シンポジウム

メラノーマ先端的治療

分子生物学的手法による先端的治療の展望
—遺伝子治療と抗イデオタイプ抗体療法—

影下登志郎^{*1} 水野 正明^{*2} 吉田 純^{*2}
松本 和彦^{*3} 斎田 俊明^{*3} 小野 友道^{*1}

Summary

As recent advances in the treatment of malignant melanoma, we described the experimental study of gene therapy and the clinical trials of anti-idiotypic monoclonal antibody. Firstly, IFN- β gene encapsulated liposome was used for vector in our study. Cultured human melanoma cell could produce IFN- β by transfection with human IFN- β gene in vitro. Moreover, growth inhibition of subcutaneously transplanted human melanoma cells was clearly shown by transfection with human IFN- β gene. These results suggest IFN- β is a promising candidate for gene therapy of melanoma. Secondly, we described the background of idiotypic network and characterization of anti-idiotypic monoclonal antibody to anti-HMW-MAA mAb. Then we reviewed the clinical trials of anti-idiotypic mAb in the States. Finally, we summarized the frequency and the mechanism of HLA Class I down regulation in melanoma cells, since these results will give negative impact on the T-cell based immunotherapy.

Key words : IFN- β gene therapy, Liposome, Anti-idiotypic antibody, HLA Class I

はじめに

メラノーマの生物学的特徴の一つに免疫原性が強いことがあげられる。そのためメラノーマ

は腫瘍免疫学におけるモデル腫瘍と考えられ、モノクローナル抗体 (mAb) の作製やメラノーマ関連ペプチドの発見がいち早く行われた。一方、進行期メラノーマに対する有効な治療法がない現在、欧米ではこれらの新知見を利用した治療法の開発や臨床応用が盛んに行われている。

本稿では分子生物学的手法による先端的治療の展望として、我々が行っている IFN- β 遺伝子治療の実験データと抗イデオタイプ抗体療法の理論および治療の現状について記載する。さ

^{*1} Toshiro KAGESHITA, Tomomichi ONO : 熊本大学皮膚科学教室

^{*2} Masaaki MIZUNO, Jun YOSHIDA : 名古屋大学脳外科学教室

^{*3} Kazuhiko MATSUMOTO, Toshiaki SAIDA : 信州大学皮膚科学教室

らに細胞障害性 T リンパ球：cytotoxic T cell (CTL) を利用した免疫療法における最大の隘路であるメラノーマ細胞の HLA Class I 抗原消失の機序について最新の知見を紹介する。

1) リポソームによるメラノーマ遺伝子治療の基礎的研究

メラノーマに対する遺伝子治療は欧米においては数多くのプロトコルが進行中であるが、サイトカイン遺伝子 (IL-2, -4, -6, IFN- γ) を自己や他家メラノーマ細胞に導入し、患者に再投与方法が主流である¹⁾。遺伝子導入に使用するベクターは導入効率が高いウイルス性 (レトロ, アデノ, アデノ随伴) が一般的であるが、安全性の面で問題が残る。そこで我々は導入効率は劣るが安全性は極めて高いと考えられるリポソームを用いたメラノーマ遺伝子治療の基礎的研究を行っている。リポソームの特徴を表 1 に示す。

導入遺伝子はサイトカインのなかでは培養メラノーマ細胞に対する増殖抑制効果が最も強力であり、日本ではメラノーマ治療の第一選択薬剤の 1 つである IFN- β 遺伝子を使用した。

(1) ヒトメラノーマ培養細胞への IFN- β 遺伝子導入

ベクターに使用したリポソームは 3 種の脂

質である TMAG, DLPC, DOPE の混合液を用いて作製した²⁾。このリポソームに pSV2IFN- β (IFN- β 遺伝子) を混合後、強振することにより物理的に遺伝子をリポソーム内に包埋することができる³⁾。この遺伝子包埋リポソームは表面が陽性に荷電しているので、陰性に荷電している培養ヒトメラノーマ細胞とは強く結合し、遺伝子はメラノーマ細胞内に導入される。遺伝子の発現はエピソームでおこなうので染色体に組み込まれることはない。LacZ 遺伝子を用いた遺伝子導入効率は約 10% である。培養ヒトメラノーマ細胞 RPM-EP に IFN- β 遺伝子を導入すると 3 日後より培養液中に IFN- β が約 30IU/ml 検出され、6 日後には約 70IU/ml に達した。一方、コントロール (遺伝子を包埋していないリポソーム) では IFN- β は検出できなかった。さらに、細胞増殖抑制コントロールに比べ導入 3 日後は約 50%, 6 日後には約 90% に達し、細胞数は導入前の 70% にまで減少した (表 2)。

培養液中に IFN- β を添加した場合、メラノーマ細胞に対する増殖抑制効果は認められるが、細胞障害性は通常常さない。本実験は遺伝子導入によりメラノーマ細胞から産出される IFN- β は外因性 IFN- β とは異なる作用を有していることを示唆する。また、培養液中の IFN- β 濃度は 100IU/ml 以下であったが、IFN- β を産生している局所ではより高濃度であり、持続的に接触していたため多くの培養細胞が障害を受けたと考えられた。

これからのデータはリポソームをベクターとした IFN- β 遺伝子導入が培養メラノーマ細胞に対して細胞障害性に作用することを示すもの

表 1. リポソームの特徴

- 1) 調整方法が簡単
- 2) 細胞毒性が殆どない
- 3) 安全性が高い
- 4) 免疫原性がない
- 5) 遺伝子発現が一過性

表 2. 培養メラノーマ細胞への IFN- β の遺伝子導入

培養メラノーマ細胞		リポソームのみ			遺伝子包埋リポソーム		
		培養期間 (日)			培養期間 (日)		
		0	3	6	0	3	6
RPM-EP	IFN- β (IU/ml)	ND*	ND	ND	ND	30.6 $\pm$ 4.3	67.3 $\pm$ 8.4
	細胞数**	4.8 $\pm$ 0.6	10.3 $\pm$ 1.1	18.7 $\pm$ 0.9	4.8 $\pm$ 0.6	5.0 $\pm$ 1.3	1.5 $\pm$ 0.6

* : not detected, ** : 1 $\times$ 10⁴/ml

であり、進行期メラノーマの治療へ応用可能であると考え、動物実験を計画した。

(2) ヒトメラノーマ細胞接種ヌードマウスへの IFN- β 遺伝子導入

ヒト培養メラノーマ細胞をヌードマウス背部に接種し、腫瘍形成後、2mm 角の大きさに細切り、別のヌードマウス背部に再接種する。径が 7mm 大になったところで、遺伝子包埋リポソームを腫瘍に局注し、IFN- β 遺伝子をメラノーマ細胞に導入した。投与法は次の 4 群である。

1 群；PBS のみ。

2 群；遺伝子が入っていないリポソーム。

3 群；IFN- β 遺伝子包埋リポソーム 1 回投与。

4 群；IFN- β 遺伝子包埋リポソーム 6 回投与。

腫瘍の大きさを経時的に測定した。大きさの算定は以下の式により求めた。

腫瘍重量 = $1/2$ [長径 (mm) $\times$ 厚さ (mm)²]

比較重量 = $T_n/T_o \times 100 (\%)$

T_o ：治療前重量， T_n ：治療後重量

IFN- β 遺伝子包埋リポソームをメラノーマ皮下腫瘍巣内に 1 回投与すると、30 日間腫瘍はまったく増殖しないが、その後増大する。6 回投与を行うと腫瘍は増殖抑制だけでなく 40 日後には完全に退縮した。PBS や遺伝子包埋していないリポソーム投与では抑制効果がまったくみられないことから、腫瘍増殖抑制効果は IFN- β による特異的な作用によるものと考えた。

さらに、遺伝子導入後 30 日目の腫瘍組織を病理組織学的に検討すると、4 群とも壊死巣が散在性にみられたが、IFN- β 投与群ではより著明に壊死巣がみられ、メラノーマ細胞の核凝縮や細胞質好酸性変化もみられた。同細胞は Tunel 法で陽性を示し、アポトーシスの所見と判断した。第 4 群は第 1 や 2 群と比べ有意にアポトーシス陽性数が多かった。

以上の培養細胞や動物実験の解析から腫瘍退縮のメカニズムは遺伝子導入されたメラノーマ細胞から産出された IFN- β が周囲のメラノーマ細胞に直接障害を与えた効果の他に増殖抑制

やアポトーシス誘導等によるものと考えた。

(3) 展望

本研究は局所投与ではあるが、IFN- β 遺伝子治療がメラノーマ皮下転移巣に対し極めて有用であることを示唆する。今後は臓器転移に対するターゲティングの開発が重要であり、遺伝子包埋リポソームとヒトメラノーマ関連抗原に対する mAb、特にヒト型 single chain Fv antibody との併用を現在検討中である⁴⁾。

2) 抗イディオタイプ抗体療法

メラノーマ抗原と同様の免疫原性を有する抗イディオタイプ (抗 Id) mAb を投与する抗 Id 抗体療法はメラノーマワクチン療法の 1 つである。

(1) 抗 Id 抗体療法の理論

免疫グロブリンの超可変領域にはそれぞれの免疫グロブリンに固有の抗原決定基が存在し、その集合体をイディオタイプ、それに対する抗体を Id 抗体と呼ぶ。ある抗原 A に対する抗体である抗 A 抗体には固有の抗原決定基が存在し、それに対する抗体である抗 Id 抗体は多種類存在する。抗 A 抗体は抗原 A と反応するが、抗 Id 抗体とも当然反応する。つまり、抗 A 抗体を鍵穴、抗原 A と抗 Id 抗体を鍵と仮定すると、両鍵は同じ鍵穴を開ける (反応する) ことができるので、両鍵は同様の立体構造を有していると推測される。つまり、ある種の抗 Id 抗体は抗原 A の internal image を有し、surrogate antigen として治療への応用が可能と考えられる。抗 Id 抗体を投与した場合、抗 Id 抗体 (患者自身が産生したヒト型抗体) が産出され、それは抗原 A と反応することになる (図 1)。

癌抗原自体の代わりに抗 Id mAb を用いる利点は以下のものが考えられる。

1. 癌抗原は患者自身の組織から発生しているため、免疫原性が弱く、トレランスも生じている可能性がある。そのため、投与しても有効な免疫応答が惹起できないが、抗 Id mAb は異種蛋白であり、抗原性が極めて強く、強力な抗

図1. イデオタイプネットワーク

腫瘍免疫が期待できる。

2. 癌抗原を活性がある状態で大量に精製することは困難である。一方, 抗 Id mAb は一旦ハイブリドーマを作製すると簡単に均一な抗体が大量生産できる。

3. 癌抗原を生体に投与した時におこる副作用が不明である。しかし, マウス由来の mAb は現在まで多数人体に投与されているが重篤な副作用は報告されていない。

我々は抗 Id 抗体療法のターゲット抗原にヒトメラノーマ関連抗原の1つである high molecular weight-melanoma associated antigen (HMW-MAA) を選んだ。この抗原はメラノーマ細胞には多数存在するが, 極く限られた正常組織のみに存在することから, メラノーマ免疫療法における最適の抗原の1つと考えられる⁵⁾。この抗原の生物学的, 免疫生化学的特徴を表3に示す。

抗 HMW-MAA mAb を抗原として作製した抗 Id mAb は免疫および生化学的解析により, HMW-MAA の internal image を有していることが判明している⁶⁾。さらに, メラノーマ細胞 (HMW-MAA) に対して細胞性および液性免疫

表3. HMW-MAA の特徴

1) 分子量280kDa/440kDa
2) ヒトメラノーマ組織の85%以上に発現
3) メラノーマ細胞膜に発現
4) 正常組織では毛嚢などに限られている
5) $1 \times 10^5 - 2 \times 10^6$ /細胞の抗原決定基が存在
6) サイトカインによる影響を受けない
7) メラノーマ細胞同志や細胞外基質との接着に関与している

を惹起することができる (マウス, ウサギ)⁷⁾。また, 誘導した抗 Id 抗体は SCID マウスを用いた実験でメラノーマ細胞の肺転移を抑制する。

(2)抗 Id 抗体療法臨床成績

HMW-MAA と同様の免疫原性を有する抗 Id mAb を用いたメラノーマワクチン療法が米国を中心に行われている^{8)~11)}。投与方法は抗 Id mAb 2mg を第1, 8, 29 日目に皮下投与し, 抗 Id 抗体や抗 HMW-MAA 抗体 (メラノーマ細胞と反応する抗体) 産生の有無やその力価が低下した場合に追加投与を行う。また mAb 単独投与よりもアジュバントとして BCG や KLH を併用することで, より効果的に強力な免疫反応を惹起することができる。臨床治験により以下の点が明らかとなった。

1. HAMA (human anti-mouse antibody) は投与後 1～2 週全例に検出された。

2. 抗抗 Id 抗体 (抗 HMW-MAA mAb と抗 Id mAb の結合を阻止する抗体) は投与 4～6 週後 70% の症例で検出された。この抗体は IgG クラスであり, T 細胞を介した免疫反応が生体内で起こっていることを示唆する。

3. 抗 HMW-MAA 抗体は 70% の症例で検出された。

4. 投与後の患者リンパ球は抗 Id mAb に対して幼弱化反応を, 培養メラノーマ細胞に対して CTL 活性誘導を示した。

5. 副作用は発熱, 筋肉痛, 倦怠感および投与局所の発赤疼痛がみられた。

6. 臨床効果は約 100 例 (stage IV) 中約 15% にみられた。また, 臨床効果がみられない症例でも抗 HMW-MAA 抗体の力価が高いグループは有意に予後の改善がみられた。

(3) 展望

抗 Id mAb 療法は副作用も少なく, メラノーマ細胞に対して細胞性や液性免疫反応を惹起し, 臨床的には転移巣の縮小や予後の改善などを示すことが明らかになった。現在の対象は進行期症例であるが, 将来は免疫能がより保たれている術後アジュバントや将来メラノーマを発症する可能性が高い人を対象にすればより効果的であると考えられる。さらに, 異なるメラノーマ抗原に対する複数の抗 Id mAb やサイトカインとの併用でより強力な免疫能が惹起できると期待される。

3) メラノーマ細胞における HLA Class I 抗原消失機序

すべての有核細胞表面には HLA Class I 抗原が発現している。細胞が腫瘍化し, 細胞内に異常な蛋白を産出すると, ペプチドに分解され, HLA Class I と共に細胞表面に提示される。CTL は T 細胞受容体でこのペプチドを認識し, 腫瘍化した細胞を破壊する。ところが, 細胞の悪性化に伴い HLA Class I 抗原の発現が低下す

ることが明らかになった¹²⁾。この現象は腫瘍細胞が免疫監視機構, 特に CTL からの攻撃を逃れる手段の 1 つであると推測される¹³⁾。

一方, 近年欧米では新しいメラノーマ治療法としてメラノーマ関連ペプチドを用いたワクチン療法など T 細胞を利用した免疫療法が行われている。しかし, メラノーマ細胞表面の HLA Class I 抗原の発現低下はその治療効果を低下させる原因の 1 つであると考えられる。この発現低下の現状を正確に把握し, その機序を解明することはペプチド療法を行う症例の選択や有効率の改善につながると期待される。

(1) HLA Class I による抗原提示機構

腫瘍化に伴い細胞質内で産出された異常蛋白はプロテアソームである low molecular mass proteasome (LMP)-2, -7 の作用でアミノ酸 8-11 個のペプチドに分解される。このペプチドは heat shock protein をシャペロンとして粗面小胞体細胞膜に存在する transporter associated antigen presentation (TAP)-1, -2 に運ばれ, その作用により能動的に粗面小胞体内に取り込まれる。そこには HLA Class I heavy chain と light chain である β 2-microglobulin (β 2u) が存在しており, 移動してきたペプチドは tapacin をシャペロンとして HLA Class I と結合し, 安定した HLA Class I が完成する。その後ゴルジ体を経由してペプチドは HLA Class I とともに細胞表面に出される^{14) 15)} (図 2)。

(2) メラノーマにおける HLA Class I 抗原低下の頻度

HLA Class I は A, B, C locus に区分され, それぞれ 1 対の allele 抗原が存在する。つまり各個人は 6 個の HLA Class I allele を有することになる。従来の研究は Class I 抗原に共通の抗原決定基 (monomorphic) に対する mAb を用いて検討されていた。しかし, Class I allele 抗原の欠損は monomorphic mAb では検出できないことが FACS 免疫組織学的な解析により明らかとなった¹⁶⁾。そこで monomorphic, locus や allele に特異的な mAb を用いて免疫組織学的に発現

図 2 . HLA Class I 発現機構

の有無を検討した。さらに、ペプチド抗原提示の過程においては重要な役割を演じている LMP や TAP 分子群の発現を免疫組織学的に検討し、以下の点が明らかになった。

1. Anti-monomorphic mAb では原発巣 20%, 転移巣 50% に発現低下がみられた。

2. Anti-HLA locus mAb では原発巣 25%, 転移巣 45% に発現低下がみられた。A, B locus による違いはみられなかった。

3. 10 種類の anti-HLA allele mAb では原発巣 45%, 転移巣 65% に発現低下がみられた。この

発現低下の程度は様々で検討した allele の 1 個だけが欠損しているからすべての allele が同時に欠損しているものまでみられた。特に, allele のなかでは B5 や B7 では高頻度 (約 50%) に発現低下がみられ, A10 や A19 では少なかった (約 10%)。

4. LMP や TAP 発現は HLA Class I 同様に低下していた。しかし, LMP の発現低下は TAP に比べると軽度であった。約 60% の症例では HLA Class I と TAP 発現に強い相関性が認められた¹⁷⁾ (図 3)。

図3. メラノーマ転移巣における HLA Class I と TAP 発現

A | B

A : Anti-monomorphic mAb 染色. 正常表皮およびメラノーマ細胞は細胞膜に陽性所見を認める
B : Anti-TAP 1 抗体染色. 正常表皮およびメラノーマ細胞は細胞質に陽性所見を認める

(3) HLA Class I 抗原発現低下の臨床的意義

免疫組織学的検討からメラノーマ細胞では HLA Class I 抗原発現が低下していることが明らかになった。その頻度は原発巣よりも転移巣で高かった^{16)~18)}。さらに発現低下の程度は allele の部分的な欠損から HLA Class I 全体に及ぶ欠損まで様々であった。

発現低下は原発巣の厚さ、ステージや予後など重要な臨床的因子と関連した¹⁷⁾。メラノーマ細胞は HLA Class I 抗原発現を低下させることで CTL からの攻撃をエスケープし、予後不良につながるものと考えられた。しかし、HLA Class I 抗原が完全に欠損すると NK 細胞に対する感受性が高くなる¹⁹⁾。一方、allele の部分的な欠損では NK 細胞に対する感受性は上がらず、また CTL からのエスケープも成立することから、メラノーマ細胞が浸潤や転移を起こすには好都合な条件である。

HLA Class I 発現異常の原因の 1 つは $\beta 2 m$ 遺伝子の異常によることが既に報告されている¹⁴⁾。一方、約 60% のメラノーマ症例において HLA Class I と LMP/TAP の発現異常に相関性がみられたことから、LMP/TAP の異常が HLA Class I 発現低下に深く関与していることが示唆された。

(4) 展望

欧米では近年メラノーマに対しペプチドを用いたワクチン療法が盛んに試みられている。そ

の戦略理論はワクチンによって誘導された CTL がメラノーマ細胞表面の HLA Class I 抗原と共に提示される癌ペプチドを認識してメラノーマ細胞に障害を与えることである。しかし、治療により CTL が誘導されている場合でもその臨床効果が得られない場合がある。その理由の 1 つにメラノーマ細胞表面上の HLA Class I 抗原が消失していることがあげられる。今回 HLA Class I allele 特異抗体による検討で発現低下や消失が従来の報告よりも高頻度にみられた。今後、ワクチン療法の症例の選択にはメラノーマ細胞における HLA Class I や LMP/TAP 発現を検討することが重要であり、これらの発現を回復させる手段を考慮することも課題の 1 つである。さらに、この腫瘍細胞表面の HLA Class I 発現異常はメラノーマに限られたものではなく、種々のがんに普遍的にみられる現象であり、がんに対する免疫療法を行う場合、常に検討すべき問題点である²⁰⁾。

この研究の一部は厚生省がん研究助成金 (9-23) および科学研究費 (09670888) の補助によった。

文 献

- 1) Parmiani, G., Colombo, M. D. : Somatic gene therapy of human melanoma : preclinical studies and early clinical trials. *Melanoma Res.* 5 : 295-

- 301, 1995.
- 2) Yoshida, J., Mizuno, M. : Simple preparation and characterization of cationic liposomes associated with a monoclonal antibody against glioma-associated antigen (Immunoliposomes). *J. Liposome Res.* 5 : 981-995, 1995.
- 3) Mizuno, M., Yoshida, J., Sugita, K., et al. : Growth inhibition of glioma cells transfected with the human β -interferon gene by liposomes coupled with a monoclonal antibody. *Cancer Res.* 50 : 7826-7829, 1990.
- 4) Desai, S.A., Wang, X., Noronha, E. J., et al. : Characterization of human anti-high molecular weight-melanoma associated antigen single chain Fv antibodies isolated from a phage display antibody library. *Cancer Res.* 58 : 2417-2425, 1998.
- 5) Ferrone, S., Kageshita, T. : Human high molecular weight-melanoma associated antigen as a target for active specific immunotherapy. *J. Dermatol.* 15 : 457-465, 1988.
- 6) Kusama, M., Kageshita, T., Chen, Z. J., et al. : Characterization of syngeneic antiidiotypic monoclonal antibodies to murine anti-human high molecular weight melanoma associated antigen monoclonal antibodies. *J. Immunol.* 143 : 3844-3852, 1989.
- 7) Chen, Z. J., Yang, H., Ferrone, S. : Human high molecular weight-melanoma associated antigen mimicry by mouse antiidiotypic mAb MK2-23. *J. Immunol.* 147 : 1082-1090, 1991.
- 8) Mittelman, A., Chen, Z. J., Kageshita, T., et al. : Active specific immunotherapy in patients with melanoma : A clinical trial with murine antiidiotypic monoclonal antibodies elicited with syngeneic anti-HMW-MAA monoclonal antibodies. *J. Clin. Invest.* 86 : 2136-2144, 1990.
- 9) Mittelman, A., Chen, Z. J., Yang, H., et al. : Human high molecular weight-melanoma associated antigen mimicry by mouse anti-idiotypic monoclonal antibody MK2-23. Induction of human anti-HMW-MAA immunity and prolongation of survival in patients with stage 4 melanoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 89 : 466-470, 1992.
- 10) Ferrone, S., Chen, Z. J., Liu, C. C., et al. : Human high molecular weight-melanoma associated antigen mimicry by mouse anti-idiotypic monoclonal antibodies MK2-23. Experimental studies and clinical trials in patients with malignant melanoma. *Pharmacol. Ther.* 57 : 259-290, 1993.
- 11) Pride, M. W., Shuey, S., Grillo-Lopez, A., et al. : Enhancement of cell-mediated immunity in melanoma patients immunized with murine anti-idiotypic Mabs (Melimmune) that mimic the high molecular weight proteoglycan antigen. *J. Clin. Cancer Res.* in press.
- 12) Garrido, F., Cabrera, T., Concha, A., et al. : Natural history of HLA expression during tumour development. *Immunology Today* 14 : 491-499, 1993.
- 13) Garrido, F., Ruiz-Cabello, F., Cabrera, T., et al. : Implications for immunosurveillance of altered HLA class I phenotypes in human tumours. *Immunology Today.* 18 : 91-95, 1997.
- 14) Hicklin, D. J., Dellaratta, D. V., Kishore, R., et al. : β 2-microglobulin gene mutations in human melanoma cells : molecular characterization and implications for immune surveillance. *Melanoma Res. Suppl.* 2 : S67-S74, 1997.
- 15) Seliger, B., Maeurer, M. J., Ferrone, S. : TAP off-tumors on. *Immunology Today* 18 : 292-299, 1997.
- 16) Kageshita, T., Wang, Z., Calorini, L., et al. : Selective loss of human leukocyte Class I allospecificities and staining of melanoma cells by monoclonal antibodies recognized monomorphic determinants of class I human leukocyte antigen. *Cancer Res.* 53 : 3349-3354, 1993.
- 17) Kageshita, T., Hirai, S., Ono, T., et al. : Downregulation of HLA class I antigen processing molecules in malignant melanoma. Association with disease progression. *Am. J. Pathol.* in press.
- 18) Ferrone, S., Marincola, F. M., : Loss of HLA class I antigens by melanoma cells : molecular mechanisms, functional significance and clinical relevance. *Immunology Today.* 16 : 487-494, 1995.
- 19) Moretta, A., Bottino, C., Vitale, M., et al. : Receptors for HLA class I molecules in human natural killer cells. *Annu. Rev. Immunol.* 14 : 619-648., 1996.
- 20) Garrido, F., Cabrera, T., Accolla, R. S. et al. : HLA and cancer : 12th International Histocompatibility Workshop study. HLA : Genetic diversity of HLA functional and medical implication. Volume I (ed. Charron D.) EDK, Paris. 445-452, 1997.