

學位申請論文

永田和宏

骨髓性白血病細胞の分化
—機構解明への—視点

理
296 函
1-3

永田和宏

骨髓性白血病は、骨髓における白血球の異常増殖を特徴とするが、慢性骨髓性白血病患者の骨髓や末梢血中には、幼若な骨髓芽球の他に、多数の成熟白血球と、それに至る種々の成熟段階の細胞が多数認められる。このような血液像は、白血病細胞に当たる骨髓芽球または前骨髓球が、ただ単に増殖を繰り返すだけでなく、少なくともその一部は、なお分化し得る能力を有しているのではないだろうかという疑問を生んだ。すなわち、白血病といえども、全く性質の異なった“悪性”の細胞だけが増えてくるというものではなく、正常な血球分化のある段階で、分化に異常（あるいは停滞）をきたし、未熟な段階に停滞したまま増殖しているのではないのか、ということである。とすれば、この分化の異常によって白血病化した細胞を、何らかの方法で正常の分化の方向にもどしてやることができれば、現在主として行われているような、細胞それ自体を殺すという方法とは違った、全く

新しい治療法が可能になるかもしれない。

1969年、市川によって樹立されたマウス骨髄性白血病細胞株M1は、このような白血病細胞の分化を考える上で、極めて興味深いモデル系を提供することとなった。^(9,10) 私自身この数年M1細胞を用いて研究を進めてきたので、以下にその概要を御紹介したい。しかし振り返ってみれば、既にM1細胞に関しても膨大な量の仕事が出ており、私もそのほんの一部を受け持ったに過ぎない。到底私自身の仕事だけでストーリーを組立てることは叶わないが、漏れた部分は他の総説を参照願うこととして、まずは私の仕事を中心に話を進め、あわせて私なりに将来への展望を試みたい。

I. 分化促進因子とその性質

M1細胞は、白血病好発系であるSLマウスに自然発生した骨髓性白血病を、in vitroの培養系に移し、培養株細胞として樹立された。形態的には骨髓芽球と思われる細胞である。⁽⁹⁾ 通常の培養条件下では、芽球様形態を保ったまま(図1-a)浮遊状で増殖し、SLマウスに移植すると、白血病もしくは皮下腫瘤を形成して宿主を斃死させる。ところが、M1細胞にある種の分化促進因子(D因子)を添加して培養すると、この細胞が分化して好中球やマクロファージ(図1-b)になることか、後に述べる種々の性質の変化よりわかったのである。

マウス胎児繊維芽細胞の初代ないし第二代培養の培養液(conditioned medium: CM)を採取すると、この中にM1細胞を分化させるD因子が含まれていることか、市川の初期の論文で明らかにされた。⁽⁹⁾ CM以外の生体

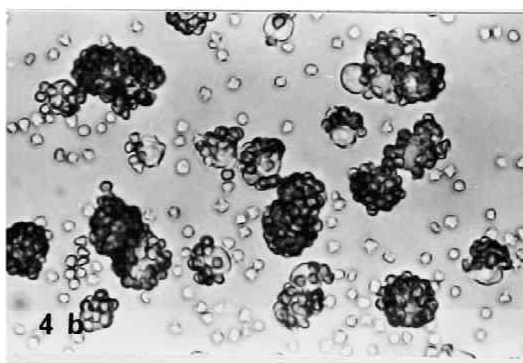
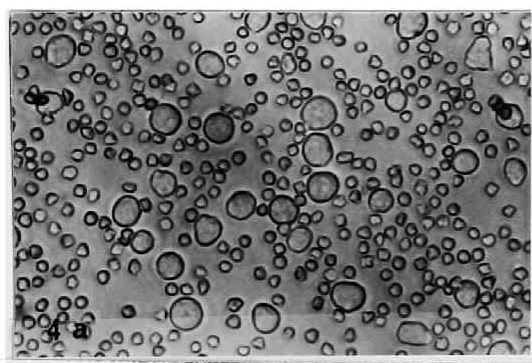
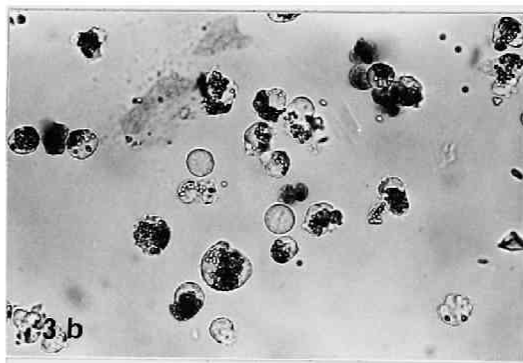
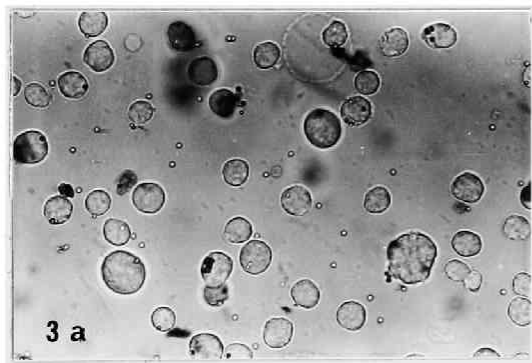
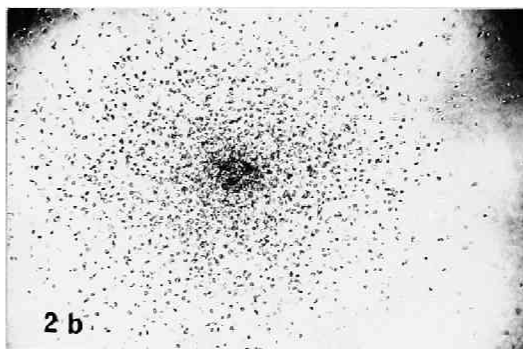
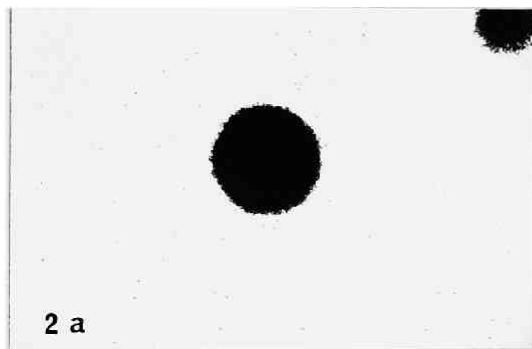
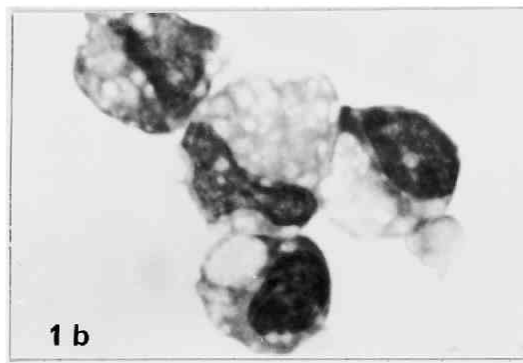
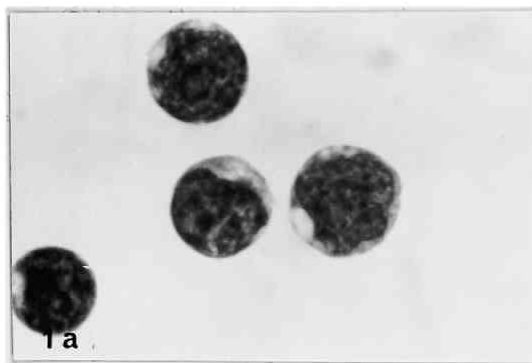


図1~4 M1細胞の分化形質

図1：形態変化（塗沫ギムザ標本），図2：運動能（軟寒天中でのコロニー），図3：貪食能（ポリスチレンラテックス粒子の貪食），図4：Fc受容体（抗赤血球抗体で処理された羊赤血球によるロゼット形成） 左列：未処理M1細胞 右列：D因子処理M1細胞

成分として、その後担癌ラットの腹水⁽¹⁹⁾や細菌内毒素 (endotoxin) 投与後に採取したマウス血清⁽¹⁾などに D 因子活性があると報告された。

私自身は、このように M1 細胞のモデル実験を、最終的には人白血病の治療へ役立たせたいと考え、人の生体成分中に D 因子を見つけるべく種々検討した結果、人羊水中に高い D 因子活性のあることを見出した⁽²⁰⁾。同じ趣旨の試みは他の研究室でもなされていて、人の唾液や尿中に D 因子が存在するという報告も見られる⁽²³⁾。また D 因子は、人羊膜の CM から高い活性が得られるが、培養系として樹立された人羊膜細胞 WISH の CM 中には活性は見出すことはできず、これは他の細胞系による CM の場合と同様である⁽²⁰⁾。ただ一つの例外としては、スイス系マウスの胎児繊維芽細胞株の CM から、MG I と呼ぶ分子量 68,000 の単純蛋白が精製されていて、これはいわゆる CSF 活性 (正常造血細胞を刺激して

軟寒天中にコロニーを形成させる活性)と共に、M1細胞に対してD因子活性をも示すと言われている。⁽²⁾

MGIを除いては、どの材料からのD因子も未だ精製されていないので、それらが同一の蛋白であるのか否かは判然としない。しかし、いずれも熱処理(70°C, 30分)によってほぼ完全に失活し、非透析性で、トリプシン処理によっても失活することから、蛋白質であることは共通している。前日らの詳しい研究⁽¹⁸⁾によれば、マウス胎児繊維芽細胞C1中
のD因子は、分子量4~5万の糖蛋白であり、また種による特異性は見られない。

このような蛋白性のD因子の他に、デキサメサゾンなどのグルココルチコイド^(5,16)や endotoxin⁽²⁵⁾などの非蛋白性のD因子も報告されている。

これらの活性因子については、現象の解析という観点からはできるだけ単純な物質が望ましく、また治療への応用という観点から見

れば、できるだけ生理的で副次的な作用のないものが望ましいことは言うまでもない。そのような意味で、色々の抽出源に活性因子を求めるスクリーニング作業は重要ではあるが、一方それらの活性を assay するシステムはと言うと、後述するようにかなり複雑な現象の結果を見ていることが多く、必ずしも適当な assay システムとは言えない。そこで、D 因子自身に関する仕事は一先ず置いて、私としては M1 細胞の分化のメカニズムをより詳細に解析する方に、仕事の重点を置くこととした。

II. 分化の指標とその発現

分化の機構を知るためには、まず何を分化の指標とするかという点が重要である。M1細胞の分化のマーカーとして現在までに、種類の性質の変化が報告されているが、まず初めに報告されたのは細胞の運動能の誘導であった。⁽⁹⁾ M1細胞は、CSFなどの因子を外から添加しなくても軟寒天中にコロニーを形成することができ、そのようにしてできたコロニーは、全て図2-aのごとくまリモ状の凝集型コロニーである。ところが、寒天中にD因子を加えておいてやると、コロニーは図2-bのごとく拡散型となった。これは細胞が寒天中を泳ぎ出したためにできたもので、分化することによって運動能を獲得したものと解釈することが出来る。事実、二つのタイプのコロニーからそれぞれ細胞を採り、ギムザ染色によって形態を観察すると、凝集型コロニーからとった細胞は幼若な骨髓芽球ばかり

りであるが、拡散型からとってその好中球
ないしマクロファージ様を呈し、それらが運
動能を持っているという周知の事実とポリリ
一致する。

さらに分化のマーカールとして貪喰能テスト
がより簡便で有効であることもわかった。⁽¹⁰⁾
大喰細胞とも呼ばれるごとく、マクロファ
ージは盛んに異物を貪喰する。未分化なM1細
胞には貪喰能はないが、D因子を添加して2
〜3日培養したのち、ポリスチレン・ラテッ
クス粒子などを加えてやると、分化した細胞
がそれらを盛んに貪喰しているのが顕微鏡下
に観察できる(図3)。貪喰している細胞の
割合を求めることにより、その細胞集団内
での分化の程度を知ることが出来る。

マクロファージにおいて、異物を取込んで
ファゴゾームは、一次ライソゾームと融合し
て二次ライソゾームを形成し、ライソゾーム
酵素の働きによって異物が分解されるという
プロセスはよく知られている。それならば、

M1細胞の分化に伴ってライソゾーム酵素の活性に変化が起ってもいい筈だと考え、酵素活性を測定した。⁽¹⁹⁾

私たちは、まず典型的なライソゾーム酵素である acid phosphatase と cathepsin に着目したが、果して両酵素とも、M1細胞の分化に伴って顕著な活性の上昇が認められた。D因子とともに培養開始後、1日目から貪喰能が上昇しはじめ、次いで2日目くらいから acid phosphatase が、さらに遅れて3日目から cathepsin 活性が上昇しはじめた。D因子を予め熱によって不活化したり、分化の阻害剤として知られている bromodeoxyuridine (BUdR) をD因子とともに加えておいたりすると、酵素活性は無処理のM1細胞のそれと同じレベルにとどまった。

表1には、M1細胞とその変異株についての酵素活性を示した。Mm-1細胞⁽¹⁷⁾は、M1細胞を継代中に、おそらく血清中に含まれる微量のD因子の作用で分化したと思われるマ

表 1

Cell	Treatment	Phagocytosis	Cathepsin ^{a)}	Acid Pase ^{b)}
M1	-	0 %	11.2	56.2
	CM25%	72.6	37.9	96.3
Mm-1	-	75.4	37.7	100.5
M1-D ⁻	-	0	14.8	55.4
	CM25%	0	5.8	51.2
Peritoneal macrophage	-	93.0	44.6	176.5

a) ug hemoglobin/min/mgprotein.

b) nmol p-nitrophenol/min/mg protein.

フロファージ様細胞株であり、外からD因子を加えないでも活発な貪食・運動能とともに、高い酵素活性を示しつつゆっくり増殖している。D⁻細胞は、D因子に抵抗性になったフローンであり、この細胞をD因子とともに培養しても、貪食能も酵素活性も上昇しなかった。

このように貪食能とライソゾーム酵素活性とは密接な相関を示すことがわかったが、一方同じライソゾーム酵素のうちでも、 β -glucuronidase, acid DNase のように、細胞が分化しても誘導されてこない酵素もあり、前二者 (acid phosphatase, cathepsin) とは異なった regulatory system の支配が考えられる。その後 lysozyme 活性^(14/15) も顕著に上昇することが報告され、また加えるD因子の種類によれば、 β -glucuronidase 活性も誘導されることもわかった。⁽¹⁴⁾

これらの事実は、運動や貪食というマクロなレベルでとらえられていたM1細胞の分化

が、酵素活性の上昇という分子的なレベルでも確かに起っていることを示すものとして興味深かったが、分化のマーカーとしてはこの他に、細胞表面へのFc-およびC₃-受容体の誘導⁽¹⁶⁾ (図4)、Con Aによる凝集性の上昇⁽²⁵⁾、またT、Bリンパ球存在下の in vitro 抗体産生系における helper 機能の誘導⁽²⁶⁾ なども報告されている。また超微形態的には、ミトコンドリアおよび粗面小胞体の発達が顕著になり、それに伴ってマーカー酵素である cytochrome oxidase, glucose-6-phosphatase も細胞当りの活性が上昇していることが明らかとなった⁽³⁾。このように、M1細胞が好中球あるいはマクロファージへ分化するという事実は、形態的にも、生化学的・免疫学的にもゆるぎないものとなってきたが、さらに注目すべきことは、分化したM1細胞は in vitro において増殖能を失うのみならず、同系のSLマウスに移植してみても、もはや造腫瘍性を示さないことである。⁽¹⁰⁾ すなわち、現在主と

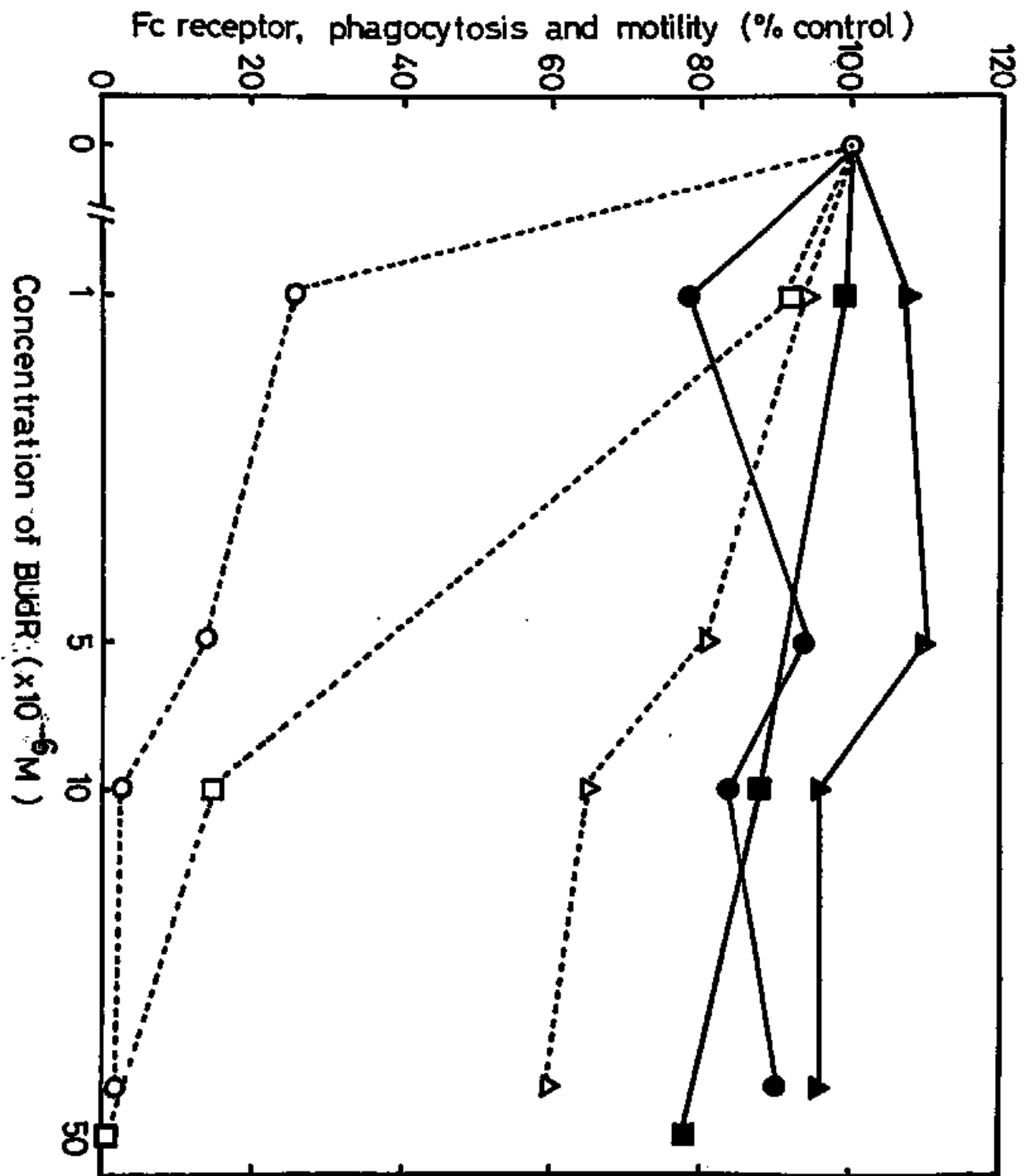
して用いられている癌細胞を撲滅するという方法ではなく、分化のどこかの段階で異常をきたして足踏み状態にあった癌細胞を、正常分化の経路にひき戻してやることによる癌治療の可能性を示唆するものとして、M1細胞は興味深い実験系であるとする所以である。

先程触れたように、他の多くの系におけると同様、M1細胞の分化に対してもBUdRが阻害的に作用することが報告⁽¹⁾されていたが、私たちはその他にBromodeoxycytidineやIododeoxyuridineにも同様の作用のあることを確かめている⁽²⁾。これらの作用メカニズムは何であろうか。分化の誘導を追求するのが正攻法とするなら、その分化誘導を阻害する過程を追ってみるのも、搦手としてこれまた有効な研究手段となるのではないか。私は、細胞分化のメカニズムに迫る手はじめとして、まず分化誘導の阻害に照準を合わせようとした。

BUdRによる分化誘導阻害を調べる手かか

りとして、まず M1 細胞の BUdR 耐性株の樹立を試みた。⁽²⁴⁾ 培地中の BUdR 濃度を順次高めて細胞を徐々に馴らしてゆく方法によって、約 4ヶ月かかって 1×10^{-5} M BUdR 中でも生育可能なフロンをとった。コロニー形成率によって BUdR に対する耐性を調べると、原株に対して 70~100 倍程度の耐性を獲得していた。こうして得られた耐性株 (BR 株) と原株について、D 因子と BUdR の作用を、Fc-受容体、貪喰能、運動能を中心に調べたのが図 5 である。原株の場合には、D 因子を作用させる際、培地中に同時に加えられた BUdR の濃度が増すにつれて、貪喰能と運動能の発現は著しく阻害された。しかし、Fc 受容体の誘導阻害はあまりみられなかった。一方 BR 株の方では、3つのマーカーのどれもが BUdR による阻害をほとんど受けなかった。

この事実は次の二点を意味するものであろう。1)、BR 株では thymidine kinase が欠損



Ms 7015
Fig. 5

図5 各分化形質発現に対するBUdRの効果
 Fc受容体(△,▲), 貪食能(O,●)および運動能(□,■)
 のそれぞれを、M1細胞原株(破線)およびBR株(実線)
 について調べた。

していていると考えられ、BUDRを取り込めない
 というところから、BUDRによる阻害効果は
 、BUDRがチミンのかわりにDNAに取り込
 まれることによって表われる。2) Fc-受容
 体の発現と、貪食・運動能の発現に付、どう
 やら異なる制御系が関与しているらしい。第1
 点は、BUDRとともに過剰のチミジンを添加
 しておくとBUDRの阻害効果がみられなくな
 るという事実によっても支持され、このこと
 については他の分化の系においても言われて
 いることであるので、さしあたり第2の点に
 ついてより詳細に検討を加えることとした。

まず各マーカーの出現順序について、ライ
 ソゾーム酵素活性の上昇が貪食能誘導に遅れ
 ることは既に述べた。形態変化はさらに遅れ
 る。そこでFc-受容体の出現時期を調べてみ
 ると、驚いたことにD因子を加えてわずか4
 時間目には既に上昇をはじめ、12時間でほぼ
 プラトーに達してしまった。⁽²¹⁾ 運動能と貪食
 能については正確な比較ができないが、R453

と呼ばれる他の骨髓性白血病細胞の場合⁽¹²⁾や、またM1細胞でもデキサメサゾンとD因子として扱った場合には、運動能の方が貪喰能より誘導されやすいこと⁽⁵⁾などから、私たちは、

Fc-受容体 > 運動能 > 貪喰能 > ライソゾーム酵素 > 形態変化

の順に誘導されると考えている。最近M1細胞にcyclic AMPを投与すると、lysozyme活性は上昇したが貪喰能は誘導されなかったという報告⁽⁷⁾もあり、ライソゾーム酵素がどの位置にくるのかは微妙である。

次にDNA, RNAおよび蛋白合成と分化との関係を調べてみた。DNA合成阻害剤であるcytosine arabinoside (Ara C)は、D因子による貪喰・運動能発現を阻害しないという報告⁽¹¹⁾から、これらのマーカーの発現にはDNA合成は必ずしも必須ではないと思

われていたが、それはさらにBR株に Fluoro deoxyuridine (FUdR) を作用させるといふ実験によっても支持された。すなわちBR株では thymidine kinase が欠損しているため、 $TdR \rightarrow dTMP$ という salvage 経路による DNA 合成はないと考えられる。一方FUdRは、 $dUMP \rightarrow dTMP$ のいわゆる de novo 経路を阻害する thymidilate synthetase の阻害剤として知られており、従ってBR株にFUdRを作用させれば、両経路からのDNA合成は同時に block される筈である。ところが結果は、BR株にFUdRを作用させても依然として、D因子による貪喰能誘導は阻害されなかった。⁽²¹⁾ 以上二つの結果から、M1細胞の分化誘導にはDNA合成は必須条件ではないと考えられる。

それではRNA合成はどうであろうか。BUdRによる分化阻害という現象も、実はDNAからRNAへの転写の段階での異常に起因するのであるといは、以前から指摘されてい

ることであり、しからば、RNA合成を止めてやれば分化は阻止されるかもしれない。そう考えて、M1細胞に、D因子とともにRNA合成阻害剤である actinomycin D (Act. D) を添加してみた。すると面白いことに、貪食能は顕著に誘導を阻止されたが、Fc-受容体の方はほとんど影響を受けなかった(図6)⁽²¹⁾。

同様に、蛋白合成阻害剤である puromycin をD因子とともに添加した実験においても、結果は Act. D の場合と全く同様になった⁽²¹⁾。

以上の結果に、X線照射による分裂阻止実験⁽¹¹⁾ および cytochalasin B (microfilament 破壊) を用いた実験結果⁽¹¹⁾ を加え、まとめたのが表2である。運動・貪食能が発現するためには、D因子による情報が何らかの形で核にまで伝わり、新たなRNA合成を必須とすること、言いかえれば、Friend 白血病の分化⁽¹³⁾ において明らかにされているような転写レベルでの分化調節機構の関与が示唆される

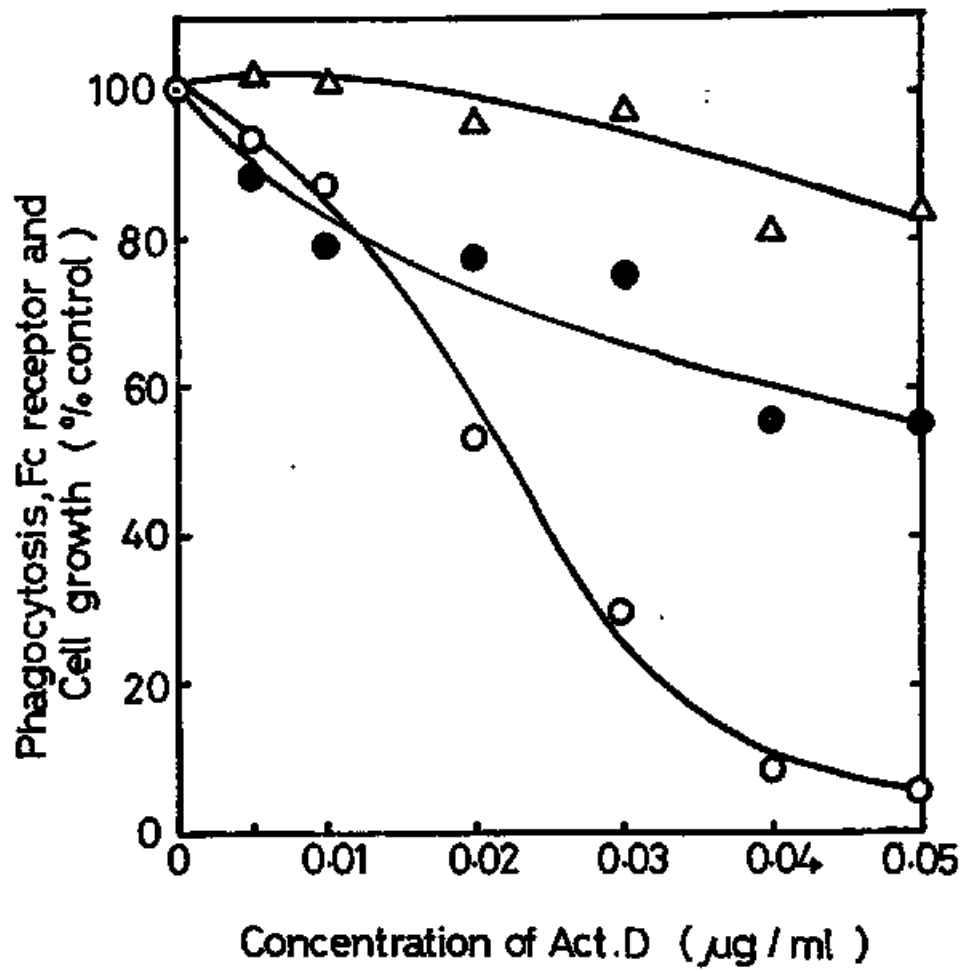


図 6 M1細胞の分化形質発現に対する Act. D の効果
 Δ : Fc 受容体, ○ : 貪喰能, ● : 細胞増殖

表二

	处 理	Fe受容体	運動能	貪食能
Mitosis 阻害	X-ray		non	non
DNA 合成阻害	{ Ara C { BR 株 + FUDR	non	non	non
RNA 合成阻害	{ Act-D { BUdR	non	block	block
Protein 合成阻害	{ Puromycin { Methionine-free EM	non	block	block
Microfilament 破壞	Cytochalasin B	non	block	block

出現順序

Fe受容体 > 運動能 > 貪食能

・一方、Fc-受容体の誘導が、運動・食糧能の誘導とは異なる制御系の支配下であり、より容易に起り得る現象であることも、表より明らかである。

Ⅲ. これからの課題とその展開

以上述べた諸マーカーのうち、貪喰能と運動能はもっとも簡便に定量化でき、また変化も顕著であるが、それが発現されるためにはかなり多くの現象が複雑に絡み合っているだろうとは容易に推測できる。分化のメカニズムにさらに深い刻印をおろすためには、このような終末現象ではなく、より早く、より鋭敏に反応するマーカーを見出す必要のあることは言うまでもない。ライソゾーム酵素活性に着目したのも、このような観点からであった。

現在私たちは、M1細胞の分化に伴って貪喰能や運動能が誘導されるという変化を、マクロな現象としてではなく、より分子的なレベルの変化としてとらえたいと考え仕事を進めている。周知のように、細胞運動や貪喰という機能は、筋収縮におけると同様アクトミオシン系の支配下にある現象として、近年世

界の多くの研究者の注目を集めつつある。しかしながら、非筋肉細胞における収縮蛋白質について現在までに得られている知見のほとんどは、常時活発に運動しているアメーバやマクロファージなどに関するものであって、本来全く運動しない細胞が動くように変わる、その変化の過程で、どのような変化が収縮蛋白質あるいはその調節蛋白質に生じてくるのかについての研究は皆無と言って良い。幸にも私たちは、M1細胞というそのような変化を研究するには恰好の系をもっているので、この系を利用して、分化に伴うアフトミオシン系の変化を調べようというのである。

極く最近 Sachs の研究室から、M1細胞の分化に伴って合成量の変化する細胞質蛋白質のうち、アフトチン合成が3倍近く増加するという報告⁽⁴⁾が出て、私たちの関心とも近いので興味深く読んだ。私たちの得たデータでは、アフトチンの含量よりもむしろ分化の前後で変化なく、合成量にはやや増加が認められたも

のつ、とでも3倍とまではいかなかった。それよりも、分化に伴ってアフチンに質的変化したの生じたことを示唆する興味深い知見を得た。⁽²²⁾

アフチンは分子量43,000の単純蛋白であるが、これがミオシンと共同して機能するようになるためには、モノマーであるいわゆるGアフチンから、Fアフチン(ポリマー)への重合が起こらなければならぬ。このG→F転換を促進する条件は、in vitroで詳しく調べられており、MgCl₂またはKCl存在下にGアフチン溶液を、25~30°Cにincubateすることによって重合の起こることが知られている。また、重合の程度は溶液中のアフチン濃度に比例するが、ある濃度以下であれば全く重合しないような、アフチンの臨界濃度が存在するという事実も、骨格筋アフチンだけでなく、非筋細胞アフチンにも共通の性質であると言われている。

D因子作用下に分化したものと、処理前の

ものと、それぞれのM1細胞をホモジナイズし、遠心上清をとって、このcrude extract中のアフラチンのG→F転換を、MgCl₂、KClおよび蛋白濃度を種々変化させることによって調べてみた。重合能は、塩を添加して30℃にincubateしたのち、Fアフラチンの沈降する条件下に遠心し、沈渣に落ちてくるアフラチン量を、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって調べた。

マクロファージに分化した後の細胞から取出されたGアフラチンは、MgCl₂、KCl濃度が増すにつれて、重合して沈渣に落ちてくる割合が高くなるが、未分化M1細胞から取出したアフラチンでは、MgCl₂濃度に対しては僅かながら依存性がみられるものの、KCl濃度をいくら増しても全く重合は進まなかった。次に、予め確かめられた最適濃度のMgCl₂とKCl存在下に、G→F転換のアフラチン濃度依存性を、crude extractの蛋白濃度を変化させることによって調べてみた。図7に示すごと

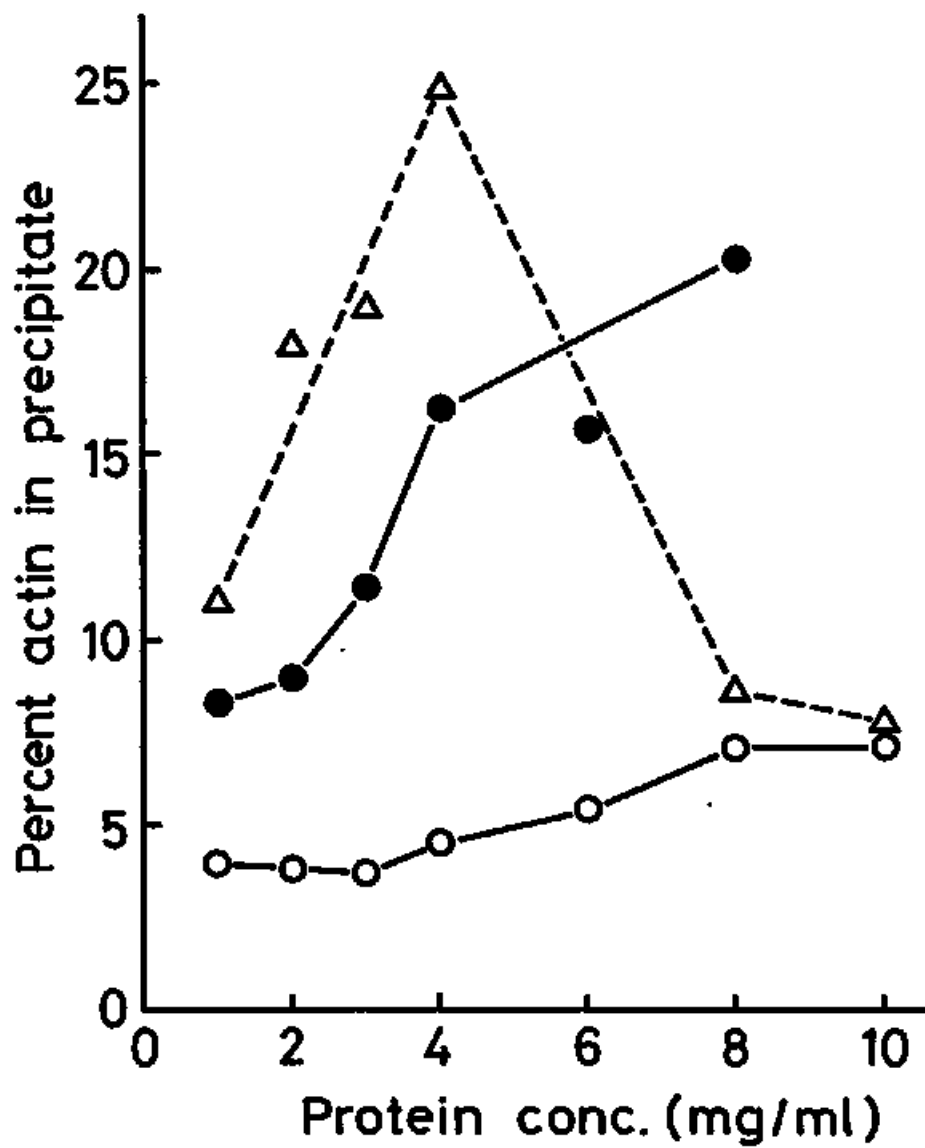


図7 アクチン重合における蛋白濃度依存性

Crude extract の蛋白濃度を変化させ、KCl (100mM) および MgCl₂ (5mM) 存在下にアクチンの重合を調べた。
 ○: 未処理 M1 細胞, ●: D 因子処理 M1 細胞, △: M_{m-1} 細胞

く、処理前の M1 細胞におけるアクチンの重合の蛋白濃度依存性は、分化したものに較べて明らかに低く、またアクチンの臨界濃度も、分化した細胞の約 5 倍程度高いことがわかった。⁽²²⁾

このような G → F 転換に関して、前述の Mm-1 細胞は、分化した後の M1 細胞と同様のパターンを示し、逆に D⁻細胞では、D 因子を加えても加えなくても、そこから取出されるアクチンは、未分化 M1 細胞由来のものと同様、重合しにくいことが明らかとなった。⁽²²⁾

これらは、G → F 転換というアクチンが機能するためのもっとも重要な性質に関して、分化に伴う変化の起きたことを意味し、それが貪喰や運動というマクロな現象となって発現したのだということを示唆するものである。このアクチン重合能の際立った差が、アクチン自身の質的变化によるものか、それとも細胞質中の未知の制御因子を介在させた変化によるものか、これが今後に残された重

重要な問題であらうと考えている。

一見迂遠な、そして分化という現象の結果のみを追っているかのごときこのような研究方向も、細胞分裂におけるアクチン系との関係という一例をもってしても、それか実はもっとも基本的な細胞機能解明への契機を内包していることは言うまでもない。そして、それが単に細胞分裂や増殖という問題にとどまらず、生物学に残された最大の謎、今なお解き得ない分化の機構の解明と、どこか深いところで繋がっている筈だという強い期待をもって、今しばらくこの仕事を続けてみたいと思っているところである。

文献

- 1) E.Fibach & L.Sachs: J. Cell. Physiol. 83, 177 (1974)
- 2) M.Guez & L.Sachs: FEBS Lett. 37, 149 (1973)
- 3) K.Hirai, K.Nagata, M.Maeda & Y.Ichikawa: submitted for publication
- 4) B.Hoffman-Liebermann & L.Sachs: Cell 14, 825 (1978)
- 5) Y.Honma, T.Kasukabe, J.Okabe & M.Hozumi: Gann 68, 241 (1977)
- 6) Y.Honma, T.Kasukabe & M.Hozumi: Gann 68, 405 (1977)
- 7) Y.Honma, T.Kasukabe & M.Hozumi: Biochem.Biophys.Res. Commun. 82, 1246 (1978)
- 8) M.Hozumi, K.Sugiyama, M.Mura, H.Takizawa, T.Sugimura, T.Matsushima & Y.Ichikawa: "Differentiation and Control of Malignancy of Tumor Cells" Univ. of Tokyo Press, Tokyo (1974) p.471
- 9) Y.Ichikawa: J. Cell. Physiol. 74, 223 (1969)
- 10) Y.Ichikawa: J. Cell. Physiol. 76, 175 (1970)
- 11) Y.Ichikawa, M.Maeda & M.Horiuchi: Exptl. Cell Res. 90 20 (1975)
- 12) Y.Ichikawa, M.Maeda & M.Horiuchi: Int. J. Cancer 17 789 (1976)
- 13) 井川 洋二: 科学 43, 458 (1973)
- 14) T.Kasukabe, Y.Honma & M.Hozumi: Gann 68, 765 (1977)
- 15) A.Krystosek & L.Sachs: Cell 9, 675 (1976)
- 16) J.Lotem & L.Sachs: J. Immunol. 116, 580 (1976)
- 17) M.Maeda & Y.Ichikawa: Gann 64, 265 (1973)
- 18) M.Maeda, M.Horiuchi, S.Numata & Y.Ichikawa: Gann 68, 435 (1977)

- 19) K.Nagata, E.Takahashi, M.Saito, J.Ono, M.Kuboyama & K.Ogasa: Exptl. Cell Res. 100, 322 (1976)
- 20) K.Nagata, K.Ooguro, M.Saito, M.Kuboyama & K.Ogasa: Gann 68, 757 (1977)
- 21) K.Nagata & Y.Ichikawa: J. Cell. Physiol. (1978) in press
- 22) K.Nagata & Y.Ichikawa: submitted for publication
- 23) M.Nakayasu, S.Shimamura, T.Takeuchi, S.Sato & T.Sugimura: Cancer Res. 38, 103 (1978)
- 24) I.Vlodavsky, E.Fibach & L.Sachs: J. Cell. Physiol. 87 167 (1976)
- 25) B.Weiss & L.Sachs: Proc. Natl. Acad. Sci. 75, 1374 (1978)
- 26) J.Yodoi, T.Masuda, M.Miyama, M.Maeda & Y.Ichikawa: Cell. Immunol. 39, 5 (1978)