

氏 名	たか はし たけし 高 橋 毅
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2316 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 外 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	Clonal Analysis of Multifocal Urothelial Cancers using Microsatellite Markers (マイクロサテライトマーカーを用いた多発尿路上皮癌のクローン解析)
論文調査委員	(主 査) 教 授 藤 田 潤 教 授 藤 井 信 吾 教 授 小 川 修

論 文 内 容 の 要 旨

尿路上皮癌には、異時性、異所性に多発するという特徴がある。これは、従来、発癌物質の作用により尿路上皮全体が等しく発癌の能力を獲得し、独立に発生する (polyclonal) とする field defect theory によって説明されてきたが、1990年代初め、女性患者におけるエックス染色体の不活化や、p53 遺伝子の変異をマーカーとした分子生物学的解析により、単一の腫瘍細胞の播種により発生する (monoclonal) とする seeding theory を支持する結果が報告された。しかし、これらの分子生物学的解析は、少数の high grade 症例についてのものであり、多発腫瘍の大部分を占める low grade 症例については明かではなかった。そこで、29症例、87個の同時性または異時性の low grade 多発尿路上皮癌の新鮮凍結標本より DNA を抽出した後、microsatellite marker を用いて遺伝子変異を検出し、多発尿路上皮癌のクローン解析と遺伝子変異の経時的な追跡を試みた。遺伝子変異の検出された25例中16例 (64%) で多発腫瘍間の遺伝子変異のパターンは一致しており、9例 (36%) で一部不一致を認めた。microsatellite shift, 染色体の部分欠損 (partial deletion) の breakpoint, LOH のパターンから判定すると、変異のパターンが一致した16例すべてと、変異に不一致を認めた症例9例中4例の合計20例 (80%) で、多発腫瘍は monoclonal であると考えられた。経時的な遺伝子変異の追跡は13例で可能であり、多発尿路上皮癌の遺伝子変異は再発を繰り返す間も大部分は安定であるが、一部では明かな腫瘍を形成する前に遺伝子変異の分岐と腫瘍細胞の尿路内の播種が起こっていると考えられた。多発腫瘍が monoclonal と判定された症例において、第9染色体での変異の不一致の頻度は、他の染色体と比較して有意に低く、第9染色体の変異は腫瘍形成の早い段階で起きているという従来のデータを支持するとともに、尿路内の播種の前に起こっていることが示唆された。

さらに、上部尿路腫瘍を初発とする多発尿路上皮癌症例と膀胱のみに発生した多発尿路上皮癌症例では多発腫瘍間での遺伝子変異の不一致の頻度が高い傾向が見られたため、パラフィン包埋組織を加え、上部尿路腫瘍を初発とする多発尿路上皮癌15症例36検体 (UUT 症例) と膀胱のみに発生した多発尿路上皮癌22症例70検体 (BT 症例) について、同様の解析を行った。UUT 症例では13例中7例 (54%) で BT 症例では19例中16例 (84%) で monoclonal であると考えられたが、Clonal origin を決定できなかった症例は UUT 症例に多くみられ、UUT 症例では field defect により独立に発生した多発腫瘍もかなりの割合をしめると考えられた。Monoclonal な多発尿路上皮癌7例と16例について比較すると、BT 症例に比べ、UUT 症例で遺伝子変異の不一致が高頻度にみられた。これは、上部尿路腫瘍が下部尿路に再発するには、新たな遺伝子変異を必要とすることを示唆している。これに対し、膀胱のみに多発する腫瘍では再発腫瘍に新たな遺伝子変異を伴わないことが多い。これは、経尿道的手術による粘膜障害や腫瘍細胞の播種、蓄尿と排尿の反復により膀胱粘膜の離れた部位が接触することなどが影響していると考えられた。

次いで、クローン解析の臨床的有用性を示す目的で、腎盂腫瘍、膀胱腫瘍とそのリンパ節転移、肺転移、肝転移を有する症例において、同様の解析を行った。すべての腫瘍で第9染色体に partial deletion が存在し、その breakpoint が完全に一致していることがら、これらは monoclonal であると考えられた。さらに、第17染色体上のマーカーでの LOH の起きている

る allele の違いから、リンパ節転移は腎盂腫瘍由来であり、肺転移、肝転移は膀胱腫瘍由来であると考えられた。クローン解析の結果から、腎盂腫瘍、膀胱腫瘍に対して行われた手術は双方とも、非治癒的と判断された。

論文審査の結果の要旨

尿路上皮癌は尿路内再発を特徴とし、その予防法や非侵襲的な検出法の開発が臨床上の大きな課題である。そのためには、多発尿路上皮癌の成因の解明が必要であるが、多発尿路上皮癌は異なった細胞から独立に発生し polyclonal であるとする説と、単一の細胞の播種により発生し monoclonal であるとする説があり、近年の分子生物学的な解析によっても、結論は出ていなかった。

本研究では、これまで多発腫瘍の大部分を占めながら分子生物学的解析が行えなかった low grade 症例を中心とした多発尿路上皮癌29症例87検体について、マイクロサテライトマーカーを用いたクローン解析を行った。その結果、80%の症例で多発腫瘍は monoclonal であること、多発尿路上皮癌の遺伝子変異は再発を繰り返す間も大部分は安定であるが、一部では明かな腫瘍を形成する前に遺伝子変異の分岐と腫瘍細胞の尿路内の播種が起こっていることを示した。

さらに、上部尿路を初発とする多発尿路上皮癌15症例36検体について解析し、膀胱のみに発生した多発尿路上皮癌22症例70検体と比較した。その結果、上部尿路初発群では polyclonal である多発腫瘍の割合が高い傾向があること、上部尿路初発群では遺伝子変異が不安定であることを明かにし、尿路内再発には手術操作の影響や、尿路の解剖学的な特性も関与している可能性があることを示した。

以上の研究は多発尿路上皮癌の成因の解明に貢献し、泌尿器科学、腫瘍学に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は平成13年1月17日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。