腎細胞癌患者の養子免疫療法に関する研究

第1編: 腎細胞癌患者の末梢血単核球機能

および血中免疫抑制因子

広島大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 碓井 亜教授)

薄 井 昭 博

STUDY ON ADOPTIVE IMMUNOTHERAPY ON PATIENTS WITH RENAL CELL CARCINOMA

I. Functional Characteristics of Peripheral Blood Mononuclear Cells and Serum Immunosuppressive Factors in Patients with Renal Cell Carcinoma

Akihiro Usui

Department of Urology, Hiroshima University School of Medicine, Hiroshima
(Director: Prof. T. Usui)

The immune responses in patients with renal cell carcinoma were evaluated from the production of interleukin-2 (IL-2), the expression of IL-2 receptors and the activity of lymphokine activated killer (LAK) cells. In addition, the effect of the patient's serum on the expression of IL-2 receptors and LAK activity were investigated.

The production of IL-2 by peripheral blood mononuclear cells (PBM) from patients with renal cell carcinoma was not suppressed, when compared with that in controls. However, the expression of IL-2 receptors tended to decrease with the progression of clinical stage. The LAK cells generated by PBM of patients with renal cell carcinoma had significant cytotoxic activity against Daudi cells, ACHN cells and autologous tumor cells, while autologous serum suppressed the expression of IL-2 receptors and the induction of LAK cells in patients with renal cell carcinoma. Furthermore, serum from patients with renal cell carcinoma suppressed the cytotoxic activity of LAK cells generated by PBM from a normal volunteer. These results indicated the presence of immunosuppressive factors in the serum of patients with renal cell carcinoma which impaired the clinical effect of treatment using IL-2 or LAK cells.

Key words: renal cell carcinoma, adoptive immunotherapy, immunosuppressive factor

要旨: インターロイキン 2 (IL-2) 産生能, IL-2 レセプター発現率, および Lymphokine activated killer (LAK) 活性を測定し, 腎細胞癌患者の免疫能を検討すると共に, IL-2 レセプター発現率, LAK 活性におよぼす患者血清の影響を評価した. 腎細胞癌患者末梢血単核球の IL-2 産生能は非腫瘍群と比較して抑制されていなかったが, IL-2 レセプター発現率は臨床病期の進行とともに低下する傾向がみられた. LAK 細胞の細胞障害性 (LAK 活性) の検討では, 腎細胞癌患者末梢血単核球より誘導される LAK 細胞は Daudi 細胞, ACHN 細胞, 自己腫瘍細胞に対して明らかな LAK 活性を示した. これに対して腎細胞癌患者血清は IL-2 レセプター発現率, LAK 活性誘導を抑制し, さらに正常人ボランティアの末梢血より誘導された LAK 細胞の effector phase における活性を抑制した. これらの結果より腎細胞癌患者血清中には IL-2, LAK 細胞を用いた治療の障害となる免疫抑制因子の存在が示唆された.

キーワード: 腎細胞癌, LAK 療法, 免疫抑制因子

緒 言

インターロイキン 2 (IL-2) はリンパ球より産生される物質で、その刺激により活性化されたリンパ球は lymphokine activated killer cells (LAK 細胞) と呼称され、幅広い抗腫瘍活性 (LAK 活性) を示すと報告されている¹⁾。近年、この現象を利用した養子免疫療法 (LAK 療法) が開始され、腎細胞癌に対しても有効であるとされている²⁾³⁾。しかしながら、その臨床効果は未だ充分とは言えず、この一因として悪性腫瘍患者における免疫抑制状態や、患者血清中の免疫抑制物質の関与が考えられている。

一方、腎細胞癌患者においては自然消退例や、根治術後長期間を経ての再発例がみられ、さらに他の固形腫瘍に比較してインターフェロンの有効性が高いことが示されるなど、宿主免疫と強く関連すると考えられる現象が知られている。

そこで、腎細胞癌患者における IL-2 および LAK 活性に関連した免疫能を測定するとともに、患者血清がこれらの免疫能におよぼす影響について検討した。

対象および方法

1. 対象

1) IL-2 産生能、レセプター発現率：腎細胞癌と診断された治療前の 50～74 歳、平均 60.1 歳の男性 17 例、女性 3 例、合計 20 例の患者を腫瘍群とし、さらに Robson 分類により stage I, II の low stage 群、stage III, IV の high stage 群に分類して検討した。また、腎細胞癌に対して根治的腎摘除術後 6 カ月以上経過し、無治療で転移、再発の認められない 50～74 歳、平均 56.4 歳の男性 15 例、女性 7 例、合計 22 例を非腫瘍群とした。

2) LAK 活性に関する検討：腎細胞癌と診断され、検査時に無治療であった 31～79 歳、平均 55.3 歳の男性 18 例、女性 2 例、合計 20 例の患者を腫瘍群とした。また、30～75 歳、平均 42.7 歳の男性 13 例、女性 2 例、合計 15 例の血液検査上で異常の認められない健常人または、尿路結石症患者を対照群とした。

2. 方法

以下の実験には、リンパ球処理用の培地としては RPMI 1640 培地 (GIBCO Laboratories, U.S.A.) を使用し、培養条件は 5% CO₂, 37℃ で行った。また、各実験はすべて三重測定で施行した。

1) 末梢血単核球 (PBM) 採取

ヘパリン加末梢血を培地により希釈後、Ficoll-Hypaque (Flow Laboratories, Australia) に重層、400G、30 分間遠心により単核球層を採取、さらに培地

で 3 回洗浄して PBM を得た。また同時に血清を採取し、一部は -20℃ にて凍結保存した。

2) IL-2 産生能

0.5% BSA (Sigma Chemical Company, U.S.A.) 添加培地を用いて 1×10^6 個/ml に調製した PBM 浮遊液 200 μ l を 96 ウェルマイクロプレート内に分注後、1 μ g/ml の Con-A (E-Y Laboratories, U.S.A.) とともに 24 時間培養、PBM の IL-2 産生を誘導した。この培養上清を採取し、検体として以下の生物学的測定法により IL-2 産生能を測定した。まず、IL-2 依存性の細胞株 CTLL-2 細胞 5×10^3 個を 96 ウェルマイクロプレート内に分注、前述の検体および 50 U/ml 以下のリコンビナント IL-2 (rIL-2, S-6820, 塩野義製薬) の希釈系列とともに 20 時間培養した。さらに 0.25 μ Ci の ³H-thymidine (³H-TdR, Amersham, U.K.) を加え 8 時間培養、セルハーベスター (ACT-96, Biotec, U.S.A.) により細胞を回収、その放射能活性を液体シンチレーションカウンター (LKB 1216, LKB-produkter AB, Sweden) で測定した。この IL-2 希釈系列と検体の放射能活性を Probit-analysis⁴⁾ を行い、IL-2 産生能を算出した。

3) IL-2 レセプター (IL-2R) 発現率

20% 牛胎児血清 (FCS, Flow Laboratories) または、20% 自己血清添加培地を用いて 5×10^5 個/ml に調製した PBM 浮遊液 2 ml を 24 ウェルマイクロプレート内に分注、1 μ g/ml の Con-A とともに 48 時間培養し、PBM に IL-2R を発現させた。この PBM の Fc レセプターを正常ヒト AB 血清 (Flow Laboratories) にてブロック後、抗 IL-2R 抗体 (IL-2R1, Coulter, U.S.A.) と反応させ、IL-2R 発現率を蛍光抗体法によりフローサイトメーター (FCM-1, 日本分光工業) を用いて測定した⁵⁾。

4) 細胞障害能測定

(1) エフェクター細胞： 1×10^6 個/ml に調整した PBM 浮遊液に 2 U/ml の rIL-2 (TGP-3, 武田薬品工業より供与)、5 U/ml のヘパリンおよび、20% 非動化正常ヒト AB 血清または 20% 非動化自己血清を添加、5 日間培養して得られた LAK 細胞をエフェクター細胞とした。

(2) 標的細胞：ヒト Burkitt リンパ腫由来 Daudi 細胞 (がん研究振興財団より供与)、ヒト腎細胞癌由来 ACHN 細胞および自己腫瘍細胞を使用した。

自己腫瘍細胞は、手術時に得られた腎細胞癌組織を 2 μ g/ml のコラゲナーゼ (Type V-S, Sigma), 2 U/ml

のヒアルロニダーゼ(Type IV-S, Sigma), および0.2 mg/ml のデオキシリボヌクレアーゼ(Type I, Sigma) 添加培地で4時間処理後, 10%FCS 加 Dulbecco's Modified Eagle 培地 (DME, Flow Laboratories) で数日間の初代培養を行って作成した。

細胞の標識は, 各細胞を10%FCS 添加培地中に 1×10^6 個/0.25ml で浮遊させ, $50 \mu\text{Ci}$ の $^{51}\text{CrO}_4$ (NEN Research Products, U.S.A.) を添加後, 90分間培養した。

(3) ^{51}Cr 放出試験: 1×10^4 個/ $50 \mu\text{l}$ の標的細胞と各濃度のエフェクター細胞浮遊液 $100 \mu\text{l}$ を, 96ウェルマイクロプレート内で混合し4時間培養, その培養上清を Examined release として上清採取システム (Supernatant collection system, Skatoron, Norway) で採取した。同時に, 1×10^4 / $50 \mu\text{l}$ の標的細胞を1% Triton X で溶解した培養上清を Maximum release として, またエフェクター細胞を加えず標的細胞のみを培養した培養上清を Spontaneous release として, それぞれ採取した。これらの培養上清中の放射能活性をオートガンマカウンター (Model 1197, Searl, U. S.A.) にて測定, 以下の計算式を用いて細胞障害能を算出した。

%cytotoxicity =

$$\frac{\text{Examined release} - \text{Spontaneous release}}{\text{Maximum release} - \text{Spontaneous release}}$$

なお, 試験時の添加血清は LAK 細胞誘導の検討では10%非動化正常ヒト AB 血清を, また Effector phase における検討では20%非動化対照群血清または20%非動化腎細胞癌患者血清を用いた。

5) 統計学的検討

本研究中の統計学的検討はすべて t 検定により施行した。

結 果

1. IL-2産生能と臨床病期 (Fig. 1)

IL-2産生能の平均値は非腫瘍群13.7U, Low stage 群17.6U および High stage 群15.8U と, 各群間に有意差はみられず, 転移を有する進行性腎細胞癌患者においても検出不能な症例から約40U と高値を示す症例まで広く分布し, 一定の傾向は認められなかった。

2. IL-2R 発現率と臨床病期 (Fig. 2, 3)

IL-2R 発現率の平均値は非腫瘍群29.8%, Low stage 群26.2%および High stage 群22.6%と臨床病期の進行とともに低下する傾向がみられ, 非腫瘍群と Low stage 群, Low stage 群と High stage 群間には

それぞれ有意差を認めなかったが, High stage 群は非腫瘍群に比較して5%以下の危険率で有意な低下がみられた。

さらに, 20%自己血清存在下での IL-2R 発現率を20%FCS 下での発現率で除し, IL-2R 発現におよぼす自己血清添加の影響を検討した。非腫瘍群での平均値はほぼ1.0であり, 自己血清添加による著明な変動はみられなかったが, Low stage 群では0.86, High stage 群では0.67と臨床病期の進行とともに平均値の低下がみられた。これらの自己血清添加による IL-2R 発現率の低下は, 非腫瘍群では有意な低下を認めなかったのに対して, Low stage 群では5%以下, High stage 群においては1%以下の危険率で有意な低下を示した。

3. LAK 活性誘導における血清添加の影響 (Fig. 4)

細胞障害能はエフェクター細胞/標的細胞比 (E/T 比) 20:1 で検討した。対照群においては20%非動化正常ヒト AB 血清下で誘導された LAK 細胞の各々の標的細胞に対する細胞障害能は平均値でみると, Daudi 細胞77.2%および ACHN 細胞52.8%であった。これに対して, 20%非動化自己血清存在下に誘導された LAK 細胞の細胞障害能は, Daudi 細胞で73.7%, ACHN 細胞で49.5%であり自己血清添加による有意な変動はみられなかった。一方, 腫瘍群においては, 20%非動化正常ヒト AB 血清下で誘導された LAK 細胞の各々の標的細胞に対する細胞障害能は平

Fig. 1 Comparative study on the production of IL-2 by clinical stage in the peripheral blood mononuclear cells. Bars indicate mean $\pm$ SD.

Fig. 2 Comparative study on the expression of IL-2 receptor by clinical stage in the peripheral mononuclear cells. The levels of expression of IL-2 receptor in patient with high stage renal cell carcinoma were significantly lower than those in patient without renal cell carcinoma ($p < 0.05$). Bars indicate Mean $\pm$ SD.

均値でみると, Daudi 細胞82.2%, ACHN 細胞65.2% および自己腫瘍細胞40.8%であった。これに対して, 20%非動化自己血清存在下に誘導された LAK 細胞の細胞障害能は, Daudi 細胞で13例中12例, ACHN 細胞で14例中12例, 自己腫瘍細胞においても 8 例中 7 例で低下がみられ, 各々平均値で, 72.6%, 52.4%, 31.1% であった。これらは, Daudi 細胞では 1% 以下, ACHN 細胞および自己腫瘍細胞では 5% 以下の危険率で有意な低下であった。

4. LAK 細胞の細胞障害能に及ぼす血清添加の影響 (Fig. 5)

健常人ボランティア末梢血より誘導された LAK 細胞をエフェクター細胞とし, Daudi 細胞を標的細胞として用いた。E/T 比は生体内の条件を考慮し 2 : 1 で LAK 活性を検討した。この結果, Daudi 細胞に対する細胞障害能は, 20%非動化腎細胞癌患者血清添加群での平均値は9.9%であり, 20%非動化対照群血清添加群での平均値12.7%に比較して 5% 以下の危険率で有意な低下であった。

考 察

悪性腫瘍患者においては種々の免疫抑制が存在するとされており⁶⁾, 腫瘍がその宿主免疫監視機構を逃れて発育や転移を生じる過程に関与すると考えられてい

Fig. 3 Effect of autologous serum on the expression of IL-2 receptor. The levels of expressions of IL-2 receptor were significantly suppressed by the addition of autologous serum in patient with low stage renal cell carcinoma ($p < 0.05$) and in patient with high stage renal cell carcinoma ($p < 0.01$).

Ratio = Expression of IL-2 receptor with autologous serum / Expression of IL-2 receptor with normal human AB serum. Bars indicate Mean $\pm$ SD.

る。この原因としては腫瘍による免疫抑制物質の産生⁷⁾や, サプレッサーマクロファージ, サプレッサーT細胞を介した抑制⁸⁾などが考えられ, これらの因子を含む患者腫瘍の抽出液⁹⁾や血清¹⁰⁾¹¹⁾によって種々の免疫反応が抑制されることが報告されている。かような免疫抑制は, 近年開始された IL-2, LAK 細胞を用いた臨床治療においても今後の課題となっている。

IL-2は主としてヘルパーT細胞より産生され, Con A, PHA といった mitogen やアロ抗原刺激によってその産生は増強される。生体内で産生された IL-2は細胞障害性を持つリンパ球の誘導を介して抗腫瘍作用を発現すると考えられることより, 担癌患者の免疫能評価法の一つとして IL-2産生能が測定されている。すなわち, 担癌患者では健康人に比較して IL-2産生能は低下しているとしたもの¹²⁾や不変であるとした報告¹³⁾がみられる。著者の腎細胞癌患者における検討では非腫瘍群に対して顕著な差はみられず, また臨床病期の進行とも無関係であった。この結果について考慮すべき

Fig. 4 Effect of autologous serum (AT) on the induction of LAK activity against Daudi cells, ACHN cells and autologous tumor cells (ATT) in patients with renal cell carcinoma. In patient with renal cell carcinoma, the levels of the percentage of specific lysis were significantly suppressed against Daudi cells ($p < 0.01$), ACHN cells and autologous tumor cells ($p < 0.05$). Bars indicate Mean $\pm$ SD.

Fig. 5 Effect of serum on the cytolytic activity of LAK cells. The levels of the percentage of specific lysis were significantly suppressed by the addition of serum from patient with renal cell carcinoma ($p < 0.05$). Bars indicate Mean $\pm$ SD.

点の一つは、今回検討した非腫瘍群は検討時には腫瘍は認めないものの、一度は悪性腫瘍の発生した個体であり、健常人における IL-2 産生能と分布が異なる可能性である。しかしながら、担癌患者で IL-2 産生能の低下を示した報告の多くは進行性悪性腫瘍においてであり、著者らの検討では進行性腎細胞癌患者においてさえ IL-2 産生能が保持されている症例も多くみられ、腎細胞癌患者では特異的な低下は示さないと考えられた。また実験条件について、リンパ球のレクチン刺激は24時間では不十分であり、リンパ球自身が IL-2 の利用を開始する48時間での検討においては、担癌患者の IL-2 産生能は健常人のそれと比較して低下を示す可能性があったとした報告もみられ¹³⁾、今後の検討を要する点であろう。

IL-2R には高親和性 (Kd 値約 0.01 nM) と低親和性レセプター (P55, Tac 抗原, Kd 値約 10 nM) の存在が知られており、このうち低親和性レセプターについては cDNA の同定、アミノ酸配列の決定、抗 Tac 抗体による定量などの種々の検討が進められてきた¹⁴⁾。さらに、¹²⁵I 標識 IL-2 を用いた解析によって、IL-2 と中等度の親和性を持ち、抗 Tac 抗体と反応しない分子量 70~75 kD の中親和性レセプター (P75, Kd 値約 1 nM) の存在が報告され、高親和性レセプターはこれら P55

と P75 の複合体と考えられている¹⁵⁾¹⁶⁾。各々のレセプターの機能的役割についてはなお不明な部分も多いが、P55 にはキナーゼ活性を持つドメインが存在しない事より、直接細胞内にシグナルを伝達する機能はなく、高親和性レセプターの形成を通じて作用しているとされている。また抗 Tac 抗体で処理後のリンパ球に IL-2 を作用させると、早期には LAK 活性の上昇がみられる。しかし長期にわたる活性の維持は不可能で、リンパ球の増殖も示さないとの実験結果より、P75 は単独で細胞内へシグナルを伝達し細胞の分化を促進し得るが、細胞の増殖には高親和性レセプターの存在が必要であると報告されている¹⁷⁾。以上の事より、今回用いた抗 Tac 抗体の IL-2R1 は低親和性レセプター (P55) および高親和性レセプター (P55 と P75 の複合体) とは反応するが P75 とは反応せず、これによる IL-2R システム細部の解析は困難と考えられるが、臨床的な面よりみると Tac 抗原陽性細胞は活性化 T リンパ球で、その増加は免疫能の亢進を示すとされ¹⁸⁾、本法による IL-2R 発現率は細胞性免疫の指標として用いられている。その一つとして悪性腫瘍患者末梢血中リンパ球における解析が行われており、担癌患者では臨床病期の進行とともに IL-2R (Tac 抗原) の発現率が低下するとの報告もみられる¹⁹⁾。今回の著者の腎細胞癌患者における検討では、同様に臨床病期の進行とともに

に患者末梢血中単核球の IL-2R (Tac 抗原) 発現率の低下がみられ、さらに患者自己血清の添加により IL-2 R 発現率の低下が認められた。この結果から、腎細胞癌患者における IL-2R を介した免疫抑制状態の存在のみならず、患者血清中の IL-2R の発現を抑制する免疫因子の存在が推察された。そこで、臨床治療上の問題となる LAK 細胞におよぼす患者血清の影響について検討した。

現在行われている LAK 療法では、*in vitro* で誘導された LAK 細胞とともに、患者に投与される IL-2 によって *in vivo* でも誘導された内因性 LAK 細胞も抗腫瘍効果発現に働いていると考えられ、これは IL-2 単独投与のみでも臨床効果が得られた症例があることにより推測される²⁰⁾。このことは LAK 療法に際しての悪性腫瘍患者の免疫抑制作用としては、LAK 細胞の誘導、Effector phase 双方における抑制を考慮する必要性を示している。*in vitro* における LAK 細胞の誘導に関しては従来より、悪性腫瘍患者の末梢血リンパ球より誘導される LAK 細胞は健常人のそれと同等な活性を示すとされており²¹⁾、著者の検討においても、正常ヒト AB 血清存在下に腎細胞癌患者の PBM より誘導された LAK 細胞は Daudi 細胞、ACHN 細胞に対して正常人と同等な細胞障害性を、自己腫瘍細胞に対しても 24~56% と比較的良好な細胞障害性を認めた。これらの結果より、LAK 療法において腎細胞癌患者の自己末梢血中より誘導した LAK 細胞を用いても、十分に臨床効果を期待し得ると思われた。これに対して、悪性腫瘍患者血清は自己リンパ球の LAK 細胞への誘導を阻害すると報告されており²²⁾、著者の検討においても腎細胞癌患者血清は LAK 細胞の誘導および、Effector phase での LAK 細胞の腫瘍細胞に対する細胞障害に抑制的に働くものと考えられた。

以上より腎細胞癌患者血清中には IL-2, LAK 細胞に関する免疫抑制因子が存在し、臨床的に試みられている LAK 療法に際しての問題点となるものと考えられた。

結 語

腎細胞癌患者末梢血中単核球における IL-2 産生能、レセプター発現率、LAK 活性および患者血清中のこれら免疫反応の抑制因子について検討した。

1. IL-2 産生能は腫瘍の存在の有無、臨床病期による差は認めず、腎細胞癌患者においては特異的な変動は示さなかった。

2. IL-2R 発現率は臨床病期の進行とともに低下す

る傾向をみとめ、また患者自己血清は IL-2R 発現率を抑制した。

3. Daudi 細胞、ACHN 細胞および自己腫瘍細胞に対する LAK 活性の誘導は患者自己血清により抑制された。

4. Effector phase に患者血清が存在すると LAK 活性の抑制がみられた。

本論文の要旨の一部は第75回および76回日本泌尿器科学会総会において報告した。稿を終えるにあたり御指導および御校閲を賜りました恩師碓井 亞教授に深甚なる謝意を表します。また、種々の御教示を賜りましたマツダ病院泌尿器科中野 博博士、中本貴久博士に深謝いたします。

文 献

- 1) Grimm, E.A., Mazumder, A., Zhang, H.Z. and Rosenberg, S.A.: Lymphokine-activated killer cell phenomenon: Lysis of natural resistant fresh solid tumor cells by interleukin 2 activated autologous human peripheral blood lymphocytes. *J. Exp. Med.*, 155, 1823-1841, 1982.
- 2) Wang, J., Walle, A., Gordon, B., Novogrodsky, A., Suthanthiran, M., Rubin, A.L., Morrison, H., Silver, R.T. and Stenzel, K.H.: Adoptive immunotherapy for stage IV renal cell carcinoma: A novel protocol utilizing periodate and interleukin-2-activated autologous leukocytes and continuous infusions of low-dose interleukin-2. *Am. J. Med.*, 83, 1016-1023, 1987.
- 3) Fisher, R.I., Coltman, C.A. Jr., Doroshow, J.H., Rayner, A.A., Hawins, M.J., Mier, J. W., Wiernik, P., Mcmannis, J.D., Weiss, G.R., Margolin, K.A., Gemlo, B.T., Hoth, D.F., Parkinson, D.R. and Paietta, E.: Metastatic renal cancer treated with interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. *Ann. Int. Med.*, 108, 518-523, 1988.
- 4) Gillis, S., Ferm, M.M., Ou, W. and Smith, K.A.: T cell growth factor. Parameters of production and a quantitative microassay for activity. *J. Immunol.*, 120, 2027-2032, 1978.
- 5) Lanier, L.L. and Warner, N.L.: Paraformaldehyde fixation of hematopoietic cells for quantitative flow cytometry analysis. *J. Immunol. Methods*, 47, 25-30, 1981.
- 6) 中本貴久, 薄井昭博, 池本秀昭, 中野 博, 碓井 亞: 腎細胞癌患者の免疫能に関する臨床的検討. *西日泌尿*, 50, 1135-1141, 1988.
- 7) Hersey, P., Bindon, C., Czerniecki, M., Spurling, A., Wass, J. and McCarthy, W.H.: Inhibition of interleukin 2 production by factors released from tumor cells. *J. Immunol.*, 131, 2837-2842,

- 1983.
- 8) Thomas, R.: Role of suppressor cells in depression of in vitro lymphoproliferative responses of lung cancer and breast cancer patients. *J.N.C.I.*, 61, 1001—1005, 1978.
- 9) Mohagheghpour, N., Parhami, B., Dowlatsahi, K., Kadjehnouri, D., Elder, J.H. and Chisari, F.: Immunoregulatory properties of human esophageal tumor extract. *J. Immunol.*, 122, 1350—1358, 1978.
- 10) Roth, J.A., Grimm, E.A., Gupta, R.K. and Ames, R.S.: Immunoregulatory factors derived from human tumors: 1. Immunologic and biochemical characterization of factor that suppress lymphocyte proliferative and cytotoxic responses in vitro. *J. Immunol.*, 128, 1955—1954, 1982.
- 11) 小野 浩: 泌尿器悪性腫瘍患者の免疫能に関する研究: 第2編. 血清蛋白の異常の免疫能に及ぼす影響. *日泌尿会誌*, 72, 1078—1091, 1981.
- 12) Rey, A., Klein, B., Rucheton, M., Caraux, J., Zagury, D., Thierry, C. and Serrou, B.: Human autologous rosettes: IV. Their relation with interleukin 2 activity production and natural killer cells in cancer patients. *Cell Immunol.*, 86, 155—164, 1984.
- 13) Wanebo, H.J., Pace, R., Hargett, S., Katz, D. and Sando, J.: Production and response to interleukin-2 in peripheral blood lymphocytes of cancer patients. *Cancer*, 57, 656—662, 1986.
- 14) Taniguchi, T., Matsui, H., Fujita, T., Takaoka, C., Kashina, N., Yoshimoto, R. and Hamuro, J.: Structure and expression of a cloned cDNA for human interleukin-2. *Nature*, 302, 305—307, 1983.
- 15) Sharon, M., Klausner, R.D., Cullen, B.R., Chizzone, R. and Leonard, W.J.: Novel interleukin-2 receptor subunit detected by cross-linking under high-affinity conditions. *Science*, 234, 859—863, 1986.
- 16) Teshigawara, K., Wang, H., Kato, K. and Smith, K.A.: Interleukin 2 high-affinity receptor expression requires two distinct binding proteins. *J. Exp. Med.*, 165, 223—238, 1987.
- 17) Owen-schaub, L.B., Loudon, W.G., Yagita, M. and Grimm, E.A.: Functional differentiation of human lymphokine-activated killing (LAK) is distinct from expansion and involves dissimilar interleukin 2 receptors. *Cell Immunol.*, 111, 235—246, 1988.
- 18) Uchiyama, T., Nelson, D., Fleisher, T.A. and Waldmann, T.A.: A monoclonal antibody (anti-Tac) reactive with activated and functionally mature human T cells: 2. Expression of Tac antigen on activated cytotoxic killer T cells, suppressor cells, and on one of two types of helper T cells. *J. Immunol.*, 126, 1398—1403, 1981.
- 19) Hakim, A.A.: Peripheral blood lymphocytes from patients with cancer lack interleukin-2 receptors. *Cancer*, 61, 689—701, 1988.
- 20) Rosenberg, S.A., Lotze, M.T., Muul, L.M., Chang, A.E., Avis, F.P., Leitman, S., Linehan, W.M., Robertson, C.N., Lee, R.E., Rubin, J.T., Seipp, C.A., Simpson, C.G. and White, D.E.: A progressive report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 alone. *N. Eng. J. Med.*, 313, 1485—1492, 1985.
- 21) Lotze, M.T., Grimm, E.A., Mazumder, A., Strausser, J.L. and Rosenberg, S.A.: Lysis of fresh and cultured autologous tumor by human lymphocytes cultured in T-cell growth factor. *Cancer Res.*, 41, 4420—4425, 1981.
- 22) Itoh, K., Tilden, A.B. and Balch, C.M.: Role of interleukin 2 and a serum suppressive factor on the induction of activated killer cells cytotoxic for autologous human melanoma cells. *Cancer Res.*, 45, 3173—3178, 1985.

(1990年3月15日受理)