

腎細胞癌の免疫組織化学的研究

第1編 腎癌細胞の細胞骨格に関する免疫組織学的研究

—中間径フィラメントを中心に—

筑波大学附属病院泌尿器科 (主任：小磯謙吉教授)	飯	泉	達	夫
帝京大学医学部泌尿器科 (主任：和久正良教授)	矢	崎	恒	忠
筑波大学臨床医学系泌尿器科 (主任：小磯謙吉教授)	加	納	勝	利
	小	磯	謙	吉
筑波大学臨床医学系内科 (主任：東條静夫教授)	小	山	哲	夫
	東	條	静	夫

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF RENAL CELL CARCINOMA

I. Immunohistochemical Studies on the Cell Skeleton in Human Renal Cell Carcinoma
with Special Emphasis on Intermediate Filaments

Tatsuo Iizumi

Department of Urology, Tsukuba University Hospital
(Director: Prof. K. Koiso)

Tsunetada Yazaki

Department of Urology, School of Medicine, Teikyo University
(Director: Prof. M. Waku)

Shori Kanoh and Kenkichi Koiso

Department of Urology, Institute of Clinical Medicine, The University of Tsukuba
(Director: Prof. K. Koiso)

Akio Koyama and Shizuo Tojo

Department of Internal Medicine, Institute of Clinical Medicine, The University of Tsukuba
(Director: Prof. S. Tojo)

腎細胞癌の免疫組織化学的研究

第1編 腎癌細胞の細胞骨格に関する免疫組織学的研究

—中間径フィラメントを中心に—

筑波大学附属病院泌尿器科 (主任: 小磯謙吉教授)	飯	泉	達	夫
帝京大学医学部泌尿器科 (主任: 和久正良教授)	矢	崎	恒	忠
筑波大学臨床医学系泌尿器科 (主任: 小磯謙吉教授)	加	納	勝	利
筑波大学臨床医学系内科 (主任: 東條静夫教授)	小	山	哲	夫
	東	條	静	夫

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF RENAL CELL CARCINOMA

I. Immunohistochemical Studies on the Cell Skeleton in Human Renal Cell Carcinoma with Special Emphasis on Intermediate Filaments

Tatsuo Iizumi

Department of Urology, Tsukuba University Hospital

(Director: Prof. K. Koiso)

Tsunetada Yazaki

Department of Urology, School of Medicine, Teikyo University

(Director: Prof. M. Waku)

Shori Kanoh and Kenkichi Koiso

Department of Urology, Institute of Clinical Medicine, The University of Tsukuba

(Director: Prof. K. Koiso)

Akio Koyama and Shizuo Tojo

Department of Internal Medicine, Institute of Clinical Medicine, The University of Tsukuba

(Director: Prof. S. Tojo)

Specimens obtained from 20 cases of human renal cell carcinomas were studied by immunofluorescence technique using monoclonal antibodies against intermediate filaments of cytokeratin and vimentin to detect the potential malignancy.

1) Cytokeratin has been demonstrated to localize in the tubular epithelia, while vimentin was found in interstitial cells in normal kidneys.

2) Anti-cytokeratin polypeptide of monoclonal type reacted with human renal carcinoma cells in 65%. However, anti-vimentin antibody was found in 75% of cancer cells and 65% of interstitial cells.

3) It was found that the more the degree of grading and invasiveness proceeded, the frequencies of these filaments became less prominent.

4) From the present study it is assumed that the demonstration of epithelial type of intermediate filaments would be a hallmark of progression and differentiation in human renal cell carcinoma.

要旨: ヒト腎細胞癌20症例よりえられた組織を対象としてその細胞骨格のうち, 中間径フィラメント蛋白質(サイトケラチン, ビメンチン)についてモノクローナル抗体を用いる蛍光抗体法により検討を行い以下の結果をえた。

- 1) 正常腎組織ではサイトケラチンは尿細管上皮細胞に、ビメンチンは間質細胞に認められた。
- 2) ヒト腎細胞癌の中間径フィラメントではサイトケラチンは癌細胞に65%、ビメンチンは癌細胞に75%、間質細胞に65%証明された。
- 3) サイトケラチンは腎癌細胞の異型度、浸潤度が進むにつれてその出現頻度が低下し統計学的に有意であった。
- 4) 以上より中間径フィラメントは腎癌細胞の分化と進展を推定する上で有力な指標であると考えられた。

緒 言

腎細胞癌は泌尿器悪性腫瘍のうちで最も予後の悪いものの一つである。この悪性腫瘍を克服すべく種々の治療法が開発されているが、現時点では外科的切除以外有効な治療法がない。その予後を左右する因子については各方面の研究者によって種々検討されているが、病期 (stage) や病理組織学的特徴が重要視されている^{1)~5)}。

しかし、これらのパラメーターも腫瘍のもつ heterogeneity に差があり、同一の組織像をしていても必ずしも同一の臨床経過を示さないことがある⁶⁾⁷⁾。そこで、この問題解決の糸口として近年細胞生物学の分野で注目をあびている細胞骨格 (cytoskeleton) をとりあげた。細胞骨格とは細胞の構造を支持する細胞質の要素である。すなわち、細胞一個一個の特徴的な外形や内部器官の分布、配列などの形態的、機能的極性を支持する仕組みの総称である。

この細胞骨格の構成要素には、①微小管 (microtubule)、②ミクロフィラメント (microfilament)、③中間径フィラメント (intermediate filament 以後 IMF と省略) の三種類の線維性構造がよく知られている⁸⁾⁹⁾。本研究ではこれらの細胞骨格のうちで変動の著しいとされる中間径フィラメントをとりあげた。中間径フィラメントには種々の存在が知られているが、モノクローナル抗体の使用可能なサイトケラチン、ビメンチンの存在につき腎癌細胞を中心に免疫組織化学的に検討し、この面より腎細胞癌の特徴を把握せんと試み、若干の知見をえたので報告する。

研究対象および方法

1. 腎細胞癌組織および正常腎組織

1982年12月より1985年3月までに筑波大学附属病院泌尿器科に入院し、腎細胞癌と診断され、根治的腎摘除術をうけた20症例の摘除腎 (腎細胞癌組織) を研究対象とした。その病理組織学的所見を「腎癌取扱い規約」に従って分類すると表1に示す如くである¹⁰⁾。肺、骨転移を有する症例 No. 20より転移腎細胞癌組織

表1 Histological findings of primary renal cell carcinoma

case	organization	cell type	grade	stage
1*	alv.	C	G1	T ₂ N ₀ M ₀
2	alv.	C	G1	T ₂ N ₀ M ₀
3	alv.	C > D	G1	T ₃ N ₀ M ₀
4	papil.	D	G1	T ₃ N ₀ M ₀
5	alv. + papil.	D	G1	T ₂ N ₀ M ₀
6	alv.	C	G1	T ₂ N ₀ M ₀
7	alv.	D > C	G1 > G2	T ₂ N ₀ M ₀
8*	alv.	C	G1	T ₂ N ₀ M ₀
9	alv.	C > D	G1	T ₂ N ₀ M ₀
10	alv.	C	G1	T ₂ N ₀ M ₀
11	alv.	D	G1 > G2	T ₃ N ₂ M ₀
12	alv.	C	G1	T ₂ N _x M ₁
13	alv.	C > D	G1	T ₂ N ₀ M ₀
14	alv.	C	G1	T ₂ N _x M ₁
15*	alv. + papil.	D > C	G2 > G1	T ₃ N ₀ M ₀
16*	alv.	C	G1	T ₂ N ₀ M ₀
17	alv.	C	G1 = G2	T ₂ N _x M ₁
18	papil.	D > C	G1	T ₃ N ₁ M ₀
19	alv.	C	G1	T ₃ N ₀ M ₀
20	alv.	C	G1 = G2	T ₃ N _x M ₁

alv. = alveolar type, papil. = papillary type

C = clear, D = dark

* indicates case with postoperative metastases

をえた。正常腎組織は摘除腎のなかで病巣より離れた部位より得た。

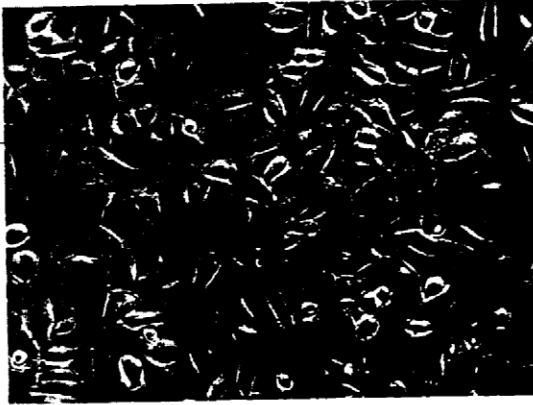
2. ノドマウス移植腎細胞癌由来組織

1) 腎細胞癌由来細胞株 TSU-R1 の樹立

症例8の腎摘後すみやかに、かつ無菌的に腫瘍組織約1gを得、合成培地 DM-160 (種東製薬工業、東京) に仔牛胎児血清を全体の20%となる様に加えた増殖培地にひたして培養室まで運搬した。クリーンベンチ内において組織を0.01Mリン酸緩衝食塩水 (以後PBSと略す) pH 7.4及び0.02% ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA) pH 7.4にて十分に洗浄した後、滅菌プラスチックシャーレに0.25%トリプシン液3mlを加え、その中で組織を約30分間メスで細切した。組織片

および残液を滅菌試験管に移し、増殖培地を7ml 加え、1分間静置した後、上清をさらに遠沈管に移し、300 rpm で1分間遠沈した。この上清を3ないし4個の培養フラスコに分注し、増殖培地を加えて培養した。線維芽細胞の混入は比較的少なかったが、上皮様細胞が島状に増殖した時点でその部位のみをラバーポリスマンで剝離させ、別のフラスコで培養した。これらの操作の約2カ月後には癌細胞の増殖能が活発になった。

図1 Phase-contrast microscopic finding of cultured TSU-R1 cells.



その後1ないし2週に1度ずつ継代を続け、現在までにすでに60代を経過した。この腎細胞癌由来細胞株に対し、我々は TSU-R1 と命名した。図1は継代数50代における TSU-R1 の倒立顕微鏡写真であるが、この時点において染色体分析を施行したところ、染色体数は75から85の range をもつ低四倍体で、mode number は80であった。トリプシン-ギムザ分染色による核型分析の結果、染色体数85の細胞は図2の如く $i(1q)$, $i(1p)$, $3q^-$, $i(7p)$, $11p^+$, $16p^+$ の構造異常の染色体に加え、16個の marker chromosome を有していた。また、同継代数での増殖倍加時間は48時間であった。

2) TSU-R1 ヌードマウス移植組織

TSU-R1 を0.25%トリプシン液を用いて培養フラスコより遊離させ、培地を加えた後遠沈管に移し1,000 rpm 5分間遠沈した。沈渣を1mlの注射器に吸引し、生細胞数 1×10^6 個分をヌードマウス (BALB/C nu/nu) の背部皮下に注入した。注入後1から2カ月して直径2cm以上に増殖した腫瘍よりヌードマウス移植組織を得た。ヌードマウス移植腫瘍は継代数10代及び50代の時点で作成し、組織を得た。その組織像を症例8の組織像と共に図3, 4a, 4b に示したが、10代の時点での移植腫瘍は50代に比べ明るい胞体を有する細胞

図2 Karyotype of TSU-R1 cells.

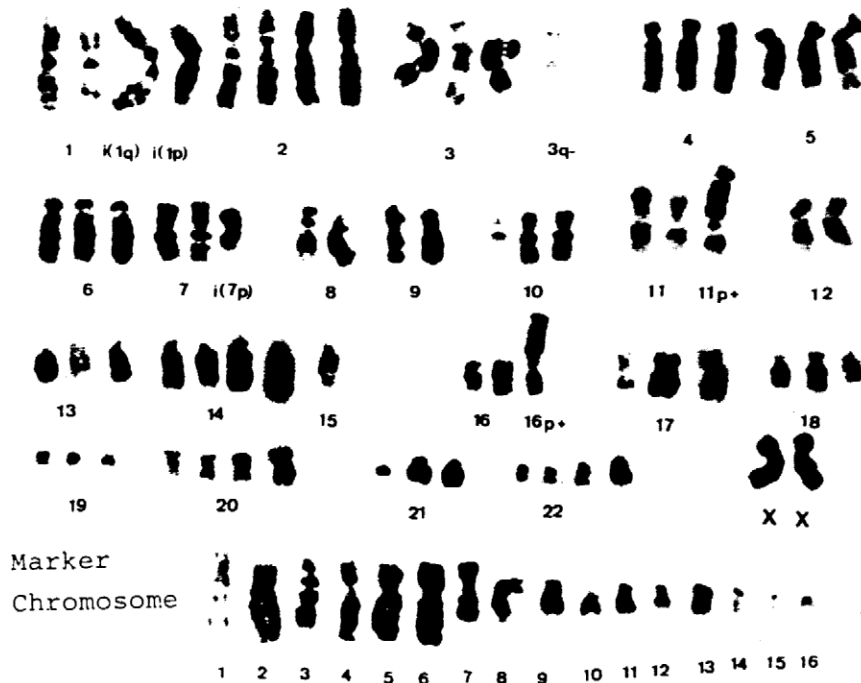
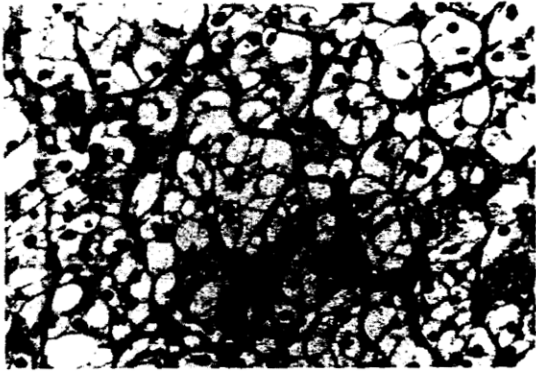


図3 Histological finding of the primary renal cell carcinoma in case 8.



が多く、由来組織の clear cell type により近い像を呈しており、50代の腫瘍細胞はかなり分化の程度が低かった。

3. 腎細胞癌組織の処理

各組織は切除後ただちに1cm角に細切し、これをアセトンドライアイス中にてヘキサソ固定した。固定凍結された組織をクライオスタットにて厚さ2 μ に薄切し、封緘した後-20 $^{\circ}$ Cに保存した。

4. 抗体の選定と間接蛍光抗体法

IMFに対するIMF抗体はLabsystem社(Helsinki, Finland)の抗サイトケラチン・モノクローナル抗体(PKK1)および抗ビメンチン・モノクローナル抗体を使用した。二次抗体としてCappel社(Malvern, U.S.A.)のFITCラベルウサギ抗マウスIgG抗体を用いた。

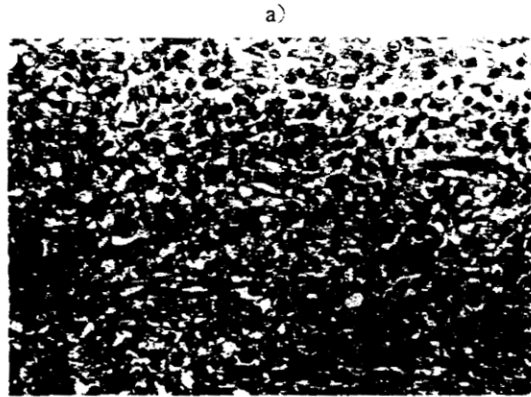
これらモノクローナル抗体を用いての蛍光抗体法の実施にあたっては先ず、非特異反応を減じる目的にて1%の割合でウシ血清アルブミンおよび0.1%の割合でTween-80を含んだ0.01M PBS, pH7.2にすでに述べた方法で作製した薄切切片を浸し水かささせた。次に湿箱において切片を一次抗体である抗サイトケラチンまたは抗ビメンチン抗体と30分反応させたのちPBSで洗滌し、再び二次抗体である抗マウスIgG抗体を湿箱中で30分反応させ、PBSで洗滌後、蛍光顕微鏡下で観察した。

5. 蛍光抗体法とその成績判定

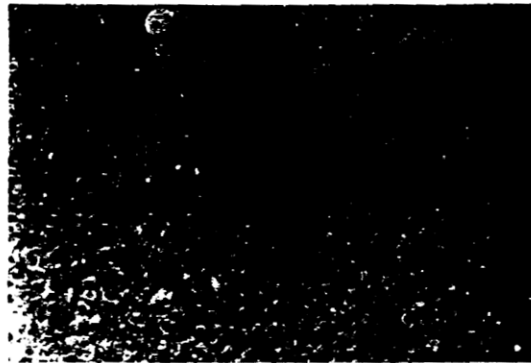
蛍光染色の判定は陰性、陽性の二段階に分けて分類した。

蛍光の特異性に関しては、二次抗体としてFITCラベルウサギIgG抗体(Cappel社, Malvern, U.S.A.)

図4 Histological findings of the tumors of TSU-R1 cells transplanted to nude mice at the a) 10th passage, showing relatively clear cells, and b) 50th passage.



b)



を反応させた切片および一次抗体の代わりに正常マウス血清を反応させた切片の二種類のコントロール標本と対比することにより検討を行った。

6. 統計学的観察

サイトケラチン、ビメンチンの出現頻度に関する統計学的検討は χ^2 (c)検定で行った。

成 績

1. 正常腎組織における細胞骨格

抗サイトケラチン抗体は、近位および遠位尿管管の上皮細胞辺縁とのみ反応し、糸球体および間質組織とは全く反応しなかった(図5a)。抗ビメンチン抗体は、糸球体においてメサンジウム領域、係蹄壁も反応し、特徴的な染色様式を示すとともに、間質組織にも弱い反応が認められた(図5b)。しかし、近位および遠位尿管管上皮細胞との間に反応は認められなかった(表2)。

図5 Immunofluorescence findings of normal kidney tissues with antibodies to intermediate filaments. a) Cytokeratin is observed in only proximal and distal tubules. b) Vimentin shows peculiar distribution in glomeruli and interstitial tissue.

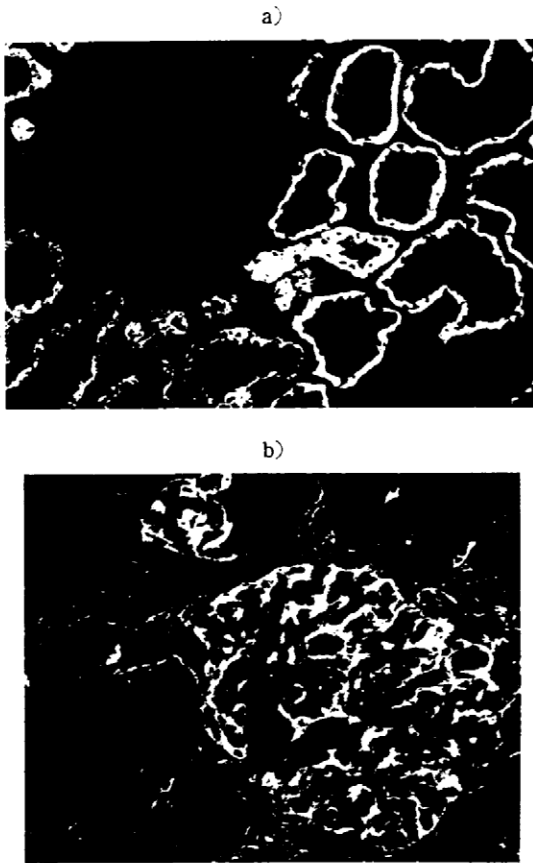


表2 正常腎組織における中間径フィラメント蛋白質

	糸球体	近位尿管	遠位尿管	間質組織
サイトケラチン	—	—	—	—
ビメンチン	—	—	—	二

2. 腎細胞癌組織における細胞骨格, IMF

i) 腎細胞癌組織における中間径フィラメント
 まず腎細胞癌組織における中間径フィラメントの出現頻度をサイトケラチン, ビメンチンについて検討した。結果を表3に示す。

— サイトケラチンは20例中13例(65%)と癌細胞辺縁に高頻度で認められた。しかし、間質組織には全く認められなかった。これは統計学的に有意であった。—

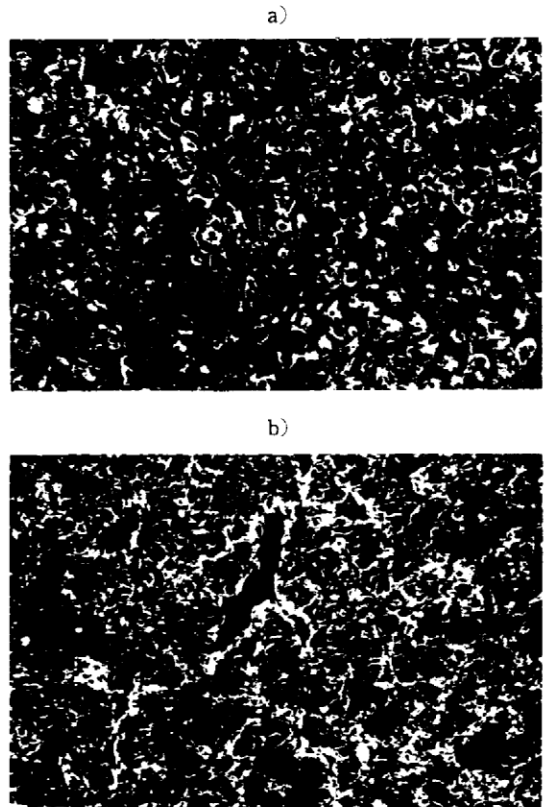
表3 腎癌組織における中間径フィラメント出現頻度 (N=20)

	癌細胞	間質組織
サイトケラチン*	13	0
—	7	20
ビメンチン**	15	13
—	5	7

*: $\chi^2(c)=19.25, p<0.01$

** : n.s.

図6 Primary renal cell carcinoma stained with antibodies to intermediate filaments. a) Cytokeratin distributes at the cell peripheries of carcinoma cells. b) Anti-vimentin reacts with both carcinoma cells and stromal tissue.



方、ビメンチンであるが、癌細胞では20例中15例(75%)、間質組織では20例中13例(65%)に認められた。これらの所見を図6(a, b)に示す。

ii) 細胞型と中間径フィラメント蛋白質との関係(表4)。

腎細胞癌の細胞型とIMF蛋白質との関係について検討した。

表4 細胞型と腎癌細胞中間径フィラメント蛋白質

	明細胞	暗細胞	混合型
サイトケラチン*	9	1	3
ビメンチン**	2	2	3
+	10	1	4
-	1	2	2

*, **; n.s.

表5 分化度と腎癌細胞中間径フィラメント蛋白質

	分化度	
	G1	G2(G1+G2)
サイトケラチン*	12	1
+	3	4
ビメンチン**	12	3
-	3	2

*; $\chi^2(c)=5.93$, $p<0.02$

**; n.s.

表6 T分類と腎癌細胞中間径フィラメント蛋白質

	T分類	
	T2	T3
サイトケラチン*	11	2
+	2	5
ビメンチン**	10	5
-	3	2

*; $\chi^2(c)=6.28$, $p<0.02$

**; n.s.

サイトケラチンに関しては明細胞型11例中9例が、暗細胞型3例中1例、混合型では6例中3例が陽性を示した。一方、ビメンチンについても明細胞型11例中10例が陽性を示した。暗細胞型は3例中1例、混合型でも6例中4例が陽性であった。

iii) 分化度と中間径フィラメント蛋白質との関係(表5)

腎癌細胞の分化度(G1, G2)とIMF蛋白質との関係についてG1 15例, G2 (G1+G2) 5例につき検討した。

サイトケラチン陽性はG1で15例中12例, G2で5例中1例であり、これは統計学的に有意であった。

ビメンチンについて検討するとG1ではケラチンと全く同じ傾向で15例中12例が陽性, G2では5例中3例が陽性であった。

iv) T分類と中間径フィラメント蛋白質との関係(表6)

T₂ 13例, T₃ 7例について観察した。その結果、サ

イトケラチンはT₂ 13例中11例, T₃ 7例中2例に陽性であり、統計学上有意であった。

ビメンチンはT₂ 13例中10例, T₃ 7例中5例に陽性を示した。

3. 腎細胞癌転移組織における細胞骨格

抗サイトケラチン抗体との反応はおおむね陽性であったが原発巣に比してやや弱く、所々に蛍光が認められない部位も存在した。

抗ビメンチン抗体の局在は原発巣とはほぼ同様で、腫瘍細胞および間質に蛍光が認められた。これらの傾向は転移巣別(肺・骨)の差異は認められなかった。

4. TSU-R1ヌードマウス移植組織における細胞骨格

抗サイトケラチン抗体は腫瘍細胞にのみ存在し、抗ビメンチン抗体は腫瘍細胞・間質両者に認められた。

考 案

細胞骨格の中で中間径フィラメントは直径が7~11 nmのフィラメント構造物で、マイクロフィラメント(直径6nm)と微小管(マイクロチューブル直径25nm)の丁度中間を示す太さをもつのでこの名称がある。中間径フィラメントはその抗原性、溶解性、サブユニットの数や大きさなどより現時点では以下の5つに分類される。

(1) ケラチン系フィラメント(トノフィラメント, プレケラチン, サイトケラチン): 分子量42~65K。上皮性細胞に多い。

(2) ビメンチン: 分子量57Kを示す。間葉系細胞に多い。

(3) ニューロフィラメント: 神経系細胞に特徴的である。分子量68K, 145K, 220Kなど。

(4) グリアフィラメント(GFAP): グリア細胞に多い。分子量57K。

(5) デスミン(スケレチン): 分子量53K。筋細胞に多く認められる¹¹⁾⁻¹⁴⁾。

上皮細胞由来と考えられる腎癌細胞を今回の研究で対象としたので、中間径フィラメントとしてサイトケラチンを主として考慮し、間質細胞の面よりビメンチンを取りあげた。

研究方法としては免疫学的手法を用い、市販のサイトケラチン、ビメンチンに対するモノクローナル抗体による検討を行った。

正常腎組織について先ずこれらの分布を検討するとサイトケラチンは糸球体、間質には認められず尿管に認められた。一方ビメンチンは間質細胞に認められ

るといわれる如く尿細管には認められず、糸球体、間質に観察されている¹⁵⁾¹⁶⁾。

腎癌組織全体についてこれを観察すると、サイトケラチンは癌細胞に多く認められ、間質(細胞)には認められなかった。一方、ビメンチンは間質(細胞)には無論であるが、癌細胞そのものにも認められている。従来の成績ではサイトケラチンは腎癌細胞には認められないとしている¹⁷⁾¹⁸⁾。しかし、最近の Hölthöfer らの成績では腎癌細胞に93%の割合で高率に認められている¹⁹⁾。この点に関し殆んど相反する成績であるが、両者の論文を精読すると、前者は組織のホルマリン固定、後者は標本を採取後直ちに検査を行っている点であり、我々も後者と同じ方法をとっている。恐らくはホルマリン固定によって中間径フィラメント抗原蛋白の抗原性に変化が起り、この様な結果になったものと推定される。

ビメンチンは正常腎組織では間質に多く認められているが Osborn らの成績¹⁴⁾では腎癌細胞でも約半数に抗原性が認められるという。今回の我々の成績も75%に認められており、中間径フィラメントの蛋白質の抗原性の変化が考えられる。

腎癌の細胞型と中間径フィラメントの関係であるが、明細胞ではサイトケラチン、ビメンチンともその検出率が高い傾向を示したが、組織学的にも臨床経過上もこれらの間に差はなかった。一方、分化度に関してはG1でサイトケラチンの検出率が高く、G2では低い傾向を示した。ビメンチンではG1に陽性率が高かったが、G2ではその差を明らかにしえなかった。このことは腎癌細胞の中間径フィラメント蛋白質の合成が、異型度が高度になるに従って低下するのではないかということを示唆する重大な所見であると考えられる。従来までこの様な検討はなされておらず、参考とする成績がないので、比較検討出来ないが、今後のより一層の検討を続けこの点を明らかにしたいと考えている。

T分類は細胞群としての局所浸潤の指標であるので、これについても検討した。浸潤が低いとサイトケラチンの検出率が高く、浸潤が進むとこの傾向が失われていく如くである。これに関しても上記の grade (分化度)と同じ考え方があてはまると考えられる。

次に腎癌の転移巣及びヌードマウス移植腎癌細胞についての検討についてふれた。今回の検討ではこれらの組織でもサイトケラチン、ビメンチン共にその存在が認められた。これは Osborn らの成績¹⁴⁾と同じで

ある。また Ramaeker からも培養細胞、体腔液中悪性細胞で同様の所見をえており、転移などの条件が必ずしもこの蛋白合成を変化させないと推定される¹⁹⁾。

以上、腎細胞癌の中間径フィラメントについての検討結果について考察をのべたが、臨床面よりしてこの成績が直ちに腎癌の予後規定因子として利用出来るか否か尚検討を要する。とくに今後の患者の予後、生存率などの面よりの検討が必要であろう。しかし細胞のオルガネラを支える細胞骨格としての中間径フィラメントの動向は腎細胞癌の分化と進展の上で重要な意義を有しており、これら細胞動態を規制する因子としてその変化を検討することは腎細胞癌の臨床にとって有力な情報を提供するものと考えられる²⁰⁾。

結 語

腎細胞癌20症例の組織を対象としてその細胞骨格の中、中間径フィラメントについてモノクローナル抗体を用い蛍光抗体法により、中間径フィラメント蛋白質(サイトケラチン、ビメンチン)の同定を行い以下の結果をえた。

- 1) 正常腎組織の中間径フィラメントでは、サイトケラチンは尿細管に、ビメンチンは間質に認められた。
- 2) 腎細胞癌の中間径フィラメントでは、サイトケラチンは癌細胞に65%、ビメンチンは癌細胞に75%、間質細胞に65%証明された。
- 3) サイトケラチンは、分化度、浸潤度が進むにつれてその出現頻度が低下し、これは統計学的に有意であった。
- 4) 以上より中間径フィラメントは腎癌細胞の分化と進展を推定する上で有力な指標であると考えられた。

稿を終るにあたり染色体分析に於て多大なる御指導、御協力を賜った本学基礎医学系人類遺伝学近藤郁子先生に深謝いたします。

本論文の一部は第73回日本泌尿器科学会総会(徳島1984)、第43回日本癌学会総会(福岡1984)、第27回日本腎臓学会総会(東京1984)において発表した。なお、本研究は、

- 1) 昭和58年度筑波大学学内プロジェクト一般研究助成
 - 2) 昭和58年度財団法人ガン集学的治療研究財団助成
- により行われたものである。記して感謝の意を表します。

文 献

- 1) Robson, C.J., Churchill, B.M. and Anderson, W.: The results of radical nephrectomy for renal cell carcinoma. *J. Urol.* 101, 297-301, 1969.
- 2) Skinner, D.G., Colvin, R.B., Vermillion, R.C. and Leadbetter, W.F.: Diagnosis and management

- of renal cell carcinoma. A clinical and pathological study of 309 cases. *Cancer*, 28, 1165-1177, 1971.
- 3) McNichols, D.W., Segura, J.W. and DeWeerd, J. H.: Renal cell carcinoma: Long-term survival and late recurrence. *J. Urol.*, 126, 17-23, 1981.
 - 4) 里見佳昭, 高井修道, 近藤猪一郎, 岩崎孝史, 吉邑貞夫, 福島修司, 古畑哲彦, 石塚栄一: 腎細胞癌の stage 及び grade と予後. *日泌尿会誌*, 72, 278-287, 1981.
 - 5) 阿曾佳郎, 小磯謙吉, 岡田清己, 星野嘉伸, 村橋 勲: 予後からみた腎癌手術と化学療法および放射線療法の評価. *日泌尿会誌*, 65, 209-217, 1974.
 - 6) 小磯謙吉, 加納勝利, 林正健二, 根本良介, 石川博通, 石川 悟, 飯泉達夫, 内田克紀, 野口良輔: 老年者の腎癌, 膀胱癌, 老人科診療, 6, 257-261, 1985.
 - 7) 増田富士男: 腎細胞癌の治療成績を左右する因子—とくに宿主側, 腫瘍側の因子について. *日泌尿会誌*, 76, 904-912, 1985.
 - 8) 横山和仁: II. 細胞骨格: 10nm フィラメント(中間径フィラメント). *蛋白質核酸酵素*, 28, 671-678, 1983.
 - 9) 柄崎脩一: 癌化と細胞骨格. *蛋白質核酸酵素*, 28, 774-788, 1983.
 - 10) 日本泌尿器科学会, 日本病理学会, 日本放射線学会: 腎癌取扱い規約. 第1版, 金原出版, 東京, 1983.
 - 11) Altmannsberger, M., Osborn, M., Schauer, A. and Weber, K.: Antibodies to different intermediate filament proteins: Cell-specific markers on paraffin embedded human tissue. *Lab. Invest.*, 45, 427-434, 1981.
 - 12) Moll, R., Franke, W.W., Schikler, D.L., Geiger, B. and Krepler, R.: The catalogue of human cytokeratin polypeptides: pattern of expression of cytokeratins in normal epithelia, tumors and cultured cells. *Cell*, 31, 11-24, 1982.
 - 13) Gabbiani, G., Kapanci, Y., Barazzone, P. and Franke, W.W.: Immunohistochemical identification of intermediate-sized filaments in human neoplastic cells. *Am. J. Pathol.*, 104, 206-216, 1981.
 - 14) Osborn, M. and Weber, K.: Tumor diagnosis by intermediate filament typing: A novel tool for surgical pathology. *Lab. Invest.*, 48, 372-394, 1983.
 - 15) Franke, W.W., Schmid, E., Osborn, M. and Weber, K.: Different intermediate-sized filaments distinguished by immunofluorescence microscopy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 75, 5034-5038, 1978.
 - 16) Franke, W.W., Schmid, E., Osborn, M. and Weber, K.: Intermediate-sized filaments of human endothelial cells. *J. Cell. Biol.*, 81, 570-580, 1979.
 - 17) Ramaeker, F.C.S., Puts, J.J.G., Kant, A., Moesker, O., Jap, P.H.K. and Vooijs, G.P.: Use of antibodies to intermediate filaments in the characterization of human tumors. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.*, 46, 331-339, 1981.
 - 18) Ramaeker, F.C.S., Haag, D., Kant, A., Moesker, O., Jap, P.H.K. and Vooijs, G.P.: Coexpression of keratin and vimentin-type intermediate filaments in human metastatic carcinoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 80, 2618-2622, 1983.
 - 19) Hölthöfer, H., Miettinen, A., Paaivuo, R., Lehto, V.P., Linder, E., Alfthan, O. and Virtanen, I.: Cellular origin and differentiation of renal cell carcinomas. A fluorescence microscopic study with kidney-specific antibodies, anti-intermediate filament antibodies, and lectins. *Lab. Invest.*, 49, 317-326, 1983.
 - 20) Schlegel, R., Banks-Schegel, S. and Pinkus, G. S.: Immunohistochemical localisation of keratin in normal human tissues. *Lab. Invest.*, 42, 91-96, 1980.

(1985年11月11日受付, 特別掲載)