

## 腎細胞癌における腫瘍浸潤性単球系細胞の臨床的検討

埼玉医科大学泌尿器科学教室 (主任: 岡田耕市教授)

濱 田 郁 人

A CLINICAL STUDY ON TUMOR-ASSOCIATED MONOCYTE  
LINEAGE CELLS IN RENAL CELL CARCINOMA

Ikuto HAMADA

From the Department of Urology, Saitama Medical School

To investigate the relationship between the ratio of monocytes infiltrating renal cell carcinoma (RCC) and prognosis, in 78 patients who underwent nephrectomy, the positive rate of the following parameters was assessed immunohistochemically under light microscopy: tumor-associated macrophage (TAM), microvessel density (MVD), S-100 cell, HLA-DR cell, apoptosis index (AI) and proliferative index (PI). The relationship between the positive rate of these parameters and prognosis, and intercorrelations among these parameters were analyzed. A positive correlation with prognosis was observed in patients positive for TAM, MVD or PI ( $r=0.625$ ). Prognosis was poor for patients with high levels of these parameters. Furthermore, the number of S-100-positive cells was a prognostic factor only in patients with metastatic RCC. Although the role of TAM as a prognostic factor in RCC is clear, no linear relationship was identified between prognosis and other monocytes.

(Acta Urol. Jpn. 48 : 213-220, 2002)

**Key words:** Renal cell carcinoma, Tumor associated macrophage, Dendritic cell

## 緒 言

単球から分化するマクロファージと、樹状細胞は自然免疫と特異免疫の接点に存在し、両者の調節に重要な役割を担っていることが知られている。マクロファージは炎症反応の惹起と同時に炎症による過剰な組織の破壊を防ぐために抗炎症作用を順次発動させ、さらに血管新生や間質の増生を伴った組織の修復を行うことで生体の恒常性を維持している。この balanced macrophage activation cycle と呼称される状態は、様々な病的状態で破綻することが推測されているが、固形癌がその1つに挙げられている<sup>1)</sup>。活性化マクロファージによる癌細胞への障害性は知られるものの、癌組織の局所においてはむしろ、癌細胞より産生される各種のサイトカインによって、マクロファージは抗炎症的な方向に働き、ひいては細胞性免疫の抑制の方向に働くと同時に腫瘍細胞の増殖や、腫瘍新生血管の増生を介して、病勢の進行に関与していることが推定されている<sup>2)</sup>。

臨床例においても tumor associated macrophage (TAM) は negative な予後因子であることが、いくつかの癌種で報告されている。

樹状細胞 (DC) はリンパ球への抗原提示を専門とする特異な細胞であり、最近では特異的癌免疫療法の発動を目的として、同細胞を用いた臨床的トライアルが開始されている。

癌組織における DC の存在は良好な予後因子となるとする報告も散見されるが、全般的には癌患者ならびに癌組織における DC の意義については十分に理解されていない。

腎細胞癌はインターフェロン (IFN) を中心としたサイトカイン療法がスタンダードな治療法となっており、また様々な細胞性免疫療法が試みられている癌種である。臨床例にも用いられる IFN- $\gamma$  は単球系細胞の賦活化に最も重要なサイトカインであるが、その投与によって一定の治療効果は認められるものの、満足しうるものには至っていない。

このことは腎細胞癌における TAM の制御が IFN- $\alpha$ ,  $\gamma$  によっても十分に計り得ないことを示唆している可能性がある。したがって腎細胞癌に対するバイオ治療法の成績を向上するためにも、腎細胞癌臨床例における TAM の意義についての十分な解析は重要なものと考えられる。過去の腎細胞癌例における TAM と DC の解析は、少数例による病理学的な解析に留まっており、生物学的意義を明らかにするものに至っていない。

本研究では、長期の臨床的観察が可能であった臨床例に限定して、腎細胞癌組織中の TAM と DC の免疫組織学的な解析を、以下の点について行い、その臨床的意義を検討した。(1) 腫瘍組織中の TAM と DC の予後への影響、(2) TAM と癌組織中における血管新生、癌細胞の増殖能ならびに癌細胞の apopto-

sis との相互関連, (3) 既存の予後因子と TAM (ならびに DC) との関連の 3 点である。さらに追加事項として胃癌例では悪性度の高いスキルス癌で腫瘍辺縁でのマクロファージの細胞浸潤が乏しいとする報告をもとに<sup>3)</sup>, 腫瘍中央域, 腫瘍・正常組織境界域, 腫瘍内小動脈周囲の 3 領域におけるマクロファージの浸潤度をおのおのの予後との関連において検討した。

## 対象と方法

対象は1987年から1997年まで, 埼玉医科大学泌尿器科にて腎細胞癌に対し腎摘出術を施行した78例である。男性58例, 女性20例で平均年齢は56.0歳であった。

免疫組織学的に検討したパラメーターは tumor-associated macrophage (TAM), micro-vessel density in the tumor (MVD), S-100 蛋白陽性細胞 (S-100(+) 細胞), HLA-DR 陽性細胞 (HLA-DR(+) 細胞), apoptosis index (AI), proliferative index (PI) の 6 種である。摘出した腎細胞癌の検体は, 10%ホルマリン溶液で固定し, パラフィン包埋された。切片スライドは 5  $\mu$ m で作成された。切片はキシロールとアルコールで脱パラフィン化された。

TAM, MVD, S-100(+) 細胞, HLA-DR(+) 細胞, PI の免疫染色はすべて ABC 法で行い, 3,3'-ジアミノベンジジン, 四塩酸塩にて発色した後, 対比染色にはマイヤーヘマトキシリンを用いた。Table 1 に各パラメーターで用いた一次抗体を示す。

TAM の評価は400倍顕微鏡下で腫瘍内の TAM 密度の高い10カ所を選び, その平均値を TAM とした。その際, 腫瘍内の壊死を起している部位は除外し視野中に腫瘍細胞が50%以上存在する部位のみ評価した<sup>4)</sup> さらに腫瘍内小動脈周囲, 腫瘍-正常組織境界領域の TAM の浸潤数を同様の方法で評価した。

MVD の評価は200倍顕微鏡下で腫瘍内の MVD 数の最も高い値を MVD とした<sup>5)</sup>

S-100(+) 細胞, HLA-DR(+) 細胞の評価は100倍顕微鏡下で腫瘍内の最も高い値を S-100(+) 細胞数,

HLA-DR(+) 細胞数とした<sup>6)</sup> その際, 腫瘍内の壊死を起している部位は除外し視野中に腫瘍細胞が50%以上存在する部位のみ評価した。さらに腫瘍内血管周囲, 腫瘍境界部の分布を評価した。

PI の評価は400倍顕微鏡下で腫瘍細胞1,000個中の染色された細胞数の比率を PI とした<sup>7)</sup>

AI の染色は TUNEL 法 (ApopDETEK Cell Death Assay System, Enzo Diagnostics, Inc. Farnham, NY; USA) で行った<sup>8)</sup> 評価は400倍顕微鏡下で腫瘍細胞1,000個中の染色された細胞数の比率を AI とした。

統計学的検討は TAM, MVD, S-100(+) 細胞, HLA-DR(+) 細胞, AI, PI の各々の相関を Pearson の相関計数で求めた。各因子の予後因子としての検討は, 各々の計測値の中央値で低値群と高値群に分け, その 2 群間比較を生存率について, Kaplan-Meier 法にて検討した。また, 先の予後因子と既存の予後因子を加えた, 生存に関する多変量解析は Cox 比例ハザードモデルにより検討した。危険率 5%未満を有意差ありとした。

## 結 果

本検討の各パラメーターの実測値と, 既存の予後因子の全症例における分布を Table 2 に示す

Table 2. Results of TAM, MVD, S-100(+) cell, HLA-DR(+) cell, AI and PI, and pathological characteristics in 78 patients

| TAM (magnification, $\times 400$ )            | Minimal  | Max      | Mean  | Median |
|-----------------------------------------------|----------|----------|-------|--------|
| a*                                            | 0 (n= 3) | 104.1    | 33.95 | 33.4   |
| b**                                           | 0 (n=15) | 70       | 11.72 | 8.0    |
| c***                                          | 0 (n=15) | 42       | 6.82  | 4.0    |
| MVD (magnification, $\times 200$ )            | 8        | 133      | 33.28 | 28     |
| S-100(+) cell (magnification, $\times 100$ )  |          |          |       |        |
| a*                                            | 0 (n=15) | 98       | 10.27 | 5.0    |
| b**                                           | 0 (n=28) | 100      | 13.46 | 9.0    |
| c***                                          | 0 (n=17) | 60       | 6.62  | 3.0    |
| HLA-DR(+) cell (magnification, $\times 100$ ) |          |          |       |        |
| a*                                            | 0 (n=15) | 337      | 52.72 | 31     |
| b**                                           | 0 (n=28) | 99       | 11.42 | 3      |
| c***                                          | 0 (n=17) | 169      | 37.38 | 25     |
| AI (magnification, $\times 400$ , %)          | 0.1      | 12       | 3.21  | 2.4    |
| PI (magnification, $\times 400$ , %)          | 0.1      | 65.4     | 6.71  | 3.9    |
| Grade                                         | G1; 26   | G2; 45   | G3; 7 |        |
| T criteria                                    | T1/2; 42 | T3/4; 36 |       |        |
| V criteria                                    | V(-); 47 | V(+); 31 |       |        |
| M criteria                                    | M0; 59   | M1; 19   |       |        |

\* The tumor center, \*\* The boundary between tumor tissue and normal renal tissue, \*\*\* in the connective tissue around intratumoral main vessel.

Table 1. Primary antibodies used for evaluation of TAM, MVD, S-100(+) cell, HLA-DR(+) cell and PI

|                |                                                                                                 |
|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TAM            | Primary anti-human CD68/horseradish peroxidase monoclonal antibodies (DAKO JAPAN, Kyoto, Japan) |
| MVD            | Anti-factor VIII-related antigen (Dako Corporation, Santa Barbara, CA, USA)                     |
| S-100(+) cell  | Primary Rabbit anti-S-100 antibodies (Dako Corporation, Carpinteria, CA, USA)                   |
| HLA-DR(+) cell | Monoclonal mouse anti-human HLA-DR alpha-chain (DAKO, Denmark)                                  |
| PI             | Ki-67 antigen (Dako Corporation, Santa Barbara)                                                 |

Table 3. Correlation between classical prognostic factors and the mean values of TAM, MVD, S-100(+) cell, HLA-DR(+) cell, AI and PI in all the patients

|                | TAM      | MVD       | S-100(+) cell | HLA-DR(+) cell | AI      | PI      |
|----------------|----------|-----------|---------------|----------------|---------|---------|
| M0 (n=59)      | 30.9±2.8 | 28.8± 2.2 | 9.7±2.0       | 55.8± 8.6      | 2.9±0.3 | 5.9±1.3 |
| M1 (n=19)      | 43.3±3.9 | 47.3± 6.6 | 11.8±4.2      | 43.1±17.4      | 4.1±0.7 | 9.0±1.1 |
| P value        | <0.01    | <0.01     | n.s           | n.s            | n.s     | n.s     |
| Grade 1 (n=26) | 31.2±4.6 | 29.9± 4.3 | 15.0±4.6      | 49.9±11.9      | 3.4±0.5 | 3.7±1.0 |
| Grade 2 (n=45) | 32.8±2.6 | 30.8± 2.0 | 7.6±1.6       | 49.5± 9.3      | 3.0±0.4 | 8.2±1.6 |
| Grade 3 (n=7)  | 52.1±9.6 | 61.3±15.6 | 9.5±3.6       | 83.7±47.1      | 3.3±1.2 | 8.2±2.6 |
| P value        | <0.05*   | <0.05*    | n.s           | n.s            | n.s     | n.s     |
|                | <0.05**  | <0.01**   | (0.07)        |                |         | (0.06)  |
| T1/2 (n=42)    | 31.7±3.5 | 32.2± 3.0 | 11.6±3.2      | 48.8± 9.5      | 2.9±0.4 | 5.8±1.7 |
| T3/4 (n=36)    | 36.5±3.1 | 34.5± 4.0 | 8.7±1.5       | 57.3±12.7      | 3.5±0.5 | 7.8±1.0 |
| P value        | n.s      | n.s       | n.s           | n.s            | n.s     | n.s     |
| V(-) (n=47)    | 32.8±3.5 | 34.7± 3.4 | 12.7±2.9      | 48.5± 8.7      | 2.9±0.4 | 4.4±1.5 |
| V(+) (n=31)    | 35.7±2.9 | 31.1± 3.4 | 6.4±1.2       | 59.0±14.5      | 3.7±0.5 | 7.0±1.1 |
| P value        | n.s      | n.s       | n.s           | n.s            | n.s     | n.s     |
|                |          |           | (0.09)        |                |         |         |

\* P value between grade 1 and grade 3, \*\* P value value between grade 2 and grade 3.

TAM は腫瘍中央部において3例 (3.8%) で検出されなかった。TAM の浸潤の部位による差の検討では腫瘍中央部に最も多く (mean=33.95), ついで腫瘍—正常組織境界部 (mean=11.72) であり, 最も少なかったのは腫瘍内小動脈周囲部 (mean=6.82) であった。

S-100(+) 細胞は腫瘍中央部において21例 (26.9%) で検出されなかった。浸潤の部位による差の検討では腫瘍—正常組織境界部に最も多く (mean=13.46), ついで腫瘍中央部 (mean=10.27) であり, 最も少なかったのは腫瘍内小動脈周囲部 (mean=6.62) であった。

HLA-DR(+) 細胞は15例 (19.2%) で検出されなかった。浸潤の部位による差の検討では腫瘍中央部に最も多く (mean=52.72), ついで腫瘍内小動脈周囲部 (mean=37.38) であり, 最も少なかったのは腫瘍—正常組織境界部 (mean=11.42) であった。

各パラメーターの実測値と既存の予後因子との関連を Table 3 に示す。TAM, MVD は, いずれも M0 群に比し M1 群で有意な高値を示したが, T criteria, V criteria では有意差を認めなかった。また grade 3 の7例では TAM, MVD のいずれも他の2群に比し高値を示した。S-100(+) 細胞は grade と V criteria において有意な相関を認めなかったが, high-risk group (high grade, V(+)) で浸潤数が少ない傾向が認められた。HLA-DR(+) 細胞, AI, PI は既存の予後因子との相関を認めなかった。

各パラメーターの実測数の中央値で分けた2群間の生存期間を Kaplan-Meier 法によって検討した結果を Table 4 に示す。TAM ( $p<0.01$ , Fig. 1), MVD ( $p=0.0303$ ), PI ( $p<0.01$ ) はいずれも高値群が予後

Table 4. The survival rate of all the patients using monovariate analysis (Kaplan-Meier method; n=78)

|                | (P value) | (Poor prognostic group) |
|----------------|-----------|-------------------------|
| TAM            | <0.01     | high TAM                |
| MVD            | <0.05     | high MVD                |
| S-100(+) cell  | n.s       |                         |
| HLA-DR(+) cell | n.s       |                         |
| AI             | n.s       |                         |
| PI             | <0.01     | high PI                 |
| M criteria     | <0.01     | M1                      |
| Grade          | <0.05     | high grade              |
| T criteria     | <0.01     | T3/4                    |
| V criteria     | <0.01     | V(+)                    |

不良因子と推定された。対して S-100(+) 細胞, HLA-DR(+) 細胞, AI は予後因子とならなかった。既存の予後因子はいずれも high risk 群が予後不良因子であった。

さらに MVD 低値群に限定した, TAM 浸潤数の予後に対する検討では, 全症例群と同様に, MVD 低値群においても TAM 高値群が有意に予後不良であった (Fig. 2)。

また, M0 群に限定した検討でも, TAM 高値群は有意に予後不良であることが認められた ( $p<0.05$ )。

次に解析した6因子間の相関関係を検討したが, TAM と他の5因子間の関係と, その他のものは有意なものを Table 5 に示す。

Kaplan-Meier 法において有意な予後因子として認められた TAM, MVD, PI は各々が有意に正の相関を示した。TAM と最も強い相関を示したのは MVD ( $r=0.652$ ) であった。対して TAM と PI の

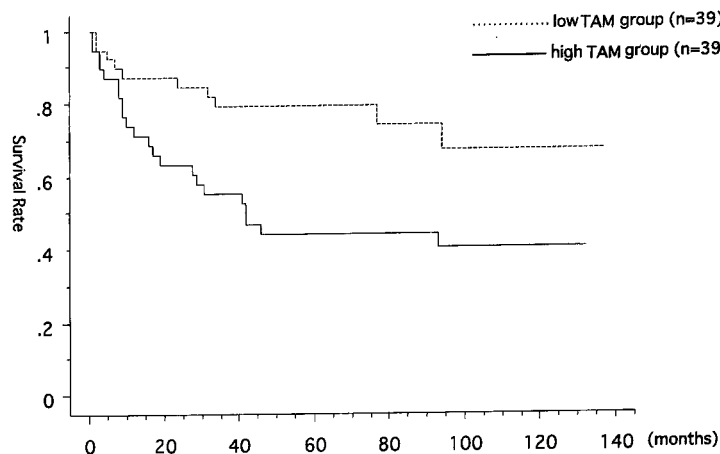


Fig. 1. Survival curves of patients with high and low TAM value in all patients (n=78). Patients with a high TAM value showed a significantly worse survival than those with a low TAM value ( $p<0.01$ ).

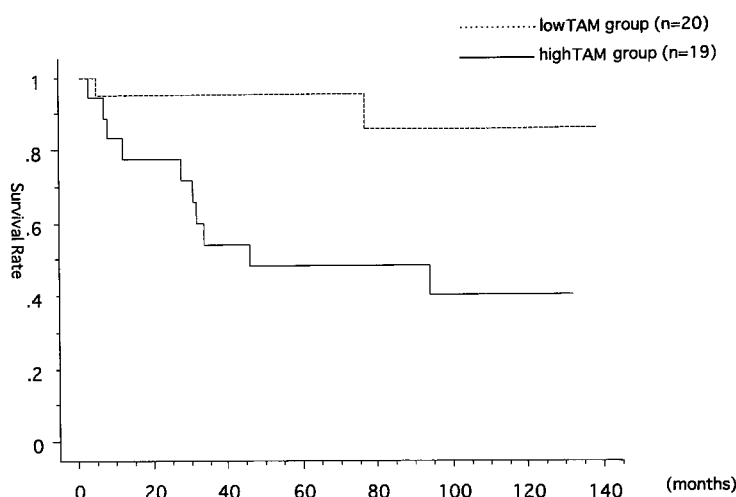


Fig. 2. Survival curves of patients with high and low TAM values in low MVD value patients (n=39). Patients with a high TAM value showed a significantly worse survival than those with a low TAM value ( $p<0.01$ ).

Table 5. Correlation between TAM and other factors examined (n=78)

|                     |           | P value |
|---------------------|-----------|---------|
| TAM: MVD            | $r=0.652$ | $<0.01$ |
| TAM: PI             | $r=0.42$  | $<0.01$ |
| TAM: S-100(+) cell  | $r=-0.01$ | n.s     |
| TAM: HLA-DR(+) cell | $r=0.52$  | $<0.01$ |
| TAM: AI             | $r=0.08$  | n.s     |
| MVD: PI             | $r=0.283$ | $<0.05$ |
| MVD: HLA-DR(+) cell | $r=0.330$ | $<0.01$ |
| PI: HLA-DR(+) cell  | $r=0.253$ | $<0.05$ |
| AI: PI              | $r=0.316$ | $<0.01$ |

相関は TAM と MVD の相関よりも低かった ( $r=0.42$ ). MVD と PI も低い相関 ( $r=0.283$ ) であった. HLA-DR(+) 細胞は Kaplan-Meier 法の結果では、予後に影響していないにもかかわらず TAM

( $r=0.52$ ), MVD ( $r=0.33$ ), PI ( $r=0.025$ ) と有意な正の相関を認めた.

S-100(+) 細胞, HLA-DR(+) 細胞の間に相関関係は認めなかった.

AI は PI とのみ有意な正の相関を示した. また TAM と MVD の相関関係については、既存の予後因子 (M, grade, T, V) 内の細分化した各群のいずれにおいても有意な正の相関関係が認められた.

検討した 6 因子と既存の 4 予後因子を変数とする、生存期間に関する多変量解析を Cox 比例ハザード法によって行ったが、その結果を Table 6 に示す. なお強い正の相関を認めた TAM と MVD は各々分別して検討した. TAM, MVD いずれの検討においても M criteria が最も優位な予後因子 (TAM:  $\chi^2=10.203$ , MVD:  $\chi^2=10.715$ ) であった.

他に有意な予後因子として認められたのは、PI

Table 6. The survival rate of all patients using Cox multivariate logistic regression analyses (n=78)

| Prognostic factor | $\chi^2$ | $\chi^2P$ | Prognostic factor | $\chi^2$ | $\chi^2P$ |
|-------------------|----------|-----------|-------------------|----------|-----------|
| M criteria        | 10.203   | 0.01      | M criteria        | 10.715   | 0.01      |
| PI                | 6.660    | 0.01      | PI                | 8.099    | 0.01      |
| TAM               | 4.624    | 0.05      | MVD               | 4.278    | 0.05      |
| Grade             | 4.423    | n.s       | Grade             | 3.492    | n.s       |
| V criteria        | 2.300    | n.s       | V criteria        | 2.682    | n.s       |
| S100              | 0.941    | n.s       | HLA-DR            | 1.246    | n.s       |
| T criteria        | 0.630    | n.s       | S100              | 1.162    | n.s       |
| AI                | 0.456    | n.s       | T criteria        | 0.893    | n.s       |
| HLA-DR            | 0.063    | n.s       | AI                | 0.768    | n.s       |

(TAM:  $\chi^2=6.660$ , MVD:  $\chi^2=8.099$ ), TAM ( $\chi^2=4.624$ ), MVD ( $\chi^2=4.278$ )であった。それ以外の各因子は予後因子として認めなかった。さらに

TAM については浸潤部位の局在別に、各々の相関関係と生存への影響を検討した。TAM の計測値では腫瘍中央部と腫瘍—正常組織境界部で正の相関 ( $r=0.47$ ) を認めた。しかし腫瘍—正常組織境界部は単変量解析において予後因子とならなかった。TAM の腫瘍中央部と腫瘍内小動脈周囲部間に相関関係は認められなかった。また後者の生存への影響は認められなかった。

S-100(+) 細胞浸潤数, AI のいずれも全例の検討においては、有意な相関関係と認められなかったが、M1 群のみ分別して、両者についてさらに検討すると、S-100(+) 細胞高値群で良好な生存期間となる傾向が認められ (Fig. 3), AI 高値群は有意に良好であることが認められた (Fig. 4)。

なお M1 群での両者の相関ならびに、両者その他の既存の予後因子との関連は認められなかった。

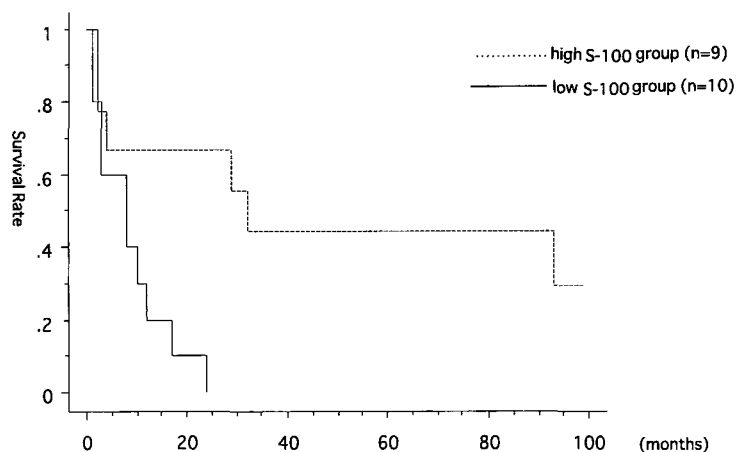


Fig. 3. Survival curves of patients with high and low S-100(+) cell values in M1 group patients (n=19). Patients with a low S-100(+) cell value seemed to show worse survival than those with a S-100(+) cell high group ( $p=0.0554$ ).

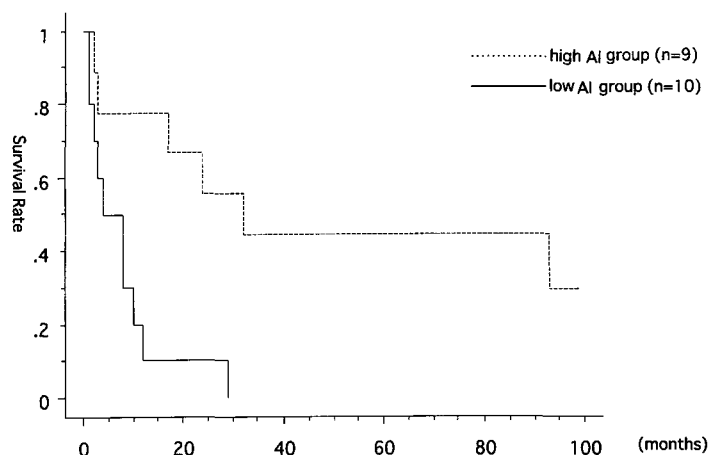


Fig. 4. Survival curves of patients with high and low AI values in M1 group patients (n=19). Patients with a low AI value showed a significantly worse survival than those with a high AI value ( $p<0.05$ ).

## 考 察

今回の検討で、腎細胞癌において TAM 数と MVD が正の相関をすること、ならびに TAM 高値群が予後不良であるとの結果を得た。

このことは乳癌や膀胱癌、子宮内膜癌、肺腺癌の臨床的検討で報告された結果と一致する<sup>4,9-11)</sup> また、メラノーマやグリオーマにおいても TAM と MVD が正の相関を示すことも報告されている<sup>12,13)</sup>

癌細胞の血管新生については、腫瘍産生血管新生促進因子と TAM 産生血管新生促進因子が推定されている。前者については各種のものが報告されている。この前者については腎細胞癌においても各因子が報告されている<sup>14-16)</sup>

一方 TAM 産生血管新生促進因子では一般に VEGF, b-FGF, tumor necrosis factor- $\alpha$ , thymidine phosphorylase が認められている<sup>4,17-19)</sup> しかし腎細胞癌においては TAM 産生血管新生促進因子の解析はなされていない。また、腎細胞癌における TAM と生存率との解析は今回の検討が始めてである。

今回の検討では、TAM と MVD の間に正の相関を認めたが、その相関係数は0.65であり、腎細胞癌における血管新生促進に関しては、腫瘍産生血管新生促進因子と TAM 産生血管新生促進因子の両方がいずれも関与している可能性が示唆された。

TAM の腫瘍内遊走の機序は未だ不明なことが多いが、腫瘍内マクロファージや腫瘍内の微小環境における低酸素刺激により産生が亢進するとされる腫瘍細胞産生性 VEGF が、マクロファージの遊走を促すと考えられている<sup>20)</sup> さらに腫瘍内から放出される monocyte chemotactic protein-1 によって腫瘍内の TAM のレベルが上昇することがラットの melanoma model で認められている<sup>21)</sup>

また interleukin-10 (IL-10) は TAM の腫瘍内遊走抑制因子と推定する報告も認められるが、腎細胞癌における Onishi らの IL-10 が高頻度に癌細胞より産生されているとの報告をあわせると、TAM の遊走に関する機構の解析はさらに検討が必要であると考えられる<sup>22)</sup>

腎細胞癌は IFN, IL-2 などの免疫機構を介した治療法が推奨されているが、一般的に TAM は全身的ならびに腫瘍局所の腫瘍免疫能を抑制すると推定されている。本検討において MVD 低値群内の TAM 高値群が予後不良となる結果が認められたことは、腫瘍内に多数浸潤する TAM が血管新生促進以外の様々な腫瘍を増悪させる機能を有していることを示唆するものと思われる。先の免疫抑制機構もその1つとなる可能性も挙げられる。

既存の予後因子と TAM との関係では、M1 群で

有意に TAM が高値であったが、M0 群間内でも TAM 高値群が有意に予後不良であった点と、多変量解析によって M criteria と TAM 数が独立した予後因子として認められたことの両者から、単なる背景因子のかたよりによって TAM 高値群の生存期間が短期であったものとは考え得ない。

Migita らは胃癌におけるマクロファージの腫瘍内と腫瘍—正常組織境界域での分布を調査し、intestinal type と diffuse type とを比較し、予後良好と考えられる type では TAM が腫瘍内に少なく腫瘍—正常組織境界域に多く分布していたことを報告した<sup>3)</sup>

このことをふまえて、本検討においても腫瘍中央域、腫瘍—正常組織境界域、腫瘍間質内小動脈周囲の3領域におけるマクロファージの浸潤度をおのおのの予後との関連において検討した。

腫瘍中央域と腫瘍—正常組織境界域は正の相関を認めるものの、腫瘍—正常組織境界域、腫瘍内小動脈周囲のマクロファージは MVD との相関も認めず、予後に影響しなかったことは腫瘍—正常組織境界域、腫瘍内小動脈周囲のマクロファージが血管新生能を発揮できないでいる可能性が考えられる。また各々の部分の予後との関連が異なっていることから、各々の局在におけるマクロファージの分化の方向が異なることを示唆するものである可能性も考えられた。

樹状細胞は抗原特異的に T cell を活性化し、免疫応答を誘導する抗原提示細胞であり、免疫ネットワークを統御する細胞として注目されている。

これまで S-100(+) 細胞での免疫組織学的検討で、腫瘍内に局在した樹状細胞の数の増加が直腸癌、肺癌、食道癌、咽頭癌、子宮頸癌で、より良い予後と相関すると報告されている<sup>23-27)</sup> 本検討では S-100(+) 細胞数にて予後との関連を検討したが、全例の検索において S-100(+) 細胞数は予後に影響しなかった。

Troy らは活性化樹状細胞のマーカーとされる CMRF-44(+), CD83(+) 細胞と S-100(+) 細胞との強い相関を認めると報告している<sup>6)</sup> しかしながら8例の腎細胞癌より単離した DC 類縁細胞の CMRF-44(+) 細胞の頻度は低値であるとし、DC の minimal recruitment と腫瘍内における DC の inactivation が存在していることを示唆した。また VEGF や IL-10 が DC の活性化に negative な作用をしている可能性が報告されており、DC が腫瘍内の微小環境の影響を受けていると考えられる<sup>28,29)</sup>。本検討における S-100(+) 細胞の腫瘍内浸潤は、無転移例と有転移例の間で、その数に有意な差を認めないにもかかわらず、有転移例内における S-100(+) 細胞高値群が予後良好因子である可能性が示唆されており、他の癌種と同様に腎細胞癌においても S-100(+) 細胞が

腫瘍抗原提示を介した特異的腫瘍免疫に関与している可能性も推測される。しかしながら本検討の無転移例においては予後との関連を認めなかったことや、有転移例が19例と少数であることから、腎細胞癌腫瘍内樹状細胞の意義についてはさらなる検討が必要である。

以上の結果は、臨床例における腎細胞癌組織内の浸潤性単球系細胞の様態と腫瘍増殖に関与する機能が複雑なメカニズムを有していることを示唆している。今後の治療法の向上を目指すにあたっては、これら腫瘍内単球系細胞の制御が重要なものとなることが考えられた。

最後に、本検討を行うにあたり御指導いただいた、岡田耕市教授ならびに加藤幹雄助教授に深謝します。

## 文 献

- Andreesen R, Hennemann B and Krause SW: Adoptive immunotherapy of cancer using monocyte derived macrophages. *J Leukoc Biol* **64**: 419-426, 1998
- Sunderkotter C, Steinbrink K, Goebeler M, et al.: Macrophage and angiogenesis. *J Leukoc Biol* **55**: 410-422, 1994
- Migita T, Sato E, Saito K, et al.: Differing expression of MMPs-1 and -9 and urokinase receptor between diffuse- and intestinal-type gastric carcinoma. *Int J Cancer* **84**: 74-79, 1999
- Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R, et al.: Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. *Cancer Res* **56**: 4625-4629, 1996
- Weidner N, Semple JP, Welch WR, et al.: Tumor angiogenesis and metastasis correlation in invasive breast carcinoma. *N Engl J Med* **324**: 1-8, 1991
- Troy AJ, Summers KL, Davidson PJT, et al.: Minimal recruitment and activation of dendritic cells within renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* **4**: 585-593, 1998
- Gerdes J, Schwab U and Lemke H: Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* **31**: 13-20, 1983
- Gavrieli Y, Sherman Y and Ben-Sasson SA: Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J Cell Biol* **19**: 493-501, 1992
- Hanada T, Nakagawa M, Emoto I, et al.: Prognostic value of tumor-associated macrophage count in human bladder cancer. *Int J Urol* **7**: 263-269, 2000
- Salvesen HB and Akslen LA: Significance of tumour-associated macrophages, vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1 expression for tumour angiogenesis and prognosis in endometrial carcinomas. *Int J Cancer* **84**: 539-543, 1999
- Takanami I, Takeuchi K and Kodaira S: Tumor-associated macrophage infiltration in pulmonary adenocarcinoma: association with angiogenesis and poor prognosis. *Oncology* **57**: 138-142, 1999
- Nishie A, Ono M, Shono T, et al.: Macrophage infiltration and hemo oxygenase-1 expression correlate with angiogenesis in human gliomas. *Clin Cancer Res* **5**: 1107-1113, 1999
- Toritsu H, Ono M, Kiryu H, et al.: Macrophage infiltration correlates with tumor stage and angiogenesis in human malignant melanoma: possible involvement of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\alpha$ . *Int J Cancer* **85**: 182-185, 2000
- Wechsel HW, Feil G, Bichler T, et al.: Serologic angiogenesis factor and microvascular density in renal cell carcinoma: two independent parameter. *Anticancer Res* **6**: 5117-5120, 2000
- Slaton JW, Inoue K, Perrotte P, et al.: Expression levels of genes that regulate metastasis and angiogenesis correlate with advanced pathological stage of renal cell carcinoma. *Am J Pathol* **158**: 735-743, 2001
- Nakagawa M, Emoto A, Hanada T, et al.: Tubulogenesis by microvascular endothelial cells is mediated by vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal cell carcinoma. *Br J Urol* **79**: 681-687, 1997
- Baird A, Mormede P and Bohlen P: Immunoreactive fibroblast growth factor in cells of peritoneal exudate suggests its identity with macrophage-derived growth factor. *Biochem Biophys Res Commun* **126**: 358-364, 1985
- Pusztai L, Clover LM, Cooper K, et al.: Expression of tumor necrosis factor alpha and its receptors in carcinoma of breast. *Br J Cancer* **70**: 289-292, 1999
- Toi M, Ueno T, Matsumoto H, et al.: Significance of thymidine phosphorylase as a marker of pro-tumor monocytes in breast cancer. *Clin Cancer Res* **5**: 1131-1137, 1999
- Clauss M, Gerlach M, Gerlach H, et al.: Vascular permeability factor: a tumor-derived polypeptide that induces endothelial cell and monocyte procoagulant activity, and promotes monocyte migration. *J Exp Med* **172**: 1535-1545, 1990
- Bottazzi B, Walter S, Govoni D, et al.: Monocyte chemotactic cytokine gene transfer modulates macrophage infiltration, growth, and susceptibility to IL-2 therapy of a murine melanoma. *J Immunol* **148**: 1280-1285, 1992
- Onishi Y, Ohishi K, Imagawa Y, et al.: An assessment of the immunological environment based on intratumoral cytokine production in renal cell carcinoma. *BJU Int* **83**: 488-492, 1999
- Ambe K, Mori K and Enjoji M: S-100 protein-positive dendritic cells in colorectal adenocarcinoma.

- mas: distribution and relation to the clinical prognosis. *Cancer* **63**: 496-503, 1989
- 24) Miyake M, Taki T, Hitomi S, et al.: Correlation of expression of H/Le(y)/Le(b) antigens with survival in patients with carcinoma of the lung. *N Eng J Med* **327**: 14-18, 1992
- 25) Matsuda H, Mori M, Tsujitani S, et al.: Immunohistochemical evaluation of squamous cell carcinoma antigen and S-100 protein-positive cells in human malignant esophageal tissue. *Cancer* **65**: 2261-2265, 1990
- 26) Nomori H, Watanabe S, Kaneya T, et al.: Histiocytes in nasopharyngeal carcinoma in relation to prognosis. *Cancer* **57**: 100-105, 1986
- 27) Nakano T, Oka K, Arai T, et al.: Prognostic significance of Langerhans' cell infiltration in radiation therapy for squamous cell carcinoma of uterine cervix. *Arch Pathol Lab Med* **113**: 507-511, 1989
- 28) Saito H, Tsujitani S, Ikeguchi M, et al.: Relationship between the expression of vascular endothelial growth factor and the density of dendritic cells in gastric adenocarcinoma tissue. *Br J Cancer* **78**: 1573-1577, 1989
- 29) Sharma S, Stolina M, Lin Y, et al.: T cell-derived IL-10 promotes lung cancer growth by suppressing both T cell and APC function. *J Immunol* **163**: 5020-5028, 1999

(Received on November 22, 2001)

(Accepted on February 27, 2002)

(迅速掲載)