

学 位 論 文 要 旨

氏 名 天野 統之



論 文 題 目

「 High HNRNPA3 expression is associated with lymph node metastasis and poor prognosis in patients treated with radical cystectomy 」

(膀胱癌における HNRNPA3 発現と臨床病理組織学的因子の検討)

指 導 教 授 承 認 印

山 根 村 正 嗣



High HNRNPA3 expression is associated with lymph node metastasis and poor prognosis in patients treated with radical cystectomy (膀胱癌における HNRNPA3 の発現と臨床病理組織学的因子の検討)

氏 名 天野 統之

(以下要旨本文)

【目的】

膀胱癌は全世界において 10 番目に多い癌であり、12 番目に多く亡くなっている癌である。筋層浸潤性膀胱癌や Bacillus Calmette Guerin (BCG) に抵抗性の筋層非浸潤性膀胱癌において、骨盤内リンパ節郭清を伴う膀胱全摘除術は標準治療として確立されている。しかしながら、手術を受けた約半数の患者は 5 年以内に再発を認め、シスプラチンを基本とした救済化学療法を施行されている。膀胱全摘除術を施行された患者の予後予測因子は深達度やリンパ脈管浸潤、リンパ節転移といった術後の病理組織学的評価によるものが報告されているが、臨床診療において日常的に用いられるバイオマーカーは未だに存在していないのが現状である。そのため膀胱癌における新たなバイオマーカーの開発は患者個々の予後予測やリスク分類、適切な治療戦略の構築などに寄与すると考えられ、非常に有用である。

Heterogeneous nuclear ribonucleoproteins (HNRNPs) は核酸代謝に関連する RNA 結合蛋白質であり、heterogeneous nuclear ribonucleoprotein A3 (HNRNPA3) はその一種である。近年の研究で、HNRNPA3 は非小細胞性肺癌や膠芽腫において発現の異常が認められている。また以前の当科の研究においてもシスプラチン耐性膀

膀胱癌細胞株において HNRNPA3 の発現亢進が認められた。本研究では膀胱癌と HNRNPA3 の関連を更に深く検討することを目的に、膀胱全摘標本における HNRNPA3 の発現と臨床病理組織学的因子と予後に関する比較検討を行った。

【方法】

1990 年から 2015 年にかけて北里大学病院で膀胱全摘除術を施行された 161 例のうち、尿路上皮癌の組織型で術前補助化学療法と放射線治療の施行歴のない 122 例を対象とした。本研究は北里大学医学部・病院倫理委員会の承認を得て施行した (B17-010)。

ホルマリン固定されたパラフィン切片を使用し、Bond-Max Automated Immunohistochemistry system (DC9800; Leica Biosystems, Newcastle, UK) を用いて免疫組織染色を施行した。抗 HNRNPA3 抗体 (Abcam, Cambridge, UK) は 250 倍に希釈して使用した。HNRNPA3 は核に発現しており、腫瘍細胞の核における発現を 0：陰性、1：弱陽性、2：中等度陽性、3：強陽性の 4 段階で評価した。各症例任意の 5 視野において、それぞれ 100 個の腫瘍細胞の発現を H-score (0-300) とし、その平均を各症例における発現スコアとした。Kaplan-Meier 法と Log-rank 検定を用いて HNRNPA3 のカットオフ値を検討し、高発現群 (≥ 80) と低発現群 (< 80) に分類して臨床病理組織学的因子との比較検討を行った。加えて以前当科で免疫組織染色を行った S100A8, S100A9, uroplakin III との比較検討も行った。

2 群間の臨床病理組織学的因子の比較検討においてはフィッシャーの正確確率検定を使用した。予後の検討に関しては Kaplan-Meier 法と Log-rank 検定を使用し、多

変量解析では Cox 比例ハザードモデルを使用した。全ての解析は Stata15 (College Station, TX) を用いて施行した。

【結果】

122 例のうち 100 例 (82.0%) が男性で 22 例 (18.0%) が女性であった。年齢の中央値は 70 歳 (40-82) で、観察期間の中央値は 39.4 ヶ月 (0.7-288.3) であった。27 例 (22.1%) が病理結果に伴い術後補助化学療法を施行され、32 例 (26.2%) が病勢進行のため救済化学療法を施行された。

HNRNPA3 の発現はそれぞれ高発現群 37 例 (30.3%)、低発現群 85 例 (69.7%) であった。高発現群はリンパ節転移と有意な相関を認めた ($p = 0.014$) が、年齢や性別、深達度、腫瘍グレード、上皮内癌、リンパ脈管浸潤については明らかな有意差を認めなかった。さらにそれぞれの発現群において救済化学療法の効果には有意な相関は認められなかった。また HNRNPA3 の発現は S100A8, S100A9, uroplakinIII との間には有意な相関を認めた (それぞれ $p = 0.028, 0.002, 0.047$)。

病勢進行が 60 例 (49.2%) に認められ、進行までの期間の中央値は 12.5 ヶ月 (0.7-132) であった。67 例 (54.9%) が観察期間中に死亡し、死亡までの中央値は 20.4 ヶ月 (2.5-235.1) であった。67 例のうち 51 例 (76.1%) が膀胱癌の進行により死亡した。Kaplan-Meier 法と Log-rank 検定において高発現群は病勢進行と膀胱癌死のリスクが有意に上昇していた (それぞれ $p = 0.013, 0.006$)。HNRNPA3 発現、深達度、腫瘍グレード、リンパ節転移、リンパ脈管浸潤を用いた Cox 比例ハザードモデルによる多変量解析では、リンパ節転移のみが病勢進行、癌死の独立した因子となり、

HNRNPA3 の発現は因子とはならなかった（それぞれ $p = 0.125, 0.103$ ）。

【考察】

筋層浸潤性膀胱癌と高リスク筋層非浸潤性膀胱癌患者において膀胱全摘除術を施行された患者のうち半数以上に再発が認められる。しかしながら再発率が高いにも関わらず、膀胱癌では日常診療において病勢進行を予測するのに十分なバイオマーカーが存在していない。そのため患者の予後や病勢進行を予想する新たなバイオマーカーが期待されている。本研究において、膀胱癌における HNRNPA3 の発現はリンパ節転移、S100A8、S100A9、uroplakinIII の発現と相関を認め、高発現群において病勢進行と膀胱癌死のリスクが有意に上昇していることを確認した。

HNRNPA3 は RNA 結合蛋白質である HNRNPs の一種であり、テロメアの維持に関連しているとの報告があるが、癌との関連については明らかになっていないことが多い。HNRNPs は癌細胞のアポトーシスを制御しており、薬剤によるアポトーシスを調節することにより化学療法の反応性に影響を与えるとされている。進行性膀胱癌においてはシスプラチンを基準とした化学療法が標準治療として確立されており、化学療法に対する抵抗性の有無が治療方針に大きな影響を与える。以前の当科の研究において、HNRNPA3 はシスプラチン耐性膀胱癌細胞株で発現の亢進が認められた。更に HNRNPA3 はシスプラチン耐性乳癌細胞での発現の亢進も報告されている。しかしながら本研究においては、HNRNPA3 の高発現群と低発現群との間で救済化学療法の効果に有意な差は認められなかった。救済化学療法を施行された 32 例のうち 9 例 (28.1%) に partial response (PR) 以上の反応が認められ、そのうちの 8 例は低

発現群であった。症例数が少ないことが結果に影響した可能性があり、より多くの症例での検討が必要であると考えられた。

S100A8, S100A9 はカルシウム結合蛋白である S100 蛋白質の一種である。細胞表面の受容体と結合してサイトカイン様に働き、多数の細胞プロセスで重要な役割を果たすとされている。腫瘍浸潤性の単球とマクロファージは、がん細胞の extracellular signal regulated kinase (ERK) を活性化することにより S100A8, S100A9 の発現を調節している。ERK は mitogen activated protein kinase (MAPK) シグナル伝達経路の一部である。MAPK シグナル伝達経路はがん細胞の増殖や転移を引き起こすとされており、膀胱癌の進行への関連が報告がされている。Uroplakin は尿路上皮特異的な内在性膜蛋白質のグループであり、尿路上皮構造とバリア機能を安定させる。尿路上皮癌の発がんには uroplakin の調節解除が伴うとされている。Fibroblast growth factor (FGF)-10 は MAPK シグナル伝達経路を介して uroplakin の発現を調節している。以前の当科の研究において S100A8, S100A9, uroplakinIII の発現異常は膀胱癌の病勢進行に関連していた。本研究において HNRNPA3 の発現と S100A8, S100A9, uroplakinIII の発現に相関が認められたことから、HNRNPA3 が MAPK シグナル伝達経路を介して膀胱癌の進行に関与している可能性を考慮し、今後更なる検討が必要であると考えられた。

【結語】

膀胱癌患者において HNRNPA3 の発現はリンパ節転移、S100A8, S100A9, uroplakinIII の発現と相関しており、病勢進行と癌死のリスクが有意に上昇していた。

救済化学療法の効果に関して HNRNPA3 発現による有意な差を認めなかったが、症例数が少ないことが影響している可能性があり、今後より大規模な検討が望まれる。