腎細胞癌におけるインターロイキン 1β (IL- 1β), インターロイキン6 (IL-6), 腫瘍壊死因子- α (TNF- α) の血清値および遺伝子発現

徳島大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 香川 征教授)

浜尾 巧 金山 博臣 菅 政治
滝川 浩 香川 征

SERUM LEVELS AND GENE EXPRESSIONS OF INTERLEUKIN- 1β (IL- 1β), INTERLEUKIN-6 (IL-6) AND TUMOR NECROSIS FACTOR- α (TNF- α) IN HUMAN RENAL CELL CARCINOMAS

Takumi Hamao, Hiro-omi Kanayama, Masaharu Kan, Hiroshi Takigawa and Susumu Kagawa

Department of Urology, School of Medicine, The University of Tokushima

(Director: Prof. S. Kagawa)

We examined serum levels of interleukin- 1β (IL- 1β), interleukin-6 (IL-6), and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in 32 patients with renal cell carcinoma. Serum IL- 1β was elevated in only one patient (3.1%), IL-6 in 17 (53.1%) and TNF- α in 6 (18.8%). Positive rate of serum IL-6 increased with progression of the stage (stage I and II: stage III and IV=14.3%: 88.9%, $p<0.0001$) and was higher for rapid growth type (slow and intermediate growth type: rapid growth type=36.4%: 90.0%, $p<0.005$). However, increased serum levels of IL- 1β and TNF- α were not correlated with stage, grade, or growth type.

Gene expressions of IL- 1β , IL-6, IL-6 receptor and TNF- α in the tissues resected from 15 patients with renal cell carcinoma and 3 cell lines established from renal cancers were evaluated by Northern blot analysis. Gene expression of IL- 1β and TNF- α were not detected in any of the tissues or cell cultures, but highly enhanced expressions of IL-6 were revealed in two tumor specimens (13.3%, 1 rapid and 1 slow growth type) and 2 of 3 cell lines. Expressions of IL-6 receptor in tissues and cells were weak.

These results suggest that IL-6 plays an important role in the progression of renal cell carcinoma, and that measurement of IL-6 in patients with renal cell carcinoma may be useful clinically.

Key words: renal cell carcinoma, cytokines, tumor progression

要旨: 腎細胞癌におけるインターロイキン 1β (IL- 1β), インターロイキン6 (IL-6), 腫瘍壊死因子- α (TNF- α) の血清値および遺伝子発現について検討した。血清値について解析した32例中, IL- 1β は1例 (3.1%), TNF- α は6例 (18.8%), IL-6は17例 (53.1%) で高値を示した。さらに, IL-6は stage I+II 14例中2例 (14.3%), stage III+IV 18例中15例 (88.9%) と進行癌で陽性率が高く ($p<0.001$), また slow type (S) 13例中5例 (38.5%), intermediate type (I) 9例中3例 (33.3%), rapid type (R) 10例中9例 (90.0%) と rapid type の血清 IL-6が高値を示した (S vs R, I vs R: $p<0.01$, S+I vs R: $p<0.005$)。

一方, 遺伝子発現では, IL- 1β , TNF- α は腎正常部, 腫瘍部ともに発現はほとんど認めなかったが, IL-6は15例中 rapid type の1例と slow type の1例計2例 (13.3%) の腫瘍部に非常に強い発現を認め, 血清 IL-6値も高値を示した。また, 培養細胞では3種類のうち2種類において非常に強い IL-6の発現を認めた。しかし, IL-6 receptor の発現は腎正常部, 腫瘍部, 培養細胞ともに弱く, 臨床病期, growth type との相関も認めなかった。

以上から、腎細胞癌のとくに rapid type には IL-6 が深く関与していることが示唆され、血清中 IL-6 の測定は腫瘍の生物学的特性を知るうえで臨床上有用であることが示唆された。

キーワード：腎細胞癌，サイトカイン，癌の進展

結 言

腎細胞癌は原発巣を摘出することにより転移巣が自然消失する症例や、インターフェロンが著効を示す症例等が存在し、何らかの免疫学的な関与が示唆されている。また、発熱や CRP の強陽性、赤沈の亢進等炎症所見を伴う腎細胞癌は増殖が速く、予後が悪いことが知られており¹⁾、腎細胞癌の悪性変化に関与する何らかの液性因子の存在が示唆されていた。

他方、分子生物学的な手法の発展により生体反応や免疫応答に関わる各種サイトカインの遺伝子がクローニングされ、急性期炎症反応や免疫応答のメカニズムが分子レベルで解明されてきた結果、最近では急性期炎症反応の主たるメディエーターであるインターロイキン 6 (IL-6) が炎症所見を伴う rapid type の腎細胞癌に関係していることが示唆されている。

今回われわれは、腎細胞癌において、とくに急性期炎症反応のメディエーターであり、多機能性サイトカインであるインターロイキン 1 β (IL-1 β)、インターロイキン 6 (IL-6)、腫瘍壊死因子- α (TNF- α)、さらにインターロイキン 6 レセプター (IL-6R) がどのように関与しているのかを明らかにするために、これらのサイトカインの腎細胞癌患者血清中レベル、腎細胞癌組織における遺伝子発現について検討したので報告する。

対象、材料と方法

1. 血清中サイトカインの測定

(1) 対象：対象は 1989 年 1 月より 1992 年 6 月までの間に徳島大学泌尿器科において腎細胞癌と診断され入院治療した 32 例で、年齢は 35～79 歳、平均 61.0 歳、性別は男性 22 例、女性 10 例であった。腎癌取り扱い規約 (第 2 版) による臨床病期は、stage I が 1 例 (3.1%)、stage II が 13 例 (40.6%)、stage III が 9 例 (28.1%)、stage IV が 9 例 (28.1%) であった。また、growth type は slow type が 13 例 (40.6%)、intermediate type が 9 例 (28.1%)、rapid type が 10 例 (31.3%) であった。

なお、今回の検討における growth type の分類は、37℃ 以上の発熱が 3 日/週以上、赤沈が 1 時間値 50mm 以上、CRP が 1.0mg/dl 以上、 α 2-globulin が 11.0% 以上の 4 項目のうち 2 項目以上を満たすものを rapid type (R) とし、発熱なし、赤沈が 1 時間値 20mm 未満、CRP が 0.5mg/dl 未満、 α 2-globulin が 10.0% 未満の 4

項目のうち全てを満たすものを slow type (S) とし、それ以外を intermediate type (I) とした。

(2) 方法：IL-1 β は IL-1 β IRMA キット (メドジェニックス) を用いたラジオイムノアッセイ (RIA) で、IL-6 は 2 種類のモノクローナル抗体を用いた 2step sandwich 法による enzyme-linked immuno-solvent assay (ELISA)²⁾ により、TNF- α はヒト腫瘍壊死因子- α (TNF- α) 測定キット (大塚製薬) を用いた ELISA により測定した。なお血清は治療前、早朝空腹時に採血し、分離した後、測定するまで -70℃ に保存した。

2. 遺伝子発現の検討

(1) 組織と細胞：1989 年 7 月から 1991 年 8 月までの間に徳島大学泌尿器科および関連施設において腎細胞癌患者 15 例から摘出された組織を用いた。年齢は 38～82 歳、平均 62.5 歳、男性 10 例、女性 5 例であった。臨床病期は stage II が 7 例 (46.7%)、stage III が 5 例 (33.3%)、stage IV が 3 例 (20.0%) であった。また、組織学的異型度は grade 1 が 10 例 (66.7%)、grade 2 が 5 例 (33.3%) で、growth type は slow type が 7 例 (46.7%)、intermediate type が 3 例 (20%)、rapid type が 5 例 (33.3%) であった。15 例のうち 9 例は前述した血清中サイトカインについても同時に検討した。摘出した組織の正常部、腫瘍部はそれぞれ速やかに液体窒素中で凍結し使用するまで -70℃ に保存した。

腎癌由来培養細胞は、Caki-1, Caki-2, KPK-13 を用いた。Caki-1, Caki-2 は American Type Culture Collection から、KPK-13 は九州大学泌尿器科、内藤先生より譲与されたものである³⁾。Caki-1 および Caki-2 は McCoy's 5A 培養液に 10% fetal bovine serum (FBS) を添加し、KPK-13 は RPM I 1640 に 10% FBS を添加した培養液中、径 10cm の培養皿 (FALCON) に 95% CO₂, 37℃ の条件下にて培養した。subconfluent の状態に細胞が増殖した時点で冷燐酸緩衝液により洗浄し、ラバーポリスマンで細胞を集め液体窒素にて速やかに凍結し使用するまで -70℃ に保存した。

(2) プローブ：IL-1 β および TNF- α cDNA は大塚製薬細胞工学センターより、IL-6 cDNA は大阪大学、平野先生から供与いただいた。

IL-6 receptor cDNA は reverse transcriptase-

polymerase chain reaction 法により調整した。腎細胞癌患者から抽出した正常および癌部から抽出した poly (A)+RNA から逆転写酵素により一本鎖 cDNA を合成し鋳型とし、393bp (575~967) の DNA フラグメントが得られるように20mer のオリゴヌクレオチドを合成しプライマーとして用いた。適当な条件にて30サイクルの PCR 反応を行い、増幅された DNA 断片を1.0%アガロースゲル電気泳動により確認した。目的とする大きさの DNA 断片が得られたことを確認し、ゲルより回収した後プローブとして用いた。各プローブは Random Primer DNA ラベリングキット (タカラ酒造) を用い、 ^{32}P -dCTP (Amersham) でラベルした後ナイロン膜とハイブリダイズした。

(3) ノーザンブロット法：各組織および細胞からグアニジウム/セシウムクロライド法により total RNA を精製した。各々5 μg ずつ用い、ホルムアルデヒドを加えた変性条件下、1.0%アガロースゲル電気泳動により RNA を分離した後ナイロン膜 (Hybond N+, Amersham) にトランスファーした。なお、アガロースゲルで分離した各 RNA サンプルはエチジウムブロマイドで染色し、intact な RNA が等量ずつアプライされていることを確認した。ナイロン膜は、 ^{32}P -dCTP でラベルしたプローブとハイブリダイゼーションした。プレハイブリダイゼーションおよびハイブリダイゼーションの条件はすでに報告した方法に準じた⁴⁾。ハイブリダイゼーション後のナイロン膜は適当な条件で洗浄した後、X 線フィルムに感光し遺伝子発現の検出を確認後、イメージアナライザー (FUJI バイオイメージングアナライザー-BAS2000) により遺伝子発現の強度を定量化した。すなわち、コントロールとして lipopolysaccharide と interferon- γ で刺激したヒト単球から抽出した total RNA 2.5 μg を用い、イメージアナライザーで得られた数値を100.0とし、バックグラウンドを0.0として換算して、それぞれのサンプルの遺伝子発現の強度とした。

結 果

1. 血清サイトカイン (Table 1, 2, Fig. 1)

(1) IL-1 β ：測定限界は10pg/ml 未満で、それ以上の値を示したのは32例中1例 (3.1%) のみで、測定値は23.0pg/ml であった。この症例は多発性骨転移を有していたが原発巣および転移巣の一部を摘除後、インターフェロン療法を施行した。残存骨転移巣は CR となり3年後の現在、再発、転移を認めていない。

(2) TNF- α ：測定限界は5pg/ml 未満でそれ以上の

Table 1 Patients characteristics and serum cytokines

No.	Age	Sex	Clinical Stage* JUA Robson	Growth Type	IL-1 β (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
1	37	F	I	I	S	<10	6.5
2	76	M	II	I	S	<10	<4
3	61	F	II	I	S	<10	<4
4	38	M	II	I	S	<10	<4
5	61	M	II	I	S	<10	<4
6	70	M	II	I	S	<10	<4
7	61	F	II	I	S	<10	<4
8	50	M	II	I	S	<10	<4
9	58	F	II	I	S	<10	<4
10	47	F	II	I	I	<10	<4
11	68	M	II	I	I	<10	<4
12	49	F	II	I	I	<10	<4
13	60	M	II	I	I	<10	5.5
14	76	M	II	I	R	<10	<4
15	77	M	III	II	S	<10	5.7
16	54	M	III	II	S	<10	5.2
17	66	M	III	III A	S	<10	5.3
18	68	M	III	III A	S	<10	47.8
19	35	M	III	II	I	<10	<4
20	55	M	III	II	I	<10	4.5
21	79	F	III	III A	I	<10	8.9
22	74	M	III	II	R	<10	13.7
23	70	M	III	II	R	<10	63.7
24	69	M	IV	IV B	I	<10	<4
25	64	M	IV	IV B	I	23.0	<4
26	52	M	IV	IV B	R	<10	5.3
27	72	F	IV	IV B	R	<10	6.0
28	69	M	IV	IV B	R	<10	11.1
29	71	F	IV	IV B	R	<10	26.0
30	57	M	IV	IV B	R	<10	35.1
31	60	M	IV	IV B	R	<10	45.5
32	46	F	IV	IV B	R	<10	132.0

*Clinical stage were determined according to the "General Rule for Clinical and Pathological Studies on Renal Cell Carcinoma(The 2nd Edition)" by Japanese Urological Association, The Japanese Society of Pathology and Japan Radiological Society, and Robson's classification.

Table 2 Clinical stage and growth type of patients with elevated serum IL-6 (4pg/ml $\leq$)

		Clinical Stage				
		I	II	III	IV	Total
Growth Type	Slow	1/1	0/8	4/4	0/0	5/13 (38.5)
	Intermediate	0/0	1/4	2/3	0/2	3/9 (33.3)
	Rapid	0/0	0/1	2/2	7/7	9/10 (90.0)***
Total		1/1 (100.0)	1/13 (7.7)	8/9 (88.9)*	7/9 (77.8)**	17/32 (53.1)

(%)

* I + II vs III : p<0.0005

** I + II vs IV : p<0.005. I + II vs III + IV : p<0.0001

*** Slow vs Rapid : p<0.01. Intermediate vs Rapid : p<0.01. S+I vs R : p<0.005

値を示したのは32例中6例 (18.8%) で、血清中濃度も5~13pg/ml (平均7.7pg/ml) と比較的低い値であった。臨床病期別に見ると、stage I が1例中0例 (0.0%)、stage II が13例中3例 (23.1%)、stage III が9例中1例 (11.1%)、stage IV が9例中2例 (22.2%) と、臨床病期による差異は認めなかった。また、growth type 別に見ても、slow type は13例中3例 (23.1%)、intermediate type は9例中0例 (0.0%)、rapid type は10例中3例 (30.0%) と臨床病期と同様 growth type による差も認めなかった。

(3) IL-6：測定限界は4pg/ml 未満でそれ以上の値

Fig. 1 Correlations between serum IL-6 and clinical stage or growth type

Fig. 2 Northern blot analyses of IL-1 β , TNF- α , IL-6 and IL-6R in human renal cell carcinomas. T : primary tumor, N : normal kidney, M : skin metastasis

を示した症例は32例中17例(53.1%)と IL-1 β , TNF- α に比べて陽性率が高く、陽性例の血清値も4.5~132.0 pg/ml, 平均 25.2 ± 33.2 pg/ml と高い値を示した。臨床病期と血清 IL-6値の関係を見ると、stage I, II の14例中血清 IL-6が高値を示した症例はわずか2例(14.3%)であったのに対して、stage III では9例中8例(88.9%), stage IV では9例中7例(77.8%)と進

行癌で有意に高い値であった。さらに growth type 別に見ると, solow type で13例中5例(38.5%), intermediate type で9例中3例(33.3%)であるのに対して rapid type では10例中9例(90.0%)と有意に高い陽性率を示した。

一方、同じ陽性例においても、stage I, II あるいは slow type, intermediate type の陽性例の血清 IL-6値

Table 3 Gene expressions of IL-6 and IL-6 receptor (IL-6R), and serum IL-6

No.	Age	Sex	Clinical Stage	Histological Grade	Growth Type	Gene Expression IL-6	Gene Expression IL-6R	Serum IL-6 (pg/ml)
3	61	F	II	1	S	1.5	77.6	<4
4	38	M	II	1	S	2.2	40.5	<4
8	50	M	II	1	S	0.8	48.2	<4
10	47	F	II	1	I	1.0	29.5	<4
18	68	M	III	1	S	21.6	14.5	47.8
20	55	M	III	2	I	1.2	14.6	4.5
21	79	F	III	1	I	1.6	46.4	8.9
22	74	M	III	1	R	0.5	11.2	13.7
23	70	M	III	1	R	71.8	22.5	63.7
33	58	F	II	1	S	1.5	19.7	
34	75	F	II	2	S	1.1	3.9	
35	57	M	II	1	S	1.6	20.8	
36	65	M	IV	2	R	2.0	42.3	
37	58	M	IV	2	R	0.8	38.7	
38	82	M	IV	2	R	4.1	26.6	
KPK-13*						21.0	17.2	
Caki-1						65.3	20.5	
Caki-2						7.4	19.6	
Control**						100.0	100.0	

* KPK-13, Caki-1, Caki-2: cell lines established from human renal cancers

** control: 2.5µg of total RNA extracted from human monocytes stimulated by lipopolysaccharide(LPS) and interferon-γ(IFN-γ)

は平均 11.2 ± 14.9 pg/ml と低く、1例(stage III, slow type, 47.8pg/ml)を除いて全例10pg/ml未満であったのに対し、rapid typeのstage III, IV例は全例陽性で、血清IL-6値も平均 37.6 ± 40.5 pg/mlと高い傾向が見られた。

2. 遺伝子発現 (Table 3, Fig. 2)

(1) IL-1β: コントロールでは非常に強い発現が認められたが、癌組織および正常組織、さらに培養細胞においてもほとんど発現は認められなかった。

(2) TNF-α: コントロールでは非常に強い発現が認められたが、IL-1β同様、癌組織および正常組織、培養細胞においてほとんど発現は認められなかった。

(3) IL-6: コントロールでは非常に強い発現を認め、さらに、腎細胞癌原発巣においては15例中2例(13.3%)の癌組織に非常に強い発現を認めた。また、培養細胞においても KPK-13, Caki-1に強い発現を認めたが、Caki-2には認めなかった。しかし、癌組織における発現の強度と臨床像、病理組織像との比較では、転移を有するstage IVの3例ではほとんど発現が見られず、強い発現が見られたのはstage III, G1, slow typeとstage III, G1, rapid typeの2例のみであり、腎細胞癌組織におけるIL-6の発現は、必ずしも進行癌、あるいはrapid typeで強い発現が認められたわけではなかった。しかし、強い発現が見られた2例では血清IL-6もそれぞれ47.8pg/ml, 63.7pg/mlと高値を示し、原発巣でIL-6が発現している場合血清中IL-6が高値を示すことが示唆された。

(4) IL-6R: IL-6 receptorはコントロールでもそれ

ほど強い発現は見られず、腎正常部、癌組織、培養細胞ともに弱い発現が認められたが、臨床像や病理像、growth typeによる差は認められなかった。

考 察

里見らは腎細胞癌を臨床症状、検査所見から rapid type と solow type に分類した¹⁾。すなわち、発熱、赤沈の亢進、CRP 陽性、α2-globulin 上昇の4項目中3項目以上陽性のものをI型: rapid type と分類し、発熱なし、赤沈正常、CRP 陰性、α2-globulin 正常の4項目中3項目以上該当するものをII型: slow type として分類し、その他を中間型と分類した。そして、rapid typeは進行が速く早期に転移が出現し予後不良であり、発熱や赤沈の亢進などが重要な予後決定因子であると報告している。そして、以前よりこのような発熱や赤沈の亢進、CRP 陽性、α2-globulin の上昇などに関係する何らかの液性因子を癌細胞が産生している可能性が示唆されていた⁵⁾。

他方、サイトカインは、リンパ球や単球など免疫担当細胞が合成分泌し、免疫応答に関わり生体内で微量に存在する生理活性物質として近年盛んに研究され、分子生物学の発展に伴い種々のサイトカインの存在が明らかにされてきた。そのうちのIL-6はB cell stimulating factor (BSF-2)として岸本、平野らによって明らかにされた、B細胞を最終的に抗体産生細胞に分化させる因子であるが⁶⁾、肝細胞に対して作用し、CRPやフィブリノーゲンなどの合成を誘導する物質として研究されていた肝細胞刺激因子(hepatocyte stimulating factor)と同一物質であることが判明した⁷⁾。IL-1βとTNF-αも同様の作用を有しており、これら3種のサイトカインが急性期炎症反応のmajor mediatorsであることが解明されたが、このうちIL-6が最も強い作用を有するとされている⁸⁾⁹⁾。

今回われわれは、腎細胞癌患者血清中のこれら3つのサイトカイン、すなわちIL-1β, IL-6, TNF-αを測定し、さらに腎細胞癌組織におけるIL-1β, IL-6, IL-6R, TNF-αの遺伝子発現を調べ、臨床像、検査所見、病理所見等と比較解析し、腎細胞癌における生物学的意義について検討した。

血清中IL-6に関して、Blayらは転移のある腎細胞癌患者138例中66例(48%)で血清中にIL-6が検出され、IL-6上昇例の予後が悪いこと、さらに、IL-2による治療の反応が悪いことを報告し、IL-6がin vivoにおける腎細胞癌の進行に重要な役割を果たしている結論している¹⁰⁾。また、Tsukamotoらは70例中25%に血清

IL-6の上昇を認めており、やはり予後不良としている¹¹⁾。

一方、Takenawaらは腎細胞癌組織のIL-6とIL-6 receptorの遺伝子発現を検討し、IL-6は43例中22例(51.2%)に、IL-6 receptorは43例中11例(25.6%)に発現を認め、腎細胞癌における増殖、transformationに影響を与えると報告している¹²⁾。

しかしながらIL-6の血清値と遺伝子発現を同時に検討した報告はない。われわれの血清中IL-6値は53.1%で陽性を示し、上記報告とはほぼ同様であったが、IL-6の遺伝子発現はTakenawaらの報告とは異なり、15例中2例(13.3%)と低率で、IL-6 receptorの強い発現は認められなかった。われわれの検討においてIL-6の血清値上昇と遺伝子発現亢進の頻度に差が見られた原因として考えられることは、今回遺伝子発現の検討に用いた組織は腫瘍組織の一部分であり、腎細胞癌の性質としてのheterogeneityを考えた場合、腫瘍組織すべての発現を確認したわけではなく、腫瘍組織の一面のみをとらえたためかもしれない。また、今回は光顕レベルでの組織学的な検討は行わなかったが、血清IL-6が、腫瘍辺縁の正常組織と接する部分における宿主側の何らかの免疫応答の結果として上昇しているためかもしれない。

一方、血清中IL-1 β 、TNF- α 陽性例はそれぞれ32例中1例(3.1%)、32例中6例(18.8%)と低率で、各々の遺伝子発現も腎細胞癌組織、正常組織、培養細胞においてもほとんど認められなかった。

以下、今回のわれわれの結果の特徴を検討した。血清中IL-6が進行腎細胞癌患者、とくにrapid typeで上昇しており、さらに、腎細胞癌組織、および培養細胞においてIL-6の非常に強い発現を示す例を認めた。このような結果はIL-1 β やTNF- α では見られず、IL-6に特徴的な現象であった。このことは、腎細胞癌、とくにrapid typeの進展に、IL-6が密接に関与していることを強く示唆するものである。

IL-6、IL-1 β 、TNF- α 等のサイトカインが癌の進展に関わる機構としては、①癌細胞に対して増殖因子として作用し、より増殖速度の速い癌細胞へと変異させる。②癌細胞、あるいは標的臓器における細胞接着因子を誘導することにより、癌細胞がより転移しやすい環境を提供する。③癌細胞におけるコラゲナーゼ産生能など癌の浸潤転移に関わる因子を誘導することにより、浸潤転移能の高い癌細胞へと変化させるなどが考えられる。このような仮説を支持するものとして、腎

細胞癌においてIL-6がin vitroにおけるautocrine growth factorとして作用するという報告¹³⁾や、IL-1 β やTNF- α が実験的に癌細胞の転移を促進するという報告¹⁴⁾¹⁵⁾、TNF- α が癌細胞における92kDa Type IV collagenaseの産生および活性を誘導するという報告¹⁶⁾などがある。さらに最近では、サイトカインが接着因子の誘導を介して転移を促進するのではいかという報告も見られる¹⁷⁾¹⁸⁾。

一方、血清中IL-6の由来、すなわちIL-6産生細胞については、遺伝子発現の検討の結果から、①細胞の癌化、あるいは癌の進展に伴い癌細胞が自律的にIL-6を産生するようになる場合。②癌細胞に対する免疫応答の結果として宿主側の免疫担当細胞(腫瘍浸潤リンパ球、マクロファージ、線維芽細胞など)が合成分泌する場合。③癌細胞が産生する何らかのサイトカインによって宿主側の細胞(リンパ球、マクロファージ、線維芽細胞あるいは標的臓器の細胞など)で産生が誘導される場合などが考えられる。腎癌由来培養細胞の培養上清中にIL-6が証明されたこと¹¹⁾¹³⁾¹⁹⁾や、抗IL-6抗体による培養細胞や腎細胞癌組織の免疫染色によって癌細胞が染色されたという報告^{11)~13)}、腎癌培養細胞、および腎細胞癌組織においてIL-6の遺伝子発見が確認されたこと¹²⁾、また腎細胞癌原発巣を摘出することにより炎症所見が正常化する症例が存在すること等から①の可能性が強く示唆されるが、今回の遺伝子発現の検討においてstage IV、rapid typeの腎細胞癌組織においてIL-6の発現が見られなかった症例が存在することや、転移を有し血清中IL-6が高値を示すrapid typeの原発巣を摘出したところ転移巣が残存するにも関わらず血清中IL-6が正常化し炎症所見が消失した症例が存在することなどから、症例によっては、必ずしも癌細胞が産生しておらず、②あるいは③の可能性も考えられる。また、われわれの結果では癌組織でIL-6の強い発現が見られた2例はともにgrade 1であり、Tsukamotoらの血清中IL-6値が必ずしも腫瘍の大きさや異型度と相関しないとする報告と同様の結果であった¹¹⁾。さらに、slow typeの1例では、癌組織で非常に強いIL-6の遺伝子発現が見られ、血清中IL-6も高い値を示したにもかかわらず、炎症所見が認められなかったことから、癌細胞が生物活性のないIL-6を産生していた可能性も考えられた。

以上今回の検討で他の報告と同様血清IL-6高値例においては進行癌、rapid typeが多いことが判明し臨床における有用性が証明されたが、IL-6高値の原因と

して、症例によっては必ずしも癌細胞自身が産生するのではなく、宿主側の反応等を含む複雑なメカニズムが関与していることが示唆された。

結 語

腎細胞癌患者血清中インターロイキン 1β (IL- 1β)、インターロイキン6 (IL-6)、腫瘍壊死因子- α (TNF- α) の測定、および腎細胞癌組織における遺伝子発現について検討し以下の結果を得た。

(1) 腎細胞癌患者血清中 IL-6 の陽性率は 53.1% と高く、とくに進行例、および rapid type において高い値を示したが、IL- 1β および TNF- α は陽性率が低く、臨床病期、growth type との相関も認めなかった。

(2) 15 例中 2 例 (13.3%) の腎細胞癌組織において IL-6 の強い遺伝子発現が確認されたが、必ずしも進行例、rapid type の癌組織で IL-6 が発現しているわけではなかった。一方、IL- 1β 、TNF- α の発現は認められず、IL-6 receptor は弱い発現を認めたのみであった。

以上より、腎細胞癌の進展に IL-6 が深く関与していることが示唆されたが、必ずしも癌細胞が産生しているものではないことが示された。

本論文の要旨は第 81 回日本泌尿器科学会総会において発表した。なお、血清中 IL- 1β 、IL-6、TNF- α の測定は SRL (株) の協力を得た。

文 献

- 1) 里見佳昭：腎癌の予後に関する臨床的研究，特に生体側の因子を中心に一，日泌尿会誌，64，195—216，1973。
- 2) Mitsuyama, K., Sato, M. and Tanikawa, K.: Significance of interleukin-6 in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterologia Japonica*, 26, 20—28, 1991.
- 3) Naito, S., Kanamori, T., Hisano, S., Tanaka, K., Momose, S. and Kamata, N.: Human renal cell carcinoma: Establishment and characterization of two new cell lines. *J. Urol.*, 128, 1117—1121, 1982.
- 4) Kanayama, H., Tanaka, K., Aki, M., Kagawa, S., Miyaji, H., Satoh, M., Okada, F., Satoh, S., Shimbara, N. and Ichihara, A.: Changes in expressions of proteasome and ubiquitin genes in human renal cancer cells. *Cancer Res.*, 51, 6677—6685, 1991.
- 5) Bottiger, L.E.: *Acta Med. Scand.*, 156, 477—485, 1957.
- 6) Hirano, T., Yasukawa, K., Harada, H., Taga, T., Watanabe, Y., Matsuda, T., Kashiwamura, S., Nakajima, K., Koyama, K., Iwamatsu, A., Tsunasawa, S., Sakiyama, F., Matsui, H., Takahara, Y., Taniguchi, T. and Kishimoto, T.: Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*, 324, 73—76, 1986.
- 7) Andus, T., Geiger, T., Hirano, T., Northof, H., Ganter, U., Bauer, J., Kishimoto, T. and Heinrich, P.C.: Recombinant human B cell stimulatory factor 2 (BSF-2/INF β 2) regulates β -fibrinogen and albumin mRNA levels in Fao-9 cells. *F.E.B.S. Lett.*, 221, 18—22, 1987.
- 8) Andus, T., Geiger, T., Hirano, T., Kishimoto, T. and Heinrich, P.C.: Action of recombinant human interleukin 6, interleukin 1β and tumor necrosis factor α on the mRNA induction of acute-phase proteins. *Eur. J. Immunol.*, 18, 739—746, 1988.
- 9) Akira, S., Hirano, T., Taga, T. and Kishimoto, T.: Biology of multifunctional cytokines: IL6 and related molecules (IL1 and TNF). *F.A.S.E. B. J.*, 4, 2860—2867, 1990.
- 10) Bray, J.-Y., Negrier, S., Combaret, V., Attali, S., Goillot, E., Merrouche, Y., Mercatello, A., Ravault, A., Tourani, J.-M., Moskovtchenko, J.-F., Philip, T. and Favrot, M.: Serum level of interleukin 6 as a prognosis factor in metastatic renal cell carcinoma. *Cancer Res.*, 52, 3317—3322, 1992.
- 11) Tsukamoto, T., Kumamoto, Y., Miyao, N., Masumori, N., Takahashi, A. and Yanase, M.: Interleukin-6 in renal cell carcinoma. *J. Urol.*, 148, 1778—1782, 1992.
- 12) Takenawa, J., Kaneko, Y., Fukumoto, M., Fukatsu, A., Hirano, T., Fukuyama, H., Nakayama, H., Fujita, J. and Yoshida, Y.: Enhanced expression of interleukin-6 in primary renal cell carcinomas. *J. Natl. Cancer Inst.*, 83, 1668—1672, 1991.
- 13) Miki, S., Iwano, M., Miki, Y., Yamamoto, M., Tang, B., Yokokawa, K., Sonoda, T., Hirano, T. and Kishimoto, T.: Interleukin-6 (IL-6) functions as an autocrine growth factor in renal cell carcinomas. *F.E.B.S. Lett.*, 250, 607—610, 1989.
- 14) Bani, M.R., Garofalo, A., Scanziani, E. and Giavazzi, R.: Effect of interleukin-1-beta on metastasis formation in different tumor systems. *J. Natl. Cancer Inst.*, 83, 119—123, 1991.
- 15) Malik, S.T.A., Naylor, M.S., East, N., Oliff, A. and Balkwill, F.R.: Cells secreting tumour necrosis factor show enhanced metastasis in nude mice. *Eur. J. Cancer*, 26, 1031—1034, 1990.

- 16) Okada, Y., Tsuchiya, H., Shimizu, H., Tomita, K., Nakanishi, I., Sato, H., Seiki, M., Yamashita, K. and Hayakawa, T.: Induction and stimulation of 92kDa gellatinase/type IV collagenase production in osteoblastoma and fibrosarcoma cell lines by tumor necrosis factor α . *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 171, 610—617, 1990.
 - 17) 熊谷勝男, 力石秀実: 臓器特異的転移とサイトカイン. *Mebio.*, 9, 31—36, 1992.
 - 18) 駒澤宏幸, 小島政芳, 五十嵐雄, 斉木育夫: 腫瘍の転移と接着分子. *Mebio.*, 10, 99—107, 1993.
 - 19) 亀木裕徳: 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. *泌尿紀要*, 39, 301—306, 1993.
(1993年9月14日受付, 12月21日受理, 特別掲載)
-