

膀胱癌診療の現状： 新しい尿中細胞染色体異常検出検査への期待

Clinical management of bladder cancer: a novel urine diagnostic test 'UroVysion'

みやけ まき と おお ぞの せいしろう
三宅 牧 人¹⁾：大園 誠一郎^{2,3)}
Makito MIYAKE Seiichiro OZONO

はじめに

近年、膀胱癌領域において、光学的診断薬「アラグリオ®顆粒剤」(2017年11月)、免疫チェックポイント阻害剤「キイトルーダ®」(一般名ペムブロリズマブ、2017年12月)、ロボット支援下膀胱全摘除術(2018年4月)、ウロビジョン(2019年1月)などが相次いで保険収載され、まさに膀胱癌診療は変遷の時を迎えている。そして、これらの新しい武器をいかに効率よく診療に利用するかが臨床医に課せられた責務である。さて、本稿では、癌と遺伝子異常、特に膀胱癌の遺伝子異常に基づいた新しい尿検査であるウロビジョンについて概説するが、なぜ膀胱癌診療において、今さら遺伝子診療が注目されるのかを理解いただくため、先ず膀胱癌の特性についてもあらためて言及することにした。

I. 膀胱癌とは

1. 疫学

「膀胱癌」は膀胱の尿路上皮粘膜より発生する悪性腫瘍である。2014年の膀胱癌の罹患患者数は20,595人で、年齢調整罹患率は6.9(10万人/年・基準人口は昭和60年のモデル人口)で、2017年の集計による年齢調整死亡率は男女合計で2.1である¹⁾。罹患率は、男性は女性の約4倍高く、今後の膀胱癌

患者の高齢化も推測される。罹患リスクとして喫煙が知られており、非喫煙者と比較すると3.2倍とされる²⁾。

2. 病理

病理学的には、尿路上皮癌がもっとも多く、約90%以上を占める。その他、尿路上皮癌以外に、扁平上皮癌、腺癌、尿膜管癌、小細胞癌などの病理型が認められ、これらは尿路上皮癌より予後不良である。治療上重要になるのは、腫瘍異型度(tumor grade)および深達度(TNM分類のTカテゴリ)である。前者は低異型度(low grade)または高異型度(high grade)の2段階に、後者はTa:尿路上皮粘膜より上層にとどまる乳頭状非浸潤癌、T1:粘膜上皮下結合織に浸潤する腫瘍、T2:筋層に浸潤する腫瘍、T3:膀胱周囲組織に浸潤する腫瘍、T4:前立腺間質・精囊・子宮・膣・骨盤壁・腹壁など周囲臓器に浸潤する腫瘍、などに分類される³⁾。上皮内癌(carcinoma *in situ*: CIS)はTisに分類し、明らかに悪性と判断される高異型度の腫瘍細胞が増殖する平坦状病変と定義される。Ta、Tis、T1までを筋層非浸潤性膀胱癌(Non-muscle invasive bladder cancer: NMIBC)、T2~T4を筋層浸潤性膀胱癌(Muscle invasive bladder cancer: MIBC)と呼ぶ。

3. 診断

初発症状として無症候性間歇的肉眼的血尿がもっとも多い。その他、排尿時痛や頻尿などの自覚症状

1) 奈良県立医科大学 泌尿器科 助教
〒634-8522 奈良県橿原市四条町840番
2) 浜松医科大学 名誉教授(泌尿器科学)
〒431-3192 静岡県浜松市東区半田山1丁目20-1
3) 社会医療法人 大道会 森之宮病院 泌尿器科 顧問
〒536-0025 大阪府大阪市城東区森之宮2丁目1-88

1) Assistant Professor, Department of Urology, Nara Medical University
(840, Shijyo-cho, Kashihara, Nara)
2) Professor Emeritus(Urology), Hamamatsu University School of Medicine
(1-20-1, Handayama, Higashi-ku, Hamamatsu, Shizuoka)
3) Urology, Morinomiya Hospital
(2-1-88, Morinomiya, Joto-ku, Osaka, Osaka, Japan)

が診断のきっかけになることもある。また、近年の画像診断技術の進歩に伴い、検診や他疾患検索目的のエコー検査やCT検査中に発見される偶発癌も増加している。膀胱鏡検査は膀胱腫瘍が疑われる患者に対して行われ、外来診療の中で比較的容易に実施できる。しかしながら、良性か悪性かの判別には、尿細胞診（膀胱洗浄液細胞診も利用可能）、尿中NMP22 (Nuclear Matrix Protein 22)などを参考にすが、最終的には組織病理診断が必須である。また、CTやMRIなどの画像検査は、深達度のほか、腎盂・尿管癌（上部尿路癌）の合併、リンパ節転移、他臓器転移などを診断するために有用である。造影MRIや拡散強調画像では、80%以上の診断精度で筋層浸潤の有無を判別できる⁴⁾。

4. 治療

まずは、経尿道的膀胱腫瘍切除術TURBT (Transurethral resection of the Bladder tumor)によって腫瘍を可能な限り切除し、組織を病理学的に確認することで確定診断される。臨床像および予後が大きく異なるNMIBCとMIBCに大別して取り扱うことになるため、ここで深達度診断を正確に行うことが極めて重要である(図1)。NMIBCの多くは膀胱温存が可能であるが、膀胱癌は多中心性発生であり、空間的多発と時間的再発が特徴である。報告による幅が大きい初回治療後の再発率は30～70%で、再発を繰り返すうちに10～15%がMIBCに進展する。これらを可能な限り抑えるために、抗癌剤(マ

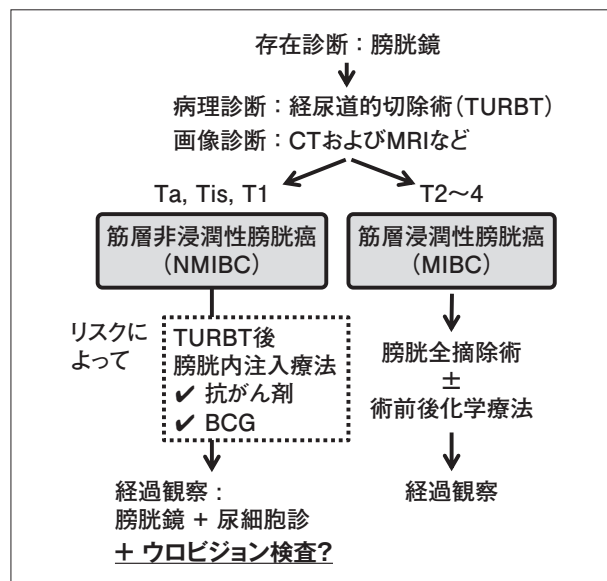


図1 膀胱癌の診断から治療の流れ

イトマイシンCやアントライサイクリン系薬剤)やBCG(イムノブラダー[®], 東京株)の膀胱内注入療法が数か月～数年にわたり行われることもある。

一方、MIBCの標準治療は尿路変向術を伴う膀胱全摘除術であるが、侵襲は極めて高い。高齢症例や重篤な併存疾患などがある症例には、姑息的なTURBT、膀胱部分切除術や緩和的な放射線治療が実施される場合もある。MIBCに対する薬物療法としては全身抗癌化学療法が第一選択として行われ、膀胱全摘除術前(ネオアジュバント療法)、後(アジュバント療法)として実施されることも多く、さらに有転移の進行期膀胱癌に対する治療としても用いられる。化学療法のみ時代が長らく続いたが、最近、進行再発尿路上皮癌に対する抗PD-1抗体薬のペムプロリズマブの有効性が証明され、国内でも保険承認された(2017年12月)。現在、本剤以外の多くの免疫チェックポイント阻害薬が尿路上皮癌に対して検討されている。

5. NMIBCの経過観察における課題

先に述べたようにNMIBCの治療後の最大の問題は、膀胱内再発を高率に認めることである。再発を早期に診断するため、3～6か月に1度は尿細胞診検査に加えて尿道膀胱鏡が行われる。尿道膀胱鏡には痛み・不快感や検査後血尿および尿路感染症のリスクが伴い、長期におよぶ同検査は患者にとって肉体的にも精神的にも負担は大きい。一方の尿細胞診は、侵襲もほとんどなく、特異度90%以上と高く、膀胱癌の診療には欠かせない検査となっているが、感度が低いことが問題である。そのほかの尿中マーカーを含めて、経過観察中の再発診断精度を表1にまとめた⁵⁾。尿細胞診の感度は35%(報告の範囲:

表1 膀胱癌の膀胱内再発診断における各種尿マーカーの精度

尿マーカー	再発診断における精度(%)	
	感度(報告の範囲)	特異度(報告の範囲)
NMP22*	71(41-100)	73(55-98)
FDP	54(47-68)	61(25-80)
尿潜血*	40(37-41)	87(87-87)
CYFRA21-1	85(75-88)	82(73-95)
UBC(CK8-18)*	60(21-80)	87(72-95)
BTA*	48(32-58)	92(91-92)
尿細胞診*	35(13-75)	94(85-100)

*本邦保険診療認可検査(膀胱癌疑いまたは膀胱癌治療後の経過観察中において)

13～75%)と低く、膀胱鏡検査を省くことができないのが現状である。

II. 癌の遺伝子異常について

1. 「癌」は遺伝子異常による病気

癌の多くは正常細胞の正常の遺伝子に変異(異常)によって発症することが分かっている。ヒトの細胞の核内には23対46本の染色体(1～22番染色体+性染色体)があり、タンパク質の生成にかかわる情報を有する遺伝子が全部で25,000～30,000個程度存在するとされる。癌細胞が増殖し体内での環境が変化するに従って、DNA塩基配列レベルでの点突然変異や挿入、さらに染色体レベルでの欠失、増幅、転座や再構成といった異常が蓄積していく(図2)。ただし、遺伝子変異のすべてが癌の進行や予後に重大な影響を与えるものではなく、実際に薬物耐性や転移を促進し予後に影響するような遺伝子異常は少数であるとされる。このような変異のことをドライバー変異と呼び、診断や治療選択に有益な情報となりうる⁶⁾。癌の初期・進行期で認められるさまざまな遺伝子異常を逆手に取り、臨床応用へとつなげようとする試みは以前からなされている。最近よく耳にする「プレジジョン・メディスン(precision medicine)」とは、このようなバイオマーカーを用いて、

特定の患者に合った治療法を選択し、治療による利益を最大限に、不利益を最小限にすることを目指す新しい医療概念である。

2. 膀胱癌の遺伝子異常

膀胱癌の発生・進展にかかわる遺伝子異常は、本邦そして海外で広く研究されてきた。癌抑制遺伝子であるp53遺伝子異常は膀胱癌の30%以上の症例で認められ⁷⁾、また線維芽細胞増殖因子受容体3(FGFR3)遺伝子の点突然変異は低異型度Ta腫瘍に限ると50～80%の症例が陽性を示す⁸⁾。そのほか、第9番染色体、特に9p21遺伝子座領域には、CDK2A/p16などの重要な癌抑制遺伝子が存在し、この部分の欠失は膀胱癌の癌化のキーイベントでもある⁹⁾。さらに第3番、7番、17番染色体の異数倍数体(DNA aneuploidy)は悪性度の異なるさまざまな膀胱癌で広く認められる遺伝子異常であることが報告されている¹⁰⁾。このような遺伝子異常を有する尿路細胞を自排尿から検出すれば、低侵襲かつ高精度な膀胱癌早期診断が可能となる。2019年1月に本邦で保険適応となった「ウロビジョンDNA FISHプローブキット」は、尿中剥離細胞における膀胱癌関連染色体異常を検出する、膀胱癌再発のための補助診断検査である。

III. ウロビジョン

1. 原理と方法

蛍光*in situ*ハイブリダイゼーション法(FISH)とは、蛍光物質をつけたプローブ(標的遺伝子と相補的な塩基配列を有する合成遺伝子)を標的遺伝子と結合させ、蛍光顕微鏡下で可視化する手法のことである¹¹⁾。蛍光*in situ*ハイブリダイゼーション(FISH)法により尿中膀胱上皮細胞の3番、7番、17番染色体の異数倍数体ならびに9p21遺伝子座の欠失を検出することで、癌を診断する分子細胞診検査である。具体的には、33mL以上の自排尿を採取し、エタノールベースの指定保存剤と混和、その後はオートメーションでのスライドの調整、そして蛍光プローブとのハイブリダイゼーションが行われる。最低25個の形態学的異常細胞の核内の4色シグナルを蛍光顕微鏡にて計測し、結果を判定する(図3)。

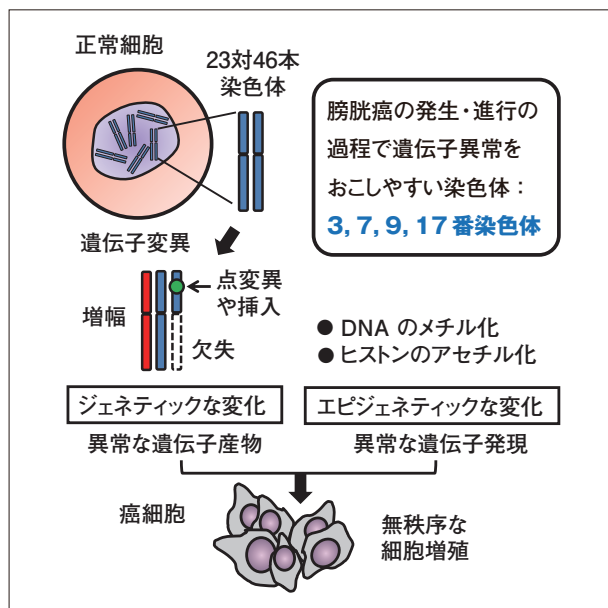


図2 癌化に関わる遺伝子異常

判定方法：最低 25個の形態学的異常細胞* の4色蛍光シグナルを計数

陽性判定基準

1. 複数の染色体(3番、7番または17番)が増加した細胞が4個以上
2. 9p21シグナルが消失した細胞数が12個以上

* 形態学的に異常な細胞がほとんどない場合は、最も大きな細胞、あるいは最も核の大きな細胞を選択。形態学的に異常な細胞がすぐに見つからない場合は、スライドを全体に渡ってスキャンし、形態学的にもっとも異常な細胞の核からシグナルを計数

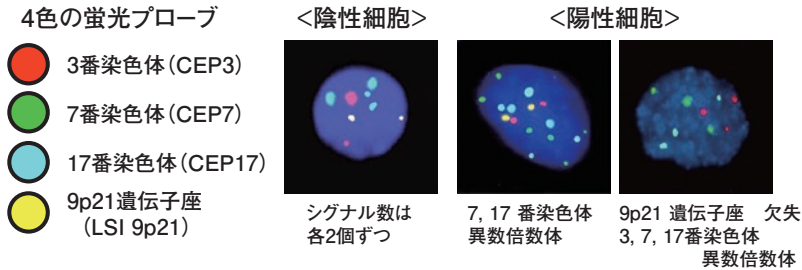


図3 ウロビジョンの判定法と陰性、陽性の例

2. NMIBC 再発診断において尿細胞診と比べ高い感度

アボット ジャパン株式会社によって多施設 (12 施設) 共同の国内臨床性能試験が 2014 年 9 月から行われた^{12, 13)}。NMIBC の既往歴を有する患者における膀胱内再発の診断におけるウロビジョンの有用性を明らかにすることが目的であった。20 歳以上かつ過去 2 年以内に膀胱癌の既往歴を有する 486 症例が登録された。試験登録後 1 回目の外来で膀胱鏡、尿細胞診、ウロビジョンを行い、膀胱鏡、尿細胞診いずれも陰性と判定された症例は、3 か月後に 2 回目の検査を同様に行った。膀胱鏡、尿細胞診いずれかが陽性の場合には、TURBT を実施し病理学的診断を得て、膀胱癌の再発を判定した。1 回目および 2 回目の再発診断におけるウロビジョンの感度、特異度を尿細胞診と比較した。

評価可能であった 464 症例を対象とした 1 回目の解析では、膀胱癌陽性 44 例 (9.4%) であった。そのうち、ウロビジョン陽性は 22 例で感度は 50%、さらに膀胱癌陰性 420 例のうち、ウロビジョン陰性は 304 例で特異度は 72% であった。一方で、尿細胞診の感度は 4.5%、特異度は 99% であった。次に 2 回目の解析が評価できた 396 例のうち、膀胱癌陽性は 15 例 (3.8%) であった。そのうち、ウロビジョン陽性は 5 例で感度は 33%、さらに特異度は 84% であった。一方で、癌陽性のうち尿細胞診が陽性であった症例は 1 例もなかった。

以上、NMIBC 治療後の再発診断においてウロビジョンの感度 (50%) は尿細胞診の感度 (4.5%) より高かった。さらに、再発腫瘍の異型度、深達度、多発性、併発 CIS の有無にかかわらず、ウロビジョンは高感度に再発を検出した (表 2)。

3. 血尿、炎症が認められた患者の尿でも測定結果に影響なし

NMIBC の治療においては TURBT の術後の影響、抗がん剤や BCG 膀胱内注入療法に対する非特異的な炎症反応により、血尿および膿尿が長期間持続することが少なくない。尿細胞診や他の尿中バイオマーカー (NMP22、BTA など) はこの影響により偽陽性を示すことが知られており、実臨床では問題となる。ウロビジョンの国内臨床性能試験の結果をみると、赤血球尿や白血球尿を認める症例や BCG 膀胱内注入療法の既往のある症例においても同様の精度で検出が可能であった¹²⁾。また、米国の臨床性能試験でも、3 か月以内に BCG 膀胱内注入療法を受けた症例におけるウロビジョンと膀胱鏡検査および組織診の再発膀胱癌の検出能を比較したところ、ウロビジョンの陰性的中率は 94% であった¹⁴⁾。これらの結果から、ウロビジョンは治療背景を問わず測定が可能であるといえる。

4. 早期に膀胱癌再発を予測

国内臨床性能試験の結果、1 回目の検査でウロビ

表2 癌陽性被験者44例の組織学的所見ごとの感度比較

背景因子	症例数	感度		
		ウロビジョン	尿細胞診	
腫瘍異型度	低異型度	24	41.70%	0.00%
	高異型度	18	66.70%	11.10%
	判定困難	2	-	-
深達度	Tis	4	100.00%	0.00%
	Ta	26	38.50%	0.00%
	T1	5	80.00%	20.00%
	T2以上	6	66.70%	16.70%
	判定困難	3	-	-
腫瘍数	単発	15	46.70%	0.00%
	多発	19	42.10%	5.30%
	測定不能	10	-	-
腫瘍径	3cm以下	24	37.50%	4.20%
	3cmより大	0	-	-
	不詳	20	-	-
併発CIS	なし	33	42.40%	0.00%
	あり	8	87.50%	25.00%
	不明	3	-	-

膀胱癌関連染色体異常検出キット ウロビジョン DNA FISH プローブキット(リーフレット)
アボット ジャパン株式会社 モレキュラー事業部 2018より作成

表3 ウロビジョンの保険収載について

測定項目	膀胱がん関連遺伝子
測定法	FISH(Fluorescence in situ Hybridization)法
主な測定目的	尿中細胞の3番、7番及び17番染色体の異数倍数体、並びに9p21遺伝子座の欠失の検出(膀胱癌の再発の診断補助)
保険点数	1,597点
留意事項	<ol style="list-style-type: none"> 1 本検査は、膀胱がん上皮内癌(CIS)と診断され、K803膀胱悪性腫瘍手術[6]経尿道的手術を実施された患者に対して、FISH法を用いて再発の診断補助を目的として測定した場合に経尿道的手術後2年に2回に限り算定できる。 2 本検査は同時に膀胱鏡で膀胱がん再発の所見が認められないことを確認された患者に対して実施した場合に算定できる。 3 本検査を実施した場合には、膀胱がん上皮内癌(CIS)と診断された病理所見、K803膀胱悪性腫瘍手術[6]経尿道的手術の実施日及び過去に算定している場合にはその算定日について、それぞれ診療報酬明細書の摘要欄に記載すること。 4 本検査と同時にN004細胞診(1部位につき)[2]穿刺吸引細胞診、体腔洗浄等によるものを実施した場合は、主たるもののみ算定する。

ジョン陽性であったが膀胱鏡で再発陰性の症例、すなわち偽陽性症例を28%に認めた。本症例群の3か月後の再発率が10.6%であった一方で、ウロビジョン陰性群(真陰性症例)では1.4%であった¹²⁾。また、米国での長期試験の結果では、ウロビジョン陽性で膀胱鏡陰性かつ組織診陰性であった症例のその後の再発率が42%であったのに対して、ウロビジョン陰性で膀胱鏡陰性かつ組織診陰性であった患者の再発率は19%であった¹⁴⁾。すなわち、ウロビジョンは細胞の染色体異常を検出することで、再発を早期に予測をすることが可能であると報告されている¹⁵⁻¹⁸⁾。

5. BCG 膀胱内注入療法の治療効果を予測

米国からの報告で、BCG膀胱内注入療法前、後(1、3、6か月)のウロビジョンの結果と、治療成績

との関連を調査している¹⁹⁾。どの時点におけるウロビジョンでも、陽性判定はBCG膀胱内注入療法後の再発リスクおよびMIBCへの進展リスクが上昇することが示されている。現状、BCG膀胱内注入療法の治療効果を予測する正確なマーカーはない。もちろん本邦症例での検証が必要ではあるが、BCG治療前後のウロビジョンによるモニタリングは実臨床において強力なツールとなるかもしれない。

おわりに

ウロビジョンは、米国では体外診断用医薬品として米国食品医薬品局(FDA)に2001年すでに承認を受けている。NMIBCの再発診断(2001年8月承認)のみならず、血尿患者に対する初発診断(2005年1月承認)としても利用されている。一方、本邦にお

いては2019年1月1日膀胱癌の再発の診断補助検査として保険収載された(表3)。しかし、CISの診断既往、TURBT手術日から2年以内に2回まで、膀胱内に明らかな病変がない、など算定条件はかなり狭く限られている。実際、ウロビジョンの登場からすぐさまNMIBCの経過観察の現状が変わっていくとは考えにくい。国内性能試験でのウロビジョンの再発診断感度は50%であり、膀胱鏡に取って代わることはできない。しかしながら、高侵襲な膀胱鏡の適正頻度を見直す契機となるかもしれない。膀胱鏡で腫瘍の再発が認められなくても、ウロビジョンが陽性であればその後の再発率が高く、逆にウロビジョン陰性なら再発率は低い。このことから、ウロビジョンが次回の膀胱鏡までの間隔を考える上での補助手段にもなり得る。今後の臨床試験において、TURBT後、膀胱内注入療法前後のウロビジョンの結果を加味した疾患リスク分類の再構築や膀胱鏡の至適間隔の再設定が実現することが期待される。

文 献

- 1) 国立がん研究センターがん情報サービス「がん登録・統計」
- 2) Miyake M, Owari T, Hori S, et al. Emerging biomarkers for the diagnosis and monitoring of urothelial carcinoma. *Res Rep Urol*. 2018; **10**: 251-261.
- 3) 日本泌尿器科学会/日本病理学会/日本医学放射線学会. 腎盂・尿管・膀胱癌取扱い規約【第1版】東京: 金原出版; 2011.
- 4) 日本泌尿器科学会. 膀胱癌診療ガイドライン 2015年版 埼玉: 医学図書出版; 2015.
- 5) van Rhijn BW, van der Poel HG, van der Kwast TH. Urine markers for bladder cancer surveillance: a systematic review. *Eur Urol*. 2005; **47**(6): 736-748.
- 6) Dancy J E, Bedard P L, Onetto N. The genetic basis for cancer treatment decisions. *Cell*. 2012; **148**(3): 409-420.
- 7) 島田英昭. 血清p53抗体測定法の開発と臨床的意義. *モダンメディア* 2008; **54**(8): 233-237.
- 8) Miyake M, Sugano K, Sugino H, et al. Fibroblast growth factor receptor 3 mutation in voided urine is a useful diagnostic marker and significant indicator of tumor recurrence in non-muscle invasive bladder cancer. *Cancer Sci*. 2010; **101**(1): 250-258.
- 9) 羽瀨友則, 加藤哲郎, 高橋 毅 ほか. 尿路上皮発癌のInitiationとしての第9染色体の異常. *泌尿器科紀要* 2000; **46**(10): 749-755.
- 10) Sokolova IA, Halling KC, Jenkins RB, et al. The development of a multitarget, multicolor fluorescence in situ hybridization assay for the detection of urothelial carcinoma in urine. *J Mol Diagn*. 2000; **2**(3): 116-123.
- 11) 池本 健三, 松田 健二, 古屋 智子 ほか. 膀胱尿路上皮癌における分子細胞遺伝子学的診断法の検討Multi-color FISHとDNA ploidy. *日本臨床細胞学会雑誌* 2005; **44**(4): 195-200.
- 12) Kojima T, Nishiyama H, Ozono S, et al. Clinical evaluation of two consecutive UroVysion fluorescence in situ hybridization tests to detect intravesical recurrence of bladder cancer: a prospective blinded comparative study in Japan. *Int J Clin Oncol*. 2018; **23**(6): 1140-1147.
- 13) 小島崇宏 池田篤史 西山博之. ウロビジョンを用いたNMIBCの新たなフォローアップ戦略. *臨床泌尿器科* 2018; **72**(7): 501-506.
- 14) 医薬品医療機器総合機構「ウロビジョン DNA FISHプローブキット 添付文書」
http://www.info.pmda.go.jp/tgo/pack/22900EZX00021000_A_01_01/(引用2019/6/17)
- 15) Sarosdy MF, Schellhammer P, Bokinsky G, et al. Clinical evaluation of a multi-target fluorescent in situ hybridization assay for detection of bladder cancer. *J Urol*. 2002; **168**(5): 1950-1954.
- 16) Jones SJ. DNA-based molecular cytology for bladder cancer surveillance, *Urology*. 2006; **67**(Supple 3A): 35-45.
- 17) Yoder BJ, Skacel M, Hedgepeth R, et al. Reflex UroVysion testing of bladder cancer surveillance patients with equivocal or negative urine cytology: a prospective study with focus on the natural history of anticipatory positive findings. *Am J Clin Pathol*. 2007; **127**(2): 295-301.
- 18) Seideman C, Canter D, Kim P, et al. Multicenter evaluation of the role of UroVysion FISH assay in surveillance of patients with bladder cancer: does FISH positivity anticipate recurrence? *World J Urol*. 2015; **33**(9): 1309-1313.
- 19) Kamat AM, Dickstein RJ, Messetti F, et al. Use of fluorescence in situ hybridization to predict response to Bacillus Calmette-Guérin therapy for bladder cancer: results of a prospective trial. *J Urol*. 2012; **187**(3): 862-867.