

原 著

大腸癌患者における術前血清インターロイキン6が 全身性炎症反応に与える影響についての検討

獨協医科大学 第二外科学

清水 崇行 石塚 満 高木 和俊
岩崎 喜実 渋谷 紀介 田中 元樹
西 雄介 青木 琢 窪田 敬一

要 旨 背景：全身性炎症反応は担癌患者における免疫応答を反映し、予後と関連することが報告されている。

目的：血清インターロイキン6 (IL-6) と臨床背景因子、とりわけ全身炎症性反応との関連について大腸癌患者を対象として検討すること。

方法：大腸癌患者20人の術前IL-6濃度を測定し、L群(低IL-6群, 11人; IL-6 < 10 pg/ml) とH群(高IL-6群, 9人; IL-6 ≥ 10 pg/ml) の2群に分けて臨床背景因子との関連について検討した。

結果：血清C-reactive protein (CRP) 値 > 1.0 mg/dl ($P=0.038$), 血沈; 9 ± 7 versus 31 ± 24 (mm/hr, $P=0.031$) が2群間で有意差を認められたが、血小板数・血清アルブミン値・Glasgow Prognostic Score・好中球リンパ比に2群間で有意差は認めなかった。2群間の生存曲線による解析は、H群はL群に比べて予後不良の傾向を認められたが、統計学的な有意差は認められなかった。

結論：高IL-6血症は大腸癌術前患者における高CRP値、血沈の亢進といった全身性炎症反応と相関し、予後との関連を示唆するものであった。

Key Words：インターロイキン6, C-reactive protein, 全身性炎症反応, 大腸癌, 血沈

緒 言

近年、担癌患者における全身性炎症反応と患者の予後が関連するという研究結果が蓄積されている¹⁻³⁾。種々の癌腫において全身性炎症反応が単なる悪液質の指標としてではなく、従来の腫瘍マーカーと異なった機序で予後予測に有用であることが示されてきた⁴⁾。腫瘍マーカーの多くが腫瘍の抗原や分泌される物質を直接測定し評価する。一方、担癌患者における全身性炎症反応とは、宿主免疫が腫瘍を認識することで活性化し、細胞間伝達物質として炎症性サイトカイン群が血中に放出され、急性期炎症性蛋白であるC-reactive protein (CRP) の含

成が増加することを示す⁵⁾。腫瘍の進行と共に宿主の免疫反応は強くなるため、担癌患者における全身性炎症反応は癌の進行度を間接的に評価することができる⁵⁾。全身性炎症反応マーカーとしてはMcMillan DCらにより2004年に報告されたThe Glasgow Prognostic Score (GPS) が良く知られている⁶⁾。GPSは血中のC-reactive protein (CRP) 値とアルブミン値の組み合わせからなるスコアリングシステムで、簡便かつ安価で周術期のみならず、術後にも繰り返し評価が可能であることから、第二の腫瘍マーカーとしてその地位を確立しつつある。またGPSを構成するCRPとアルブミンは肝臓のみで産生される蛋白質であり、それぞれ炎症性サイトカインであるinterleukin-6 (IL-6) により制御されている^{7,8)}。IL-6は28個のシグナルペプチドを含む212個のアミノ酸残基からなる21~28kDの分泌型糖タンパク質である⁹⁻¹¹⁾。一方、IL-6の受容体システムは、80kDの糖タンパク質IL-6受容体とシグナル伝達を担う130kD

平成30年9月6日受付, 平成30年9月28日受理

別刷請求先: 清水崇行

〒321-0293 栃木県下都賀郡壬生町北小林880

獨協医科大学 第二外科学

の糖タンパク質 gp130 からなる¹²⁾。IL-6 は細胞膜上の IL-6 受容体に結合することによって細胞内にシグナルを伝達し、オートクラインあるいはパラクラインにサイトカインネットワークを形成すると考えられている。血中 IL-6 値を直接測定することにより全身炎症性反応を評価することが理想であるが、実臨床の場では、IL-6 の測定コストが高価であることから血清 IL-6 のルーチン評価は行われていないのが実状である。また担癌患者において、血清 IL-6 値の評価や血清 CRP 値および血清アルブミン値との相関、癌の進行および遠隔転移との関係はまだ明らかではない。以上から担癌患者における IL-6 の測定意義を調べるため、今回の研究では術前血清 IL-6 値が、大腸癌患者の炎症反応マーカーを含む臨床背景因子とどのような相関があるのかを調べることを目的とした。

方 法

2013年1月から5月の間に獨協医科大学第二外科にて大腸癌の診断で手術を受けた20名の患者を対象とした。いずれの患者においても術前に明らかな炎症反応を惹起するような病態、術前照射や閉塞性大腸炎などは認められなかった。これら20名の患者は、当院の倫理委員会です承された前向き試験 (UMIN 000010400) に登録されており、術前のインフォームドコンセントにて、他の目的での解析の承諾が得られた後に、手術前日に採血した保存血清を用いて IL-6 の濃度を測定した。測定キットはヒトインターロイキン-6 定量キット RAY-FAST® IL-6 (東レ・メディカル株式会社) を用いた。その結果に基づき、血清 IL-6 のカットオフ値は、キットの検出感度である 10 pg/ml とし、前述の大腸癌患者を L 群 (低 IL-6 群, 11 人; IL-6 < 10 pg/ml) と H 群 (高 IL-6 群, 9 人; IL-6 ≥ 10 pg/ml) の 2 群に分けて、臨床背景因子との関連について検討を行った。2 群間の比較は、分布の比較は Chi-squared test, 測定値の比較は Mann-Whitney *U* test で行い、データは mean ± standard deviation (SD) で表記した。生存曲線は Kaplan-Meier 法で描出し、有意差検定は log rank test で行った。

統計ソフトは Windows 用 IBM SPSS statistics version 25.0 パッケージ (IBM Co., New York, NY, USA) を用いて行い $P < 0.05$ をもって有意差検定で有意差ありとした。

結 果

測定キットで血清 IL-6 (≥ 10 pg/ml) が検出可能であったのは、9 例であった (45%, 9/20)。20 例のうち、

遠隔転移を有する stage IV 症例は 3 例であり、うち 2 例は肺転移、1 例は傍大動脈リンパ節転移であった。

2 群間の比較では C-reactive protein (CRP) が 1.0 mg/dl を越える患者が L 群に対し H 群で有意に多く、その他、血小板数、血清アルブミン値や GPS を含む臨床背景因子には 2 群間で有意差を認めなかった (Table 1)。

計測可能な背景因子を用いた 2 群間の比較では、全身性炎症反応関連因子である Neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) は 2 群間で有意差を認めなかったが、血沈 (mm/hr) は H 群で有意に亢進しており ($P = 0.031$) (Table 2)。

2 群間の生存曲線による解析では、H 群は L 群に比べて予後不良の傾向を認めたが、統計学的な有意差は認められなかった (Figure 1)。

考 察

血清 IL-6 と予後との関係については、少数例の解析であり、本研究において術前血清 IL-6 高値の患者群は低値の患者群に比べ術後の予後が不良である傾向が認められたが、生存曲線の解析結果では、統計学的有意差は認められなかった。しかし、術前血清 IL-6 高値の患者群は術後の予後が不良であるという結果はこれまでも内外から報告されており、今回の結果はこれまでの結果を支持するものであると考えられた^{13,14)}。

血清 IL-6 値のカットオフ値に関しては、今回用いたキットは簡易キットながら患者群を測定感度以下 (IL-6 < 10 pg/ml) の群とその他の 2 群に大別することができ、臨床上有用であると考えられた。本研究においては、カットオフ値の設定は前述の理由で 10 pg/ml としたが、他の報告においても大腸癌術前の血清 IL-6 のカットオフ値の設定を 10 pg/ml とする報告もあり、今回のカットオフ値の設定は妥当であったと考えられた¹⁴⁾。

血清 IL-6 値と臨床背景因子との関係については、リンパ節転移や肝転移そしてステージングと関連があると報告⁹⁾がある一方で、病理学的因子を含む大腸癌のステージングとの強い関連を示していない報告も存在するが、後者は血清 IL-6 カットオフ値を 10 pg/ml と設定しており、本研究に類似する¹⁴⁾。しかしながら、いずれの報告においても、血清 IL-6 高値群では低値群に比べ予後不良の結果であることについては同様であった^{13,14)}。

今回の本研究は少数の検討であるが、血清 CRP 値の分布以外には、血清 IL-6 のカットオフ値で分けた場合の 2 群間の臨床背景因子には、有意差をもつ背景因子は存在しなかった (Table 1)。このことから、2 群間の患者背景はほぼ同一であると考えられた。このような 2 群

Table 1 Relationships between distribution of clinical characteristics and IL-6 level in patients with colorectal cancer

Variable	IL-6 ≤ 10 (pg/ml) (n = 11)	IL-6 > 10 (pg/ml) (n = 9)	P-value
Age (yr)			
≤ 65	6	2	0.142
> 65	5	7	
Sex			
Male	7	5	0.714
Female	4	4	
Body mass index (kg/m ²)			
≤ 25	11	7	0.099
> 25	0	2	
Tumor location			
Colon	6	4	0.653
Rectum	5	5	
Procedure			
Open surgery	4	6	0.178
Laparoscopic surgery	7	3	
Platelet count (× 10 ⁴ /mm ³)			
≤ 30	9	6	0.436
> 30	2	3	
C-reactive protein (mg/dl)			
≤ 1.0	11	6	0.038
> 1.0	0	3	
Albumin (g/dl)			
≤ 3.5	2	4	0.202
> 3.5	9	5	
GPS			
0	9	4	0.138
1	2	3	
2	0	2	
Depth of tumor			
Tis	2	0	0.238
T1	2	1	
T2	2	0	
T3	5	7	
T4	0	1	
Lymph node metastasis			
N0	6	5	0.576
N1	2	3	
N2	3	1	
Distant metastasis			
M0	6	5	0.66
M1	2	3	
Lymphatic invasion			
absence	2	3	0.436
presence	9	6	
Venous invasion			
absence	5	5	0.653
presence	6	4	
Pathology			
well differentiated	3	3	0.471
moderately differentiated	8	5	
poorly differentiated	0	1	
Stage			
0	0	2	0.242
I	0	2	
II	5	2	
III	3	3	
IV	1	2	

Chi-squared test

GPS : Glasgow Prognostic Score, NLR : neutrophil to lymphocyte ratio

Table 2 Relationships between clinical parameters and IL-6 level in patients with colorectal cancer

Variable	IL-6 ≤ 10 (pg/ml) (n = 11)	IL-6 > 10 (pg/ml) (n = 9)	P-value
Age (yr)	66 ± 11	70 ± 14	0.552
Body mass index (kg/m ²)	22 ± 2	23 ± 4	0.941
AST (U/L)	20 ± 5	21 ± 10	0.656
ALT (U/L)	22 ± 14	21 ± 19	0.503
Total protein (g/dl)	6.6 ± 0.5	6.5 ± 0.7	0.882
BUN (mg/dl)	13 ± 3	12 ± 3	0.331
Creatinine (mg/dl)	0.7 ± 0.1	0.7 ± 0.3	0.882
White blood cell count (× 10 ³ /mm ³)	5.9 ± 1.5	6.5 ± 1.8	0.412
Lymphocyte count (× 10 ³ /mm ³)	1.6 ± 4.4	1.4 ± 2.9	0.412
Hemoglobin (g/dl)	14 ± 2	12 ± 2	0.175
CEA (ng/ml)	3.9 ± 2.7	6.2 ± 7.4	0.503
CA19-9 (U/ml)	16 ± 22	399 ± 1170	0.882
NLR	2.8 ± 1.2	2.9 ± 1.2	0.656
ESR (mm/hr)	9 ± 7	31 ± 24	0.031

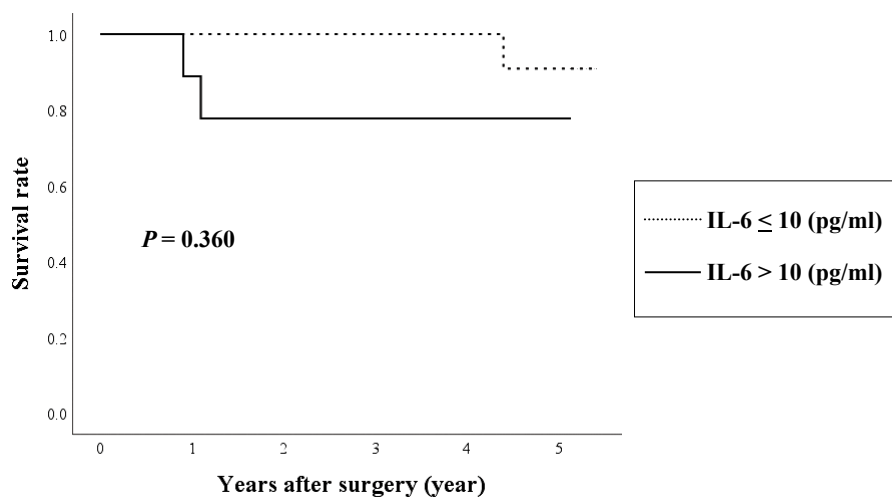
mean ± SD, Mann-Whitney *U* test

ALT : Alanine aminotransferase, AST : Aspartate aminotransferase,

BUN : Blood urea nitrogen, CEA : Carcinoembryonic antigen,

CA19-9 : Carbohydrate antigen 19-9, ESR : Erythrocyte sedimentation rate,

NLR : neutrophil to lymphocyte ratio

**Fig. 1** Overall survival of patients undergoing CRC surgery

間の比較的均一と考えられる患者背景の中で、2群間で差異を認めた臨床背景因子は、先に挙げた血清CRP値と血沈の2つのみであった。このことから血清CRP値と血沈は血清IL-6値と強い相関があると推察された^{15,16)}。

近年報告された全身性炎症反応マーカーとしては、先に述べたGPSの他に、IL-6の刺激による末梢血での血球系の反応を表すNLRや血小板数の増加を示すthrombocytosisといった血球系の全身性炎症反応マーカーも

知られているがTable 1に示すようにいずれも2群間での有意差は認められなかった^{17,18)}。このような結果のなかで唯一CRPのみが血清IL-6値と相関を認めたことは興味深い。GPSはCRP値(>1.0mg/dl=1,<1.0mg/dl=0)とアルブミン値(<3.5g/dl=1,>3.5g/dl=0)のそれぞれのカットオフ値から示された点数をカウントして0,1,2の3つにスコアリングしたものであり、これまでに大腸癌患者の予後予測にも有用であることが示されてきた^{6,19)}。2007年発表のMcMillan DCらの論文で

はCRP値とアルブミン値を比較するとCRP値のほうに予後との相関が強いことから、CRP値に重きを置くmodified GPS (mGPS) が報告され、オリジナルと同様に今日まで汎用されている^{2,20)}。今回の結果ではアルブミンの血清IL-6値との相関が認められなかったことからGPSからmGPSへの移行は妥当であったのではないかと考えられた。

血清IL-6高値における血沈の亢進するメカニズムについては、IL-6による刺激によりBリンパ球から形質細胞への分化が促進され、その結果形質細胞からの免疫グロブリンの分泌が亢進し、赤血球間の架橋形成の増加した結果、血沈が亢進するのではないかと考えられる。血沈の亢進は炎症性腸疾患のみならず悪性腫瘍においても亢進することが知られている²¹⁾。今後研究が進み、血沈が新たな血球系の全身性炎症反応マーカーの一員となる可能性も否定できない²²⁾。

以上より、癌-宿主の免疫反応に基づくIL-6を中心とした高サイトカイン血症が全身性炎症反応の根幹であり、血清IL-6値の強度を間接的に評価したものがGPSを代表とする全身性炎症反応マーカーである。全身性炎症反応マーカーは測定が簡便で、低コストであるため繰り返し行い評価することが可能であり、施設間格差を持たないといったメリットがあるため、今後ますます、実臨床の場で広まって行くと考えられるが、高サイトカイン血症を間接的に評価することから、標的臓器の状況によっては十分に評価に耐えられない場合も存在することにも留意せねばならない。実際CRPもアルブミンも肝臓でのみ産生されるため、肝機能が低下している肝細胞癌患者においてはGPSでの評価を行う際にはGPSを肝細胞癌患者用に修正する工夫も必要であった^{23,24)}。またステロイドを長期内服しているような患者群においては実際の免疫応答が押さえられている可能性もあり、このような患者群においてもGPSは低めにカウントされてしまう可能性があることにも留意せねばならない。

遠隔転移を伴うstage IVの3症例のうち、術前肺転移を認めた2例で血清IL-6の検出を認めた(>10 pg/ml)。IL-6は血管内皮細胞における接着分子であるintercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) の発現を調節し、癌細胞の接着を促進することで大腸癌患者における肝転移発症に関与していると報告されている¹³⁾。大腸癌肺転移の詳細な機構は明らかではないが、この結果から血清IL-6は肝転移だけでなく、肺転移にも関与している可能性が示唆された。しかしながら、本研究は少数例の検討であり、症例を増やしたさらなる検証が必要である。今後測定キットのコストや感度での問題が解決され

るならば、血清IL-6値は大腸癌の転移予測マーカーとなりうる可能性があると考えられた。

結 論

血清IL-6高値は大腸癌患者において血清CRP高値と赤沈の亢進と関連し、予後との関連を示唆するものであった。

文 献

- 1) Diakos CI, Charles KA, McMillan DC, et al : cancer-related inflammation and treatment effectiveness. *Lancet Oncol* **15** : e493-e503, 2014.
- 2) McMillan DC : The systemic inflammation-based Glasgow Prognostic Score : a decade of experience in patients with cancer. *Cancer Treat Rev* **39** : 534-540, 2013.
- 3) Roxburgh CS, McMillan DC : Cancer and systemic inflammation : treat the tumour and treat the host. *Br J Cancer* **110** : 1409-1412, 2014.
- 4) Douglas E, McMillan DC : Towards a simple objective framework for the investigation and treatment of cancer cachexia : the Glasgow Prognostic Score. *Cancer Treat Rev* **40** : 685-691, 2014.
- 5) Deguchi H, Tabuchi Y, Saitoh Y : Histopathological and immunohistochemical studies on the elevation mechanism of cancer associated antigens, CEA and CA19-9, in patients with colorectal cancer. *Nihon Geka Gakkai Zasshi* **89** : 671-683, 1988.
- 6) Forrest LM, McMillan DC, McArdle CS, et al : Comparison of an inflammation-based prognostic score (GPS) with performance status (ECOG) in patients receiving platinum-based chemotherapy for inoperable non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* **90** : 1704-1706, 2004.
- 7) Kishimoto T : The biology of interleukin-6. *Blood* **74** : 1-10, 1989.
- 8) Castell JV, Gomez-Lechon MJ, David M, et al : Interleukin-6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult human hepatocytes. *FEBS Lett* **24** : 237-239, 1989.
- 9) Hirano T, Yasukawa K, Harada H, et al : Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature* **324** : 73-76, 1986.
- 10) Zilberstein A, Ruggieri R, Korn JH, et al : Structure and expression of cDNA and genes for human inter-

- feron-beta-2, a distinct species inducible by growth-stimulatory cytokines. *EMBO J* **5** : 2529-2537, 1986.
- 11) Haegeman G, Content J, Volckaert G, et al : Structural analysis of the sequence coding for an inducible 26-kDa protein in human fibroblasts. *Eur J Biochem* **159** : 625-632, 1986.
 - 12) Hibi M, Murakami M, Saito M, et al : Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130. *Cell* **63** : 1149-1157, 1990.
 - 13) 葦沢 龍, 寿美 哲, 高木 眞, 他 : 大腸癌進展における interleukin-6 の検討 悪性度指標としての意義. *日消外会誌* **37** : 656-662, 2004.
 - 14) Yeh K-Y, Li Y-Y, Hsieh L-L, et al : Analysis of the Effect of Serum Interleukin-6 (IL-6) and Soluble IL-6 Receptor Levels on Survival of Patients with Colorectal Cancer. *Jpn J Clin Oncol* **40** : 580-587, 2010.
 - 15) Volanakis JE : Human C-reactive protein : expression, structure, and function. *Mol Immunol* **38** : 189-197, 2001.
 - 16) Harris TB, Ferrucci L, Tracy RP, et al : Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med* **106** : 506-512, 1999.
 - 17) Walsh SR, Cook EJ, Goulder F, et al : Neutrophil-lymphocyte ratio as a prognostic factor in colorectal cancer. *J Surg Oncol* **91** : 181-184, 2005.
 - 18) Ishizuka M, Nagata H, Takagi K, et al : Preoperative thrombocytosis is associated with survival after surgery for colorectal cancer. *J Surg Oncol* **106** : 887-891, 2012.
 - 19) Ishizuka M, Nagata H, Takagi K, et al : Inflammation-based prognostic score is a novel predictor of postoperative outcome in patients with colorectal cancer. *Ann Surg* **246** : 1047-1051, 2007.
 - 20) McMillan DC, Crozier JE, Canna K, et al : Evaluation of an inflammation-based prognostic score (GPS) in patients undergoing resection for colon and rectal cancer. *Int J Colorectal Dis* **22** : 881-886, 2007.
 - 21) Lissoni P, Brivio F, Pittalis S, et al : Clinical significance of erythro sedimentation rate in cancer in relation to cytokine production : correlation with high IL-6 and low IL-2 blood concentrations. *J Biol Regul Homeost Agents* **10** : 60-62, 1996.
 - 22) Alexandrakis MG, Passam FH, Ganotakis ES, et al : The clinical and prognostic significance of erythrocyte sedimentation rate (ESR), serum interleukin-6 (IL-6) and acute phase protein levels in multiple myeloma. *Clin Lab Haematol* **25** : 41-46, 2003.
 - 23) Ishizuka M, Kubota K, Kita J, et al : Impact of an inflammation-based prognostic system on patients undergoing surgery for hepatocellular carcinoma : a retrospective study of 398 Japanese patients. *Am J Surg* **203** : 101-106, 2012.
 - 24) Ishizuka M, Kubota K, Kita J, et al : Usefulness of a modified inflammation-based prognostic system for predicting postoperative mortality of patients undergoing surgery for primary hepatocellular carcinoma. *J Surg Oncol* **103** : 801-806, 2011.

**Investigation of the Relationship Between Preoperative Serum
Interleukin-6 Level and Clinical Characteristics Including Systemic Inflammation
Response in Colorectal Cancer Patients Undergoing Surgery**

Takayuki Shimizu, Mitsuru Ishizuka, Kazutoshi Takagi, Yoshimi Iwasaki,
Norisuke Shibuya, Genki Tanaka, Yusuke Nishi, Taku Aoki, Keiichi Kubota

Second Department of Surgery, Dokkyo Medical University

Purpose : To investigate the relationship between preoperative serum interleukin-6 (IL-6) level and clinical characteristics, including systemic inflammatory response (SIR) related characteristics, in colorectal cancer (CRC) patients undergoing surgery.

Patients and methods : Twenty CRC patients who had undergone curative surgery were divided into two groups as follows : Group A (n=9) : patients with low serum IL-6 level (<10 pg/ml) and Group B (n=11) : patients with high serum IL-6 level (≥ 10 pg/ml). Chi squared test and Mann-Whitney test were performed to compare the clinical characteristics of two groups. Kaplan-Meier analysis and log rank test were used to compare the two groups in relation to overall survival.

Results : Among a lot of clinical characteristics, there

were significant differences between the two groups in serum C-reactive protein (CRP) level (0.2 ± 0.1 versus 2.9 ± 4.9 mg/dl, mean \pm SD, $P=0.016$) and erythrocyte sedimentation rate (ESR) (9 ± 7 versus 31 ± 24 mm/hr, mean \pm SD, $P=0.031$). However, there was no significant difference between the two groups in overall survival.

Conclusion : There is a close relationship between preoperative serum IL-6 level and SIR related clinical characteristics such as serum CRP level and ESR in CRC patients.

Keywords : colorectal cancer, C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, interleukin-6, systemic inflammatory response