

전립선암세포주 PC-3에서 Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF)가 Interleukin-6 (IL-6)에 미치는 영향

Effects of Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor (GM-CSF) on the Interleukin-6 Expression in the Prostate Cancer Cell Line PC-3

Goon Hyun Kang, Soon Chul Myung, Tae Hyung Kim, Seung Young Oh, Eun Ha Won, Sang Chul Kim, Wha Su Kim¹, Young Sun Kim

From the Department of Urology, Chung-Ang University Hospital, Seoul, ¹Korea Center for Disease Control and Prevention, Korea

Purpose: Interleukin-6 (IL-6) can stimulate a variety of tumors including prostatic carcinoma. Research has recently shown that IL-6 may act to stimulate the progression of prostatic cancer. IL-6 is elevated in the sera of patients with metastatic prostatic cancer and it has been shown to be a candidate marker of disease activity. To date, little work has been performed to characterize the nature of granulocyte macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) and the expression of IL-6. The aim of this study is to evaluate the effects of GM-CSF on the expression of IL-6 in PC-3 cells.

Materials and Methods: The bone-derived PC-3 cell line was used in this study. Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was performed to detect the GM-CSF and also the IL-6 mRNA expression. The IL-6 protein was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) after treatments with the hGM-CSF.

Results: hGM-CSF was expressed in the PC-3 cell line. Our data indicated that the IL-6 mRNA expression was not increased at 4, 8 and 12 hours by the hGM-CSF in comparison to the control group, but it was slightly increased at 24 and 48 hours. The expression of IL-6 protein was increased at 4, 8, 12, 24 and 48 hours after hGM-CSF treatment, in comparison with the control group.

Conclusions: The IL-6 mRNA expression was slightly increased by hGM-CSF at 24 and 48 hours in comparison to the control group. Yet the IL-6 protein expression increased before the IL-6 mRNA expression. Therefore, hGM-CSF may modulate the post-transcription pathway of the IL-6 expression in prostate carcinoma cells. Our data suggest that GM-CSF may have a possible IL-6 mediated pathophysiologic role in prostate cancer. (Korean J Urol 2006;47:786-790)

Key Words: Prostate cancer, Interleukin-6, Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor

대한비뇨기과학회지
제 47 권 제 7 호 2006

중앙대학교 의과대학
비뇨기과학교실, ¹질병관리센터

강군현 · 명순철 · 김태형 · 오승영
원은하 · 김상철 · 김화수¹ · 김영선

접수일자 : 2006년 3월 17일
채택일자 : 2006년 5월 23일

교신저자: 김영선
중앙대학교 용산병원 비뇨기과
서울시 용산구 한강로 3가
65-207
☎ 130-702
TEL: 02-748-9978
FAX: 02-798-8577
E-mail: kthlmk@hanafos.com

이 논문은 2005년도 중앙대학교 학술 연구비 지원에 의한 것임.

서 론

전립선암은 서구의 경우, 남성에서 발병률이 가장 높으

며 사망률은 두 번째인 암이다. 국내에서는 식생활 및 생활 유형이 서구화됨에 따라 빠른 증가를 보이며 20년 전에 비하여 20배 증가를 보여, 사회적으로 중요성이 부각되고 있다.¹

Interleukin-6 (IL-6)은 면역반응과 항상성 유지 및 급성기

반응을 유도함으로써, 체내 방어기전에 중요한 역할을 하는 사이토카인이며, 아울러 전립선암의 진행에도 중요한 역할을 한다.² IL-6의 혈청 농도는 전이성 전립선암과 호르몬 불응성 전립선암에서 증가되어 있다.³ 또한 전립선암뿐만 아니라 흑색세포종, 신세포암, Kaposi 육종, 난소암, 림프종, 백혈병, 다발성 골수종 등 여러 종양이 IL-6에 의하여 자극을 받으며, IL-6은 암의 진행 및 불량한 예후와 많은 관련이 있다.^{4,5} 또한 IL-6이 LNCaP 세포에서 전립선특이항원 (prostate specific antigen; PSA) mRNA 발현을 증강시키고, 안드로겐이 고갈된 상태에서 부분적으로 LNCaP 세포의 안드로겐에 비의존적인 성장을 유발한다.⁶ 이는 IL-6이 전립선암의 성장과 분화에 중요한 역할을 하며, IL-6이 안드로겐 의존성 전립선암세포에서 안드로겐 비의존성세포로 전환하는 데 기여한다는 것을 시사한다.⁶

Granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)는 조혈 집락 자극인자 (hematopoietic colony stimulating factor) 중 하나로, 골수전구세포의 분화와 증식을 조절하고,⁷ 성숙된 단핵구와 과립구의 기능을 향진시키며, 골수배양 실험에서 파골세포를 억제하고 골아세포의 분열을 자극한다.⁸ 또한 많은 암에서 GM-CSF 또는 그 수용체가 발현되는 것이 보고되었지만,⁹ 골수를 제외한 정상조직 및 종양조직에서 GM-CSF의 정확한 병태생리적 기능은 명확치 않다. 다만 종양에서 GM-CSF는 측분비 (paracrine)와 자가분비 (autocrine)로 작용하며,¹⁰ 전립선암에서 병기가 나쁘고 뼈 및 림프선 전이가 있을 때 높게 발현한다.¹¹ 또한 전립선암 세포주에서 GM-CSF가 배양 시간과 농도에 따라 전립선암 세포주의 증식능에 영향을 미친다.¹²

따라서 GM-CSF와 IL-6은 전립선암의 증식, 진행 및 전이에 있어서 중요한 역할을 한다. GM-CSF와 IL-6의 관련성을 알아보기 위하여 전립선암세포주 PC-3에서 GM-CSF와 IL-6의 발현 유무를 확인하고, GM-CSF가 IL-6에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험재료

실험에 사용한 종양세포주는 한국 세포주 은행 (Korean Cell Line Bank)에서 인형 남성호르몬 비의존성 전립선암세포주 PC-3를 분양받아 사용하였다. 기본 배지는 RPMI 1640 (Gibco, Carlsbad, USA)에 10% 우태아혈청, L-glutamine, penicillin과 streptomycin을 첨가하여 사용하였고, 배양 용기는 5% CO₂와 95% 공기가 공급되고 적절한 습도와 37°C의 온도가 유지되도록 하였다.

2. 실험방법

1) Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)을 이용한 hGM-CSF 및 IL-6 mRNA의 발현: PC-3 세포를 5x10⁵의 세포로 10% 우태아혈청이 포함된 RPMI-1640 배지에 부유시켜 6 well 배양조에 배양하였다. 24시간 배양 후 hGM-CSF (Pierce Biotechnology, Rockford, USA) 시료는 50ng/ml 농도로 2% 우태아혈청을 함유한 RPMI-1640 배지에 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 배양조에서 4, 8, 12, 24, 48시간을 배양한 PC-3 세포주로부터 RNeasy Mini Kit (Quiagen, Germany)를 이용하여 총 RNA를 추출하였다. 추출한 RNA는 260nm와 280nm에서 흡광도를 측정하여 RNA의 양과 순도를 확인하였다.

RNA 1µg으로부터 cDNA 합성은 Reverse Transcriptase AMV kit (Roche, Germany)를 이용하여 10x reaction buffer (100mM Tris, 500mM KCl, pH 8.3) 4µl, 25mM MgCl₂ 8µl, dNTP mix (dATP, dCTP, dTTP, dGTP, 10mM each) 4µl, oligo-p (dT)₁₅ primer 4µl, RNase inhibitor 2µl, AMV reverse transcriptase 1.6µl에 DEPC-처리된 멸균 증류수를 첨가하여 총 40µl로 만들었다.

역전사 반응은 자동온도조절기 (GeneAmp PCR system

Table 1. Primer sequences of the reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

Gene		Primer sequence	Product size
GM-CSF*	Sense	5'-ATGTGGCTGCAGAGCCTGCTGC-3'	424
	Antisense	5'-CTGGCTCCCAGCAGTCAAAGGG-3'	
IL-6 [†]	Sense	5'-AAATTCGGTACATCCTCGAC-3'	295
	Antisense	5'-CAGGAAGTGGATCAGGACTT-3'	
GAPDH [‡]	Sense	5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3'	228
	Antisense	5'-GAAGATGGTGGATGGGATTTC-3'	

*GM-CSF: granulocyte macrophage colony-stimulating factor, [†] IL-6: interleukin-6, [‡] GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase

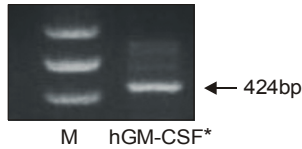


Fig. 1. hGM-CSF* expression in PC-3. *hGM-CSF: human granulocyte macrophage colony-stimulating factor.

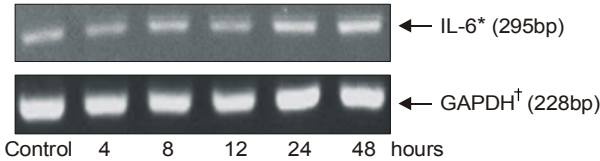


Fig. 2. Time course of the IL-6mRNA expression in PC-3 cells. The PC-3 cells were treated with hGM-CSF for the indicated times. The IL-6mRNA expression is not increased at 4, 8 and 12 hours, but the IL-6mRNA expression is increased at 24 and 48 hours. *IL-6: interleukin-6, †GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.

2400, Perkin Elmer, USA)에서 25°C에서 10분, 42°C에서 60 분간 반응시키고 역전사 효소의 불활성화를 위해 99°C에서 5분간 반응시켰다. cDNA를 합성한 후 시발체 (Table 1)를 사용하여 중합 효소 연쇄 반응법으로 각각의 유전자를 증폭시켰다. 반응은 최종농도가 10mM Tris-Cl (pH 8.3), 2mM MgCl₂, 200mM dNTP, 10pM의 각 primer, 0.5 unit Taq polymerase, cDNA 1μl을 가하여 반응액 20μl로 조절하여 수행하였다. GeneAmp PCR system 2400을 사용하여 시발체 조건에 따라 30회 반응시킨 후 증폭된 유전자 산물을 2% agarose gel에 전기영동하여 hGM-CSF와 IL-6 mRNA 발현 정도를 확인하였다. 대조군은 hGM-CSF를 처리를 제외하고 48시간 배양하였고, 나머지는 동일하였다.

2) Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 이용한 IL-6의 단백질 정량: PC-3 세포를 각각 3x10⁴의 세포로 10% 우태아혈청 함유한 RPMI-1640 배지에 부유시켜 6 well 배양조에 배양하였다. 24시간 후 hGM-CSF 시료를 50ng/ml 농도가 되도록 2% 우태아혈청을 함유한 RPMI-1640 배지에 첨가하여 37°C, 5% CO₂ 배양조에서 4, 8, 12, 24, 48시간 배양한 후 상층액을 이용하여 IL-6 단백질 발현 정도를 ELISA kit (Amersham Biosciences, Japan)를 이용하여 측정하였다. 대조군은 hGM-CSF처리를 제외하고 나머지는 동일하게 유지한 배양조에서 48시간 배양한 후, IL-6 단백질 발현을 ELISA를 이용하여 측정하였다. ELISA를 이용한 IL-6의 정량 분석은 평균±표준편차로 표시하였고, 통계적 분석은 Student's t-test를 적용하였으며, p값이 0.05 미만일 경우 의미 있는 것

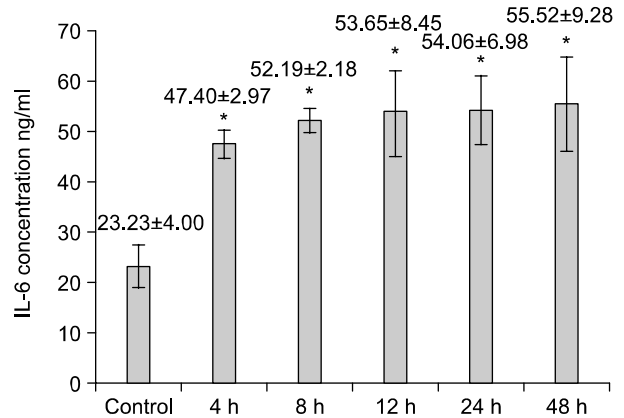


Fig. 3. The averages of the interleukin-6 (IL-6) concentrations (ng/ml) and their standard deviation for the incubation periods as determined by ELISA. The IL-6 protein expression is significantly increased at 4, 8, 12, 24 and 48 hours after hGM-CSF treatment compared with the control group. *: p<0.05.

으로 판정하였다.

결 과

1. RT-PCR을 이용한 hGM-CSF와 IL-6 mRNA의 발현

전립선암세포주 PC-3에서 정상적으로 hGM-CSF가 발현되었고 (Fig. 1), 4, 8, 12, 24, 48시간 배양한 PC-3에서 정상적으로 IL-6 mRNA가 발현되었다. 대조군에 비해 12시간까지는 발현이 증가하지 않았으나, 24시간 및 48시간에는 발현이 미약하게 증가되었다 (Fig. 2).

2. ELISA를 이용한 IL-6의 발현 확인

각각 6개 배지에서 시간별대로 배양한 전립선암세포주 PC-3에서 나타나는 IL-6의 평균값 및 표준편차는 4, 8, 12, 24, 48시간에서 각각 23.19±4.00pg/ml, 47.40±2.97pg/ml, 53.54±8.45pg/ml, 54.13±6.98pg/ml, 55.42±9.28pg/ml였다 (Fig. 3). IL-6 단백질은 control과 비교하여, 4시간 이상 배양한 경우 통계적으로 의미있게 발현이 증가하였다. 하지만 4, 8, 12, 24, 48시간에서 배양한 IL-6 단백질은 평균적으로 시간에 따라 증가하는 추세에 있었으나, 각각 배양시간별 통계적인 차이는 없었다 (Fig. 3).

고 찰

전립선암은 남성에서 발병률이 높은 질환으로, 최근에는 식생활과 생활유형이 서구화됨에 따라 국내에서도 발병률이 급속도로 증가하는 추세이다.¹ 내분비요법, 수술, 방사선

요법 등 여러 가지 치료가 이용되고 있으나, 결국에는 남성 호르몬에 대한 감수성을 상실하여 전이를 한다.

GM-CSF는 과립구 집락 자극인자 (granulocyte colony stimulating factor; G-CSF), 대식세포 집락자극인자 (macrophage colony stimulating factor; M-CSF), IL-3과 더불어 조혈 집락 자극인자이며 조혈세포의 분화를 조절한다. 이는 골수전구세포의 분화와 증식을 조절하고,⁷ 성숙된 단핵구와 과립구의 기능을 향진시키며, 면역세포의 생성을 증가시킨다. 본 연구에서 전립선암세포주 PC-3에서 hGM-CSF가 발현되었다. 다른 보고에서도 전립선암에서 GM-CSF와 그 수용체가 발현되며, GM-CSF가 전립선암세포주에 의해 생산되고 또한 전립선암세포주를 자극한다.^{13,14} 이것은 GM-CSF가 골수에 많이 존재하면서 파골세포를 억제하고 골아세포의 분열을 자극하는 작용을 하기 때문에,⁸ 전립선암의 골형성 전이 기전에 hGM-CSF가 일정한 역할을 할 가능성이 있다. 그리고 GM-CSF 및 그 수용체는 정상세포뿐만 아니라 유방암, 난소암, 방광암, 췌장암 폐 소세포암, 위암, 피부암 등 여러 악성 종양에서도 발현이 증가된다.⁹ 또한 다른 연구에서 LNCaP에서 GM-CSF 수용체가 발현하였고, 정상 전립선에서는 약하게, 전립선비대에서는 많게, 그리고 림프선과 뼈에 전이가 있는 전립선암에서 최고도로 발현하였다.¹¹ 이 또한 골전이가 있는 전립선암에서 GM-CSF가 일정 역할을 할 가능성이 있다.

IL-6은 암에서 다양하게 세포의 작용을 조절한다고 알려져 있다. IL-6은 증식과 세포고사 (apoptosis)에 관여하며, 혈관내피세포의 성장인자를 조절함으로써 혈관 생성을 자극한다.¹⁵ 또한 IL-6은 골다공증, 전신성 홍반성 낭창 (systemic lupus erythematosus) 같은 양성 질환뿐 아니라 유방암이나 난소암 같은 악성 종양에서도 증가한다.¹⁶ IL-6는 많은 세포에서 생산되지만, 분비가 적절히 조절되어 건강한 사람에게서의 혈청 농도는 매우 낮다.¹⁷ IL-6은 성장인자로 작용을 하며, 전립선암세포를 항암요법에 의한 세포고사를 막아줄 수 있다는 보고도 있다.¹⁸ IL-6 수용체 mRNA는 모든 전립선암세포주에서 존재하지만, 양성 전립선비대증에서 추출한 상피세포와 기질세포에서는 존재하지 않는다.¹⁹ IL-6는 LNCaP에서 측분비 성장인자로 작용하고, DU145와 PC-3에서 자가분비 성장인자로 작용하지만, 양성전립선비대에서 추출한 상피세포에서는 자극하는 효과가 없다고 알려져 있다.^{19,20} 여러 세포주에서 IL-6은 다양한 작용을 하며, 이것의 자극적 또는 억제적인 작용은 혼란스럽게 보이기도 하지만, IL-6은 특정한 실험의 결과에 영향을 주는 각기 다른 혈청 물질과 상호작용한다.¹⁵ 이러한 점이 전립선암에서 IL-6이 작용하는 특징적인 현상으로 여겨지고 있다.

GM-CSF는 B-림프구에 의해 IL-6의 생산을 증가시키는

데 있어서, 독립적으로 중요한 역할을 한다. 이러한 작용은 주변에 GM-CSF가 실제로 존재하는지에 따라 영향을 받으며, GM-CSF가 B-세포에서 IL-6의 생산에 직접적인 활동제나 유도물질의 기능을 한다.²¹ 본 연구에서 hGM-CSF를 처리한 호르몬 불응성 전립선암세포주 PC-3에서 IL-6 mRNA 발현이 24, 48시간에서 증가되는 추세에 있으나 현재 실험 결과로는 예단하기 어렵다. 따라서 이를 정량하여 비교하는 과정이 필요하며, 이를 통해 IL-6 mRNA 발현되는 양이 시간에 따라 증가되는지 아니면 의미 있게 증가되지 않는지 판별해야 할 것으로 생각한다.

배지의 IL-6 단백질 농도도 대조군에 비하여 증가되어 있으나, IL-6 mRNA의 발현이 증가되기 전에 이미 농도가 증가하는 것으로 보아, IL-6 단백질의 증가는 전사의 증가보다는 전사 후 과정의 영향에 의한 것으로 추정된다. 따라서 전립선암에서 IL-6을 매개로 하는 병태생리적인 기전에 GM-CSF가 일정 역할을 할 가능성이 있음을 나타낸다. 또한 IL-6 단백질이 증가함으로써 전립선암의 생물학적인 특성을 나타낸다고 추정할 수 있다. IL-6의 농도는 전립선암의 경우 골에 전이한 전립선암에서 증가하며, 또한 혈청 전립선특이항원 (PSA) 정도와 전이된 암의 존재 여부에 의해 밀접하게 연관되어 있다.^{3,22} 그리고 정상 대조군과 비교하면, 진행이 덜 된 전립선암 환자에서 사이토카인의 이상은 보이지 않는다.²² 호르몬 저항성 전립선암 환자에서 전립선비대증, 전립선염, 국소질환 또는 재발 전립선암 환자에 비해 IL-6이 증가되어 있으며, 이는 IL-6이 호르몬 비의존성 전립선암으로의 진행 및 활동성, 전립선암 환자의 생존기간을 예측해 볼 수 있는 인자임을 시사한다.^{17,23} 본 실험 결과에서도 호르몬 불응성 전립선암세포주 PC-3에서 IL-6 단백질이 증가하여, 호르몬 비의존성 전립선암으로 변화하는데 GM-CSF와 함께 중요한 역할을 담당할 것으로 생각한다.

결 론

대조군과 비교하여 GM-CSF를 처리한 전립선암세포주 PC-3에서 IL-6 mRNA 발현은 24, 48시간 배양에서 증가되는 것으로 보이나, IL-6 단백질의 발현은 IL-6 mRNA 발현이 증가되기 전에 이미 농도가 증가하였다. 이는 호르몬 비의존성 전립선암에서 GM-CSF가 IL-6 전사 이후의 경로에 관여하여 IL-6 생성을 조절하는 것이라 생각한다.

IL-6은 호르몬 비의존성 전립선암에서 발현하며, 호르몬 비의존성 전립선암으로 변화하는데 GM-CSF와 함께 중요한 역할을 담당할 것으로 생각한다. 또한 호르몬 비의존성 전립선암에 있어서 IL-6를 매개로 하는 병태생리적 기전에 GM-CSF가 관여한다고 추측된다.

REFERENCES

- National Statistical office. Republic of Korea. Korea Statistical Information System. Available from: URL: <http://kosis.nso.go.kr>
- Akira S, Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Adv Immunol* 1993;54:1-78
- Tan D, Wu X, Hou M, Lee SO, Lou W, Wang J, et al. Interleukin-6 polymorphism is associated with more aggressive prostate cancer. *J Urol* 2005;174:753-6
- Chung TD, Yu JJ, Spiotto MT, Bartkowski M, Simons JW. Characterization of the role of IL-6 in the progression of prostate cancer. *Prostate* 1999;38:199-207
- Offner FA, Obrist P, Stadlmann S, Feichtinger H, Klingler P, Herold M, et al. IL-6 secretion by human peritoneal mesothelial and ovarian cancer cells. *Cytokine* 1995;7:542-7
- Lee SO, Lou W, Hou M, de Miguel F, Gerber L, Gao AC. Interleukin-6 promotes androgen-independent growth in LNCaP human prostate cancer cells. *Clin Cancer Res* 2003;9:370-6
- Nicola NA. Hemopoietic growth factors and their interactions with specific receptors. *J Cell Physiol* 1987;Suppl 5:9-14
- Horwood NJ, Udagawa N, Elliott J, Grail D, Okamura H, Kurimoto M, et al. Interleukin 18 inhibits osteoclast formation via T cell production of granulocyte macrophage colony stimulating factor. *J Clin Invest* 1998;101:595-603
- Guillaume T, Sekhvat M, Rubinstein DB, Hamdan O, Symann ML. Transcription of genes encoding granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, interleukin 3, and interleukin 6 receptors and lack of proliferative response to exogenous cytokines in nonhematopoietic human malignant cell lines. *Cancer Res* 1993;53:3139-44
- Savarese DM, Valinski H, Quesenberry P, Savarese T. Expression and function of colony-stimulating factors and their receptors in human prostate carcinoma cell lines. *Prostate* 1998;34:80-91
- Rivas CI, Vera JC, Delgado-Lopez F, Heaney ML, Guaiquil VH, Zhang RH, et al. Expression of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptors in human prostate cancer. *Blood* 1998;91:1037-43
- Kim TH, Kim YS, Myung SC, Lee DH, Won EH, Lee SY. The prostaglandin E receptor agonists increase granulocyte macrophage colony-stimulating factor in prostate cancer cells. *Korean J Urol* 2004;45:1272-8
- Lang SH, Miller WR, Duncan W, Habib FK. Production and response of human prostate cancer cell lines to granulocyte macrophage-colony stimulating factor. *Int J Cancer* 1994;59:235-41
- Rokhlin OW, Griebing TL, Karassina NV, Raines MA, Cohen MB. Human prostate carcinoma cell lines secrete GM-CSF and express GM-CSF-receptor on their cell surface. *Anticancer Res* 1996;16:557-63
- Culig Z. Interleukin-6 polymorphism: expression and pleiotropic regulation in human prostate cancer. *J Urol* 2005;174:417
- Nakashima J, Tachibana M, Horiguchi Y, Oya M, Ohigashi T, Asakura H, et al. Serum interleukin 6 as a prognostic factor in patients with prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2000;6:2702-6
- Drachenberg DE, Elgamil AA, Rowbotham R, Peterson M, Murphy GP. Circulating levels of interleukin-6 in patients with hormone refractory prostate cancer. *Prostate* 1999;41:127-33
- Siegall CB, Schwab G, Nordan RP, FitzGerald DJ, Pastan I. Expression of the interleukin-6 receptor and interleukin-6 in prostate carcinoma cells. *Cancer Res* 1990;50:7786-8
- Okamoto M, Lee C, Oyasu R. Interleukin-6 as a paracrine and autocrine growth factor in human prostatic carcinoma cells in vitro. *Cancer Res* 1997;57:141-6
- Giri D, Ozen M, Ittmann M. Interleukin-6 is an autocrine growth factor in human prostate cancer. *Am J Pathol* 2001;139:2159-65
- Charyulu VI, Lopez DM. Elevated GM-CSF levels in tumor bearing mice upregulate IL-6 production by B cells via a mechanism independent of TNF- α . *Int J Oncol* 2000;16:161-7
- Adler HL, McCurdy MA, Kattan MW, Timme TL, Scardino PT, Thompson TC. Elevated levels of circulating interleukin-6 and transforming growth factor-beta1 in patients with metastatic prostate carcinoma. *J Urol* 1999;161:182-7
- Twillie DA, Eisenberger MA, Carducci MA, Hsieh WS, Kim WY, Simons JW. Interleukin-6: a candidate mediator of human prostate cancer morbidity. *Urology* 1995;45:542-9