

論文の内容の要旨

1 申請者

防衛医科大学校 河村 一樹

2 論文題目

上部尿路上皮癌における tumor budding と ACTN4 異常発現の臨床病理学的意義に関する研究

3 論文の内容の要旨（博士：2,000 字程度）

[1.背景並びに目的]

腎盂・尿管原発の尿路上皮癌（以下、上部尿路上皮癌）は、尿路上皮癌全体の約 5%程度を占める。遠隔転移やリンパ節転移を有さない上部尿路上皮癌は腎尿管全摘除術の適応となるが、約 30%に術後の尿路外再発を認め、その際の多剤併用化学療法の効果も限定的で、患者予後は極めて不良とされる。従来 of 病理学的再発/予後予測因子として、組織学的深達度、組織学的悪性度、脈管侵襲等が挙げられるが、腎盂領域で共に深達度 pT3 と診断される腎実質浸潤と腎盂脂肪組織浸潤を呈する腫瘍群間の患者予後の差や殆どの浸潤癌が high grade に分類される現在の grading system の問題点等が指摘されており、新規の再発/予後予測因子の検索が求められている。本研究では、上部尿路上皮癌細胞の浸潤転移能に着目し、大腸癌を主体に様々な癌腫で独立した患者予後不良因子としての evidence が蓄積されている tumor budding（簇出）及びその組織形態の分子基盤の 1 つとして、アクチン線維の束状化による腫瘍細胞の運動能亢進を介して癌の浸潤・転移を促進するとされる α -actinin4 (ACTN4) の異常発現について検討した。

[2.対象と方法]

1998 年から 2018 年に当院で施行された上部尿路上皮癌手術の手術検体を用いて腫瘍毎の tumor budding の程度、fluorescence in situ hybridization (FISH) 法による ACTN4 のコピー数異常、及び免疫組織化学法による ACTN4 蛋白質の過剰発現の程度を評価し、種々の臨床病理学的因子との関連性、加えて無尿路外再発生存率及び全生存率を指標とした患者予後への影響について検討した。Tumor budding に関しては、顕微鏡 200 倍視野下で 10 個以上の tumor budding が存在する場合を「high-grade tumor budding」と定義した。ACTN4 のコピー数に関しては、間期腫瘍細胞核 20 個における CEN19p と ACTN4 の両プローブからの蛍光シグナルの数をカウントし、ACTN4 の平均コピー数が 4.0 以上の症例を「ACTN4 のコピー数増加あり」と定義した。ACTN4 蛋白質の発現に関しては、血管内皮細胞の染色程度と比較し、腫瘍細胞の 50%以上が中等度以上の発現強度を示した場合を「ACTN4 蛋白質の過剰発現あり」と定義した。

[3.結果]

Tumor budding に関する研究では、浸潤性上部尿路上皮癌全 135 症例中 41 症例で high-grade tumor budding を認めた。Tumor budding status は、組織学的深達度、脈管侵襲、病理学的リンパ節転移、腫瘍局在（腎盂/尿管）、腫瘍組織亜型の随伴の有無、腫瘍肉眼所見（乳頭状/非乳頭状）、術後補助化学療法の有無といった臨床病理学的因子との有意な関連性を認めた。無尿路外再発生存期間及び全生存期間に関しては、log-rank 検定により high-grade tumor budding と尿路外再発及び全生存のリスクとの間に有意な関連が認められた（それぞれ共に $p < 0.0001$ ）。また、Cox 比例ハザードモデル分析の多変量解析で、high-grade tumor budding は両期間における独立したリスク因子であった（それぞれ、 $p = 0.014$ 、 0.024 、ハザード比 = 2.88、2.33）。

ACTN4 に関する研究では、上部尿路上皮癌全 168 症例中 25 症例で ACTN4 のコピー数増加、49 症例で ACTN4 蛋白質の過剰発現を認め、ACTN4 のコピー数増加と ACTN4 蛋白質の過剰発現の間に有意な関連性を認めた（ $p < 0.0001$ ）。ACTN4 のコピー数増加に関する status は、組織学的深達度、脈管侵襲、病理学的リンパ節転移、切除断端への腫瘍露出の有無、腫瘍局在（腎盂/尿管）、腫瘍組織亜型の随伴の有無、腫瘍肉眼所見（乳頭状/非乳頭状）といった臨床病理学的因子との有意な関連性を認めた。ACTN4 蛋白質の過剰発現に関する status も上記と類似した関連性を認めた。無尿路外再発生存期間及び全生存期間に関しては、log-rank 検定により ACTN4 のコピー数増加と ACTN4 蛋白質の過剰発現の両者と尿路外再発及び全生存のリスクとの間に有意な関連が認められた（それぞれ共に $p < 0.0001$ ）。また、Cox 比例ハザードモデル分析の多変量解析で、ACTN4 のコピー数増加は両期間における独立したリスク因子となったが（それぞれ、 $p = 0.038$ 、 0.027 、ハザード比 = 2.16、2.17）、ACTN4 蛋白質の過剰発現は単変量解析では両期間における有意な関連因子であったものの、多変量解析では両期間における独立したリスク因子とはならなかった。

[4.考察]

癌浸潤先進部における孤在性癌細胞または 5 個未満の癌細胞集塊から構成される組織所見である tumor budding、及びアクチン細胞骨格蛋白質を束ねる非筋肉型の α -Actinin の isoform の一つである ACTN4 は、上皮間葉転換（epithelial-mesenchymal transition）との強い関連性が指摘されており、様々な癌腫において、tumor budding 及び ACTN4 蛋白質の過剰発現あるいは ACTN4 の増幅と癌の再発・転移との関連性が報告されてきた。尿路上皮癌における tumor budding 及び ACTN4 に関する既報告は少なく、特に上部尿路上皮癌においてこれらの因子の臨床病理学的意義及び予後因子としての重要性を検討した研究報告は、我々の知りうる限りでは本報告が初めてである。本検討においては、high-grade tumor budding 及び ACTN4 異常発現（特に ACTN4 のコピー数増加）がそれぞれの研究で上部尿路上皮癌における独立した再発/予後予測因子であることが示され、これらの結果は他癌腫及び膀胱癌

における既報告と類似した結果であった。本研究の結果から、**high-grade tumor budding** 及び **ACTN4** 異常発現が上部尿路上皮癌の臨床において治療方針決定の参考になる因子である可能性が示された。

[5.結論]

浸潤性上部尿路上皮癌における **high-grade tumor budding** 及び上部尿路上皮癌における **ACTN4** 異常発現（特に **ACTN4** のコピー数増加）は、従来の臨床病理学的因子と有意に関連するとともに、同腫瘍患者における独立した再発及び予後予測因子であることが示された。

4 キーワード（5個程度）

「upper urinary tract」、「urothelial carcinoma」、「tumor budding」、「 α -actinin4」、「tumor invasion」、「epithelial mesenchymal transition」