

令和 2 年 5 月 15 日現在

機関番号：31201

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K16707

研究課題名(和文) 残尿が筋層非浸潤性膀胱癌の再発に及ぼす生理・生化学的探索

研究課題名(英文) Physiological and biochemical investigation how influence the residual urine to non-muscle invasive bladder cancer recurrence

研究代表者

加藤 陽一郎 (Kato, Yoichiro)

岩手医科大学・医学部・講師

研究者番号：50622924

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、当施設で排尿改善治療薬を内服している症例が筋層非浸潤性膀胱癌の再発割合が高かった結果から、残尿量の違いにより2群に分けた集団において、LC/MS(Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry)法を用いて、残尿群で有意に高濃度の物質の抽出を試みた。この結果、264物質において両群を比較し、残尿群で有意に高い物質を抽出した結果、物質A($p=0.013$)、物質B($p=0.011$)、物質C($p=0.044$)が抽出された。これらの物質が膀胱癌において再発にどのように関わっているのかはさらに検討してゆく必要がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

LC/MS解析を用いた本研究により、残尿群で有意に高値の物質が3つ抽出された。各物質の癌に関連する報告として、物質A: Urea Cycleの1つで悪性度の高い前立腺癌では増加し、尿中에서도検出可能である報告。物質B: Polyamineの1つで、この物質の増加は、細胞増殖の増加、アポトーシスの減少、および腫瘍の浸潤と転移に影響する遺伝子の発現の増加に関連する。物質C: Pyrimidine代謝物の1つで、遺伝子傷害の原因となる。といった報告がある。今後さらなる検証が必要であるが、残尿量が膀胱癌再発リスクとして確立された際に再発予防対策の一つになりうる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：This study was based on the results of a previous study conducted at our institution that the recurrence rate of non-muscle invasive bladder cancer was higher in the group of patients who were taking regents of dysuria than no taking patients. Therefore, we divided into two groups (residual urine group and non-residual urine group) in terms of residual urine volume. In this study, we attempted to extract significantly higher concentrations of substances in the residual urine group using LC/MS (Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry) in the divided groups. The two groups were compared in 264 substances, and the significantly higher substances were extracted in the residual urine group. Among the 264 substances, substance A ($p = 0.013$), substance B ($p = 0.011$) and substance C ($p = 0.044$) were extracted. How these substances are involved in recurrence in bladder cancer needs further investigation.

研究分野：膀胱癌

キーワード：筋層非浸潤性膀胱癌 LC/MS解析 再発 残尿量

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膀胱は様々な反応を経て産生された代謝物である尿を一時的に貯めて排出する臓器であり、この点から、肺と同様に有害物質に曝露されるリスクの高い臓器といえる。本研究の背景である排尿機能の低下が人体に引き起こす影響としては、尿路感染症や膀胱結石症の発症率の上昇。さらに進行すると、膀胱から尿が出せなくなる状態(尿閉)となり、最終的に腎機能障害から腎不全に進行する。このような経過を実臨床でしばしば経験する。このほかに患者個人がづらいと感じる排尿症状として、昼夜の排尿回数、1回の排尿時の尿の勢い(尿勢)や排尿時間、そして排尿後に膀胱内に残った尿(残尿)の量が問題となる。

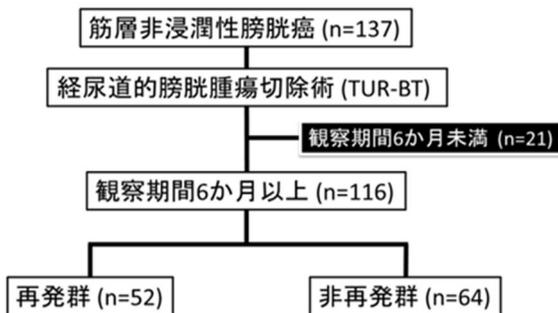


図 1. 症例収集から治療、再発診断まで

一方、膀胱癌の発症・進展様式は、1. 多中心性発生すなわち空間的・時間的な多中心性発生の性格、2. 管内に播種: 尿を溶媒として、他の尿路上皮に播種する特性、3. 尿管内進展: 特に筋層浸潤性膀胱癌に多く、血管・リンパ管を介して浸潤性に進展してゆくといった、他の癌には見られない特有の性質がある。この特性から膀胱癌は非常に再発しやすい癌種であり、この対策は泌尿器科領域にとって重要な課題である。現在、筋層非浸潤性膀胱癌における再発リスク分類に臨床情報から得られる情報をもとに算出する EORTC (European Organization for Research and Treatment of Cancer) 分類がある。しかしながら、EORTC 分類は計算が複雑、分類の偏り、そして再発イベントごとにリスクスコアが変化するため、症例ごとのリスク分類が流動的で、実臨床で利用しにくいといった問題点がある。

申請者らは以前に自らの施設で治療を行った 116 例の初発の筋層非浸潤性膀胱癌患者について再発リスクを調査した(図 1)。その結果、EORTC 分類の各因子よりも排尿改善薬の内服既往のある患者群のほうが、有意に再発率が高いことを見出した(表 1)。

ところで、今までに排尿障害が膀胱癌の再発リスクに関わるといった報告はない。

一方、以前から公衆衛生の喫煙の研究や抗がん剤の代謝物の研究により、ヒト尿路腫瘍発生過程において尿中に発癌物質が存在することは、これまでの研究結果より明らかとなっている(文献 1)。申請者らはこれらの背景・結果に基づき、排尿障害、特に残尿の多い患者は尿中の発癌物質が濃縮され、さらにそれによる曝露時間が長いこと、膀胱癌再発リスクが高いのではないかとこの仮説を立て、これを検証したいと考えるに至った。

2. 研究の目的

残尿量の多さが膀胱癌再発リスクとなるかどうかについて、臨床学的および生化学的に検証してゆくことが本研究の目的である。

右の図 2 は上段 A)が残尿の無い症例で下段の B)が残尿のある症例における、1) 排尿前、2) 排尿後、3) しばらく蓄尿・排尿を繰り返した後の蓄尿時膀胱における尿量とそれに含まれる有害物質を表した概念図を示す。

外界からの曝露量が一定であると仮定して、A)のように残尿がなければ、A-3)のように有害物質の量も一定であるのに対し、B)のように残尿がある例では、有害物質の残存する可能性が多くとも残尿量を超えない程度まで増加する可能性がある。以上より申請者らは、前述した臨床結果に基づき、残尿量と膀胱癌再発リスクに着目し、下記の可能性を考えた。

: 発癌物質を含めた尿中代謝物の濃度が高くなり、これが癌の再発を促す可能性。

表 1. 再発群と非再発群における再発因子の比較

| | 再発群 (n=52) | 非再発群 (n=64) | p値 | |
|---------------|------------|-------------|--------|----|
| EORTC リスク分類 | 0 | 1 | 0.5 | |
| | 1_4 | 29 | 1_4 | 37 |
| | 5_9 | 22 | 5_9 | 22 |
| CUETO リスク分類 | 0_4 | 22 | 0_4 | 40 |
| | 5_6 | 17 | 5_6 | 14 |
| | 7_9 | 11 | 7_9 | 10 |
| | 10_16 | 2 | 10_16 | 0 |
| 年齢 (中央値) | 73 | 69 | 0.075 | |
| 女性比 (人数) | 14 | 10 | 0.16 | |
| pTステージ | pTa | 28 | pTa | 39 |
| | pTis | 0 | pTis | 3 |
| | pT1 | 28 | pT1 | 22 |
| グレード | G1 | 3 | G1 | 7 |
| | G2 | 38 | G2 | 45 |
| | G3 | 11 | G3 | 12 |
| 腫瘍個数 | 1個 | 23 | 1個 | 40 |
| | 2_7個 | 26 | 2_7個 | 20 |
| | 8個以上 | 3 | 8個以上 | 4 |
| 最大腫瘍径 (3cm以上) | 7 | 13 | 0.33 | |
| 排尿改善治療薬あり | 24 | 14 | 0.0093 | |
| 糖尿病あり | 10 | 8 | 0.44 | |

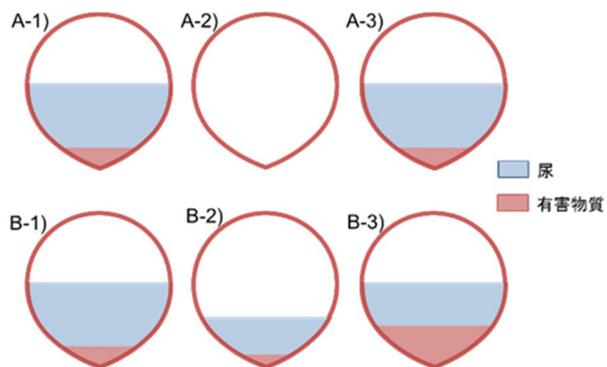


図 2 残尿量の違いによる有害物質の蓄積傾向

- ：膀胱癌細胞が膀胱内の尿を介して膀胱内に播種する可能性。
- ：初回 TUR-BT による組織断端に尿中代謝物が沈着し易い可能性。

もしも、上記の可能性が膀胱癌再発リスクの可能性として立証されれば、高リスク患者の精度の高い抽出が可能となり、残尿を減らす個別の予防指導や物質変化を阻害する新規薬剤の開発の可能性などの再発リスクを下げる効果が期待でき、頻回の TUR-BT による患者の苦痛の軽減や医療費の削減などに直結する研究結果が得られる可能性がある。

3. 研究の方法

残尿量の多さが膀胱癌再発リスクとなるかどうか検証してゆくために下記の方法で検討した。2018年11月から2018年11月までにpT2未滿と診断された既往があり、解析時に残存病変のないことが確認された非筋層浸潤性膀胱癌症例 (NMIBC)12例を対象とした。(図3)

- ・残尿の比較的多い非 NMIBC 1 例を対照例として用いた。

- ・残尿量のカットオフ値を 50ml に設定し、それ以上を残尿群 (6 例)、それ未滿を非残尿群 (6 例) とした。

- ・対照 1 例を含めた両群計 12 例、計 14 例に対して Liquid Chromatography - Mass Spectrometry (LC/MS)法を用いて 39411 個の尿中物質のうち、物質が同定可能である 264 個の同定を行った。

- ・両群で対照例よりも高値でかつ 2 群間の平均のアッセイ値が残尿群で有意に高いアッセイを抽出した。(図 4)

- ・統計解析は JMP® 14 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) を用いて、残尿群と非残尿群について、t 検定、 χ^2 検定を実施。各因子 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

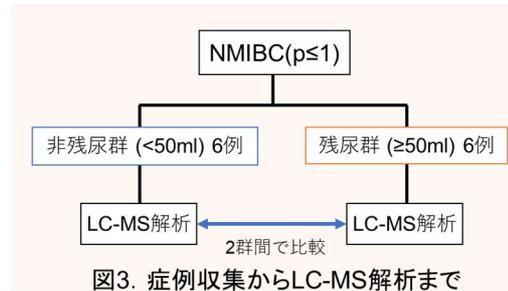


図3. 症例収集からLC-MS解析まで

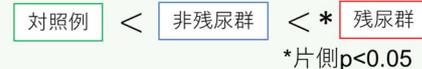


図4. 264個のアッセイの抽出方法

4. 研究成果

LC/MS 解析の結果、264 個のアッセイから有意差を認める 3 つのアッセイが抽出された。それぞれのアッセイの発現量はグラフのとおりであり、アッセイの機能にはそれぞれ下記の報告がある。

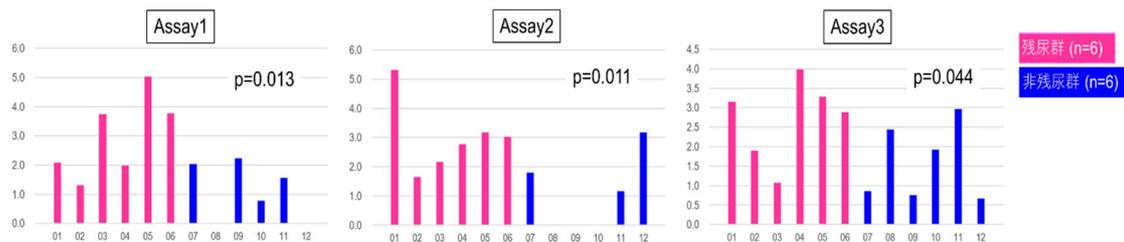


図5. 2群間で残尿群で有意に高値であった3つのAssay

アッセイ 1: Urea Cycle の 1 つ 筋肉のほか、多くの生体組織に広く存在するアミノ酸。悪性度の高い前立腺癌では著しく増加しており、前立腺癌患者の尿中でも検出可能である報告がある。(Nature 2009) (図 5)

アッセイ 2: Polyamine の 1 つ ポリアミンレベルの増加は、細胞増殖の増加、アポトーシスの減少、および腫瘍の浸潤と転移に影響する遺伝子の発現の増加に関連している報告がある。(Nature Review Cancer 2004) (図 5)

アッセイ 3: Pyrimidine 代謝物の 1 つ 細胞への紫外線照射によりピリミジン塩基の一部は二量体となり、遺伝子傷害の原因となる。(図 5)

また、今後の検討として、これらのアッセイが腎から代謝されて膀胱内に蓄積されたのか、膀胱壁から細胞が剥がれたものが蓄積されたのかを TUR-BT 標本における各 Assay の免疫染色標本で検討してゆく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|--|---------------------------|-----------------------|----|
|--|---------------------------|-----------------------|----|