

## 尿路性器悪性腫瘍における circulating immune complexes の検討

奈良県立医科大学泌尿器科学教室

松 木 尚, 大園 誠 一 郎, 山 口 尚 子, 北 川 恒 代  
常 深 邦 彦, 趙 順 規, 三 馬 省 二  
平 尾 佳 彦, 岡 島 英 五 郎

奈良県立医科大学細菌学教室

米 増 國 雄, 佐 々 木 隆 子

ジェイ・エム・エル研究開発部

栄 田 英 根, 実 洩 豊

### ANALYSIS OF CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES IN PATIENTS WITH UROGENITAL MALIGNANCIES

HISASHI MATSUKI, SEIICHIRO OZONO, HISAKO YAMAGUCHI, HISAYO KITAGAWA,  
KUNHIKO TSUNEMI, MASAKI CHO, SHOJI SAMMA,  
YOSHIHIKO HIRAO and EIGORO OKAJIMA  
*Department of Urology, Nara Medical University*

KUNIO YONEMASU and TAKAKO SASAKI  
*Department of Bacteriology, Nara Medical University*

HIDEO SAKAEDA and YUTAKA MIBUCHI  
*Japan Medical Laboratories Co., Ltd.*

Received January 16, 1992

*Summary:* The present investigation was conducted to examine the efficacy of the circulating immune complexes (CIC) in patients with urogenital cancer.

A total of 62 patients including 10 cases of renal cell carcinoma, 7 of renal pelvic and/or ureteral cancer, 35 of bladder cancer, 9 of prostatic cancer and 1 of testicular cancer were examined. Twelve patients with urolithiasis, 11 with chronic nephritis, and 12 healthy volunteers were used as controls. CIC levels of the sera and urine in each case were determined by Clq solid-phase enzyme immunoassay technique developed by Japan Medical Laboratories Co., Ltd.

CIC levels of the sera in patients with bladder cancer were significantly higher than those in healthy controls ( $p < 0.05$ ). According to the stage and grade of bladder cancer, CIC levels of the sera in T1a, grade 1 and grade 2 patients were significantly higher than those

in healthy controls ( $p < 0.05$ ).

CIC levels of the urine in patients with bladder cancer and chronic nephritis were significantly higher than those in healthy controls ( $p < 0.05$ ). According to the stage and grade of bladder cancer, CIC levels of the urine in T1a and grade 2 patients were higher than those in healthy controls ( $p < 0.1$ ).

These results indicate that high levels of CIC of the sera and urine were present in patients with low stage and low grade bladder cancer. Further investigations to analyze a tumor specific antigen and to make an antibody from the sample in patients with bladder cancer will be warranted.

### Index Terms

circulating immune complexes, urogenital malignancy

## 緒 言

担癌状態における宿主のリンパ球は、in vitro では各個体由来の培養腫瘍細胞に対して cytotoxic effect を有しているが、一般に生体内においては、腫瘍は抑制されることなく成長する。この矛盾を説明する因子の一つとして blocking factor があり、しかもその blocking factor は tumor specific antibody と tumor associated antigen との immune complex (以下 IC と略す) である可能性が示唆されている<sup>1)</sup>。また、癌細胞のように増殖の著しい細胞では、その表面抗原が血中に遊離し、宿主の免疫応答を惹起することによって癌特異的な IC を形成する可能性がある。そのような IC を circulating immune complexes (以下 CIC と略す) と呼び、近年各種癌患者において CIC が証明され、担癌患者における CIC の意義について研究されつつある。しかし、その測定方法は従来より複雑なものが多く、最近になってようやく実用化されるに至った。今回われわれは、ジェイ・エム・エルにて独自に改良された Clq solid-phase enzyme immunoassay 法を用いて尿路性器癌患者の血中および尿中 CIC を測定し、その臨床的意義について検討した。

## 対象症例および方法

対象症例は、1988年11月より1990年5月の間に奈良県立医科大学泌尿器科にて入院した初発未治療の担癌症例62例で、疾患別内訳は腎細胞癌10例、腎盂尿管移行上皮癌7例、膀胱移行上皮癌35例、前立腺癌9例および精巣腫瘍(セミノーマ)1例である。なお、対照群として同期間に奈良県立医科大学泌尿器科に入院した尿路結石症例12例、同第1内科に通院する慢性腎炎症例11例および健康成人12人を用いた。これらの内訳は、20歳から86歳(平均58.5歳)の男性71例、女性26例の計97例

で、各々同意を得た上で、末梢血5ml、一時尿10mlを採取した。

採取した血液は直ちに血清分離しその血清を、一方尿は直ちに遠沈しその上清を、各々-20℃にて保存した。また同時に尿中Cr値および尿沈渣を測定した。その後、CIC値をClq solid-phase enzyme immunoassay法にて測定した。本法は、Clqをポリスチレンのトレイに固相化して、それに結合する検体に含まれるCICを西洋ワサビのペルオキシダーゼ(horse-radish peroxidase, HRPと略す)で標識した抗ヒトIgG抗体のFab'分画を用いて、2, 2'-Azino-di-[3-ethyl-benzthiazoline sulfate (6)] (ABTSと略す)を基質として、発色定量するもので、概要はFig. 1に示した。血中CICの正常値は、ジェイ・エム・エルにおいて過去に測定された健康成人の血清値より1.8  $\mu\text{g/ml}$  に設定されているため、これを用いた。尿中CIC値は、ジェイ・エム・エルにて18-78歳までの健康成人48人のCIC値を測定した後、尿中Cr値で補正し、mean  $\pm$  3 SDを正常値とすることにした。

また、有意差検定にはt検定を用いた。

## 結 果

### 1. 血中CIC値の検討

対照群を含む全症例の血清中CIC値を性別ならびに年齢別に示したが、とくに一定の傾向はみられなかった(Table 1)。次いで、血中CIC値を疾患別にみると(Table 2)、健康成人、前立腺癌および慢性腎炎の各群の全症例が正常値の1.8  $\mu\text{g/ml}$  以下を呈し、腎細胞癌の2例(20.0%)、腎盂尿管癌の2例(28.6%)、膀胱癌の7例(20.0%)、精巣腫瘍の1例(100%)および尿路結石症の2例(16.7%)が1.8  $\mu\text{g/ml}$  以上の高値を示した。各疾患別の平均血中CIC値をみると、健康成人群の0.83  $\pm$  0.47 ( $\mu\text{g/ml}$ )と比較して、膀胱癌の1.19  $\pm$  0.77 ( $\mu\text{g/ml}$ )

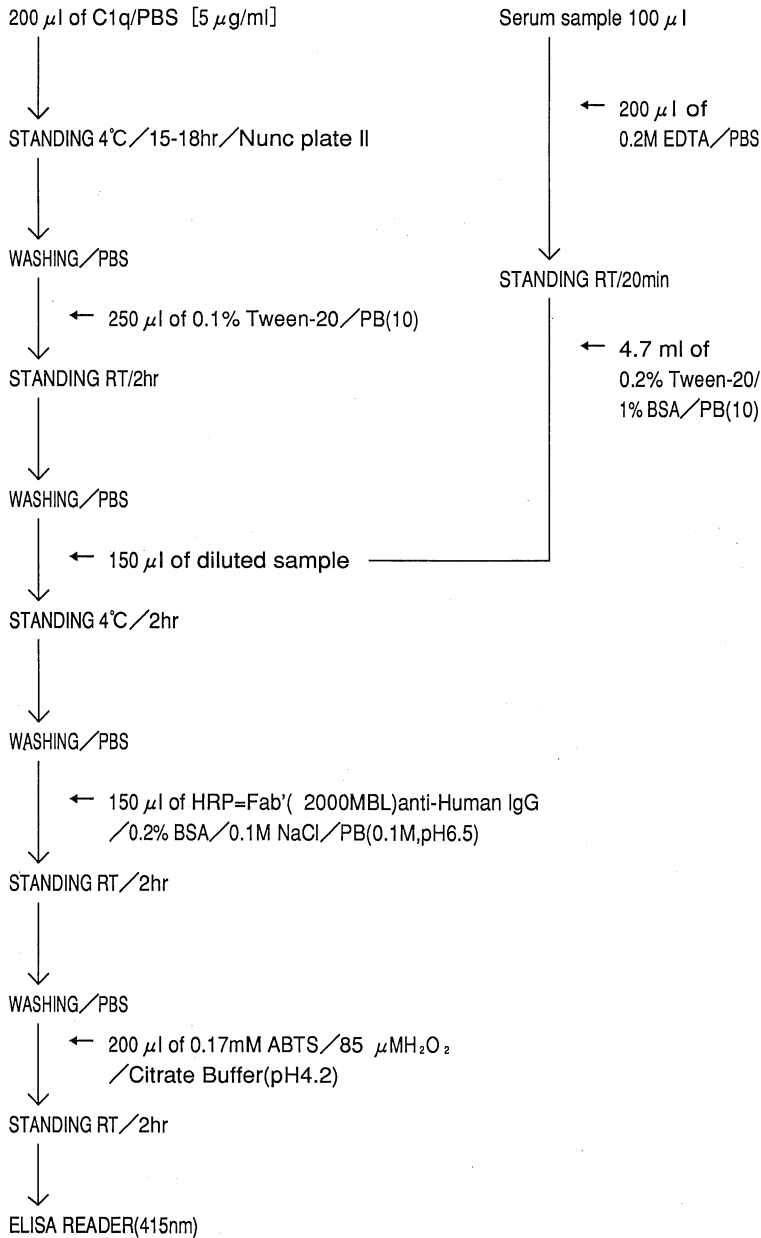


Fig. 1. Procedure of measurement of CIC.

が有意に高く ( $p < 0.05$ ), 慢性腎炎の  $0.62 \pm 0$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) が有意に低かった ( $p < 0.01$ ).

膀胱癌に関して血中 CIC 値を膀胱癌取扱い規約による stage 別に比較すると (Table 3), Ta の 2 例 (28.6%), T1a の 2 例 (13.3%), T1b の 1 例 (14.3%), T 3 の 1 例 (50.0%) および T 4 の 1 例 (50.0%) で正常値より高値を示した. したがって, low stage の膀胱癌に CIC が

高値となる傾向が認められ, 各群の平均血中 CIC 値をみると T1a 群と健康成人群の間には有意差 ( $p < 0.05$ ) が認められた. また, grade 別の検討では (Table 4), 高値を示したものは G 1 の 2 例 (40.0%), G 2 の 4 例 (15.4%) および G 3 の 1 例 (25.0%) で, 平均血中 CIC 値は G 1 群および G 2 群と健康成人群との間に有意差 ( $p < 0.05$ ) が認められた.

Table 1. Mean CIC levels of the sera

age	male*(n)	female*(n)	total*(n)
20-29	4.48±8.76(6)	0.62±0.01(4)	2.93±6.83(10)
30-39	1.06±0.54(5)	0.93±0.43(2)	1.02±0.48(7)
40-49	1.67±1.31(5)	1.24±1.09(3)	1.51±1.17(8)
50-59	1.37±0.72(11)	1.97±3.83(8)	1.62±2.47(19)
60-69	0.79±0.28(21)	0.71±0.20(4)	0.78±0.27(25)
70-79	1.98±4.34(14)	1.88±1.73(5)	1.96±3.78(19)
80-	1.31±0.65(9)	—	1.31±0.65(9)
total	1.58±3.20(71)	1.39±2.25(26)	2.16±6.82(97)

\*mean±SD (μg/ml) (n) : No of cases

Table 2. CIC levels of the sera in patients with urological cancer, urolithiasis and nephritis

	healthy volunteers	renal cell carcinoma	renal pelvic or ureteral cancer	bladder cancer	prostatic cancer	testicular cancer	urolithiasis	nephritis
No. of cases	12	10	7	35	9	1	12	11
Mean±SD	0.83±0.47	2.55±5.11	1.38±1.23	1.19±0.77*	0.82±0.35	22.35±0	1.95±3.11	0.62±0**
Positive rate (%)	0	20.0	28.6	20.0	0	100	16.7	0

\*p<0.05 (compared with healthy volunteers)

\*\*p<0.05 (compared with healthy volunteers)

Table 3. CIC levels of the sera according to the stage of bladder cancer

	healthy volunteers	Ta	T1a	T1b	T2	T3	T4	Tis
No. of cases	12	7	15	7	1	2	2	1
Mean±SD	0.83±0.47	1.15±0.74	1.23±0.59*	1.01±0.66	0.60±0	1.25±0.92	2.24±2.28	0.60±0
Positive rate (%)	0	28.6	13.3	14.3	0	50.0	50.0	0

\*p<0.05 (compared with healthy volunteers)

Table 4. CIC levels of the sera according to the grade of bladder cancer

	healthy volunteers	G1	G2	G3
No. of cases	12	5	26	4
Mean±SD	0.83±0.47	1.55±0.75*	1.15±0.80*	0.94±0.64
Positive rate (%)	0	40.0	15.4	25.0

\*p<0.05 (compared with healthy volunteers)

## 2. 尿中CIC値の検討

正常尿中CIC値の設定のためにジェイ・エム・エルにて採取した健常成人48人の年齢別および性別の尿中CIC値をTable 5に示した。この結果より、尿中CIC値の正常上域を1.4mg(mean±3SD)とした。

全症例の尿中CIC値を性別ならびに年齢別に示した(Table 6)が、一定の傾向はみられなかった。次いで、尿

中CIC値を疾患別にみると、健常成人、前立腺癌および精巣腫瘍の各群の全症例の尿中CIC値は1.4mg以下であった(Table 7)。尿中CIC値が正常値以上を示したものは、腎細胞癌の4例(40.0%)、腎盂尿管癌の2例(28.6%)、膀胱癌の13例(37.1%)、尿路結石症の2例(16.7%)および慢性腎炎の8例(72.7%)であった。平均尿中CIC値は、膀胱癌(3.59±6.00mg)と慢性腎炎(6.87±

6.70 mg)の 2 群で健常成人群( $0.54 \pm 0.29$  mg)との間に有意差が認められた( $p < 0.05$ ).

全症例における尿沈渣の赤血球数と尿中 CIC 値との間に相関関係は認められなかった. また同様に白血球数と尿 CIC 値の間にも相関関係は認められなかった.

膀胱癌の尿中 CIC 値と stage および grade との関係をそれぞれ Table 8 および Table 9 に示した. 正常値以上を示したものは, stage 別では Ta の 2 例(28.6%), T1a の 7 例(46.7%), T1b の 1 例(14.3%), T 3 の 1 例(50.0%), および T 4 の 2 例(100%)で, grade 別では

Table 5. Mean CIC levels of the urine from healthy volunteers

age	male*(n)	female*(n)	total*(n)
10-19	$0.20 \pm 0.05$ (4)	$0.39 \pm 0.17$ (12)	$0.34 \pm 0.17$ (16)
20-29	$0.40 \pm 0.19$ (9)	$0.15 \pm 0$ (1)	$0.37 \pm 0.21$ (10)
30-39	$0.67 \pm 0.32$ (4)	$0.63 \pm 0$ (1)	$0.66 \pm 0.28$ (5)
40-49	$0.42 \pm 0.13$ (4)	$0.67 \pm 0.02$ (2)	$0.50 \pm 0.16$ (6)
50-59	$0.39 \pm 0$ (1)	$0.97 \pm 0.58$ (3)	$0.82 \pm 0.55$ (4)
60-69	$0.67 \pm 0.39$ (5)	$0.91 \pm 0$ (1)	$0.70 \pm 0.37$ (6)
70-79	$0.43 \pm 0$ (1)	—	$0.43 \pm 0$ (1)
total	$0.46 \pm 0.27$ (28)	$0.53 \pm 0.34$ (20)	$0.49 \pm 0.30$ (48)

\*mean  $\pm$  SD (mg) (n) : No of cases

Table 6. Mean CIC levels of the urine

age	male*(n)	female*(n)	total*(n)
20-29	$0.59 \pm 0.41$ (6)	$5.07 \pm 6.91$ (4)	$2.38 \pm 4.62$ (10)
30-39	$0.89 \pm 0.17$ (5)	$5.14 \pm 4.43$ (2)	$2.11 \pm 2.75$ (7)
40-49	$1.04 \pm 0.70$ (5)	$0.72 \pm 0.49$ (3)	$0.92 \pm 0.61$ (8)
50-59	$5.18 \pm 9.56$ (11)	$5.48 \pm 6.85$ (8)	$5.31 \pm 8.31$ (19)
60-69	$2.01 \pm 3.36$ (21)	$1.81 \pm 1.55$ (4)	$1.98 \pm 3.12$ (25)
70-79	$2.42 \pm 3.43$ (14)	$3.92 \pm 3.70$ (5)	$2.29 \pm 2.92$ (19)
80-	$1.33 \pm 0.80$ (9)	—	$1.33 \pm 0.80$ (9)
total	$2.23 \pm 4.53$ (71)	$3.97 \pm 5.02$ (26)	$2.70 \pm 4.71$ (97)

\*mean  $\pm$  SD (mg) (n) : No of cases

Table 7. CIC levels of the urine in patients with urological cancer, urolithiasis and nephritis

	healthy volunteers	renal cell carcinoma	renal pelvic or ureteral cancer	bladder cancer	prostatic cancer	testicular cancer	urolithiasis	nephritis
No. of cases	12	10	7	35	9	1	12	11
Mean $\pm$ SD	$0.54 \pm 0.29$	$1.91 \pm 2.99$	$1.36 \pm 1.27$	$3.59 \pm 6.00^*$	$0.93 \pm 0.25$	$0.33 \pm 0$	$1.16 \pm 0.68$	$6.87 \pm 6.70^*$
Positive rate (%)	0	40.0	28.6	37.1	0	0	16.7	72.7

\* $p < 0.05$  (compared with healthy volunteers)

Table 8. CIC levels of the urine according to the stage of bladder cancer

	healthy volunteers	Ta	T1a	T1b	T2	T3	T4	Tis
No. of cases	12	7	15	7	1	2	2	1
Mean $\pm$ SD	$0.54 \pm 0.29$	$2.85 \pm 3.58$	$4.98 \pm 8.46^*$	$1.02 \pm 0.70$	$0.94 \pm 0$	$1.72 \pm 1.63$	$4.21 \pm 0.22$	$1.13 \pm 0$
Positive rate (%)	0	28.6	46.7	14.3	0	50.0	100	0

\* $p < 0.1$  (compared with healthy volunteers)

Table 9. CIC levels of the urine according to the grade of bladder cancer

	healthy volunteers	G1	G2	G3
No. of cases	12	5	26	4
Mean±SD	0.54±0.29	3.09±3.84	3.08±6.53*	5.07±3.77
Positive rate (%)	0	40.0	26.9	100

\*p<0.1 (compared with healthy volunteers)

G 1 の 2 例(40.0%), G 2 の 7 例(26.9%)および G 3 の 4 例(100%)であった。平均尿中 CIC 値の検討では、stage において T1a 群, grade において G 2 群が、健常成人群に対して高い傾向(p<0.1)を示した。

### 考 察

血中 CIC は、担癌患者において疾患の種類により陽性率は異なるものの、その測定方法の違いはあるが上昇しているという報告は多数みられる<sup>11-14)</sup>。しかし、これまでの測定方法が複雑で、多数の検体を処理することが困難であった。しかし、ジェイ・エム・エルにて独自に改良された Clp solid-phase enzyme immunoassay 法では、多量の検体を短時間で正確に処理することが可能となった。

近年、泌尿器科領域でも悪性腫瘍患者の血中 CIC 値の関連性が報告され<sup>5)-10)</sup>、悪性腫瘍の病態解明に大きな役割を果たすものとして注目されている。小林<sup>5)</sup>によれば膀胱癌患者の 32%が、腎細胞癌患者の 30%、また前立腺癌患者の 20%が陽性であったと報告し、酒井<sup>6)</sup>は膀胱癌患者の 4.8%、腎細胞癌患者の 33%、また前立腺癌患者の 18.7%が陽性で、腎盂尿管癌患者には陽性例が認められなかったと報告している。われわれの検討では、膀胱癌患者の 20.0%、腎細胞癌患者の 20.0%、また腎盂尿管癌患者の 28.6%に陽性例を認めたが、前立腺癌患者には陽性例は認められなかった。このように報告者によりその陽性率に差はあるものの、いずれの報告もその陽性率は高くなかった。膀胱癌においては high stage 群が low stage 群よりも、また high grade 群が low grade 群よりもその陽性率が高いという報告もみられるが<sup>5)</sup>、われわれの検討では high stage 群が low stage 群と比較して陽性率は高くなく、むしろ low stage の T1a 群のみ健常成人群と比較して有意差がみられた。しかし、T 4 症例で 1 例であるが、血中 CIC 値がかなり高値の症例が認められた。また、grade に関しても、むしろ low grade の症例群のほうが高い陽性率を示した。これは、われわれの検討では high stage および high grade の症例

数が少ないことによるものかもしれない。

担癌患者の尿中 CIC 値の測定を行った報告は現在まであまり認められないが、Gupta ら<sup>11)-12)</sup>は尿中より腫瘍関連抗原を抽出し、さらに Huth ら<sup>13)</sup>はその腫瘍関連抗原と血清中の CIC との関係調べている。その結果、尿中に腫瘍関連抗原が認められた患者の 78%に血清中の CIC が高値に反応したとしており、しかも CIC は腎臓の glomerular basement membrane に沈着するのではないかと仮定している。今回の検討では、尿中 CIC 値が高値の症例で血中 CIC 値も高値であった症例はほとんどなく、とくに尿路上皮腫瘍では、直接尿中に腫瘍抗原が遊離していることが推察される。

今回の測定方法では尿路腫瘍に対する陽性率は低く腫瘍マーカーとはなり得ないが、CIC 値の高かった検体より腫瘍特異抗原を分離できれば、その抗原に対する抗体を作製することが可能である。そこで、その抗体がより特異性および感受性の高い腫瘍マーカーとなり得るかもしれない。今後、尿中に遊離すると思われる腫瘍抗原の分離が課題であろう。

### 結 語

担癌患者 62 例と対照症例 35 例に対し、血清中および尿中の CIC を測定した結果、

- 1) 膀胱癌症例群の血中 CIC は、健常成人群と比較して有意に高かった(p<0.05)。
- 2) 膀胱癌症例の血中 CIC は、stage では T1a 群が、grade では G 1 および G 2 群が健常成人群と比較して有意に高かった(p<0.05)。
- 3) 膀胱癌および慢性腎炎の症例の尿中 CIC は健常成人群と比較して有意に高かった(p<0.05)。
- 4) T1a および G 2 の膀胱癌症例の尿中 CIC は健常成人群と比較して高い傾向がみられた(p<0.1)。

以上の結果より、膀胱癌患者には健常成人に比較して高い濃度で血中および尿中に CIC が存在し、今後、抗体を作製することにより腫瘍マーカーとなり得る可能性が示唆された。

本研究は厚生省がん研究助成金による班研究〔2-21〕の助成を受けた。本論文の要旨は第78回日本泌尿器科学会総会において発表した。

(本研究をおこなうにあたり多大な御援助を頂いた奈良県立医科大学第1内科学教室の諸兄に心より感謝申し上げます。)

## 文 献

- 1) **Theofilopoulos, A. N., Wilson, C. B. and Dixon, F. J.** : The Raji cell radioimmune assay for detecting immune complexes in human sera. *J. Clin. Invest.* **57** : 169-182, 1976.
- 2) **Samayoa, E. A., McDuffie, F. C., Nelson, A. M., Go, V. L. W., Luthra, H. S. and Brumfield, H. W.** : Immunoglobulin complexes in sera of patients with malignancy. *Int. J. Cancer* **19** : 12-17, 1977.
- 3) **Gropp, C., Havemann, K., Scherfe, T. and Ax, W.** : Incidence of circulating immune complexes in patients with lung cancer and their effect on antibody-dependent cytotoxicity. *Oncology* **37** : 71-76, 1980.
- 4) **Singhal, A. K., Singhal, M. C., Nudelman, E., Hakomori, S., Balint, J.P., Grant, C. K. and Snyder, H. W. Jr.** : Presence of fucolipid antigens with mono- and dimeric X determinant (Le<sup>x</sup>) in the circulating immune complexes of patients with adenocarcinoma. *Cancer Res.* **47** : 5566-5571, 1987.
- 5) 小林克己 : 尿路悪性腫瘍患者の circulating immune complexes の検出とその変動, および担癌患者末梢血リンパ球の cell-mediated cytotoxicity に及ぼす影響. *日泌尿会誌.* **74** : 1674-1686, 1983.
- 6) 酒井俊助, 加藤直樹, 伊藤康久, 松田聖士, 小出卓也, 出口 隆, 栗山 学, 坂 義人, 西浦常雄, 鄭漢彬 : 尿路性器癌患者におけるポリエチレングリコール沈降物補体消費試験による Circulating Immune Complexes の測定. *泌尿紀要.* **30** : 1611-1617, 1984.
- 7) **Kobayashi, K., Umeda, T., Akaza, H., Niiijima, T., Aikawa, T. and Tanimoto, K.** : Circulating immune complexes in patients with bladder cancer and other malignancies of the urogenital tract. *Urol. Int.* **39** : 232-235, 1984.
- 8) **Skaarup, P., Jensenius, J. C., Brandslund, I., Svehag, S. -E. and Wolf, H.** : Association of circulating immune complexes with glomerular proteinuria in patients with transitional cell carcinoma of the urinary bladder. *Eur. Urol.* **10** : 249-253, 1984.
- 9) **Julkunen, I., Pyrhönen, S., Alfthan, O., Räsänen, J. and Wager, O.** : Serum immune complexes and rheumatoid factors in superficial bladder tumours. *J. Clin. Lab. Immunol.* **22** : 121-126, 1987.
- 10) **Iizumi, T., Yazaki, T., Kanoh, S., Koiso, K., Inage, H., Koyama, A. and Tojo, S.** : Circulating immune complexes and immunosuppressive acidic protein in patients with renal cell carcinoma. *J. Urol.* **134** : 1097-1100, 1985.
- 11) **Gupta, R. K. and Morton, D. L.** : Presence of human tumor-associated antigen(s) in urine of patients with cancer. *Surg. Forum* **26** : 158-160, 1975.
- 12) **Gupta, R. K. and Morton, D. L.** : Detection of cancer-associated antigen(s) in urine of sarcoma patients. *J. Surg. Oncol.* **11** : 65-74, 1979.
- 13) **Huth, J. F., Gupta, R. K. and Morton, D. L.** : Relationship between circulating immune complexes and urinary antigens in human malignancy. *Cancer* **49** : 1150-1157, 1982.