



Title	放射線のヒト肺癌細胞関連抗原に及ぼす影響-モノクローナル抗体を用いた解析-
Author(s)	晴山, 雅人
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1988, 48(12), p. 1553-1562
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/17338">https://hdl.handle.net/11094/17338</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 放射線のヒト肺癌細胞関連抗原に及ぼす影響

—モノクローナル抗体を用いた解析—

札幌医科大学放射線医学講座（主任：森田和夫教授）

晴山雅人

（昭和63年9月12日受付特別掲載）

（昭和63年10月17日最終原稿受付）

### Effect of Radiation on the Expression of Tumor-Associated Antigens of Human Lung Adenocarcinoma Cells —Immunological Study Using Monoclonal Antibodies—

Masato Hareyama

Department of Radiology, Sapporo Medical College

(Director: Prof. Kazuo Morita)

---

Research Code No. : 405.9

---

Key Words : Monoclonal antibody, MHC, Flow cytometry,  
Cell cycle

---

We studied the effects of irradiation on the expression of a tumor-associated antigen (YH206 antigen) of cultured human lung adenocarcinoma A549 cells by using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and flow cytometry. YH206 antigen is preferentially expressed on adenocarcinoma cells.

Irradiation of A549 cells remarkably increased the expression of YH206 antigen on the cell surface and the level of the antigen in the culture supernatant as well as in the cell lysate, whereas it significantly affected the expression of HLA (MHC-class I) antigen on the same cells. The expression of HLA antigen on the cell was also increased after treatment of the cells with interferon- $\gamma$ .

In an additional experiment, cells were stained simultaneously for surface antigens (fluorescein coupled antibodies) and for DNA content (propidium iodide), and then dual parameter measurements were performed by flow cytometry to analyse the relationship between antigen levels and the cell cycle. YH206 antigen and HLA antigen increased more in the S and G<sub>2</sub>/M phases of the cell cycle than in G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>. The expression of YH206 antigen was enhanced in the S and G<sub>2</sub>/M phases by irradiation, whereas the expression of HLA antigen was enhanced in each phase of the cell cycle with irradiation or IFN.

These results suggest that irradiation plays a key role in the change of the expression of certain tumor-associated antigens.

#### I. 緒言

放射線が生体の免疫能に及ぼす影響についての報告は多いが、主として宿主免疫能への抑制作用について論ぜられている<sup>1)～4)</sup>。一方、大星ら<sup>5)6)</sup>は、放射線の治療過程において、リンパ球様細胞浸潤を主体とする強い組織反応が出現する事から、放

射線により癌細胞の抗原性が増強される可能性を示唆した。最近の研究では、これらの細胞反応の主体はT cellと考えられている<sup>7)</sup>。現象的にも、ラットのKMT-17腫瘍細胞を用いた実験などで、手術摘出群に比べて照射群の肺転移が抑制されたと言う報告がある<sup>8)</sup>。

したがって、照射腫瘍細胞自体に免疫学的な変化が生じている可能性は否定できない。しかし、照射腫瘍細胞の抗原変化を免疫学的に検討した報告は極めて少なく、その観点からの放射線照射局所の免疫応答の解明には限界があった。本研究では、腫瘍細胞に対する放射線の影響を免疫学的に解明する目的でヒト培養肺癌細胞における、腫瘍関連抗原およびヒト主要組織適合抗原(HLA)についてモノクローナル抗体(MoAb)を用いて検討を行ったので報告する。

## II. 研究方法

### 1. 培養細胞

本研究にはヒト培養肺腺癌細胞 A549を用いた。同細胞は JCRB 細胞バンクより供与を受けた。この細胞を10%牛胎仔血清(FBS), HEPES (Sigma, USA)20mM, streptomycin, penicillin G 加 RPMI1640 (Gibco, USA) 培養液にて37°C 5%CO<sub>2</sub> インキュベーター内で培養した。同細胞の増殖曲線を求め、後述する方法により、培養上清および細胞の YH206抗原量の測定を行った。

### 2. 腫瘍関連抗原

腫瘍関連抗原(YH206抗原)に対する MoAb YH206(IgM)は A549細胞を免疫原とし、細胞融合法により札幌医大内科学第1講座で作製された<sup>9)</sup>。本抗原は正常細胞にはほとんど認められず、主にヒト腺癌細胞に発現する。

抗HLA(MHC-class I)抗体は、B細胞株RPMI-8075を免疫原とし札幌医大病理学第1講座で作製された MoAb HH1 (IgG2a) である<sup>10)</sup>。

### 3. X線照射

A549細胞への照射は SOFTEX M-150W型を用い、150kVp, 9mA, 0.5mm Al のフィルター、焦点細胞間距離39cm、線量率1.16Gy/minの条件下、細胞を回転させながら行った。

### 4. インターフェロン(IFN)

IFNは遺伝子組換えヒト IFN- $\gamma$ (塩野義製薬より供与)を使用した。

### 5. X線照射群およびIFN投与群

無処理群を対照とし、照射群は5Gy, 10Gy および15Gy の3群、IFN投与群(100U/ml)は単独投与と5Gy, 10Gy 照射を併用した3群である。

実験は、A549細胞 $4.5 \times 10^5$ 個を10mlの培養液を入れた直径9cm シャーレ(Falcon, 3003, USA)に植えて、24時間後にX線照射、IFN投与および両者の併用の処理を行い、培養120時間後の培養上清、および3mM EDTA・Na<sub>2</sub> 2H<sub>2</sub>Oで処理した細胞を、以下の実験に供した。無処理群、X線照射群、IFN投与群ともに、採取時の細胞は stationary phase であった。細胞数は Coulter Counter (COULTER ELECTRONICS, USA)を用いて測定した。

### 6. 免疫学的解析

#### 1) 酵素抗体法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)

培養上清および A549細胞の YH206抗原の検索は Avidin-Biotin 法を用いた酵素抗体法で行った<sup>9)</sup>。上清を平底マイクロプレート(Nunc, Denmark)に $150\mu l/well$  ずつ入れ、プラスチックステックに固相化した MoAb YH206を反応させた後、ビオチン化した MoAb YH206と結合させ、アビジン結合ペルオキシダーゼ(VECTOR, USA)を室温で30分反応させ、o-phenylenediamineにて発色後、硫酸にて反応を止め、492nmで吸光度を測定して培養上清の YH206抗原量を求めた。抗原量は unit (U) を用いて表示したが、1Uは約1ngに相当する<sup>9)</sup>。また、細胞の YH206抗原の測定には、細胞摂取直後に5回凍結融解を行い細胞を破壊し遠心後、その細胞融解上清を用いた。

#### 2) Flow cytometry

培養120時間後に採取した A549細胞を MoAb YH206あるいは MoAb HH1と FITC 標識ヤギ抗マウス Ig(Cappel, USA)を用いて間接蛍光抗体法を行い、さらに70%エタノールで固定し4°Cで保存した。次に、flow cytometryでの測定前に二重鎖構造の RNA の除去を目的とし、RNase A (Sigma)を1mg/ml PBSで混和し、37°Cで30分間反応させた。細胞核の DNA 量をその蛍光強度で測定するため、測定直前に $20\mu l$  (1mg/ml PBS) の propidium iodide (PI) を用いて染色した。

Flow cytometry は EPICS-C (COULTER ELECTRONICS)を用い、FITC および PIをともに500mW, 488nm のアルゴンイオンレーザー

光で励起させ、FITCには530nm short-pass filter, PIには610nm long-pass filterを使用した。なお、サンプルあたり $3 \times 10^4$ 個の細胞を測定した。

### 7. 細胞周期と膜抗原の解析

各細胞周期における細胞膜上の YH206 抗原量あるいは HLA 抗原を同時に分析する為に、Sieverts ら<sup>11)</sup>の報告に準じたプログラムを作製し、flow cytometry で収集した data をパーソナルコンピュータ (PC-9801, NEC 社) で解析した。

## III. 結 果

### 1. 細胞増殖曲線と YH206 抗原の推移

A549細胞の増殖曲線を求めるに、細胞倍加時間は20時間であった。次に培養上清の YH206 抗原量を測定し、その推移を検討した(Fig. 1)。YH206 抗原量は log phase の後期までは少なく、stationary phase において徐々に増加した。Stationary phase での増加率は、A549細胞 $10^6$ 個につき、1時間、培養上清10mlあたり5.7Uであった。

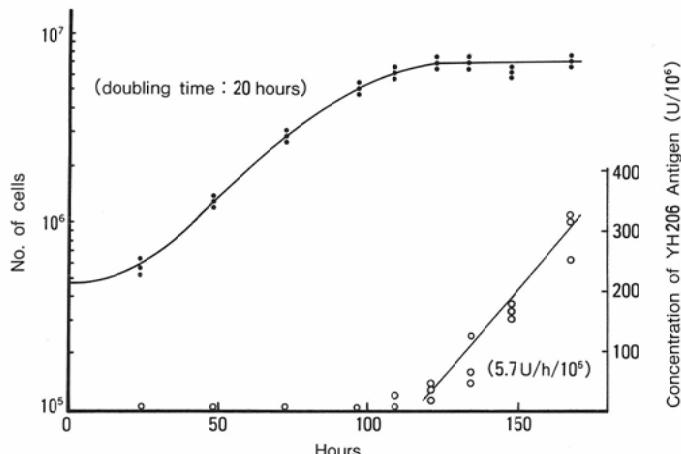


Fig. 1 Growth curve of A549 cells and concentration of YH206 antigen in the supernatant from A549 cells.

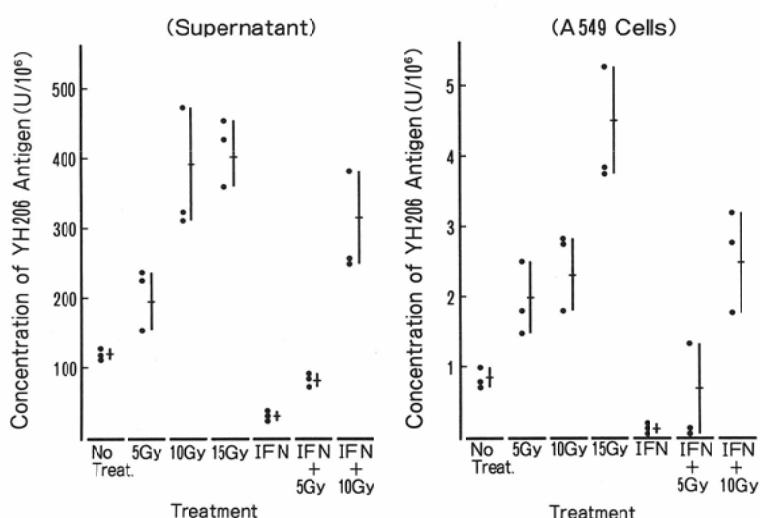


Fig. 2 Concentration of YH206 antigen in the supernatant from A549 cells and in the extracts of A549 cells by the freezing and thawing method.

## 2. 各処理による培養上清中および細胞のYH206抗原の推移

X線照射ないし照射群の対照として用いたIFN投与によるYH206抗原の変動を検討した。Fig. 2にA549細胞 $10^6$ 個あたりの培養上清および細胞のYH206抗原量を示した。培養上清では無処理群の120U/ $10^6$ 個と比べ、5Gy照射群は200U/ $10^6$ 個、10Gy照射群は380U/ $10^6$ 個と、それぞれ1.6倍、3.2倍と抗原量の増加を認めた。しかし、15Gy照射では10Gy照射とほぼ同値であった。一方、IFN単独投与群では30U/ $10^6$ 個と無処理群よりやや低値を示したが、5Gy照射併用群で90U/ $10^6$ 個、10Gy照射併用群で320U/ $10^6$ 個と抗原量は増加していた。凍結融解処理を行った細胞のYH206抗原量も、上清で得られた成績とほぼ同様な傾向を示した。

## 3. 細胞膜抗原の解析

細胞膜におけるYH206抗原量あるいはHLA抗原量の変化をflow cytometryで測定した。

Fig. 3に細胞膜におけるYH206抗原の分析を

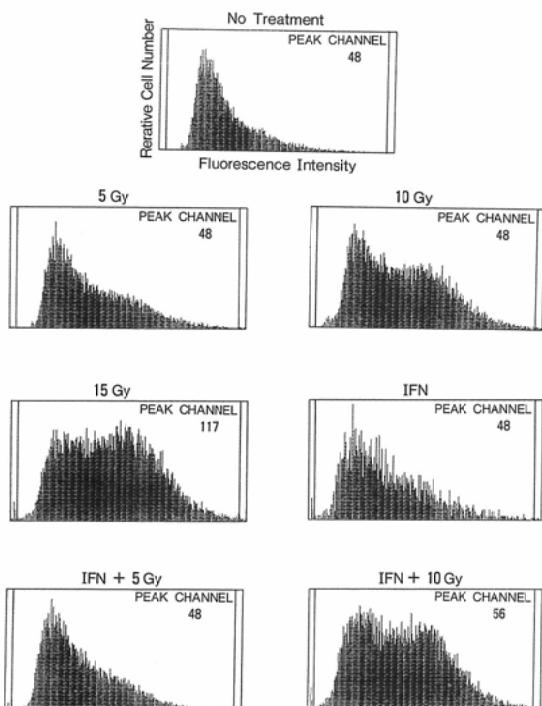


Fig. 3 Analysis of YH206 antigen expression on A549 cells by flow cytometry.

示した。無処理群でのfluorescence intensityのpeak値は48であったが、線量の増加に伴いintensity100前後の細胞が占める割合が増加し、15Gy照射群のpeak値は117で無処理群の2.4倍と著明に増加していた。一方、IFN単独投与群でのpeak値は48と無処理群と同値であった。IFNと5Gy照射を併用した群でも殆ど変化がなかったが、10Gy照射を併用した群では、10Gy照射群とほぼ同様でpeak値は56、intensity 100前後の細胞が増加した。従ってX線照射によって細胞膜におけるYH206抗原は増加し、特に15Gy照射により著明な増加が認められた。一方、IFNはYH206抗原に対して明らかな影響を与えていなかった。Fig. 4はYH206抗原に及ぼす放射線の影響をより明確にして示している。15Gy照射によりfluorescence intensityの高い細胞が著明に増加している。

次に、YH206抗原と同様に細胞膜におけるHLA抗原について検討した(Fig. 5)。IFN単独群におけるfluorescence peak値は144で、無処理群の67と比較し2.1倍と増加していた。さらに、X線照射群においても5Gy、10Gy、15Gyと線量が増すにつれpeak値は増加を示した。従って細胞膜上のHLA抗原は、IFNあるいはX線照射によって増加するが、X線照射よりもIFNの影響をより強く受けている。IFNと10Gyを併用した群での、peak値は161で2.4倍と増加しており、両者の相加効果が示唆された。Fig. 6はHLA抗原に及ぼすIFNの影響をより明確に表しているが、peak

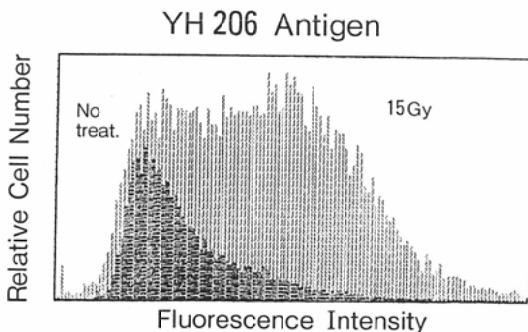


Fig. 4 Representative picture of the effect of radiation upon the expression of YH206 antigen. YH206 antigen was clearly enhanced with a dosage of 15Gy.

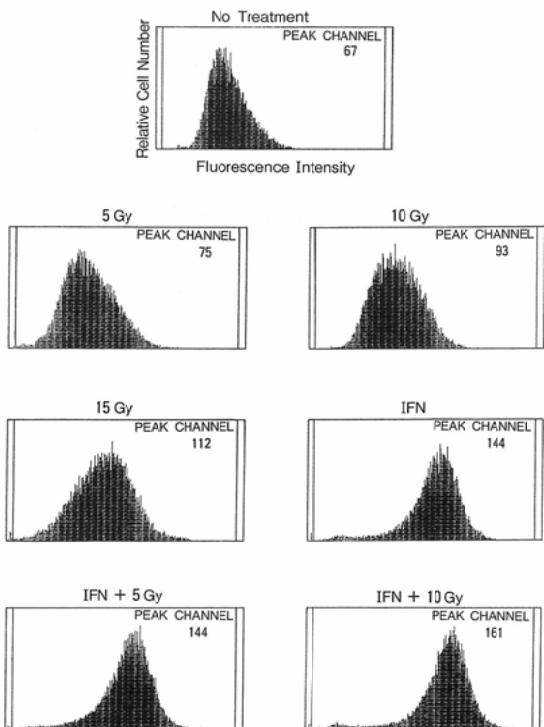


Fig. 5 Analysis of HLA expression on A549 cells by flow cytometry.

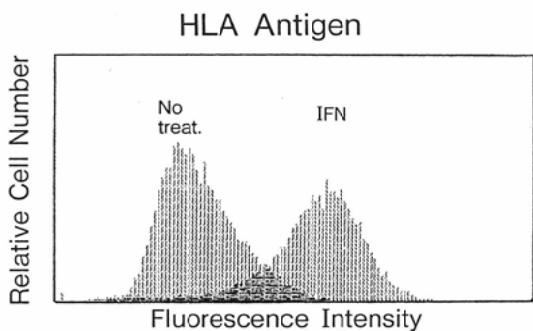


Fig. 6 Representative picture of the effect of IFN upon the expression of HLA antigen. HLA antigen was clearly enhanced with interferon- $\gamma$  (100U/ml).

値は144と一峰性の増加を示している。

#### 4. 細胞周期と膜抗原の解析

抗原量の増加機序の一端を解明するために細胞周期と膜抗原量との関連を検討した。FITC 染色および PI 染色による二重染色法では、膜抗原は緑色蛍光に、DNA は赤色蛍光に染色される (Fig.

7)。これらの data を、著者らが作製したプログラムを用いて解析した。Fig. 8 に示すように横軸に PI 染色での DNA 量を、縦軸は FITC すなわち膜抗原量 (この場合は HLA 抗原) を示した。DNA histogram に対し各細胞周期の gate を設定すると、各期における FITC 量 (膜抗原量) を容易に得る事ができ、その結果の一部を Fig. 9 および Fig. 10 に示した。

Fig. 9 は無処理群および 15Gy 照射群における細胞周期別 YH206 抗原量を示している。無処理群では  $G_0/G_1$  期で抗原量の低い細胞の比率が多く、これに比し S 期および  $G_2/M$  期では抗原量が高い細胞が多くなっている。一方、15Gy 照射群では無処理群よりも全細胞周期において YH206 抗原量の増加が見られ、さらに各周期別での peak 値は無処理群と同様の傾向を示し、 $G_0/G_1$  期で抗原量が少なく、S 期および  $G_2/M$  期では多かった。しかし各期における peak 値と fluorescence intensity 曲線の右方偏位は S 期および  $G_2/M$  期で著明であり、YH206 抗原量の変化で見る限りでは、X 線照射によって  $G_0/G_1$  期よりも S 期および  $G_2/M$  期においてより著明な影響を受けていた。

さらに、細胞周期別 HLA 抗原量についても同様の解析を行った (Fig. 10)。無処理群では、やはり  $G_0/G_1$  期よりも、S 期および  $G_2/M$  期において HLA 抗原量が多い細胞の比率が高かった。一方、IFN 投与群では  $G_0/G_1$  期、S 期および  $G_2/M$  期の全細胞周期で一様に増加を呈しており、特定の周期での増加は認められなかった。

#### IV. 考 案

放射線による担癌宿主免疫機能の抑制について、種々論ぜられてきたが<sup>1)~4)</sup>、その機序の一部には照射野に含まれる免疫担当細胞が関連すると考えられている<sup>4)</sup>。一方、低線量の分割照射による全身照射が悪性リンパ腫に有効であると報告<sup>12)</sup>され、多くの施設で、同様な成績が得られている<sup>13)14)</sup>。このような低線量の放射線による効果は、放射線による細胞致死効果からだけでは説明できず、宿主介在性の細胞障害機序が関与していると推定されている<sup>15)</sup>。Hellström<sup>16)</sup>らは、このような機序のひとつとして放射線が suppressor T cell

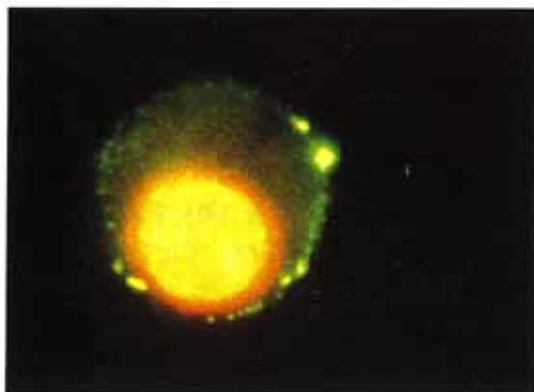


Fig. 7 Two color staining of A549 cells: DNA staining with PI (red) and cell surface antigen staining with FITC (green) were clearly demonstrated.

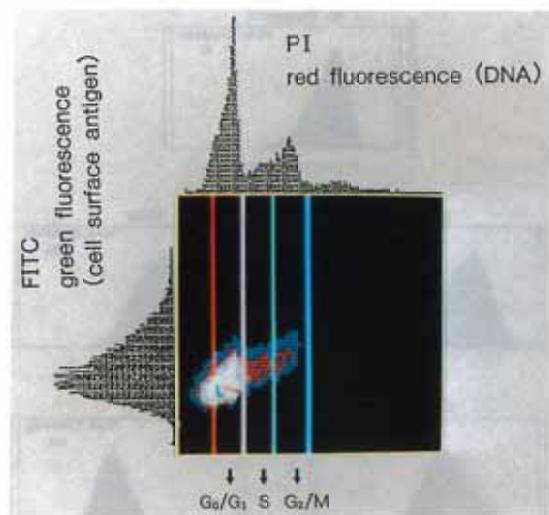


Fig. 8 Simultaneous analysis of DNA content and cell surface antigen of A549 cells.

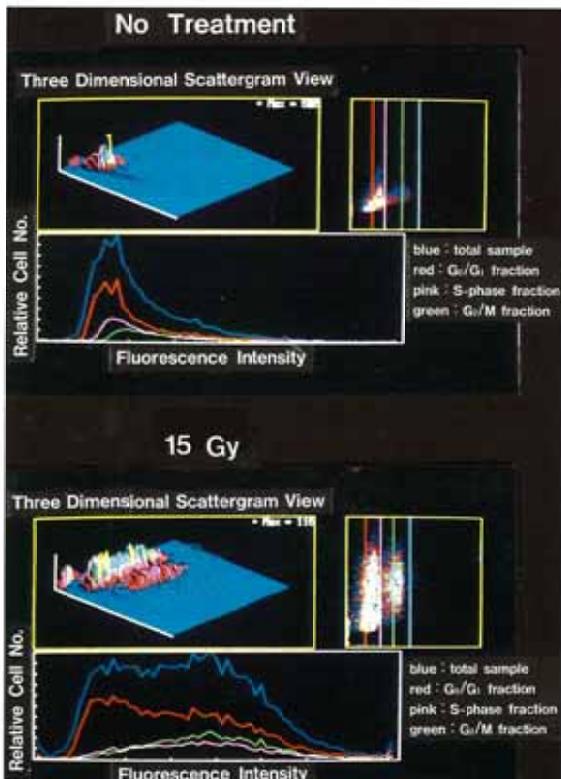


Fig. 9 Expression of surface YH206 antigen during the cell cycle of A549 cells. Blue, red and green lines denote total fraction,  $G_0/G_1$  fraction, S fraction and  $G_2/M$  fraction, respectively.

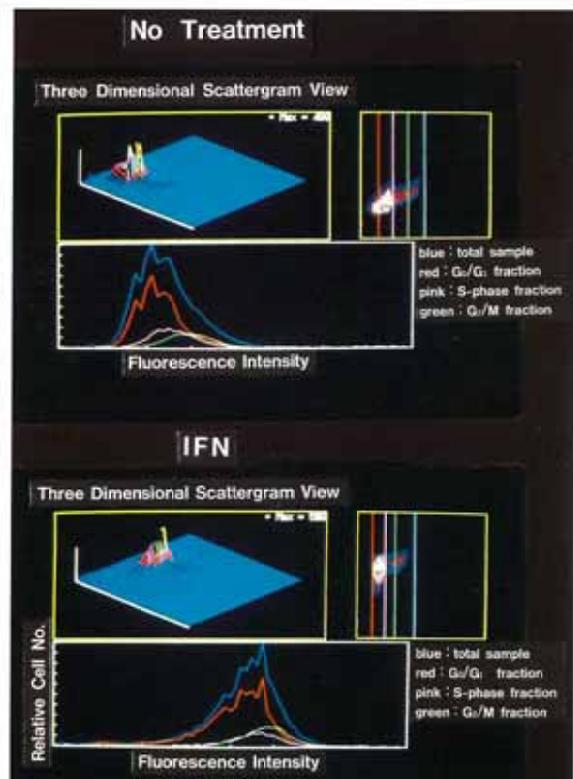


Fig. 10 Expression of surface HLA antigen during the cell cycle of A549 cells.

を抑制する点を指摘しているが、その詳細な解明はなされていない。大星ら<sup>5)6)</sup>は放射線照射された腫瘍組織局所にみられるリンパ球浸潤に注目し、これらの反応は癌細胞が形態的にある程度変化した時期よりみられる事から、免疫反応の結果であると考察している。近年これらの浸潤細胞についてモノクローナル抗体を用いた解析<sup>7)17)</sup>が行われ、小川ら<sup>7)</sup>はその多くは T cell の抗 Leu-3a, b 陽性 (helper/inducer T) リンパ球であり、さらにリンパ球浸潤の程度により予後も異なると報告している。しかし、照射された腫瘍組織にリンパ球が、どのような機序で浸潤するかの解明は未だなされておらず、照射された腫瘍細胞が免疫学的に、いかなる変化を生じているかを検討する事が重要である。このような観点から、ヒト培養肺腺癌 A549 細胞および本細胞と強く反応する MoAb YH206 を用いて、特に放射線照射による YH206 抗原の変化を検索した。

MoAb YH206 の特性については Hinoda ら<sup>9)</sup>により報告されているが、対応する YH206 抗原は免疫組織学的に、ヒト正常組織では腎と脾の一部に微量に認められるが、主に腺癌細胞に発現している。その生化学的解析では CEA や CA19-9 抗原とは異なり、分子量 1000K 以上の高分子糖蛋白と推定されている<sup>18)</sup>。

本実験では、ヒト培養肺腺癌細胞 A549 における YH206 抗原量の変動について検討したが、X 線照射を行った群において、細胞質、培養上清、細胞膜とともに YH206 抗原量が増加する事を明らかにした。無処理群と比べ、5Gy 照射群よりも 10Gy 照射群、15Gy 照射群と線量の増加に伴い YH206 抗原の増加が著明であった。一方、放射線の対照として用いた IFN 単独処理では無処理群と比べ、細胞膜では変化はなく、培養上清ならびに細胞質において、むしろやや低下し、YH206 抗原の增量は認めなかった。また、X 線照射と IFN の併用では増加傾向を示したが、これは放射線による影響と考えられた。

腫瘍関連抗原に対する放射線の影響についての報告は、これまでほとんど見られない。Yata ら<sup>19)</sup>は、Burkitt lymphoma 細胞に対して、X 線照射

を行い、直接膜蛍光抗体法を用い EBV 関連抗原を定性的に検討し、対照に比して抗原陽性細胞の著しい増加を報告している。しかし抗原量の定量的分析は行われていない。

また、著者はヒト培養胃腺癌細胞 MKN45 における X 線照射の影響を flow cytometry で検討しているが、同細胞の腫瘍関連抗原である carcinoembryonic antigen (CEA) の増加を認め、本実験の成績と同様な結果を得ている<sup>20)</sup>。従って、放射線による腫瘍関連抗原の修飾作用は本研究に用いた A549 細胞のみに生じる現象とは考えがたく、各種の腫瘍関連抗原において見い出される可能性がある。

腫瘍関連抗原に対する抗体に放射性同位元素をラベルした最近の研究では<sup>21)22)</sup>、抗体を投与する前に、腫瘍に 2~10Gy の外部照射を行うと、外部照射をしない群に比して、腫瘍への抗体の集積が増加したと報告されている。その機序については、腫瘍血管における蛋白の透過性の亢進による所とし、放射線による抗原の変化について検討されていない。しかし、この報告は、放射線によって腫瘍関連抗原が増加し、抗体が腫瘍により強く集積したとも考えられる。

一方、IFN 投与による HLA 抗原量の増加については、すでにいくつかの報告<sup>10)23)</sup>がある。今なら<sup>10)</sup>は胸腺細胞における IFN の HLA 抗原発現増強作用は、その合成段階の促進だけではなく、細胞表面への転送過程をも促進させるのではないかと推論している。

しかし、放射線の HLA 抗原に与える影響についての報告は未だない。本研究において、諸家の報告のように IFN 100U/ml 投与群では、無処理群および照射群に比し HLA 抗原の著明な増加を認めた。さらに X 線照射の線量の増加に伴って細胞膜上の HLA 抗原が、ある程度増加する事を示した。また、IFN の生物学的作用について種々報告されているが、放射線との併用については IFN の放射線防護活性<sup>24)25)</sup>や radiosensitizer<sup>26)~29)</sup>としての作用に関連して報告されている。本実験では IFN に 10Gy 照射を併用した場合、IFN 単独投与よりも HLA 抗原は増加傾向を示していた。こ

の事は放射線とIFNの併用により *in vivo*においても HLA 抗原の増加がもたらされ、T cell 特に細胞障害性 T cell (CTL) の局所への集積が誘導される可能性を推測させ興味深い。

YH206抗原およびHLA抗原量の増加機序の一端を解明する目的で、細胞周期と膜抗原との関係を二重染色法を用いた flow cytometry の data で解析してみると、YH206抗原およびHLA抗原とともに G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期では抗原量は少なく、G<sub>2</sub>/M 期で最大。S 期は両者の中間に位置していた。cell cycle における抗原量の推移に関しては多くの報告があるが、他の報告された腫瘍関連抗原<sup>11(30)~34)</sup>およびHLA抗原<sup>34)~37)</sup>においても、上述した我々の成績とほぼ同様な結果を示していた。しかし、著者の検索した限りでは、各細胞周期別の放射線による抗原量への影響についての報告はきわめて少ない。著者は、X線照射された細胞膜におけるYH206抗原は、細胞周期に依存性があり、S期およびG<sub>2</sub>/M期で著明な増加を認めるが、これに対して IFN 投与ならびに X 線照射された細胞膜における HLA 抗原は、細胞周期依存性がなく、各期共に増加している事を示した。細胞膜における腫瘍関連抗原のひとつである YH206抗原と HLA 抗原におけるこのような差異の理由は明らかではないが、他の腫瘍関連抗原を含めてさらに検討が必要であろう。

放射線による、このような腫瘍関連抗原の増加機序については十分に解析されていないが、千葉<sup>38)</sup>は癌細胞の増殖環境と抗原性の変化を検討し、KMT-17細胞において培養液中の血清濃度を低下させると細胞表面の免疫原性が上昇すると報告している。その機序は細胞増殖性が低下する事によりシアル酸によって被覆されている糖タンパク抗原が露出した為であろうと推定している。細胞の増殖性と抗原量の関係については、本研究において線量の増加に伴い細胞増殖は抑制され、YH206抗原量は増加したが、IFN 単独投与群では細胞の増殖が抑制されたにもかかわらず、細胞膜の YH206抗原は変化がなく、細胞質および培養上清の YH206抗原はむしろ低下を示した。このような事から考え、YH206抗原の増加には細胞増殖率

だけが関与するとは考え難い。今後、遺伝子レベルでの YH206抗原の発現を検討する必要がある。

抗腫瘍免疫機序として、癌細胞の膜上における腫瘍関連抗原と HLA 抗原の両者が、CTL により認識される事が重要とされており、放射線や IFN を用いて癌細胞膜抗原を修飾する事は興味深いと考えられる。

放射線治療は癌の治療法として確立されているが、更なる進歩を目指し、治療技術や、線量一分割方法、温熱療法や放射線増感剤との併用の研究がなされている。しかし、これらは、放射線による致死的損傷を目的としており、今後生体側の腫瘍に対する防御能、すなわち免疫機能の立場からの研究も必要と考えられる。一般的にヒト癌細胞の抗原性は低いと言われてきたが、今回の実験により比較的低い線量を与える事により癌細胞側における、ある種の抗原の発現を高める可能性を示唆した。今後、照射された腫瘍細胞に対する生体側の反応、特に CTL、LAK ならびに NK などのエフェクター細胞をも含めた解析が重要と考えられる。本研究が放射線治療における新しい役割としての biological response modifiers (BRM) 療法への step となれば幸いである。

## V. 結論

ヒト培養肺腺癌細胞 A549を用い、放射線およびinterferon- $\gamma$ の影響を免疫学的に検討した。

1. 細胞、培養上清および細胞膜の YH206抗原量は X 線照射により著明な増加を認めた。IFN では増加は認められなかった。

2. 細胞膜の HLA 抗原は interferon- $\gamma$  (100U/ml) 投与により著明な増加を認めた。また、X 線照射によっても、線量の増加に伴って増加を示した。

3. YH206抗原は X 線照射によって、G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期よりも S 期および G<sub>2</sub>/M 期で増加した。

4. HLA 抗原は IFN 投与あるいは X 線照射により特定の細胞周期に依存せず、全ての周期において増加を認めた。

本研究の要旨は、第47回（昭和63年3月）日本医学放射線学会総会で報告した。稿を終えるにあたり、御指導、御

校閲を賜わりました森田和夫教授に深謝いたします。さらに、御助言、御協力をいただきました当大学内科学第1講座今井浩三講師、伴 紀宏先生、ならびに当教室小柴博文博士、久保喜平博士に感謝いたします。また、コンピュータプログラム作製に御協力いただきました放射線部片桐好美技師に感謝いたします。

## 文献

- 1) Stjernswärd J, Jondal M, Vánky F, et al: Lympopenia and change in distribution of human B and T lymphocytes in peripheral blood induced by irradiation for mammary carcinoma. *Lancet* 1: 1352-1356, 1972
- 2) Tarpley JL, Potvin C, Chretien PB: Prolonged depression of cellular immunity in cured laryngopharyngeal cancer patients treated with radiation therapy. *Cancer* 35: 638-644, 1975
- 3) Raben M, Walach N, Galili U, et al: The effect of radiation therapy on lymphocyte subpopulations in cancer patients. *Cancer* 37: 1417-1421, 1976
- 4) 押谷高志: 宿主免疫能に及ぼす放射線治療の影響. 日本医学会誌, 41: 873-886, 1981
- 5) 大星章一, 下里幸雄, 板倉克明, 他: 癌放射線療法の病理(I)癌組織の治癒過程の組織学的追跡(その2), 医学のあゆみ, 61: 665-671, 1967
- 6) 大星章一, 下里幸雄, 板倉克明, 他: 放射線療法の病理(II)癌組織の治癒過程に出現するリンパ球様細胞反応の免疫学的意義, 医学のあゆみ, 61: 725-730, 1967
- 7) 小川恭弘, 前田知穂, 瀬口春道, 他: 癌の放射線治療効果における腫瘍免疫の関与—モノクローナル抗体による解明—, 癌の臨床, 33: 1221-1228, 1987
- 8) 山下徹郎, 水越孝典, 富田喜内, 他: 局所放射線照射線量が抗腫瘍免疫と転移に及ぼす影響, 癌の臨床, 33: 1205-1210, 1987
- 9) Hinoda Y, Imai K, Ban T, et al: A sandwich enzyme immunoassay of an adenocarcinoma-associated antigen, YH206, in cancer sera. *Jpn Cancer Res (Gann)* 78: 607-613, 1987
- 10) 今信一郎, 石井良文: ヒトTL様抗原の単クローナル性抗体による解析及びその抗原の発見に対するインターフェロンの効果, 札幌医誌, 53: 183-200, 1984
- 11) Sieverts H, Alabaster O, Goldschmidts W, et al: Expression of surface antigens during the cell cycle in different growth phases of American and African Burkitt's lymphoma cell lines. *Cancer Res* 46: 1182-1188, 1986
- 12) Johnson RE: Management of generalized malignant lymphoma with "systemic" radiotherapy. *Br J Cancer* 31(Suppl II): 450-455, 1975
- 13) Choi NC, Timothy AR, Kaufman SD, et al: Low dose fractionated whole body irradiation in the treatment of advanced non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer* 43: 1636-1642, 1979
- 14) Thar TL, Million RR, Noyes WD: Total body irradiation in non-Hodgkin's lymphoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 5: 171-176, 1979
- 15) Rees GJG: Mechanism of total body irradiation in lymphoma. *Acta Radiol Oncol* 21: 421-425, 1982
- 16) Hellström KE, Helsström I, Kant JA, et al: Regression and inhibition of sarcoma growth by interference with a radiosensitive T-cell population. *J Exp Med* 148: 799-804, 1978
- 17) 広田佐栄子, 小川恭弘, 瀬口春道: マウス放射線照射腫瘍組織浸潤リンパ球サブセットのモノクローナル抗体による解析, 日本医学会誌, 46: 1331-1349, 1986
- 18) 増川丈児, 伴 紀宏: モノクローナル抗体により検出された腺癌関連抗原(YH206抗原)の血中定量ならびに抗原の免疫化学的解析, 札幌医誌, 57: 183-195, 1988
- 19) Yata J, Klein G, Hewetson J, et al: Effect of metabolic inhibitors on membrane immunofluorescence reactivity of established burkitt lymphoma cell lines. *Int J Cancer* 5: 394-403, 1970
- 20) Hareyama M, Imai K, Ban T, et al: Effect of radiation on the expression of carcinoembryonic antigen on the membranes of human gastric adenocarcinoma cells—Immunological study using monoclonal antibodies—. *Nippon Act. Radiol.* in press
- 21) Leichner PK, Yang N, Frenkel TL, et al: Dosimetry and treatment planning for <sup>90</sup>Y-labeled antiferritin in hepatoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 14: 1033-1042, 1988
- 22) Msirikale JS, Klein JL, Schroeder J, et al: Radiation enhancement of radiolabelled antibody deposition in tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 13: 1839-1844, 1987
- 23) Wallach D: The HLA proteins and a related protein of 28kDa are preferentially induced by interferon- $\gamma$  in human WISH cells. *Eur J Immunol* 13: 794-798, 1983
- 24) Ortaldo JR, McCoy JM: Protective effects of interferon in mice previously exposed to lethal irradiation. *Radiat Res* 81: 262-266, 1980
- 25) 三好武美, 斎藤正好, 有水 昇, 他: Sarcoma 180

- 細胞の放射線照射に及ぼすインターフェロンの修飾効果、日本医学会誌、44：85—92、1984
- 26) Gould MN, Kakria RC, Olson S, et al: Radiosensitization of human bronchogenic carcinoma cells by interferon beta. *J Interferon Res* 4 : 123—128, 1984
  - 27) Dritschilo A, Mossman K, Gray M, et al: Potentiation of radiation injury by interferon. *Am J Clin Oncol (CCT)*. 5 : 79—82, 1982
  - 28) Namba M, Yamamoto S, Tanaka H, et al: In vitro and in vivo studies on potentiation of cytotoxic effects of anticancer drugs or cobalt 60 gamma ray by interferon on human neoplastic cells. *Cancer* 54 : 2262—2267, 1984
  - 29) Lvovsky EA, Mossman KL, Levy HB, et al: Response of mouse tumor to interferon inducer and radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 11 : 1721—1729, 1985
  - 30) Cikes M: Variations in expression of surface antigens on cultured cells. *Ann NY Acad Sci* 177 : 190—200, 1971
  - 31) Pasternak CA, Warmsley AMH, Thomas DB: Structural alterations in the surface membrane during the cell cycle. *J Cell Biol* 50 : 562—564, 1971
  - 32) Kufe DW, Nadler L, Sargent L, et al: Biological behavior of human breast carcinomas associated antigens expressed during cellular proliferation. *Cancer Res* 43 : 851—857, 1983
  - 33) Kruth HS, Braylan RC, Benson NA, et al: Simultaneous analysis of DNA and cell surface immunoglobulin in human B-cell lymphomas by flow cytometry. *Cancer Res* 41 : 4895—4899, 1981
  - 34) Killander D, Klein E, Levin A: Expression of membrane-bound IgG and HL-A antigens on lymphoblastoid cells in different stages of the cell cycle. *Eur J Immunol* 4 : 327—332, 1974
  - 35) Everson LK, Plocnik BA, Rogentine GN Jr: HL-A expression on the G<sub>1</sub>, S and G<sub>2</sub> cell-cycle stages of human lymphoid cells. *J Natl Cancer Inst* 53 : 913—920, 1974
  - 36) Pellegrino MA, Ferrone S, Natali PG, et al: Expressin of HL-A antigens in synchronized cultures of human lymphocytes. *J Immunol* 108 : 573—576, 1972
  - 37) Lanier LL, Warner NL: Cell cycle related heterogeneity of Ia antigen expression on a murine B lymphoma cell line: Analysis by flow cytometry. *J Immunol* 126 : 626—631, 1981
  - 38) 千葉逸郎：癌細胞の増殖環境の変化が免疫原性に及ぼす効果とその機序解釈、北海道医誌、62 : 640—651, 1987