Kobe University Repository : Kernel

PDF issue: 2025-12-05

Expression of epithelial-mesenchymal transition markers in renal cell carcinoma: impact on prognostic outcomes in patients undergoing radical nephrectomy

原田, 健一

(Degree)
博士（医学）
(Date of Degree)
2013-03-25
(Resource Type)
doctoral thesis
(Report Number)
甲5685
(URL)
https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005685

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。

（課程博士関係）

学位論文の内容要旨

Expression of epithelial – mesenchymal transition markers in renal cell carcinoma: impact on prognostic outcomes in patients undergoing radical nephrectomy

非転移性腎細胞癌における予後因子としての epithelial-mesenchymal transition (EMT) 関連マーカーの意義

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

腎泌尿器科学

（指導教員：藤澤　正人教授）

原田　健一

【緒言】

腎細胞癌は成人における腎悪性腫瘍の中で最も頻度が高く、近年増加している腫瘍である。その臨床的特徴として、抗癌化学療法や放射線療法に高い抵抗性を示し、外科的切除のみが唯一の根治治療とみなされているが、根治的切除を施行した限局性癌の 20-30%に局所あるいは遠隔転移を認めることが知られている。近年の分子標的治療の導入により、再発をきたした症例の予後は改善されつつあるものの、ほとんどの症例において根治を得ることは困難である。それゆえ腎細胞癌の進展と関連する分子生物学的特徴を探求し、再発症例に対する最適な治療戦略の確立を目指すことは重要と考えられる。

上皮間葉転換(Epithelial-Mesenchymal-Trasition : EMT)とは上皮細胞が間葉系細胞に形態変化する現象であり、近年 EMT の獲得と癌細胞の浸潤、転移との関連が示されている。それゆえ多くの study において、EMT 関連マーカーは予後予測因子として有用であると報告されている。
しかしながら腎細胞癌においては EMT 関連因子と予後との相関にかんする報告は少なく、特に臨床的に限局性癌と診断された腎細胞癌における予後予測因子としての意義は知られていない。

【目的】

根治的摘除術を施行した限局性腎細胞癌症例における EMT 関連マーカーと予後との関連を検討した。

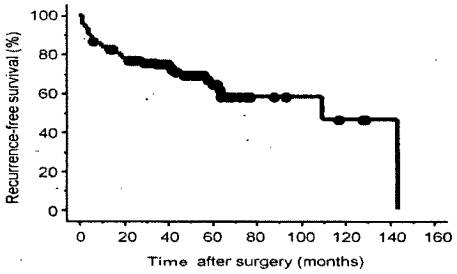
【対象と方法】

1998 年から 2008 年までに神戸大学病院において根治的腎摘除術を施行した T1-3N0M0 腎細胞癌 122 例から提供を受けた摘出標本における E-cadherin、N-cadherin、Clusterin、Vimentin、β-catenin、γ-Catenin、Snail、Slug、Twist、ZEB1 および ZEB2 の 11 種類の EMT 関連マーカーの発現レベルを免疫組織化学染色によって評価し、予後との関連を調査した。以下に症例背景を示す。

Table 1. *Patient characteristics*

Median age (years, range)	65.0 (32-84)
Gender (%)	
Male	87 (71.3)
Female	35 (28.7)
Mode of presentation (%)	
Incidental	90 (73.8)
Symptomatic	32 (26.2)
Karnofsky performance status (%)	
80 ≤	97 (79.5)
< 80	25 (20.5)
Preoperative C-reactive protein level (%)	
Normal	77 (63.1)
Abnormal	45 (36.9)
Pathological stage (%)	
pT1	64 (52.5)
pT2	10 (8.2)
pT3	48 (39.3)
Grade (%)	
1	9 (7.4)
2	90 (73.8)
3	23 (18.8)
Microvascular invasion (%)	
Negative	74 (60.7)
Positive	48 (39.3)
Histological subtype (%)	
Clear cell carcinoma	104 (85.2)
Non-clear cell carcinoma	18 (14.8)

【結果】



全症例における recurrence-free survival を上に示す。122 例中 39 例(32.0%)に再発を認め、1、3および5年非再発率はそれぞれ83.6%、74.7%、64.4%であった。

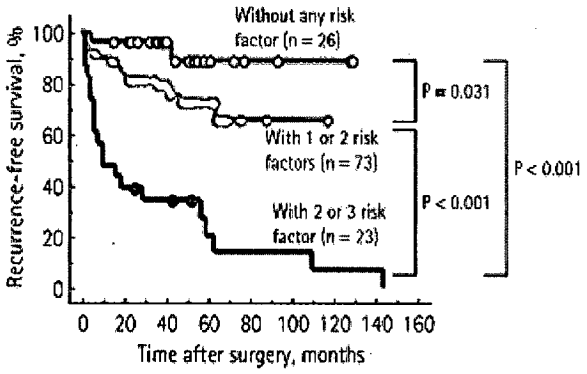
Table 3. *Univariate and multivariate analyses of association between various parameters with recurrence-free survival in 122 patients with renal cell carcinoma who underwent radical nephrectomy*

Variables	No. of patients (No. of patients with disease recurrence)	Univariate analysis		Multivariate analysis	
		Hazard ratio	p Value	Hazard ratio	p Value
Age (years) (< 70 vs 70 ≤)	71 (23) vs 51 (16)	0.99	0.99	–	–
Mode of presentation (incidental vs symptomatic)	90 (33) vs 32 (6)	2.32	0.059	–	–
Karnofsky performance status (%) (< 80 vs 80 ≤)	97 (31) vs 25 (8)	0.81	0.69	–	–
C-reactive protein level (normal vs abnormal	77 (10) vs 45 (29)	5.59	< 0.001	2.77	0.010
Pathological stage (pT1 or pT2 vs pT3)	74 (15) vs 48 (24)	3.86	0.0081	1.95	0.089
Grade (1 or 2 vs 3)	99 (32) vs 23 (7)	1.12	0.81	–	–
Microvascular invasion (negative vs positive)	74 (14) vs 48 (25)	4.33	< 0.001	2.68	0.016
Histological subtype (CCC vs non-CCC)	104 (35) vs 18 (4)	1.43	0.53	–	–
E-cadherin (weak vs strong expression)	84 (35) vs 38 (4)	3.94	0.010	0.49	0.21
N-cadherin (weak vs strong expression)	60 (16) vs 62 (23)	1.68	0.11	–	–
β-catenin (weak vs strong expression)	94 (27) vs 28 (12)	1.61	0.67	–	–
γ-catenin (weak vs strong expression)	62 (19) vs 60 (20)	1.04	0.56	–	–
Clusterin (weak vs strong expression)	79 (17) vs 43 (22)	5.32	0.0029	2.89	0.020
Slug (weak vs strong expression)	73 (17) vs 49 (22)	1.88	0.051	–	–
Snail (weak vs strong expression)	84 (24) vs 38 (15)	1.15	0.67	–	–
Twist (weak vs strong expression)	75 (13) vs 47 (26)	3.11	0.0072	2.10	0.048
Vimentin (weak vs strong expression)	57 (11) vs 65 (28)	2.03	0.038	1.42	0.71
ZEB1 (weak vs strong expression)	100 (26) vs 22 (10)	1.57	0.24	–	–
ZEB2 (weak vs strong expression)	69 (19) vs 53 (20)	1.23	0.52	–	–

CCC. clear cell carcinoma.

再発予知因子を検討した。上に示すように、単変量解析では、EMT 関連

マーカーにおいて Clusterin、Vimentin および Twist の発現亢進および E-cadherin の発現抑制が有意に再発と相関し、臨床的因子において CRP 高値、pathological stage および静脈侵襲が再発と有意な相関を示した。これら再発と有意に相関した 7 因子のうち、多変量解析において、EMT 関連マーカーでは Clusterin および Twist の発現亢進、臨床的因子では CRP 高値および静脈侵襲が独立した再発予知因子として同定された。



さらに独立した再発予知因子となった Clusterin および Twist の発現亢進、CRP 高値および静脈侵襲の 4 項目の個数別に 0 個群、1-2 個群、3-4 個群の 3 群にわけて検討すると、recurrence-free survival においてそれぞれの群に有意差を認めた。

【考察】

外科的切除を施行した症例の術後 follow-up において、術前後の様々な臨床病理学的情報から follow-up スケジュールを決定したり、再発を予測することは重要であるが、限局性腎癌において TNM 分類を含む臨床病理学的情報のみから再発を予測することには限界があるといわれている。その限界を克服するために種々の分子マーカーと再発との関連が検討されている。最近の報告によると EMT と悪性腫瘍の進展との関連が示されており、EMT 関連マーカーは、いくつかの悪性腫瘍において予後と相関することが報告されている。

しかしながら、腎癌に関する EMT 関連マーカーの意義として臨床応用可能な報告は少ない。今回の study では、限局性腎癌における予後因子としての EMT 関連マーカーの意義を検討した。

限局性腎癌の独立した再発予知因子として、Clusterin および Twist の発現亢進、CRP 高値および静脈侵襲の 4 項目が同定された。CRP 高値、静脈侵襲および Clusterin の発現亢進については、過去の腎癌における study において予後との関連が示されているが、Twist の発現亢進についての報告はなされていない。しかしながら、Twist は上皮細胞間接着に寄与している接着分子である E-cadherin を抑制的に調節しているという事実が、今回の結果を理論上サポートしている。実際に今回の検討において E-cadherin と Twist の間に逆相関を認めた。

術後 follow-up スケジュールのよりよい個別化を行うために、強力な再発予測の指標を組み合わせることで、根治的腎摘出術後の再発を予言する能力を高めることは興味深いと思われる。今回の検討で、独立した再発予知因子であった上記 4 項目の個数により、recurrence-free survival において有意差を認めたことは、腎細胞癌術後の再発をより正確に予測するあらたな指標となるかもしれない。

【結論】

限局性腎細胞癌術後再発における EMT 関連マーカーの関与が示唆された。

神戸大学大学院医学(系)研究科（博士課程）

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第 2303 号	氏　名	原田　健一
論文題目 Title of Dissertation	Expression of epithelial – mesenchymal transition markers in renal cell carcinoma: impact on prognostic outcomes in patients undergoing radical nephrectomy 非転移性腎細胞癌における予後因子としての epithelial-mesenchymal transition(EMT)関連マーカーの意義		
審査委員 Examiner	主　査 Chief Examiner 副　査 Vice-examiner 副　査 Vice-examiner	掛地吾弘 伊藤智雄 佐々木良平	

（要旨は１，０００字～２，０００字程度）

腎細胞癌は成人における腎悪性腫瘍の中で最も頻度が高く、近年増加している腫瘍である。その臨床的特徴として、抗癌化学療法や放射線療法に高い抵抗性を示し、外科的切除のみが唯一の根治治療とみなされているが、根治的切除を施行した限局性癌の 20-30%に局所あるいは遠隔転移を認めることが知られている。近年の分子標的治療の導入により、再発をきたした症例の予後は改善されつつあるものの、ほとんどの症例において根治を得ることは困難である。それゆえ腎細胞癌の進展と関連する分子生物学的特徴を探求し、再発症例に対する最適な治療戦略の確立を目指すことは重要と考えられる。

上皮間葉転換(Epithelial-Mesenchymal-Trasition：EMT)とは上皮細胞が間葉系細胞に形態変化する現象であり、近年 EMT の獲得と癌細胞の浸潤、転移との関連が示されている。それゆえ多くの study において、EMT 関連マーカーは予後予測因子として有用であると報告されている。

しかしながら腎細胞癌においては EMT 関連因子と予後との相関にかんする報告は少なく、特に臨床的に限局性癌と診断された腎細胞癌における予後予測因子としての意義は知られていない。

根治的摘除術を施行した限局性腎細胞癌症例における EMT 関連マーカーと予後との関連を検討した。

1998 年から 2008 年までに神戸大学病院において根治的腎摘除術を施行した T1-3N0M0 腎細胞癌 122 例から提供を受けた摘出標本における E-cadherin、N-cadherin、Clusterin、Vimentin、β-catenin、γ-Catenin、Snail、Slug、Twist、ZEB1 および ZEB2 の 11 種類の EMT 関連マーカーの発現レベルを免疫組織化学染色によって評価し、予後との関連を調査した。

全 122 例中 39 例(32.0%)に再発を認め、1、3 および 5 年非再発率はそれぞれ 83.6%、74.7%、64.4%であった。再発予知因子を検討した。単変量解析では、EMT 関連マーカーにおいて Clusterin、Vimentin および Twist の発現亢進および E-cadherin の発現抑制が有意に再発と相関し、臨床的因子において CRP 高値、pathological stage および静脈侵襲が再発と有意な相関を示した。これら再発と有意に相関した 7 因子のうち、多変量解析において、EMT 関連マーカーでは Clusterin および Twist の発現亢進、臨床的因子では CRP 高値および静脈侵襲が独立した再発予知因子として同定された。さらに独立した再発予知因子となった Clusterin および Twist の発現亢進、CRP 高値および静脈侵襲の 4 項目の個数別に 0 個群、1-2 個群、3-4 個群の 3 群にわけて検討すると、recurrence-free survival においてそれぞれの群に有意差を認めた。

外科的切除を施行した症例の術後 follow-up において、術前後の様々な臨床病理学的情報から follow-up スケジュールを決定したり、再発を予測することは重要であるが、限局性腎癌において TNM 分類を含む臨床病理学的情報のみから再発を予測することには限界があるといわれている。その限界を克服するために種々の分子マーカーと再発との関連が検討されている。最近の報告によると EMT と悪性腫瘍の進展との関連が示されており、EMT 関連マーカーは、いくつかの悪性腫瘍において予後と相関することが報告されている。しかしながら、腎癌に関する EMT 関連マーカーの意義として臨床応用可能な報告は少ない。今回の study では、限局性腎癌における予後因子としての EMT 関連マーカーの意義を検討した。

限局性腎癌の独立した再発予知因子として、Clusterin および Twist の発現亢進、CRP 高値および静脈侵襲の 4 項目が同定された。CRP 高値、静脈侵襲および Clusterin の発現亢進については、過去の腎癌における study において予後との関連が示されているが、Twist の発現亢進についての報告はなされていない。しかしながら、Twist は上皮細胞間接着に寄与している接着分子である E-cadherin を抑制的に調節しているという事実が、今回の結果を理論上サポートしている。実際に今回の検討において E-cadherin と Twist の間に逆相関を認めた。

術後 follow-up スケジュールのよりよい個別化を行うために、強力な再発予測の指標を組み合わせることで、根治的腎摘出術後の再発を予言する能力を高めることは興味深いと思われる。今回の検討で、独立した再発予知因子であった上記 4 項目の個数により、recurrence-free survival において有意差を認めたことは、腎細胞癌術後の再発をより正確に予測するあらたな指標となるかもしれない。

限局性腎細胞癌術後再発における EMT 関連マーカーの関与が示唆された。

以上、本研究は腎細胞癌における上皮間葉転換(EMT)関連マーカーの中で、Clusterin および Twist の発現亢進が再発予知因子であることを明らかにしており、CRP や microvascular invasion と組み合わせることによって更に精確に術後の再発を予測する指標となる重要な知見を得たものと認める。よって本研究者は博士（医学）の学位を得る資格があると認める。