扁平上皮癌細胞に対する lymphokine-activated killer (LAK) 細胞の接着性,
細胞傷害性におよぼす interferon- γ (IFN- γ) および tumor
necrosis factor (TNF- α) の影響についての研究:
腫瘍細胞上の細胞接着分子の関与について

松本 剛一・大見 寧・平田 量哉
松田 大輔・笹倉 裕一・新藤 潤一

Effects of interferon- γ (IFN- γ) and tumor necrosis factor- α (TNF- α)
on adhesion and lysis by lymphokine-activated killer (LAK) cells
of squamous cell carcinoma cells: Participation of cell-adhesion
molecules on tumor cells

Goichi MATSUMOTO・Yasushi OHMI・Kazuya HIRATA
Daisuke MATSUDA・Yuichi SASAKURA・Junichi SHINDO

Abstract: We investigated the effects of interferon- γ (IFN- γ) and tumor necrosis factor (TNF- α) treatment on NR-S1 cells (murine squamous cell carcinoma). Since NR-S1 cells treated with a combination of IFN- γ and TNF- α increased susceptibility to conjugation and lysis by lymphokine activated killer (LAK) cells, we examined the participation of cell-adhesion molecules on the NR-S1 cells in this phenomenon. Untreated NR-S1 cells expressed MHC class I, MHC class II, intercellular-adhesion molecule-1 (ICAM-1), and ICAM-2. Treatment with IFN- γ induced the expression of MHC class I and ICAM-1 molecules, but had no effect on the expression of MHC class II and ICAM-2 molecules on NR-S1 cells. Treatment with TNF- α induced the expression of ICAM-1 molecules, but had no effect on the expression of MHC class I, MHC class II and ICAM-2 molecules. However, treatment with a combination of IFN- γ and TNF- α strongly induced expression of MHC class I and ICAM-1 molecules and slightly induced expression of ICAM-2 molecules, as compared with IFN- γ or TNF- α alone.

The results indicate that the expression of ICAM-1 molecules, makes NR-S1 cells more adhesive to LAK cells and more susceptible to lysis by LAK cells.

Key words: squamous cell carcinoma (扁平上皮癌), interferon- γ (インターフェロン γ), tumor necrosis factor- α (α 型腫瘍壊死因子), LAK cells (LAK細胞), cell-adhesion molecules (細胞接着分子)

緒 言

神奈川歯科大学口腔外科学第一講座
(主任: 新藤潤一教授)

First Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Kanagawa Dental College (Chief: Prof. Junichi Shindo)

受付日: 平成7年11月7日

近年, 各種の悪性腫瘍に対して lymphokine activated killer (LAK) 細胞を用いた養子免疫療法が盛んに行なわれ, ある種の限られた腫瘍に対しては有効性が報告されている¹⁾. 現在まで, われわれも口腔癌に対して LAK 細胞による養子免疫療法を行なってきた

たが臨床的に満足すべき効果は得られていない²⁾。そのため抗腫瘍効果増強の目的で放射線療法や化学療法との併用療法なども行なわれているが、放射線、抗癌剤により惹起される免疫能の低下は生体および養子免疫療法にとって有益とは考えられず、併用療法は必ずしも有効であるとはいえない。

一般にLAK細胞などの抗腫瘍細胞が腫瘍細胞を傷害するためには腫瘍細胞に接着、結合する段階が不可欠である。そのためLAK細胞と腫瘍細胞との接着に関与するとされる細胞間接着分子の作用を知ることはLAK細胞による養子免疫療法の有効性を左右する重要な鍵であると考えられる。そこで本研究はマウス扁平上皮癌細胞であるNR-S1細胞をIFN- γ およびTNF- α で処理を行い腫瘍細胞上の細胞間接着分子であるMHC class I, II分子およびintercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) およびICAM-2分子の発現様式を検討し、さらにLAK細胞との接着およびLAK細胞の細胞傷害性の変化について研究を行った。

材料および方法

1. 腫瘍細胞

実験に用いた腫瘍細胞はマウス扁平上皮癌細胞NR-S1 (H-2K^K, I-A^K: 放射線医学総合研究所 安藤興一博士より分与) である。NR-S1は10% fetal bovine serum (FBS), 2mM glutamine, 100U/ml penicillin, 100 μ g/ml streptomycin を含むRPMI 1640 培養液 (以下10% RPMI) を用いて継代、培養を行った。

2. NR-S1細胞上の細胞間接着分子の発現およびIFN- γ , TNF- α 処理による発現量の変化

細胞間接着分子の発現はFACSscan (Becton Dickinson) を用いたフローサイトメトリー法にて検討した。検索した細胞間接着分子はMHC class I, MHC class II, ICAM-1, およびICAM-2の4種類であり、それぞれの分子に対して、FITC 標識 monoclonal anti mouse H-2K^K 抗体 (Pharminogen 社), FITC 標識 monoclonal anti mouse I-A^K 抗体 (Pharminogen 社), FITC 標識 monoclonal anti mouse ICAM-1 抗体 (Pharminogen 社), FITC 標識 monoclonal anti mouse ICAM-2 抗体 (Pharminogen 社) を用いた。細胞の標識はNR-S1を0.25%トリプシン液で処理し、フラスコ底部より剥離し、単細胞浮遊状にしたNR-S1細胞を各種モノクローナル抗体と4℃, 30分間反応させた後phosphate buffered saline (以下PBS) で2回洗浄し、FACSscanにて解析を行った。結果はlog 蛍光強度の平均値 (mean channel: MC) を用いた。次に, recombinant murine interferon- γ (以下IFN- γ : Pharminogen 社), recombinant murine tumor

necrosis factor- α (以下TNF- α : genzyme 社) によるNR-S1細胞上のH-2K^K, ICAM-1分子の発現変化におよぼす影響をサイトカインについて検討した。

3. LAK細胞の誘導

正常な5~6週齢, 雌性, C3H/Heマウス (H-2K^K, I-A^K: 日本SLC) の脾臓を摘出し, PBS中で脾細胞を浮遊させ, 50 μ m ステンレスメッシュを通過させ均一な脾細胞浮遊液とした。次にconray-ficoll比重遠心法により単核球分画を採取した。単核球細胞を 2×10^6 /mlに調整し, 2000JRU/mlのrecombinant interleukin-2 (rIL-2) 添加10%RPMIで37℃, 5%CO₂の条件下にて4日間培養を行いLAK細胞を誘導した。

4. LAK細胞のNR-S1細胞に対する細胞傷害活性におよぼすIFN- γ , TNF- α の影響

1) IFN- γ およびTNF- α によるNR-S1細胞の処理
500U/mlのIFN- γ , 200U/mlのTNF- α を単独, あるいはその両者を用いてNR-S1細胞を48時間処理した後, NR-S1細胞上のH-2K^K, I-A^K, ICAM-1, およびICAM-2分子の発現量を測定した。

2) LAK細胞による細胞傷害活性の測定

48時間のIFN- γ , TNF- α による処理を行ったNR-S1細胞をPBSにて3回洗浄した後, これをtarget細胞, そして方法3にて誘導したLAK細胞をeffector細胞としてeffector target ratio (E/T比) 40にて4時間の⁵¹Cr遊離試験法を用いて細胞傷害活性の測定を行った。

5. LAK細胞とNR-S1細胞との結合におよぼすIFN- γ , TNF- α の影響

48時間のIFN- γ , TNF- α 処理を行ったNR-S1細胞をPBSにて3回洗浄した後, これをtarget細胞, LAK細胞をeffector細胞としてBeckerら³⁾の方法に準じてsingle cell conjugated formation assayを行った。すなわち単細胞化したNR-S1を10 μ g/mlのcarboxyfluorescein diacetateと, またLAK細胞は30 μ g/mlのhydroetidineと37℃, 5%CO₂の条件下にて30分間培養し細胞の蛍光標識を行った。標識終了後PBSにて2回洗浄し, 蛍光標識細胞をE/T比2の割合で96穴平底マイクロプレートに100 μ lずつ分注した。その後37℃, 5%CO₂の条件下にて30分間培養した。培養終了後プレート底部の細胞を静かに攪拌し, hemocytometerに細胞浮遊液を入れ蛍光顕微鏡 (Olympus) にてNR-S1細胞とLAK細胞の結合を観察した。結合率の算出には次式を用いた。

$$\text{結合率 (\%)} = \frac{\text{NR-S1細胞と結合したLAK細胞数}}{\text{全LAK細胞数}} \times 100$$

6. 統計処理

以上の各実験における統計学的有意差検定はすべて

Table 1 Surface Antigen expression on NR-S1

Mean fluorescein intensity ^a			
H-2 K ^K	I-A ^K	ICAM-1	ICAM-2
86.9	17.9	38.3	22.0

^a Background fluorescein with no monoclonal antibody ranged from 5 to 10 for all groups.

Student-t 検定に拠った.

結 果

1. NR-S1 細胞上の細胞間接着分子の発現

NR-S1 細胞はその細胞表面に H-2 K^K, I-A^K, ICAM-1, ICAM-2 分子を発現していた. H-2 K^K, ICAM-1 分子の発現は I-A^K, ICAM-2 分子に比べ強く認められた (Table 1).

(A)

H-2K^K

(B)

ICAM-1

Fig. 1 Time-dependent modulation by cytokines of H-2 K^K (A) and ICAM-1 (B) expressed by cultured NR-S1 cells. NR-S1 cells were incubated with IFN- γ (100-1000 U/ml) and TNF- α (50-200 U/ml) for 24 to 72 h.

Fig. 2 Surface antigen expression on cytokine-treated NR-S1 cells. Surface antigen analysis of *in vitro* cells cultured with H-2K^k, I-A^k, ICAM-1, or ICAM-2. IFN- γ (500 U/ml) alone (▨), TNF- α (200 U/ml) alone (□), IFN- γ (500 U/ml) and TNF- α (200 U/ml) (▩), and medium alone (■) were used for 48 hours of incubation. bars, S.D. *, $p < 0.001$ versus medium alone and TNF- α alone. **, $p < 0.05$ versus medium alone and TNF- α

2. IFN- γ あるいは TNF- α が NR-S1 細胞上の H-2K^k, ICAM-1 分子発現量におよぼす影響

各濃度の IFN- γ 存在下にて NR-S1 細胞を培養すると H-2K^k 分子の発現量は 24 時間後には増強がみられ, 48 時間で最大となり 72 時間ではわずかに減少した。また発現量の変化は IFN- γ の濃度にはほぼ依存していた。ICAM-1 分子の発現は 24 時間で増強がみられたが, それ以後は減少傾向にあった。TNF- α で処理を行なった場合, H-2K^k 分子の明らかな発現の増強はみられなかった。一方, ICAM-1 分子の発現は 24 時間で増強し, 48 時間で最大となり 72 時間後には減少傾向を示した (Fig. 1)。

3. LAK 細胞の細胞障害活性におよぼす IFN- γ および TNF- α 処理の影響

1) NR-S1 細胞上の細胞間接着分子発現の変化

500U/ml の IFN- γ , 200U/ml の TNF- α と単独, あるいはその両者で NR-S1 細胞を 48 時間処理した後の NR-S1 細胞表面の H-2K^k, I-A^k, ICAM-1 および ICAM-2 分子の発現量を Fig. 2 に示した。H-2K^k 分子の発現量は IFN- γ 単独および IFN- γ + TNF- α 処理において control および TNF- α 単独処理に比べ有意に増強していた。ICAM-1 分子の発現量は IFN- γ + TNF- α 処理により control に比べ有意に増強していた。I-A^k 分子の発現量には明らかな変化はみられなかった。ICAM-2 分子の発現量は IFN- γ + TNF- α 処理で軽度の増強がみられたが, 有意差は認められなかった。

2) LAK 細胞の細胞障害活性の変化

NR-S1 細胞を IFN- γ あるいは TNF- α で 48 時間処理すると LAK 細胞による細胞傷害活性は control に比べわずかに増強するが, 有意差はみられなかった。これに対し IFN- γ + TNF- α で処理すると, LAK 細胞による細胞障害活性は有意に増強した (Fig. 3)。

4. LAK 細胞と NR-S1 細胞の結合におよぼす IFN- γ , TNF- α の影響

IFN- γ 処理により結合率はわずかに増強したが control に比べ有意差はみられなかった。TNF- α では control に比べ結合率の減少がみられた。これらに対し, IFN- γ + TNF- α 処理により結合率は control に比べ有意に増強した (Fig. 4)。

考 察

近年, 組織適合抗原 (major histocompatibility complex: MHC) に依存しない末梢血単核球由来の LAK 細胞を用いた養子免疫療法が盛んに行なわれてきている。しかし, その効果はいまだ十分なものではない。これは LAK 細胞が自己の腫瘍細胞を特異的に認識することができないためと考えられる。そこで腫瘍周囲に浸潤し, 腫瘍細胞上 MHC 抗原に依存性のあるとされるリンパ球 (tumor infiltrating lymphocytes: TIL) を抗腫瘍細胞として用いる試みも行なわれているが, 実際には腫瘍局所からは十分な量の TIL を採取するのは容易ではなく, 実用的な治療法とは考

Fig. 3 Susceptibility to cytotoxicity was enhanced after cytokine treatment using autologous LAK cells. Cytotoxicity was tested against untreated NR-S1 cells (Control) or target cells pretreated with 500 U/ml IFN- γ (IFN- γ), 200 U/ml TNF- α (TNF- α) or 100 U/ml IFN- γ and 200 U/ml TNF- α (IFN- γ + TNF- α) for 48 hours. LAK cells were cultured with IL-2 (2000 JRU/ml) for 4 days. The E/T ratio was 40 and % cytotoxicity was determined by 4-h ^{51}Cr release assay; bars, S.D. *, $p < 0.05$ versus Control.

Fig. 4 Conjugate formation between LAK cells and NR-S1. Conjugate formation assay was measured as described in materials and methods. Marked enhancement of conjugate formation is evident after NR-S1 pretreated with IFN- γ + TNF- α for 48 hours; bars, S.D. *, $p < 0.05$ versus Control and TNF- α .

えにくい。そこで、末梢血単核球由来 LAK 細胞の腫瘍細胞に対する細胞傷害効果を高める必要があると考えられる。

一般に抗腫瘍細胞が腫瘍細胞を傷害するメカニズムは①抗腫瘍細胞が腫瘍(標的)細胞上の特有な標的構造の認識②抗腫瘍細胞の腫瘍細胞への強固な接着③抗腫瘍細胞から腫瘍細胞への細胞傷害性(致死的)因子の放出④腫瘍細胞の不可逆的細胞死、という一連のステップによると考えられている⁴⁾。natural killer (NK) 細胞や LAK 細胞は抗原認識機構を持たない細胞とされ、これらの細胞が腫瘍細胞を傷害するためには腫瘍細胞との接着が非常に重要である。したがって抗腫瘍細胞による傷害作用が特異的、非特異的であれ、その第一段階は腫瘍細胞への接着であると考えられる。そのため LAK 細胞による免疫療法の効果を高めるためには腫瘍細胞との接着について検討することはきわめて重要な意味をもつと思われる。そこで本研究は、より有効な口腔癌に対する養子免疫療法を行うための基礎的研究として、マウス扁平上皮癌細胞株を用いて腫瘍細胞上の細胞間接着分子の変化と LAK 細胞の細胞傷害性について検討を行った。

MHC class I, II, ICAM-1, 2 は腫瘍細胞上に発現する細胞間接着分子で、免疫グロブリンスーパーファミリーに属している。これらはいずれも抗腫瘍細胞上にそれぞれレセプターをもち MHC class I は CD 8, MHC class II は CD 4, ICAM-1, 2 は LFA-1 とレセプターーリガンドの関係で細胞-細胞相互作用を制

御し、抗腫瘍細胞が腫瘍細胞を傷害するためにはこれらのすべてあるいはいずれかが機能し細胞同志の接着が起こる必要があると考えられている⁵⁾。腫瘍細胞上の表面分子の解析から NR-S1 細胞は MHC class I, II, ICAM-1, 2 すべての分子を発現し、特に MHC class I および ICAM-1 の発現が強くみられた。また NR-S1 細胞を IFN- γ で処理すると MHC class I および ICAM-1 の発現増強がみられ、ICAM-1 では 24 時間後、MHC class I では 48 時間後にそれぞれ発現のピークを認めた。Naganuma ら⁶⁾ は MHC class I の発現は 40 時間後に最も増強され、ICAM-1 の発現増強には少なくとも 16 時間は必要であるとし、Altomonte⁷⁾ らは ICAM-1 の発現増強は 12~24 時間でピークに達すると述べている。本研究においてもこれらの報告と同様に MHC class I の発現増強は 48 時間、ICAM-1 の発現増強は 24 時間でピークを認めた。次に TNF- α で処理した場合 ICAM-1 は IFN- γ で処理した場合と同様に発現増強がみられたが、MHC class I の発現増強はみられなかった。Stotter ら⁸⁾ は腺癌細胞に 1000U/ml の TNF- α を 72 時間作用させても MHC class I の有意な発現増強はみられなかったと報告している。一方、Pfizenmaier ら⁹⁾ は腫瘍細胞の違いはあるが、IFN- γ 処理と同程度の発現増強はみられ、また IFN- γ および TNF- α には HLA 遺伝子の発現を誘導する作用があると述べている。MHC class II の発現について Naganuma ら⁶⁾ は neuroblastoma 細胞に 500U/ml の IFN- γ を作用さ

せても MHC class II の発現に変化がみられなかったと述べている。一方、高橋ら¹⁰⁾は肺癌細胞に 100U/ml の IFN- γ を作用させると MHC class II 分子の発現が増強したと報告している。このように IFN- γ あるいは TNF- α が腫瘍細胞上の MHC class II 分子の発現におよぼす影響は腫瘍細胞の種類により異なっているのではないかと考えられた。

ICAM-2 の発現に対して、Staunton ら¹¹⁾は ICAM-2 の発現はサイトカインの影響を受けないと述べている。本研究においても IFN- γ あるいは TNF- α 単独処理は ICAM-2 の発現に対して影響をおよぼさなかった。

次に IFN- γ と TNF- α の併用処理による腫瘍細胞上の接着分子の発現変化であるが、MHC class I は IFN- γ 単独に比べわずかであるが発現の増強がみられた。TNF- α は IFN- γ による HLA 遺伝子発現を増強させる作用があり、IFN- γ あるいは TNF- α 単独で MHC class I, MHC class II 分子の発現増強がみられる場合、両者を併用するとさらに発現が増強するとの報告もある⁹⁾が、本研究では併用による MHC class I, class II 分子の発現増強はみられなかった。ICAM-1 分子の発現は、本研究において有意に発現の増強を認めた。Altomonte ら⁷⁾も併用により発現の増強を認めたとするが、Stotter ら⁸⁾は併用による発現増強はみられなかったと述べている。また ICAM-2 の発現が単独処理に比べ併用処理で増強を認めたことは、IFN- γ と TNF- α の相互作用による可能性が示唆された。IFN- γ と TNF- α の相互作用について Aggawal ら¹²⁾は IFN- γ は細胞表面上の TNF- α receptor を増加させる作用があると報告している。

次に IFN- γ , TNF- α 処理による NR-S1 細胞上の細胞間接着分子の発現変化が LAK 細胞との接着および LAK 細胞による細胞傷害性におよぼす影響に関して、腫瘍細胞を IFN- γ あるいは TNF- α で処理し、腫瘍細胞上の ICAM-1 分子の発現が増強されることで腫瘍細胞上の ICAM-1 分子と LAK 細胞上の LFA-1 分子とを介した細胞接着が強固となり細胞傷害性が増強するとの報告がある^{6, 13, 14)}。しかし一方で、腫瘍細胞上の ICAM-1 分子の発現増強と LAK 細胞の細胞傷害性の増強には相関性がないとの報告もみられる¹⁵⁻¹⁷⁾。また Tomita ら¹⁸⁾は腫瘍細胞を IFN- γ あるいは TNF- α で処理すると腫瘍細胞上の MHC class I 分子の発現増強がみられ、IFN- γ で処理した場合腫瘍細胞は LAK 細胞に抵抗性を示し、TNF- α で処理した場合は抵抗性を示さなかったことから、腫瘍細胞上の MHC class I 分子発現量は LAK 細胞の腫瘍細胞に対する傷害性に影響をおよぼさないのではないかと述べている。

本研究では IFN- γ 処理により MHC class I 分子の発現増強は有意にみられるが、LAK 細胞との接着お

よび LAK 細胞の細胞傷害性に変化がみられなかった。一方、IFN- γ と TNF- α の併用処理により MHC class I および ICAM-1 分子の発現が有意に増強し、LAK 細胞の接着性および細胞傷害性の増強がみられたことから、LAK 細胞の細胞傷害性は腫瘍細胞上の ICAM-1 分子に影響されている可能性があると考えられた。また LFA-1 分子の第 2 のリガンドである ICAM-2 分子は ICAM-1 分子に比べ LFA-1 分子との親和性は低いとされるが、ICAM-2 分子の発現増強の有無も無視できない存在と考えられるので、今後さらに検討の必要があると思われる。しかし一方で腫瘍細胞の IFN- γ と TNF- α 処理による LAK 細胞の細胞傷害性の変化は細胞間接着分子を介したものではなく、接着後の段階の変化によるものであるとの報告^{15, 19)}もあり、IFN- γ , TNF- α 処理により発現変化を受けた細胞間接着分子と LAK 細胞の細胞傷害性の関係については現在のところ明確にはされていない。いずれにしても標的となる腫瘍細胞の性格による差異が大きいのではないかと考えられる。今後、エフェクター細胞である LAK 細胞表面に発現している LFA-1 分子をはじめとしたレセプターについての検索や細胞間接着分子に対するモノクローナル抗体による接着分子のブロッキングの影響など接着分子の機能についても検討する必要があると考えている。

本研究は、口腔領域の悪性腫瘍に多くみられる扁平上皮癌に対する免疫療法の効果増強を目的として、マウス扁平上皮癌細胞を用いて IFN- γ , TNF- α 処理による腫瘍細胞上の細胞間接着分子の変化が LAK 細胞の細胞傷害性に与える影響について検討を行ったところ、LAK 細胞の細胞傷害性に腫瘍細胞上の ICAM-1 分子が影響を与えている可能性が示唆された。

結 語

マウス扁平上皮癌細胞 NR-S1 細胞を用いて IFN- γ , TNF- α が腫瘍細胞上の細胞間接着分子に与える影響、そしてそれによって LAK 細胞の細胞傷害性がどのように影響を受けるか検討し、以下の結果を得た。

1. IFN- γ 単独および IFN- γ と TNF- α 併用処理で腫瘍細胞上の MHC class I 分子の発現は有意に増強したが、TNF- α 単独処理では発現の増強はみられなかった。

2. IFN- γ と TNF- α 併用処理で腫瘍細胞上の ICAM-1 分子の発現は有意に増強したが、IFN- γ あるいは TNF- α 単独処理では有意な増強はみられなかった。

3. IFN- γ と TNF- α 併用処理で腫瘍細胞上の ICAM-2 分子の発現は増強したが、有意差はみられなかった。

4. IFN- γ と TNF- α 併用処理で LAK 細胞との接

着および LAK 細胞の細胞傷害性は有意に増強した。

以上より, LAK 細胞の細胞傷害性は腫瘍細胞上の ICAM-1 分子の発現変化と関係があると考えられた。

参 考 文 献

- 1) Rosenberg, S.A.: Adoptive Immuno-therapy for Cancer. *Scientific American* 262: 34-41 1990.
- 2) Becker, J.C., Dummer, R., et al.: Shedding of ICAM-1 from human melanoma cell lines induced by IFN- γ and tumor necrosis factor- α : Functional consequences on cell mediated cytotoxicity. *J Immunol* 147: 4398-4401 1991.
- 3) Sasakura Y., Yugawa Y., et al.: 8 cases of Oral Cancer Treated with Adoptive Immunotherapy-Changes on the Surface Phenotype of Peripheral Blood Lymphocytes between Pre and Post Infusion of LAK Cells-. *Oral Maxillofac Surg*: 132-135 1991.
- 4) Henkart, P.A., Yue, C.C. et al.: Cytolytic and biochemical properties of cytoplasmic granules of murine lymphokine-activated killer cells. *J Immunol* 137: 2611-2617 1986.
- 5) 西村孝司: 抗腫瘍免疫に重要な接着分子と細胞障害性因子. *細胞工学* 9: 719-728 1990.
- 6) Naganuma, H., Kiessling, R., et al.: Increased susceptibility of IFN- γ -treated neuroblastoma cells to lysis by lymphokine-activated killer cells: participation of ICAM-1 induction on target cells. *Int J Cancer* 47: 527-532 1991.
- 7) Altomonte, M., Gloghni, A., et al.: Differential expression of cell adhesion molecules CD54/CD11a and CD58/CD2 by human melanoma cells and functional role in their interaction with cytotoxic cells. *Cancer Res* 53: 3343-3348 1993.
- 8) Stotter, H., Wiebke, E.A., et al.: Cytokines alter target cell susceptibility to lysis II. Evaluation of tumor infiltrating lymphocytes. *J Immunol* 142: 1767-1773 1989.
- 9) Pfizenmaier, K., Scheurich, P., et al.: Tumor necrosis factor enhances HLA-A, B, C and HLA-DR gene expression in human tumor cells. *J Immunol* 138: 975-980 1987.
- 10) 高橋利幸: LAK 細胞によるヒト膀胱癌細胞障害機構—細胞間接着分子の役割—*膀胱* 7: 7-17 1992.
- 11) Stauton, D.E., Dustin, M.L., et al.: Functional cloning of ICAM-2, a cell adhesion ligand for LFA-1 homologous to ICAM-1. *Nature* 339: 61-64 1989.
- 12) Aggarwal, B.B., Eessalu, T.E., et al.: Characterization of receptors for human tumour necrosis factor and their regulation by γ -interferon. *Nature* 318: 665-667 1985.
- 13) Webb, D.S.A., Mostowski, H.S., et al.: Cytokine-induced enhancement of ICAM-1 expression results in increased vulnerability of tumor cells to monocyte-mediated lysis. *J Immunol* 146: 3682-3686 1991.
- 14) Robertson, M.J., Caligiuri, M.A., et al.: Human natural killer cell adhesion molecules Differential expression after activation and participation in cytolysis. *J Immunol* 145: 3194-3201 1990.
- 15) Fries, R.U. and Golub, S.: Characteristics and mechanism of IFN- γ -induced protection of human tumor cells from lysis by lymphokine-activated killer cells. *J Immunol* 140: 3686-3693 1988.
- 16) Gronberg, A., Ferm, M., et al.: Interferon is able to reduce tumor cell susceptibility to human lymphokine-activated killer (LAK) cells. *Cell Immunol* 118: 10-21 1989.
- 17) Gorelik, E., Gunji, Y., et al.: H-2 antigen expression and sensitivity of BL 6 melanoma cells to natural killer cell cytotoxicity. *J Immunol* 140: 2096-2102 1988.
- 18) Tomita, Y., Watanabe, H., et al.: Interferon gamma but not tumor necrosis factor alpha decreases susceptibility of human renal cell cancer cell line to lymphokine-activated killer cells. *Cancer Immunol Immunother* 35: 381-387 1992.
- 19) Gronberg, A., Ferm, M.T., et al.: IFN- γ treatment of K562 cells inhibits natural killer cell triggering and decreases the susceptibility to lysis by cytoplasmic granules from large granular lymphocytes. *J Immunol* 140: 4397-4402 1988.