腎細胞癌患者の養子免疫療法に関する研究

第2編: 進行性腎細胞癌に対する血漿交換併用 LAK 療法

広島大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 碓井 亞教授)

薄 井 昭 博

STUDY ON ADOPTIVE IMMUNOTHERAPY IN PATIENTS WITH RENAL CELL CARCINOMA

II. Plasmapheresis with Adoptive Immunotherapy Using LAK Cells and IL-2

Akihiro Usui

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

The existence of immunosuppressive factors which impair the clinical effect of treatment using IL-2 or lymphokine activated killer (LAK) cells has been reported in the serum of patients with renal cell carcinoma. For the purpose of eliminating these immunosuppressive factors, plasmapheresis combined with adoptive immunotherapy using LAK cells was performed in ten patients with stage IV renal cell carcinoma. Immunological examinations revealed that the number of peripheral blood lymphocytes, NK activity and the ratio of Leu 11 positive cells were increased during the treatment. Of the 9 evaluable patients, one has a partial response, 5 showed no change and 3 had progressive disease. In addition to the one partial response, the size of some metastatic lesions in the lungs decreased in 2 patients during the treatment. As serious side effects, brain edema progressed in 2 patients with brain metastases and acute hepatitis due to plasmapheresis was noted in one patient. Moreover, transient and reversible renal dysfunction developed in most patients. These results indicated that plasmapheresis combined with adoptive immunotherapy using LAK cells is a useful therapy for patients with advanced renal cell carcinoma.

Key words: renal cell carcinoma, adoptive immunotherapy, plasmapheresis

要旨: 腎細胞癌患者血清中には Lymphokine activated killer cells を用いた養子免疫療法 (LAK 療法) の障害となる免疫抑制因子の存在が報告されている。そこで免疫抑制因子の除去を目的とした血漿交換療法を LAK 療法と併用し、10例の進行性腎細胞癌患者を対象として施行した。免疫学的指標では、末梢血リンパ球数の増加、NK 活性の亢進、および Leu 11陽性細胞の増加がみられた。評価可能9例における臨床成績は PR 1例, NC 5例, PD 3例であった。PR 症例以外では、NC であった2例で一部の肺転移巣の縮小が認められた。重篤な副作用としては脳転移を有する2症例で脳浮腫の増強による症状を認め、1例で血漿交換療法によると思われる急性肝炎がみられた。また、大半の症例で腎機能の可逆性低下が認められた。

これらのことより、本療法は進行性腎細胞癌の治療として期待し得ると考えられた。

キーワード: 腎細胞癌, LAK 療法, 血漿交換療法

結 言

腎細胞癌の治療法として、現在までに化学療法、放射線療法およびホルモン療法などが試みられてきたが、そのいずれにおいても満足すべき有効性はみられていない。一方、腎細胞癌ではその進展、発育などに宿主免疫の関与が考えられる現象がみられることよ

り、免疫療法の有効性が示唆され、現在までに種々の免疫療法が試みられている。近年、インターロイキン 2 (IL-2) 活性化リンパ球による養子免疫療法 (LAK 療法) の進行性腎細胞癌に対する有効性が報告され¹⁾⁴⁾、本邦でも試みられている⁵⁾。しかしながら、その臨床成績はいまだ充分ではなく、その一因として腎細

胞癌患者血清中の LAK 療法に関する免疫抑制因子の存在の関与を第 1 編に示した⁶⁾。そこで進行性腎細胞癌患者を対象として、患者血清中の免疫抑制因子の除去を目的とした血漿交換療法併用の LAK 療法を施行した成績について報告する。

対象および方法

1. 対象

転移巣を有する腎細胞癌患者 10 例を対象とし、そのうち 9 例には腎摘除術後の転移巣に対して本療法を施行した。患者の性別は男性 9 例、女性 1 例であり、年齢は、31～64 歳、平均 51.2 歳であった。転移部位は肺 4 例、肺と脳 2 例、肝、肺と骨、肺とリンパ節、肺と舌扁桃がそれぞれ 1 例であった。

2. 血漿交換および末梢血単核球 (PBM) の採取

患者末梢血より血液成分分離装置 (Haemonetics 30 S, Haemonetics, U.S.A.) を用いて白血球分画を採取すると同時に、同型凍結血漿 1,000 ml を患者血漿と置換した。さらに、得られた白血球分画より Ficoll-Hypaque (Flow Laboratories, Australia) を用いた比重遠心法で PBM を分離した⁹⁾。これらの操作は原則として週 2 回、5 週間、合計 10 回以上を目標として施行した。

3. Lymphokine activated killer cells (LAK 細胞) の誘導

10% 同型凍結血漿加 RPMI 1640 培地 (GIBCO Laboratories, U.S.A.) を用いて 1×10^6 個/ml に調整した PBM 浮遊液に、2～4 U/ml のリコンビナントインターロイキン-2 (rIL-2: TGP-3, 武田薬品工業より供与) および 5 U/ml のヘパリンを添加し、スピナーボトル (Techne, U.K.) で 37℃、5% CO₂ の条件下に 5 日間培養、LAK 細胞を誘導した。なお、以下の操作に用いる培地はすべて RPMI 1640 培地を用いた。

4. LAK 細胞および rIL-2 の投与方法

肝転移を有する症例 8 (Table 1) において Seldinger 法による留置カテーテルを用い、生塩 50 ml 内に LAK 細胞を浮遊させ肝動脈内投与を施行した他は全例生食 100 ml 内に LAK 細胞を浮遊させ、末梢静脈内に点滴静注法により投与した。また、治療期間中は rIL-2 の 500～3,000 U を生食 100 ml に溶解し 1 日 2 回、点滴静注した。

5. 細胞障害能測定

(1) エフェクター細胞: Natural killer (NK) 活性の測定には、患者ヘパリン加末梢血より比重遠心法で分離した PBM を使用した。LAK 活性の測定には、こ

の PBM を 20% 非動化正常ヒト AB 血清 (Flow Laboratories) または 20% 非動化自己血清添加培地内に 1×10^6 個/ml で浮遊させ、2 U/ml の rIL-2 および 5 U/ml のヘパリンを添加し、5% CO₂、37℃ で 5 日間培養、誘導した LAK 細胞を用いた。なお、前述の臨床投与 LAK 細胞の in vitro における LAK 活性も併せて測定した。

(2) 標的細胞: NK 活性および LAK 活性の測定には、それぞれがん研究振興財団より供与を受けたヒト白血病由来 K562 細胞、ヒト Barkitt リンパ腫由来 Daudi 細胞を使用し、標的細胞は、⁵¹CrO₄ (NEN Research Products, U.S.A.) により標識した⁹⁾。

(3) ⁵¹Cr 放出試験: エフェクター細胞/標的細胞比 (E/T 比) 20: 1 で ⁵¹Cr 放出試験を行い、細胞障害能を測定した⁹⁾。

6. リンパ球表面マーカー解析: 抗 Leu 2, Leu 3, Leu 4, Leu 7 および Leu 11 抗体 (Becton Dickinson, U.S.A.) を用いて免疫蛍光抗体法により施行した。測定は、フローサイトメーター (FCM-1, 日本分光工業) により行った⁷⁾。

7. 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. 臨床成績 (Table 1)

評価可能症例は 10 例中 9 例であり、症例 2 は副作用のため、早期に治療中止となり評価不能であった。評価可能 9 例に対する総投与細胞数は、 $5.0 \sim 25.2 \times 10^9$ 個、平均 10.9×10^9 個であった。また、治療期間中に投与した rIL-2 総量は $3.7 \sim 15.0 \times 10^4$ U、平均 6.6×10^4 U であった。患者に投与された LAK 細胞の LAK 活性は、症例 3 以降では頻回に測定でき、症例 3 で 60% 代とやや低値を示したが、以後の症例では常に 70% 以上の活性がみられた。臨床効果は 9 例中 PR 1 例、NC 5 例、PD 3 例であった。既報の PR の症例 1 は⁹⁾、その後肺転移は完全に消失し、脳転移も放射線療法の併用で完全消失が得られ、治療開始後 26 カ月を経た現在、再発の徴候なく生存中である。症例 6 では本療法 10 回終了時に一部肺転移巣の消失、縮小がみられたが、他方増大したものも認められ、総合評価としては NC であった。しかしながら、本療法終了後に投与したリコンビナント α -インターフェロンにより PR が得られた⁹⁾。また、一部の肺転移巣の縮小は症例 10 でもみられたが、この症例においても総合効果は NC であった。

Table 1 Characteristics of patients with renal cell carcinoma treated by adoptive immunotherapy combined with plasmapheresis.

Patient	Age	Sex	Site of metastasis	Cells administrated (X10 ⁹)	IL-2 administrated (X10 ⁴ U)	Response	Current status *
1 T.K.	54	M	Lung,Brain	5.0	4.9	PR	Alive 26M
2 S.I.	69	M	Lung,Brain	0.5	0.5		Died 1M
3 H.K.	58	M	Lung	3.5	4.0	PD	Died 1M
4 A.O.	44	M	Lung	7.5	4.1	NC	Alive 18M
5 S.Y.	62	M	Lung,Bone	6.4	3.7	PD	Died 2M
6 K.S.	50	M	Lung	16.8	6.0	NC	Alive 17M
7 T.N.	56	M	Lung	12.2	6.6	NC	Alive 14M
8 A.H.	31	F	Liver	8.0	7.8	PD	Died 5M
9 T.A.	55	M	Lung,Node	13.1	7.0	NC	Died 4M
10 S.Y.	62	M	Lung,Tonsil	25.2	15.0	NC	Alive 5M

* Months after initial treatment

Fig. 1 Changes of lymphocytes count following adoptive immunotherapy combined with plasmapheresis in patients with renal cell carcinoma. The numbers of lymphocytes after treatment were significantly increased compared to those before treatment ($p<0.01$). bars indicate Mean $\pm$ SD.

2. 免疫学的指標の変動

全例で治療期間中に末梢血中リンパ球数の増加がみられ(Fig. 1), なかでも症例5においては治療前2,400個/mm³が, 治療終了直後には6,600個/mm³に達する著明な増加がみられた. 末梢血単核球NK活性およびLAK活性の治療前後の比較は7例で施行可能で, いずれの症例においても治療後にはNK活性の明らかな増強がみられたが(Fig. 2), 20%非動化正常ヒトAB血清存在下に in vitro で誘導されたLAK活性には治療による一定の傾向はみられなかった. また治療終了直後における検討では, 20%非動化正常ヒトAB

Fig. 2 Changes of NK activity following adoptive immunotherapy combined with plasmapheresis in patients with renal cell carcinoma. The levels of the percentage of specific lysis after treatment were significantly increased compared to those before treatment ($p<0.01$). Bars indicate Mean $\pm$ SD.

血清添加に比較して20%非動化自己血清添加によって誘導されたLAK活性は7例中6例で抑制されたが, 推計学的に有意の抑制ではなかった(Fig. 3). 治療前後での末梢血中リンパ球の表面マーカーを比較した5例では, いずれの症例においてもLeu2陽性細胞には著明な変動を認めなかったが, Leu3, Leu4陽性細胞の減少, Leu7, Leu11陽性細胞の増加がみられた (Table 2).

3. 副作用 (Table 3)

Fig. 3 Changes of LAK activity following adoptive immunotherapy combined with plasmapheresis and effect of autologous serum (AT) on the induction of LAK activity in patients with renal cell carcinoma.

Table 2 Changes of selected cell surface markers on peripheral blood mononuclear cells following adoptive immunotherapy combined with plasmapheresis in patients with renal cell carcinoma.

Antigen	Percent of cells stained	
	Pre	Post
Leu 2	23.5±5.7	24.0±4.9
Leu 3	48.3±7.3	28.5±9.7**
Leu 4	71.3±8.0	47.7±15.9*
Leu 7	12.8±2.8	26.9±7.3*
Leu 11	16.4±6.5	42.7±16.7*

* $P < 0.05$

** $P < 0.01$ by paired t-test

Table 3 Toxicity of adoptive immunotherapy combined with plasmapheresis in patients with renal cell carcinoma.

Toxicity	Number (%)
Malaise	9 (100)
Fever elevation	9 (100)
Eosinophilia	9 (100)
Pruritus	4 (44)
Dyspnea	1 (11)
Diarrhea	1 (11)
Arthralgia	1 (11)
Acute hepatitis	1 (11)
Brain edema	1 (11)
Weight gain (>10%)	2 (22)
Decrease of Ccr (>30%)	7 (77)

球数, 血小板数には明らかな変動は認められなかった。血液生化学的検査では, 前述の急性肝炎の症例を除き電解質, 肝機能の異常はみられなかった。腎機能検査では BUN, 血清クレアチニン値には明らかな変動は認めなかったが, 内因性クレアチニークリアランスでは 9 例中 7 例の治療経過中に 30% 以上の低下が生じ, 本療法による腎機能障害の可能性が示唆された。しかしながら, この腎機能障害は治療終了とともに速やかに回復し, 可逆的であった。

考 察

悪性腫瘍に対する免疫療法は, BCG に代表される非特異的免疫賦活療法により開始されたが, その作用機序は不明であり臨床成績も不十分であった。近年サイトカインと総称される生体自らが産生する物質の免疫機構への関与が明らかとなり, その相互作用の解析が行われている¹⁰⁾。なかでも IL-2 は抗腫瘍免疫機構に重要な役割を果たしていると考えられ, IL-2 を用いた LAK 療法による優れた成績が報告されている^{11)~14)}。これに対して悪性腫瘍患者においては抗腫瘍免疫能の抑制状態の存在のみならず, その血中には特異的, 非特異的免疫抑制因子の存在が認められており¹¹⁾¹²⁾, LAK 療法に関しても著者の腎細胞癌患者における検討では, 患者血清には IL-2 レセプターおよび LAK 細胞の誘導, 細胞障害性を抑制する作用の存在が示唆されている⁶⁾。そこで著者は LAK 療法に加え, 免疫抑制因子の除去を目的とした血漿交換療法を併用し, その臨床効果を検討した。その結果, 治療終了直後の免疫学的指標では末梢血リンパ球数の増加, NK 活性の増強, さ

全例に軽度の全身倦怠感および 38℃ 前後の発熱がみられ, 発熱は LAK 細胞投与後に著明となる傾向がみられた。rIL-2 の主な副作用とされる体内水分貯留に由来する症状としては, 1 例に肺水腫による軽度の呼吸困難が出現したが, 休薬などの処置は必要としなかった。また, 2 例で脳転移病巣周囲の浮腫増強による神経症状や脳圧亢進症状がみられ, 治療継続が不可能であった。その他の副作用症状としては, 関節炎症状, 全身皮膚の発赤および掻痒が各 1 例にみられた。また, 1 例で血漿交換のためと思われる急性肝炎が治療終了後一過性にみられた。血液検査上では, 末梢血中白血球数は前述のリンパ球増多と同時に全例で増加がみられ, なかでも好酸球増多が著明であった。末梢血赤血

には Leu11陽性リンパ球の増加が認められた。このうち末梢血中リンパ球数については LAK 療法中に 6,000個/mm³以上に増加した症例で有効例が多くみられ²⁾, また Leu11陽性リンパ球は *in vitro* で誘導された LAK 細胞の多くに発現し¹³⁾¹⁴⁾, 臨床的には LAK 療法中に増加すると報告されるなど³⁾, それぞれ重要な免疫学的指標とされている。著者の成績はこれらに一致し, 本療法における有効な担癌患者リンパ球機能の賦活を示唆するものと考えられた。一方, 本療法による現在までの臨床成績は, 評価可能症例 9 例においては PR 1 例, NC 5 例, PD 3 例であり, 諸家の成績^{1)~5)}を改善するまでには至っていない。この原因としては IL-2 の使用方法の差や, 著者の症例には比較的腫瘍体積の大きな例が多く含まれていたことなどが考えられた⁴⁾。しかしながら, PR の得られた症例では脳転移に対する放射線療法を併用したが, すべての転移巣が完全に消失し, 治療開始 26 カ月後においても再発はみられておらず, また他の 2 症例では PR までには至らなかったものの一部の肺転移巣の縮小が認められた。これは本療法に反応する病巣が一部ではあるが存在することを示し, 本療法は従来困難であった進行性腎細胞癌の治療法の一つとして期待し得ると思えられた。

本療法の至適条件はいまだ確立されておらず, その検討, 改善を進めることにより治療成績の向上が可能と考えられる。そこで今回の結果を含め本療法の問題点を以下に考案した。

血漿交換療法については, 著者は腎細胞癌患者血清中の免疫抑制因子の除去を目的として毎回 1,000ml の血漿交換を施行したが, これには 2,500ml の血漿交換でさえ充分ではないとした報告がみられ¹⁵⁾, 著者の検討においても血漿交換を 10 回施行した後でも多くの症例で LAK 細胞の誘導は自己血清添加により抑制されている。また, 今回用いた遠心分離法は大量の血漿の置換を必要とし, 症例 4 にみられた急性肝炎などの問題があるなど, その限界が示唆されている。少量の血漿の置換で有効な免疫抑制因子の除去を施行するには今後, 二重膜濾過血漿分離交換法や吸着法の併用などの工夫が必要であろう。

IL-2 の投与量に関しては, 良好な臨床効果を得るには比較的大量の投与が必要とされている¹⁾。また投与方法では, 静脈内投与された IL-2 の血中半減期は約 5 分と速やかに腎より排泄されるので¹⁶⁾, 静注法より持続点滴静注法が血中濃度の維持, 患者体内での内因性

LAK 細胞の誘導には有用と考えられ, 持続点滴静注法による優れた成績も報告されている²⁾。さらに, この内因性 LAK 細胞の誘導には IL-2 の投与期間も関与し, 2 カ月間程度の投与期間が必要であるとした報告もみられる¹⁷⁾。これに対して著者の使用した IL-2 の 1 日投与量は欧米での投与量に換算するとその約 1/10 に相当し, 平均投与期間は 40 日間であった。今後, 持続点滴静注法などによって副作用を最小限に抑えつつ, IL-2 の投与量, 投与期間の改善を工夫する必要がある。

LAK 細胞に関しては, 十分な活性を持つ LAK 細胞をより大量に投与する必要があるが, LAK 細胞の投与方法も問題となる。すなわち, 静脈内投与された LAK 細胞の臓器分布には偏りがみられ, LAK 細胞が多く集積する肺, 肝の腫瘍病変が最も良い適応となると報告されており¹⁸⁾, その他の転移部位に対しては LAK 細胞の局所動注, 局所注入法などの併用が必要と考えられる。さらに, 著者の 2 例では多発性肺転移のうち一部の転移巣のみに縮小がみられており, これは各転移巣の血行動態の差に加えて, 組織学的な heterogeneity が関与していると推測された。

LAK 療法の副作用は発熱および IL-2 による血管透過性の亢進に起因する肺水腫, 体重増加, 腎機能障害などの諸症状と報告されている¹⁾。著者の症例では, IL-2 投与量が比較的小量であったため重篤な肺水腫などの発生はみられなかったが, 脳転移を有する 2 例で神経症状や脳圧亢進症状が生じ, これは血管透過性の亢進により脳転移巣周囲の浮腫が増悪したためと考えられた。また, LAK 療法による一過性の腎機能障害が指摘されているが^{1)~4)}, 著者の検討でも 9 例中 7 例に本療法中に 30% 以上の内因性クレアチンクリアランスの一過性の低下がみられた。腎細胞癌においては, LAK 療法による腎機能障害は患側の腎摘除術の有無には影響されないが, LAK 療法開始前に腎機能低下を認める症例では重篤となると報告されており¹⁹⁾, 脳転移を有する症例や腎機能障害のある症例では慎重な適応の決定が必要と思われた。

以上より, 血漿交換を併用した LAK 療法は今後改善すべき問題点もあるものの, 比較的 safely に施行可能で, 従来困難であった進行性腎細胞癌の治療法の一つとして期待されることが考えられた。

結 語

10 例の進行性腎細胞癌患者を対象として患者血清中の免疫抑制因子の除去を目的とした血漿交換療法と

LAK 療法の併用療法を施行し、以下の結果を得た。

1. 本療法終了直後の免疫学的指標の検討では、末梢血リンパ球数の増加, NK 活性の亢進, Leu11陽性細胞の増加などの宿主免疫能の亢進が示された。

2. 評価可能症例 9 例における臨床成績は, PR 1 例, NC 5 例および PD 3 例であった。

3. 副作用の主なものは, 1 例に血漿交換療法による急性肝炎がみられた他, IL-2投与によって脳転移を有する 2 例で脳浮腫の増悪が生じ, 治療の継続が不可能であった。

4. 血漿交換量, IL-2の投与方法など今後改善の必要はあるが, 本療法は他に有効な治療方法のない進行性腎細胞癌では期待される治療法の一つと考えられた。

本論文の要旨の一部は第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 亞教授に深甚なる感謝の意を表します。また種々の御教示を賜ったマツダ病院泌尿器科, 中野博博士, 中本貴久博士ならびに広島大学原爆放射能医学研究所, 峠 哲哉教授に感謝いたします。

文 献

- 1) 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 progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 or high-dose interleukin-2 alone. *N. Engl. J. Med.*, 316, 889—897, 1987.
- 2) West, W.H., Tauer, K.W., Yannelli, J.R., Marshall, G.D., Orr, D.W., Thurman, G.B. and Oldham, R.K.: Constant-infusion recombinant interleukin-2 in adoptive immunotherapy of advanced cancer. *N. Engl. J. Med.*, 316, 898—905, 1987.
- 3) 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.
- 4) Fisher, R.I., Coltman, C.A., Doroshow, J.H., Rayner, A.A., Hawkins, 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 Pajetta, E.: Metastatic renal cancer treat-

ed with interleukin-2 and lymphokine-activated killer cells. *Ann. Inter. Med.*, 108, 518—523, 1988.

- 5) 中野悦次, 松田 稔: 腎癌の手術以外の療法. *泌尿器外科*, 1, 195—199, 1988.
- 6) 薄井昭博: 腎細胞癌患者における LAK 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抑制因子. *日泌尿会誌*, 81, 1051—1057, 1990.
- 7) Lanier, L.L. and Warner, N.L.: Paraformaldehyde fixation of hematopoietic cells for quantitative flow cytometry analysis. *J. Immunol. Methods*, 47, 25—30, 1981.
- 8) 峠 哲哉, 山田博文, 亀田 彰, 沢村明博, 服部孝雄, 中本貴久, 薄井昭博, 中野 博, 碓井 亞: LAK 細胞養子免疫療法が著効を示した腎がんの 1 例. *Oncologia*, 21, 104—107, 1988.
- 9) 薄井昭博, 中本貴久, 池本秀昭, 碓井 亞, 中野博: 血漿交換併用 LAK 療法に引続くインターフェロン α 投与により著効の得られた進行性腎細胞癌の 1 例. *Biotherapy*, 3, 581—585, 1989.
- 10) Fauci, A.S., Rosenberg, S.A., Sherwin, S.A., Dinarello, C.A., Longo, D.L. and Lane, H.C.: Immunomodulators in clinical medicine. *Ann. Int. Med.*, 106, 421—433, 1987.
- 11) 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.
- 12) Ueda, T.: Serum immunosuppressive acidic protein in renal cell carcinoma. *Urol. Res.*, 14, 101—103, 1986.
- 13) Ferrini, S., Miescher, S., Zocchi, M.R., Fliedner, V. and Moretta, A.: phenotypic and functional characterization of recombinant interleukin 2 (rIL-2)-induced activated killer cells. analysis at the population and clonal levels. *J. Immunol.*, 138, 1297—1302, 1987.
- 14) Tilden, A.B., Itoh, K. and Balch, C.M.: Human lymphokine-activated killer (LAK) cells. Identification of two types of effector cells. *J. Immunol.*, 138, 1068—1073, 1987.
- 15) 田中昌彦, 田中宏治: 血漿交換療法併用による LAK cell 誘導の増強効果. *人工臓器*, 17, 311—313, 1988.
- 16) Donohue, J.H. and Rosenberg, S.A.: The fate of interleukin-2 after in vivo administration. *J. Immunol.*, 130, 2203—2208, 1983.
- 17) Mcmannis, J.D., Fisher, R.I., Creekmore, S.P., Braun, D.P., Harris, J.E. and Ellis, T.M.: In vitro effects of recombinant IL-2. 1. Isolation of

circulating leu-19⁺ lymphokine-activated killer effector cells from cancer patients receiving recombinant IL-2. *J. Immunol.*, 140, 1335—1340, 1988.

- 18) Lotze, M.T. and Rosenberg, S.A.: Results of clinical trials with the administration of interleukin 2 and adoptive immunotherapy with activated cells in patients with cancer. *Im-*

munobiol., 172, 420—437, 1986.

- 19) Beldegrun, A., Webb, D.E., Austin, H.A., Steinberg, S.M., Linehan, W.M. and Rosenberg, S.A.: Renal toxicity of interleukin-2 administration in patients with metastatic renal cell cancer: Effect of pre-therapy nephrectomy. *J. Urol.*, 141, 499—503, 1989.

(1990年3月15日受理)