腎細胞癌におけるクラスII主要組織適合抗原

—免疫組織学的検討及び腎癌細胞株における

インターフェロンによる発現の誘導—

新潟大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 佐藤昭太郎教授)

富 田 善 彦

MAJOR HISTOCOMPATIBILITY COMPLEX CLASS II ANTIGENS ON RENAL CELL CANCER
—Immunohistochemical Study and Effect on Their Expression by Interferon—

Yoshihiko Tomita

Department of Urology, Niigata University School of Medicine

(Director: Prof. S. Sato)

Products of major histocompatibility complex (MHC) play important roles in immune reaction. Class II MHC antigens serve as restriction elements for cells presenting antigens to CD4-positive helper T cells and also as histocompatibility antigens responsible for graft rejection. Furthermore, it was reported that expression of class II antigens on tumor cells increases immunogenicity in the murine system. In an attempt to investigate the relationship between renal cell cancer (RCC) and host's immune responses, we examined the expression of class II MHC antigens on RCC tissues of 30 cases and tumor cell lines. Immunohistochemical study showed that class II antigens were detected on 29 out of 30 RCC tissues to various degrees with an order of positivity DR>DP>DQ but not normal renal tubular cells. Significant correlation was found between the expression of DQ or DP and the degree of lymphocyte infiltration. Three lines of RCC were examined by flowcytometric analysis, and were found to lack class II antigens. In KRC/Y and ACHN, however, HLA-DR-positive cells and in KRC/Y a smaller number of HLA-DP-positive cells were found when these cells were treated with interferon- γ but not interferon- α . The result suggests that the expression of class II antigens on RCC might be modified by interferon- γ which is produced by tumor infiltrating lymphocytes or administered for cancer treatment. Their expression is considered to affect host's immune response to RCC.

Key words: renal cell cancer, class II major histocompatibility complex antigens

要旨: 主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) の産物である MHC 抗原は免疫反応において重要な役割を果たしている。このうちクラスII抗原は抗原提示細胞が CD4陽性ヘルパーT細胞に抗原を提示する際に拘束因子として働く。また宿主と移植片のクラスII抗原の違いは移植片の拒絶の原因となることも知られている。さらに、実験腫瘍の系では腫瘍細胞上でのクラスII抗原の発現が免疫原性の増強につながる事が報告されている。腎細胞癌 (RCC) と宿主の免疫反応の関係を検討するため、30例の RCC と腎癌細胞株に対し、クラスII MHC 抗原の発現を検討した。RCC に対する免疫組織学的検索の結果、正常尿管上皮にはみられないクラスII抗原陽性細胞が30例中29例に種々の程度でみられた。また HLA-DR 陽性細胞が最も多く、ついで DP, DQ の順であった。浸潤リンパ球は T 細胞がほとんどであり、DP または DQ 陽性の腫瘍細胞が多い症例でその数が多い傾向にあった。フローサイトメトリーによる解析で検討した3種の腎癌細胞株はクラスII抗原陰性であったが、インターフェロン (IFN) γ による処理後に、KRC/Y と ACHN が濃度依存性に HLA-DR 陽性となり、KRC/Y の少数の細胞では DP も陽性となった。なお、INF α では効果は見られなかった。以上の結果から RCC 上の MHC クラスII抗原は治療目的で投与された IFN や浸潤リンパ球から産成された IFN により修飾され、宿主の免疫反応に影響を与え

ていることが考えられる。

キーワード：腎細胞癌，クラスII主要組織適合抗原

緒 言

主要組織適合抗原は、種々の免疫反応において重要な役割を果たしている。このうちクラスII抗原は抗原提示細胞がCD4陽性ヘルパーT細胞に抗原を提示する際に拘束分子として働く事が知られ¹⁾、移植片の拒絶に際しても原因抗原となる事が知られている²⁾。ほとんどの有核細胞に分布するクラスI抗原と異なり、クラスII抗原の発現は免疫担当細胞や血管内皮細胞などに比較的に限られている³⁾。ある種の腫瘍では、その由来する正常細胞では発現されていないクラスII抗原を発現することが報告された⁴⁾⁵⁾。また、腫瘍細胞上のクラスII抗原が、アロのリンパ球を刺激してその分裂、増殖を促したり⁶⁾、抗原提示能を持つクラスII抗原陽性の腫瘍細胞の存在も報告されている⁷⁾。さらに、実験腫瘍の系で腫瘍上のクラスII抗原の欠如が腫瘍の免疫原性の低下を招き宿主の生存率の低下を招くとの報告もある⁸⁾。

腎細胞癌(RCC)は自然寛解の報告が多い腫瘍であり⁹⁾、各種免疫療法にも比較的高い反応性を示すこと

が知られ¹⁰⁾¹¹⁾、その宿主内での動態に免疫系の関与が強く示唆される腫瘍である。Heinemannらは10例のRCCについて、クラスII抗原フレームワークに対するモノクローナル抗体(mAb)を用いてクラスII抗原に対する免疫組織学的検討をおこない、うち2例にクラスII抗原の発現を見たとき報告している¹²⁾。

今回我々は、30例の腎細胞癌に対して抗HLA-DR、DQ及びDPの3種のmAbを用い、クラスII抗原の発現を免疫組織学的に検討し、さらに腎癌腫瘍細胞株上での発現について解析を行い、各種インターフェロン(IFN)のその発現に対する影響を検討したので報告する。

対象及び方法

1. 対照患者及び組織標本

免疫組織学的検討の対象症例は新潟大学付属病院及びその関連病院でRCCに対し腎摘除術を施行した男性18例女性12例の合計30例で平均年齢は59.5歳であった。また、これらの症例は術前に化学療法や放射線療法、免疫療法剤の投与を受けていないことを条件とし、

Table 1 Monoclonal antibodies used for immunohistochemical staining

clone	Ig subclass	specificity
W6/32	IgG _{2a}	HLA-A, B, C monomorphic
L243	IgG _{2a}	HLA-DR monomorphic
SK10 (anti Leu 10)	IgG ₁	HLA-DQ common polymorphic
B7/21	IgG ₁	HLA-DP monomorphic
L17/F12 (anti Leu 1)	IgG _{2a}	CD5
SK1 (anti Leu 2a)	IgG ₁	CD8
SK3 (anti Leu 3a)	IgG ₁	CD4

Table 2 Procedure of immunohistochemical staining

1. air dry	30 min
2. fixed in cold acetone	10 min
3. 20% normal sheep serum (Antibodies inc.,)	30 min
4. blocking of endogenous biotin (Endogenous Biotin Blocking Kit, Vector Laboratories)	30 min
5. first mouse monoclonal antibodies	60 min
6. biotinylated sheep anti-mouse Ig antibodies (Amersham International)	30 min
7. streptavidin peroxidase (Amersham International)	45 min
8. 0.05% diaminobenzidin and 0.01% H ₂ O ₂	3—5 min

Each step was followed by washing in PBS with three changes of the buffer.

明らかな尿路感染症のある症例も除外した。手術切除標本は OCT コンパウンド中に包埋、凍結した後、クリオスタットを用いて $5\mu\text{m}$ の連続凍結切片を作成した。また、正常腎組織でのクラス II 抗原の表現を検討するために摘除標本の正常部分を採取し同様の処理を行った。病理組織学的検討は腎癌取扱規約にしたがった。

2. モノクローナル抗体及びインターフェロン

使用した mAb はクラス II 抗原に対する抗 HLA-DR, DQ, DP と、クラス I 抗原に対する W6/32、浸潤リンパ球 (TIL) に対する抗 Leu1 (CD5), 抗 Leu-2a (CD8) 及び抗 Leu3a (CD4) 抗体である。W6/32 は Dako Japan co., Kyoto, Japan より、その他は Becton Dickinson co., Burlingame, CA, USA より購入した。これらの性状は Table 1 に示した。使用した IFN は組替え形 IFN- γ (塩野義製薬より供与)、組替え形 IFN- α 2a (武田薬品工業より供与) である。

3. 免疫組織染色

免疫組織染色は Table 2 に示すごとくストレプトアビジン-ビオチン法¹³⁾を用いた酵素抗体法で行った。クラス II 抗原に対する染色では、同一切片上の血管内皮細胞を内因性の陽性対照とし、陰性対照としては特異性の異なる同じサブクラスの mAb を一次抗体とした。本研究では抗クラス II 抗原と抗リンパ球抗原による染色標本が互いに陰性対照となった。クラス II 抗原に対する染色の評価は腫瘍巣に陽性細胞を認めないものを(-), 腫瘍巣に占める陽性細胞の割合が 50% 以下のものを(+), 半数以上 75% 以下のものを(++)、75% 以上のものを(+++)として 4 段階に分類した。また TIL は Leu1 陽性細胞数によりリンパ球の浸潤の程度を評価した。その方法は、無作為に選んだ 5 視野について、100 倍の倍率下で実測 1mm^2 の陽性細胞数を数え、この平均の値により、0 : 陽性細胞を認めない、1 : 10 個以下、2 : 10~49 個、3 : 50~99 個、4 : 100 個以上の 5 段階に分類した。スコアが 2~4 の症例については同様の方法により Leu3a(CD4) および Leu2a(CD8) 陽性細胞を数え CD4/8 比を算出した。

4. 腎癌細胞株およびフローサイトメトリー解析

使用した腎癌細胞株は、ACHN, NRC12, KRC/Y の 3 種で NRC12 は当教室で樹立したものであり¹⁴⁾、KRC/Y は久留米大学医学部第 1 病理学教室神代教授より分与されたものである¹⁵⁾。細胞株はいずれも単層培養株であるため、染色の前に 0.25% trypsin + 0.02% EDTA 溶液を使用し単細胞浮遊液とした。2% ウシ胎児血清 (FCS) を含む PBS で 3 回洗浄した後、この浮

遊液に各抗原に対する mAb を加え 4°C で 30 分間反応させた。再び 2% FCS-PBS で 3 回洗浄した後、FITC 標識ヤギ抗マウス Ig 抗体 (Tago, Inc., Burlingame, CA, USA) と 4°C 30 分間反応させ、同様に 2% FCS-PBS で 3 回洗浄した。染色した腫瘍細胞は #200 スチールウールメッシュを通過させてから Becton Dickinson 社製 FACScan によりフローサイトメトリー (FCM) 解析をおこなった。またこの細胞浮遊液をスライドグラス上に滴下し、蛍光顕微鏡下で観察した。

5. インターフェロン処理および腫瘍細胞増殖の検討

腫瘍細胞に対する IFN 処理は培地に種々の濃度で IFN- γ または IFN- α を加え 48 または 72 時間培養し、上述した方法により FCM 解析をした。さらに、IFN- γ によるクラス II 抗原発現誘導の動態を検討するため IFN- γ 存在下での培養 120 時間までの各時点でのクラス II 抗原の発現についても検討した。細胞増殖の検討は以下の通りに行った。まず KRC/Y を上述のごとくトリプシン処理を行い $1 \times 10^5/\text{ml}$ の濃度に浮遊し、これを 96well マイクロプレート (Nunc, Kanstrup, Roskilde, Denmark) に $1 \times 10^4/\text{well}$ として加えた。24 時間後に種々の濃度の IFN- γ を含んだ培地を $100\mu\text{l}/\text{well}$ ずつ加えた。48 時間培養した後、 $0.5\mu\text{Ci}$ [^3H] - thymidine ([^3H] - TdR) を各 well に加え、20 時間後に腫瘍細胞をハーベストし、取り込まれた [^3H] TdR を液体シンチレーションカウンターで測定した。

結 果

1. 正常腎、腎細胞癌組織におけるクラス II 抗原の表現及びリンパ球浸潤

正常腎では糸球体、血管内皮細胞に陽性染色を認めるものの、腎細胞癌が由来する尿細管上皮にクラス II 抗原は染色されなかった (Fig. 1)。これに対し、30 例中 29 例の腫瘍細胞では種々の程度にクラス II 抗原が表現されていた (Fig. 2) しかし、この発現の程度と病理組織学的あるいは臨床的要因とは一定の関係を認めなかった (Table 3)。3 種のクラス II 抗原の中では HLA-DR が最も陽性率が高く、ついで HLA-DP, DQ の順であった。また DP あるいは DQ 陽性の腫瘍は DR が陽性であった。腫瘍中に浸潤するリンパ球の数は種々であったが、CD4/8 比を算出した 20 例中 17 例が 1.0 以下で CD8 陽性細胞の比率が高かった。リンパ球浸潤の程度とクラス II 抗原の発現は DR では有意の関係を認めなかったものの、DQ と DP では TIL 数とクラス II 抗原陽性腫瘍細胞数との間に chi square test

Fig. 1 Immunohistochemical staining of class II antigen (HLA-DR) with L243 on normal kidney cells. Endothelial cells of vessels are positive but renal tubulus are not stained. Magnification $\times 175$.

で有意な関係を認めた (Table 4).

2. 腫瘍細胞株上の MHC 抗原の表現およびインターフェロン処理によるクラス II 抗原の発現, 細胞増殖に及ぼす影響

尿細管上皮に見られなかったクラス II 抗原が RCC で表現されていることから, 腎癌細胞株における MHC 抗原の表現について検討を行った. クラス I 抗原は ACHN, NRC12, KRC/Y とも強く発現していたが, クラス II 抗原の発現はみられなかった. 次に腫瘍細胞を種々の濃度の IFN- γ で 48 時間培養したところ, ACHN と KRC/Y で HLA-DR の発現を認め KRC/Y

Y についてみると IFN- γ の濃度依存性に HLA-DR を発現した (Fig. 3, Fig. 4A, B, C). この発現は 400 U/ml でほぼプラトーに達した. 次に, 400 U/ml の IFN- γ 存在下で KRC/Y の HLA-DR の表現を 0 ~ 120 時間まで経時的に検討したところ培養 3 時間目より発現を認め, 48 時間でほぼプラトーとなった (Fig. 5). また, HLA-DP は 24 時間頃より FCM パターン上, 右方へのシフトを認め, 48 時間目には少数ながら陽性細胞を認めた (Fig. 4D, Fig. 5). HLA-DQ の発現は認めなかった. IFN- α の添加培養では 20,000 U/ml まで濃度を上げててもクラス II 抗原の発現は認められなかった. 以上の結果は蛍光顕微鏡による検討でも同様であった.

IFN- γ には直接的な腫瘍細胞増殖抑制効果が知られているが, KRC/Y について [^3H] TdR 取り込み測定による IFN- γ の細胞増殖におよぼす影響を検討した. この結果 KRC/Y においては IFN- γ を 4,000 U/ml まで濃度をあげても顕著な増殖抑制効果はみられなかった (Table 5).

考 察

MHC クラス II 抗原は, 抗原提示細胞が CD4 陽性のヘルパー T 細胞に抗原を提示する際に拘束分子として働く¹⁾. また移植片の拒絶の際に原因抗原としても働くことが知られている²⁾. MHC クラス II 抗原の発現は本来免疫担当細胞に限られるものと考えられていたが, 特に人では免疫系以外の細胞にも表現されていることが見いだされた³⁾. さらに腫瘍細胞においてはその由来する正常細胞には本来発現されないクラス II 抗

Fig. 2A and 2B (A) patient #2. Most of the tumor cells (more than 75%) are positive for HLA-DR. (B) patient #13. Only endothelial cells and interstitial cells in the tumor are stained intensely with anti-HLA-DR. Magnification $\times 175$.

Table 3 Clinical features, expression of class II antigens and tumor infiltrating lymphocytes (TIL) in renal cell cancer

No.	sex	age	TNM classification	grade	class II antigens expression			TIL score	Ratio of Leu3a/2a positive cells
					DR	DQ	DP		
1	F	58	T ₂ N ₀ M ₀	2	+	+	+	4	0.56
2	M	60	"	1	+	+	+	3	0.98
3	M	76	"	2	+	+	+	4	0.82
4	M	62	"	2	+	+	+	4	0.35
5	M	62	"	1	+	+	+	1	/
6	M	56	"	1	+	-	-	0	/
7	M	34	"	1	+	-	-	2	0.91
8	M	78	"	2	+	+	+	3	0.42
9	M	51	T ₂ N ₀ M ₁	2	+	+	+	4	0.43
10	F	65	T ₂ N ₀ M ₀	1	+	+	+	2	0.64
11	M	59	"	1	+	+	+	4	0.40
12	M	36	"	2	-	-	-	0	/
13	F	38	"	1	+	+	+	3	1.28
14	F	56	"	2	+	+	+	4	0.36
15	M	55	T ₂ N ₀ M ₁	1	+	+	+	3	0.16
16	M	70	T ₃ N ₁ M ₁	2	+	+	+	3	0.96
17	M	54	T ₂ N ₀ M ₁	1	+	+	+	2	1.35
18	F	51	T ₂ N ₀ M ₀	2	+	+	+	1	/
19	M	58	T ₃ N ₀ M ₀	2	+	+	+	1	/
20	F	48	"	2	+	+	+	0	/
21	F	65	T ₂ N ₀ M ₀	2	+	+	+	0	/
22	M	53	"	2	+	+	+	4	2.36
23	F	64	T ₃ N ₁ M ₁	2	+	+	+	4	0.16
24	F	71	T ₂ N ₀ M ₀	2	+	+	+	0	/
25	M	60	"	1	+	+	+	2	0.24
26	M	71	T ₃ N ₀ M ₀	1	+	+	+	2	0.30
27	F	76	"	1	+	+	+	2	0.44
28	F	53	T ₂ N ₀ M ₀	2	+	+	+	2	0.55
29	F	68	T ₃ N ₀ M ₀	1	+	+	+	1	/
30	M	76	"	1	+	+	+	0	/

^a The degree of expression of class II antigens were described in a semiquantitative manner : - ; no positive cells, + ; less than 50%, + ; more than 75%. ^b The degree of lymphocyte infiltration scored by the numbers of CD5-positive cells in 1 mm² as follows : 0 ; none, 1 ; less than 10 of positive cells, 2 ; 10—49 cells, 3 ; 50—99 cells, 4 ; more than 100 cells.

原が見いだされ⁴⁾⁵⁾, このクラスII抗原が本来の機能を果たすものであるかどうかという点につき研究が進められた。その結果, ある種の腫瘍細胞では同種のT細胞に対して抗原提示能を持つことが報告され⁷⁾, また, アロリンパ球の分裂増殖を促し得る腫瘍細胞株の存在も示された⁶⁾。これらの事実は腫瘍細胞が宿主と同じフェノタイプのクラスII抗原を発現すれば宿主のヘルパーT細胞に対して抗原(腫瘍白身由来)のものも含めた)を提示しうる可能性があり, 逆に異なったフェノタイプであればそのクラスII抗原に対する宿主のア

ロ反応を惹起する可能性を示唆している。いずれにしても腫瘍上のクラスII抗原は宿主の色疫担当細胞が腫瘍細胞を排除する上で有利に働くことが考えられる(Fig. 6)。実際モルモットを用いた系で腫瘍上のクラスII抗原の低下が同時に腫瘍の免疫原性の低下を招き, 宿主の生存率が低下したという報告がある⁸⁾。

一方, 腎癌は自然寛解の報告例が多く⁹⁾, IFNによる治療¹⁰⁾や lymphokine activated killer (LAK) 細胞による養子免疫療法に対しても比較的高い反応性を示し¹¹⁾, その生体内の動態に対し宿主の免疫系の関与が

Table 4 Correlation between class II antigen expression and the degree of lymphocyte infiltration.

^a Expression of class II antigens	^b TIL score	
	0-2	3 or 4
HLA-DR #	9	11
		NS, X ² =3.326
HLA-DQ -, +, #	8	2
HLA-DQ # #	2	6
		p<0.05, X ² =4.455
HLA-DP -, +	15	7
HLA-DP # #	3	8
		p<0.01, X ² =6.111
HLA-DP -, +	14	5

^a The degree of class II antigens expression is classified in 4 groups same as Table 3. ^b The degree of infiltration of lymphocytes is scored same as Table 3.

Table 5 Effect of IFN-γ on proliferation of KRC/Y cells

	Dose of IFN-γ in culture medium (U/ml)					
	0	50	100	400	1000	4000
[³ H] TdR incorporation (cpm)	49034	45072	45604	44545	43166	45555
% of inhibition	100	91.9	93.0	90.8	88.0	92.9

KRC/Y cells (1×10⁴/well) were added to 96 well microculture plates and cultured for 24 hours. Then, various doses of IFN-γ were added and cultured for 48 hours. ³H-thymidine [³H] TdR) of 0.5 μ-Ci was pulsed to each well and cells were harvested after 20 hours of culture. [³H] TdR incorporation were counted by liquid scintillation counter (Model LS-3100 Beckman Instruments).

強く示唆される腫瘍の一つである。Heinemann らは 10 例の RCC 症例について各種のクラス II 抗原に広い特異性を持つ mAb を用いて検討し、うち 2 例にクラス II 抗原の発現を見たとの報告をしている¹²⁾。今回我々は 3 種のクラス II 抗原に対する mAb を用いて 30 例の RCC 症例に対し、HLA-DR, DQ, DP の表現について検討した。その結果 RCC の由来する尿管上皮にはその発現はみられなかった。RCC ではその数は様々であるが 30 例中 29 例と高率にクラス II 抗原陽性細胞を認め、前述した RCC の特性および腫瘍上のクラス II 抗原の機能と考え合わせると興味深い結果と言える。我々の結果は Heinemann らの結果に比して高い

Fig. 3 Dose-response curve for the induction of HLA-DR antigens by IFN-γ on KRC/Y. After incubation with varying doses of IFN-γ for 48 hours, HLA-DR (●) and HLA class I (△)-positive cells were counted by flowcytometric analysis.

Fig. 4 Flowcytometric analysis for the expression of class II antigens on KRC/Y by FACScan®. Stained with only FITC-conjugated anti-mouse Ig (A). KRC/Y cells were incubated with 50U/ml (B) and 400U/ml (C and D) of IFN-γ for 48 hours and stained for HLA-DR (B and C) and HLA-DP (D). Each pattern showed 14.5 and 42.5 percent of HLA-DR-positive cells and 3.9 percent of HLA-DP-positive cells, respectively.

陽性率を示しているが、この差は使用した mAb や染色法の違いによるものかも知れない。個々のクラス II 抗原については、DR, DP, DQ の順で陽性細胞が多く、DP, DQ 陽性例はすべて DR 陽性細胞が見られると

Fig. 5 Kinetics of the induction of class II antigens by IFN- γ on KRC/Y. Cells were incubated with 400U/ml of IFN- γ for 0 to 120 hours and the number of the HLA-DR (●), DP (▲) and DQ (■)-positive cells were counted by flowcytometric analysis.

Fig. 6 Conceivable functions of class II antigens on a tumor cell.

いった発現の違いが認められた。一方、TILの検索ではそのほとんどがT細胞であり、DQ, DPの発現の程度とTIL数との間には有意な関係が認められた。

さらに、RCCの腫瘍細胞株についてMHC抗原の発現を検討したが、クラスI抗原は3種の腫瘍細胞株全てにみられたものの、クラスII抗原の発現は認められなかった。IFNは様々な生理学的活性を持ち、その一つとしてMHC抗原の発現を増強する作用が知られている¹⁷⁾。そこで、これらの腫瘍細胞株をIFNを加えた培地中で培養したところIFN- γ を添加した場合に

濃度依存性にKRC/YにHLA-DRの発現を認めた(Fig. 3)。この発現は経時的に増強し、48時間ではほぼプラトーに達した(Fig. 5)。また、ごく少数であるがHLA-DP陽性細胞も認められ、この結果はRCCに対する免疫組織染色でみられた結果と同様で、RCCにおいてはDR, DP, DQの順で発現され易いことを示唆している。しかし、この異なるクラスII抗原の間での発現の違いがどのような意義を持つのかは不明である。

この様に腫瘍細胞自体の免疫原性を変化させ得るクラスII抗原の発現がIFN- γ により誘導されることが明かとなったが、KRC/YではクラスII抗原を十分に誘導し得る濃度でも明かな腫瘍細胞の増殖抑制はみられなかった(Table 5)。これは、IFNの直接的抗腫瘍効果と腫瘍細胞の免疫原性を変化させうるクラスII抗原の発現の誘導が必ずしも平行しないことを示している。

本研究の結果から、その生体内の動態に免疫担当細胞の関与が強く示唆されるRCCにおいては腫瘍の免疫原性を増強する可能性のあるクラスII抗原が高率に発現されており、RCCでの発現は腫瘍自体の性質の他にIFNの影響があるものと考えられる。また、腫瘍上のクラスII抗原の発現とTIL数との間に有意な関係を認めたことから、クラスII抗原がRCCの免疫原性を増強し、リンパ球浸潤をより強く誘導している可能性が考えられる。さらに、TILの中にはIFN- γ を産生しているものがあり、IFN- γ 陽性細胞とHLA-DR陽性腫瘍細胞の数との間に有意な関係を認めたとの報告もあることから¹⁷⁾、TILが産成したIFNによりクラスII抗原の発現が誘導されている可能性もある。今回の研究の結果からはこれらの可能性に対する直接の証明は不可能であるが、あるいは両方の機序が相乗的に働いているのかも知れない。

RCC患者に対するIFNの投与は直接の腫瘍細胞障害活性や宿主の免疫担当細胞の活性化を介した作用のみでなく、腫瘍細胞上のMHC抗原などの抗原の変化を介した効果、言い替えれば腫瘍自体の免疫原性を高めることで抗腫瘍効果を示すことも期待され、臨床的にも考慮されるべき点であると思われる。

結 語

腎細胞癌30例について免疫組織学的検討を行った結果、本来尿細管上皮には検出されないクラスII抗原を29例に認めた。このときDR, DP, DQの順で陽性細胞が多かった。またDP, DQ陽性細胞が多い腫瘍にリンパ球浸潤を多く認めた。また、腎癌細胞株である

ACHN, NRC12, KRC/Y に対し MHC 抗原の表現についてフローサイトメトリーによる解析を行ったところ, KRC/Y に IFN- γ を作用させると HLA-DR 及び少数の HLA-DP 陽性細胞が見られた。以上より, 腎癌細胞上にはクラス II 抗原が高率に存在し, このクラス II 抗原は宿主に対する IFN の投与や腫瘍内浸潤リンパ球の産成する IFN により影響され宿主中での免疫原性の変化につながる可能性が示唆された。

本稿を終えるに当たり, 貴重な症例を提供していただいたガンセンター新潟病院の坂田安之輔, 小松原秀一, 北村康男, 渡辺 学の諸先生, 厚生連三条総合病院の平岩三雄先生, 燕労災病院の安藤 徹先生, 厚生連佐渡総合病院の渡部忠男先生, 研究の遂行にあたりご協力いただいた西山 勉講師をはじめとする泌尿器科教職員各位, 新潟大学医動物学教室の松本 陽, 渡部久実の両先生, また本研究のご指導ご校閲を賜った藤原道夫新潟大学医動物学教室教授, 佐藤昭太郎教授に深謝いたします。

文 献

- Benacerraf, B.: Role of MHC gene products in immune regulation. *Science*, 212, 1229—1238, 1981.
- Rosenberg, A.S., Mizuochi, T., Sharrow, S.O. and Singer, A.: Phenotype, specificity, and function of T cell subsets and T cell interactions involved in skin allograft rejection. *J. Exp. Med.*, 165, 1296—1315, 1987.
- Natali, P.G., De Martino, C., Quaranta, V., Nicotra, M.R., Erezza, F., Pellegrino, M.A. and Ferrone, S.: Expression Ia-like antigens in normal human nonlymphoid tissues. *Transplantation*, 31, 75—78, 1981.
- Daar, A.S., Fuggle, S.V., Ting, A. and Fabre, J. W.: Anomalous expression of HLA-DR antigens on human colorectal cancer cells. *J. Immunol.*, 129, 447—449, 1982.
- Momburg, F., Degener, T., Bacchus, E. Moldenhauer, G., Haemmerling, G.J. and Möller, P.: Loss of HLA-A,B,C and de novo expression of HLA-D in colorectal cancer. *Int. J. Cancer*, 37, 179—184, 1986.
- Takiguchi, M., Ting, J. -p. Y., Buessow, S.C., Boyer, C., Gillespie, Y. and Frelinger, J.A.: Response of glioma cells to interferon-gamma: Increase in class II RNA, protein and mixed lymphocyte reaction stimulating ability. *Eur. J. Immunol.*, 15, 809—814, 1985.
- McKean, D.J., et al.: Major histocompatibility complex-restricted antigen presentation to antigen-reactive T cells by B lymphocyte tumor cells. *J. Exp. Med.*, 154, 1419—1431, 1981.
- Forni, G., Shevach, E.M. and Green, I.: Mutant lines of guinea pig L2C leukemia I. deletion of Ia alloantigens associated with loss in immunogenicity of tumor-associated transplantation antigens. *J. Exp. Med.*, 143, 1067—1081, 1976.
- Freed, S.Z., Halperin, J.P. and Gordon, M.: Idiopathic regression of metastasis from renal cell carcinoma. *J. Urol.*, 118, 538—542, 1977.
- Krown, S.E.: Interferon treatment of renal cell carcinoma; current status and future prospects. *Cancer*, 59, 647—651, 1987.
- 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.
- Heinemann, D., Smith, P.J.B. and Symes, M.O.: Expression of histocompatibility antigens and characterization of mononuclear cell infiltrates in human renal cell carcinomas. *Br. J. Cancer*, 56, 433—437, 1987.
- Bonnard, C., Depermaster, D., S. and Kraehenbuhl, J.P.: The streptavidin-biotin bridge technique: Application in light and electron microscope immunocytochemistry. In: J.M. Polak and I.M. Varndell (eds.), *Immunolabeling for electron microscopy*, p. 95—111, Elsevier Scientific Pub., Amsterdam, 1984.
- 小松原秀一: 人腎細胞癌培養細胞株 (NRC12) の樹立とその性状. *日泌尿会誌*, 69, 1535—1542, 1978.
- Yano, H., Maruiwa, M., Sugihara, S., Kojiro, M., Noda, S. and Eto, K.: Establishment and characterization of new human renal cell carcinoma cell line (KRC/Y). *In Vitro Cell. Dev. Biol.*, 24, 9—16, 1987.
- Basham, T.Y. and Merigan, T.C.: Recombinant interferon- γ increases HLA-DR synthesis and expression. *J. Immunol.*, 130, 1492—1494, 1983.
- Brocker, E.B., Zwadlo, G., Holzmann, B., Machler, E. and Sorg, C.: Inflammatory cell infiltrates in human melanoma at different stages of tumor progression. *Int. J. Cancer*, 41, 562—567, 1988.

(1990年4月4日受理)