

胃癌および大腸癌患者における好酸球増多症, 癌組織からの好酸球増殖因子の放出

山口大学医学部外科学教室第二講座 (指導: 石上浩一教授)

梶 原 達 観

〔原稿受付: 昭和60年11月12日〕

Eosinophilia in the Patients with Carcinomas of the Stomach and Colon, Release of Eosinophilopoietic Factor from Carcinoma Tissue

TATEMI KAJIWARA

The Second Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine
(Director: Prof. Dr. KOICHI ISHIGAMI)

Cancer patients are occasionally accompanied by eosinophilia, but the mechanisms remain obscure. To elucidate one mechanism that may account for cancer-associated eosinophilia, the author studied the proliferating factor of eosinophil in human tumors from the patients whose peripheral eosinophil counts are over $500/\text{mm}^3$.

Tumor cells were centrifuged at $600 \times g$, $10000 \times g$ and $100000 \times g$, respectively, and each extract was added to the human bone marrow cell culture, and eosinophilopoietic activity was assayed.

The result of this study showed that each extract from the tumors of eosinophilic patients had a eosinophilopoietic factor but no eosinophilopoietic activity was found in those from tumors of non-eosinophilic patients.

は じ め に

1893年ドイツの医学者 Rheinbach²⁹⁾ が、頸部の悪性腫瘍組織に侵入した、数多くの好酸球を認める症例を報告して以来、悪性腫瘍と好酸球の関係が論じられてきた^{12, 13, 17)}。しかしその多くは現症の記載のみに止

まり、他の炎症細胞のように生物学的意義は明らかにされていない^{8, 22)}。今回の研究では、教室の過去10年間の胃癌および大腸癌について好酸球増多症例を調査、検討し、また癌組織周囲の好酸球数や術前、術後の末梢血好酸球数の変動を調べた。好酸球増殖因子はある種の glycoprotein であるという報告を考慮して^{27, 28, 37)},

Key words: Cancer and Eosinophilia, Eosinophilopoietin, Assay of Eosinophil Colony Formation.

索引語: 癌と好酸球増多症, 好酸球増殖因子, 好酸球コロニー.

Present address: The Second Department of Surgery, Yamaguchi University School of Medicine, 1144 Kogushi, Ube 755, Japan.

組織標本を粘液染色することを試みた。また癌細胞を遠心し、各細胞分画を分離し、各分画による好酸球増殖能について検討した。

材 料 と 方 法

I. 教室の過去10年間の胃癌および大腸癌症例において、末梢血好酸球分画で6%以上、かつ絶対数 $500/\text{mm}^3$ 以上の症例を好酸球増多症症例とした^{9,26,35,39}。寄生虫感染やアレルギー疾患をもつ症例は除外した。

II. 胃癌および大腸癌の永久組織標本のHE染色において、癌組織周囲の好酸球数を光顕400倍で4視野算定し、平均をとった。好酸球増多症例を10例、好酸球数正常例を10例、盲検にて算定し、比較・検討した。

III. 治療切除が行われた胃癌および大腸癌の症例において、術前の末梢血好酸球数と、術後2週間目の末梢血好酸球数を、好酸球増多症群と好酸球数正常群についてそれぞれ比較・検討した。

IV. 癌組織にPeriodic Acid Schiff染色(以下PAS)、Alcian Blue染色(以下AB)、High Iron Diamine染色(以下HID)を施行し、好酸球増多症群と好酸球数正常群についてその染色態度を比較・検討した。

V. 癌細胞の分画と骨髓単核球の培養、染色

1) 癌細胞の分画¹⁾

癌組織を2g以上、新鮮切除標本より採取し、これを4°Cの等張リン酸緩衝液(pH 7.2)で洗浄し、細切した。次に4°Cの等張液(0.25 M ショ糖、0.25 mM EDTA, pH 7.0)の適量を加え、Potter型テフロンホモジナイザー(20 ml 用)によって周囲より氷冷しながら、600 r.p.m.で90秒間に1~2回上下させて、ホモジナイズした。これを4°C、600×gで20分間遠心し、

上清をsup. Iとした。次にsup. Iを、氷冷高速遠心分離機(TOMINAGA, Model NO90UV)を用いて、0°C、10000×gで30分間高速遠心し、その上清をsup. IIとした。さらにsup. IIを分離用超遠心機(日立 Model 80P)を用いて、0°C、100000×g、60分間遠心し、上清をsup. IIIとし、沈澱物はPBS(0.3 M pH 7.4)に溶解し、再度0°C、100000×g、60分間遠心した。この沈澱物を再度PBS(0.3 M pH 7.4)に溶解し、PPTとした。600×gではcell debris, nuclearが除かれ、10000×gではmitochondriaやlysosomeが、また100000×gではmicrosomeやcytoplasmic membraneが上清より除かれることになる(図1)。

2) 骨髓細胞の培養

悪性疾患をもたず、また寄生虫疾患、アレルギー疾患をもたない健康人より、同意を得て骨髓を穿刺吸引し、40 u/mlのヘパリンを加えた。これをBradleyとMetcalfの方法⁶⁾によって細胞培養に用いた。

骨髓をLymphoprep(比重1.070)に浮遊させ、室温1200 r.p.m.で20分間遠心分離した²⁸⁾。このうち単核球の層を α -Medium(Eagle's MEM)と混和し、室温、1500 r.p.m.で20分間2回洗浄した。さらに α -Mediumを用いて単核球数を 2×10^6 個/mlにそろえた。この単核球浮遊液を0.5 ml, Fetal Calf Serum 1 ml, $1 \times \alpha$ -Medium 0.5 ml, $2 \times \alpha$ -Medium 1.25 ml, Iscove's agar 1.25 ml, さらに骨髓球増殖因子として、sup. I, sup. II, sup. IIIおよびPPTを0.5 mlずつ計5 mlとして、半径3.5 cmの格子付き培養皿に1 mlずつ分注した。各細胞分画液sup. I, sup. II, sup. IIIおよびPPTはローリー法²⁹⁾により蛋白濃度を3 mg/mlとした。骨髓球増殖因子としては、ヒト白血球feederlayer(WBC-FL)、ヒト白血球あるいは単核球培養濾液³⁰⁾、肺癌から浅野および大沢らが作製したCSF²⁾、giant cell carcinomaから作製した市販のGCT-

表1 骨 髄 単 核 球 の 培 養

骨髓単核球の浮遊液	0.5 ml
子牛の血清	1 ml
$1 \times \alpha$ 培地	1 ml
$2 \times \alpha$ 培地	1.25 ml
Iscove の寒天	1.25 ml
刺激因子	0.5 ml

刺激因子として 上清 I, 上清 II, 上清 IIIおよびPPTを添加した。

対照として ヒト胎盤培養濾液(HPCM)および蒸留水を添加した。

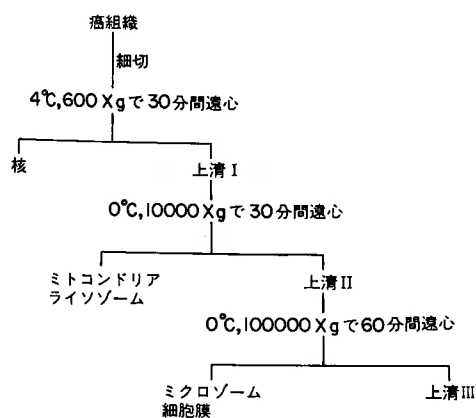


図1 癌細胞の遠心と分画

CSF などがあるが、今回の実験ではヒト胎盤培養液 (HPCM)¹⁵⁾ を増殖因子として使用し、細胞分画液の増殖能と比較・検討した。また刺激因子をなにも加えない dish も作製した。

3) 寒天培地の血球コロニーの染色

寒天層を 5 cm×7 cm のスライドガラスに移し²¹⁾、次いで Konwalinka らの方法²⁰⁾により、二重染色を行った。すなわち、まず naphtol AS-D chloroacetate esterase 染色を室温 1 時間により好中球系細胞を、次いで Bieblisch scarlet 染色を室温 2 時間により、好酸球系細胞を染色した。好酸球コロニーは、好酸球が 20 個以上集簇しているものをコロニーとして算定した³²⁾。

実験成績

I. 教室の過去10年間の胃癌および大腸癌患者において、好酸球増多症があり、治癒切除が行われた症例は48例であった (表2)。年齢による分類では50才から80才に集中していた (表3)。癌の進行度による分類では、胃癌において進行癌26例、早期癌 5 例で、大腸癌においては17例すべてが進行癌であった (表4)。性別では男性33例、女性16例であった (表5)。

癌の分化度による分類では、高分化型腺癌および中分化型腺癌を分化型とし、未分化癌および低分化型腺癌を低分化型とすると、低分化型に好酸球増多症例が多く認められた ($p<0.01$) (表6)。

II. 癌組織周囲の好酸球数は、好酸球増多症群では末梢血好酸球数正常群に比較して、有意に多く認められた ($P<0.01$) (表7)。また、好酸球の細胞質には空

表2 癌腫の分類

癌 腫	症 例 数
胃 癌	33
大 腸 癌	15
計	48

表3 年 齢 に よ る 分 類

年 齢	症 例 数
～ 40	2
41 ～ 50	6
51 ～ 60	12
61 ～ 70	17
71 ～ 80	12

表4 癌の進行度による分類

進 行 癌	胃 癌	26例
	大 腸 癌	17例
早 期 癌		5例

表5 性 別 に よ る 分 類

男 性	33例
女 性	16例

胞はみられず、核の脱落した細胞も認められなかった^{33,34)}。

III. 術前の末梢血好酸球数と術後2週間目の末梢血好酸球数を比較すると、好酸球増多症群においては、両者に有意の差を認めたが ($P<0.01$)、好酸球数正常群においては差を認めなかった (表8)。

IV. 好酸球増多症群および好酸球数正常群のおおの10例についてそれらの癌組織に PAS, AB, HID の粘液染色を行ったが、両者の染色態度に明らかな差は認められなかった (図2)。

V. 培養後2週間目に好酸球コロニーの数を算定すると、sup. I 添加群において、好酸球増多症群と好酸球数正常群の間に有意の差が認められた ($P<0.01$)。同様に sup. II 添加群, sup. III 添加群においても好酸球増多症群では多くのコロニー形成を認めた ($P<0.01$)。PPT 添加群においては両者の間に差を認めなかった。また sup. I 添加群と HPCM 添加群の間には差は認められず、sup. II 添加群, sup. III 添加群も同様であった。また好酸球増多症群において、sup. III

表6 癌の分化度による分類

高分化型	全症例数	349
	好酸球増多症例数	24
低分化型	全症例数	122
	好酸球増多症例数	20

表7 癌組織周囲の好酸球数

好酸球増多症例群	125
好酸球数正常群	13

光顕 400 倍で 4 視野を算定し平均をとった

表8 術前および術後の末梢血好酸球数

好酸球増多症群	術前の平均	852
	術後の平均	112
好酸球数正常群	術前の平均	99
	術後の平均	79

末梢血白血球数×好酸球分画(%)

添加群と PPT 添加群の間では有意の差で sup. III 添加群が多く好酸球コロニーを形成した ($P<0.02$) (表9, 図3a~d).

考 察

アレルギー疾患や寄生虫感染症およびある種の皮膚疾患などをもたない悪性腫瘍患者に、好酸球増多症がみられることは、1893年 Rheinbach²⁹⁾ 以来多く報告されてきたが、その本態は未だ明らかにされていない²²⁾。好酸球増多症は癌細胞の壊死によって惹起されるという報告¹⁴⁾や、癌細胞の広範な播種によるという報告³⁶⁾もある。1978年に Goetzi ら¹⁰⁾は、肺癌細胞に好酸球遊走因子を見出したが、その他にも同様の報告がなされた^{6,7,18,19)}。Basten らは、好酸球増多症は T-cell を介して発症するとした^{3,4)}。

また Slungaard らは、癌細胞中にある分子量 45000 の糖蛋白が骨髓に直接作用し、好酸球増多症を起こすと考えた^{30,31)}。岩崎ら¹⁶⁾は腫瘍細胞の周囲に著明な好酸球浸潤を伴う胃癌患者の腫瘍組織抽出液中には好酸球遊走因子が存在し、単離した腫瘍細胞には末梢血好酸球が短時間内にロゼットを形成することを観察した。今回の研究では、Slungaard の報告に注目し、胃癌および大腸癌患者で好酸球増多症患者の癌細胞には好酸球増殖能があるか否か、また癌細胞のどの分画に好酸球増殖能があるかを解明することを主眼とした。

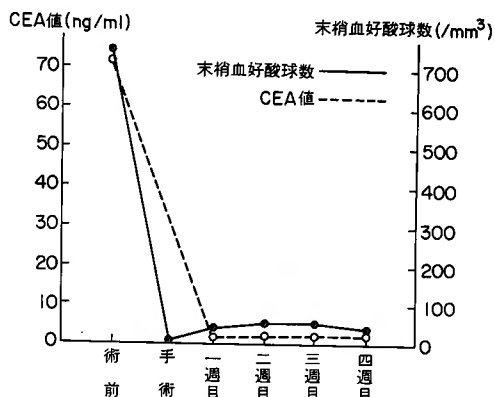


図2 結腸癌で好酸球増多症患者の術前、術後の末梢血好酸球数の推移および血清 CEA 値の推移

過去10年間の教室の統計では好酸球増多症例は、胃癌33例、大腸癌15例にみられ、全症例の4%であった。癌の進行度による分類では、胃癌、とくに早期癌にも好酸球増多症例が5例みられた。これは癌細胞の壊死や、広範な播種が好酸球増多症の原因であると考えにくい所見である。癌の分化度による分類では低分化型に多く好酸球増多症例が認められたが、この差については理由が不明で、さらに検討が必要と思われる。好酸球増多症群においては、癌組織周囲への好酸球浸潤が多く認められたが、これは癌細胞に好酸球遊走作用があることを示唆している。次に術前に比較して術後2週間目の末梢血好酸球数が、好酸球増多症群において有意に減少していたが、これより術前に癌組織により増殖していた好酸球が、術後、麻酔薬や創傷の治癒反応および各種の薬剤の影響がほぼ考えられなくなる2週間目には、癌細胞が摘出されているため正常に復したと考えられる。術前および術後の好酸球数の推移と、血清 CEA 値の推移とを比較すると、ほぼ相関し

表9 培養皿1個中の好酸球コロニーの数

好酸球数増多群					好酸球数正常群				
症 例	Sup. I	Sup. II	Sup. III	PTT	症 例	Sup. I	Sup. II	Sup. III	PTT
1	12	13	4	0	1	0	1	0	0
2	12	21	8	2	2	0	0	0	0
3	25	20	4	0	3	0	0	0	0
4	31	30	4	0	4	3	3	2	1
5	18	20	4	2	5	4	5	4	0
平 均	18	21	5	0.8	平 均	1.4	1.8	1.2	0.2

Sup. I, Sup. II, Sup. III および PPT を増殖因子として用いた。

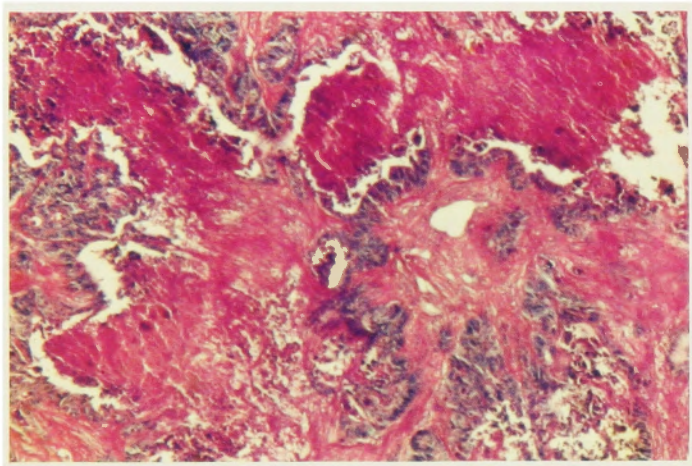


図3a 結腸癌で好酸球増多症患者の癌組織の PAS 染色

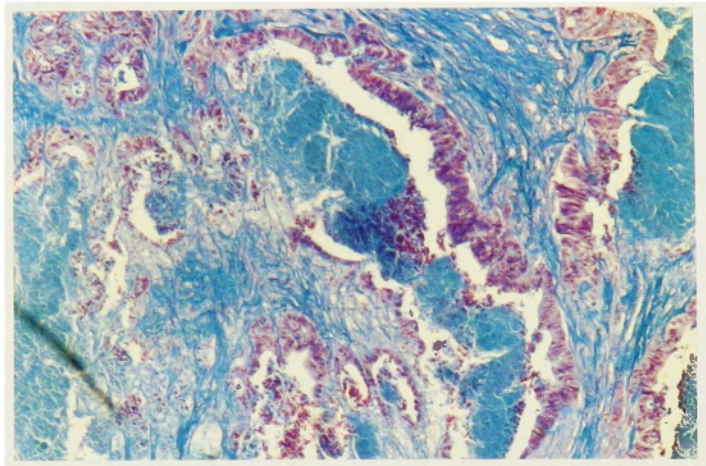


図3b 結腸癌で好酸球増多症患者の癌組織の AB 染色

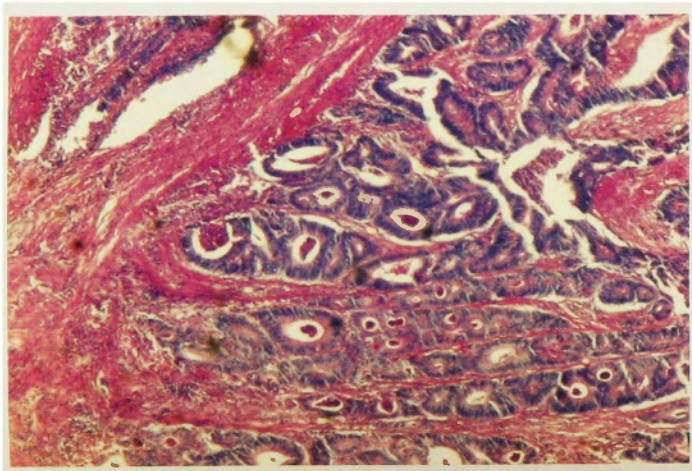


図3c 胃癌で好酸球数正常患者の癌組織の PAS 染色

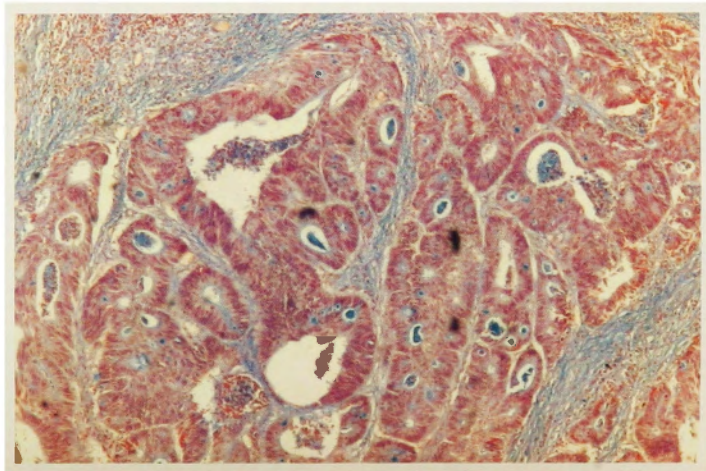


図3d 胃癌で好酸球数正常患者の癌組織の AB 染色

図3 癌組織の粘液染色

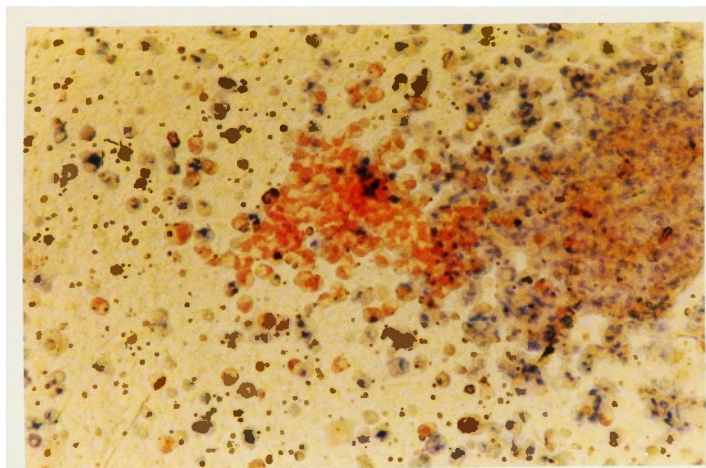


図 4a コロニー刺激因子として Sup. I を添加した

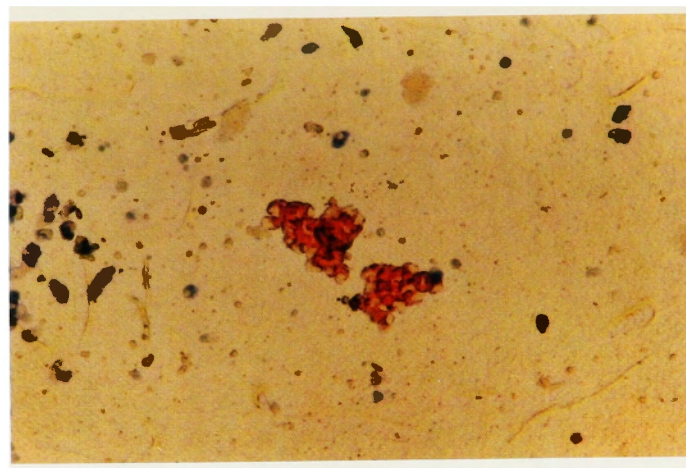


図 4b コロニー刺激因子として Sup. II を添加した

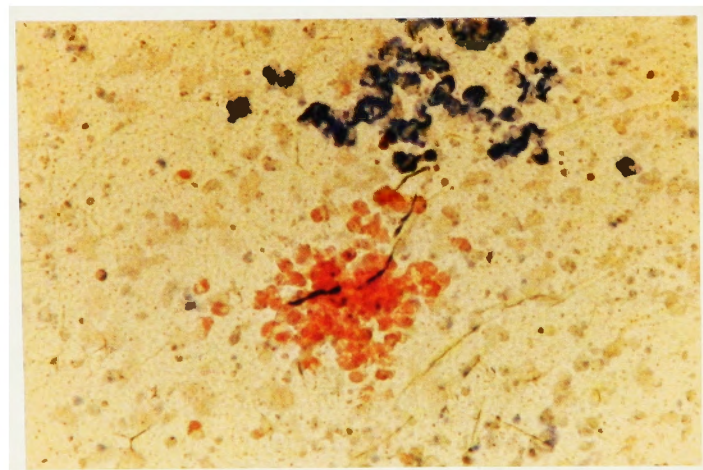


図 4c コロニー刺激因子として Sup. III を添加した

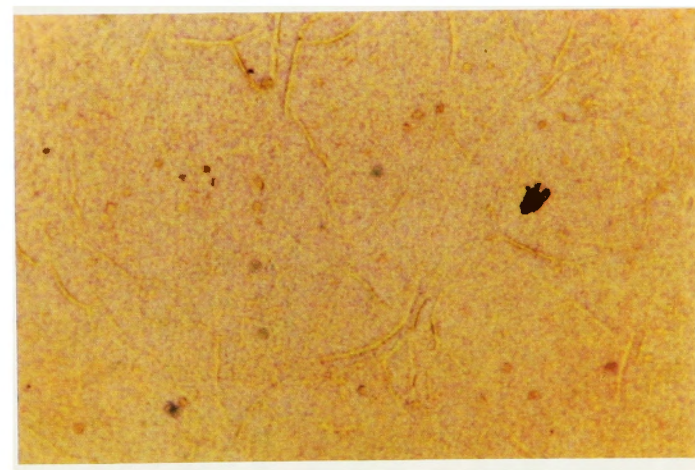


図 4d コロニー刺激因子として PPT を添加した

図 4 好中球および好酸球コロニー

好中球コロニーは青色に、好酸球コロニーは鮮紅色に染色された

た変動を示した(図4)。症例は、大腸癌で好酸球増多症例であり、治癒切除例である。このことも癌組織が好酸球増殖作用をもつことを示唆している。好酸球増多症群と好酸球数正常群の癌組織のPAS, AB, HID法による染色態度を比較したが、両者に著明な差は認められなかった。PAS染色は粘膜における中性および全glycoproteinの指数をあらわす。すなわち、グリコーゲン、中性脂肪、シアロムチン、スルフォムチンおよび糖脂質などを赤〜赤紫色に染める。またリン脂質も陽性を示す。pH 2.5のアルシアンブルーは硫酸基およびカルボキシル基の両者と良く反応するので、シアロノムチン、スルフォムチンなどの酸性粘液が陽性を示す。高鉄ジアミンは硫酸基に強く反応しスルフォムチンを黒紫色に染めるという特異性をもつ。好酸球増殖因子がglycoproteinであるという報告に注目したのであるが^{24,32)}、これは粘液染色によって差があらわれない物質が、いわばhormoneの形で骨髓を刺激したと考えるのが妥当であろう。

次に好酸球増多症患者の癌組織から分離されたsup. I, sup. II, sup. IIIなどを刺激因子として、骨髓単核球を培養すると、好酸球コロニーが形成された。その数はHPCMによる刺激とほぼ同様な結果であった。ところが好酸球数正常患者の癌組織から分離されたsup. I, sup. II, sup. IIIおよびPPTは好酸球コロニーを形成しなかった。また好酸球増多症例群において、PPT添加群には他のsup. I, sup. II, sup. III各添加群に比較して好酸球コロニーの形成が認められなかった。以上のことより、癌細胞の $100000 \times g$ における上清、すなわち、cytosol中に好酸球増殖因子が存在することが示唆された。このcytosolを精製すれば、好酸球増殖因子の本態が、一層明確なものになるであろうと思われる。

Warrenら³⁸⁾、宮城²⁵⁾は癌化に伴う細胞膜の異常は、癌細胞の膜結合シアロ酸量の異常であるといっている。シアロ酸は糖蛋白質、糖脂質、オリゴ糖などの糖類の非還元末端に局在し、シアリルトランスフェラーゼで付加され、シアリダーゼによって脱シアリ化される。また教室の浜中³⁾はシアロ酸が粘膜のbarrier機能の一面を呈しているとしている¹¹⁾。

以上のことにより癌細胞の上清においてシアロ酸の定性、定量を行うことにより、癌化に伴う好酸球増多症の解明が、可能になると推察される。

ま と め

1. アレルギー疾患や寄生虫感染症を除く、胃癌および大腸癌患者で、末梢血好酸球の絶対数が $500/mm^3$ 以上の場合を好酸球増多症としたが、教室の過去10年の統計では48例がこれに該当した。内訳は胃癌31例、大腸癌17例で、早期胃癌にも5例が認められた。

2. 癌組織周囲の好酸球浸潤は、好酸球増多症例において著明であった。このことより癌組織が好酸球遊走作用をもっていることが示唆された。

3. 好酸球増多症患者において、手術により癌組織を切除すると、術後末梢血好酸球数が正常化することが認められた。これは癌組織が好酸球増殖作用をもっていることを示唆していると考えられた。

4. 好酸球増殖因子はある種のglycoproteinであるという報告より、癌組織をPAS, ABおよびHIDの各方法を用いて粘液染色したが、好酸球増多症群と好酸球数正常群の間に差は認められなかった。

5. 好酸球増多症例の癌組織を3段階に遠心し、各上清で骨髓単核球を培養すると、いずれも好酸球コロニーを形成したが、好酸球数正常例の癌組織では形成しなかった。また $100000 \times g$ で遠心した上清は好酸球コロニーを形成したが、PPTは形成しなかった。以上より癌細胞各分画のうち、cytosol中に好酸球増殖因子が存在することが示唆された。

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師石上浩一教授に深甚なる謝意を表します。また、終始御指導、御助言を賜りました第三内科学教室篠原健次博士、東野洋一博士、第一生化学教室中村和行博士および第二外科学教室浜中裕一郎博士を初め教室員の皆様に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 阿南功一、紺野邦夫、他：基礎生化学実験法I、生物材料の取扱い方。東京、丸善株式会社：311-342, 昭49。
- 2) Asano S, et al: Demonstration of granulopoietic factor(s) in the plasma of nude mice transplanted with a human lung cancer and in the tumor tissue. *Blood* **49**: 845-852, 1977。
- 3) Basten A, Boyer MH, et al: Mechanisms of eosinophilia. I. Factors affecting the eosinophil response of rats to *Trichinella spiralis*. *J Exp Med* **131**: 1271-1287, 1970。
- 4) Basten A, Beeson PB: Mechanism of eosinophilia. II. Role of the lymphocyte. *J Exp Med* **131**: 1288-1305, 1970。
- 5) Bradley TR, Metcalf D: The growth of mouse marrow cells in vitro. *Aust J Exp Biol Med*

- Sci **44** : 287-300, 1966.
- 6) Cohen S and Ward PA : In vitro and in vivo activity of a lymphocyte and immune complex-dependent chemotactic factor for eosinophils. J Exp Med **133** : 133-146, 1971.
- 7) Colley DJ : Eosinophils and immune mechanisms. I. Eosinophil stimulation promotor(ESP): a lymphokine induced by specific antigen or phytohemagglutinin. J Immunol **110** : 1419-1423, 1973.
- 8) Connell JT : Morphological changes in eosinophils in allergic diseases. J Allergy **41** : 1-12, 1974.
- 9) Downey H : Hand book of hematology. New York, Paul B Hoeber Inc 483-492, 1938.
- 10) Goetzl EJ, Tashjian AH, et al : Production of a low molecular weight eosinophil polymorphonuclear leukocyte chemotactic factor by anaplastic squamous cell carcinomas of human lung. J Clin Invest **61** : 770-780, 1978.
- 11) 浜中裕一郎 : 逆流性食道炎の成因に関する実験的研究. 山口医学 **33** : 483-493, 1984.
- 12) Ham AW : Histology, 2nd ed. Philadelphia, JB Lippincott 143-148, 1953.
- 13) Hanlon DG : Eosinophilia in malignant disease. Minnesota Med **39** : 101-102, 1956.
- 14) Isaacson NH, Rapoport P : Eosinophilia in malignant tumors : its significance. Ann Intern Med **25** : 893-902, 1946.
- 15) Iscove NN, et al : Colony formation by normal and leukemic human marrow cells in cultures : Effect of conditioned medium from human leukocytes. Blood **37** : 1-5, 1971.
- 16) 岩崎一教, 藤村 隆, 他 : 高度好酸球浸潤を伴う胃癌患者組織中にみられる好酸球遊走因子の臨床的意義. 日外会誌 **83** (Suppl) : 156-156, 1983.
- 17) Kappis M : Hochgradige Eosinophilie des Blutes bei einem malignen Tumor der rechten Lunge. Muenchen Med Wchnschr **54** : 881-883, 1907.
- 18) Kay AB, et al : An eosinophil leukocyte chemotactic factor of anaphylaxis. J Exp Med **133** : 602-619, 1971.
- 19) Kazura JW, et al : The lymphokine "eosinophil stimulation promotor" and human Schistosomiasis mansoni. J Infect Dis **132** : 702-706, 1975.
- 20) Konwalinka G, et al : A new approach to morphological and cytochemical evaluation of human bone marrow CFU-c in agar cultures. Exp Hemat **8** : 434-440, 1980.
- 21) Kubota K, et al : A new technique for the cytochemical examination of human hemopoietic cells grown in agar gel. Exp Hemat **8** : 339-344, 1980.
- 22) 菊地浩吉, 他 : 医科免疫学. 東京, 南江堂 : 15-28, 昭51.
- 23) Lowry OH, et al : Protein measurement with the Folin reagent. J Biol Chem **193** : 265-275, 1951.
- 24) Mahmoud AAF, et al : Eosinophilopoietin. a circulating low molecular weight peptide-like substance which stimulates the production of eosinophils in mice. J Clin Invest **60** : 675-682, 1977.
- 25) 宮城妙子 : シアリルおよび N-アセチルグルコサミニルトランスフェラーゼの癌性変化とその意義. Oncologia **1** : 58-86, 1982.
- 26) Osgood EE : Textbook of laboratory diagnosis, 3rd edition Philadelphia, Blakiston Co, 39-48, 1944.
- 27) Paul B Beeson : Cancer and Eosinophilia. N Eng J Med **309** : 792-794, 1983.
- 28) Pertof H, et al : Separation of human monocytes on density gradients of Percoll. Journal of Immunological Method **33** : 221-229, 1980.
- 29) Rheinbach : Ueber das Verhalten der Leukozyten bei malignen Tumoren. Arch klin Chir **1** : 486-488, 1893.
- 30) Slungaard A, et al : Tumor induced eosinophilia and endocardial fibrosis, evidence for ectopic eosinophilopoietin production and toxic O metabolite-mediated endothelial damage. Trans Assoc Physicians **95** : 8-11, 1982.
- 31) Slungaard A, et al : Tumor induced eosinophilia and endocardial fibrosis, evidence for ectopic eosinophilopoietin production and O-radical-mediated endothelial damage. Clin Res **30** : 569A abstract, 1982.
- 32) Slungaard A, et al : Pulmonary carcinoma with eosinophilia. N Eng J Med **309** : 778-781, 1983.
- 33) Spry CJF, Tai P-C : Studies on blood eosinophils. Patients with Loefler's cardiomyopathy. Clin Exp Immuno **124** : 423-426, 1976.
- 34) Tai P-C, Spry CJF : The mechanisms which produce vacuolated and degranulated eosinophils. Br J Haematol **49** : 219-221, 1981.
- 35) Todd JC, Sanford AH : Clinical diagnosis by laboratory methods. 10th edition. Philadelphia, WB Saunders : 56-60, 1943.
- 36) Viola MV, Chung E, et al : Eosinophilia and metastatic carcinoma. Med Ann DC **41** : 1-3, 1972.
- 37) 和田武雄 : エオジン嗜好球増多物質 (EPF) に関する研究. 北女医級要 **1** : 1-7, 1949.
- 38) Warren L, Buck CA, et al : Glycopeptide changes and malignant transformation. A possible role for carbohydrate in malignant behavior. Biochim Biophys Acta **516** : 97-127, 1978.
- 39) Wintrobe MM : Clinical hematology. Philadelphia, Lea and Febiger : 52-59, 1942.