

Ehrlich腹水癌의 酸性뮤코多糖類에 關한 研究

서울대학교 齒科大學 口腔病理學敎室

(指導 金 東 順 敎授)

柳 署 潤

STUDIES ON THE ACID MUCOPOLYSACCHARIDES IN EHRlich ASCITES TUMOR

Ryu, Sue Yun, D.D.S.

(Directed by Prof. Kim, Dong Soon, D.D.S., M.S., Ph. D.)

Department of Oral Pathology, College of Dentistry, Seoul National University.

.....> Abstract <.....

This study was undertaken to determine the acid mucopolysaccharide fraction from tumor cells and ascites of Ehrlich ascites tumor-bearing mouse. The acid mucopolysaccharides were extracted according to a modified method of Meyer, et al. and to identify the acid mucopolysaccharide the electrophoretic techniques of Seno et al. on cellulose acetate strips and the analyses of uronic acid, hexosamine and sulfur were employed.

The obtained results were as follows;

1. The acid mucopolysaccharides contained in tumor cells are 2.6mg and 3.5mg/g dry weight at 6th and 11th day after transplantation respectively, while those in ascites are 27 mg and 26 mg/100 ml at 6th and 11th day after transplantation respectively.
2. The acid mucopolysaccharide fraction in tumor cells is consist of uronic acid (18.6%), hexosamine (17.7%) and sulfur (0.9%) at 6th day after transplantation, while that in ascites is consist of uronic acid (20.5%), hexosamine (21.6%) and sulfur (1.1%).
3. Electrophoretic pattern of acid mucopolysaccharides showed hyaluronic acid and chondroitin sulfate groups.
4. The protein bound hexose content of serum in Ehrlich ascites tumor is increased, while that of submaxillary gland in Ehrlich ascites tumor is decreased.

結 論

酸性뮤코多糖類(acid mucopolysaccharide)는 生體의 皮膚, 軟骨 및 腱 등의 結合組織內的 細胞外基質에 많이 存在하며 그 大部分은 非 collagen性 蛋白質과 結合되어 있어 뮤코多糖-蛋白質複合體로서 이루어지고 있다. 酸性뮤코多糖類는 細胞外液의 容量調節, 陽 이온의 移動, 滲透壓의 維持, 物質의 透過 및 組織의 纖維化等 生體內部環境을 調節維持하는데 重要한 役割을 하는 것으로 알려져 있다.

腫瘍組織은 實質인 腫瘍細胞와 間質인 結締組織으로 構成되어 있는데 이 結締組織纖維사이에 分布한 酸性뮤코多糖類가 包含되어 있는 것은 周知의 事實이다.

Kabat (1939)¹⁾가 Rous 肉腫 및 leucosis의 뮤코多糖類를 研究報告한 以來 사람 및 動物腫瘍組織에서 病理組織化學의^{2,3,4,5)} 및 生化學的方法^{6,11)}으로 檢索한 報告가 많이 있다.

腫瘍組織의 酸性뮤코多糖類는 hyaluronic acid와 chondroitin sulfate, 또 이 두 化合物이 混合하여 存在하고 또는 巨大細胞肉腫에는 heparin과 그의 關聯物質도 包含되어 있다 하였다⁹⁾.

또한 腫瘍組織에는 hyaluronidase와 類似한 擴散因子(spreading factor)가 있어 基礎物質인 酸性뮤코多糖類를 分解하여 周圍結締組織을 破壞하여 腫瘍細胞의 浸潤, 增殖을 도운다는 報告도 있다^{12,13)}. 그러나 腫瘍組織의 發育增殖에 어느程度 關與하는가는 아직도 確實치 않다. Takeuchi^{14,15)}와 木村¹⁶⁾ 등은 Ehrlich 腹水腫瘍에서 chondroitin sulfate와 hyaluronic acid는 腫瘍增殖을 促進시킨다 하였고, 또한 Lippman¹⁷⁾은 heparin이 腫瘍增殖을 抑制한다고 報告하였다.

著者는 本實驗에서 腫瘍을 細胞 level로 쉽게 分離할 수 있는 Ehrlich 腹水癌을 使用하여 腫瘍細胞 및 間質로서 存在하는 腹水 또한 顎下腺과 血清에서 酸性뮤코多糖類를 分離 同定하여 意義있는 結果를 얻었기에 報告하는 바이다.

實驗材料 및 方法

1. 實驗材料

實驗動物은 一定한 溫度 一定한 飼料條件下에 飼育한 25-30g程度의 마우스를 使用하였다.

約 5週된 마우스에 約 10⁷개의 Ehrlich 腹水癌細胞를 腹腔內에 無菌的으로 接種하였다. 固型飼料과 水道水로 飼育하여 腹水癌을 誘發시켜 6日과 11日에 開腹하여 腫

瘍性腹水を 採取하고 그후 곧 遠沈하여 細胞成分과 腹水を 分離하였다. 分離한 腹水는 그의 量을 測定하였다.

또한 對照群과 癌接種群과 比較키 爲하여 血清을 採取하고 顎下腺을 摘出하였다.

腫瘍細胞成分과 顎下腺은 0.45% NaCl로 二回洗淨하고 0.9% NaCl로 再洗淨한후 5倍의 acetone을 加하여 均質化시키고 chloroform-ether (2:1)에 脫脂乾燥후 乾燥重量을 測定하였다.

2. 酸性뮤코多糖類의 抽出方法

酸性뮤코多糖類의 抽出은 대부분 Meyer et al.^{8,18)} 方法에 依하여 行하였다.

즉 腫瘍細胞乾燥粉末 및 顎下腺乾燥粉末을 蒸留水에 suspension시킨것과 腹水를 5N HCl로 pH를 1.8로 調整하고 乾燥重量 1g當 20~30mg의 pepsin을 加하여 38°C에 48時間 消化시킨後 10N NaOH로 pH를 8.5로 調整하고 trypsin을 乾燥重量 1g當 40~50mg을 加하여 38°C 24時間 消化시켰다. 이에 蛋白分解酵素로 incubation중 pH를 恒常 一定하게 維持시켜주고 또 細菌의 混入을 防止키 爲하여 少量의 toluene을 加하였다.

그후 溶液을 5°C로 冷却하여 40% TCA로 終濃度가 10%가 되게 加하여 沈澱物을 遠沈分離하였다. 上清液에 calcium acetate를 25%되게 加하여 溶解하고 또 0.25N이 되게 glacial acetic acid를 加하였다. 4°C에서 overnight放置후 氷冷 ethanol을 1.25 volume되게 加한후 24時間 以上 冷所에 放置한후 沈澱을 10% sodium acetate와 1N acetic acid를 同量混合한 acetate buffer에 乾燥重量 1g當 4ml의 比로 溶解시켜 chloroform amyl alcohol 同量混合液을 1/4 volume加하여 20分間 强하게 攪拌시켜 殘存蛋白質成分을 變性除去하였다. 除蛋白後 上清을 氷冷 ethanol을 2 volume되게 加해 粗뮤코多糖體를 沈澱시키고 이 沈澱을 다시 acetate buffer에 溶解시키고 Lloyd試藥을 1/4 volume되게 加해 10分間 攪拌시켜서 混合되어 있는 炭水化合物을 吸着除去시켰다. 그후 遠沈上清에 1.5 volume의 氷冷 ethanol을 加해 1時間 以上 放置후 遠沈하여 沈澱을 얻었다. 이를 다시 ethanol로 洗淨하고 蒸留水에 溶解시켜 蒸留水에 48時間 透折후 이에 1%가 되게 potassium acetate를 加하고 1.5 volume이 되게 ethanol을 加해 沈澱을 얻어 ethanol과 ether로 乾燥시켜 乾燥白色沈澱物을 얻었다.

3. 分析方法

(1) Hexosamine의 定量: 試料를 4N HCl에 100°C에서 16時間 sealed tube에 넣어 加水分解시킨 것을

Elson-Morgan反應의 Blix-Gardell變法¹⁹⁾으로 測定하였다.

(2) Uronic acid의 定量: Orcinol-HCl反應의 Brown法²⁰⁾으로 試行하였다.

(3) SO₄基의 定量: 試料를 4N HCl로 100°C 16時間 sealed tube에 넣어 加水分解한후 benzidine를 利用한 Antonopoulos法²¹⁾으로 測定하였다.

(4) Protein bound Hexose의 定量: Orcinol試藥을 利用하는 Lustig와 Langer의 變法²²⁾으로 測定하였다.

(5) 電氣泳動: Cellulose acetate strips selecta (Carl Schleicher und Schüll, Germany)를 利用하여 0.2 M calcium acetate²³⁾를 solvent로 하여 泳動을 試行하였다. 泳動條件은 0.2 M calcium acetate를 solvent로 하여 電流는 1mA/cm, 3時間 泳動을 한 다음 0.5% toluidine blue로 20分間 染色한후 1% acetic acid로 脫色하고 流水에 10分間 水洗하였다.

實驗 結果

1. Ehrlich腹水癌増殖이 腹水 및 顎下腺重量에 미치는 影響

Table 1 및 Fig. 1에서 보는바와 같이 腹水에 있어서 Ehrlich腹水癌 移植후 6日에는 宿主인 마우스個體當 2.6ml, 11日에는 5.3ml로 增加하였고 顎下腺重量에 있

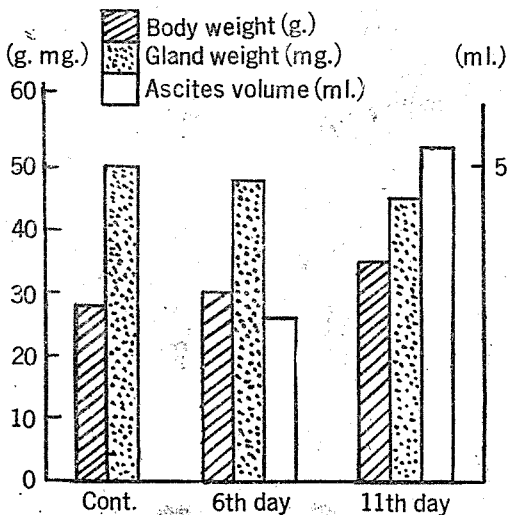


Fig. 1 Effect of the growth upon the submaxillary gland weight of Ehrlich ascites tumor-bearing mouse.

어서는 移植후 11日에는 個體當 平均 約 5mg의 減少를 보여 45mg 程度를 나타내고 있다.

體重에 있어서도 腹水增加에 따라 增加를 나타내고 있다.

Table 1: Effect of the growth upon the submaxillary gland weight of Ehrlich ascites tumor-bearing mouse.

	Control	Tumor	
		6 day	11 day
Body weight(g)	28	30	35
Ascites volume (ml.)	/	2.6	5.3
Gland weight (mg.)	50	48	45

2. Ehrlich腹水癌組織에 含有된 酸性뮤코多糖類

各時期에 腫瘍細胞와 腹水の 各 分割量과 酸性뮤코多糖類含量은 Table II에서 보는 바와 같다. 즉 腫瘍細胞에 있어서 移植후 6日에 個體當 乾燥重量은 0.32g, 11日에는 0.57g이고, 酸性뮤코多糖類는 個體當 6日에는 0.85mg, 11日에는 1.6mg을 나타내고 또 腹水에는 腹水量이 移植후 6日에는 個體當 2.6ml이고, 11日에는 4.3ml이고, 酸性뮤코多糖類는 個體當 6日에는 0.7mg이고, 11日에는 1.1mg을 나타내고 있다. 이들 單位重量當 比로 나타내면 腫瘍細胞에서 移植 6日에는 約 2.6mg/dry weight(g), 11日에는 2.9mg/dry weight (g)이고, 腹水에서는 6日에 27mg/100ml ascites이고 11日에는 26mg/100ml ascites이다.

抽出한 酸性뮤코多糖類를 分析한 結果는 Table III에서 보는 바와 같다. 즉 腫瘍細胞에서 分離한 酸性뮤코多糖類에서 移植후 6日에는 uronic acid와 hexosamine의 含量이 各各 約 18%이고 11日에는 增加하여 約 32%와 28%를 나타내고 있다. 腹水에서는 移植후 6日에 各各 約 21%를 나타내고 11日에는 21%와 24%로 hexosamine이 약간 增加 하였다. SO₄基는 거의 모두 約 1%程度 含有되어 있어 非硫酸化뮤코多糖類의 存在可能性도 보였다.

3. Cellulose acetate電氣泳動에 依한 酸性뮤코多糖類의 分割

腹水癌移植후 6日과 11日의 試料를 使用하여 抽出한 酸性뮤코多糖類를 0.2M calcium acetate를 溶媒로하여 電流 1mA/cm로 3時間 泳動하여 0.5% toluidine blue으로 染色한 結果는 各各 Fig. 2와 Fig. 3에서 보는 바와 같다. 또한 Fig. 4는 chondroitin sulfate A.B.C.와

Table II: Acid mucopolysaccharides obtained from tumor cells and ascites of Ehrlich ascites tumor-bearing mouse.

	Days after transplantation	No. of mouse	Cell dry weight (g) Ascites volume (ml)	Whole acid mucopolysaccharide (mg)
Cell	6	12	3.9(0.32)*	10.25(0.85)
	11	12	6.8(0.57)	20.35(1.61)
Ascites	6	12	31.5(2.61)	8.52(0.71)
	11	12	52.6(4.30)	13.82(1.15)

* Figure in parentheses denotes mucopolysaccharides per each mouse.

hyaluronic acid 標準 混合物的 電氣泳動圖이다.

全般的으로 chondroitin sulfate異性體와 hyaluronic acid가 分離되어 있고 hexose가 약간 混合되어 있는 것으로 思料된다.

또한 顎下腺組織에서는 chondroitin sulfate C와 A

가 明確히 分離된 像을 볼 수 있고 chondroitin sulfate 가 腹水癌에서 많은 分布를 보이고 있다. 腫瘍細胞와 腹水에서는 모두 境界가 뚜렷치 못하고 tailing을 나타 내고 있다.

Table III: Analytical data of acid mucopolysaccharide fraction of tumor cell and ascites in Ehrlich ascites tumor-bearing mouse.

	Days after transplantation	Uronic acid (%)	Hexosamine (%)	Sulfur (%)
Cell	6	18.6	17.7	0.9
	11	32.0	28.4	1.2
Acites	6	20.5	21.6	1.0
	11	21.0	24.3	1.1

4. 顎下腺과 血清의 Protein bound hexose의 變化

顎下腺과 血清의 protein bound hexose는 Ehrlich 腹水癌移植후 11日에 觀察한 結果는 Table IV에서 보는 바와 같다.

Table IV: Protein bound hexose content of serum and submaxillary gland in Ehrlich ascites tumor-bearing mouse at 11th day after transplantation.

	Serum (mg/100ml)	Submaxillary gland (mg/g)
Control	22.86	30.05
Tumor	32.33	28.52

Table V: Analytical data of acid mucopolysaccharide fraction of submaxillary gland in Ehrlich ascites tumor-bearing mouse at 11th day after transplantation.

	Uronic acid (%)	Hexosamine (%)	Sulfur (%)
Control	24.1	27.0	10.5
Tumor	23.3	28.2	12.4

血清에서 腹水癌은 對照群 約 23 mg%에 비해 約 32 mg%의 增加를 보였고 顎下腺에서는 對照群 30 mg%에

비해 腹水癌에서 28mg%으로 약간 減少를 보였다.

癌接種類를 11日의 顎下腺의 酸性뮤코多糖類를 分析한 結果는 Table V에서 보는바와 같이 뚜렷한 變化를 보이지 않았다.

考 察

實驗腫瘍學分野에서 腫瘍組織의 酸性뮤코多糖類에 관한 研究는 1939年 Kabat¹⁾가 Rous sarcoma에서 報告한 以來 사람 및 各動物의 腫瘍組織에서 酸性뮤코多糖類를 檢索한 報告^{2,3,4)}는 많이 있으나 주로 組織化學的方法으로 檢索하였고 生化學的 知見은 아직도 적어 現在까지 不明한 것이 많다. 지금까지 酸性뮤코多糖類는 mast cell fibroblast 및 fibroblast에서 分化된 細胞 등에서 生産하는 것으로 알려져 왔는데^{24,25)} 腫瘍組織에 含有된 酸性뮤코多糖類도 間質細胞成分에서 由來되는 것으로 알려져 왔다.

最近 長瀬²⁶⁾와 中村²⁷⁾ 등은 腹水肝癌(AH 109A, AH 60C)細胞에서 酸性뮤코多糖類의 存在를 報告하였고 또 馬場²⁸⁾은 in vitro로 사람 子宮扁平上皮癌의 HeF.a-S₃細胞가 hyaluronic acid를 合成할 수 있다고 報告하였다. 上皮性由來의 細胞뿐 아니라 癌性變化를 이르킨 細胞에서도 酸性뮤코多糖類의 合成能이 있다는 것은 酸性뮤코

多糖類가 腫瘍細胞의 分化 增殖과 密接한 關係가 있는 것으로 思料된다.

著者は 本 實驗에서 腫瘍을 細胞 level로 쉽게 分離할 수 있는 Ehrlich腹水癌을 使用하여 腫瘍細胞 및 間質로서 存在하는 腹水에서 酸性뮤코多糖類를 分離同定하여 이의 存在意義를 檢討하였다.

그 結果 酸性뮤코多糖類가 腫瘍細胞에는 腹水癌移植 11日에 乾燥重量 g當 約 2.9mg 含有되어 있고 腹水에는 100ml當 26mg 含有되어 있고 그의 組成은 電氣泳動에 依해 觀察한 結果 hyaluronic acid와 chondroitin異性體가 分離되었다. 腫瘍細胞 및 腹水에서 모두 chondroitin sulfate가 hyaluronic acid보다 量的으로 많은 値를 나타내고 있다. 腹水中에서 檢出된 酸性뮤코多糖類는 腫瘍細胞의 組成과 거의 一致되므로 腫瘍細胞內에서 合成된 酸性뮤코多糖類가 細胞外로 排出된 것으로 思料된다. 이는 青野²⁹⁾가 Tawa腹水癌을 使用한 實驗에서 腫瘍細胞 및 腹水에서 酸性뮤코多糖類를 分離하는 경우 腹水에서 多量의 酸性뮤코多糖類를 檢出하였고 그의 組成도 腫瘍細胞와 거의 一致함을 보아 腹水中의 酸性뮤코多糖類가 腹水細胞에서 由來된 것이라는 可能性을 報告한 結果와 本實驗과 一致한다. 또한 顎下腺에서는 對照群 및 腹水癌移植群 모두 電氣泳動에 依하면 chondroitin A와 C가 明確히 分離되고 hyaluronic acid가 少量存在함을 알 수 있다.

一般的인 代謝調節關係를 究明키 爲하여 血清內 protein bound hexose (glycoprotein의 基準)의 變化를 觀察한바 癌接種群이 顎下腺內에서는 오히려 減少되는데 Ehrlich 腹水癌에서는 對照群에 比해 約 30%의 增加를 보였는데 이는 他癌에서도 增加한다는 報告와 一致한다. 즉 腫瘍組織에서 酸性뮤코多糖類合成에 利用되기 爲해 어떤 代謝調節機轉에 依해 血清內 protein bound hexose가 增加되는 것으로 推定할 수 있다.

著者は 本實驗을 통해 推論되어 오던 腫瘍組織에 含有된 酸性뮤코多糖類는 間質結締組織의 細胞成分에서 由來된 것 뿐 아니라 實質인 腫瘍細胞에서도 由來된 것으로 思料된다.

結 論

著者は 腫瘍을 細胞領域에서 쉽게 分離할 수 있는 Ehrlich腹水癌을 使用하여 腫瘍細胞 및 腹水에서 酸性뮤코多糖類를 分離同定하여 存在意義를 檢討한바 다음과 같은 結果를 얻었다.

1. 酸性뮤코多糖類가 腫瘍細胞에는 乾燥重量 g當 移植 6日에는 2.6mg 11日에는 2.9mg이 含有되어 있다. 腹

水에는 100ml當 移植 6日에는 27mg이고 11日에는 26mg이 含有되어 있다.

2. 腫瘍細胞와 腹水の 酸性뮤코多糖類組成에 있어서 移植 6日에 uronic acid의 각각 18.6%와 20.5%, hexosamine의 17.7%와 21.6%이고 SO_4 는 거의 같다.

3. 腫瘍細胞에서 酸性뮤코多糖類에 있어서 cellulose acetate 電氣泳動像은 hyaluronic acid와 chondroitin sulfate 異性體가 分離되어 있다. 腹水에서도 腫瘍細胞와 類似한 像을 보이고 있다.

4. Ehrlich腹水癌의 血清의 protein bound hexose는 對照群에 比해 增加를 보이고 顎下腺은 對照群에 比해 오히려 減少를 보이고 있다.

(本 論文을 作成함에 있어 指導校閱하여 주신 金東順 教授님께 甚深한 感謝를 드리오며 本實驗을 도와 주신 趙漢國副教授님, 林昌潤助教授님 및 生化學敎室 鄭泰英 先生님과 敎室員여러분께 깊은 感謝를 드립니다.)

參 考 文 獻

- 1) Kabat, E. A.: A polysaccharide in tumors due to a virus of leucosis and sarcoma of fowls., J. biol. Chem., 130: 143, 1939.
- 2) Grishman, E.: Histochemical analysis of mucopolysaccharides occurring in mucus-producing tumors of the parotid gland, colloid carcinomas of the breast, and myxomas. Cancer, 5: 700, 1952.
- 3) Ozzillo, L. and Speer, F. D.: The mucopolysaccharides in the normal and diseased breast. Their distribution and significance. Amer. J. Pathol., 34: 993, 1958.
- 4) Winslow, D. J. and Enzinger, F. M.: Hyaluronidase-sensitive acid mucopolysaccharides in liposarcomas. Amer. J. Pathol., 37: 497, 1960.
- 5) Sylven, B.: Esters of sulfuric acid of high molecular weight in mesenchymal tumors. Acta Radiol. (Suppl), 59: 1, 1945.
- 6) Pirie, A.: A hyaluronidase and a polysaccharide from tumors. Brit. J. exp. Pathol., 23: 277, 1942.
- 7) Harris, R. J. C., Malmgren, H. and Sylven, B.: The polysaccharides of Rous sarcoma No. 1. Brit. J. Cancer. 8: 141, 1954.

- 8) Meyer, K., Davidson, E., Linker, A. and Hoffman, P.: The acid mucopolysaccharides of connective tissue, *Biochem, Biophys, Acta*, 21: 506, 1956.
- 9) Ringertz, N.R.: Polysaccharides of neoplastic mast cells. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 103: 209, 1963.
- 10) Danishefsky, L., Oppenheimer, E.T., Heritier-Watkins, O. and Willhite, M.: Mucopolysaccharides in animal tumors. *Cancer Res.*, 26: 229, 1966.
- 11) Sakaki, T., Tsurumi, N., Maeda, J. and Matsuda, H.: Studies on the influences of acid mucopolysaccharides on the growth of Tawa sarcoma, *J. Osaka Dent. Univ.*, 4: 113 1970.
- 12) Boyland, E. and McClean, D.: A factor in malignant tissues which increases the permeability of the dermis, *J. Pathol. Bact.* 41: 553, 1935.
- 13) McCutcheon, M. and Coman, D.R.: Spreading factor in human carcinomas. *Cancer Res.*, 7: 379, 1949.
- 14) Takeuchi, J.: An effect of acid mucopolysaccharide on the transplantation and growth of tumor. *Gann*, 51 (Suppl): 128, 1960.
- 15) Takeuchi, J.: Growth-promoting affect of acid mucopolysaccharides on Ehrlich ascites tumor. *Cancer Res.*, 26: 797, 1966.
- 16) 木村勇: 胃癌發育時に於ける間質多糖類の態度, *信州醫誌*, 4: 160, 1955.
- 17) Lippman, S.M.: The growth-inhibitory action of heparin on the Ehrlich ascites tumor in mice. *Cancer Res.*, 17: 11, 1957.
- 18) Meyer, K., Linker, A., Davidson, E.A. and Weissmann, B.: Mucopolysaccharides of bovine cornea. *J. biol. Chem.*, 205: 611, 1953.
- 19) Blix, G.: *Acta Chem. Scand.* 2: 467, 1948.
- Gardell, S.: *Acta Chem. Scand.* 7: 207, 1953.
- 20) Brown, A.H.: Determination of Pentose in the presence of large quantities of glucose. *Arch. Biochem.* 11: 269, 1946.
- 21) Antonopoulos, C.A.: *Acta Chem. Scand.* 16: 1521, 1962.
- 22) Click, D. Methods for determination of serum glycoprotein, in *Methods of biochemical analysis*. Vol. II. p. 279, 1959.
- 23) Seno, H., Yamagata, T. and Suzuki, S.: Enzymatic methods for the determination of small quantities of isomeric chondroitin sulfates. Seno, N., Anno, K., Kondo, K.: Improved method for electrophoretic separation and rapid quantitation of isomeric chondroitin sulfates on cellulose acetate strips. *Anal. Biochem.*, 37: 197, 1970.
- 24) Grossfeld, H., Meyer, K. and Godman, G.: Differentiation of fibroblasts in tissue culture, as determined by mucopolysaccharide production. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 88: 31, 1955.
- 25) Crane, W.A.J.: Sites of mucopolysaccharide synthesis in the lesions of experimental hypertension in rats. *J. Pathol. Bacteriol.*, 83: 183, 1962.
- 26) 長瀬すみ, 齊藤重野, 有泉柱子: 擔癌動物の Δ コ多糖(第III報) AH60c 及び AH 66 FK について, *日癌會記事*, 30: 109, 1971.
- 27) 中村允人, 未松俊彦, 小泉岳夫: 腫瘍組織の 酸性 Δ コ多糖とその意義, *生化学*, 43: 452, 1971.
- 28) 馬場恒男, 青木健, 小島清秀: がん細胞膜特異性の研究 III. in vitro Hela-s₃ 細胞の Hyaluron酸合成と膜構成糖類添加培地による合成促進について, *日癌會記事*, 30: 452, 1971.
- 29) 青野公: 腫瘍組織の 酸性 Δ コ多糖類, 第3報 多和肉腫細胞および腹水の 酸性 Δ コ多糖類, *齒科醫學* 35: 259, 1972.

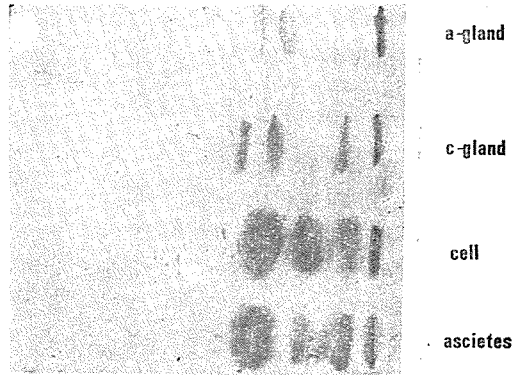


Fig. 2 Electrophoretic pattern of the Mucopolysaccharide (6th day after transplantation)

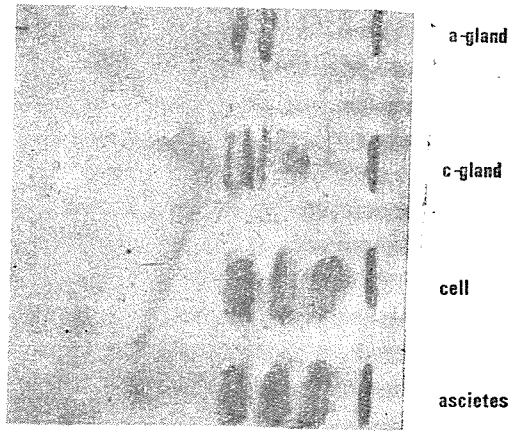


Fig. 3 Electrophoretic pattern of the Mucopolysaccharide (11th day after transplantation)

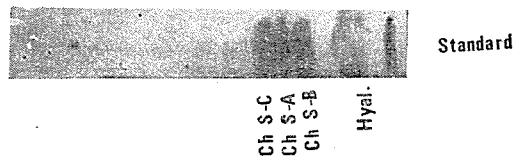


Fig. 4 Electrophoretic pattern of standard chondroitin sulfate C.A.B. and hyaluronic acid.