高カルシウム血症および白血球増多症を伴った舌癌の1症例 ——その発症機序について——

米田俊之・別所正明・西川典良・松本 憲
作田正義

Pathogenesis of hypercalcemia and leukocytosis in a patient with tongue cancer

Toshiyuki YONEDA · Masaaki BESSHO · Noriyoshi NISHIKAWA
Ken MATSUMOTO · Masayoshi SAKUDA

Abstract: Hypercalcemia and leukocytosis are paraneoplastic syndromes occurring in association with malignant diseases but are uncommon in head and neck cancers. In the present paper, we report a clinical course of a patient with tongue cancer accompanying with not only hypercalcemia but leukocytosis. We also describe the results of experiments in which we studied the mechanisms involved in pathogenesis of hypercalcemia and leukocytosis.

A 40-year-old man was seen in February, 1982 with a $2.1 \times 1.8 \times 1.2$ squamous cell carcinoma ($T_2N_0M_0$) on the right side of his tongue. He received irradiation and chemotherapy first and then a resection of his tongue, jaw and neck 11 months later. He remained well almost for 6 months but was readmitted to the hospital with the complaint of severe back pain. Computed tomography film demonstrated a bony metastasis in third or fourth lumbar spine. At that time, his serum calcium level was 16 mg/dl and white blood cell count was 18,000/mm³. A hypocalcemic hormone calcitonin failed to reverse serum calcium level. Serum levels of calcium-elevating hormones including parathyroid hormone, active metabolite of vitamin D₃ and prostaglandin E₂ determined by radioimmunoassay were all within normal range.

His serum serially purified by ultrafiltration, diafiltration and gel chromatography showed marked bone resorbing activity and colony stimulating activity. Peak activities of bone resorption and colony stimulation were eluted respectively at a molecular weight of approximately 20,000 and 30,000 dalton on Sephadex G-100 column. These activities were not detected in sera of other patients with cancer or acute inflammation and of normal individuals.

It was suggested that these activities found in the serum of the patients reported here might be responsible for the hypercalcemia and leukocytosis.

Key Words: Hypercalcemia, Leukocytosis, Oral Cancer

大阪大学歯学部口腔外科学第2講座

(主任：作田正義教授)

The Second Department of Oral and Maxillofacial
Surgery, Faculty of Dentistry, Osaka University
(Chief: Prof. Masayoshi Sakuda)

受付日：昭和60年3月4日

緒 言

悪性腫瘍に随伴して起こる各種病変，いわゆる paraneoplastic syndrome のなかで，高カルシウム血症は比較的頻度が高いことが知られている。Mundy および Martin は乳癌，肺癌あるいは骨髄腫を有する疾患のおのお

写真1 初診時口腔内所見

写真2 腫瘍部の病理組織像 (H-E, x200)

の25%、35%あるいは20~30%に高カルシウム血症がみられたと報告している¹⁾。これに対して、頭頸部腫瘍患者においては高カルシウム血症の発現頻度は2.9%と非常に低いことが報告されている²⁾。また、悪性腫瘍の増大に伴う白血球増多症が paraneoplastic syndrome の1つとして古くから注目されていたが³⁻⁵⁾、口腔癌患者における報告はほとんどみられない。最近著者等は高カルシウム血症と、白血球増多症とを併発した、きわめてまれな舌癌患者症例を経験したので、その臨床経過の概要を報告するとともに、本患者における高カルシウム血症と白血球増多症の発症機序を解明する目的で行った実験結果についても報告する。

症 例

患 者: 40歳 男性。

初 診: 昭和57年2月。

主 訴: 右側舌縁部の腫脹と自発痛。

家族歴: 特記すべき事項はない。

既往歴: 特記すべき事項はない。

現病歴: 昭和56年11月初旬、76|部に自発痛を覚え近医を受診、7|抜髄処置を受けるも疼痛軽減せず、7|の抜歯を受けた。その後も疼痛は緩和せず経過し、昭和57年2月初旬に右側舌縁部にしびれ感を覚え、続いて同部の腫脹に気付いたため当科を紹介され来院した。

現 症

全身所見: 体格は中等度で、栄養は良好。その他特記事項はない。

口腔外所見: 顔貌は左右対称であった。左右の顎下および頸部リンパ節は触知し得なかった。その他特記事項はない。

口腔内所見: 76|相当舌縁部に2.1×1.8×1.2大、限局性、硬さは弾性軟、表面凹凸不正、潰瘍形成を伴う腫瘍を認めた。腫瘍は口腔底には波及していなかった(写真1)。

写真3 CT 所見

臨床診断: 舌癌 (T₂N₃M₀)

病理組織学的診断: 癌真珠の形成を認める高分化型の扁平上皮癌(写真2)。

臨床検査所見: 末梢血の一般血液学的検査、血清生化学的検査、免疫血清学的検査などにおいて、特に異常は認められなかった。

処置および経過: 治療として放射線療法(外照射1,000 rad, 内照射 6,000 rad)と化学療法(ペブレオマイシン 30 mg)を行った結果、約1か月後に原病巣はほぼ消失した。その後、経過を観察していたが、初診より約1年後に右側顎下部に腫瘍を触知したので、生検を行ったところ、腫瘍細胞の存在が確認された。そのため昭和58年2月、全身麻酔下にて舌部分切除、下顎骨連続腫瘍(8-3')および右側全顎部郭清術を施行した。その後、経過は順調であったが、術後約5か月頃より腰部の間の自発痛と、それに起因する歩行困難を訴えるようになった。腰部のCTスキャンを行った結果、第3ないし第4腰椎骨に著明な骨吸収像を認め(写真3)、腫瘍の転移による骨破壊が疑われた。ほぼ同じ頃より、患者血清中のカルシウム値の上昇、つまり高カルシウム血症を認めるようになった(図1)。そこで血中カルシウム低下

図1 臨床経過

作用を有するホルモンであるエルシトニン(東洋醸造)を1日当たり160 MRC単位投与したが効果は得られず、血清カルシウム値は15 mg/dl前後の高値が持続した。この間、尿中カルシウム値も増加していたが、血清リン値あるいは尿中リン値は正常範囲内であった。さらに、ほとんど同じ時期に患者末梢血中の白血球数の増加、つまり白血球増多症を認めるようになり、白血球百分率分析の結果、顆粒球が著明に増加していることが明らかとなった(図1)。

実験方法

1. 患者血清の部分精製

Lubenの方法⁶⁾に準じて患者血清の精製を試みた。以下に述べる操作はすべて 4°C で行った。4 mlの患者血清中に1Mの濃度になるようにNaClを加え、一晚攪拌後、3,000 g, 30分遠沈し、得られた上清を、PM 10膜(Amicon社製、分子量10,000以下の物質は通過する)

を装着した限外濾過器(Amicon社製)内に移した。濾過器内は前もって1M NaClを含む0.02Mリン酸ナトリウム緩衝液(pH 7.2)で平衡化した。そして、濾過器内を常に一定量の同じ緩衝液(50 ml)で置き換えながら、標品を限外濾過した(Diafiltration)。この濾液50 mlをUM 2膜(Amicon社製、分子量1,000以下の物質は通過する)上で2.5 mlに濃縮後、さらに同じ膜上で25 mlの0.05Mトリスーリン酸緩衝液(pH 6.4)中でdiafiltrationを行い、最後に同じ膜上で約0.5 mlに濃縮した。次いで、この濃縮液を、0.5M NaClを含む0.02Mリン酸ナトリウム緩衝液(pH 7.2)で平衡化したSephadex G-100(Pharmacia社製、fine)カラム(2.5×100 cm)に添加し⁷⁾、同じ緩衝液で溶出、分画した。溶出された各画分(5 ml)はUM 2膜上で10倍に濃縮、脱塩後、各測定に用いた。

2. 骨吸収活性の測定

ラット胎児の長管骨からの ^{45}Ca の遊出を指標として、血清あるいは精製後に得られた各標品中の骨吸収活性を

分子量マーカー：牛血清アルブミン (67,000)
 オヴァルブミン (45,000)
 キモトリプシノーゲン (25,000)
 リボヌクレアーゼA (13,700)

図2 セファデックス G-100 カラムクロマトグラフィー

表1 患者血清中のカルシウム調節ホルモンの濃度

ホルモン	血中濃度 (ng/ml)	正常値
副甲状腺ホルモン	0.8	0.3~1.1
1,25-ダイハイドロキシ ビタミン D ₃	10	20~60
25-ハイドロキシ ビタミン D ₃	15.6	14~42
プロスタグランディン E ₂	0.064	<230

測定した。方法の詳細については他論文⁹⁾を参照のこと。結果は対照群を1とした場合の実験群の値の比で表した。したがって値が1またはそれ以下の場合には対照群と実験群との間に差がないことを示す。

3. Colony Stimulating Factor (CSF) 活性の測定

CSF 活性は Asano 等の方法⁹⁾に従って測定した。生後6~8週齢の雌の C₃H/He マウスの骨髄細胞 (7.5×10⁴個) を、0.3%の寒天 (Difco 社)、20%の牛胎児血清 (GIBCO 社) および 10% (0.1 ml) の標品を含む McCoy's 5A 培地 (日本製薬) 1 ml 中で、5%炭酸ガス培養器中で 37°C、7~10日間培養した。そして、40個以上の細胞を含むコロニー数を解剖顕微鏡下で算定し、CSF 活性の指標とした。

表2 患者血清の精製の要約

操 作 過 程	総タンパク量 (mg)	総活性 (倍)*	比活性 (倍/mg protein × 10 ⁻³)	精製度 (倍)
操作前 (4 ml 血清)	230	—	—	—
diafiltration (PM 10膜)	210	1	4.8	1
濃 縮 (UM 2膜)	188	2	10.6	2.2
diafiltration (UM 2膜)	172	2	11.6	2.4
濃 縮 (UM 2膜)	161	4	24.8	5.2
セファデックス G-100	8	3	375	78.1

* diafiltration 後の血清の骨吸収活性を1とした場合に、それと同程度の骨吸収を起こすことができる各標品の最高稀釈倍率をあらわす

4. 血清中の各種ホルモン濃度の測定

患者血清中の副甲状腺ホルモン、ビタミン D₃、およびプロスタグランディン E₂ 濃度は、ラジオイムノアッセイ法を用いて測定した。測定は三菱油化メディカル社に依頼した。

5. タンパク質の定量

牛血清アルブミン (Sigma) を標準として、Lowry 等の方法¹⁰⁾を用いて定量した。

表 3 癌患者血清中の骨吸収および CSF 活性

患 者	臨床診断	高カルシウム血症	白血球増多症	骨吸収活性 ¹⁾ ⁴⁵ Ca 遊出 (E/C) ³⁾	CSF 活性 ²⁾ コロニー数/ 7.5×10 ⁴ 細胞
■	舌 癌 (本症例)	+	+	1.8±0.2 ⁴⁾	66±13 ⁴⁾
■	上 顎 癌	—	—	1.1±0.1	17±8
■	上 顎 癌	—	++	1.1±0.1	113±20 ⁴⁾
■	上顎肉腫	—	—	0.9±0.1	19±6

- 1) セファデックス G-100 後の患者の血清の骨吸収活性を示す.
- 2) 未処理の血清の CSF 活性を示す.
- 3) 実験群とコントロール群との比を示す.
- 4) 正常値より有意に高いことを示す.

表 4 クロロホルム処理前・後の CSF 活性の変化

患 者	臨床診断	CSF 活性 (コロニー数/7.5×10 ⁴ 細胞)	
		処 理 前	処 理 後
■	舌癌(本症例)	69±9 ¹⁾	193±31 ²⁾
■	上 顎 癌	19±6	52±18
■	上 顎 肉 腫	23±8	63±25
■	急性顎関節炎	61±23 ¹⁾	66±20
■	急性智歯歯冠 周囲炎	83±19 ¹⁾	88±26
■	健 康 人	8±5	55±20 ²⁾
■	健 康 人	12±3	71±18 ²⁾

- 1) 正常値より有意に高いことを示す.
- 2) クロロホルム処理前より有意に高いことを示す.

結 果

1. 患者血清中の各種ホルモン濃度

血清カルシウム上昇作用を有することが知られている。副甲状腺ホルモン、活性型ビタミン D₃ およびプロスタグランディン E₂ の濃度を測定した結果を表 1 に示した。表から明らかなように、患者血清中のこれらのホルモン濃度はいずれも正常範囲内であった。また表には示していないが、血中カルシウム低下作用を有するホルモンであるカルシトニンの濃度も正常範囲内であった。

2. 部分精製した患者血清の各画分中の骨吸収および CSF 活性

Sephadex G-100 カラムクロマトグラフィー後、濃縮、脱塩された各画分の骨吸収活性を測定した結果、骨吸収活性は分子量 67,000 付近に小さなピークと、分子量 18,000~25,000 の画分に著明なピークを認めた (図 2)。表 2 に骨吸収活性を指標として、患者血清の精製過程を要約した結果を示した。PM 10 膜上での diafiltration、

UM 2 膜上での濃縮、diafiltration、そして再濃縮、次に Sephadex G-100 内でのカラムクロマトグラフィー、最後に UM 2 膜上での濃縮、脱塩による一連の操作終了後の最終標品は約 80 倍に精製された (表 1)。

同じ各画分を用いて、その CSF 活性を測定したところ、分子量 30,000 前後の画分に CSF 活性のピークが存在していることが明らかとなった (図 2)。

3. 他の癌患者から得た血清中の骨吸収および CSF 活性

他の癌患者の血清を同様の方法で部分精製した後に、その骨吸収および CSF 活性の有無を検討した (表 3)。骨吸収活性は臨床的に高カルシウム血症を示した本症例患者の血清中にも認められ、高カルシウム血症を示さなかった他の癌患者の血清は骨吸収活性を全く有していなかった。同様に CSF 活性の場合も、白血球増多症を呈した本症例患者の血清中に著明な活性を認めた。もう 1 例、上顎癌 (扁平上皮癌) 症例で白血球数が 100,000 以上に上昇した患者の血清は本症例患者血清の約 2 倍の CSF 活性を有していた (表 3)。

4. 急性炎症を有する患者の血清中の CSF 活性

急性炎症時にも白血球数は増加する。そこで、急性炎症を有する患者の血清中の CSF 活性について検討した。表 4 に示すように急性炎症を有する患者の血清中には正常人あるいは本症例患者以外の癌患者の血清に比して高い CSF 活性が認められた。しかしながら、この活性は、クロロホルム処置を行った後でも全く変化しなかった。これに対して、本症例患者を含む癌患者ならびに正常人の血清中の CSF 活性はクロロホルム処置により 3~7 倍に上昇した (表 4)。

考 察

悪性腫瘍患者が高カルシウム血症 (細胞外カルシウム濃度の上昇する 1 例) に陥った場合には、悪心、嘔吐、

食思不振、意識混濁、昏睡等の臨床症状を認めることが多い。これらの症状は患者に多くの苦痛を与えるのみならず、癌の末期症状と混同されやすいため治療方針を決定する際に混乱を招く。ただ、高カルシウム血症が原因の場合には、適切な治療を行うことにより血清カルシウム値を低下させれば、症状は改善するとされているので、一応の区別は可能である。今回報告した症例においても意識レベルの低下が認められ、その原因が末期症状によるものか、高カルシウム血症によるものか区別がつかなかった。そこで治療法として、血清カルシウム値低下作用を有するホルモンであるカルシトニンを投与したが、効果は全く認められなかった。このように高カルシウム血症は末期癌患者の処置および管理を行ううえで大きな問題となっている¹⁾。しかしながら頭頸部腫瘍患者においては高カルシウム血症の頻度は非常に低く、Won等は2.9%²⁾、GoodwinおよびChandlerは4.9%¹¹⁾と報告している。Listonは今回の著者等の症例と類似の舌癌患者で、骨への転移と高カルシウム血症を認めた2例を記載している¹²⁾。一方、本邦においては、著者等が知り得た範囲では、東家等が上顎癌患者¹³⁾、Kondo等が下顎歯肉癌患者¹⁴⁾において高カルシウム血症を認めたと報告しているにすぎない。したがって著者等が今回報告した症例はきわめてまれなものであるといえる。

カルシウムが正常細胞¹⁵⁾のみならず癌細胞^{16,17)}においても、その機能発現に重要な役割を演じていることが明らかにされつつある。生体内における細胞内外のカルシウム濃度は、いわゆるカルシウム恒常性 (calcium homeostasis) によって非常に微妙に調節されており、その急激あるいは過剰の変動は生体にとって大きな変化をもたらす。その1例が高カルシウム血症の患者に認められる各種の症状である。このように生体の機能維持にとって非常に重要であるカルシウム恒常性は、一般に骨の吸収・添加、腸管でのカルシウム吸収、および腎における再吸収と排泄によって調節されていると考えられているが、なかでも最も大きな役割を果たしているのは、生体内カルシウム貯蔵庫ともいべき骨である。それゆえに高カルシウム血症の発症機序を追及する場合に、まず骨からのカルシウムの流出、すなわち骨吸収が亢進している可能性について検討する必要がある。そこで患者の血清中に、骨吸収を促進し、血中カルシウム濃度を高めるホルモンが増加しているか否かを調べた。その結果、予想に反して、これらのホルモン濃度はすべて正常範囲内であり(表1)、また逆に血中カルシウム低下作用を有するホルモンであるカルシトニンの濃度も減少していなかった。したがって本症例でみられた高カルシウム血症に関してはカルシウム調節ホルモンの関与以外の機構を考える必要があると思われた。Mundy¹⁸⁾および米田^{19,20)}は悪性腫瘍に伴う高カルシウム血症のメカニズムの1つとして、腫瘍が産出する骨吸収促進因子の存在をあげて

いる。そこで本症例患者の血清中にそのような因子が放出されているか否かについて検索した。精製前の血清には骨吸収活性は存在していなかったが、表2に示した精製操作後に得られた標品の中で分子量18,000~25,000の画分に著明な骨吸収活性を認めた。他の症例で高カルシウム血症を呈さなかった癌患者の血清中には、このような骨吸収促進因子は存在していなかった(表3)。これらの事実は、本症例患者が有していた腫瘍のみが血中に骨吸収促進因子を放出していることを示唆していると考えられる。ただ、本症例では剖検を行うことが不可能であったため、腫瘍がそのような物質を産出していることを培養技術を用いて直接的に証明することはできなかった。また、患者から得られた材料は血清のみであったので、骨吸収促進因子のより高度の精製と同定、あるいはその生化学的性質の検討等を行うことはできなかった。Lubenは骨髄腫患者の血清中に存在している骨吸収因子である破骨細胞活性化因子 (osteoclast activating factor, OAF) の分子量は9,000前後と報告しており⁴⁾、またMundyとRaiszはOAFの分子量は13,000前後と報告している²¹⁾。したがって分子量のみから推定すると、この患者の血清中に存在していた骨吸収促進因子は、OAFとは異なっており、またこれまでに報告されている腫瘍が産出する各種の骨吸収促進因子¹⁸⁾とも異なる物質であると想像される。

興味ある問題として、この骨吸収促進因子は血清中に存在しており、したがって全身を循環していると考えられるにもかかわらず、腫瘍の転移があつたにせよ、なぜ、腰椎骨のみが吸収され、他の部位の骨は吸収されなかったのかという点である。(骨髄腫患者では多発性に骨が吸収されるので血清中に骨吸収促進因子が存在していることは理解できる。)この点については、現在のところ不明であるが、著者らは次のような仮説を想定している。表2のデータより精製前の血清は骨吸収活性を示さないことが明らかであるが、その理由として血清中に低分子の阻害物質が含まれている可能性があげられる。精製操作により阻害物質を取り除くと骨吸収活性が発現するという事実から、この可能性はかなり高いと思われる。生体内では、阻害物質が血清中に存在するために通常は骨は吸収されない。しかし、たとえば腫瘍の転移等局所において何らかの変化が起きますと、阻害物質が中和され、その部位の骨が吸収されるのかもしれない。つまり、全体的要因と局所的要因のバランスの変化によって骨の吸収がコントロールされていると推察される。

CTスキャンにより腰椎骨にみられたX線透過像に関しては舌部の原病巣からの転移を著者らは疑った。Probertらは頭頸部腫瘍の骨への転移頻度は肺に次いで高く、肝とはほぼ同程度であり、骨への転移42例のうち7例(17%)が腰椎骨に認められたと報告している²²⁾。したがって舌癌の腰椎骨への転移はそれほど多くはない

と思われる。しかしながら、本症例では剖検が不可能であったため、本当に転移なのか、あるいは重複癌なのかは確認できなかった。

図1に示したように本患者においては高カルシウム血症と同時に白血球増多症をも認めた。Saito らも高カルシウム血症と白血球増多症とを併発した甲状腺原発の扁平上皮癌の1例を報告している²³⁾。また頭頸部腫瘍患者では前出の東家ら¹³⁾および Kondo ら¹⁴⁾が同様の症例を報告している。その他にも悪性腫瘍に伴う白血球増多症に関する報告がある²⁴⁻²⁶⁾。いずれの論文においても白血球増多症発症機序において腫瘍が産出する colony stimulating factor (CSF) が重要な役割を果たしていると述べられている。CSF は Bradley および Metcalf が骨髓内未分化細胞の増殖および分化を促進する物質として1966年に見出した²⁷⁾。CSF は血清中にも存在していることが証明されている²⁸⁾。そこで本患者の血清中にもCSF 類似物質が存在しているか否かについて検討を行った。その結果、図2に示すように分子量30,000~35,000の画分に著明なCSF 活性のピークがみられた。Wu らは脾臓癌が産生するCSF の分子量は約50,000前後と報告しており²⁹⁾、また Wahead と Shaddock はL-細胞由来のCSF が分子量60,000前後であると記述している³⁰⁾。したがって本患者血清中のCSF は、これまでに報告されたものとは異なっていると想像される。また部分精製しか行っていないが、分子量の違いから本腫瘍が産出する骨吸収促進因子とCSF とは別個の物質であると考えている。ただ、骨吸収において主役を演じている破骨細胞は骨髓中の未分化単球系細胞から由来するという最近の一般的な説を考え合わせた場合、骨髓内未分化細胞の分化促進作用を有するCSF が破骨細胞を活性化して骨を吸収させるという考え方は非常に魅力的ではある。しかし今回のわれわれの結果はむしろ、否定的であった。

白血球数増加は急性炎症の際にもみられる。したがって本患者においてみられた白血球増多症が急性炎症に起因する可能性は無視できない。この点は臨床的には判定不可能であった。Granström は急性炎症時には血中に存在するCSF 活性の阻害物質が減少するためであり、そのためCSF 産生は増加していないにもかかわらず、CSF 活性が上昇し白血球数が増加すると唱えている。そしてクロロホルム処理によりこの阻害物質を除去することができると述べている³¹⁾。そこで彼女の方法に従って表4に示したような実験を行った。その結果、急性炎症を有する患者から得た血清中のCSF 活性はクロロホルム処理前・後ではほとんど変化を示さなかった。つまり、阻害物質がもともと減少しているため、クロロホルム処理により阻害物質を除去してもCSF 活性はあまり変化しなかった。これに対して、正常人あるいは癌患者からの血清中のCSF 活性はクロロホルム処理により阻

害物質を除去すると著明に上昇した。つまり、クロロホルム処理前では阻害物質が存在するためにCSF 活性は抑制されているが、取り除くことにより活性は上昇した。そしてこの値が真のCSF 産生を表していることになる。本症例以外の患者あるいは正常人の血清中CSF 活性はクロロホルム処理後で50~80コロニー/ 7.5×10^4 細胞であったが、本患者血清中のCSF 活性は 193 ± 31 コロニー/ 7.5×10^4 細胞と他に比べて高かった。この結果より本患者血清中ではCSF 産生が亢進していることが示唆され、白血球増多症は急性炎症によるものではないことが明らかとなった。

結 論

高カルシウム血症と白血球増多症とを併発したきわめてまれな舌癌症例について、その臨床経過の概要を報告した。この患者の血清中には分子量20,000前後の骨吸収促進因子と分子量30,000前後のCSF 活性の存在が確認された。これらの因子はおのおの、別個の物質であり、ともに腫瘍から産出されていると想像され、高カルシウム血症の発症過程においては、腫瘍の腰椎への転移と骨吸収促進因子が重要な役割を果たしており、白血球増多症の発症過程においてはCSF が主役を演じていると推察される。

本論文の要旨は、第29回日本口腔外科学会総会（昭和59年9月27・28日、於：札幌市教育文化会館）にて発表した。

引 用 文 献

- 1) Mundy, G.R. and Martin T.J.: The hypercalcemia of malignancy: Pathogenesis and management. *Metabolism* 31: 1247-1277 1982.
- 2) Won, C., Decker, D.A., et al.: Hypercalcemia in head and neck carcinoma. Incidence and prognosis. *Cancer* 52: 2261-2263 1983.
- 3) Meyer, L.M. and Rotter, S.D.: Leukemoid reaction (hyperleukocytosis) in malignancy. *Am J Clin Pathol* 12: 218-222 1942.
- 4) Hughes, W.F. and Higley, C.S.: Marked leukocytosis resulting from carcinomatosis. *Ann Intern Med* 37: 1085-1088 1952.
- 5) Robinson, W.A.: Granulocytosis in neoplasia. *Ann NY Acad Sci* 230: 212-218 1974.
- 6) Luben, R.A.: An assay for osteoclast-activating factor (OAF) in biological fluids: Detection of OAF in the serum of myeloma patients. *Cell Immunol* 49: 74-80 1980.
- 7) Luben, R.A.: Purification of a lymphokine: osteoclast activating factor from human tonsil

lymphocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 84: 15-22 1978.

- 8) 米田俊之：局所的骨吸収と破骨細胞，う蝕と歯周病——研究の進歩（浜田茂幸編），第2巻，日本歯科評論社，東京，昭和57年，163-197頁。
- 9) Asano, S., Urabe, A., 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.
- 10) Lowry, L.H., Rosebrough, N.J., et al.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275 1951.
- 11) Goodwin, W.J. and Chandler, J.R.: Hypercalcemia in epidermoid carcinoma of the head and neck. *Am J Surg* 132: 444-448 1976.
- 12) Liston, S.L.: Hypercalcemia and head and neck cancer. Bony metastasis from tongue cancer. *Arch Otolaryngol* 104: 597-600 1978.
- 13) 東家倫夫，黒田 健，他：著明な白血球増多と高Ca血症を伴った上顎癌の症例——CSF産生腫瘍。日耳鼻誌 84: 1554-1562 1981.
- 14) Kondo, Y., Sato, K., et al.: Association of hypercalcemia with tumors producing colony-stimulating factor (s). *Cancer Res* 43: 2368-2374 1983.
- 15) Rassmussen, H. and Goodman, D.B.P.: Relationship between calcium and cyclic nucleotides in cell activation. *Physiol Rev* 57: 421-509 1977.
- 16) Criss, W.E. and Kakiuchi, S.: Calcium: calmodulin and cancer. *Fed Proc* 41: 2289-2291 1982.
- 17) Yoneda, T., Kitamura, M., et al.: Control of VX₂ carcinoma cell growth in culture by calcium, calmodulin and prostaglandins. *Cancer Res* 45: 398-405 1985.
- 18) Mundy, G.R., Ibbotson, K.J., et al.: The hypercalcemia of cancer. Clinical implications and pathogenic mechanisms. *N Engl J Med* 310: 1718-1727 1984.
- 19) 米田俊之：腫瘍と骨吸収。骨吸収に関する諸問題——基礎と臨床。（小沢英浩，須田立雄編），西村書店，新潟市，昭和60年，（印刷中）。
- 20) 米田俊之：破骨細胞活性化因子とその臨床応用。臨床科学 21: 503-511 1985.
- 21) Mundy, G.R. and Raisz, L.G.: Big and little forms of osteoclast activating factor. *J Clin Invest* 60: 122-128 1977.
- 22) Probert, J.C., Thompson, R.W., et al.: Patterns of spread of distant metastasis in head and neck cancer. *Cancer* 33: 127-133 1974.
- 23) Saito, K., Kuratomi, Y., et al.: Primary squamous cell carcinoma of the thyroid associated with marked leukocytosis and hypercalcemia. *Cancer* 48: 2080-2083 1981.
- 24) Asano, S., Urabe, A., 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.
- 25) Sato, N., Asano, S., et al.: Granulocytosis and colony-stimulating activity (CSA) produced by a human squamous cell carcinoma. *Cancer* 43: 605-610 1979.
- 26) Hocking, W., Goodman, J., et al.: Granulocytosis associated with tumor cell production of colony-stimulating activity. *Blood* 61: 600-603 1983.
- 27) Bradley, T.R. and Metcalf, D.: The growth of mouse bone marrow cells in vitro. *Aust J Exp Biol Med Sci* 44: 287-300 1966.
- 28) Entringer, M.A., Robinson, W.A., et al.: Colony stimulating activity in normal human serum tested against human bone marrow. *Exp Hematol* 8: 1232-1240 1980.
- 29) Wu, M., Cini, J.K., et al.: Purification of a colony-stimulating factor from cultured pancreatic carcinoma cells. *J Biol Chem* 254: 6226-6228 1979.
- 30) Waheed, A. and Shadduck, R.K.: Purification of colony-stimulating factor by affinity chromatography. *Blood* 60: 238-244 1982.
- 31) Granström, M.: Studies on inhibitors of bone marrow colony formation in normal human sera and during a viral infection. *Exptl Cell Res* 82: 426-432 1973.