膀胱癌の予後規制因子としての組織中 urokinase-type plasminogen activator について

宮崎医科大学泌尿器科学教室

蓮井 良浩 西 昇平 北田真一郎 長田 幸夫

UROKINASE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR ANTIGEN AS A PROGNOSTIC FACTOR IN BLADDER CANCER

Yoshihiro Hasui, Shohei Nishi, Shinichiro Kitada and Yukio Osada

Department of Urology, Miyazaki Medical College

The relationship between the urokinase-type plasminogen activator (u-PA) content in extracts of cancer tissues and the histological grade or the extent of the primary tumor as prognostic factors in bladder cancer were examined in 55 cases of bladder cancer. The patients were divided into 2 groups, high u-PA (8 ng/ml of protein and more) and low u-PA (less than 8 ng/mg of protein) groups. The incidence of vascular invasion was 37% in the high u-PA group, and 7.1% in the low u-PA group ($p<0.05$). The incidence of high u-PA group increased with the grade of cancer and the extent of the primary tumor. The 3-year survival rates were 87.3% in low u-PA group and 42.6% in high group ($p<0.005$). The survival rates of the patients in the high u-PA group were lower than in the low group, by grade or stage. In a multivariate analysis, the prognostic value of u-PA antigen content was the same as that of tumor grade and stage. Therefore, the content of u-PA may be a useful prognostic marker for bladder cancer in addition to tumor grade and stage although the prognosis of the patients with bladder cancer is considered to be determined by many factors.

Key words: bladder cancer, urokinase-type plasminogen activator, prognosis

要旨: 膀胱癌患者55例の癌組織中 urokinase-type plasminogen activator (u-PA) 量と予後との検討を行った。u-PA 抗原量で8ng/mg of protein 以上と未満の high u-PA 群と low u-PA 群の2群に分けて検討した。high u-PA 群27例の生存率は1年88.9%, 3年42.6%で, low u-PA 群28例の1年100%, 3年87.3%と比べ有意に低値を示した($p<0.005$)。high u-PA 群の頻度は grade の上昇や pT の進行とともに増加していた。grade 2および3の症例で, high u-PA 群の生存率は low u-PA 群に比べ有意に低かった($p<0.025$)。pTa および pT₁ 症例の high u-PA 群の生存率も low u-PA 群よりも有意に低く($p<0.005$)。pT₂ より pT₄ の症例においても high u-PA 群の生存率は低値であった。u-PA 量, grade, pT の予後に及ぼす影響を多変量解析すると, 3者とも同程度の影響を及ぼしていた。また high u-PA 群は尿管侵襲陽性を伴う頻度が37%で, low u-PA 群の7.1%に比べ有意に高かった($p<0.05$)。以上の結果より, 膀胱癌の予後は尿管侵襲など他の予後規制因子と u-PA 量が深く関わりながら決定されていると思われる。また grade や pT だけでなく, 膀胱癌の u-PA 量を測定することも予後を知る上で重要と考えられた。

キーワード: 膀胱癌, urokinase-type plasminogen activator, 予後

緒 言

線溶酵素である urokinase-type plasminogen activator (以下 u-PA と略) は癌細胞より分泌され, 浸潤・転移と密接に関係があると考えられている^{1)~3)}。

癌の浸潤・転移と u-PA の関連があれば, u-PA 量と予後との関連もあると考え, われわれは以前に検討を行い high u-PA 量を持つ膀胱癌の予後は不良であると報告している⁴⁾。膀胱癌の予後規制因子として, 癌の深

達度や異型度が広く使用されているが、今回われわれは膀胱癌組織中の u-PA 量と深達度や異型度との関係を検討したので報告する。

対象および方法

1986年5月より1990年11月までの間に宮崎医科大学泌尿器科において、初回入院治療を行った55例の膀胱癌症例を対象とした。男性43例、女性12例で、年齢は44～87歳で平均68歳であった。手術療法として膀胱全摘を22例に、経尿道的手術を33例に施行した。

膀胱癌の深達度および異型度は“膀胱癌取扱い規約”⁵⁾に準じて分類した。異型度でG1の症例は12例、G2は27例、G3は16例であった。深達度はpTa症例が23例、pT₁が12例、pT₂が11例、pT₃が7例、pT₄が2例であった。

u-PAの抽出は膀胱全摘例においても経尿道的の生検施行時にcold-punch biopsyにて癌組織を採取し(0.2～1g)、Kanamycin加Dulbecco's PBSにて3回洗浄し、細切後、Markusら⁶⁾の方法に準じ、抽出した。すなわち、Camiloら⁷⁾のacetate: detergent buffer (0.075M potassium acetate, 0.3M NaCl, 0.01M EDTA, 0.1M L-arginine, 0.25% TritonX-100, pH 4.2)を1:10の割合でsampleに加え、homogenateし、3,000×g, 20分間、4℃で遠沈し、その上清をu-PA抽出液として使用した。u-PA量の測定は以前報告したEIA法⁸⁾にて行ったので、ここでは省略する。

組織抽出液中のタンパク量はBradford⁹⁾の方法に準じ測定し、癌組織中のu-PA量はng u-PA/mg of proteinで示した。前回の報告⁴⁾と同様に8ng u-PA/mg of protein以上をhigh u-PA群、8ng/mg of protein未満をlow u-PA群と分類し、以後の検討を行った。high u-PA群とgrade別、pT別、脈管侵襲の有無の頻度との関係を調べた。またhigh u-PA群とlow u-PA群の生存率をKaplan-Meier法にて算出し、logrank testにて有意差検定を行った。pTおよびgrade別のhigh u-PA群とlow u-PA群の予後の比較も行った。またpT, grade, u-PA量の生存率に及ぼす影響をCox比例ハザード・モデルを用いて、多変量解析を行った¹⁰⁾。

結 果

1) u-PA量とgradeおよびpTとの関係

low u-PA群は28例、high u-PA群は27例にみられた。u-PA量とgradeの関係でhigh u-PA群はgrade 1で症例はなく、grade 2で27例中15例(55.6%)、grade 3で16例中12例(75%)を占めていた(表1)。gradeの

表1 u-PA量と異型度との関係

The content of u-PA	Tumor grade			Total
	G1	G2	G3	
Low group	12	12	4	28
High group	0	15	12	27
Total	12	27	16	55

表2 u-PA量と深達度との関係

The content of u-PA	Pathological staging					Total
	pTa	pT1	pT2	pT3	pT4	
Low group	18	4	3	2	1	28
High group	5	8	8	5	1	27
Total	23	12	11	7	2	55

表3 u-PA量と脈管侵襲の有無との関係

The content of u-PA	Vascular invasion		Total
	(-)	(+)	
Low group	26	2	28
High group	17	10	27
Total	43	12	55

* p<0.05

進行とともにhigh u-PA群の割合が高くなっていた。

u-PA量とpTとの関係をみると、high u-PA群はpTaの23例中5例(21.7%)、pT₁の12例中8例(66.7%)、pT₂の11例中8例(72.7%)、pT₃の7例中5例(71.4%)、pT₄の2例中1例(50%)を占めていた(表2)。pT₃やpT₄の症例が少ないため、明らかな癌の進展とhigh u-PA群の割合との関係は認めないが、pT₁以上となるとhigh u-PA群の割合が高くなるようであった。他の病理組織学的因子である脈管侵襲の有無とu-PA量との関係で、high u-PA群は27例中10例(37.0%)に脈管侵襲陽性がみられ、low u-PA群は28例中2例(7.1%)に脈管侵襲陽性がみられた。high u-PA群の脈管侵襲陽性例の頻度は、有意にlow u-PA群より高かった(p<0.05, 表3)。

2) u-PA量と予後

全症例55例の生存率は1年94.6%、3年64.6%、5年64.6%であった。癌組織中のu-PA量による予後を見ると、low u-PA群28例の生存率は1年100%、3年87.3%であった。一方、high u-PA群27例の生存率は1年88.9%、3年42.6%で、low u-PA群と比べ有意に

図1 high u-PA 群と low u-PA 群の生存曲線

図2 grade 2および3膀胱癌患者の u-PA 量別の生存曲線

図3 pTa および pT₁症例の u-PA 量別の生存曲線

低かった ($p < 0.005$, 図1)。

u-PA 量と予後を grade 別にみると, grade 1は全例 low u-PA 群であるので検討できなかった. grade 2および3で low u-PA 群16例の生存率は1年100%, 3年73.9%であった. high u-PA 群27例の生存率は1年88.9%, 3年42.6%であった. high u-PA 群の予後は low u-PA 群に比べ有意に低かった ($p < 0.025$, 図2)。

u-PA 量と予後を pT 別にみると, pTa および pT₁で high u-PA 群13例の生存率は1年92.3%, 3年46.2%で, low u-PA 群22例の3年100%と比べ有意に低かった ($p < 0.005$, 図3). pT₂, pT₃および pT₄で

図4 pT₂, pT₃および pT₄症例の u-PA 量別の生存曲線

表4 u-PA 量, 異型度, 深達度の予後に対する比例ハザード・モデルによる多変量解析

Factors	Relative risk	t value	P
u-PA	1.499	2.338	$p < 0.05$
grade	1.158	2.391	$p < 0.05$
pT	0.565	2.332	$p < 0.05$

low u-PA 群6例の生存率は1年100%, 3年50%で, high u-PA 群14例の1年85.7%, 3年35.7%と比べ高いものの, 統計学的有意差は認めなかった (図4)。

3) u-PA 量, grade, pT の予後に対する多変量解析
u-PA 量, grade, pT の予後に及ぼす影響を Cox 比例ハザード・モデルにて多変量解析してみると, relative risk は u-PA 量が1.499と最も高かったが, t 値や P 値には3者間において差は認められなかった (表4)。

考 察

癌の浸潤・転移には種々の proteases が複雑に作用し合い, 関連していると考えられている. 種々の proteases の中で serine prteases である u-PA は癌細胞より分泌され, plasminogen を plasmin に変換し, 粘膜の基底膜にある glycoprotein, fibronectin や laminin などを直接分解し, また procollagenase を collagenase に変換することで間接的に collagen を分解することで浸潤をおこし, さらに静脈やリンパ管の壁にある type IV collagen を分解し, 脈管侵襲をおこすことで, 転移形成につながると推定されている¹¹⁻¹³⁾. これらのことより, u-PA が癌の予後と深く関わっていることが推定される。

膀胱癌より u-PA が分泌されている証拠としては, 膀胱癌細胞株の培養上清中より u-PA が認められた¹¹⁾¹²⁾ことより明らかであり, また正常膀胱粘膜組織

より癌組織中の u-PA 量が有意に高値を示した¹³⁾¹⁴⁾ことより、膀胱粘膜細胞の癌化との関係も推定されている。今回の膀胱癌組織中 u-PA 量による high u-PA 群の grade 別頻度は grade 1 で 0%, grade 2 で 55.6%, grade 3 で 75% と、grade の上昇とともに high u-PA 群の割合も上昇していた。このことより grade 1 は u-PA 量が少ないために浸潤・転移がほとんどおこらず、grade 2, 3 の中で u-PA 量が高値のものが浸潤・転移をひきおこしやすいことが考えられる。つまり、grade 2, 3 の中でより悪性度の高い癌が u-PA を多量に分泌している可能性がある。また high u-PA 群の pT 別頻度も pTa で 21.7%, pT₁ で 66.7%, pT₂ で 72.7% と pT の進行とともに上昇していたが、pT₃ や pT₄ では症例数が少ないために 71.4% と 50% と低い割合になった可能性がある。ただ、ただ pT₁ 以上において pTa よりも u-PA 値は明らかに高値となっているので、粘膜基底膜を超える浸潤を示すためには、基底膜を破壊することにより多量の u-PA が必要と思われた。

今回、膀胱癌の u-PA 量と尿管侵襲との関係を検討してみたが、high u-PA 群の 37% に尿管侵襲がみられ、low u-PA 群の 7.1% と比べ有意に高い頻度であった。u-PA 量と尿管侵襲との関係の検討は今まで報告がなく、新知見と思われる。また u-PA が type IV collagen を間接的に分解し、尿管侵襲を起こすということの臨床的裏付けとなると考えられる。膀胱癌において、尿管侵襲の存在が予後規制因子の 1 つと言われている¹⁵⁾¹⁶⁾、また同じ移行上皮癌である腎盂尿管癌においても同様の報告がある¹⁷⁾。このように u-PA 量が尿管侵襲と関連があるということは、u-PA 量に応じて予後が決定される可能性があると思われる。

膀胱癌の u-PA 量と予後との関係で、今回の検討では high u-PA 群の生存率は low u-PA 群より有意に低かった。grade や pT は予後と相関すると考えられており¹⁸⁾¹⁹⁾、これらの因子の grade 別および pT 別の生存率を u-PA 量に応じて high と low に分けると、high u-PA 群の予後は low u-PA 群よりも不良であり、さらに u-PA 量と grade と pT と予後との関係を多変量解析すると、各因子ともに同程度の予後に及ぼす影響がみられた。癌の u-PA 量と予後との関係については乳癌での報告があり、u-PA 量は乳癌における独立した予後規制因子とされている²⁰⁾²¹⁾。われわれは膀胱癌の u-PA 量は予後規制因子の 1 つと思われることを報告している⁴⁾が、今回の grade や pT との比較の結果、u-PA 量が一般的に用いられる予後規制因子

である grade や pT に劣らない予後規制因子であることがわかった。

種々の因子が関わり合って膀胱癌の予後を決定しており、癌の u-PA 量のみが予後を規制するものではないと思われる。しかし、実際に予後規制因子として利用される因子は限られており、しかも grade や pT を超える因子は少ないのが現状である。病理組織学的検討から grade や pT は必ず決定される因子であるので、この因子に u-PA 量を加えることで悪性度のより高い癌を細分できるように思える。このことが、膀胱癌術後の aggressive chemotherapy を必要とする症例を選び出すことに効果をもたせ、さらに治療効果によって予後の改善につながる可能性があると思われる。

文 献

- 1) Dano, K., Andreasen, P.A., Grondahl-Hansen, J., Kristensen, P., Nielsen, L.S. and Skriver, L.: Plasminogen activators, tissue degradation, and cancer. *Advanc. Cancer Res.*, **44**, 139—266, 1985.
- 2) Markus, G.: The relevance of plasminogen activators to neoplastic growth. A review of recent literature. *Enzyme*, **40**, 158—172, 1988.
- 3) Laiho, M. and Keski-Oja, J.: Growth factors in the regulation of pericellular proteolysis. A review. *Cancer Res.*, **49**, 2533—2553, 1989.
- 4) Hasui, Y., Marutsuka, K., Suzumiya, J., Kitada, S., Osada, Y. and Sumiyoshi, A.: The content of urokinase-type plasminogen activator antigen as a prognostic factor in urinary bladder cancer. *Int. J. Cancer*, **50**, 871—873, 1992.
- 5) 日本泌尿器科学会・日本病理学会編：膀胱癌取扱いい規約，第1版，金原出版，東京，1980.
- 6) Markus, G., Camiolo, S.M., Kohga, S., Madeja, J.M. and Mittelman, A.: Plasminogen activator secretion of human tumors in short-term organ culture, including a comparison of primary and metastatic colon tumors. *Cancer Res.*, **43**, 5517—5525, 1983.
- 7) Camiolo, S.M., Siuta, M.R. and Madeja, J.M.: Improved medium for extraction of plasminogen activator from tissue. *Prep. Biochem.*, **12**, 297—305, 1982.
- 8) Hasui, Y., Suzumiya, J., Sumiyoshi, A., Hashida, S. and Ishikawa, E.: Distribution of plasminogen activators in human kidney and male genital organs using a highly sensitive enzyme immunoassay. *Thrombosis Res.*, **51**, 453—459, 1988.

- 9) Bradford, M.M.: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**, 248—254, 1976.
- 10) Cox, D.R.: Regression models and life tables. *J. Roy. Stat. Soc.*, **34**, 187—220, 1972.
- 11) Hisazumi, H., Andersson, L. and Collins, V.P.: Fibrinolytic activity of in vitro cultivated human bladder cell lines. *Urol. Res.*, **5**, 133—139, 1977.
- 12) Wilson, E.L., Becker, M.L.B., Hoal, E.G. and Dowdle, E.B.: Molecular species of plasminogen activators secreted by normal and neoplastic human cells. *Cancer Res.*, **40**, 933—938, 1980.
- 13) Mitsubayashi, S., Akiyama, T., Kurita, T., Okada, K., Bando, H., Sasaki, T. and Matuo, O.: Plasminogen activator in bladder tumors. *Urol. Res.*, **15**, 335—339, 1987.
- 14) Hasui, Y., Suzumiya, J., Marutsuka, K., Sumiyoshi, A., Hashida, S. and Ishikawa, E.: Comparative study of plasminogen activators in cancers and normal mucosae of human urinary bladder. *Cancer Res.*, **49**, 1067—1070, 1988.
- 15) Bell, J.T., Burney, S.W. and Friedell, G.H.: Blood vessel invasion in human bladder cancer. *J. Urol.*, **105**, 675—678, 1971.
- 16) 内藤誠二, 木宮公一, 上田豊史, 熊澤浄一: 膀胱癌における腫瘍の脈管内侵襲に関する検討. *日泌尿会誌*, **78**, 1199—1204, 1987.
- 17) 蓮井良浩, 小林隆彦, 山下康洋, 西 昇平, 北田真一郎, 長田幸夫: 腎盂尿管癌における脈管侵襲に関する検討. *日泌尿会誌*, **83**, 1436—1441, 1992.
- 18) Koss, L.G.: Tumors of the urinary bladder. *Atlas of tumor pathology. Fasc. 11, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC*, 1975.
- 19) 黒田昌男: 膀胱癌の臨床的病理学的研究—浸潤性膀胱癌の予後規制因子の検討—. *日泌尿会誌*, **75**, 379—390, 1984.
- 20) Duffy, K., Reilly, D., O'Sullivan, C., O'Higgins, N., Fennely, J.J. and Andreassen, P.: Urokinase-type plasminogen activator, a new and independent prognostic marker in breast cancer. *Cancer Res.*, **50**, 6827—6829, 1990.
- 21) Janicke, F., Schmitt, M., Hafter, R., Hollrieder, A., Babic, R., Ulm, K., Gossner, W. and Graeff, H.: Urokinasetype plasminogen activator (u-PA) antigen is a predictor of early relapse in breast cancer. *Fibrinolysis*, **4**, 69—78, 1990.

(1993年2月15日受付, 4月17日受理)