

実験的膀胱腫瘍に対するビタミンEの 抗腫瘍効果に関する研究

杏林大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 千野一郎教授)

工藤 潔, 諏訪 純二

INHIBITORY EFFECT OF VITAMIN E ON RATS WITH BLADDER TUMORS INDUCED BY N-BUTYL-N-(4-HYDROXYBUTYL) NITROSAMINE

Kiyoshi Kudo and Junji Suwa

From the Department of Urology, Kyorin University School of Medicine

The anticancer activity of vitamin E may involve its functions as an antioxidant free radical scavenger, and immunomodulator. We studied the effect of vitamin E on rats with bladder tumors induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN). Three-week-old male Wistar rats were given a diet containing 0 (A), 2 mg (B: control), 40 mg (C), and 60 mg (D) of vitamin E per 100 g of food, respectively, until they were 30 weeks old. The carcinogen, 0.05% BBN was given in drinking water to the rats for 8 weeks from the 9th week of age, and all rats were killed at 30 weeks old.

The number and the size of the tumors, the thickness of epithelial cell layers in hyperplasia, the diameter of papillary tumor, and the cellular atypia were assessed by using a point method according to U-test. As assessment of immune response, the lymphocyte count in blood, the degree of lymphocyte infiltration in tissue, and CD₄ (helper/inducer-Tcell)/CD₈ (suppressor/cytotoxic-Tcell) ratio in blood by flow cytometry using monoclonal antibodies were evaluated according to the t-test. Moreover, the correlation between CD₄/CD₈, cellular atypia, and serum level of vitamin E were evaluated by coefficient of correlation. There were no differences between any two groups in the number or the size of the tumors. The cellularity in group A was significantly higher than that in group D ($p < 0.05$). The point of the cellular atypia tended to decrease with increasing dose of vitamin E, but not significantly, whereas the CD₄/CD₈ tended to increase by increasing the dose of vitamin E. The degree of lymphocyte infiltration was higher in groups C and D than in groups A and B.

In conclusion, the correlation between the cellular atypia, the CD₄/CD₈, and the dose of vitamin E suggested that vitamin E acted to induce and strengthen the antigenicity of the tumor cell dose-dependently, but the favorable effect of vitamin E against tumorigenicity was not clear.

(Acta Urol. Jpn. 38: 399-404, 1992)

Key words: Vitamin E, Bladder tumor, BBN, Rat

結 言

ビタミンEは脂溶性のビタミンとして、生体膜中に存在し、体内に発生した活性酸素やフリーラジカルに対し、抗酸化剤としてフリーラジカルスカベンジャーとして作用する¹⁾。

一方、酸素ラジカルと発癌との関連も注目され、老化や発癌が酸素ラジカルによるDNAの障害により惹起される可能性も示唆されている¹⁻³⁾。また、化学発癌剤はフリーラジカルにより活性化され、抗酸化剤

であるビタミンEが発癌を抑制するとされ⁴⁾、さらに、その抗腫瘍効果としての免疫能の関与も示唆されている⁵⁻⁸⁾。しかしながら、化学予防としての抗酸化剤の有用性については、なお、実験的、疫学的研究の結果に不一致がみられ、特に膀胱腫瘍とビタミンEとの関連についての研究はほとんど行われていない^{9,10)}。

われわれはラットの、N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine (以下 BBN と略す) による膀胱腫瘍発生に対するビタミンEの抗腫瘍効果を検討したので報告する。

Table 1. 実験飼料

A) Vitamin E 欠乏食	
VF カゼイン	24.5 (%)
コンスターチ	45.5
グラニュー糖	11.0
コーンオイル	5.0
アピセルセルロース	3.0
KC フロック	2.0
オカノール	1.0
ビタミン混合	1.0
ミネラル混合	7.0

B) コントロール食: Vitamin E 欠乏食 + Vitamin E2mg/100g
 C) Vitamin E40mg 食: Vitamin E 欠乏食 + Vitamin E40mg/100g
 D) Vitamin E60mg 食: Vitamin E 欠乏食 + Vitamin E60mg/100g

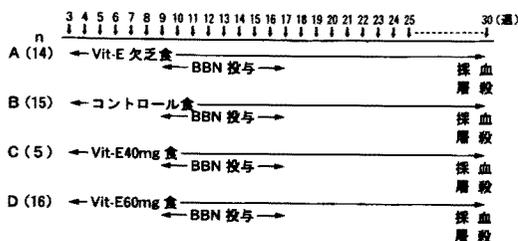


Fig. 1. 実験方法

実験材料および方法

1. 実験動物

Wistar 系雄ラット (日本クレア) を3週齢より実験に供し, 1匹ずつケージにて飼育した。

2. 使用薬剤

1) ビタミンE: ビタミンE欠乏食, コントロール食, ビタミンE 40mg/100g 飼料, ビタミンE 60mg/100g 飼料を日本クレア社に依頼し, 表のごとく作成した (Table 1)。なお, ビタミンE添加濃度は, われわれの予備実験および後述の文献考察により設定した。

2) BBN: BBN を Tween 80 にて溶解し, 水道水にて0.05% BBN 溶液を作成した。

3. 実験方法

Wistar 系雄ラット50匹を3週齢より30週齢までビタミンE欠乏食 (A), コントロール食 (B), ビタミンE 40mg/100g 食 (C), ビタミンE 60mg/100g 食 (D) の4群に分けて飼育し, その間9週齢より17週齢まで8週間, 各群に0.05% BBN を投与した。30週齢時, エーテル麻酔下, 心穿刺にて採血, 屠殺し, 膀胱一部は肝, 腎, 脾をも摘出した (Fig. 1)。

1) 病理組織学的検査 (Table 2)

(1) 肉眼的所見: 摘出膀胱の前面を切開し, 腫瘍の数, 大きさを測定し, 以下のごとく点数化した。数,

Table 2. 病理組織学的評価基準

1. Number	0: 0, 1: 1~3, 2: 4~5, 3: 6~
2. Size	0: 0, 1: 粟粒大, 2: 半米粒大~米粒大, 3: 超米粒大~
組織学的評価基準	
1. Hyperplasia	0: normal, 1: 1~3 cell thick, 2: 4~ cell thick
2. Papillary Tumor	0: none, 1: 1~2 mm diameter, 2: 3~ mm diameter
3. Atypical Grade	(1) increased cellularity (2) giant cell (3) hyperchromasia (4) prominent nucleoli (5) pleomorphism of size and shape (6) loss of cell polarity and orientation (7) mitosis
	1: 上記変化の1コみられるもの 2: 2~3コみられるもの 3: 4~5コみられるもの 4: 6~7コみられるもの

0: 0, 1: 1~3コ, 2: 4~5コ, 3: 6コ以上, 大きさ, 0: 0, 1: 粟粒大, 2: 半米粒大~米粒大, 3: 超米粒大以上とした。

(2) 組織学的所見: H-E 染色にて病理標本を作成し, 組織所見を過形成, 乳頭状腫瘍, 腫瘍異型度について, Squire ら¹¹⁾ の評価基準を簡易化し, 以下のごとく点数化した。過形成は上皮細胞層の厚さにより, 0: 正常 (1~2層), 1: 3~5層, 2: 6層以上とし, 乳頭状腫瘍は腫瘍の最大径を計測し, 0: 腫瘍なし, 1: 1~2mm, 2: 3mm 以上とした。また, 腫瘍異型度は, 上皮層の厚さ, 巨細胞, 核の形状および染色性, 著しい核小体, 細胞の多形性, 細胞配列の乱れ, そして, 核分裂像の7項目に注目し, 1: 何れか1コ, 2: 2~3コ, 3: 4~5コ, 4: 6~7コがみられるものとした。

2) 免疫学的検査

(1) 血中リンパ球数・白血球数の%であらわした。

(2) 血中 CD₄/CD₈ 率

リンパ球の subset を抗ラットモノクローナル抗体により CD₄ (helper/inducer T-cell), CD₈ (suppressor/cytotoxic T-cell) との比率で flow cytometry を用い, 全血法¹²⁾にて測定した。

(3) リンパ球浸潤度: HE 染色による病理標本より各群のリンパ球浸潤像を以下のごとく点数化した。すなわち, まったく見られないもの: 0 (Fig. 2), nodular あるいは diffuse な浸潤が軽度のみみられるもの 1 (Fig. 3), そして著明のみみられるもの: 2 (Fig. 4) とした。

3) 血中ビタミンE濃度: 心採血をエーザイ K.K. に依頼し, HPLC 法¹³⁾にて, 血清 α-tocopherol

($\mu\text{g/ml}$) として測定した.

4. 統計処理

病理組織所見は U-test, CD_4/CD_8 , ビタミンE濃度は student's t-test により有意差を検定し, 腫瘍異型性, CD_4/CD_8 , ビタミンE濃度間の関連性を相関係数にて検討した.

結 果

1. 病理組織検査

1) 肉眼的評価

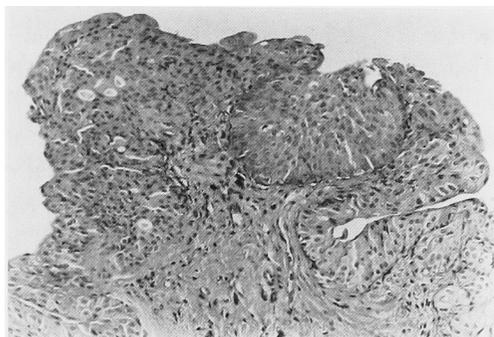


Fig. 2. リンパ球浸潤度 0

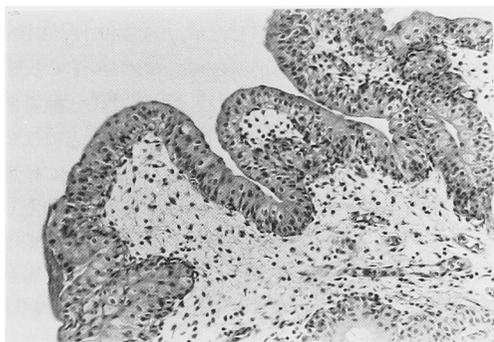


Fig. 3. リンパ球浸潤度 1

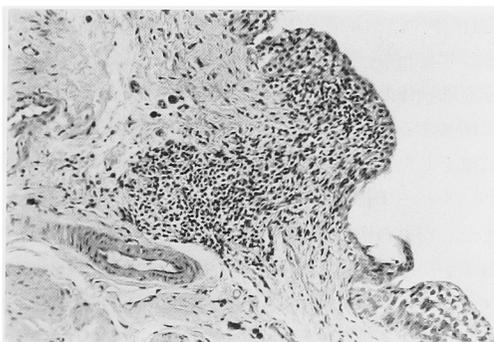


Fig. 4. リンパ球浸潤度 2

Table 3. 肉眼的の評価

	腫瘍数					腫瘍サイズ				
	0	1	2	3	M \pm SD	0	1	2	3	M \pm SD
A (14)	1	5	0	8	2.1 \pm 1.1	1	5	6	2	1.6 \pm 0.8
B (15)	0	10	4	1	1.4 \pm 0.6	0	5	6	4	1.9 \pm 0.8
C (5)	0	4	1	0	1.2 \pm 0.4	0	3	2	0	1.4 \pm 0.5
D (16)	1	7	6	2	1.6 \pm 0.8	1	3	12	0	1.7 \pm 0.6

(): n

Table 4. 組織学的の評価

	過形成				乳頭状腫瘍			
	0	1	2	M \pm SD	0	1	2	M \pm SD
A (14)	0	8	6	1.4 \pm 0.5**	0	7	7	1.5 \pm 0.5*
B (15)	1	10	4	1.2 \pm 0.6	1	10	4	1.2 \pm 0.6
C (5)	0	5	0	1.0 \pm 0	1	3	1	1.0 \pm 0.7
D (16)	4	11	1	0.8 \pm 0.5**	2	12	2	1.0 \pm 0.5 [^]

(): n ** : p<0.01 * : p<0.05

Table 5. 腫瘍異型度

	1	2	3	4	M \pm SD
A (14)	0	3	4	7	3.3 \pm 0.8
B (15)	0	1	11	3	3.1 \pm 0.5
C (5)	0	2	1	2	3.0 \pm 0.9
D (16)	1	3	11	1	2.8 \pm 0.7

(): n

肉眼的には腫瘍数においてビタミンE欠乏群がコントロール群に比して多かった (P=0.085) が, 有意差なく, 腫瘍サイズにも有意差はみられなかった (Table 3).

なお, 体重比で検討した肝, 腎, 脾の重量には各群間で有意差がみられなかった (データ示さず).

2) 組織学的の評価

組織学的には過形成の上皮細胞層の厚さ (P<0.01), 乳頭状腫瘍径 (P<0.05) において, ビタミンE欠乏群とビタミンE 60 mg との間に有意差がみられ, ビタミンE欠乏群の細胞増殖性が強かった (Table 4). また, 腫瘍異型度はビタミンE欠乏群がもっとも高く, 以下コントロール群, ビタミンE 40 mg 群, 60 mg 群の順となり, 欠乏群と 60 mg との間に有意差の傾向 (P=0.058) が認められた (Table 5).

2. 免疫学的検査

1) 血液リンパ球数

血液リンパ球数を白血球数に占める率で検討したが, ビタミンE欠乏群: 55.4 \pm 6.8%, コントロール群: 47.4 \pm 9.5%, ビタミンE 40 mg 群: 54.6 \pm 7.0%,

Table 6. 免疫学的評価および血中ビタミンE濃度

	リンパ球数 (%)	CD ₄ /CD ₈	リンパ球浸潤度	ビタミンE濃度 (μ g/ml)
A (5)	55.4 \pm 6.8	2.0 \pm 1.2	0.28 \pm 0.38	0.5 \pm 0.2
B (5)	47.4 \pm 9.5	2.8 \pm 1.4	0.68 \pm 0.41	14.3 \pm 2.1
C (5)	54.6 \pm 7.0	2.9 \pm 0.3	1.28 \pm 1.22	29.2 \pm 6.9
D (6)	47.8 \pm 2.9	3.4 \pm 0.5	1.12 \pm 0.61	34.0 \pm 4.9

(): n, (Mean \pm SD)

ビタミンE 60 mg 群: 47.8 \pm 2.9%であり, 有意差は認められなかった (Table 6).

2) 血中 CD₄/CD₈ 率

細胞性免疫能の傾向をみる目的で helper T-cell, suppressor T-cell の表面マーカーである CD₄ と CD₈ の比率, CD₄/CD₈ ratio を検討したところ, ビタミンE欠乏群: 2.0 \pm 1.2, コントロール群: 2.8 \pm 1.4, ビタミンE 40 mg 群: 2.9 \pm 0.3, ビタミンE 60 mg 群: 3.4 \pm 0.5となり, 後述するごとく血中ビタミンE濃度の上昇に平行して上昇し, ビタミンE欠乏群とビタミンE 60 mg 群との間に有意差の傾向 (P=0.0587) がみられた (Table 6). ちなみに, BBN非投与のビタミンE欠乏群, コントロール群, ビタミンE 40 mg 群, ビタミンE 60 mg 群の CD₄/CD₈ ratio は, おのおの2.2 \pm 0.3, 2.8 \pm 0.5, 2.7 \pm 0.7, そして2.6 \pm 0.6であり, 各群間で有意差はみられなかった.

3) リンパ球浸潤度

リンパ球浸潤度はビタミンE欠乏群0.28 \pm 0.38, コントロール群0.68 \pm 0.41, 40 mg 群1.28 \pm 1.22, 60 mg 群1.12 \pm 0.61となり, ビタミンE投与群で高値を示したが有意差はえられなかった. また, BBN非投与の各群ではいずれもリンパ球浸潤度はみられなかった (Table 6).

3. 血清ビタミンE濃度

血清ビタミンE濃度は摂取量によって, 明瞭に差を示し, ビタミンE欠乏群 0.5 \pm 0.2 μ g/ml, コントロール群 14.32 \pm 2.1 μ g/ml, 40 mg 群 29.2 \pm 6.9 μ g/ml, 60 mg 群 34.0 \pm 4.9 μ g/ml であった (Table 6). なお, 実験動物の摂取食餌量は1日 10~15 g であった.

4. 血清ビタミンE濃度, 腫瘍異型度, CD₄/CD₈ 間の関連性

ビタミンE濃度と異型度, CD₄/CD₈ と異型度との間には負の相関関係の傾向がみられ (おのおの, r=-0.422, p=0.06, r=-0.94, p=0.06), 一方, ビタミンE濃度と CD₄/CD₈ との間には, 正の相関関係の傾向がみられ (r=0.633, p=0.001), ビタミンEの細胞性免疫能賦活を介しての抗腫瘍効果が示唆された.

考 察

悪性腫瘍に対する診断, 治療における著しい進歩にもかかわらず, 悪性腫瘍の頻度は減少せず, 死因の第一位を占めている. したがって悪性腫瘍に対する予防医学の重要性は明白であり, 近年, 化学予防を目的とした多くの疫学的^{9,10,14}, 実験的^{3,6,7,15} 研究が行われ, ビタミンA, C, Eなどの有用性は, ある程度示されてはいるが, ビタミンEによる, 特に膀胱腫瘍に対する検討はほとんどみられない. 緒言で述べたごとく, ビタミンEには化学発癌物質による発癌を抑制することが期待され, また, 膀胱腫瘍はその原因として, 化学発癌物質などの環境因子との関連が最も重視される代表的な悪性腫瘍の一つである. われわれは, この点に注目し, ラットの BBN による膀胱腫瘍発生に対するビタミンEの影響を検討したが, 肉眼的には, BBN投与例のほぼ全例に腫瘍がみられ, ビタミンEの抗腫瘍効果を認めることはできなかった. しかし, 腫瘍部以外の過形成, 乳頭状腫瘍径, 腫瘍異型度などにはビタミンE欠乏群とビタミンE 60 mg 群との間に有意差の傾向はみられたものの, なお化学予防を目的とした, コントロール群とビタミンE投与群間に有意差はえられなかった. Cook ら¹⁶もマウスの実験的結腸直腸癌に対するビタミンEの抗腫瘍効果を検討し, 同様に, 発生頻度に差をみなかったが, 腫瘍数と悪性度において抑制効果を認めている.

ビタミンEの抗腫瘍機序の一つに免疫賦活能があげられ^{5-8,15}, ヘルパーT細胞の活性化が指摘されている. すなわち, Tanaka ら⁹はマウスの抗ハムスター赤血球抗体産生能が普通食の10倍のビタミンE強化食で増強すること, そしてハブテンキャリアー複合物を抗原とした実験から, ビタミンEの抗体産生増強効果がヘルパーT細胞の機能亢進によることを報告した. また, 安永ら¹⁵はマウスの脾細胞の mitogen に対するリンパ球幼若化反応のビタミンEの効果, そしてビタミンEによって免疫能賦活された脾細胞の培養腫瘍細胞に対する腫瘍増殖抑制効果から, ビタミンEはヘルパーT細胞を活性化し, 二次的に細胞障害性T細胞

を誘導する可能性を示唆した。われわれは、フローサイトメトリーにより CD_4/CD_8 を検討し、 CD_4/CD_8 がビタミンE濃度と平行して高値となり、しかも腫瘍異型度とは負の相関関係を示すことを認めた。 CD_4/CD_8 の高値を単純にヘルパーT細胞優位とは判断できないが¹⁷⁾ 上述の関連を考慮すると、ラットの化学的発癌物質による膀胱腫瘍細胞は、ビタミンE投与によりクラスII MHC 抗原(主要組織適合抗原)を発現する可能性が示唆される。また、組織像のリンパ球浸潤度も有意差とはならなかったものの、ビタミンE投与群が高値を示し、この推測を支持するものとする。El-Demiry ら¹⁸⁾ は膀胱上皮内癌に対するBCG膀胱注入により、免疫組織化学的に、helper/inducer T-cell 優位のリンパ球浸潤像を認めている。われわれの所見は免疫組織化学的に検討されなければならないのは当然のことである。

さて、ビタミンといえども適量は考えられ、安永ら¹⁵⁾ はマウスを用いた実験で、リンパ球幼若化反応を指標として、5~20 IU/kg/day のビタミンE腹腔内投与量では免疫能賦活され、80 IU/kg/day では抑制されることを認めた。われわれはラットを用い、ビタミンEを経口投与したので比較は困難であるが、安永ら¹⁵⁾ は治療群の血中濃度をコントロールの2倍程度に高めるのが適当とし、Wang ら¹⁹⁾ は2~4倍の血中濃度が適当としていること、そしてわれわれの実験ではビタミンE 40 mg 群でコントロール群の2倍、60 mg 群で2.4倍であったことから、ほぼ適量と考えられる。しかし、10倍量で最大効果がえられた、との報告^{6,8)} もあり、至適投与量については、なお検討の余地があるものと考えられる。本研究において、腫瘍抑制効果がなお不明瞭であった理由として、発癌物質の投与量、投与期間、実験動物種差、ビタミンEの投与量、投与方法、投与タイミングなど、多くの因子が複雑に関連しているものと考えられる。

本研究中、ビタミンEの副作用と思われる異常所見はみられず、全例順調に経過し、また、各群の摘出肝、腎、脾などの重量に差がみられなかったごとく、安全性は確認され、また、腫瘍抑制効果の兆しも見えたので、本問題はさらに綿密なスケジュールのもとに検討されるべき価値のあるものと考えられる。

結 語

3週齢のWistar系雄ラットを4群に分け、30週齢までビタミンE欠乏食、コントロール食、ビタミンE 40 mg/100 g 食、ビタミンE 60 mg/100 g 食、にて飼育し、その間9週齢より17週齢まで8週間、各群に

0.05% BBN 含有水を投与し、30週齢時に屠殺して、膀胱腫瘍の発生状態、心採血による血清ビタミンE濃度、血中リンパ球数、血中 CD_4/CD_8 および組織のリンパ球浸潤度を測定し、ビタミンEの抗腫瘍効果を検討し、以下の結果をえた。

1) 肉眼的にはビタミンEの抗腫瘍効果は認められなかった。

2) 組織学的にはビタミンE欠乏群とビタミンE 60 mg 群に有意差がみられ、ビタミンEの抗腫瘍効果は認められたが、なお、コントロール群との間に有意差はなかった。

3) 血中リンパ球数には各群間で差はみられなかったが、病理組織検査におけるリンパ球浸潤度はビタミンE投与群が高値を示し、また、 CD_4/CD_8 は血中ビタミンE濃度が上昇するにつれ高値となり、一方、腫瘍異型度は低下し、ビタミンEは濃度依存性に腫瘍細胞の抗原性増強に関与することにより抗腫瘍的に作用することが示唆された。

以上の結果より、ビタミンEの化学的予防剤としての有用性についての結論を引き出すには、さらに綿密なスケジュールによる検討の要があり、また、その価値のある問題であるものと考えられた。

本論文の要旨は第78回、第79回日本泌尿器科学会総会において発表した。

本研究は、文部省科学研究費(一般研究C:課題番号63570757)の助成を受けたことを付記し、感謝の意を表します。

最後に、御指導御校閲をいただきました千野一郎教授に深謝いたします。また、病理組織診断について御教示いただきました慈恵医大第三病院院長鳥海純教授に深謝いたします。さらに、実験に御協力いただいた当教室の広川美智代嬢に感謝いたします。

文 献

- 1) 山中直樹: ビタミンEと癌, ビタミンE, 一基礎と臨床一, 福場博保編, 516-528, 医歯薬出版, 東京, 1985
- 2) 葛西 宏, 西村 暹: 酸素ラジカルによる新しいDNA修飾反応. 癌 24: 9-16, 1987
- 3) Wang YM, Purewal M, Nixon B, et al. Vitamin E and cancer prevention in an animal model. Ann NY Acad Sci 570: 383-390, 1989
- 4) 山中直樹, 大田和雄: 老化, 癌化および制癌一特に Free Radical 反応と関連して一. 癌と治療 4: 1-10, 1977
- 5) Watson RR: Immunological enhancement by fat-soluble vitamins, minerals and trace

- metals: A factor in cancer prevention. *Cancer Detect Prev* **9**: 67-77, 1986
- 6) Tanaka J, Fujiwara H and Torisu M: Vitamin E and immune response I, Enhancement of helper T cell activity by dietary supplementation of vitamin E in mice. *Immunology* **38**: 727-734, 1979
 - 7) Yasunaga T, Kato H, Ohgaki K, et al.: Effect of vitamin E as an immunopotential agent at optimal dosage, and its toxicity at high dosage. *Am J Nutr* **112**: 1075-1084, 1982
 - 8) 田中二郎, 鳥巢要道: ビタミンEと免疫, ビタミンE, 一基礎と臨床一. 福場博保編: 225-233, 医歯薬出版, 東京, 1985
 - 9) Bertram JS, Kolonel LN and Meyskens FL Jr.: Rationale and strategies for chemoprevention in humans. *Cancer Res* **47**: 3012-3031, 1987
 - 10) Helzlsouer KJ, Comstock GW and Morris JS: Selenium, lycopene, α -tocopherol, β -carotene, retinol and subsequent bladder cancer. *Cancer Res* **49**: 6144-6148, 1989
 - 11) Squire RA, Sporn MB, Brown CC, et al.: Histopathological evaluation of the inhibition of rat bladder carcinogenesis by 13-cis-retinoic acid. *Cancer Res* **37**: 2930-2936, 1977
 - 12) 久下 栄: 浮遊細胞からの試料作製法—リンパ球を中心として, 全血法. *臨床検査* **34**: 645-649, 1990
 - 13) 阿部 一, 中村哲也: ビタミンEの定量法, ビタミンE, 一基礎と臨床一. 福場博保編, 14-21, 医歯薬出版, 東京, 1985
 - 14) Stähelin HB, Gey KF, Eichholzer GM, et al.: Cancer mortality and vitamin E status. *Ann NY Acad Sci* **570**: 391-399, 1989
 - 15) 安永敏美, 大垣和久, 稲本 俊, ほか: ビタミンEと癌治療, 一マウスを用いた実験的考察一. *日癌治* **17**: 2074-2083, 1982
 - 16) Cook MG and McNamara P: Effect of dietary vitamin E on dimethyl-hydrazine-induced colonic tumors in mice. *Cancer Res* **40**: 1329-1331, 1980
 - 17) 藤原大美, 緒方正人: T細胞の免疫応答, T細胞系の免疫学, 藤原大美編, 106-122, 中外医学社, 東京, 1990
 - 18) El-Demiry MIM., Smith G., Ritchie AWS, et al.: Local immune responses after intravesical BCG treatment for carcinoma in situ. *Br J Urol* **60**: 543-548, 1987
 - 19) Wang YM, Madanat FF, Kimball JC, et al.: Effect of vitamin E against adriamycin-induced toxicity in rabbits. *Cancer Res* **40**: 1022-1027, 1980

(Received of September 9, 1991)
(Accepted on December 4, 1991)

(迅速掲載)