

Interleukin-10 による主要組織適合抗原 および腫瘍関連抗原の調節

鶴間 哲弘* 八木橋 厚仁**
鳥越 俊彦*** 佐藤 昇志*** 平田 公一*

* 札幌医科大学外科学第1講座 (主任 平田公一 教授)

** 札幌医科大学検査部 (主任 渡辺直樹 教授)

*** 札幌医科大学病理学第1講座 (主任 菊地浩吉 教授)

The Regulation of Major Histocompatibility Complex (MHC) Antigen and Tumor Associated Antigens (TAAs) by Interleukin-10

Tetsuhiro TSURUMA*, Atsuhito YAGIHASHI**

Toshihiko TORIGOE***, Noriyuki SATO*** and Koichi HIRATA*

* *Department of Surgery (Section 1), Sapporo Medical University School of Medicine
(Chief : prof. K. HIRATA)*

** *Department of Laboratory Diagnosis, Sapporo Medical University School of Medicine
(Chief : prof. N. WATANABE)*

*** *Department of Pathology (Section 1), Sapporo Medical University School of Medicine
(Chief : prof. K. KIKUCHI)*

ABSTRACT Tumor cells can escape from the host's protective immune system: Natural Killer (NK) cells, Cytotoxic T cell lymphocyte (CTL), etc. The inhibitory cytokines, such as interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10), transforming growth factor- β (TGF- β), etc, have been reported to be involved in the mechanism of this escape. Although the effect of inhibitory cytokines on effector cells are well investigated, that on tumor cells is little known. We therefore investigated how IL-10 effects tumor cells using both W31 cells which were the H-ras mediated transformant of WFB (a WKA rat fetus-derived fibroblast cell line), and WMT-55, the polyoma middle T-mediated transformant of WFB. The above cells have Tumor Associated Antigens (TAAs), such as NK target structure (NKTS) and heat shock cognate (hsc), and are NK-sensitive.

Cells were incubated for 3 days with rhIL-10 at different concentrations, and FACS analysis was performed. Then, following pretreatment of cells with rhIL-10 for 3 days, ^{51}Cr release assay was performed. In this study, we revealed that IL-10 downregulated the expression of the NK target structure, reduced NK sensitivity, and downregulated the expression of MHC class I, which probably facilitated the tumor cells' escape from the attack of the CTL. In addition, IL-10 downregulated the

Abbreviations:

rhIL-10 : recombinant human Interleukin-10
NK : Natural Killer
CTL : cytotoxic T cell lymphocyte
NKTS : natural killer target structure
NKNTS: natural killer negative target structure

hsp : heat shock protein
hsc : heat shock cognate
MHC : major histocompatibility complex
mAb : monoclonal antibody
ICAM-1 : intercellular adhesion molecule-1

expression of heat shock protein which either 1), constituted a relay line in which the peptides were generated in the cytosol by the action of the proteases, until they were finally accepted by MHC class I molecules in the endoplasmic reticulum; or 2), bound to peptides that expressed themselves on the cell surface. In other words, IL-10 downregulated the processing of peptides and the presentation of antigens. These effects of IL-10 are very important in an analysis of the mechanism by which the tumor cells escape from protective immune responses.

(Received January 6, 1997 and accepted January 20, 1997)

Key words: Interleukin-10, NK target structure, MHC class I, Heat shock protein, NK sensitivity

1 緒 言

生体は、腫瘍免疫監視機構を備え、腫瘍細胞を非自己とみなし破壊する。しかし実際には、全ての腫瘍細胞が破壊されるわけではなく、免疫監視機構を逃れ、生体を死に至らしめる。この腫瘍細胞の免疫監視機構からのエスケープ機序に関しては、未だ不明点が多い。最近様々な固形癌や造血系腫瘍においてインターロイキン-10 (IL-10) の産生が報告されている¹⁻³⁾。また非ホジキンリンパ腫の血清 IL-10 濃度とその予後が相関する³⁾という報告もある。以上より腫瘍細胞が免疫監視機構を逃れる一機序として、抑制性サイトカイン、とりわけ IL-10 の関与が強く示唆される。しかしながら、IL-10 がどの様に腫瘍細胞の免疫監視機構からのエスケープに寄与しているかは、ほとんど知られていない。そこで WKA ラット胎児由来の線維芽細胞 WFB に H-ras および polyoma middle T (PyMT) 癌遺伝子をトランスフェクトした悪性形質転換細胞 W31 および WMT-55 を用い、IL-10 がこれらの細胞にどのように作用しているかを検討した。

2 実験材料・方法

2.1 実験動物

週齢 6~10 週の近交系雄性 Wistar-King-Aptekman (WKA)-H ラットを用いた。

2.2 使用細胞

WKA ラット胎児由来線維芽細胞 WFB⁴⁾ に H-ras 癌遺伝子をトランスフェクトして得た悪性形質転換細胞 W31⁵⁾、同様に PyMT 癌遺伝子⁶⁾ をトランスフェクトして得た WMT-55 を用いた。また NK 感受性細胞 YAC-1 細胞も用いた。

2.3 抗体

ラット Major Histocompatibility Complex (MHC) class I 分子を認識する単クローン抗体 (mAb) R48B1⁹⁾、W31、WMT-55 上に高発現している 86

kDa の NK target structure (NKTS) を認識する mAb109⁹⁾、W31 上に発現するラット 70 kDa heat shock cognate (hsc70) を認識する mAb067⁷⁾、およびラット Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) を認識する mAb1A-29 (生化学工業、東京) を用いた。

2.4 FACSscan による解析

各種細胞を、リコンビナントヒト (rh)IL-10 (活性: 2500 U/ μ g, Genzyme, Cambridge, MA) (0, 50, 100 ng/ml) と 3 日間混合培養した。それらの細胞を、mAb を一次抗体として用いて 4°C, 40 分反応させ、phosphate-buffered saline (PBS) で 2 回洗浄後、二次抗体として FITC 結合ヤギ抗マウス Ig 抗体 (Dako, Glostrup, Denmark) を加え、4°C, 40 分反応させた。これを PBS で 2 回洗浄後、FACS analyzer (Becton-Dickinson, Mountain View, CA) にて解析を行った。

2.5 ³H thymidine 取り込み試験

各種細胞を、rhIL-10 (0, 25, 50, 100 ng/ml) と 3 日間、96 穴マイクロテストプレート (Falcon, Oxnard, CA) にて混合培養した。その後それらの細胞に 25 mCi/ml の ³H thymidine (New England Nuclear, Boston, MA) を 40 ml 加え、さらに 37°C, 8 時間培養した。培養後細胞をグリーンマット (Skatron Instruments, Sterling, VA) 上に集め、それらをシンチレーションバイアルの中に入れ、AQUASOL-2 液 (Packard Instrument Groningen, Netherland, Holland) を各バイアルに 2 ml ずつ注入し、液体シンチレーションカウンターで放射活性を測定した。

2.6 NK 細胞の分離

Poly(I-C) 1 mg (Sigma Chemical Co., St. Louis, Mo.) を WKA ラット腹腔内に注射し、24 時間後、脾細胞を採取し、付着細胞を除去後、NK 細胞として使用した。こうして得られた細胞は、ラット NK 細胞マーカーである 3.2.3 mAb⁸⁻⁹⁾ を用いて磁気ビーズ法¹⁰⁾ で除去した場合、NK 感受性の YAC-1 に対して

NK 活性を示さない事から、その主要な効果細胞は NK 細胞であることを確認した。

2.7 細胞障害試験

細胞障害試験は ^{51}Cr 放出試験⁵⁾ にて行った。標的細胞を rhIL-10 (100 ng/ml) 添加もしくは非添加培養液にて 3 日間培養し、 ^{51}Cr sodium chromate で 3 時間標識後、細胞数を調整した NK 細胞と混合した。最終容量は 200 ml とし、U 底 96 穴プレートで 12 時間培養した。各穴より 100 ml の上清を採取し、遊出した ^{51}Cr 活性をシンチレーションカウンターで測定した。Spontaneous release は NK 細胞の代わりに培養液を、また Maximum release は 2% ノニデッド P40 を 100 μl 加えて求めた。%Cytotoxicity は以下の式で求めた。 $100 \times (\text{Experimental release} - \text{Spontaneous release}) / (\text{Maximum release} - \text{Spontaneous release})$ 。E/T 比は 100, 50, 25 として行った。抗体による NK 活性の阻止実験は ^{51}Cr ラベル後の標的細胞に NKTS を認識する mAb109 を飽和量添加し、37°C、60

分反応させ、2 回洗浄後標的細胞として使用した。

2.8 統計学的検討

平均値の比較は Student の t-テストにより行った。P が 0.05 またはそれ以下の場合、有意差があると判定した。

3 成績

3.1 rhIL-10 の腫瘍抗原に対する影響

W31 および WMT-55 を、各種濃度 (100, 50 ng/ml) の rhIL-10 とともに培養し、その後 MHC class I 分子, NKTS, hsc および ICAM-1 の発現量の変化を FACS にて解析した。培養 1 日目および 2 日目には、それらの発現量に変化を認めなかった (data not shown)。培養 3 日目には rhIL-10 濃度依存的に W31 上の MHC class I 分子, NKTS, および hsc の発現は抑制された。しかし ICAM-1 に関しては、rhIL-10 により全く影響を受けなかった (Fig. 1)。また WMT-55 に関しても同様な結果が得られた (Fig. 2)。またこれらの細胞を rhIL-

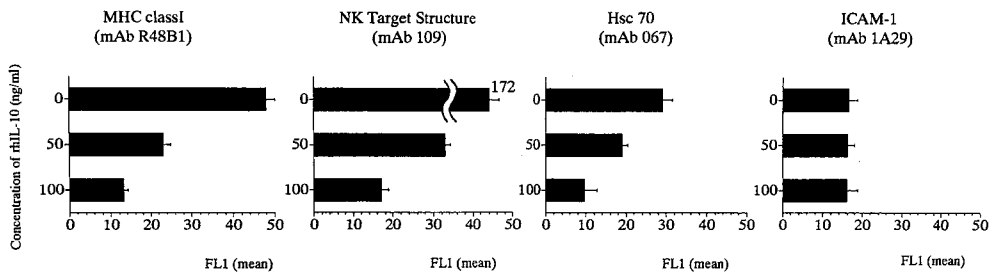


Fig. 1 Effects of rhIL-10 on cell surface expression of W31 cells. W31 cells were cultured for 3 days with rhIL-10 at different concentrations (100, 50, 0 ng/ml), and these treated or nontreated cells were reacted with mAb R48B1, mAb 109, mAb 067, or mAb 1A29. The values are shown as a mean of each experiment (n=3) (mean±S.E.).

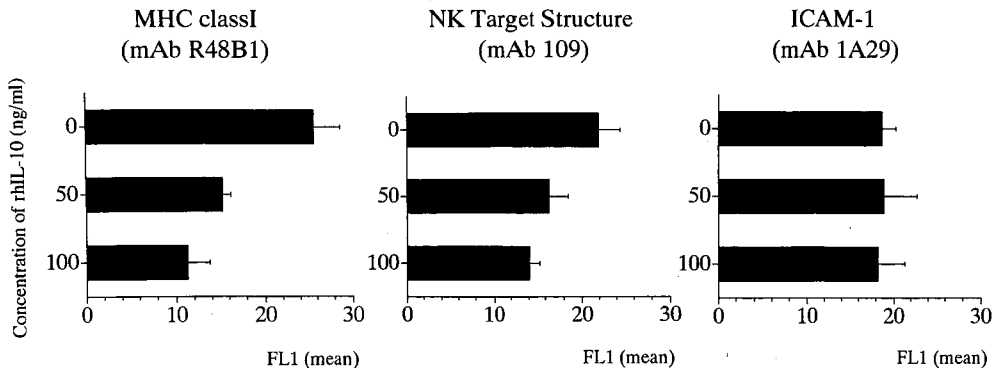


Fig. 2 Effects of rhIL-10 on cell surface expression of WMT-55 cells. The procedure of culture was similar to that described in Fig. 1. The values are shown as a mean of each experiment (n=3) (mean±S.E.).

10 とともに 3 日間培養後, rhIL-10 の含まない培養液に変更すると 1 日後には, NKTS, MHC class I 分子, hsc とともに rhIL-10 と混合培養する以前のレベルにまで回復した。つまりこれらの rhIL-10 の腫瘍細胞に及ぼす影響は可逆的であった。

3・2 rhIL-10 の NK 感受性に対する影響

W31 を rhIL-10 (100 ng/ml) と 3 日間培養後, NK 感受性の変化を ^{51}Cr 放出試験にて解析した。NK 感受性は rhIL-10 処理により劇的に減少した (Fig. 3a)。この実験系において標的細胞である W31 と効果細胞である NK 細胞との混合培養時, rhIL-10 は存在しないので, この NK 感受性の低下は rhIL-10 の標的細胞側に対する効果を反映するものと考えられた。この点をさらに明らかにするため, 今度は rhIL-10 を NK 細胞に添加培養後 NK 細胞障害試験を施行した。するとほとんど NK 感受性に变化は認められなかった (Fig. 3b)。

3・3 Mab109 による NK 感受性のブロック assay

NKTS が rhIL-10 により発現抑制され, NK 感受性が低下したのか否かを検討するために, NKTS に特異的な mAb109 による NK 感受性のブロック assay

を行った。Mab109 によって NKTS をブロック後に細胞障害試験を施行すると, その NK 活性は rhIL-10 と混合培養後 NK 細胞障害試験を施行した場合とほぼ同程度となった (Fig. 4)。

3・4 ^3H thymidine 取り込み試験

W31 を, rhIL-10 の腫瘍細胞増殖能に対する影響を検討するため rhIL-10 (0, 25, 50, 100 ng/ml) と 3 日間混合培養後, ^3H thymidine 取り込み試験にて解析した。いずれの濃度の rhIL-10 によっても, ^3H thymidine の取り込みに有意差はなく, rhIL-10 の腫瘍増殖能への影響を認めなかった (Fig. 5)。

4 考 察

悪性腫瘍は, 多くの場合宿主の抗腫瘍監視機構からの攻撃を逃れ増殖し, 最終的には宿主を死に至らしめる。最近このエスケープ機序に, 抑制性サイトカインの関与が指摘されている¹¹⁻¹⁴⁾。しかしそれらのサイトカインがどの様に関与しているのか詳細な報告はない。そこで我々は, 抑制性サイトカインである IL-10 に着目し, 腫瘍細胞に対する IL-10 の作用について検討し

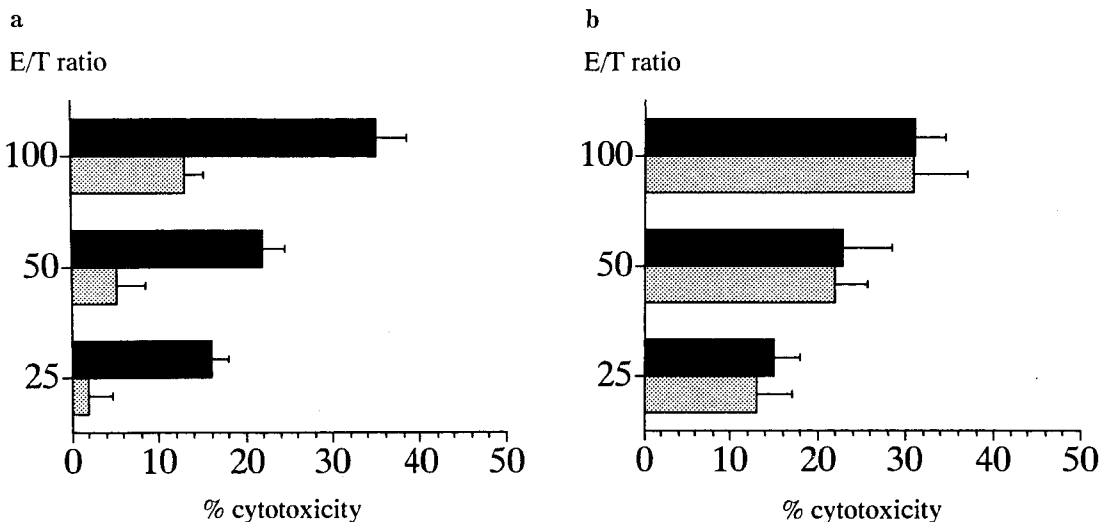


Fig. 3 ■ No-pretreatment with rhIL-10
▨ Pretreatment with rhIL-10

a: Effect of rhIL-10 on NK sensitivity of target cells (W31 cells). Following pretreatment of W31 cells with rhIL-10 (100 ng/ml) (▨) or no-treatment of W31 cells (■), they were mixed with poly-I:C-induced splenic NK cells. The cytotoxic culture was performed for 12 h at 37°C in 5% CO₂-humidified air.

b: Effect of rhIL-10 on NK sensitivity of effector cells (NK cells). Following pretreatment of NK cells with rhIL-10 (100 ng/ml) (▨) or no-treatment of NK cells (■), they were mixed with W31 cells. The culture was performed as described above. The values are shown as a mean of triplicates (mean ± S.E.).

た。

細胞の癌遺伝子による悪性形質転換の過程に発現する細胞表面抗原 (TAAs), および主要組織適合抗原 (MHC) に及ぼす IL-10 の影響を明かにすることは, 癌細胞が抗腫瘍監視機構からエスケープする機序解明の一助となりうると考えられる。そこで本実験においては, WKA ラット胎児由来の線維芽細胞 WFB⁴⁾ に H-ras および PyMT 癌遺伝子をトランスフェクトして得た悪性形質転換細胞 W31 および WMT-55 を用いた。これらの細胞は癌化することにより, 新たに mAb にて認識される細胞表面抗原を発現する。例えば癌化により, mAb109 によって認識される NKTS を強発現し NK 感受性になる。また W31 に限っては癌化に伴い細胞表面に mAb067 にて認識される hsc70 分子が発現する。よってこれらの細胞は, 本実験に於いて最適な検討対象細胞であると考えた。

W31 を IL-10 と混合培養すると, IL-10 濃度依存的に NKTS の発現量が低下し NK 感受性も抑制された。さらに MHC class I 分子の発現量も低下したことより, TCR による MHC と抗原ペプチドとの認識が阻害され,

CTL による障害性も抑制されることが示唆された。また ³H thymidine の取り込み試験に於いて, いずれの濃度の rhIL-10 と混合培養した場合でも ³H thymidine の取り込みに有意差はなかったことより, これら NKTS および MHC class I 分子の発現量の低下は, 腫瘍の増殖能の変化によるのではなく, rhIL-10 の直接的作用によるものであることが示唆された。

この IL-10 の NKTS および MHC class I 分子に対する作用は, H-ras 癌遺伝子のみならず PyMT 癌遺伝子をトランスフェクトした腫瘍細胞においても認められたことより, ひとつの癌遺伝子に特異的な作用ではないと考えられた。また効果細胞である NK 細胞を IL-10 と混合培養した場合には NK 感受性にはほとんど変化を認めなかったが, 標的細胞である W31 を IL-10 と混合培養すると NK 感受性は劇的に低下したことより, 今回の実験系に於いては, IL-10 は主に標的細胞への作用を反映していることが示唆された。

一般的に NK 細胞の細胞障害機構の成立においては, NKTS と MHC class I 分子を代表する NK negative target structure (NKNTS) が重要な役割を担っているといわれ, NKTS の発現量が少ないほど, または NKNTS の発現量が多いほど, NK 感受性は弱くなる¹⁵⁾。つまり NK 感受性は標的細胞の NKTS と NKNTS 発現の量的, 質的バランスで決定される。本実験においては, IL-10 により NKNTS である MHC class I 分子の発現量が低下したにもかかわらず, NKTS

E/T ratio

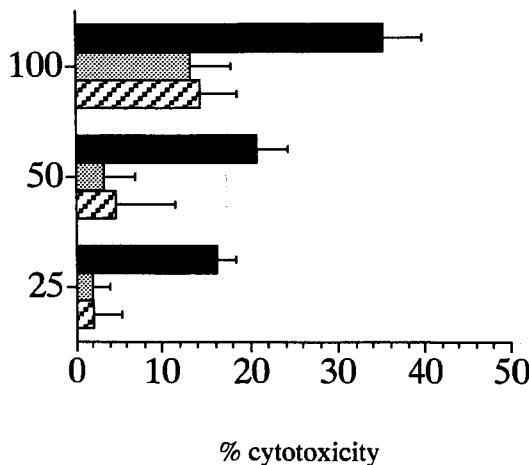


Fig. 4 ■ No-pretreatment with rhIL-10
 ■ Pretreatment with rhIL-10 for 3 days
 ▨ Pretreatment with mAb 109
 Blocking experiment of the NK cytotoxicity by mAb 109. W31 target cells were treated at 4°C for 60 min with a saturated amount of mAb 109 (▨), or they were cultured for 3 days with rhIL-10 (100 ng/ml) (■). Then they were assessed for their susceptibility to cytotoxicity by NK cells. The values are shown as a mean of triplicates (mean±S.E.).

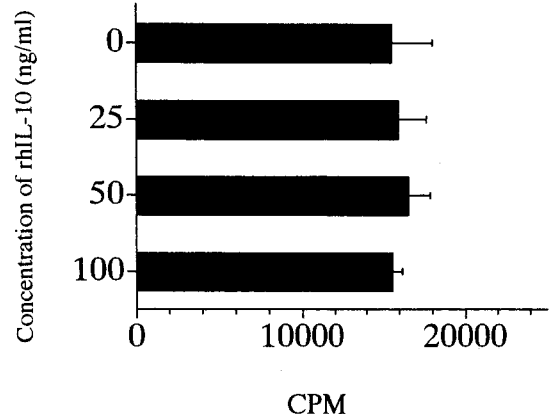


Fig. 5 Effect of rhIL-10 on the proliferation of W31 cells. Following pretreatment of W31 cells with rhIL-10 for 3 days, the ³H thymidine uptake culture was performed for 8 h at 37°C in 5% CO₂-humidified air. The values are shown as a mean of triplicates (mean±S.E.).

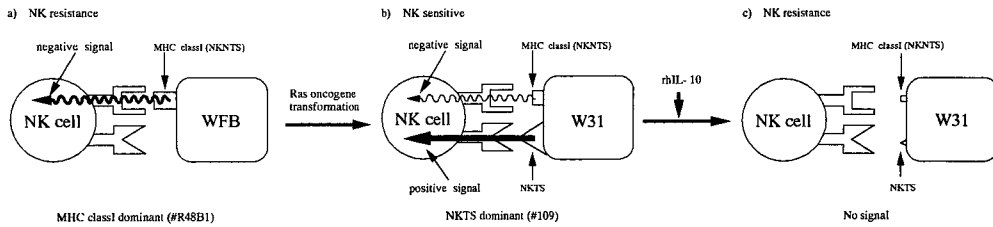


Fig. 6 Regulation model of NK sensitivity in the WFB-W31 system.

- Strong negative signal from NKNTS on WFB cell
- - - Weak negative signal from NKNTS on WFB cell
- Strong positive signal from NKTS on W31 cell

の発現量およびNK感受性が低下した。この結果から、たとえNK感受性を負に制御するMHC class I分子の発現量が低下したとしても、NKTSを持つ細胞においてはNKTSの発現量が一定量存在しない限りNK細胞へ正のシグナルが伝わらず、NK感受性は高まらなると考えられる (Fig. 6c)。つまりNKTSが存在する細胞においては、NKNTSよりもNKTSの発現量が主にNK感受性を制御すると考えられた (Fig. 6b)。Salazar-Onfrayらは、RMA lymphoma細胞を用いIL-10は、MHC class I分子の発現量を低下させ、NK感受性を高める¹⁶⁾と報告した。我々と彼らの報告とは、IL-10のNK感受性に対する作用において異なった。この相違は腫瘍細胞上のNKTSがIL-10により発現を抑制されるか否かによると考えられた。つまり彼らの用いたRMA lymphoma細胞にはNKTSが存在しない、もしくはIL-10によってNKTSの発現が抑制されないため、NKNTSとして働くMHC class I分子の発現量の低下による負のシグナルが解除されNK感受性が上昇したと考えられる。以上よりIL-10は、NKTSが存在する腫瘍細胞に対してはNKTSを同時に低下させた場合にNK感受性を低下させ、NKTSが存在しないもしくはIL-10により発現抑制を受けない腫瘍細胞に対してはMHC class I分子の発現量を低下させ、それに伴いNK感受性が上昇することが示唆された。

Hspは悪性形質転換を含む様々なストレスによって、細胞内および細胞表面に誘導されることが知られている。細胞表面に誘導されたhsp、とりわけhsc73に関しては、ペプチドと結合し細胞表面に発現しうること、hsc73とMHC class I分子のペプチド結合部位の3次元構造の類似性などから抗原提示分子として働くと考えられている¹⁷⁻²⁰⁾。一方細胞内に誘導されたhspは、分子シャペロンとしてTAP (transport-associated with the antigen processing) を介した細胞質ペプチド輸送

に関与する²¹⁾といわれている。これらの機能に関与するhspとしては、hsp-gp96²²⁾、hsp90²³⁾、hsp70^{21,24)}があるが、これらのhspのうち本実験に用いたW31細胞は、細胞質にてTAPまでのペプチド輸送に関し中心的に働くhsp70 family²¹⁾を発現しており、このmAb067により認識される細胞表面hsc70の発現量がIL-10処理により低下した。また細胞内hspに関しても、哺乳類hsp72/hsc73を認識するmAb3a3 (Affinity Bioreagents, Neshanic Station, NJ) およびラットhsc73を認識するmAb NT-22²⁵⁾を用い検討すると、IL-10処理にてhsp72、hsc72、およびhsc73の発現が低下した (unpublish observation)。以上よりIL-10は細胞内外のhspを低下させることにより、抗原提示能の低下、および抗原ペプチドのプロセッシングの抑制にも関与することが示唆された。

これらのIL-10の腫瘍細胞側のNKTS、MHC class I分子、およびhspに及ぼす作用は可逆的であり、またmAb 109により認識されるNKTSはヒト腫瘍細胞にも発現している²⁶⁾ことより、これらの機序を利用した抗IL-10抗体投与による、新たな癌免疫治療への道を拓く可能性が示唆された。

5 要 約

(1) IL-10は、腫瘍細胞上のMHC class I分子の発現を低下させた。このことよりT細胞からの認識を抑えCTL活性を抑制する可能性が示唆された。(2) IL-10は、腫瘍細胞上のNKTSを低下させることにより、本来NKNTSであるMHC class I分子が低下したことにより上がるであろうNK活性をも抑制した。(3) IL-10は、抗原ペプチドのプロセッシングおよび抗原提示に関与する腫瘍細胞内外のhspの発現を抑制した。以上の結果よりIL-10の多岐に渡る腫瘍免疫に対する抑制作用が証明された。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご親切な御助言、御協力をいただきました札幌医科大学医学部外科学第一講座ならびに札幌医科大学医学部病理学第一講座教室員各位に感謝いたします。

参 考 文 献

- Gastl GA, Abrams JS, Nanus DM, Oosterkamp R, Silver J, Liu F, Chen M, Albino AP, Bander NH. Interleukin-10 production by human carcinoma cell line and its relationship to interleukin-6 expression. *Int J Cancer* 1993, 55: 96-101.
- Pisa P, Halapi E, Pisa EK, Gerdin E, Hising C, Bucht A, Gerdin B, Kiessling R. Selective expression of interleukin-10, interferon-g and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in ovarian cancer biopsies. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992, 89: 7708-7712.
- Blay JY, Burdin N, Rousset F, Lenoir G, Biron P, Philip T, Banchereau J, Favrot MC. Interleukin-10 in non-Hodgkin's lymphoma: a prognostic factor. *Blood* 1993, 82: 2169-2174.
- Sato N, Torigoe T, Yagihashi A, Okubo M, Takahashi S, Takahashi H, Enomoto K, Yamashita T, Fujinaga K, Kikuchi K. Assessment and establishment of a WKA rat fetus-derived cells for oncogene transfection and analysis of the transformation-associated antigens. *Tumor Res* 1987, 22: 15-26.
- Yagihashi A, Sato N, Torigoe T, Okubo M, Konno A, Takahashi N, Yamashita T, Fujinaga K, Kuzumaki N, Kikuchi K. Identification of the transformation-associated cell surface antigen expressed on the rat fetus-derived fibroblast. *Cancer Res* 1988, 48: 2798-2804.
- Rassoulzadegan M, Cowie A, Carr A, Glaichenhaus N, Kamen R, Cuzin F. The roles of individual polyoma virus early proteins in oncogenic transformation. *Nature (Lond)* 1982, 300: 713-718.
- Konno A, Sato N, Yagihashi A, Torigoe T, Cho J, Torimoto K, Hara I, Wada Y, Okubo M, Takahashi N, Kikuchi K. Heat-or stress-inducible transformation-associated cell surface antigen in the activated H-ras oncogene-transfected rat fibroblast. *Cancer Res* 1989, 49: 6578-6582.
- Chambers WH, Vujanovic NL, DeLeo AB, Olszowy MW, Herberman RB, Hiserodt JC. Monoclonal antibody to a triggering structure expressed on rat natural killer cells and adherent lymphokine-activated killer cells. *J Exp Med* 1989, 169: 1373-1389.
- Brink MM, Hunt LE, Hiserodt JC. In vivo treatment with monoclonal antibody 3.2.3. selectively eliminates natural killer cells in rats. *J Exp Med* 1990, 171: 197-210.
- Haregewoin A, Soman G, Hom RC, Finberg RW. Human gamma-delta T cells respond to myobacterial heat-shock protein. *Nature (Lond)* 1989, 340: 309-312.
- Berg DJ, Lynch RG. Immune dysfunction in mice with plasmacytomas. I. Evidence that transforming growth factor b contributes to the altered expression of activation receptors on host B lymphocytes. *J Immunol* 1991, 146: 2865-2872.
- Bost KL, Bieglik SC, Jaffe BM. Lymphokine mRNA expression by transplantable murine B lymphocyte malignancies: tumor-derived IL-10 as a possible mechanism for modulating the anti-tumor response. *J Immunol* 1995, 154: 718-729.
- Gazzinelli RT, Oswald IP, James SL, Sher A. IL-10 inhibits parasite killing and nitrogen oxide production by IFN- γ -activated macrophages. *J Immunol* 1992, 148: 1792-1796.
- Kim J, Modlin RL, Moy RL, Dubinett SM, McHugh T, Nickoloff BJ, Uyemura K. IL-10 production in cutaneous basal and squamous cell carcinomas. *J Immunol* 1995, 155: 2240-2247.
- Storkus WJ, Dawson JR. Target structure involved in natural killing (NK): characteristics, distribution, and candidate molecules. *Crit Rev Immunol* 1991, 10: 393-416.
- Salazar-Onfray F, Petersson M, Franksson L, Matsuda M, Blankenstein T, Karre K, Kiessling R. IL-10 converts mouse lymphoma cells to a CTL-resistant, NK-sensitive phenotype with low but peptide-inducible MHC class I expression. *J Immunol* 1995, 154: 6291-6298.
- Flajnik MF, Canel C, Kramer j, Kasahara M. Which came first, MHC class I or class II? *Immunogenetics* 1991, 33: 295-300.
- Beckmann RP, Mizzen LA, Welch WJ. Interaction of hsp70 with newly synthesized proteins: Implications for protein folding and assembly. *Science* 1990, 248: 850-854.
- Chiang HL, Terlecky SR, Plant CP, Dice JF. A role for a 70-kilodalton heat shock protein in lysosomal degradation of intercellular proteins. *Science* 1989, 246: 382-385.

20. Tamura Y, Tsuboi N, Sato N, Kikuchi K. 70 kDa heat shock cognate protein is a transformation-associated antigen and a possible target for the host's anti-tumor immunity. *J Immunol* 1993, 151: 5516-5524.
21. Srivastava PK, Udono H, Blachere NE, Li Z. Heat shock proteins transfer peptides during antigen processing and CTL priming. *Immunogenetics* 1994, 39: 93-98.
22. Srivastava PK, Old LJ. Individually distinct transplantation antigens of chemically induced mouse tumors. *Immunol Today* 1988, 9: 78-83.
23. Illich SJ, Robinson EA, Law LW, Willingham M, Appella E. A mouse tumor-specific transplantation antigen is a heat-related protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986, 83: 3121-3125.
24. Udono H, Srivastava PK. Heat shock protein 70-associated peptides elicit cancer-specific immunity. *J Exp Med* 1993, 178: 1391-1396.
25. Tsuboi N, Ishikawa M, Tamura Y, Takayama S, Tobioka H, Matsuura A, Hirayoshi K, Nagata K, Sato N, Kikuchi K. Monoclonal antibody specifically reacting against 73-kilodalton heat shock cognate protein: possible expression on mammalian cell surface. *Hybridoma* 1994, 13: 373-381.
26. Qi W, Tamura Y, Takashima S, Sato N, Kikuchi K. Transformation-associated 86 kDa natural killer target molecule expressed on the mouse, rat and human cell surface. *J Cancer Res* 1994, 85: 862-868.

別刷請求先:

(〒060) 札幌市中央区南1条西16丁目

札幌医科大学医学部外科第1講座 鶴間哲弘