腎細胞癌腫瘍浸潤リンパ球の性状およびインターフェロン

α , γ 併用投与が及ぼす影響

—リンパ球サブセットによる検討—

弘前大学泌尿器科学教室 (主任: 鈴木唯司教授)

柳谷 仁志* 工藤 誠治 高橋 伸也 鈴木 唯司

CHARACTERIZATION OF TUMOR INFILTRATING LYMPHOCYTES FROM PATIENTS WITH RENAL CELL CARCINOMA

—Influence of Combination Therapy with Interferon Alpha and Gamma—

Hitoshi Yanagiya, Seiji Kudoh, Shinya Takahashi and Tadashi Suzuki

Department of Urology, School of Medicine, Hirosaki University

(Director: Prof. T. Suzuki)

(Background) In an attempt to define the effects of combination therapy with interferon α and γ , lymphocyte subsets in tumor site and peripheral blood have been studied.

(Methods) Tumor Infiltrating Lymphocytes (TILs) and Peripheral Blood Lymphocytes (PBLs) from 13 interferon-treated and 11 untreated patients with primary renal cell carcinoma were characterized by two color flowcytometry. Interferon-treated patients received interferon α and interferon γ before radical nephrectomy; Interferon α was administrated intramuscularly at a dose of 3×10^6 units every other day from a week before nephrectomy. Interferon γ was administrated as intravenous drip infusion at a dose of 10^6 units after interferon α administration.

(Results) In both groups, both TILs and PBLs comprised about 70% of CD3-positive cells and CD3-positive TILs comprised significantly larger number of HLA-DR positive (activated T) cells compared to CD3-positive PBLs. Although TILs showed smaller number of CD4-positive cells compared to PBLs, TILs comprised more CD4⁺ Leu8⁻ (helper T) cells than PBLs. Only in interferon-treated group, TILs comprised larger number of CD8⁺ CD11b⁻ (cytotoxic T) cells than PBLs and CD16-positive cells (natural killer cells) than TILs in untreated group.

(Conclusion) These results suggest that antitumor effects of interferon α and γ combined administration may be concerned with natural killer cells and cytotoxic T cells in tumor site.

Key words: tumor infiltrating lymphocytes, interferon, renal cell carcinoma

要旨: (背景と目的) 腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) と, 末梢血リンパ球 (PBL) の性状の違いおよびインターフェロン α , γ 併用投与の及ぼす影響を明らかにすべく, 腫瘍局所と末梢血のリンパ球サブセットについて検討した。

(対象と方法) インターフェロン治療を行った腎細胞癌13例と治療を行わなかった11例で, TIL と PBL の性状を two color flowcytometry で検討した。インターフェロン投与群では, 根治的腎摘除術の1週間前からインターフェロン α 300万単位筋注およびインターフェロン γ 100万単位点滴静注を隔日で行った。

(結果) 両群において TIL, PBL, 共に CD3陽性細胞が約70%を占めたが, そのうち HLA-DR 陽性細胞 (活性化 T 細胞) は, PBL に比べ TIL で有意に多くみられた。CD4陽性細胞は, PBL に比べ TIL で少なかったが, CD4⁺ Leu8⁻ (helper T 細胞) はむしろ TIL で多かった。インターフェロン投与群の

みで、PBL に比べ TIL で CD8陽性細胞、特に CD8⁺ CD11b⁻ (cytotoxic T 細胞) が多くみられ、また非投与群 TIL に比べインターフェロン投与群 TIL で CD16陽性細胞 (NK 細胞) が多くみられた。

(結論) インターフェロン α 、 γ 併用による抗腫瘍効果が、腫瘍局所における NK 細胞、cytotoxic T 細胞に関連している可能性が示唆された。

キーワード：腫瘍浸潤リンパ球、インターフェロン、腎細胞癌

緒 言

腎細胞癌に対しては、手術療法以外に有効な治療法がなく¹⁾、比較的有効とされているインターフェロン (IFN) 療法でも単独での奏効率は20%前後とされており²⁾、更にその作用機序もなお解明されていない。著者らは、インターフェロン α (IFN α) とインターフェロン γ (IFN γ) が相乗効果を持つとの報告³⁾⁴⁾に着目し、腎細胞癌患者に対し IFN α 、IFN γ 併用療法を行っているが、その腫瘍局所での免疫学的効果を解明する目的で、術前 IFN α 、 γ 併用投与群と非投与群において腫瘍浸潤リンパ球 (Tumor infiltrating Lymphocytes: TIL) サブセットの性状を末梢血リンパ球 (Peripheral Blood Lymphocytes: PBL) サブセットとともに two color flowcytometry で測定し、術前 IFN α 、 γ 併用投与が TIL, PBL に及ぼす影響を検討した。

対象と方法

1) 症例

症例は、1991年12月から1994年1月までに弘前大学医学部附属病院および関連病院泌尿器科で、根治的腎摘除術を受けた腎細胞癌症例24例 (男性19例、女性5例)である。Table 1に示す如く、年齢は、44歳から76歳 (平均62.3歳)、術前に IFN α 、 γ 併用投与をした群は13例 (IFN 投与群) で、術前 IFN 非投与群は11例 (非投与群) であった。なお、IFN 投与群で術前に IFN 投与を受けた以外、症例はいずれも術前に腎動脈塞栓術、化学療法、免疫賦活療法などを受けていない。IFN 投与群で性別では女性の割合が、組織学的細胞型では clear cell subtype が、組織学的異型度では、grade 1 が多く、非投与群で pT stage が高い症例が多いような印象だが、統計学的には2群間に症例の偏りは認め

Table 1 Clinical characteristics

症例	年齢	性別	IFN 投与	組織学的構築型	組織学的細胞型	grade	pT	pN	pM	最大腫瘍径	備考
1	44	男	なし	alveolar	clear cell	1	2	0	0	8 cm	
2	47	男	なし	alveolar	mixed	2	2	0	0	8.6	
3	57	男	なし	alveolar	mixed	1	2	0	0	6	
4	62	男	なし	alveolar	granular cell	1	1	0	0	2	
5	62	男	なし	tubular	clear cell	2	1	0	0	1.2	
6	64	男	なし	alveolar	granular cell	1	3b	1	0	9	静脈内腫瘍塞栓 透析患者、肺転移
7	64	男	なし	alveolar	clear cell	1	3a	0	1	6	
8	65	女	なし	alveolar	clear cell	3	2	0	0	3.5	
9	67	男	なし	alveolar	clear cell	1	2	0	0	4	
10	72	男	なし	alveolar	granular cell	2	3a	0	0	5	
11	72	男	なし	alveolar	granular cell	2	2	0	0	5	
12	52	男	あり	cystic	clear cell	1	2	0	0	6	
13	54	女	あり	alveolar	clear cell	1	2	0	0	8	
14	57	女	あり	tubular	mixed	2	3a	0	0	5	
15	61	男	あり	alveolar	clear cell	1	2	0	0	3.5	
16	62	女	あり	alveolar	clear cell	2	2	0	0	5	
17	63	男	あり	alveolar	clear cell	1	2	0	0	8	
18	63	男	あり	tubular	granular cell	1	2	0	0	5	
19	63	男	あり	alveolar	clear cell	2	2	0	1	10	肺転移
20	65	男	あり	alveolar	mixed	1	2	0	0	3.2	
21	66	男	あり	alveolar	clear cell	1	2	0	1	12	肺転移、骨転移
22	67	男	あり	alveolar	clear cell	1	2	0	0	2.5	
23	70	男	あり	alveolar	clear cell	1	1	0	0	2	腎嚢胞内の腫瘍
24	76	女	あり	alveolar	clear cell	1	2	0	0	4.2	

Table 2 Isolation of TIL, staining for flow-cytometry

A：腫瘍浸潤リンパ球の採取法	
摘出した腎の腎動脈から HBSS (Hanks' Balanced Salt Solution) を注入して腎静脈からの排液が透明になるまで血液を洗い出す。	
▽	
被膜、壊死組織、出血巣などを取り除いた腫瘍組織を細切し、RPMI1640で洗浄する。	
▽	
腫瘍組織10g あたり collagenase 20mg+RPMI1640 20ml および DNase 2mg+PBS 1ml を加えて37°Cで振盪しながら2時間インキュベートし、single cell suspension にする。	
▽	
上清および沈殿を70μ Nylon mesh に通し、RPMI1640で2回洗浄する。	
▽	
Ficoll paque 12ml に上記20ml を重層して1000rpm で30分間遠心分離後、中間層をリンパ球に富む分画として採取し、2回洗浄する。	
B：two color flowcytometry	
上記で得られたリンパ球に富む分画を、細胞成分が10 ⁷ cells/ml の細胞浮遊液に調整する。赤血球の混入が多い場合は、あらかじめアンモニウム溶血剤で溶血させておく。	
▽	
FITC 標識モノクローナル抗体 (CD3, CD4, CD8, CD57, Leu8) と PE 標識モノクローナル抗体 (CD4, CD11b, CD16, HLADR) を組合せて、細胞浮遊液と4°Cで30分間反応させる。	
▽	
0.1% NaN ₃ で洗浄して余分な抗体を洗い流す。	
▽	
1%パラホルムアルデヒドで固定する。	
▽	
FACStar (Becton Dickinson 社製) で測定	

られなかった。performance status にも差はみられなかった (カイ 2 乗検定および t 検定)。

2) 術前 IFN 投与法

IFN α は、ヒトリンパ芽球インターフェロン (スミフェロン, 住友製薬) を用い、IFN γ は、リコンビナントインターフェロン γ (イムノマックス γ , 塩野義製薬) を用いた。患者の承諾を得て、手術の1週間前から手術前日まで隔日投与で計4回、IFN α 3 $\times$ 10⁶I.U. 筋注および IFN γ 1 $\times$ 10⁶JRU. 点滴静注を行った。

3) 腫瘍浸潤リンパ球の採取 (Table 2. A)

末梢血中のリンパ球の混入を避けるため Hanks' Balanced Salt Solution で摘出した腎臓を灌流した後、腫瘍組織を摘出し、細切・洗浄した。これに、collagenase (細胞分離用, 和光), deoxyribonuclease type

II (Sigma, U.S.A) を加えて single cell suspension として、70μ Nylon mesh で濾過し、Ficoll Paque (Pharmacia, Sweden) を用いた不連続密度勾配遠心法で、濾過液中の細胞集団からリンパ球に富む分画を採取した。

4) 末梢血リンパ球の採取

インターフェロン投与前・早朝および投与の1週間後・早朝に採血した末梢血4ml にアンモニウム溶血剤100mlを加えて溶血させ、遠心分離してリンパ球に富む分画を採取した。

5) two color flowcytometry によるリンパ球サブセットの測定 (Table 2. B)

上記で得られた細胞分画を、FITC (Fluorescein isothiocyanate) 標識モノクローナル抗体 CD3 (Leu 4), CD4 (Leu 3a), CD8 (Leu 2a), CD57 (Leu 7), Leu 8, および PE (Phycoerythrin) 標識モノクローナル抗体 CD4 (Leu 3a), CD11b (Leu 15), CD16 (Leu 11c), HLADR (Becton Dickison 社製) と反応させ、Becton Dickinson 社製 FACStar でリンパ球分画内に含まれる細胞の各抗原陽性率を two color flow-cytometry で測定した。

6) 比較項目および統計処理

IFN 投与群と非投与群で、以下の項目について括弧内の検定法で比較した。

- ① 非投与群 PBL と IFN 投与群・IFN 投与後 PBL (t-test, Welch の方法)
- ② IFN 投与群・IFN 投与前 PBL と IFN 投与群・IFN 投与後 PBL (paired t-test)
- ③ 非投与群 PBL と非投与群 TIL (paired t-test)
- ④ IFN 投与群・IFN 投与群 PBL と IFN 投与群 TIL (paired t-test)
- ⑤ 非投与群 TIL と IFN 投与群 TIL (t-test, Welch の方法)

結 果

IFN 投与前後で末梢血中白血球数、リンパ球の割合に変化はみられなかった。IFN 非投与群 PBL (control PBL), IFN 投与群・IFN 投与前 PBL (before treatment PBL), IFN 投与群・IFN 投与後 PBL (IFN treated PBL), IFN 非投与後 TIL (control TIL), IFN 投与群 TIL (IFN treated TIL) のリンパ球サブセットを比較し、次のような結果が得られた。

1) CD3, HLADR (Fig. 1)

CD3陽性細胞 (T 細胞) は、5 種類のリンパ球すべてで約70%を占め、差はみられなかった (Fig. 1a)。活

Fig. 1 two color analysis of CD3, HLADR

Fig. 2 two color analysis of CD4, Leu8

性化細胞を表すとされている HLADR は、IFN 投与群・非投与群ともに TIL において PBL の約 2 倍多く発現されており (Fig. 1b), その主体は、CD3⁺HLADR⁺の活性化 T 細胞であった (Fig. 1c). CD3 陰性細胞では、PBL と TIL で HLADR の陽性率に差はみられなかった (Fig. 1d). IFN 投与の有無で比較すると、IFN 投与により PBL で CD3⁺HLADR⁺が増加していたが (Fig. 1c), TIL では IFN 投与の影響は、みられなかった。

2) CD4, Leu8 (Fig. 2)

CD4 陽性細胞 (helper/inducer T 細胞) の割合は、IFN 投与群・非投与群のいずれでも PBL に比べ TIL で低かったが (Fig. 2a), Leu 8 との two color で CD4 陽性細胞の内訳をみたところ、CD4⁺Leu8⁻ (helper T 細胞) は、PBL よりもむしろ TIL で多くみられた (Fig. 2b). CD4⁺Leu8⁺ (inducer T 細胞) は、PBL に比べ TIL で少なかった (Fig. 2c). Leu8 陽性細胞は、両群ともに PBL に比べ TIL で少なかった (Fig. 2d). IFN 投与の影響は、PBL・TIL のいずれでもみられなかった。

3) CD8, CD11b (Fig. 3)

CD8 陽性細胞 (cytotoxic/suppressor T 細胞) は、IFN 投与群で IFN 投与前 PBL に比べ、TIL で多くみられた (Fig. 3a). CD11b との two color で検討したところ、IFN 投与群・非投与群のいずれでも PBL に比べ TIL で CD8⁺, CD11b⁺ (suppressor T 細胞) が少なかった (Fig. 3b). CD8⁺CD11b⁻ (cytotoxic T 細胞) は、IFN 投与群のみで、PBL に比べ TIL で多くみられた (Fig. 3c).

4) CD4, CD8, HLADR (Fig. 4)

CD4 および CD8 陽性細胞の HLADR 発現率をみたところ、CD4 陽性細胞では、IFN 投与群のみで PBL に比べ TIL で HLADR 陽性細胞が多かった (Fig. 4a). CD8 陽性細胞では、IFN 投与群・非投与群のいずれでも PBL に比べ TIL で HLADR 陽性細胞が多く、PBL では、IFN 投与前に比べ、IFN 投与後で HLADR 陽性細胞が増加していた (Fig. 4b). PBL と TIL で CD4 陽性細胞と CD8 陽性細胞を比べると、PBL では CD4 優位であったが、TIL では CD8 優位であった (Fig. 2a, 3a)

5) CD16, CD57 (Fig. 5)

CD16 陽性細胞 (NK 細胞) は、非投与群で PBL に

Fig. 3 two color analysis of CD8, CD11b

Fig. 4 two color analysis of CD4, CD8 and HLADR

Fig. 5 two color analysis of CD16, CD57

比べ TIL で少なかった。TIL では、非投与群に比べ IFN 投与群で CD16 陽性細胞が、多い傾向がみられた ($p=0.06$, Fig. 5a)。また IFN 投与群の PBL で IFN 投与後に増加していた。CD57 との two color で、NK 細胞の NK 活性を推定したところ、強い NK 活性をもつとされている CD16⁺ CD57⁺ が非投与群 TIL に比べ IFN 投与群 TIL で多い傾向がみられた ($p=0.06$, Fig.

5b)。
CD57 陽性細胞は、IFN 投与群 PBL で IFN 投与後に増加していた (Fig. 5c)。

考 察

近年、免疫抑制剤や骨髄移植、モノクローナル抗体、サイトカイン、活性化リンパ球が、アレルギー疾患や自己免疫疾患、免疫不全症、悪性新生物の治療として

用いられている⁵⁾⁶⁾。特に、腎細胞癌に関しては有効な化学療法がないためインターフェロンを中心とした免疫治療が積極的に試みられているが、その奏効率は20%前後と充分でなく²⁾、作用機序も明らかでない。

一方 Rosenberg ら⁷⁾が、Interleukin-2存在下に増殖した腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) が in vitro でも in vivo でも強い抗腫瘍効果を持つと報告して以来、TIL についての研究が広く行われているが、未だ不明な点が多い。著者は、腎細胞癌腫瘍局所で直接腫瘍免疫に関わっていると思われる TIL の性状及びインターフェロン α , γ 併用投与の TIL への影響を two color flow-cytometry でリンパ球サブセットを測定することにより検討した。

1) TIL の性状について

ほとんどすべてのヒト固形癌には、有意のリンパ球浸潤が認められる。これら TIL は、その大半が T 細胞によって構成され、その大部分は結合組織内やその周囲に存在し、癌細胞間に浸潤している TIL は少数とされている⁸⁾。伊東ら⁹⁾は、前者は、血液循環する T 細胞を主体とし、後者は、癌抗原ペプチドを認識し、癌局所に停留できる可能性が高いとしている。Finke ら¹⁰⁾は、腎細胞癌 TIL の中に自己腫瘍細胞のみに抗腫瘍活性を示す T 細胞が存在することを証明したが、これは後者に属すると考えられる。TIL が、腫瘍を認識して腫瘍局所でクローナルに増殖したものの否かは、未だ議論の分かれるところである⁹⁾¹¹⁾。著者の結果では、TIL サブセットは PBL と比べ、いくつかの異なった点がみられた。PBL に比べ TIL の CD3陽性細胞でのみ HLADR 陽性細胞が著明に多くみられたことより、TIL 中の T 細胞は、腫瘍局所で腫瘍の抗原性を認識して活性化している可能性が示唆された。また、T 細胞の活性化とともに発現率が低下するとされている Leu8が、TIL で少ないのもこれを裏付ける所見と思われた。CD4陽性細胞は、TIL で少なかったが、その内訳をみると helper T 細胞は、逆に TIL で多くみられ、inducer T 細胞が、著しく少なかった。長瀬ら¹²⁾は、正常腎組織中でも helper T 細胞が、inducer T 細胞より多くみられると報告しており、これは、TIL の特徴とは言えないようである。CD8陽性細胞は、TIL と PBL で差を認めなかったが、内訳をみると、TIL で suppressor T 細胞の割合が低かったことより、その機能については不明であるが、少なくとも腫瘍局所で suppressor T 細胞が増加し、腫瘍の増殖を促進しているとは考え難いと思われた。CD16陽性細胞が TIL で少

なく、腫瘍が増殖を続けうる一因と思われた。

2) IFN α , γ 併用投与の影響

IFN は、もともと抗ウイルス活性を持つサイトカインとして発見され、IFN α , IFN β , IFN γ の3種類が発見されている。IFN α は、直接的抗腫瘍活性に加えて、宿主免疫系を介しての作用として、NK 細胞を活性化作用を持つとされている¹³⁾。さらに、細胞表面の腫瘍特異抗原の発現増強作用¹⁴⁾や、腫瘍細胞上に発現した Major Histocompatibility Complex (MHC) 抗原の発現増強作用¹⁵⁾などが示唆されている。IFN γ は、マクロファージの活性化¹⁶⁾、他の免疫担当細胞の分化・活性化、腫瘍細胞 MHC 抗原の発現増強、細胞間接着分子に対する増強作用など多彩な作用をもつとされている。腎細胞癌に対する臨床的奏効率は、IFN α 単独では20%前後とされており²⁾、IFN γ 単独では、これより低いようである¹⁷⁾。この奏効率を改善するため IFN α と IFN γ の併用療法が考えられているが、これは腫瘍細胞に作用する際の両者の受容体が異なり、in vitro では、相乗効果がみられたこと³⁾⁴⁾を論拠とする。著者の結果をみると、PBL では、CD3⁺HLADR⁺ (活性化 T 細胞)、CD8⁺HLADR⁺ (活性化 CD8細胞) が IFN α , γ 併用投与により増加しており、IFN が末梢血中の T 細胞、特に CD8陽性細胞を活性化すると思われた。また、CD16⁺、CD57⁺、CD11b⁺の増加もみられ、NK 細胞の増加をも促すと思われた。TIL では、IFN 投与群で CD16⁺、特に、強い NK 活性をもつ CD16⁺CD57⁺が多い傾向がみられ、IFN α , γ 併用投与が、末梢血、腫瘍局所のいずれでも NK 細胞を増加、活性化させるものと考えられた。工藤ら¹⁸⁾は IFN 療法が有効であった腎細胞癌症例では、IFN の種類には関係なく NK 活性の上昇とその持続が認められたとしており、Beldegrun ら¹⁹⁾は、TIL 養子免疫療法を行った腎細胞癌症例中、有効例では、投与した TIL に含まれる NK 細胞の比率が高かったと報告している。これらの報告より、腎細胞癌の腫瘍免疫において、MHC 非拘束性に殺細胞作用をもつ NK 細胞がはたす役割が大きいと考えられ、IFN の作用のうち NK 細胞の活性化が、抗腫瘍効果に強く反映されていると思われた。また大西²⁰⁾は術前に IFN γ を投与した腎細胞癌症例では投与を行わなかった症例に比べ、TIL 中の CD8陽性細胞が多かったと報告しているが、著者の結果で IFN 投与群でのみ、PBL より TIL で CD8⁺CD11b⁻ cytotoxic T 細胞が、多かったことをあわせて考えると、IFN が MHC 拘束性の殺細胞作用をも増強している可能性が

示唆された。

以上より腎細胞癌腫瘍浸潤リンパ球は、腫瘍を認識して活性化した T 細胞を多く含むことが示唆され、IFN α , γ 併用投与は、NK 細胞, cytotoxic T 細胞に関連して腫瘍細胞に作用することが疑われた。

結 語

1. 腎細胞癌腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) サブセットの性状およびインターフェロン α , γ 併用投与が TIL に及ぼす影響について PBL と共に two color flow-cytometry で検討した。

2) TIL は PBL に比べ CD3⁺HLADR⁺細胞 (活性化 T 細胞) を多く含んでおり、TIL 中 T 細胞は腫瘍局所で腫瘍の抗原性を認識して活性化している可能性が示唆された。

3) IFN 投与群で TIL の NK 細胞, cytotoxic T 細胞が多い傾向がみられ、IFN がこれらに関連して腫瘍細胞に作用することが疑われた。

文 献

- Dekernion, J.B., Ramming, K.P. and Smith, R. B.: The natural history of metastatic renal cell carcinoma: A computer analysis. *J. Urol.*, **120**, 148—152, 1978.
- Krown, S.E.: Interferon treatment of renal cell carcinoma. Current status and future prospects. *Cancer*, **59**, 647—651, 1987.
- Czarniecki, C.W., Fennie, C.W., Powers, D.B. and Estell, D.A.: Synergic antiviral and antiproliferative activities of Escherichia coli-derived human alpha, beta, and gamma interferons. *J. Virol.*, **49**, 490—496, 1984.
- Hubbell, H.R., Craft, J.A., Leibowitz, P.J. and Gillespie, D.H.: Synergistic antiproliferative effects of recombinant α -interferons with recombinant γ -interferon. *J. Biol. Response Mod.*, **6**, 141—153, 1987.
- Fahey, J.L., Sarna, G., Gale, R.P. and Seeger, R.: Immune intervention in disease. *Ann Intern Med.*, **106**, 257—274, 1987.
- Rosenberg, S.A., Lotze, M.T. and Mule, J.J.: New approaches to the immunotherapy of cancer using interleukin-2. *Ann. Intern. Med.*, **108**, 853—864, 1988.
- Rosenbreg, S.A., Spiess, P., Lafreniere, R.: A new approach to the adoptive immunotherapy of cancer with infiltrating lymphocytes. *Science*, **233**, 1318—1321, 1986.
- Balch, C.M., Riley, L.B., Bae, Y.J., Salmeron, M.A., Platsoucas, C.D., Eschenbach, A. and Itoh, K.: Patterns of human tumor infiltrating lymphocytes in 120 human cancers. *Arch. Surg.*, **125**, 200—205, 1990.
- 伊東恭悟, 清藤 大, 森田辰男, 佐谷秀行: ヒト腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) の clonality と治療. *Medical Immunology*, **24**, 635—641, 1992.
- Finke, J.H., Rayman, P., Edinger, M., Tubbs, R. R., Stanley, J., Klein, E. and Bukowski, R.: Characterization of human renal cell carcinoma specific cytotoxic CD8⁺ T cell line. *J. Immunother.*, **11**, 1—11, 1992.
- Mitropoulos, D., Kooi, S., Rodriguez-Villanueva, J. and Platsoucas, C.D.: Characterization of fresh (uncultured) tumor-infiltrating lymphocytes (TIL) and TIL-derived T cell lines from patients with renal cell carcinoma. *Clin. Exp. Immunol.*, **97**, 321—327, 1994.
- 長瀬 泰, 森山信男, 栗本重陽, 保坂義雄, 田島惇, 東原英二, 阿曾佳郎: 二重染色法によるヒト腎細胞癌浸潤リンパ球サブセットの解析. *日泌尿会誌*, **85**, 281—288, 1994.
- Trinchieri, G. and Perussia, B.: Immune interferon: A pleiotropic lymphokine with multiple effects. *Immunol Today*, **6**, 131—136, 1985.
- Greiner, J.W., Hand, P.H., Noguchi, P., Fisher, P.B., Pestka, S. and Schlom, J.: Enhanced expression of surface tumor-associated antigens on human breast and colon tumor cells after recombinant human leukocyte α -interferon treatment. *Cancer Res.*, **44**, 3208—3214, 1984.
- 富田善彦, 木村元彦, 西山 勉, 佐藤昭太郎: 腎細胞癌株におけるインターフェロン及び酸処理による lymphokine activated killer (LAK) 細胞に対する感受性の変化—腫瘍細胞上におけるクラス I 腫瘍組織適合抗原の発現との関係. *日泌尿会誌*, **82**, 762—768, 1991.
- DeMaeyer-Guignard, J. and DeMaeyer, E.: Immunomodulation by interferons. Recent developments. in *Interferon*, ed. Gresser, I., Vol. 6, Academic Press, New York, p. 69—86, 1985.
- Quesada, J.R., Kurzrock, R., Sherwin, S.A. and Gutterman, J.U.: Phase II studies of recombinant human interferon gamma in metastatic renal cell carcinoma. *J. Biol. Response Mod.*, **6**, 20—27, 1987.
- 工藤達也, 相馬 博, 工藤真哉, 古川利有, 鈴木唯司: 進行性腎細胞癌に対するインターフェロンの治療効果と免疫能の変動. *日本癌治療学会誌*, **25**, 40—46, 1990.
- Belldegrun, A., Pierce, W., Kaboo, R., Tso, C., Shau, H., Turcillo, P., Moldawer, N., Golub, S.,

deKernion, J. and Figlin, R.: Interferon- α primed tumor infiltrating lymphocytes combined with interleukin 2 and interferon- α as therapy for metastatic renal cell carcinoma. J. Urol., **150**, 1384—1390, 1993.

- 20) 大西哲郎：腎細胞癌原発巣浸潤リンパ球 subset の評価と，IFN- γ が及ぼす免疫的効果に関する研究．日泌尿会誌，**82**，216—224，1991.
(1995年8月16日受付，1996年2月26日受理)
-