

腎細胞癌の診断における血漿インターロイキン-6 の意義について

長崎大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 斉藤 泰教授)

亀 本 裕 徳

SIGNIFICANCE OF PLASMA INTERLEUKIN-6 IN THE DIAGNOSIS OF RENAL CELL CARCINOMA

Hironori Kamemoto

From the Department of Urology, Nagasaki University School of Medicine

The significance of interleukin-6 (IL-6) in the diagnosis of renal cell carcinoma (RCC) was investigated. In RCC patients, we found that, even when IL-6 was produced by RCC, the plasma level of IL-6 was under the limit of detection in almost all patients with a classification of T2N0M0 or lower. In the case of rapidly progressive type of bulky metastasis, the concentration of IL-6 in plasma was high, but the IL-6 level correlated well with the serum C-reactive protein (CRP) level. These findings suggest that IL-6 has little potential to serve as a new tumor marker for RCC.

(Acta Urol. Jpn. 39: 301-306, 1993)

Key words: Interleukin-6, Renal cell carcinoma

緒 言

インターロイキン-6 (IL-6) は、最近その遺伝子がクローニングされ構造が明らかになった多能性のサイトカインで、B細胞を刺激して抗体産生を促すなど免疫担当細胞に作用する¹⁾だけでなく、炎症時、肝細胞に作用してCRP、フィブリノーゲンなどの急性期蛋白の生合成を誘導する^{2,3)}など生体防御機構において重要な役割を担っている。

さらに、ある種の腫瘍細胞⁴⁾および正常の肝細胞⁵⁾や腎尿管細胞⁶⁾に対して増殖抑制因子として作用したり、多発性骨髄腫⁷⁾および形質細胞腫⁸⁾、ある種のT細胞リンパ腫⁹⁾などでは増殖促進因子として作用することが報告されている。

最近、腎細胞癌においてはbasic fibroblast growth factor (bFGF) など^{10,11)}とともに、IL-6もオートクリン増殖因子の一つであることが指摘されている^{12,13)}。そこで、今回、腎細胞癌患者の血漿や組織中のIL-6を測定し、IL-6が新たに腫瘍マーカーにないえるかどうかを検討したので報告する。

対象および方法

1. IL-6 濃度の測定

IL-6 濃度の測定は Amersham 社の IL-6 ELISA SYSTEM を用いて行った。測定限度は 3.13 pg/ml 以上である。

2. ヒト培養腎癌株細胞

ACHN 細胞は大日本製薬から購入し、minimal essential medium (MEM)+10% Fetal calf serum (FCS) の中で培養を行った。VMRC-RCW は Japanese Cancer Research Resource Bank より提供を受け、培地として MEM に non-essential amino acid を補充し、10% FCS を加えたものを用いた。NT 細胞は当教室で樹立し¹⁴⁾、培地は MEM+10% FCS を用いた。これらの細胞は、37°C で95% air, 5% CO₂ の条件下で培養した。

3. ヒト培養腎癌細胞の Conditioned medium

Nishimura ら¹¹⁾の方法に準じ、subconfluent にまで増殖した癌細胞に血清を含まない培地を加え、24時間後に回収した。

4. 培養腎癌細胞ホモジネート

癌細胞は培養皿より rubber policeman により回収し 0.05 mM EDTA および 100 U/ml アプロチニ

ンを含んだ Phosphate buffered saline (PBS), pH 7.2 を加え Polytron homogenizer を用いてホモジナイズし, 10,000g, 15分で遠心後の上清を用いた.

5. 培養腎癌細胞の DNA 合成測定

3種類の培養腎癌細胞の DNA 合成に対する IL-6 の影響を検討した. DNA 合成の測定は, Nishimura ら¹¹⁾の方法に準じて行った. IL-6 は, Zenzyme 社の recombinant human IL-6 を用いた. positive control として10% FCS を加えた.

6. 対象患者および検体

長崎大学泌尿器科およびその関連施設において集められた腎細胞癌患者19名, コントロール群として泌尿器科良性疾病患者13名を対象とした. 内訳は, 腎癌患者においては9名が T2N0M0 以下で, 全例原発巣の摘除を行い, その術前および術後14日目の血漿を集めた. 1例は原発巣摘除後2年目に見つかった孤立性肝転移による再発症例で, これも転移巣は根治的に切除でき術前および術後14日目の血漿を採血した. 1例は原発巣摘除後, インターフェロン α による補助療法中であり, 3例の T2N0M0 の症例については術前の血漿のみ測定した. また, N3 および M1 の症例で治療不能例は5例あり, 2例は原発巣摘出後の再発でインターフェロン α および γ の併用療法中の症例で, 2例は姑息的原発巣摘除術のみ行われ, 他の1例は家族の希望で治療を行わなかった症例である. これらの症例に1ないし3回の採血を行った. つぎに, コントロール群の内訳は, 子宮全摘術後の合併症4例, 腎移植術後3例などで炎症を合併した症例, ステロイド剤服用中の症例を含んでいる. また, 血中 IL-6 濃度と C reactive protein (CRP) の相関を見るために, 一部の症例については CRP を同時に測定した. CRP の正常値は, 0.17 mg/ml 以下である. 腎癌患者で根治的腎摘出術が行われた症例のうち4例については腎摘出後, 腫瘍部および正常部腎組織を速やかに

採取し, -80°C で保存し, 後日, 細胞ホモジネートを作るのと同じ方法で組織ホモジネートを作成し, 組織中の IL-6 濃度を測定した. さらに, 原発巣を摘除できた2例の腎癌組織については, 凍結切片を作成し免疫染色に用いた.

7 抗 IL-6 抗体による免疫組織学的検討

凍結切片を3%パラホルムアルデヒドで固定後, Eguchi ら¹⁰⁾の方法に準じて, 抗 IL-6 抗体 (Zenzyme 社) を1次抗体として avidin-biotin complex 法 (ABC 法) により染色した. コントロールとして, 正常ウサギ IgG を一次抗体として用いた.

結 果

まず, 培養ヒト腎細胞癌株3種について IL-6 分泌能および細胞ホモジネート中の IL-6 濃度を調べたところ, NT 株および ACHN 株においては培地中に IL-6 の分泌がみられ(それぞれ2,950 および 6,666 pg/ 10^6 cells/24 h), また細胞ホモジネート中にも IL-6 が検出された (17および 167 pg/ 10^6 cells). VMRC-RCW 株においては IL-6 を分泌しておらず, また細胞ホモジネート中でも検出限度以下であった. つぎに, 腎癌細胞に IL-6 を加え, その増殖に対する影響を調べてみたところ, ACHN 細胞ではコントロール群に比べて有意に外因性 IL-6 に応答して DNA 合成が促進され, NT 細胞でも DNA 合成促進傾向がみられたが有意差はなかった. 一方, VMRC-RCW 細胞においては IL-6 に対する応答は見られなかった (Table 1). 従って, 腎癌細胞には IL-6 を分泌しているものがあり IL-6 がオートクリン増殖因子として作用している可能性もあることが示唆された.

つぎに, 腎細胞癌患者における血漿中の IL-6 濃度が腫瘍マーカーとして意義があるか否かを検討するために血漿 IL-6 を測定したところ, ほとんどの症例で測定限度 (3.13 pg/ml) 以下であり, 治療不能な

Table 1. Effect of IL-6 on the DNA synthesis of human renal carcinoma cell lines.

Addition	DNA synthesis (cpm)			
		NT	ACHN	VMRC-RCW
none		22901 $\pm$ 1020	34164 $\pm$ 619	6709 $\pm$ 30
IL-6	0.4 ng/ml	26774 $\pm$ 24	39073 $\pm$ 1600*	6506 $\pm$ 92
	4 ng/ml	27613 $\pm$ 1091	42420 $\pm$ 2812*	6932 $\pm$ 70
	40 ng/ml	26436 $\pm$ 170	40201 $\pm$ 2355*	7090 $\pm$ 897
10% FCS		36180 $\pm$ 1330*	52873 $\pm$ 563*	70228 $\pm$ 1252*

Experimental conditions were as described in "Materials and Methods". Values are means $\pm$ SD for triplicated experiments.

*: $p < 0.05$ compared with the values of control (no addition).

転移巣を有する急速進行性の症例でのみ高値を示した。T2N0M0 以下の症例で術前に IL-6 が高値を示したのは 1 例のみであった。また、腎細胞癌は根治的に切除されたにもかかわらず術後 4 例に IL-6 の上昇が見られたが、このうちの 3 例に術後、炎症性の合併症（1 例は肺炎、1 例は胸水貯留、他の 1 例では重篤な薬疹）がみられた。また、切除不能な転移巣を有する症例でも、2 例では IL-6 は検出限度以下であった。このうちの 1 例はインターフェロン α および γ の併用療法を行っている最中に IL-6 の上昇が見られたが、腎癌細胞においてインターフェロン γ が IL-6 産生を刺激するとの報告¹⁵⁾、ミエローマ細胞においてインターフェロン α が IL-6 産生を誘導するとの報告もあり¹⁶⁾。インターフェロン療法による IL-6 の上昇である可能性も考えられた。一方、泌尿器科的良性疾患群では 2 例で高値を示したが、1 例は生体腎移植ドナーの術後に IL-6 値の上昇がみられ、他の 1 例は透析患者に合併した副腎良性腫瘍であった。また、T2N0M0 以下の群およびコントロール群で IL-6 が高値を示した症例は、いずれも血中 IL-6 は 10 pg/ml 以下であった (Fig. 1)。一方、血漿中 IL-6 濃度が 10 pg/ml 以上を呈した腎癌症例は、インターフェロン療法中に IL-6 値が上昇した 1 例を除き、全例半年以内に死亡した。また、bulky metastasis を有し原発巣摘出術後に転移巣が残った症例で術前後を通じて血中 IL-6 濃度が低値を示した 1 例は、術後 14 日

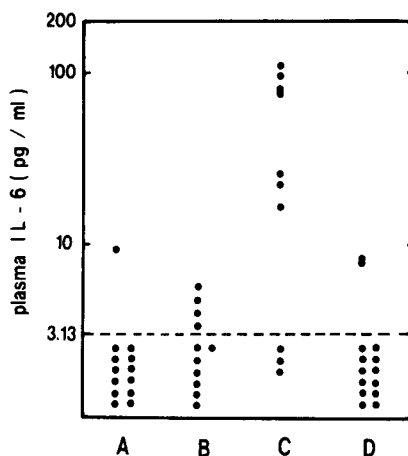


Fig. 1. Plasma IL-6 concentration of the patients with renal cell carcinoma (RCC) and benign urological disease. IL-6 concentration was measured by IL-6 ELISA system. A, resectable RCC, preoperation; B, resectable RCC, postoperation; C, RCC with bulky metastasis; D, non-malignant urological disease.

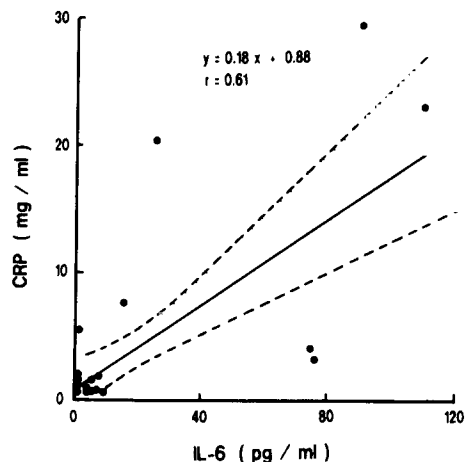


Fig. 2. Analysis of correlations between plasma IL-6 and CRP in patients with renal cell carcinoma. There was a significant correlation between IL-6 concentration and CRP value ($r=0.6$).

Table 2. IL-6 content in normal and tumorous renal tissues or plasma.

Patient	IL-6 content (pg/g. tissue)		Plasma IL-6 concentration (pg/ml)
	normal	tumorous	
1	3350	640	3.4
2	1100	800	N.D.
3	265	2700	N.D.
4	1650	9250	N.D.

IL-6 contents in the homogenate of renal tissue or plasma were measured by IL-6 ELISA system. N.D.: not detected.

目を過ぎてから開始したインターフェロン α 単独投与で転移巣は partial response がえられ、術後 10 か月目の現在も転移巣の増大は認められていない。さらに、腎癌患者において、IL-6 と CRP との相関を見たが、血中 IL-6 濃度は CRP と有意に相関した ($r=0.6$, Fig. 2)。

また、一部の腎細胞癌組織については組織中の IL-6 濃度測定および免疫組織学的検討を行った。組織中の濃度測定を行った 4 例はいずれも血中 IL-6 濃度は低値であったが、組織内 IL-6 濃度は高値であり、培養細胞の VMRC-RCW 細胞のホモジネートでは IL-6 は検出限度以下であることから、IL-6 を産生している可能性があると思われた。また、腫瘍部だけでなく、正常と思われる部分でも IL-6 濃度は高値を示したものもあった (Table 2)。そこで、腎癌細胞が IL-6 を産生している可能性についてさらに詳しく検討するために、組織内濃度を測定した 1 例を含む 2 例

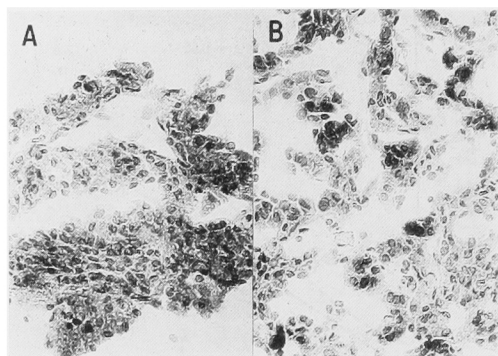


Fig. 3. Immunohistochemical staining of IL-6 in renal cell carcinoma tissues. A, 71-year-old male, left renal cell carcinoma, T₂N₀M₀; B, 67-year-old female right renal cell carcinoma, T₂N₀M₀. Plasma IL-6 concentrations of both patients (A and B) were lower than 3.13 pg/ml. Nonimmunized rabbit IgG used as the first antibody showed no notable immunostaining of the tissues.

で、抗 IL-6 抗体を一次抗体として免疫染色を行ったが、2例とも血中 IL-6 は検出限度以下であるにもかかわらず、一部の癌細胞が染色されており、腎癌細胞内での IL-6 産生を示唆するものであった (Fig. 3)。

考 察

IL-6 は、肝細胞、尿細管細胞、腎癌細胞などの増殖も制御できる target spectrum の広いサイトカインであり、免疫における生体防御機構の中でも特に重要な働きを持つばかりでなく、ある種の腫瘍に対してはオートクリン増殖因子として作用し、その癌的増殖との関連が問題とされている。Miki ら¹²⁾ は *in vitro* で IL-6 が腎細胞癌に対してオートクリン増殖因子として作用することを報告し、一方で、Koo ら¹⁵⁾ は、IL-6 による腎癌細胞自身の DNA 合成はあまり促進されないと報告している。しかし、オートクリン機構ならば、自分自身で分泌した IL-6 で自分自身の表面にあるレセプターが占拠され、外来性 IL-6 に応答しない可能性がある。Takenawa ら¹³⁾ は、腎癌組織における IL-6 の産生と IL-6 receptor の存在を明らかにしたことで *in vivo* でのオートクリン機構の証明に大きく近付いたと考えられる。今回行った3種類のヒト培養腎癌細胞では、ACHN 細胞において IL-6 がオートクリン因子として分泌されている可能性が示唆された。

一方、腎細胞癌患者においては、T2N0M0 以下の群では1例を除いて、IL-6 は、すべて測定限度以下

であったが、術後14日目に4例で IL-6 値の軽度上昇がみられた。このうちの3例では、術後に炎症性の合併症を有しており、炎症をおこした場合、マクロファージから産生される IL-6 やインターロイキン-1 (IL-1)、TNF が、肝細胞に作用して急性期蛋白の合成を誘導する^{2,3)}ことから、合併した炎症性疾患による血中 IL-6 値の上昇と思われた。しかし、たとえ炎症性疾患が存在しても T2N0M0 以下の群およびコントロール群では血中 IL-6 はいずれも 10pg/ml 以下であり、これに対して切除不能な転移を有する群で、IL-6 が 10 pg/ml 以上の高値を示した症例は3例とも急速進行性で短期間に死亡した。また、切除不能の転移巣を有する群で1例(肺、骨転移)インターフェロン α , γ の併用療法中に IL-6 が高値を示したが、治療効果は no change であるものの、1年3ヵ月後の現在も転移巣の拡大はなく、血中 IL-6 の増加は、前にも述べたようにインターフェロン療法により IL-6 産生が誘導された可能性もあり、このようなケースでの血中 IL-6 値の上昇についてはさらなる検討が必要と思われる。また、血中 IL-6 は検出限度以下でも、腫瘍組織のホモジネートでは IL-6 は検出され、免疫組織学的検討において抗 IL-6 抗体で腫瘍細胞が染色されることと併せて、腫瘍細胞においても IL-6 は産生されている場合がある可能性が高く、Takenawa らの報告にもあるように¹³⁾、IL-6 とその receptor が同時に発現された腎細胞癌が存在することから、*in vivo* でも IL-6 はオートクリン増殖因子として作用するのかもしれない。従って、血中の IL-6 濃度が上昇したり、しなかったりするのには、腫瘍局所やリンパ球を中心とした免疫系細胞、肝細胞などでの消費と、産生とのバランスの問題による可能性もある。

つぎに、Blay ら¹⁷⁾ は、転移性腎細胞癌患者において、血清 CRP と IL-6 濃度には相関がみられると報告しているが、今回の検討でも同様に血中 IL-6 濃度と CRP 値には有意な相関がみられた。CRP 産生を促す物質は IL-6 の他に IL-1, TNF が知られている¹⁸⁾。今回の検討で腎癌患者において、大塚アッセイ研究所から購入した IL-1 β ELISA kit を用いて血中 IL-1 β 濃度を測定してみたが、全例検出限度以下であった (data not shown)。また、血中の TNF 濃度についても Amersham 社の ELISA kit を用いて TNF- α , TNF- β の測定を行ったが、ほとんどの症例で検出限度以下であったことから (data not shown)、血中 CRP の上昇は Fig. 2 の結果からも IL-6 による可能性が高く、血中 IL-6 値は、CRP

を測定することである程度推定できると考えられる。さらに血中 IL-6 値は腫瘍量とも必ずしも相関せず、また、治療経過を追う場合、インターフェロン療法で上昇する可能性もあることから、IL-6 の腎細胞癌における新規の腫瘍マーカーとしての意義は少ないと思われる。

また、正常組織と思われる部分でも、一部の症例で組織内 IL-6 が高値を示しているが、これは、メサンジウム細胞や癌周囲に浸潤した単球などで分泌されている可能性がある。IL-6 を恒常的に作り続ける IL-6 トランスジェニックマウスでは、全例にメサンジウム増殖性腎炎がみられたとの報告があり²¹⁾、また IL-6 は、in vitro で、メサンジウム細胞に対してオートクリン増殖因子として作用することや^{19,20)}、メサンジウム増殖性腎炎患者のメサンジウム細胞でも、IL-6 が分泌されていることも報告されているが²⁰⁾。今回の検討では正常腎組織でのメサンジウム増殖性腎炎は認められておらず、正常組織での IL-6 増加の意義については不明であった。

結 語

培養ヒト腎癌細胞を用いて、腎細胞癌において IL-6 がオートクリン増殖因子となりうるかについて検討を行ったが、ACHN 細胞が IL-6 をオートクリン増殖因子として分泌している可能性が示唆された。また、腎細胞癌患者において血漿 IL-6 が tumor marker になりえるか検討した。T2N0M0 以下の症例では、癌細胞内で IL-6 が産生されていると考えられる場合にも、ほとんどの症例で血中 IL-6 濃度は検出限界以下であった。また、進行性で転移を有する症例では IL-6 は高値を示したが、CRP と有意な相関がみられた。以上より血中 IL-6 の腎細胞癌における新たな腫瘍マーカーとしての意義は少ないと思われた。

稿を終えるにあたり御懇篤な御指導、御校閲を賜りました齊藤 泰教授ならびに近藤 厚名誉教授に深謝致します。また、直接御指導、御協力を賜りました神田 滋博士および終始研究に御協力頂きました長崎大学泌尿器科学教室各位ならびに技術員諸氏（下釜多久美、田口悦治、吉本美喜）に感謝致します。また、検体を提供頂きました光晴会病院泌尿器科医長湯下芳明先生、十善会病院泌尿器科医長小川繁晴先生および掖済会病院泌尿器科医長中村幹夫先生に深謝します。なお、本研究の一部は文部省科学研究費（一般(B)；02454372）により行われた。

文 献

- 1) Kishimoto T: The biology of interleukin-6. *Blood* **74**: 1-10, 1989
- 2) Gauldie J, Richards C, Harnish D, et al.: Interferon β 2/B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **84**: 7251-7255, 1987
- 3) Castell JV, Gomez-Lachon MJ, David M, et al.: Recombinant human interleukin-6 (IL-6/BSF-2/HSF) regulates the synthesis of acute phase protein in human hepatocytes. *FEBS Lett* **232**: 347-350, 1988
- 4) Chen L, Mory Y, Zilberstein A, et al.: Growth inhibition of human breast carcinoma and leukemia/lymphoma cell lines by recombinant interferon-beta 2. *Proc Natl Acad Sci USA* **85**: 8037-8041, 1988
- 5) Nakamura T, Arakaki R and Ichihara A: Interleukin-1 β is a potent growth inhibitor of adult rat hepatocytes in primary culture. *Exp Cell Res* **179**: 488-497, 1988
- 6) Kanda S, Taide M, Igawa T, et al.: Effects of cytokines on growth of cultured rabbit renal cortical tubular cells. *Jpn J Nephrol* **34**: 19-25, 1992
- 7) Kwano M, Hirano T, Matsuda T, et al.: Autocrine generation and requirement of BSF-2/IL-6 for human multiple myelomas. *Nature* **332**: 83-85, 1988
- 8) Suematsu S, Matsuda T, Aozasa K, et al.: IgG1 plasmacytosis in interleukin 6 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* **86**: 7547-7551, 1989
- 9) Shimizu S, Hirano T, Yoshioka K, et al.: Interleukin 6 (B cell stimulatory factor) dependent growth of a Lennert's lymphoma-derived T cell line (KT-3). *Blood* **72**: 1826-1828, 1988
- 10) Eguchi J, Nomata K, Kanda S, et al.: Gene expression and immunohistochemical localization of basic fibroblast growth factor in renal cell carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* **183**: 937-944, 1992
- 11) Nishimura N, Kanda S, Yogi Y, et al.: Secretion of autocrine growth-promoting activity by renal-carcinoma cells treated with 5-fluorouracil. *Int J Cancer* **53**: 105-109, 1992
- 12) 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
- 13) Takenawa J, Kaneko Y, Fukumoto M, et al.: Enhanced expression of interleukin-6 in primary human renal cell carcinomas. *J Natl Cancer Inst* **83**: 1668-1672, 1991
- 14) Tsuda N, Araki J, Yushita Y, et al.: Ultrastructural study of a continuous cell line

- from human renal cell carcinoma. *J Clin Electron Microsc* **13**: 5-6, 1980
- 15) 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
 - 16) Joudan M, Zhang XG, Portier M, et al.: IFN-alpha induces autocrine production of IL-6 in myeloma cell lines. *J Immunol* **147**: 4402-4407, 1991
 - 17) Blay JY, Negrier S, Combaret V, et al.: Serum level of interleukin 6 as a prognosis factor in metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Res* **52**: 3317-3322, 1992
 - 18) Junming L and Jan V: Tumor necrosis factor and interleukin 1: cytokines with multiple overlapping biological activities. *Lab Invest* **56**: 234-248, 1987
 - 19) Christian R, Klemens B, Jill L, et al.: Interleukin-6 is an autocrine growth factor for mesangial cells. *Kidney Int* **38**: 249-257, 1990
 - 20) Horii Y, Muraguchi A, Iwano M, et al.: Involvement of IL-6 in mesangial proliferative glomerulonephritis. *J Immunol* **143**: 3949-3955, 1989

(Received on October 12, 1992)

(Accepted on January 19, 1993)

(迅速掲載)

Editorial comment

本論文はヒト腎細胞癌における interleukin-6 (IL-6) の産生を生化学的および免疫組織化学的に証明した大変興味ある報告です。

従来より腎細胞癌では他の尿路性器癌と異なり比較的多彩な腫瘍随伴症候群が出現することが知られていました。erythropoietin 産生による多血症はその典型例といえます。最近、一部の腎細胞癌が IL-6 を産生し、この産生と腎細胞癌における CRP 陽性、発熱などのいわゆる炎症反応とが密接な関係を有していることが示されています。さらに、この IL-6 が時には autocrine growth factor として作用していることを示唆する報告もあります。本論文はこれらの点をさらに明確にしたものといえます。

一方、腎細胞癌における IL-6 産生にどのような生物学的意義があるのかはまだ十分には解明されてはいません。一部の腎細胞癌では IL-6 の産生、IL-6 receptor が認められ、先に述べたように IL-6 が腎細胞癌の増殖を促進している可能性が指摘されています。実際抗 IL-6 抗体あるいは抗 IL-6 receptor 抗体により腎細胞癌の in vitro における増殖が抑制されるという興味深い報告が最近なされています。した

がって、これらの抗体による治療も夢ではないかもしれません。

しかし、癌細胞と cytokine あるいは growth factor との関係の関係はけっして単一ではなく癌細胞の種類あるいは癌細胞の置かれている環境、cytokine あるいは growth factor の多彩な作用などにより大きく異なることが予想されます。そのため、この関係が一層複雑なものとなっていると思われます。

いずれにしろ、腎細胞癌における IL-6 産生の生物学的意義の解明が、現在袋小路に入っている印象のある腎細胞癌の治療を進展させる突破口の一つになるかも知れないと期待しているのは、私一人ではないと思います。その意味でも本論文は意義あるものと考えられます。

文 献

- 1) Miki S, et al.: *FEBS Lett* **250**: 607, 1989
- 2) Takenawa J, et al.: *J Natl Cancer Inst* **83**: 1668, 1991
- 3) Tsukamoto T, et al.: *J Urol* **148**: 1778, 1992
- 4) 藤田 潤, ほか: 泌尿紀要 **38**: 1333, 1992

札幌医科大学泌尿器科学教室
塚本 泰司