

腎癌患者における尿中インターロイキン 1 β , インターロイキン 6, 腫瘍壊死因子- α の検討

東京女子医科大学泌尿器科学教室 (主任: 東間 紘教授)

石 冰冰, 中沢 速和, 龍治 修
合谷 信行, 伊藤 文夫, 古賀 祥嗣
奥田比佐志, 小林 博人, 東間 紘

STUDY ON URINARY LEVELS OF INTERLEUKIN-1 β , INTERLEUKIN-6 AND TUMOR NECROSIS FACTOR- α IN PATIENTS WITH RENAL CELL CARCINOMA

Bingbing SHI, Hayakazu NAKAZAWA, Osamu RYOJI,
Nobuyuki GOYA, Fumio ITO, Shoji KOGA,
Hisashi OKUDA, Hirohito KOBAYASHI and Hiroshi TOMA
From the Department of Urology, Tokyo Women's Medical College

We examined the preoperative and postoperative, urinary levels of the cytokines, interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in 14 patients with renal cell carcinoma (RCC), and 9 patients who underwent nephrectomy as donors (controls). Although urinary IL-1 β was measurable in every subject, both IL-6 and TNF- α were undetectable in 12 of the 14 patients. None of the urinary cytokines showed levels significantly different from the controls preoperatively. Urinary levels of IL-1 β showed no correlation with clinical stage or histological grade. Only urinary IL-1 β was significantly elevated after nephrectomy, when compared with the controls ($P < 0.05$). However, urinary IL-1 β showed no correlation with operative blood loss or postoperative infection. These findings suggest that measurement of urinary cytokines is not useful for diagnosis or monitoring of therapy in RCC patients.

(Acta Urol. Jpn. 44: 143-147, 1998)

Key words: Renal cell carcinoma, Cytokines, Urine

緒 言

インターロイキン 1 β (IL-1 β), インターロイキン 6 (IL-6), α 腫瘍壊死因子 (TNF- α) は免疫応答や炎症反応に関与する重要なサイトカインとして知られており, 膜性腎症¹⁾, 糸球体腎炎²⁾, 腎移植後急性拒絶反応³⁾など多くの腎疾患において検討されている。またこれらのサイトカインは腫瘍の分化, 発育, 転移に関与することが示唆されている⁴⁻⁷⁾。腎細胞癌においても IL-6 を中心に血中サイトカインについてよく検討されているが⁸⁻¹¹⁾, 尿中サイトカインに関する報告は少ない。今回われわれは腎細胞癌患者の腎摘除前後の尿中 IL-1 β , IL-6, TNF- α の濃度を測定し, 腫瘍マーカーになりうるかかを検討したので報告する。

対象および方法

1. 対象症例

1995年6月より1996年2月までの間に東京女子医科大学泌尿器科において根治的腎摘除術及び腎部分切除

術を行い, 組織学的に腎細胞癌と診断された14例を対象とした。術後の創感染や尿路感染症を合併した症例は除外した。

その内訳は男性9例, 女性5例, 年齢は38~76歳(平均54.8歳)であった。腎癌取り扱い規約による組織学的異型度は grade 1 が4例, grade 2 が8例, grade 3 が2例であり, 進行度は stage I~II の腎限局癌が8例, stage III~IV の進行癌が6例であった。年齢分布を一致させた腎移植ドナー9例を対照とし, 同一項目の測定を行った。対照群の年齢は34歳~68歳(平均51.8歳), 男性2例, 女性7例であった。

2. 尿中サイトカインの測定法

腎細胞癌患者および腎移植ドナーの腎摘除前日, および手術侵襲の影響を考慮し術後7日目の早朝新鮮尿を採取した。採取尿を遠心分離した上清を測定検体とし, 測定まで -20°C で凍結保存した。

尿中 IL-1 β , IL-6, TNF- α の測定は enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 法 (東レ フジバイオニクス株, 東京) を用いて行い, 尿中クレアチニン値

Table 1. Clinical characteristics of the RCC patients and urinary cytokines

Case	Age	Sex	Clinical Stage	Histological Grade	Tumor Size (cm)	TNF- α (ng/ml)		IL-1 β (ng/ml)		IL-6 (ng/ml)	
						Pre-	Post-	Pre-	Post-	Pre-	Post-
1	45	M	I	I	1.5×1.8	<2	<2	3.9	27.6	<10	<10
2	46	F	I	I	2.5×1.5	<2	<2	24.9	80.4	<10	41.2
3	54	M	II	II	8 ×7	6.6	<2	14.7	53.0	25.7	<10
4	64	M	II	I	6 ×5	<2	<2	60.2	113.5	<10	<10
5	56	M	II	III	6.5×4	<2	<2	32.9	48.2	<10	<10
6	38	M	II	II	2.7×2.5	<2	2.4	8.3	11.9	<10	<10
7	66	F	II	II	6 ×5	<2	14.1	126.1	172.5	<10	<10
8	50	M	II	II	6 ×4.5	<2	<2	32.0	69.0	<10	<10
9	43	F	III	II	9 ×7	12.3	21.0	11.5	32.3	<10	<10
10	54	M	III	II	8 ×8	<2	<2	32.4	144.7	<10	<10
11	76	M	III	I	6.5×5	<2	<2	85.8	71.5	<10	<10
12	70	F	III	II	13.7×7.7	<2	<2	87.4	137.8	<10	58.8
13	63	M	IV	II	9.5×5	<2	<2	30.5	105.5	15.5	<10
14	42	M	IV	III	12.5×7	<2	6.9	50.9	17.3	<10	<10

Urine samples from RCC patients with different clinical characteristics. The detection limit of TNF- α and IL-6 were 2 ng/ml and 10 ng/ml, respectively. The values were corrected by urinary creatinine levels.

による補正を行った。測定感度は IL-1 β が 2 ng/ml, IL-6 が 10 ng/ml, TNF- α が 2 ng/ml であった。

統計学的な解析は市販の統計ソフト StatView を用いて行った。2群間の比較は Student t-test および χ^2 -test にて検定を行い、危険率 (P) 0.05未満の場合、統計学的に有意と判定した。

結 果

1) 尿中 IL-1 β 濃度

尿中サイトカイン濃度の測定結果を Table 1 に示す。IL-1 β は腎摘除前後とも全例に測定可能であった。腎細胞癌患者の術前尿中 IL-1 β 濃度は 40.3 ± 35.5 ng/ml であり、対照群の 43.3 ± 17.5 ng/ml と比べ有意な差はなかった (Fig. 1)。また、進行度および組織学的異型度と腎摘除後の尿中 IL-1 β の濃度に有意な相関を認めなかった (Table 2, 3)。

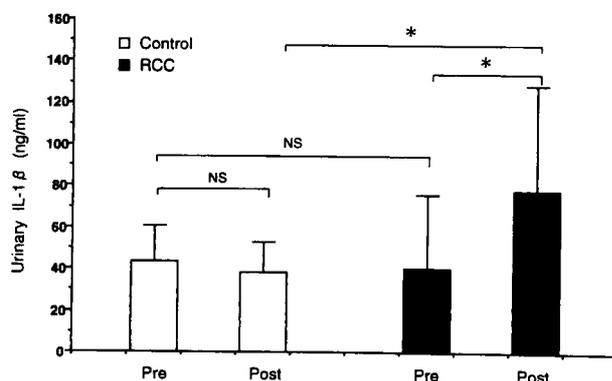


Fig. 1. Preoperative and postoperative urinary IL-1 β levels in controls and RCC patients. * P < 0.05. NS: No significant difference.

Table 2. Relationship between urinary IL-1 β levels and clinical stage

	Urinary levels of IL-1 β (ng/ml)	
	Stage I-II	Stage III-IV
Pre	37.9 ± 39.8	49.8 ± 31.2
Post	72.5 ± 51.3	84.9 ± 53.5

Preoperative and postoperative urine samples from RCC patients in Stages I-II (n=8) and Stages III-IV (n=6).

Table 3. Relationship between urinary IL-1 β levels and histological grade

	Urinary levels of IL-1 β (ng/ml)	
	Grade I	Grade II-III
Pre	43.7 ± 36.4	42.7 ± 37.2
Post	73.2 ± 35.4	79.2 ± 57.2

Preoperative and postoperative urine samples from RCC patients with histological grade I lesions (n=4) and grade II-III lesions (n=10).

尿中 IL-1 β 濃度は腎細胞癌患者において腎摘除後 77.5 ± 50.6 ng/ml と有意に上昇を示した。一方、対照群では 38.3 ± 14.4 ng/ml であり、術前と比較して変化を認めなかった。手術侵襲の影響を考え、血清 CRP 値および術中出血量との関係を調べたが、有意な相関を認めなかった (Fig. 2, Fig. 3)。

2) 尿中 IL-6 濃度

尿中 IL-6 の測定限界値は 10 ng/ml であり、今回の検討で測定可能であった症例は腎摘除前、腎細胞癌患者で 14 例中 2 例 (14.3%)、対照群で 9 例中 2 例 (22.2%) であった。術後は腎細胞癌患者で 2 例 (14.3%)、対照群で 5 例 (55.6%) が測定可能であった (Fig. 4)。術後、対照群で尿中 IL-6 濃度の上昇例が多く認められた。

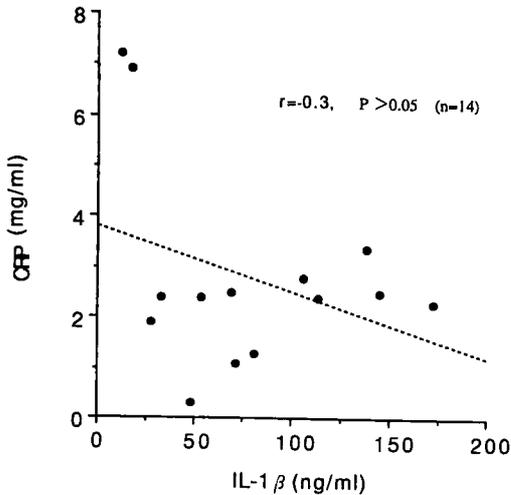


Fig. 2. Correlation between urinary IL-1 β and plasma CRP in patients with renal cell carcinoma after surgery. There was no correlation between the IL-1 β and CRP levels.

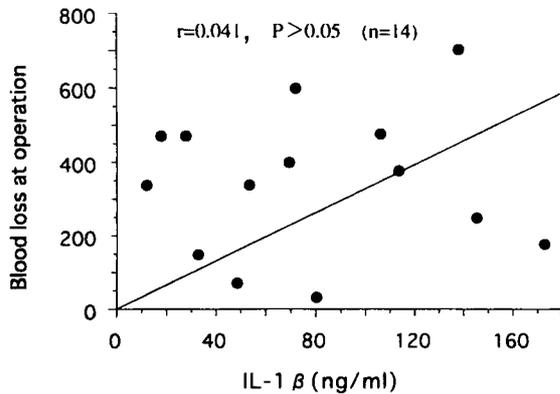


Fig. 3. Correlation between urinary IL-1 β and blood loss at operation in patients with renal cell carcinoma. There was no correlation between the IL-1 β level and blood loss.

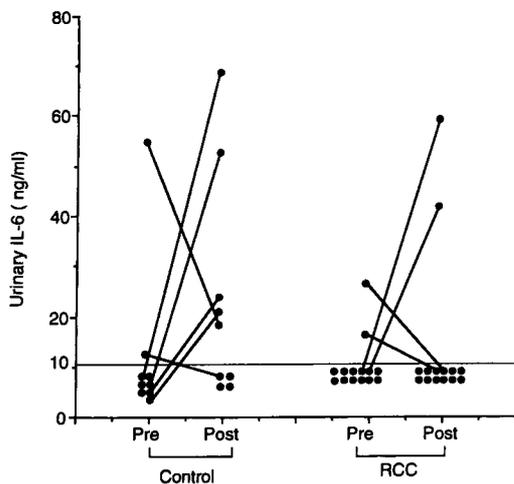


Fig. 4. Preoperative and postoperative urinary IL-6 levels in controls (n=9) and RCC patients (n=14). The detection limit of IL-6 was 10 ng/ml.

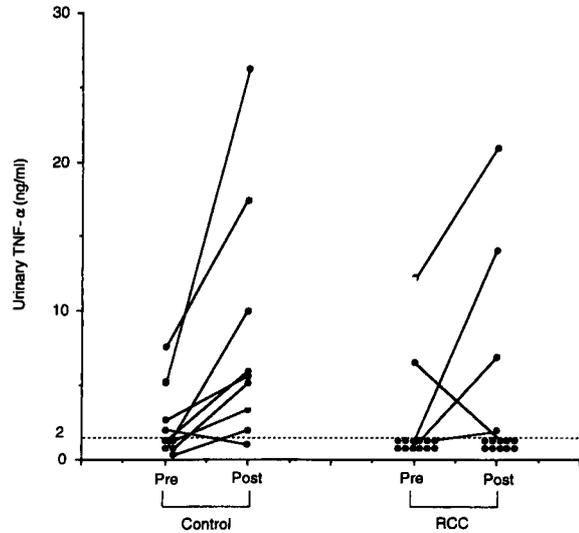


Fig. 5. Preoperative and postoperative urinary TNF- α levels in controls (n=9) and RCC patients (n=14). The detection limit of TNF- α was 2 ng/ml.

3) 尿中 TNF- α 濃度

尿中 TNF- α の測定限界値は 2 ng/ml であった。腎摘除術前, 腎細胞患者の 2 例 (14.3%), 対照群の 4 例 (44.4%) が測定可能であり, 術後は, 腎細胞癌患者の 4 例 (28.6%), 対照群の 8 例 (88.9%) で測定可能となった (Fig. 5)。

測定された数値の比較検討においては, 腎細胞癌の腎摘除前後で対照群と有意な差を認めなかった。

考 察

サイトカインは生体の免疫反応に深く関与し, 炎症や腫瘍などに対する生体防御機構に重要な役割を演じている。大部分の反応では多数のサイトカインが複雑なネットワークを形成し, 互いに作用を増強または抑制して, 反応系全体のバランスを保っている。なかでも IL-1 β , IL-6, TNF- α は炎症性サイトカインとしてよく知られており, 種々の腫瘍性病変にも深く関わっていることが明らかになっている。腎細胞癌患者における血清サイトカインについての報告は多くみられるが, 尿中サイトカインについての報告は少ない。われわれは今回, 腎細胞癌患者の腎摘除術前後の尿中サイトカイン濃度を測定し, 臨床的有用性について検討した。

IL-1 β は免疫反応や炎症反応の中心的役割を果たすサイトカインであり¹²⁻¹⁴⁾, 担癌宿主においては癌細胞に対する直接の細胞障害のほか, NK 細胞や単球マクロファージに作用して腫瘍細胞の増殖を抑制することが知られている¹⁵⁻¹⁷⁾。

今回のわれわれの結果では, 腎細胞癌患者の術前尿中 IL-1 β 濃度は対照群と比較し, 有意な上昇を認めなかった。また臨床病期や組織学的異型度で差はな

く、尿中 IL-1 β は腎細胞癌の腫瘍マーカーとしての有用性は低いと考えられた。いっぽう、腎細胞癌患者における腎癌摘除後の尿中 IL-1 β 濃度は術前に比べ有意に上昇を示したが、対照群では腎摘前後で変化を認めなかった。

腎細胞癌患者において尿中 IL-1 β 濃度が腎癌摘除後有意に上昇した意義について考察した。まず、手術侵襲による局所反応の違いが考えられる。根治的腎摘除術は経腹膜的にアプローチするが、ドナー腎摘は経腰的に行うため、術式の違いにより反応が異なった可能性がある。その点、今回ドナー腎摘を対照とした検討は適切でなかったと反省させられる。しかし、尿中 IL-1 β 濃度は手術時間、術中出血量や CRP 値と相関関係はなく、手術侵襲の違いだけが原因とは考えにくい。腎癌摘除後、高値となったことから、担癌状態において IL-1 β が抑制されていた可能性が示唆される。すなわち、担癌状態にあっては IL-1 β はある種の抑制物質や他のサイトカインによる産生抑制状態にあり、腎癌摘除後、IL-1 β 産生が亢進したとも考えられる。サイトカイン活性の調節は複雑な機構によって多くの異なるレベルで行われている。今後、担癌状態における IL-1 β 産生に関して検討する必要があると考えられた。

次に腎細胞癌患者の尿中 IL-6, TNF- α 濃度の検討を行った。その結果、腎細胞癌患者の術前尿中 IL-6 および TNF- α 濃度はともに14例中わずか2例(14.2%)のみ測定可能であった。測定可能例を仮に陽性と考えた場合、腎癌患者における陽性率はともに14.2%と対照群に比べても低値であり、臨床的に腫瘍マーカーとして有用でないと考えられた。いっぽう、術後の尿中 IL-6 および TNF- α 陽性率はそれぞれ14.2%, 28.5%であり、対照群の55.6%, 88.9%に比べ非常に低率であった。統計学的に有意な差を認めていないが、尿中 IL-6 および TNF- α が術前後とも対照群より低いことは、腎癌患者の免疫応答を考えるうえで興味深い。

尿路系悪性腫瘍と尿中 IL-6 濃度については、Seguchi らが膀胱癌で検討している¹⁸⁾ 膀胱癌患者の尿中 IL-6 濃度は組織学的悪性度の高い症例で有意に高く、摘除後6日で低下すると報告している。尿路系腫瘍において尿中サイトカインの測定が悪性度や病勢の評価につながる事が期待される^{19,20)}。しかし、腎細胞癌においてはわれわれの結果をみる限り、尿中 IL-1 β , IL-6, TNF- α いずれの測定も臨床的意義が少なくと考えられた。

さて、今回の検討では尿中サイトカイン測定におけるいくつかの問題点が明らかになった。第一に血中から尿中への移行などを含め、サイトカインの腎尿路での動態が明らかでないことがあげられる。第二にサイ

トカイン測定法である。今回、IL-1 β 濃度は全検体測定可能であったが、IL-6, TNF- α 濃度は多くの検体で測定感度以下であり、測定不能であった。対照群に比べ測定感度以下の例が多かった事実は、今後、測定機器および測定法の開発により腎細胞癌患者における尿中サイトカインの動態を解明することが腎癌患者の免疫応答能を判定する手がかりとなるかもしれないと期待される。さらに多くの症例を蓄積し、今後、血中サイトカインの尿中への移行など尿中サイトカインの動態について検討を行う予定である。

結 語

腎細胞癌患者の尿中 IL-1 β , IL-6, TNF- α を検討し、以下の結果を得た。

1) 腎細胞癌患者の腎癌摘除前尿中 IL-1 β 濃度は進行度や組織異型度による差はなく、また対照群に比べ有意な差を認めなかった。腎細胞癌患者の術後尿中 IL-1 β 濃度は有意に上昇したが、一定の傾向は認めなかった。

2) 腎細胞癌患者の尿中 IL-6 と TNF- α は術前後とも測定可能例が少なく、対照群に比べ有意な差を認めなかった。

以上より、症例数が十分でないが尿中 IL-1 β , IL-6, TNF- α の測定は腎細胞癌の診断に臨床的有用性は低いと考えられた。

なお本論文の要旨は第84回日本泌尿器科学会総会(岡山, 1996年)において発表した。

本稿を終えるにあたり、本研究に御協力頂いた東京女子医科大学腎センター臨床検査室の林哲朗氏ならびに研究室のスタッフの皆様に深謝いたします。

文 献

- 1) Neale TJ, Rüger BM, Macaulay H, et al.: Tumor necrosis factor- α is expressed by glomerular visceral epithelial cells in human membranous nephropathy. *Am J Pathol* **146**: 1444-1454, 1995
- 2) Horii Y, Muraguchi A, Iwano M, et al.: Involvement of IL-6 in mesangial proliferative glomerulonephritis. *J Immunol* **143**: 3949-3955, 1989
- 3) Blanco G, Moreau JF, Chabannes D, et al.: HILDA/LIF, G-CSF, IL-1 β , IL-6, and TNF α production during acute rejection of human kidney allografts. *Transplantation* **56**: 597-602, 1993
- 4) Morinaga Y, Suzuki H, Takatsuki F, et al.: Contribution of IL-6 to the antiproliferative effect of IL-1 and tumor necrosis factor on tumor cell lines. *J Immunol* **143**: 3538-3542 1989
- 5) Koo AS, Armstrong C, Bochner B, et al.:

- Interleukin-6 and renal cell cancer: production, regulation and growth effects. *Cancer Immunol Immunother* **35**: 97-105, 1992
- 6) Bani MR, Garofalo A, Scanziani E, et al.: Effect of interleukin-1-beta on metastasis formation in different tumor systems. *J Natl Cancer Inst* **83**: 119-123, 1991
 - 7) Malik STA, Naylor MS, East N, et al.: Cells secreting tumour necrosis factor show enhanced metastasis in nude mice. *Eur J Cancer* **26**: 1031-1034, 1990
 - 8) Miki S, Iwano M, Miki Y, et al.: Interleukin-6 (IL-6) functions as an in vitro autocrine growth factor in renal cell carcinomas. *FEBS Lett* **250**: 607-610, 1989
 - 9) Tsukamoto T, Kumamoto Y, Miyao N, et al.: Interleukin-6 in renal cell carcinoma. *J Urol* **148**: 1778-1782, 1992
 - 10) Dosquet C, Schaetz A, Faucher C, et al.: Tumour necrosis factor- α , interleukin-1 β and interleukin-6 in patients with renal cell carcinoma. *Eur J Cancer* **30**(A)2: 162-167, 1994
 - 11) 浜尾 巧, 金山博臣, 管 政治, ほか: 腎細胞癌におけるインターロイキン 1 β (IL- β), インターロイキン 6 (IL-6), 腫瘍壊死因子- α (TNF- α) の血清値及び遺伝子発現. *日泌尿会誌* **85**: 563-570, 1994
 - 12) Howard M, Mizel SB, Lachman L, et al.: Role of interleukin 1 in anti-immunoglobulin-induced B cell proliferation. *J Exp Med* **157**: 1529-1543, 1983
 - 13) Postlethwaite AE, Lachman LB, Mainardi CL, et al.: Interleukin 1 stimulation of collagenase production by cultured fibroblasts. *J Exp Med* **157**: 801-806, 1983
 - 14) Martins SM, Darlin DJ, Lad PM, et al.: Interleukin-1 B: a clinically relevant urinary marker. *J Urol* **151**: 1198-1201, 1994
 - 15) Farrar WL, Mizel SB and Farrar JJ: Participation of lymphocyte activating factor (interleukin 1) in the induction of cytotoxic T cell responses. *J Immunol* **124**: 1371-1377, 1980
 - 16) Aribia M-H B, Leroy E, Lantz O, et al.: rIL 2-induced proliferation of human circulating NK cells and T lymphocytes: synergistic effects of IL 1 and IL 2. *J Immunol* **139**: 443-451, 1987
 - 17) Onozaki K, Urawa H, Tamatani T, et al.: Synergistic interactions of interleukin 1, interferon β , and tumor necrosis factor in terminally differentiating a mouse myeloid leukemic cell line (M1). *J Immunol* **140**: 112-119, 1988
 - 18) Seguchi T, Yokokawa K, Sugao H, et al.: Interleukin-6 activity in urine and serum in patients with bladder carcinoma. *J Urol* **148**: 791-794, 1992
 - 19) Van Oers MHJ, Van der Heyden AAPAM and Aarden LA: Interleukin 6 (IL-6) in serum and urine of renal transplant recipients. *Clin Exp Immunol* **71**: 314-319, 1988
 - 20) 花沢喜三郎: 膀胱癌患者における尿中インターロイキン-1 濃度. *順天堂医* **39**: 185-190, 1993

(Received on June 30, 1997)
(Accepted on February 4, 1998)