

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 18 日現在

機関番号：10101  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2010～2011  
 課題番号：22791462  
 研究課題名（和文） Seed and Soil 理論に着目した尿路上皮癌所属リンパ節の新規病理診断  
 研究課題名（英文） Novel pathological parameters in regional lymph nodes of urothelial carcinoma focused on “Seed and Soil” theory  
 研究代表者  
 安部 崇重（ABE TAKASHIGE）  
 北海道大学・北海道大学病院・助教  
 研究者番号：10399842

研究成果の概要（和文）：**研究 1**：尿路上皮癌微小リンパ節転移の頻度をサイトケラチン免疫染色法で、後ろ向きに評価した。結果、pN0 とされた腎盂尿管癌 7/51 例（14%）に微小リンパ節転移を認めた。**研究 2**：膀胱全摘症例と腎尿管全摘症例で微小リンパ節転移の頻度を前向きに評価した。膀胱全摘症例の 9%（2/22 例）で微小リンパ節転移を認めた。**研究 3**：VEGFC mRNA, VEGFD mRNA, VEGF3R mRNA の尿路上皮癌原発巣での発現量と病理学的因子との関連、及び所属リンパ節リンパ管密度と病理学的因子との関連を評価した。T2 以上の浸潤癌の原発巣において VEGF C mRNA の高発現を認めた。またリンパ節転移陽性症例でリンパ節辺縁洞のリンパ管密度が有意に高いこと、リンパ節転移陰性症例においても半数でリンパ節辺縁洞でのリンパ管密度の上昇を認めることを確認した。

研究成果の概要（英文）：**Study 1**: Fifty-one patients treated by nephroureterectomy were included. All had lymph nodes (LNs) and all LNs were negative on hematoxylin and eosin staining. We re-evaluated the presence of micrometastasis in LNs specimens by anti-cytokeratin immunohistochemistry. Immunohistochemistry identified micrometastases in 7 (14%) of 51 patients. **Study 2**: We prospectively evaluated the presence of micrometastasis in LNs in patients undergoing radical cystectomy or nephroureterectomy. Micrometastasis was detected in 9% (2/22) of patients undergoing radical cystectomy. **Study 3**: We evaluated the association between the expression of VEGFC mRNA, VEGFD mRNA, or VEGF3R mRNA and pathological characteristic in primary tumors. We subsequently evaluated the lymph vascular density (LVD) in marginal zone of regional lymph nodes. The expression of VEGFC mRNA was higher in  $\geq$ pT2 disease than  $\leq$ pT1 disease. LVD was higher in patients with node metastasis than patients without it. In addition, the accumulation of lymphatic vessels was observed in half of the cases without node metastases.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：尿路上皮癌、微小リンパ節転移、所属リンパ節、リンパ管新生

### 1. 研究開始当初の背景

リンパ行性転移は重要な癌進展様式であり、リンパ節転移の有無は主要予後規定因子の一つである。泌尿器癌において、尿路上皮癌はリンパ行性転移の頻度が高く、リンパ節郭清に関しても、術後補助化学療法を代表とする治療方針の決定の点から比較的積極的に行われてきた。また、近年は微小転移摘除による潜在的治療効果を期待し、特に膀胱癌において拡大リンパ節郭清が勧められている。ただし微小リンパ節転移の評価は通常のHE染色では困難であり、その頻度・意義に関する研究は限られている。

最近、動物実験モデルを中心に、原発巣からのシグナルにより、転移成立前に、所属リンパ節において、リンパ洞の拡張およびリンパ管内皮の新生が生じていることが報告されてきた。これは、転移成立以前にリンパ節では転移を受け入れる準備がはじまっている現象を意味し、Pagetが120年前に提唱した“seed and soil” theoryにあらたな展開が生じているといえる。ヒト臨床検体においては、乳癌のセンチネルリンパ節で同様の変化が生じていたことが報告されているが、尿路上皮癌におけるこの分野の研究の報告は、これまで国内外ともになされていない。

### 2. 研究の目的

リンパ行性転移が重要な転移成立様式である尿路上皮癌で、①微小リンパ節転移の頻度とその臨床的意義、②所属リンパ節において転移成立前に生じているリンパ管新生に着目し、新しい病理学的因子診断法を樹立すること目的に行われる。

### 3. 研究の方法

#### (1) 腎盂尿管癌所属リンパ節における微小リンパ節転移の頻度、陽性症例の予後（後ろ向き研究）

対象は、1990-2007年に北海道大学病院で腎盂尿管腫瘍に対し腎尿管全摘及び所属リンパ節郭清が施行された78例中、病理診断でpN0と診断された51例。摘出リンパ節標本について、4μm x 6枚の連続切片を作製し、1枚をHE染色、5枚にサイトケラチン(clone:AE1/AE3, DAKO, 京都)免疫染色を行い、微小リンパ節転移の有無を再評価した。

#### (2) 膀胱癌、腎盂尿管癌における至適郭清範囲に関する前向き観察研究（UMIN 試験ID: UMIN000003279）

北海道大学病院泌尿器科、北海道がんセンター泌尿器科、市立札幌病院泌尿器科での多施設共同前向き研究として、膀胱癌及び腎盂尿管癌に関して、後述のよう

はじめ定義したリンパ節廓清範囲を前向きに施行している。

#### 疾患名 郭清範囲

膀胱癌 左右の総腸骨、外腸骨、内腸骨、閉鎖リンパ節、および仙骨前面リンパ節

右腎盂癌、右上部尿管癌 腎門部リンパ節、傍~後大静脈リンパ節、大動静脈間リンパ節

右中部、下部尿管癌 右総腸骨、外腸骨、内腸骨、閉鎖リンパ節

左腎盂癌、左上部尿管癌 腎門部リンパ節、傍大動脈リンパ節

左中部、下部尿管癌 左総腸骨、外腸骨、内腸骨、閉鎖リンパ節

登録症例に関して（1）と同じ方法で微小リンパ節転移の有無をサイトケラチン染色で前向きに評価した。

#### (3) VEGFC, VEGFD, VEGF3R mRNA の原発巣での発現量と病理学的因子との関連

医学研究の利用に関して書面での同意の得られた尿路上皮癌凍結組織45例（腎盂尿管癌25例、膀胱癌20例）について、1正常組織と尿路上皮癌でのVEGFC, VEGFD, VEGF3R mRNAの発現量の比較、2尿路上皮癌について腫瘍進達度とVEGFC, VEGFD, VEGF3R mRNAの発現量の比較を、リアルタイムPCR法(Applied Biosystems PRISM 7000)を用いて検討した。

#### (4) 所属リンパ節リンパ管密度と病理学的因子との関連

北海道大学病院で根治的膀胱全摘除術及び所属リンパ節郭清が施行された症例について、リンパ節転移を認めなかった10例、リンパ節転移を認めた10例のリンパ節検体について、所属リンパ節におけるリンパ管密度を評価した。リンパ管内皮に対すると特異的抗体の一つであるD2-40抗体(DAKO, 京都)を用いて免疫染色法で評価した。リンパ管密度については、弱拡大での観察後、hot spot 3カ所での血管密度を200倍観察下でカウントし、平均値を用いた。

#### 4. 研究成果

##### (1) 腎盂尿管癌所属リンパ節における微小リンパ節転移の頻度、陽性症例の予後（後ろ向き研究）

通常のHE染色でpN0と診断されていた51例中7例（14%）でサイトケラチン染色で微小リンパ節転移を認めた。また7例中5例は最終観察時点で再発なく生存している。（観察期間中央値95ヶ月）

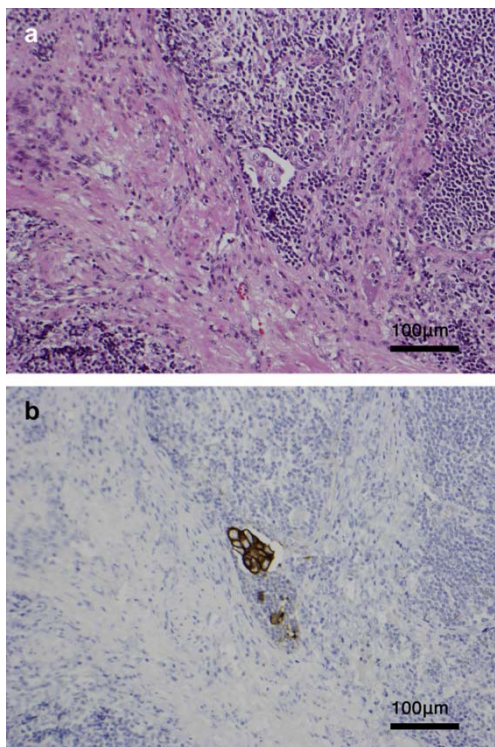


図1 サイトケラチンに対する免疫染色法で見つかった微小リンパ節転移（上：HE染色、下：サイトケラチン染色）

##### (2) 膀胱癌、腎盂尿管癌における至適郭清範囲に関する前向き観察研究（UMIN 試験ID：UMIN000003279）

現在、膀胱癌26例、腎盂尿管癌35例の登録があり、膀胱癌に関して4/26例でリンパ節転移を認め、さらにpN0と判断された22例中、サイトケラチン染色で2例（約9%）の微小リンパ節転移を認めており、現在症例を蓄積中である。

##### (3) VEGFC, VEGFD, VEGF3R mRNAの原発巣での発現量と病理学的因子との関連

正常組織と尿路上皮癌組織の比較では、VEGFC, VEGFD, VEGF3R mRNAの発現量に差を認めなかった。病理学的因子との比較ではVEGFC mRNAの発現量はpT2以上の浸潤癌において、有意に高値であった。

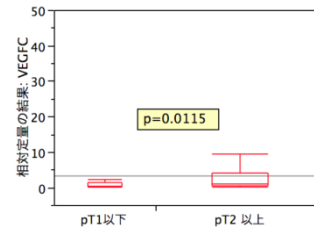


図2 リアルタイムPCR法によるVEGFC mRNA発現量とpT stageの関連

##### (4) 所属リンパ節リンパ管密度と病理学的因子との関連

pN0症例のリンパ管密度は $12.1 \pm 4.2$ 本（平均 $\pm$ 標準偏差）、pN+症例のリンパ管密度は $18.4 \pm 6.1$ 本で2群間に有意差を認めた。

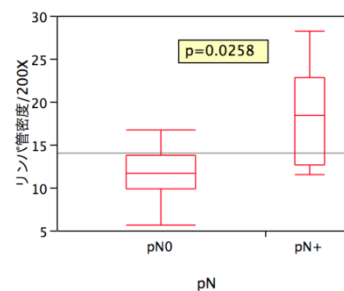


図3 所属リンパ節辺縁洞でのリンパ管密度とpN stageの関係

また、リンパ節転移陰性症例においても、半数で所属リンパ節辺縁洞でのリンパ管の増生を認めた。

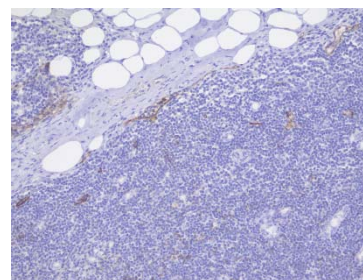


図4 リンパ節転移陰性例における所属リンパ節辺縁洞でのリンパ管増生

#### (4) リンパ節転移陰性例における所属リンパ節リンパ管増生と、その他病理学的因子との関連

現在、症例数を増やし検討中である。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計5件)

- ① Maru S, Abe T et al. Influence of baseline renal function and dose reduction of nephrotoxic chemotherapeutic agents on the outcome of metastatic urothelial carcinoma: a retrospective study. Int J Urol. 2012; 19:110-6. (査読：有)
- ② Abe T, Harabayashi T, Shinohara N et al. Outcome of regional lymph node dissection in conjunction with laparoscopic nephroureterectomy for urothelial carcinoma of the upper urinary tract, J Endourol. 2011; 25:803-7. (査読：有)
- ③ Abe T, Shinohara N, Muranaka M et al. Role of lymph node dissection in the treatment of urothelial carcinoma of the upper urinary tract: multi-institutional relapse analysis and immunohistochemical re-evaluation of negative lymph nodes. Eur J Surg Oncol. 2010;36:1085-91. (査読：有)
- ④ Ishikawa S, Abe T, Shinohara N et al. Impact of diagnostic ureteroscopy on intravesical recurrence and survival in patients with urothelial carcinoma of the upper urinary tract. J Urol. 2010;184:883-7. (査読：有)
- ⑤ Abe T, Shinohara N, Harabayashi T et al. Pathological characteristics and clinical course of bladder tumour developing after nephroureterectomy. BJU Int. 2010;105:1102-6. (査読：有)

[学会発表] (計4件)

- ① 安部崇重 冷却併用腹腔鏡下腎部分切除術 第25回日本泌尿器内視鏡学会総会(招請講演) 2011年11月30日, 国立京都国際会館(京都)
- ② 安部崇重, 他. 尿路上皮癌に対する根治的膀胱全摘除術後及び腎尿管全摘除術後の再発の特徴 第49回日本癌治療学会, 2011年10月27日, 名古屋国際会議場(名古屋)
- ③ 安部崇重, 他. 膀胱全摘後の遅発性再発について 第99回日本泌尿器科学会総会, 2011年4月21日, 名古屋国際会議場(名

古屋)

- ④ 安部崇重, 他. 尿路上皮癌 clinical node+症例の治療成績 第98回日本泌尿器科学会総会 2010年4月27日, ホテルメトロポリタン盛岡(盛岡)

[図書] (計2件)

- ① 安部 崇重: こんなときどうする!? 泌尿器科手術のトラブル対処法 膀胱の手術 膀胱全摘除後に閉鎖神経麻痺が出てきた. 臨床泌尿器科. 65(4増刊号): 227-229, 2011
- ② 安部崇重, 他 冷却併用腹腔鏡下腎部分切除術 Japanese Journal of Endourology. 24: 228-232; 2011.

[その他]

ホームページ等: なし

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

安部 崇重 (ABE TAKASHIGE)  
北海道大学・北海道大学病院・助教  
研究者番号: 10399842

(2) 研究分担者: なし

(3) 連携研究者: なし