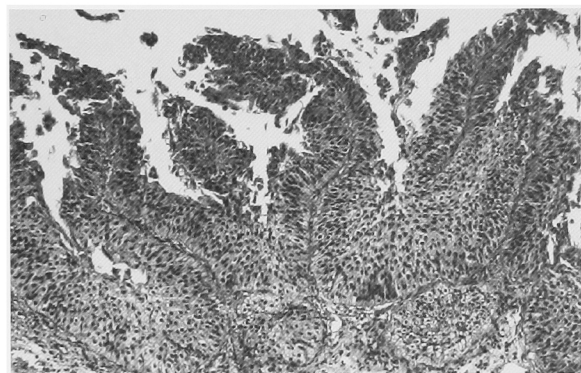
(); %, CIS: 上皮内癌, UC: 尿路上皮癌, *: p<0.05.

もって発生し, DMA が砒素発がんの本態であることが強く示唆される⁵⁾

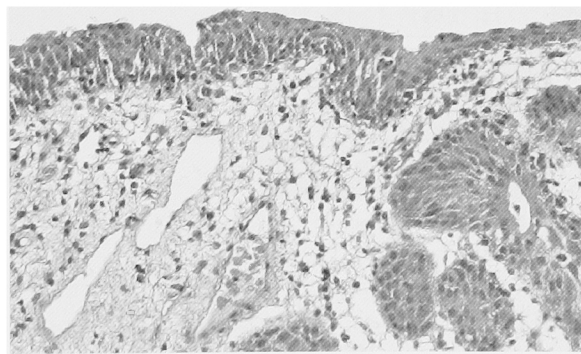
また, DMA 誘発膀胱がんでは uracil 結石により発生した膀胱がんと同様, p53 遺伝子変異はまったく認



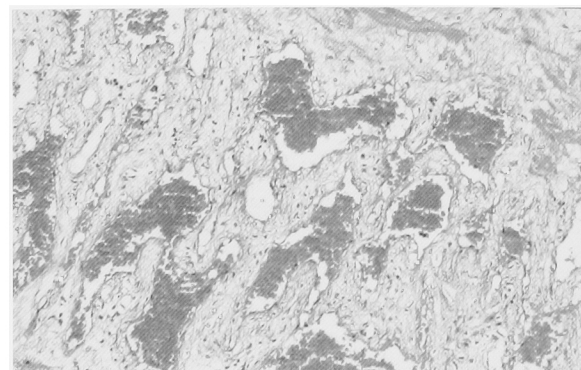
上皮内癌



尿路上皮癌



上皮異形成



チェルノブイリ慢性膀胱炎

Fig. 8. 病理像

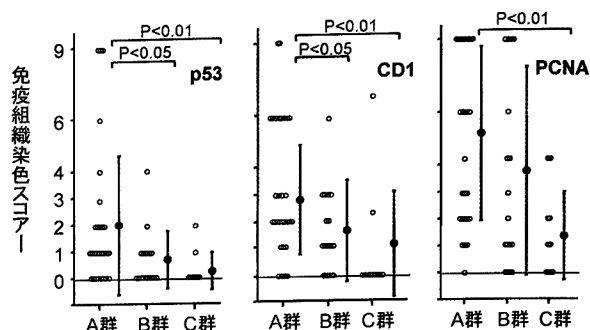


Fig. 9. 免疫組織染色スコアによる解析

められず, BBN 誘発の膀胱がんのそれと対照的である (Fig. 7).

4. ウクライナ チェルノブイリ膀胱病変

1986年4月におけるチェルノブイリ原子力発電事故発生後, 周辺地域住民約1千万人は, 低用量の持続的な¹³⁷Csによる放射線の影響を受けている. 1986~2000年にわたってウクライナ共和国の膀胱がん発生頻度は人口10万人に対し26.2人から50.3人と約2倍に上昇している. 最近ではさらに増加している. その原因として主に尿中に排泄される¹³⁷Csに膀胱粘膜が長期間曝露されていることが考えられる.

そこで¹³⁷Cs汚染地域および非汚染地域住民で前立腺肥大症にて来院した男性患者の膀胱粘膜ランダム生検組織を病理組織学的に検索すると, 汚染地域住民に膀胱上皮内がんあるいは小さな尿路上皮がんが発生していることが明らかとなった (Table 2, Fig. 8)⁶⁾ また, 固有層における線維化, 硝子化が血管の新生・拡張を伴ってみられ, いわゆるチェルノブイリ慢性膀胱炎の像を呈している.

さらに, 免疫組織学的に p53, cyclin D1 および PCNA 陽性細胞が汚染地区住民の膀胱に強く認められ (Fig. 9), また異形成, 上皮内がんおよび尿路上皮がんにおける p53 変異が PCR-SSCP 解析により 9/17 (53%) にみられた. また, iNOS, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine や COX-2 の発現が免疫組織学的に強く認められ⁷⁾, かつ, ユビキチン, SUMO1 や Ubc9 などのユビキチンシステムの亢進がみられた.

結 語

上記の結果をまとめると次のごとくなる.

1. マウス BBN の膀胱がんにおいて p53 はプロモーション, プログレッション過程に重要な役割を担う.
2. 浸潤性膀胱がんは多中心性に発生する.
3. 有機砒素の DMA はラットに膀胱がんを発生させる.
4. ラット膀胱がんにおける p53 変異は発がん物質の種類により異なる.
5. ウクライナ チェルノブイリ膀胱病変 (低用量

の持続的 ^{137}Cs 曝露による) では p53 異常, 酸化ストレスの関与およびユビキチンシステムの亢進がみられる。

6. これらのデータはヒトハイリスク膀胱がんの機序解明の一助となろう。

文 献

- 1) Yamamoto S, Masui T, Murai T, et al.: Frequent mutations of the p53 gene and infrequent H- and K-ras mutations in urinary bladder carcinomas of NON/Shi mice treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine. *Carcinogenesis* **16**: 2363-2368, 1995
- 2) Ozaki K, Sukata T, Yamamoto S, et al.: High susceptibility of p53(+/-) knockout mice in N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine urinary bladder carcinogenesis and lack of frequent mutation in residual allele. *Cancer Res* **58**: 3806-3811, 1998
- 3) Sukata T, Ozaki K, Uwagawa S, et al.: Organ-specific, carcinogen-induced increases in cell proliferation in p53-deficient mice. *Cancer Res* **60**: 74-79, 2004
- 4) Yamamoto S, Tatematsu M, Yamamoto M, et al.: Clonal analysis of urothelial carcinomas in C3H/HeN<-->BALB/c chimeric mice treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine. *Carcinogenesis* **19**: 855-860, 1998
- 5) Wei M, Wanibuchi H, Morimura K, et al.: Carcinogenicity of dimethylarsinic acid in male F344 rats and genetic alterations in induced urinary bladder tumors. *Carcinogenesis* **23**: 1387-1397, 2002
- 6) Romanenko A, Morimura K, Wanibuchi H, et al.: Urinary bladder lesions induced by persistent chronic low-dose ionizing radiation. *Cancer Sci* **94**: 328-333, 2003
- 7) Romanenko A, Morimura K, Wanibuchi H, et al.: Increased oxidative stress with gene alteration in urinary bladder urothelium after the Chernobyl accident. *Int J Cancer* **86**: 790-798, 2000

(Received on March 15, 2006)

(Accepted on March 20, 2006)