

Title	赤色腫および虹彩黒色腫細胞株樹立の比較腫瘍学的意義
Sub Title	
Author	松本, 二郎(Matsumoto, Jiro)
Publisher	慶應義塾大学法学部
Publication year	1983
Jtitle	慶應義塾創立一二五周年記念論文集：法学部一般教養関係 (1983. 10) ,p.396(27)- 408(15)
JaLC DOI	
Abstract	
Notes	
Genre	Book
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=BN01735019-00000003-0396

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

赤色腫および虹彩黒色腫細胞株樹立の 比較腫瘍学の意義

松 本 二 郎

1 比較腫瘍学——腫瘍現象の系統発生学的解析

腫瘍の発生はヒトや高等な哺乳動物にのみ特異的に起こる現象ではない。多細胞生物の存在するところには腫瘍と見做される細胞の異常現象が必ず見出される。^{1,2)} 腫瘍とは多細胞生物に発現した変異細胞の集団で、その起源は自分自身を構成する細胞であり外来性のものではない。生物体を構成する正常な細胞が腫瘍細胞に変わる時に起こる「異変」(Neoplastic transformation)には、その生物の成立を可能にしている秩序が正常に作動しなくなるという表現で総括されるような広範な内容が含まれている。³⁻⁵⁾ 細胞の営みは、正常であろうと腫瘍であろうと、組み込まれている遺伝子情報の総目録から、その時々細胞が置かれた状況に応じて必要な情報を選び出し、生命の営みの直接的な担い手である酵素蛋白質に転写・翻訳し、この分子の触媒作用が稼動することで実現する。従って、腫瘍細胞が異常な営みを発現するようになった原因としては、遺伝子そのものの組成変化(突然変異)と遺伝子情報の発現機構の変化(転写・翻訳の異常)との二つの異なる作用部位が推測される。⁶⁾ 一旦、腫瘍化した細胞が増殖を繰り返しても腫瘍としての異常な性状が保持されていることを考えると遺伝子水準で何らかの変化が起きていることを予測するのが自然であろう。このような意味での腫瘍化に関与する要因として、これまで、「癌原性物質」の名称で包括される多様な化学物質と紫外線や放射線のような輻射線と腫瘍ウィルス^{3,6)}が挙げられてきた。これらの要因が細胞を腫瘍化する作用機序を解析するため

には、細胞以下の水準での標準化された実験系が必要となる。さらに、腫瘍を扱う時、常に問題となる悪性度は、その腫瘍が動物に死をもたらす時間の長さで評価されるが、これを細胞水準で診断する時には細胞の増殖速度、組織浸潤性または転移能に関連した性質、分化誘導に伴う増殖能の減少を期待しての分化誘導の難易度等が標識となる。このような悪性化に伴う細胞性状の変化の解析には生化学的な解析に耐える均質な腫瘍細胞系が必要となる。この目的を満たすために、これまでに、哺乳動物やヒトの腫瘍から多くの細胞株が樹立され⁷⁻¹¹⁾実験的解析に供されてきた。

腫瘍の成因や腫瘍細胞の特性を進化水準の低い動物について解析しようとする研究領域は比較腫瘍学と呼ばれる。比較腫瘍学の発展は4段階に区分することができるという。²⁾第一の段階は自然に発生する腫瘍を博物学的に症例として報告するもの；第二段階は自然環境で発生する腫瘍の型と動物種との関連を系統発生を考慮しながら同定してゆくもの；第三段階は下等動物の腫瘍を分析的な解析の可能な実験系として確立するもの、そして最後の第四段階はヒトや哺乳類で先に解明されている腫瘍に関する知見を進化水準の低い動物の腫瘍と比較し、腫瘍の早期発見、予防、治療等に関する方策を探索するというものである。

魚類に発生した腫瘍が腫瘍一般の研究に大きな貢献をした事例は少なくとも過去に二つ挙げることができる。その一つは淡水産熱帯魚の一種ソードテイルとブラティフィッシュとの種間交雑によって発生する黒色腫で腫瘍形成に遺伝的背景が関与することを明確に示したことは重要である。この腫瘍系の発見は愛玩用観賞魚の飼育と新しい品種の開発が動機となっているが、癌研究に最も広く使用されているハツカネズミが最初、愛玩動物として飼育され、後に貴重な実験動物になったことと類似している。第二の事例はニジマスに発生する肝癌で環境中に存在する癌原物質（この場合はアフラトキシン）がこの腫瘍発生に関与していることを明確に示したことである。^{12, 13)}食物中の特定の化学物質と特定腫瘍の発生との因果関係を実験的に示したのは、ニワトリに発生する白血病がウ¹⁴⁾

ウイルスにより惹起される因果関係の分析と同様に、環境中に発癌の要因が存在するという知見を確立した点で癌研究に重要な功績を残しているといえる。

2 赤色腫と虹彩黒色腫——下等脊椎動物にのみ発現する腫瘍

魚類や両棲類に赤黄色の色素をもった皮膚腫瘍が発生することはかなり古くから散発的に報告されてきた。^{1,2)}1976年に赤橙色の体色をもつキンギョ (*Carassius auratus*)¹⁵⁾の変種に赤色色素を含有する皮膚腫瘍が発見された。この腫瘍はこれまでに神経鞘腫またはシュバン氏鞘腫であろうと同定されていた。^{16,17)}筆者らは腫瘍細胞中に沈着する色素を細胞化学的、生化学的 (ペーパークロマトグラフィ法) により解析し、フテリン色素とカロチノイド色素が存在すること、これらの細胞には色素の支持装置としてフテリノソーム及びカロチノイド小胞が分布することを電子顕微鏡法で明らかにした。¹⁵⁾これらの知見はこの腫瘍の構成細胞が明色色素を合成する色素細胞 (赤色素胞または黄色素胞) であることを示しており、赤 (黄) 色素胞の腫瘍という意味で赤色腫または赤色素胞腫 (*Erythrophoroma*)^{15,18)}と名付けた。これまでに、キンギョ赤色腫は33例について検索・同定されており現在¹⁹⁾は必ずしも稀に発生する腫瘍ではないことが示されている。同一個体に二個以上の赤色腫が発現することも認められた。赤色腫の外観はゆるやかな肥厚を伴うものが多く、極端な隆起を示すものは比較的稀である。腫瘍の表面は滑らかで鱗を伴うことはない。¹⁵⁾

魚類や両棲類には虹彩色を呈し反射小板を含有する皮膚腫瘍も発生する。^{1,2)}これらの腫瘍はこれまで虹彩 (色素胞) 腫またはグアノ胞腫と呼ばれ検索・同定の記録が残されている。本邦近海に棲息する海産魚ニベ (*Nibea mitsukurii*) にこの型の腫瘍が比較的高頻度に発生することが報告されている。^{20,21)}この腫瘍は黒色腫 (黒色素胞腫) と混在して発生し、同一個体では背側で黒色腫、腹側で虹彩腫として発現することが多い。この性状は腫瘍細胞とはいえ発現する色素形質が場の影響を受ける事例として興味深い。筆者らの電子顕微鏡法及び組織培養法による検索はこれらの腫瘍は黒色素胞と虹彩色素の二型から構成され外観

の差は二型の含有密度の差によることを解明している。これらの知見を基礎にこの腫瘍は虹彩黒色腫 (Irido-melanophoroma) と命名された。²²⁾

赤色腫及び虹彩黒色腫は変温脊椎動物に特異的に分布する腫瘍で温血脊椎動物で検出されたという報告はない。これは正常色素細胞の分布が変温脊椎動物では黒色素胞, 赤(黄)色素胞, 虹彩(色素)胞の三型を基本としているが,^{23, 24)} 温血動物に進化すると黒色素胞一型に収斂することと対応している。今後, 精巧な分析を温血動物皮膚腫瘍に適用し, 赤色素胞や虹彩色素胞に近い表現型をもつものが検出されれば進化論的見地からは興味深い, これまでのところこのような報告はない。

3 魚類の色素性腫瘍からの細胞株の樹立

キンギョ赤色腫から株細胞を樹立する試みは1976年にこの腫瘍の同定に引き続いて行なわれ,²⁵⁾ 1977年には最初の株細胞が樹立されている。これまでに33例の赤色腫が発見され, その約1/3に相当する腫瘍の剖検組織片から初代培養の樹立が試みられた。これらのうち継続的に安定した増殖を示し初期感染を伴うことなく細胞株樹立に至ったものは5例であった。これらの細胞株は起源腫瘍のGoldfish Erythrophoroma および常陸宮(Masahito)の頭文字を取って GEM と名付けられた。数字は癌研究所における常陸宮の収集による比較腫瘍学関連の試料番号を示している。GEM-81 株は約1年半に継続的に200世代以上にわたり継代培養されている。

ニベ虹彩黒色腫から株細胞を樹立する試みは赤色腫より約1年遅れてなされた。これまでに2個体からそれぞれ2ケずつ剖検組織片を得て初代培養を行ない^{22, 26)} 2株の細胞株を樹立した。細胞株は Nibea Irido-melanophoroma の頭文字と赤色腫と同様な収集者の頭文字を付して NIM と名付けられた。初代培養では NIM-1 株は黒色腫として, NIM-2 株は虹彩腫としての形質を屢々発現したが継代後は虹彩腫としての形質を発現することが多い。

赤色腫 GEM 株のうち, GEM-49, GEM-81, GEM-199, GEM-218,

GEM-322 の 5 株について 30 世代目の培養を中心に標識色素の形成能を検索すると、**confluency** 成立後は培地が胎児仔牛血清添加のものであってもプテリ²⁵⁾ジンを形成することが明瞭に示されている。赤色腫細胞はプテリン色素の自律的合成能をもつと結論づけられる。プテリン色素の組成は胎児仔牛血清系培地での長期継代後はビオプテリン、イソキサントプテリンが主力となり *in vivo* では 7-ヒドロキシビオプテリン、イソキサントプテリンが代表的な構成成分であるのとは異なっている。コイ血清添加培地で継続培養されたものは *in vivo* に近づく傾向を示している。

赤色素胞の標識色素にはカロチノイドも存在するが、この色素は *in vivo* の赤色腫には顕著な沈着をみるものが多いのに反し、胎児仔牛血清系培地では継代後沈着がみとめられない。然し、培地にコイ成魚より採取された血清を添加するとこの色素の沈着が認められる。これらの知見は赤色腫細胞はカロチノイド色素に対しては自律的合成能を保持しないが選択的に蓄積する能力を保持していることがわかる。²⁷⁾

虹彩黒色腫の NIM-1, NIM-2 株は通常の培養条件下でも散発的に黒色素や反射小板様構造を形成するので起源腫瘍と同種の色素の形成能を付与されていることがわかる。²²⁾ これらの知見の総括は樹立された細胞株は色素細胞としての形質を発現し、その形質はほぼ起源腫瘍に検出されたものに対応しており色素細胞起源であることを示している。

赤色腫も虹彩黒色腫も初代培養では“conditioned medium”が使用された。“conditioned medium”にはハムスター胚細胞 (3×10^3 細胞/60×15mm 培養皿) を X 線照射 (5,000R) 後 24 時間培養した培養液 (L-15: 7 容, 胎児仔牛血清: 2 容, 水: 1 容, ペニシリン: 100 単位/ml, ストレプトマイシン: 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$)²⁵⁾ を同組成の新鮮培養液と 1:1 の混合比で調製したものを使用した。また, NIM 株は原腫瘍が海産魚に発生したものであるので培養液の浸透圧を調節するために 0.04M の NaCl が添加されている。

これらの細胞株が腫瘍起源細胞であることの *in vitro* での証拠には次の三

キンギョ赤色腫細胞株 GEM-81 の培養系における光学顕微鏡像

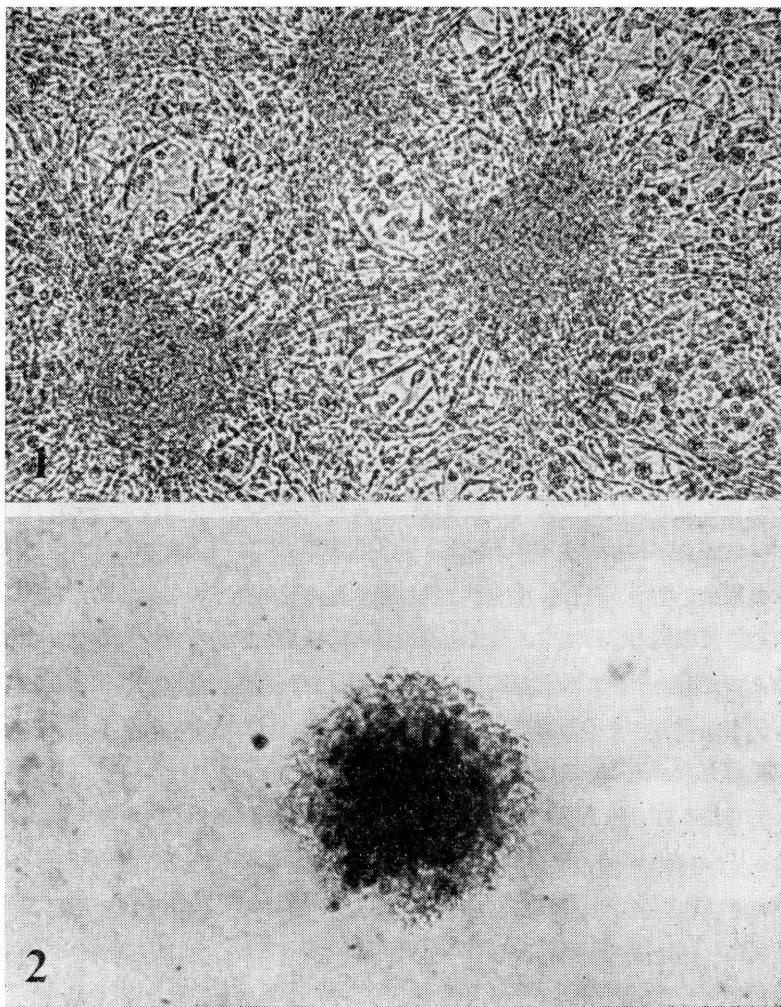


図 1. 単層培養（胎児仔牛血清添加培地使用）におけるクローニングされた株（Clone-1）。細胞配列は乱雑で培養面を蔽う以前に重畳しコロニーを構築する。倍率100×

図 2. 軟寒天培地（conditioned medium 使用）におけるコロニー形成。中心部の細胞にメラニン色素の沈着を認める。倍率100×

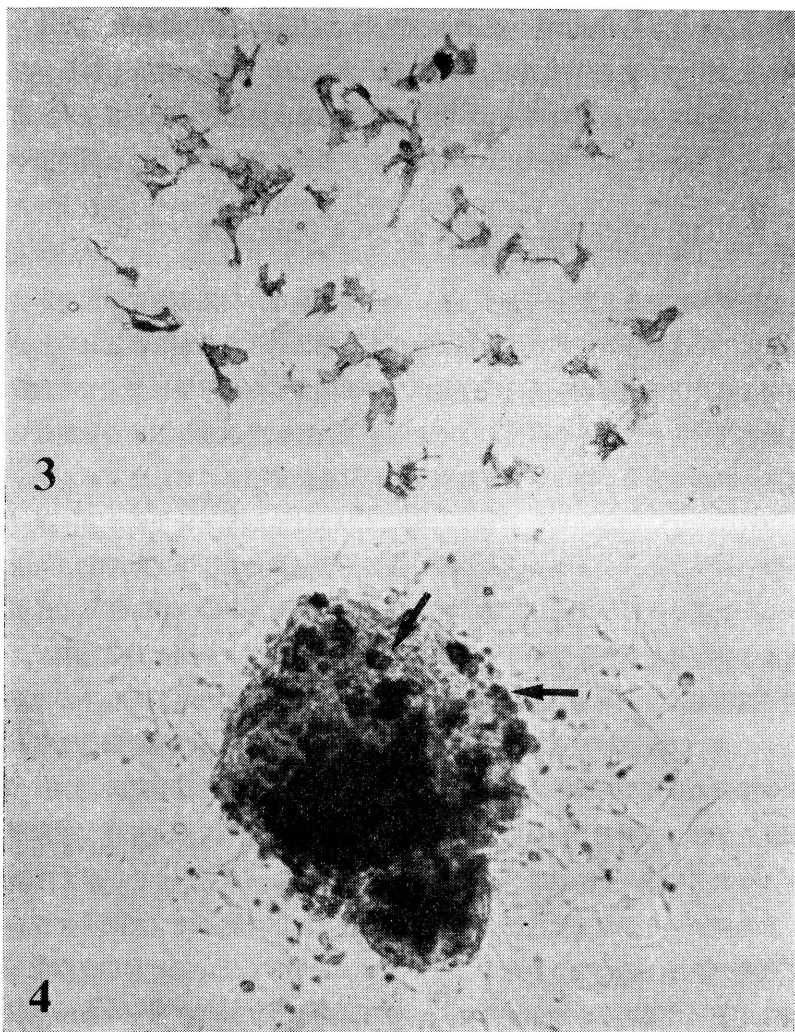


図 3. コイ血清添加培地使用の単層培養系でのメラニン形成能をもつコロニー。メラニン形成細胞の形状は相互に類似し単一細胞起源を示唆している。 倍率100×

図 4. コイ血清添加培地使用の単層培養系に発現した真皮性骨格（鱗片又は歯片）様構造（矢印）を形成するコロニー。 倍率100×

つを挙げることができる：1) 単層培養系で細胞配列は乱雑な criss-cross を呈すること (図1参照), 2) confluency 成立以前に重量を開始すること (図1参照), 3) 軟寒天培地でコロニーを形成すること (図2参照)。これらの条件は赤色腫細胞 GEM-81, -199, -218 及び虹彩黒色腫細胞 NIM-1, -2 で満されるので “neoplastic transformation” を起こした細胞であることがわかる。

4 魚類起源の色素性腫瘍細胞にみられる多能的細胞分化

赤色腫も虹彩黒色腫も confluency 到達後, 稀に, 異型の色素形成を示す。赤色腫ではメラニン, 虹彩黒色腫では赤色色素である。しかし, これら散発的に稀に起こる色素形成を除けば一般に色素に関する表現形質は安定で継代による顕著な変化は認めない。このような安定した性状を示す株細胞を細胞分化誘導剤で処理すると多様な形質が発現する。分化誘導剤にはジメチルスルフォキシド (DMSO), フォルボールエステル (TPA), 酪酸, デオキシプロモウリジン, レチノイド, デオキシメサゾン, 副腎皮質刺激ホルモン (ACTH), メラノフォア刺激ホルモン (MSH) 等が使用された。これらの誘導剤のうち赤色腫細胞に顕著な分化誘導を誘起するのは DMSO と TPA, 虹彩黒色腫細胞では酪酸であった。これまで, 分化誘導に関し密度高い解析がなされているのは赤色腫^{22, 26)}であるので記述は赤色腫に力点を置き, 虹彩黒色腫は赤色腫と顕著な差異を示す部分のみに触れることとする。最近, コイ血清が赤色腫細胞に対し分化誘導能を示すことが明らかにされているが虹彩黒色腫細胞に対しては十分な解析がなされていない。

赤色腫で分化誘導により形成される色素はメラニン, ドロソプテリンのような異型プテリン, 白色～反射色素であるプリン等である。これらのうち最も頻度高く発現するのはメラニンである。DMSO と TPA はメラニン色素形成を誘起するが分化誘導された細胞は増殖を長期にわたり継続することができず終末分化に到る。これに反しコイ血清は単にメラニン色素形成を誘導する (図3参照) のでなく, 分化誘導された細胞群の多くを長期にわたり増殖させること

ができ、メラニン色素に関連した生理学的な形質に関しても分化させることができる。^{27, 28)} DMSO や TPA による生化学的に検索できるメラニン形成の誘導は株細胞によって異なるが、GEM-81 では母細胞集団の約 70% の細胞に惹起できるのに反し、コイ血清による誘導は同株で 1/3500 程度の頻度である²⁸⁾ので細胞分化誘導の機序が両者で異なることが強く示唆されている。コイ血清による誘導でも異型プテリンやプリンを産生し乍ら増殖能を示す細胞群が発現する。DMSO や TPA による分化誘導は誘導された細胞が短期的に増殖しても次第に接着性を失い細胞集塊として浮上してしまいクローンとしての解析ができないが、コイ血清による誘導は被誘導細胞がクローンとして増殖するのでメラニン形成能、メラノソームの性状、明色色素形成能、細胞形態、生理学的反応性、増殖能、終末分化に到達する期間等について個別に探求できる利点を備えている。^{27, 28)} コイ血清による細胞分化誘導の技術は著者らにより開発されたが、この技術がもたらした成果は、1) 赤色腫株細胞中にはコイ血清の分化誘導に対し感受性を示すものと示さないものが存在し、2) 感受性を示す細胞群は表現形質、最終到達分化度などの異なる多様なクローンから構成されており、その表現形質はコイ血清の存在する限りかなり安定して保持されていることを示したことである。赤色腫のうちコイ血清感受性の最も高い株は GEM-81 でメラニン形成に関連した形質を発現する細胞の含有率は 1/3500 程度であるがこの 1/3500 の細胞群の中に予定分化能の異なるクローン群が組み込まれている。この小数派に該当する細胞群をクローンとして分離し性状を比較すると正常黒色素胞の分化にみられる三段階で増殖している細胞群が存在することがわかる。それらは、1) 黒色素芽細胞型、2) 色素反応を示さないメラノサイト型、3) 色素反応を示すメラノフォア型²⁸⁻³⁰⁾である。特に腫瘍起源の細胞から正常細胞では終末分化を達成したと考えられるメラノフォアと機能的に同等な細胞が発現し、しかも、その機能を保持しながら増殖しているという知見は重要である。²⁸⁾ 赤色腫株細胞でコイ血清によるメラニン形成を誘導されない細胞群中には、1) 自己再生専従の幹細胞型細胞、2) プテリン色素合成に方向づけられ

た赤（黄）色素細胞型の細胞，3)カロチノイド沈着に方向づけられた赤（黄）色素細胞型の細胞，4) 真皮性骨格など色素形質以外の形質形成に方向づけられた細胞群（図4参照）が存在し，いずれもクローンとして分化してくる。これらの知見を総括すると赤色腫細胞株母集団は予定分化能の多様なクローンから構成されており顕著な clonal heterogeneity が存在するということになる。コイ血清による分化誘導法はこの潜在する heterogeneity を顕在化させる方法といえることができる。

従来の色素細胞の発生学はこの細胞分化は神経冠起源細胞から出発し，色素形質毎に通常はメラニン系，プテリン-カロチノイド系，プリン系の三系列について-芽細胞，-サイト，-フォアの分化段階があると考えられてきた。赤色腫細胞での分化誘導はそれぞれのクローン毎に一気にその予定分化の段階に到達せしめ，それを形質として発現することを明らかにしている。

5 Clonal heterogeneity 成立と腫瘍形成

腫瘍形成には initiation と promotion と呼ばれる二段階があると考えられている。⁶⁾正常細胞が腫瘍化する第一段階の initiation は個々の細胞に，無作意に，遺伝子であるデオキシリボ核酸（DNA）の損傷として起こる。DNA 損傷は細胞自体の持つ修復能により修復されるがある確立で完全に修復されなかった DNA は組成の欠損・異常をもった突然変異細胞を形成する。キンギョ³¹⁾の赤色腫の発生頻度が加齢との間に一定の指数関数的関係をもつことは発癌要因が無作意に作動していることを強く示唆している。この腫瘍の発現部位が背側から側線に及ぶ体側上半部位に集中していることは紫外線等イオン化輻射線がこの腫瘍の initiation と関連してことを示唆するであろう。また，この部位特に背側は神経冠幹細胞の分布密度が高いと推測されるが，赤色腫が幹細胞～芽細胞型腫瘍であることと関連して興味深い。正常の神経冠起源細胞が‘neoplastic transformation’を起こすのに必要な DNA 損傷の頻度は複数であろう。正常組織細胞中に形成された予定腫瘍細胞は増殖を開始する。恐らく，

このような細胞は遺伝子複製機構にある種の安定性を欠き、増殖の進行と共に染色体構成に変異をもち込むと予測される。腫瘍の起源細胞が単一であっても染色体複製の仕組みにもち込まれた不安定性は後継細胞群を異質な細胞の集団としてゆくであろう。事実、赤色腫株細胞には顕著な heteroploidy が認められ、正常細胞の $2n=100$ に対し、GEM-81 株での中央値は90代と170代に認められる。³²⁾ 一度誘起された染色体水準での不安定性はその後に追加累積される体細胞変異によってさらに増幅される。腫瘍を構成する細胞集団は時間経過と共に多数の subpopulation 間の競争関係を派生し、増殖速度の差を基礎として選択が起こり構成細胞の変遷をもたらす。Promotion と呼ばれる過程には initiation³³⁾ 後に起こるこのような一連の現象が包含されていると思われる。加齢の進行した大型の腫瘍ほど構成細胞の heterogeneity は増幅されると推測される。赤色腫株細胞の樹立に用いられた腫瘍は大きさはまちまちであるが、一般にある大きさを呈したものを使用しており株細胞樹立の段階で既に heterogeneity は成立していたと推測するのが妥当であろう。株細胞樹立過程で、さらに、使用培地に対する適応性の差から subpopulation の選別・移行が起こっていると思われる。

コイ血清により赤色腫株細胞母集団内に予定分化能の異なる細胞群が形成され、顕著な clonal heterogeneity が存在することが示されたのは上述の腫瘍形成の一断面を明瞭に示したものと見做される。さらに、DMSO や TPA など膜系の擾乱を介して細胞分化の誘導を起こすと考えられる薬剤が、赤色腫株細胞の分化能にみられる heterogeneity を増幅することは腫瘍細胞に惹起されている不安性誘発の機序に膜系が関与していることを示唆していると思われる。

これまでに得られた表現形質の異なるメラニン形成クローンは培養条件により色素反応性の獲得などにみられるように分化段階をすすめることができ、その発現順序は正常発生における色素細胞の分化に対応している。メラノフォア型細胞がメラノサイト型やメラノプラスト型細胞に逆行分化を示す事実が得ら

れないことは赤色腫の起源細胞の分化段階について有効な示唆を与えてくれる。換言すれば、赤色腫の initiation が起きたのは神経冠幹細胞またはそれに準ずる分化段階にある細胞と推測されることを意味している。

このような推測は株細胞の樹立とそれを用いての細胞動態的な解析の成果であって、比較腫瘍学の発展段階からみれば、赤色腫（そして虹彩黒色腫もやや遅れて）の研究は第三期から第四期への移行期にあると結論づけられるであろう。

- 1) Wellings, S. R.: Natl. Cancer Inst. Monogr., 31, 59, (1969)
- 2) Benirschke, K., F. M. Garner and T. C. Johnes (eds.): Pathology of Laboratory Animals, Vol. II, p. 1051, Springer-Verlag (1978)
- 3) 杉村隆ほか編：岩波講座“現代生物科学”15巻，癌，岩波書店（1976）
- 4) 岡田節人：がん細胞，東京大学出版会（1979）
- 5) 菅野晴夫，小林博編：腫瘍病理学，朝倉書店（1970）
- 6) Pitot, H. C.: Fundamentals of Oncology, Marcel Dekker, New York (1978)
- 7) Shannon, J. E., M. M. Macy, D. A. Stevens (eds.): Catalogue of Strains II. 1 st. ed. The American Type Culture Collection, Rockville (1975)
- 8) 佐藤 博：蛋白質・核酸・酵素，15巻，5号，624頁（1970）
- 9) 勝田 甫：蛋白質・核酸・酵素，15巻，5号，645頁（1970）
- 10) Wolf, K., M. C. Quimby: Science 144, 1578 (1964)
- 11) Wolf, K., M. C. Quimby: Fish Physiology (Hoar, W. S., P. J. Randall, eds.) p. 253 Academic Press, New York (1969)
- 12) Gordon, M.: Ann. N. Y. Acad. Sci. 71, 1213 (1958)
- 13) Anders, A., F. Anders: Biochim. Biophys. Acta 516, 61 (1978)
- 14) Hendricks, J. D., R. O. Sinnhuber, P. M. Loveland, N. E. Pawlowski, J. E. Nixon: Science 208, 309 (1980)
- 15) Ishikawa, T., Prince Masahito, J. Matsumoto, S. Takayama: J. Natl. Cancer Inst. 61, 1461 (1978)
- 16) Schumberger, H. G.: Cancer Res. 12, 890 (1952)
- 17) Duncan, T. E., J. C. Harkin: Am. J. Pathol. 55, 191 (1969)
- 18) 石川隆俊，正仁親王，松本二郎，高山昭三：第37回日本癌学会総会記事 133頁（1978）
- 19) Takayama, S., T. Ishikawa, Prince Masahito, J. Matsumoto: Phyletic Approaches to Cancer, Dawe, C. J. et al. (eds.), Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, p. 3, (1981)
- 20) 吉崎幸一，田村保，木村郁夫，伊藤正夫：日本病理学会誌 68巻，140頁（1979）
- 21) Kimura, I., N. Taniguchi, H. Kumai, M. Nakamura, I. Tomita, N. Kinai, S. Saito, H. Kitaori, K. Yoshizaki, M. Ito, S. Yamada, S. Kubota, T. Miyazaki, T. Miyake,

- T. Ishikawa, T. Nagayo: Natl. Cancer Inst. Monogr. in press.
- 22) Matsumoto, J., T. Ishikawa, Prince Masahito, A. Oikawa, S. Takayama: Phyletic Approaches to Cancer, Dawe, C. J. et al. (eds), Japan Sci. Soc. Press, Tokyo, p. 253 (1981)
- 23) Bagnara, J. T., M. E. Hadley: Chromatophores and Color Change, Prentice-Hall, Englewood Cliff, N. J. (1973)
- 24) 松本二郎: 現代皮膚科学大系 清寺真他編 中山書店 3巻C, 235頁 (1982)
- 25) Matsumoto, J., T. Ishikawa, Prince Masahito, S. Takayama: J. Natl. Cancer Inst., 64, 879 (1980)
- 26) Matsumoto, J., T. Ishikawa, Prince Masahito, S. Takayama: Pigment Cell 1981, 515 (1981)
- 27) Matsumoto, J., T. J. Lynch, S. M. Grabowski, C. M. Richards, S. L. Lo, C. Clark, D. Kern, J. D. Taylor, T. T. Tchen, T. Ishikawa, Prince Masahito, S. Takayama: Am. Zool. in press.
- 28) Matsumoto, J., T. J. Lynch, S. M. Grabowski, J. D. Taylor, T. T. Tchen: Science 217, 1149 (1982)
- 29) 松本二郎, T. J. Lynch, S. M. Grabowski, J. D. Taylor, T. T. Tchen: 動物学雑誌 91, 596 (1982)
- 30) 松本二郎: 組織培養 9, 114 (1983)
- 31) Etoh, H., Y. Hyodo-Taguchi, K. Aoki, M. Murata, H. Matsudaira: J. Natl Cancer Inst. in press.
- 32) 松本二郎・秋山豊子: 未発表
- 33) Pardee, A. B., R. Sager: Cellular Controls in Differentiation, Lloyd, C. W., D. A. Rees (eds.) Academic Press, London, p. 171 (1981)