

腎癌, 膀胱癌における尿中 epidermal growth factor (EGF) 排泄の臨床的検討 (preliminary study)

岩手医科大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 久保 隆教授)

石倉 功一, 長谷川道彦, 野村 一雄
岡本 知士, 丹治 進, 阿部 俊和
藤岡 知昭, 大堀 勉, 久保 隆

EPIDERMAL GROWTH FACTOR IN THE URINE OF PATIENTS WITH RENAL CELL CARCINOMA AND BLADDER TUMOR

Koichi Ishikura, Michihiko Hasegawa, Kunio Nomura,
Tomoshi Okamoto, Susumu Tanji, Toshikazu Abe,
Tomoaki Fujioka, Tsutomu Ohhori and Takashi Kubo

From the Department of Urology, School of Medicine, Iwate Medical University

We evaluated the concentrations of immunoreactive epidermal growth factor (EGF) in urine samples from 14 patients with renal cell carcinoma, 16 patients with bladder tumor and 43 non-malignant controls by using radioimmunoassay. In the non-malignant controls, urinary EGF excretion significantly decreased with age ($r = -0.46$, $p < 0.01$), and females excreted significantly more EGF than males [16.3 ± 7.6 and 9.9 ± 6.0 (mean \pm SD) ng/mg \cdot creatinine; $p < 0.05$]. There was no significant difference between urinary EGF excretion in the patients with renal cell carcinoma and non-malignant controls matched for sex and age (15.9 ± 12.0 and 14.5 ± 7.9 ng/mg \cdot creatinine). The difference in excretion of EGF between the patients with bladder tumor and non-malignant controls also was not significant (9.9 ± 5.6 and 11.7 ± 7.0 ng/mg \cdot creatinine). These findings indicate, that urine EGF has little usefulness as a tumor marker for renal cell carcinoma and bladder tumor.

(Acta Urol. Jpn. 37: 1229-1234, 1991)

Key words: EGF, Renal cell carcinoma, Bladder tumor

緒 言

上皮成長因子 (epidermal growth factor; EGF) は, 1962年, Cohen¹⁾ によって雄マウス顎下腺から発見された, 53のアミノ酸残基からなる分子量約6,000のペプチドである。これは, 上皮系細胞だけでなく, 非上皮系細胞をも含めた種々の細胞の増殖, 分化を強く促す作用を有し, ヒト尿より分離された胃酸分泌抑制物質 β -urogastrone と同一の物質と考えられている²⁾。

近年, EGF が大腸癌, 胃癌, 肺癌, 卵巣癌, 乳癌, 膀胱癌などの腫瘍細胞に増殖作用を示すこと³⁻⁵⁾, および, EGF レセプターのアミノ酸配列が, トリ赤芽球症ウイルスのオンコジン v-erbB の遺伝子産物ときわめて類似すること⁶⁾などが報告されていることより,

EGF と, 細胞の癌化あるいは分化増殖との関連が注目されている⁷⁾。また EGF は大量に尿中に排泄されるが⁸⁾, 喉頭癌, 肺癌, 子宮癌, 乳癌, 胃癌などの悪性腫瘍患者において, 尿中 EGF が高値を示す症例のあることが報告されており^{9,10)}, EGF の腫瘍マーカーとしての可能性が示唆されている。

今回, 腎癌および膀胱癌患者の尿中 EGF 排泄量を測定し, 対照群との比較検討をおこなったので, 若干の文献的考察を加えて報告する。

Table 1. Characteristics of patients with renal cell carcinoma

No. of Pts.	Sex		Age		Distant Metastasis		
	M	F	Range	Mean	M0	M1	MX
14	10	4	44~78	62.5	6	7	1

Table 2. Characteristics of patients with bladder tumor

No. of Pts.	Sex		Age		Grade				Stage				
	M	F	Range	Mean	G1	G2	G3	GX	Tis	T1	T2	T3	T4
16	13	3	46~84	72.9	3	7	4	2	3	9	1	2	1

対象および方法

1) 対象 (Table 1, 2)

1988年5月から1989年5月までに当科で診断, 治療された, 腎癌14例および膀胱癌16例の合計30症例を対象とした. 年齢分布は, 腎癌患者では44~78歳, 平均62.5歳であり, 膀胱癌患者では46~84歳で平均72.9歳であった. また, 同時期に外来通院中の泌尿器良性疾患患者43例 (前立腺肥大症25例, 膀胱炎6例, 腎結石5例, 腎嚢胞2例, 神経因性膀胱2例, 慢性前立腺炎, 遊走腎, 尿失禁各1例) を対照群とした. ただし, 尿路感染極期の症例は除外した. 対照群の年齢分布は, 53~83歳で, 平均68.3歳であった.

2) 尿中 EGF の測定方法

検体は, 治療開始前に随時尿として採取し, Ohashi ら¹⁾が報告した方法に準じて, RIA 法にて尿中 EGF 値を測定した. 標準ヒト EGF (hEGF) および, hEGF 抗体と ¹²⁵I 標識 hEGF の作製には, 遺伝子組み換え法にて量産した高純度 hEGF (アース

製薬) を用いた. RIA 法の詳細は以下のとおりである (Fig. 1).

① RIA 用緩衝液 (140 mM NaCl, 0.5%ウシ血清アルブミン, 0.02% NaN₃, および 25 mM EDTA を含む 50 mM リン酸ナトリウム緩衝液) 0.4 ml と, 標準 hEGF または尿検体 0.1 ml, クロラミンT法にて作製した ¹²⁵I 標識 hEGF 0.1 ml と, hEGF 抗体 0.1 ml を, 混合し 4°C で 2 日間反応させた.

②その後, さらに, 正常家兎血清 0.1 ml と抗家兎 IgG 山羊血清 0.1 ml, および 15% polyethylene glycol 0.2 ml を加え, 室温にて 1 時間反応させた.

③ 3,000 rpm にて 30 分間遠心した後, 沈渣の放射活性をガンマカウンターにて測定し, 標準曲線より検体の尿中 EGF 値を計算して求めた.

なお, 尿中 EGF 排泄には日内変動がみられないこと, クレアチニン (CRNN) 濃度とよく相関すること⁸⁾から, EGF 排泄量は CRNN 濃度で補正して求めた.

3) 統計学的検討

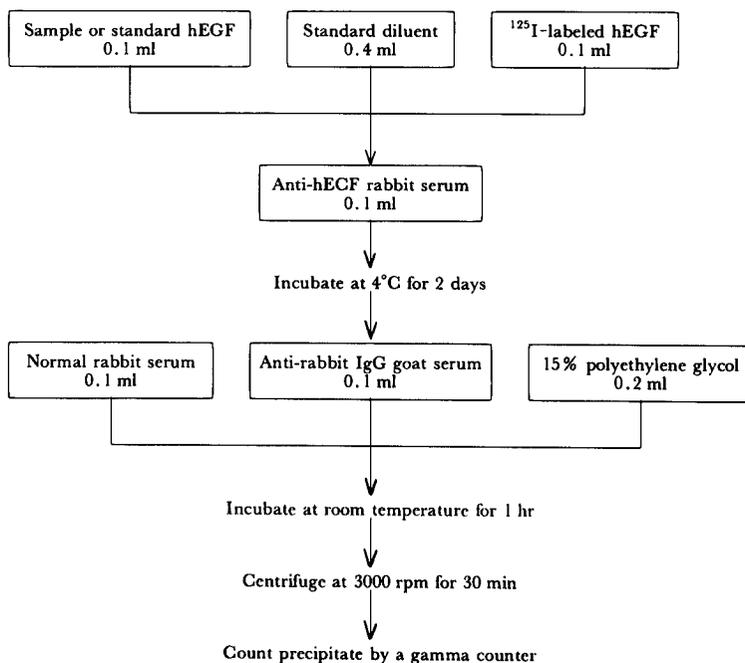


Fig. 1. Radioimmunoassay procedure

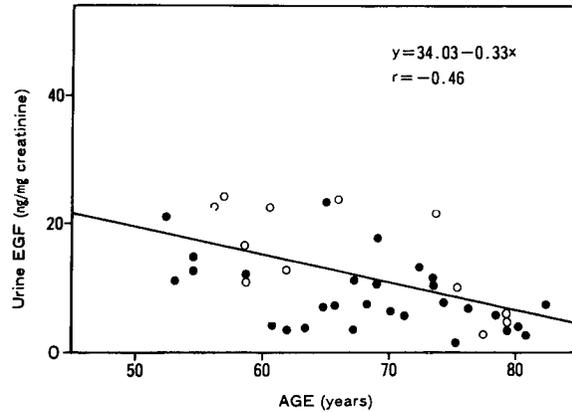


Fig. 2. Relationship between age and urine EGF concentrations in 43 non-malignant controls
●: males, ○: females

対照群の尿中 EGF 排泄量と年齢との相関関係は, Spearman 順位関係係数を用いて解析した. また, 腎癌および膀胱癌患者と, 対照群との有意差検定には, Wilcoxon 順位和検定を用いた.

結 果

1) 対照群の尿中 EGF 排泄量

対照群43人の尿中 EGF 排泄量 (平均値±標準偏差) は, $11.7 \pm 7.0 \text{ ng/mg} \cdot \text{CRNN}$ であった. EGF

排泄量と年齢との関係は, Fig. 2 に示すごとく, 年齢が高くなるとともに EGF 排泄量は低下する傾向にあり, 両者間に有意な負の相関が認められた ($p < 0.01$).

つぎに性別による尿中 EGF 排泄量の比較を行った (Fig. 3). 平均年齢は男性対照群が68.7歳, 女性対照群が67.0歳と, 大差がなかったが, 尿中 EGF 排

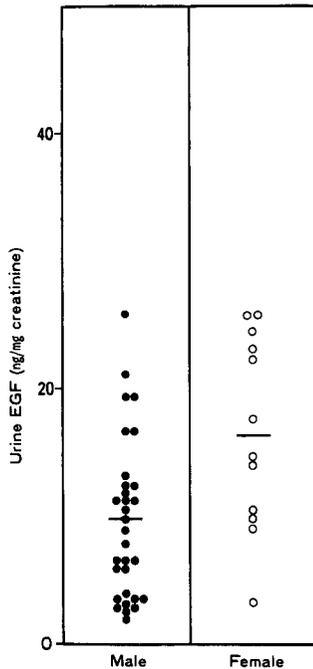


Fig. 3. Urine EGF concentrations in males and females

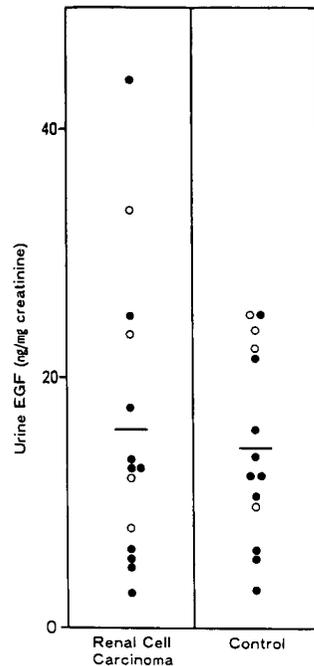


Fig. 4. Urine EGF concentrations in patients with renal cell carcinoma and non-malignant controls matched for sex and age

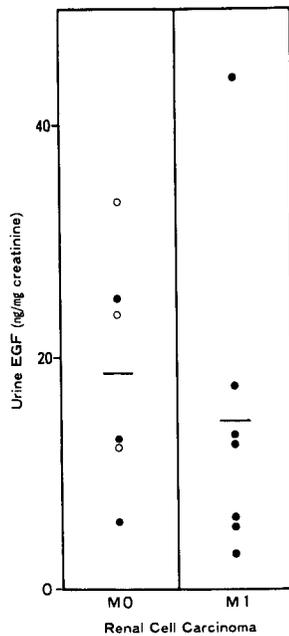


Fig. 5. Urine EGF concentrations relative to M categories

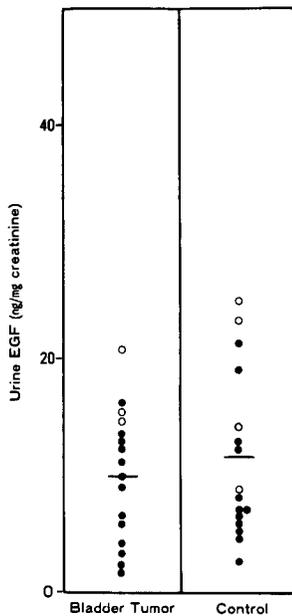


Fig. 6. Urine EGF concentrations in patients with bladder tumor and non-malignant controls matched for sex and age

泄量は男性対照群で、 9.9 ± 6.0 ng/mg · CRNN であるのに対し、女性対照群では、 16.3 ± 7.6 ng/mg · CRNN であり、男性に比較して女性のほうが有意な

高値を示した ($p < 0.05$)。

2) 腎癌患者における尿中 EGF 排泄量

腎癌患者 14 例の尿中 EGF 排泄量は、 15.9 ± 12.0 ng/mg · CRNN であった。対照群の検討において、尿中 EGF 排泄量には、年齢および性別が影響することより、対照群 43 人の中から、腎癌患者それぞれに年齢および性を合致させた症例を選出し、腎癌に対する対照群とした。対照群の尿中 EGF 排泄量は、 14.5 ± 7.9 ng/mg · CRNN であり、腎癌患者との間に、統計学的な有意差は認められなかった (Fig. 4)。

つぎに、腎癌患者を遠隔転移の有無によって 2 群に分け、その尿中 EGF 排泄量を比較検討した (Fig. 5)。遠隔転移のない群 M0 では、 18.7 ± 10.5 ng/mg · CRNN、遠隔転移のある群 M1 では、 14.7 ± 14.2 ng/mg · CRNN であり、両者の間に有意差を認めなかった。

3) 膀胱癌患者における尿中 EGF 排泄量

膀胱癌患者 16 例の尿中 EGF 排泄量は、 9.9 ± 5.6 ng/mg · CRNN であった。一方、腎癌患者の場合と同様に、膀胱癌患者それぞれに対して年齢、性別を合致させた対照群の尿中 EGF 排泄量は、 11.7 ± 7.0 ng/mg · CRNN であり膀胱癌患者との間に有意差は認めなかった (Fig. 6)。

また、膀胱癌患者を組織学的悪性度により 3 群に分け、その尿中 EGF 排泄量を比較検討した結果、G1、

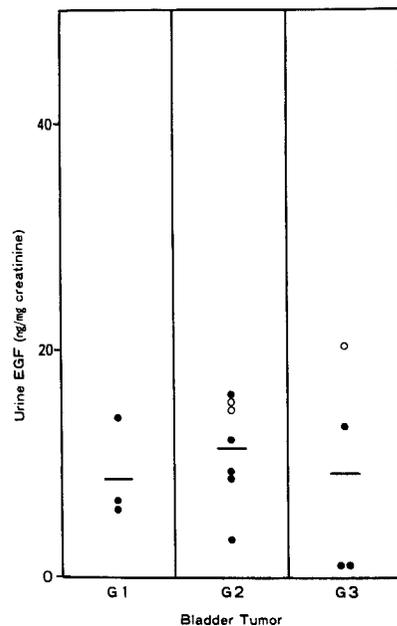


Fig. 7. Urine EGF concentrations relative to histopathological grading

G2, G3 の3群間に, 一定の傾向は認めなかった (Fig. 7).

考 察

成長因子と, 癌化あるいは癌性増殖との関連は, 通常, Sporn と Todaro¹²⁾ により提唱された autocrine 説により説明されている. すなわち, 悪性細胞自らが成長因子を産生し, この成長因子が自らの細胞がもつレセプターに増殖刺激として作用する機構である. また, EGF レセプターに結合して増殖刺激を起こす TGFs (transforming growth factors) を産生する腫瘍があること^{13,14)}, さらに, 腎癌, 膀胱癌, 前立腺癌などで, 組織中の EGF 陽性率が高いという報告があり^{15,16)}, これらのことは, autocrine 機構が働いている可能性を示唆すると考えられる. EGF の尿中濃度は正常人でも非常に高く, EGF は移行上皮癌細胞を増殖させることより, 尿路系の腫瘍発生の重要な刺激因子ではないかと考えられている¹⁷⁾. さらに, 各種の悪性腫瘍患者において, 尿中 EGF 排泄が増加している症例があることが報告されている^{9,10)}. 以上のことより, 腎癌および膀胱癌患者においても, 尿中 EGF 排泄が増加している可能性のあることが考えられたため, 非担癌対照群との比較検討を行うことにした.

EGF は, ヒト体液中に幅広く分布し, 正常人において, 一日 50~100 μg と大量に尿中に排泄される²⁾. また尿中 EGF 排泄は日内変動が認められないこと, CRNN 濃度とよく相関することより⁸⁾, EGF 排泄量は CRNN 濃度で補正して求めた. われわれの対照群における検討では, Uchihashi ら¹⁸⁾ が報告しているように, 尿中 EGF 排泄量は年齢と負の相関を示し, 女性が男性に比べて若干高値をとる傾向を示した. このことから, 腎癌および膀胱癌患者との比較検討には, 年齢および性を合致させた対照群を用いた.

腎癌, 膀胱癌ともに, 対照群との有意差はなかったが, 腎癌のほうが, 若干高い傾向にあった. しかしこれは膀胱癌のほうが平均年齢が高かったためと思われる. Lau ら¹⁵⁾は, 膀胱癌における組織中の EGF は, grade が高くなるにしたがって, 強く染色される傾向にあったと報告しているが, 尿中 EGF 排泄量には, grade による差は認められなかった. また, 杉山ら¹⁹⁾は, EGF と EGF レセプターが同時に検出された胃癌では, 腹膜播種や, リンパ節転移が多い傾向があったとしているが, 腎癌患者における尿中 EGF 排泄量には遠隔転移の有無による有意差はなかった.

以上のことより, 尿中 EGF が腎癌, 膀胱癌の腫

瘍マーカーとして利用できる可能性は少ないと考えられた. 尿中 EGF 排泄量において, 今回のように, 担癌患者と, 非担癌患者との間に著明な差異を認めないという結果にいたった原因として, 次の3つの事が考えられた.

1) EGF は腫瘍局所のみで働いている可能性が強く, そのわずかな量的差異を尿中で検出するのは困難であるのかもしれないということ.

2) 腎癌, 膀胱癌, その他の腫瘍において, 組織中の EGF レセプター陽性率が高いという報告^{17,20-22)}があるが, このことからわかるように, EGF レセプターは, 癌性増殖に関与しているとしても, EGF は, それ単独では, あまり関与していない可能性すなわち, TGF あるいは, その類似物質のように, EGF 以外で, EGF レセプターと結合する物質を癌細胞が産生し, autocrine 機構を営んでいるのではないかということ.

3) Messing¹⁷⁾ らは, 正常上皮と, 癌細胞では, EGF レセプターの分布が異なるために, 癌細胞のほうが EGF の影響を強く受けて増殖すると報告しているが, 癌性増殖においては, EGF の濃度よりも EGF レセプターの量のほうがより重要であるという可能性が示唆されること, などである. これらの点に関しては, 今後検討していく予定である.

文 献

- 1) Cohen S: Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem* **237**: 1555-1562, 1962
- 2) Carpenter G and Cohen S: Epidermal growth factor. *Ann Rev Biochem* **48**: 193-216, 1979
- 3) Hamburger AW, White CP and Brown RW: Effect of epidermal growth factor on proliferation of human tumor cells in soft agar. *J Natl Cancer Inst* **67**: 825-830, 1981
- 4) Messing EM and Reznikoff CA: Normal and malignant human urothelium: In vitro effect of epidermal growth factor. *Cancer Res* **47**: 2230-2235, 1987
- 5) Thorne HJ, Jose DJ, Zhang HY, et al.: Epidermal growth factor stimulates the synthesis of cell attachment proteins in the human breast cancer cell line PMC42. *Int J Cancer* **40**: 207-212, 1987
- 6) Downward J, Yarden Y, Mayes E, et al.: Close similarity of epidermal growth factor and v-erb-B oncogene protein sequences. *Nature* **307**: 521-527, 1984
- 7) Stoscheck CM and King LE Jr: Role of

- epidermal growth factor in carcinogenesis. *Cancer Res* **46**: 1030-1037, 1986
- 8) Dailay GE, Kraus JW and Orth DN: Homologous radioimmunoassay for human epidermal growth factor (Urogastrone). *J Clin Endocrinol Metab* **46**: 929-936, 1978
 - 9) 内橋正仁, 平田結喜緒, 藤田拓男: 尿中上皮成長因子の測定法と臨床的意義. *日本臨床* **44**: 223-228, 1986
 - 10) Kurobe M, Aono M, Moriga M, et al.: Assessment by a twosite enzyme immunoassay of human epidermal growth factor (urogas tron) in the urine of patient with various gastrointestinal diseases including malignant tumors. *Biochem Inter* **11**: 817-823, 1985
 - 11) Ohashi Y, Motokura M, Kinoshita Y, et al.: Presence of epidermal growth factor in human tears. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **30**: 1879-1882, 1989
 - 12) Sporn MB and Tadaro GJ: Autocrine secretion and malignant transformation of cells. *New Engl J Med* **303**: 878-880, 1980
 - 13) Sherwin SA, Twardzik DR, Bohn WH, et al.: High-molecular-weight transforming growth factor activity in the urine of patients with disseminated cancer. *Cancer Res* **43**: 403-407, 1983
 - 14) Twardzik DR, Sherwin SA, Ranchalis J, et al.: Transforming growth factors in the urine of normal, pregnant, and tumor-bearing humans. *J Natl Cancer Inst* **69**: 793-798, 1982
 - 15) Lau JLT, Fowler JE Jr and Ghosh L: Epidermal growth factor in the normal and neoplastic kidney and bladder. *J Urol* **139**: 170-175, 1988
 - 16) Fowler JE Jr, Lau JLT, Ghosh L, et al.: Epidermal growth factor and prostatic carcinoma: an immunohistochemical study. *J Urol* **139**: 857-861, 1988
 - 17) Messing EM, Hanson P, Ulrich P, et al.: Epidermal growth factor-interactions with normal and malignant urothelium: In vivo and in situ studies. *J Urol* **138**: 1329-1335, 1987
 - 18) Uchihashi M, Hirata Y, Fujita T, et al.: Age-related decrease of urinary excretion of human epidermal growth factor (hEGF). *Life Sci* **31**: 679-683, 1982
 - 19) 杉山和夫, 米村 豊, 伏田幸夫, ほか: 胃癌における EGF レセプターに関する免疫組織学的検討. *医学のあゆみ* **143**: 177-178, 1987
 - 20) Sovova V, Vydra J, Cerna H, et al.: Analysis of epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor expression in human renal cell carcinoma cell. *Folia Biol* **34**: 233-239, 1988
 - 21) Neal DE, Marsh C, Bennett MK, et al.: Epidermal-growth-factor receptors in human bladder cancer: Comparison of invasive and superficial tumors. *Lancet* **1**: 366-368, 1985
 - 22) Sainsbury JRC, Farndon JR, Sherbet GV, et al.: Epidermal-growth-factor receptors and oestrogen receptors in human breast cancer. *Lancet* **1**: 364-366, 1985

(Received on November 8, 1990)
(Accepted on January 26, 1991)