

泌尿生殖器疾患患者および健康人における 血清 S 100ao 蛋白の検討

自治医科大学泌尿器科学教室（主任：徳江章彦教授）

菊地 敬夫，森田 辰男，橋本 紳一，原 暢助

森口 英男，石川 真也，小林 裕，石山 俊次

後藤健太郎，戸塚 一彦，徳江 章彦

愛知県コロニー発達障害研究所生化学部

加 藤 兼 房

天野製薬株式会社研究開発部

木 村 茂 樹

CLINICAL EVALUATION OF SERUM S100ao PROTEIN IN PATIENTS WITH UROGENITAL DISEASES AND HEALTHY VOLUNTEERS

Takao Kikuchi, Tatsuo Morita, Shinichi Hashimoto,

Yosuke Hara, Hideo Moriguchi, Shinya Ishikawa,

Yutaka Kobayashi, Shunji Ishiyama, Kentaro Goto,

Kazuhiko Tozuka and Akihiko Tokue

From the Department of Urology, Jichi Medical School

Kanefusa Kato

From the Department of Biochemistry, Institute for Developmental Research, Aichi Prefectural Colony

Shigeki Kimura

From the Department of Research and Development, Amano Pharmaceutical Company

We investigated the clinical significance of the serum S100ao protein in patients with urogenital diseases. The serum levels of S100ao protein were measured in 179 patients with urogenital diseases and 180 healthy volunteers.

The mean value of S100ao protein in serum from healthy volunteers was 203 ± 107 pg/ml (Mean $\pm$ SD). Therefore, the cut-off level was set to 524 pg/ml (Mean $\pm$ 3SD). The levels of S100ao protein in serum were significantly higher in men than in woman ($P < 0.05$). The levels of S100ao protein in serum were significantly high in the patients in their fifties and sixties compared with the other patients ($P < 0.01$). When serum levels exceeding the cut-off level were considered to be positive, the percentages of positivity in each disease were as follows; renal cell carcinoma; 38.7%, bladder tumor; 9.1%, prostatic carcinoma; 12.5%, testicular tumor; 0%, benign prostatic hypertrophy; 7.4%, urolithiasis; 7.1% and chronic renal failure; 100%. The levels of S100ao protein in serum were significantly correlated with those of BUN, serum creatinine and endogenous creatinine clearance, respectively. S100ao protein in serum was increased immediately after operation and returned to the normal range within one to two weeks after operation.

As described above, the level of S100ao protein in serum was affected by renal function, operative procedures and age. However, the positive rate of S100ao protein was so high in patients with renal cell carcinoma that serum S100ao protein might be a valuable tumor marker in those patients.

(Acta Urol. Jpn. 36: 1117-1123, 1990)

Key words: S100ao protein, Urogenital diseases, Tumor marker

緒 言

S100 蛋白は、1965年 B.W. Moore によりウシ脳から発見された分子量21,000のカルシウム結合蛋白である^{1,2)}。その構造は α 鎖と β 鎖の2種類のサブユニットからなる二量体で、少なくとも S100ao ($\alpha\alpha$), S100a ($\alpha\beta$), S100b ($\beta\beta$) の3種類が存在することが報告されている³⁾。

S100 蛋白は、脊椎動物の神経組織や脂肪組織に高濃度に存在するが、その他にも、生体内に広範囲に分布する。一方、S100ao 蛋白は、横紋筋、心筋、神経組織、腎臓などに比較的限局して分布している^{2,4)}。特に腎臓では、近位尿細管やボウマン嚢などの上皮細胞に分布することが明らかにされている⁵⁾。

今回、われわれは、腎疾患患者を中心とする泌尿生殖器疾患患者の血清 S100ao 蛋白を測定し、泌尿器科領域における血清 S100ao 蛋白の臨床的意義を検討した。

対象患者と方法

泌尿生殖器疾患患者179例および健康人180例を対象として、血清 S100ao 蛋白を測定した。健康人としては、健康診断で異常を認めなかった自治医科大学職員より同意を得て採血した。泌尿生殖器疾患患者は、1959年8月28日より1989年7月30日までに自治医科大学附属病院またはその関連施設を受診した患者である。その内訳は、腎細胞癌患者31例、62±10歳 (Mean±SD)、膀胱腫瘍患者33例、65±8歳、前立腺癌患者24例、68±8歳、睪丸腫瘍患者19例、31±9歳、前立腺肥大症患者27例、69±6歳、尿路結石症患者32例、47±15歳、慢性腎不全患者13例、61±11歳であった。慢性腎不全患者の原因疾患は、慢性糸球体腎炎および慢性腎盂腎炎であった。健康人の年齢は、22～68歳で、44±

12歳 (Mean±SD) であった。

検体は、採血後血清分離し、-80°C で凍結保存した。測定は、木村らの開発したサンドイッチ型 EIA 法に基づくキット EIA S100ao 「アマノ」 (仮称) を用いて行った。

血清 50 μ l に免疫反应用緩衝液 500 μ l と抗 S100ao 抗体結合ビーズを加え、37°C で2時間の静置反応を行ない、つづいて β -D-ガラクスターゼ標識抗 S100ao 抗体液 100 μ l を加え、37°C で1時間の静置反応を行った (免疫反応)。反応終了後、洗浄用緩衝液 1 ml で2回ビーズを洗浄し、酵素基質としてクロロフェノールレッド- β -D-ガラクトピラノシド溶液 500 μ l の入った新しい試験管にビーズを移し、37°C で1時間の静置反応を行った (酵素反応)。1時間後、反応停止液 2 ml を加え反応を停止し、精製水を対照として反応液の吸光度 (575 nm) を測定した。標準品についても同様に操作し、得られる標準曲線から被験血清の S100ao 蛋白を測定した。その結果、健康人の血清 S100ao 蛋白濃度を求めた。

平均値の有意差検定には、Wilcoxon 順位検定および Wilcoxon 符号順位検定を用いた。相関係数は、Spearman 順位相関係数を用いて有意差を検定した。

結 果

1. 健康人における血清 S100ao 蛋白値 (Table 1)

(1) 血清 S100ao 蛋白のカットオフ値の設定

血清 S100ao 蛋白のカットオフ値を求めるため、健康人 180 例の血清 S100ao 蛋白値は 203±107 pg/ml (Mean±SD) であった。そこで、カットオフ値を Mean+3SD に設定し、524 pg/ml とした。

(2) 年齢による血清 S100ao 蛋白値の変動

各年代ごとの血清 S100ao 蛋白値を比較検討した。50歳代の血清 S100ao 蛋白値は、249±120 pg/ml, 60

Table 1. 健康人における血清 S100ao 蛋白値 (pg/ml)

年 齢	男 性	女 性	男 女 計
20～29	313±192* (6 [†])	135±33 (15)	186±130 (21)
30～39	192±82 (27)	139±81 (23)	168±85 (50)
40～49	169±64 (21)	171±60 (27)	170±61 (48)
50～59	265±135 (21)	232±101 (18)	249±120 (39)
60～	279±89 (18)	405±135 (4)	302±107 (22)
合 計	225±112 (93)	180±97 (87)	203±107 (180)

* Mean±SD

† No. of healthy volunteers

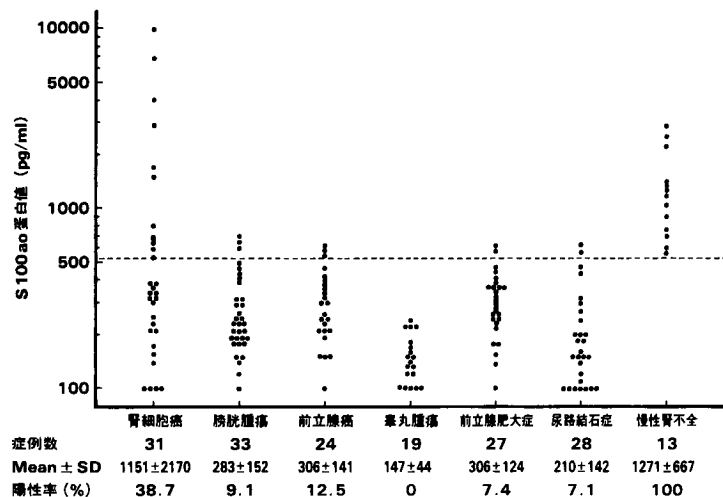


Fig. 1. 泌尿生殖器疾患患者における血清 S100ao 蛋白値

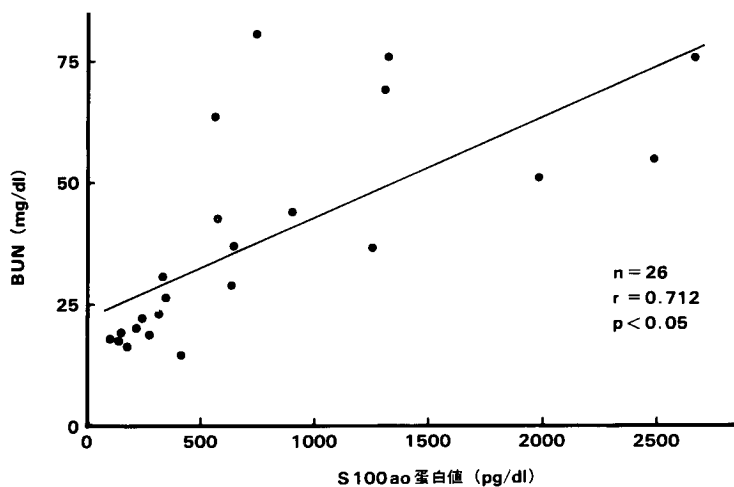


Fig. 2. 血清 S100ao 蛋白値と血中尿素窒素の関係

歳代の血清 S100ao 蛋白値は、 302 ± 107 pg/ml であり、50歳代および60歳代の血清 S100ao 蛋白は、他の年代に比較し有意に高値であった ($p < 0.01$)。

(3) 血清 S100ao 蛋白値の性差

血清 S100ao 蛋白値は、男性では 225 ± 112 pg/ml、女性では 180 ± 97 pg/ml であり、男性で有意に上昇していた ($p < 0.05$)。

2. 泌尿生殖器疾患患者における血清 S100ao 蛋白値 (Fig. 1)

慢性腎不全患者を除き、血中尿素窒素および血清クレアチニンが正常範囲内であった患者を対象として、血清 S100ao 蛋白を測定した。悪性疾患では、腎細胞癌患者の血清 S100ao 蛋白値が 1151 ± 2170 pg/ml

と高く、陽性率は38.7%であった。膀胱腫瘍患者、前立腺癌患者、睾丸腫瘍患者における陽性率は、それぞれ 9.1%、12.5%、0%であった。一方、良性疾患である前立腺肥大症患者、尿路結石患者、慢性腎不全患者における血清 S100ao 蛋白の陽性率は、それぞれ 7.4%、7.1%、100%であった。

3. 腎機能と血清 S100ao 蛋白値の関係 (Fig. 2, 3, 4)

良性泌尿生殖器疾患患者 (慢性腎不全患者を含む) の血清 S100ao 蛋白、血中尿素窒素 (BUN)、血清クレアチニン (Cr)、24時間内因性クレアチンクリアランス (Ccr) を同時に測定した。血清 S100ao 蛋白値と BUN、血清 Cr、Ccr との相関関係は、それぞ

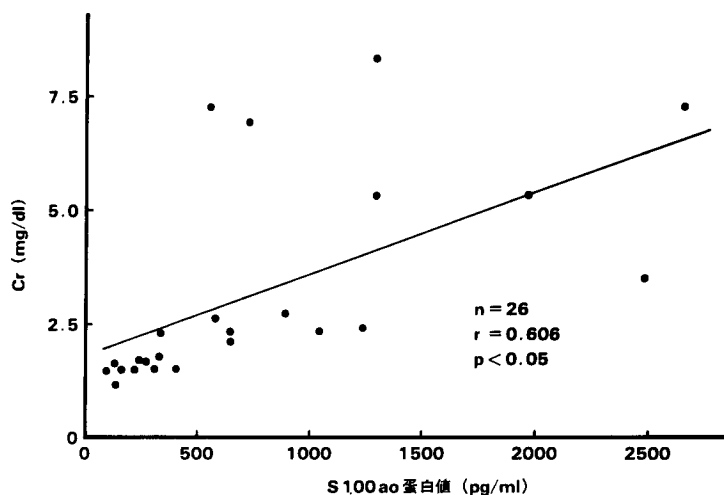


Fig. 3. 血清 S100ao 蛋白値と血清クレアチニンの関係

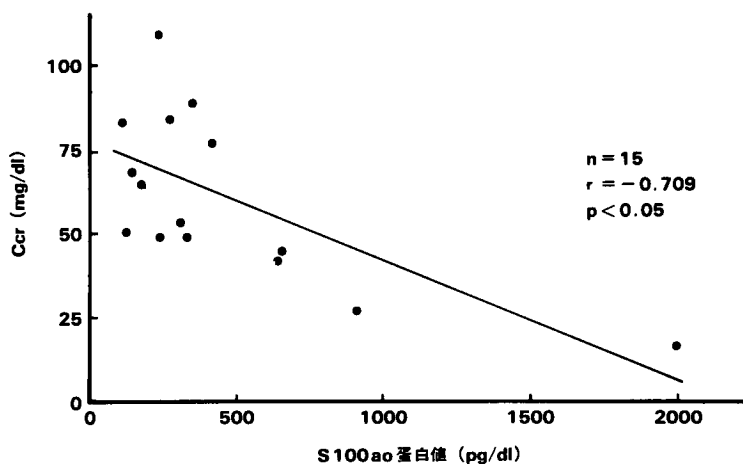


Fig. 4. 血清 S100ao 蛋白値とクレアチニンクリアランスの関係

れ 0.712, 0.606, -0.709 であり, それぞれ有意な相関を示した ($p < 0.05$).

4. 血清 S100ao 蛋白値に対する手術の影響

(1) 血清 S100ao 蛋白値に対する経皮的腎・尿管結石摘除術 (PNL) の影響 (Fig. 5)

腎障害を惹起する手術の血清 S100ao 値に対する影響を検討するために, PNL 前後の血清 S100ao 蛋白を測定した. 術前の血清 S100ao 蛋白値は 248 ± 106 pg/ml であったが, 術後1日目には 1898 ± 1452 pg/ml と有意に高値となった ($p < 0.01$). しかし, 術後7日目には 331 ± 83 pg/ml となり, ほぼ術前値に戻った.

(2) 血清 S100ao 蛋白値に対する開腹手術の影響 (Fig. 6)

腎臓に直接障害を与えない手術として, 恥骨上式前立腺摘除術, 尿管切石術前後の血清 S100ao 蛋白を測定した. 術前の血清 S100ao 蛋白値は 255 ± 97 pg/ml であったが, 術後1日目には 1312 ± 503 pg/ml で有意に高値となった ($p < 0.01$). しかし, 術後14日目には 324 ± 168 pg/ml となり, ほぼ術前値に戻った.

考 察

血清 S100ao 蛋白に関しては, すでに加藤らが, 腎細胞癌, 肺癌, 乳癌, 慢性腎炎患者の血清 S100ao 蛋白を測定し, 中でも腎細胞癌患者での陽性率が高いことを報告している²⁾. 今回, われわれは, 新たに木村らの開発した EIA により, 泌尿生殖器疾患患者の血清 S100ao 蛋白を測定した. この方法は, きわめて

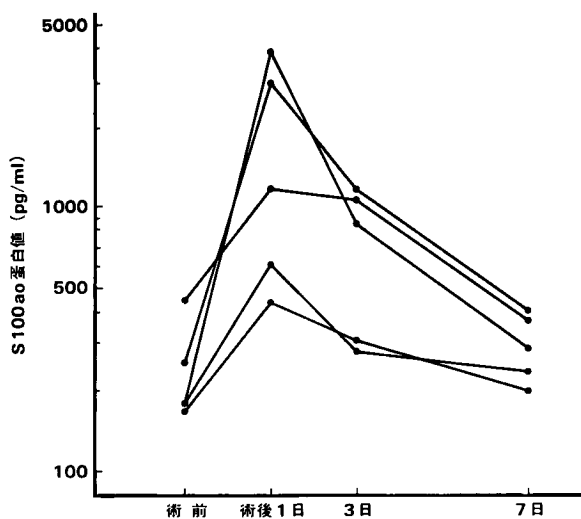


Fig. 5. 血清 S100ao 蛋白値に対する PNL の影響

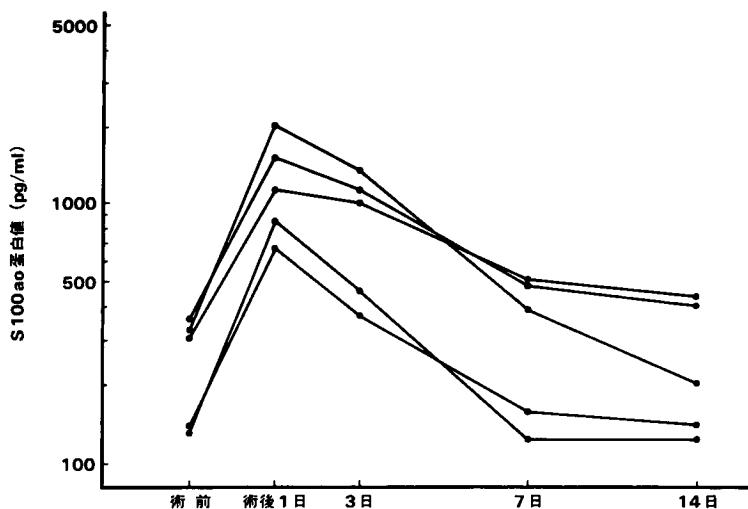


Fig. 6. 血清 S100ao 蛋白値に対する開腹手術の影響

微量の S100ao 蛋白を簡便かつ短時間に測定できるのが特徴である。

本測定法を用いて、泌尿生殖器疾患患者および健康人の血清 S100ao 蛋白を測定した。健康人の血清 S100ao 蛋白値は 203 ± 107 pg/ml であった。しかし、今回の健康人の対象者数が20歳代男性および60歳代女性では少なく、かつ1～2症例で異常高値を示したため、数値のばらつきが大きかった。そこで、この年代を除いた30歳代から50歳代における血清 S100ao 蛋白値を求めると、男性で 207 ± 103 pg/ml 女性で 176 ± 87 pg/ml であり、やはり男性で高値であった。

今回健康人全体の平均値 + 3SD をカットオフ値としたが、より妥当な正常値を設定するためには今後さらに健康人の対象者数を増やし、男女別および年齢別に血清 S100ao 蛋白値をより詳細に検討する必要があると思われる。また、高値を示した少数例についても、隠れた疾患等が存在する可能性もあり、今後の経過を見ていく必要があると考えている。

つぎに、泌尿生殖器疾患患者の結果では、加藤らの報告と同様、腎細胞癌患者および慢性腎不全患者で、高い陽性率が得られた。

腎細胞癌患者の血清 S100ao 蛋白が高値を示す機

序としては以下のようなことが考えられる。S100ao 蛋白は、腎臓の近位尿管上皮に高濃度に分布することが報告されていることから、近位尿管に由来すると考えられている腎細胞癌中にも S100ao 蛋白が存在することは当然予想される⁶⁻⁸⁾。事実、加藤らは、腎細胞癌組織には正常腎組織の4倍の高濃度で S100ao 蛋白が存在することを確認している⁹⁾。従って、S100ao 蛋白を保有する腎細胞癌組織に傷害が生じれば、S100ao 蛋白が血中に逸脱し、血清 S100ao 蛋白値が上昇すると推測される。

本研究では、腎機能低下によっても血清 S100ao 蛋白値が上昇することが明らかとなった。現在のところ S100ao 蛋白の代謝・排泄経路に関してはまだ解明されていないが、S100ao 蛋白は分子量約21,000の低分子蛋白であり、他の低分子蛋白と同様に糸球体基底膜を通過し近位尿管で再吸収されているのではないかと思われる。従って、慢性腎不全患者では、S100ao 蛋白の尿中排泄が低下することによって血清 S100ao 蛋白値が上昇すると考えられる。

また、手術の血清 S100ao 蛋白値への影響を知るため、手術前後の血清 S100ao 蛋白を測定したが手術直後より血清 S100ao 蛋白値の上昇がみられた。S100ao 蛋白は、生体内における最大の組織である筋組織に比較的多く分布している。従って、血清 S100ao 蛋白値は、腎機能のみならず筋組織における S100ao 蛋白の動態にもかなり影響を受けることが予想される。手術後の血清 S100ao 蛋白値の上昇は、手術操作に伴う筋組織の障害により、筋組織中の S100ao 蛋白が血中に逸脱したためと考えられる。しかし、手術の血清 S100ao 蛋白値に及ぼす影響は一過性であり、われわれの症例では手術後1～2週間ではば手術前の値に戻った。

さらに、血清 S100ao 蛋白値は加齢による影響もうけていた。健康人における各年代の血清 S100ao 蛋白値を解析したが、20歳代男性を除き若年者に対して高齢者の血清 S100ao 蛋白値が有意に高値であった。腎機能は加齢とともに低下すると報告されており⁹⁾、高齢者における本蛋白値の上昇の一部は、正常範囲内ではあるが、潜在的な腎機能の低下を反映しているのかもしれない。20歳代の男性でも高値を示したが、先に述べたように健康人の対象例が少なく、少数例で高値を示したためと考えられる。

血清 S100ao 蛋白値は、腎細胞癌患者で高値を示し、腫瘍マーカーとしての有用性が期待される。しかしながら、上記のごとく腎機能、手術による筋組織障害や加齢による影響をうけることが明らかとなった。さ

らに、肺癌や乳癌などの腎細胞癌以外の疾患でも上昇することがすでに報告されており²⁾、S100ao 蛋白は腎細胞癌に特異的であるとはいえない。しかしながら、現在、腎細胞癌に特異的な腫瘍マーカーの報告はなく、種々の腫瘍マーカーを組み合わせる腎細胞癌患者の経過を観察しているのが実状である¹⁰⁻¹²⁾。共同研究者である森田等の報告では、腎細胞癌患者36例中16例(44%)の症例で血清 S100ao 蛋白値は高値であり、特に high stage の患者では76%と高い陽性率を示している¹³⁾。その成績から、血清 S100ao 蛋白値が腎細胞癌の腫瘍マーカーの一つとして十分な価値を有すると考えられる。

本論文の要旨は、第54回日本泌尿器科学会総会(盛岡)において発表した。

文 献

- 1) Moore BW: A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun* **19**: 739-744, 1965
- 2) 加藤兼房: S-100 蛋白質—最近の研究の進歩—。醫學のあゆめ **137**: 255-261, 1986
- 3) 磯辺俊明, 奥山典生: S100 蛋白質。蛋白質核酸酵素 **29**: 1085-1100, 1984
- 4) Semba R, Kato K and Isobe T: S-100 antigen in the rat kidney. *Neurochem Res* **9**: 1125-1126, 1984
- 5) Kato K, Haimoto H, Ariyoshi Y, Horisawa M, Washida H and Kimura S: High levels of S-100ao ($\alpha\alpha$) protein in tumor tissues and in sera of patients with renal cell carcinoma. *Jpn J Cancer Res (Gann)* **76**: 856-862, 1985
- 6) 菊地 泰, 藍沢英男, 二階堂 孝, 井村有希, 古里征国, 大西哲郎, 町田豊平: 腎細胞癌発生母地の組織化学的診断。臨泌 **41**: 951-955, 1987
- 7) Wallace AG and Narin RC: Renal tubular antigens in kidney tumors. *Cancer* **29**: 977-981, 1972
- 8) Seljile R and Ericsson JLE: Electron microscopic observations of the cell surface in renal cell carcinoma. *Lab Invest* **14**: 435-447, 1965
- 9) Lindeman RD, Tobin J and Shock NW: Longitudinal studies on the rate of decline in renal function with age. *J Am Geriatr Soc* **33**: 278-285, 1985
- 10) 松田 稔, 多田安温, 中野悦次, 藤岡秀樹: 腎細胞癌の腫瘍マーカー。臨泌 **39**: 369-371, 1985
- 11) 上田豊史: 腫瘍マーカーに関する研究の現況と展望—腎細胞癌—。西日泌尿 **45**: 235-240, 1983
- 12) 神田裕三, 石井 勝, 田利清信, 佐竹一郎: 腎癌における腫瘍マーカーの有用性について。臨泌 **39**: 579-583, 1985

- 13) 森田辰男, 菊地敬夫, 橋本紳一, 後藤健太郎, 戸塚一彦, 徳江章彦, 加藤兼房, 木村茂樹: 腎細胞癌患者における血清 S100ao 蛋白の検討. 日泌尿会誌 (投稿中)

(Received on April 23, 1990)
(Accepted on July 27, 1990)
(迅速掲載)