腫瘍細胞の歯髓内移植に関する実験的研究

河 畑 邦 夫
かわ はた くに お

大阪歯科大学生化学教室 (主任 多和敏一教授)*

[受付: 昭和45年5月15日]

緒 言

各種の可移植性腫瘍は、同系動物の腹腔、脈管および皮下組織内などに移植され、腫瘍の転移機序の解明や、腫瘍の臓器あるいは組織親和性の観察に、あるいはまた、制癌効果の判定などに広く利用されている。このような観点から、顎、口腔領域への腫瘍移植実験も多数行なわれ、顎骨をはじめ隣接組織への進展や、転移形成についての報告^{1)~10)}も多数見られる。しかし、移植腫瘍の歯髓への影響と、それに伴う歯の硬組織の生化学的な変化については、まったく報告されていない。臨床的にも、上顎に発生した Ewing 肉腫に、腫瘍細胞の歯髓内侵入が著明であったという症例報告¹¹⁾があるにすぎない。

そこで著者は、移植腫瘍の歯髓への影響と、腫瘍増殖に伴う歯の硬組織と、歯髓および血液の、Ca と P の動態について検討するために本研究に着手した。

実験材料および実験方法

1. 実験動物

呑竜ラット60匹(5週令, ♀)を10匹ずつ金属ケージに入れ、CE2型固型飼料と水道水を与えて飼育した。なお、対照および腹腔内移植試験のために、同週令の同系ラット26匹を、同一条件下で飼育した。

2. 移植腫瘍

大阪歯科大学生化学教室で継代中の腹水型多和肉腫を用いた。移植細胞数は純培養期の細胞、約 5×10^3 個である。

3. 腫瘍細胞歯髓内移植法

腫瘍細胞の歯髓内移植に先だち、前処置として、エーテル麻酔下で、片側下顎切歯の唇側歯肉縁を約1mmの幅で切除した。その後、創面止血を完全に行ない、歯肉切除部の切歯唇面から唇舌的にやや根尖にむけ、歯髓まで直達できる刺入孔を歯科用バーで形成した。その刺入孔から、微細ガラス毛細管ピペットで腫瘍細胞を歯髓内に移植し、刺入孔はインプロビン (Bayer, Germany) で封じた (Fig. 1)。なお、移植操作はすべて無菌的に行なった。

Fig. 1 Schema of mandibula

4. 病理組織標本

歯髓内移植後8日および13日経過の各6例につき、心臓採血ののち、移植側および対側下顎切歯を、顎骨や周囲軟組織と共に摘出した。その後、

Intrapulpal transplantation of Tawa sarcoma in the rat.

By K. KAWAHATA (Department of Biochemistry, Osaka Dental University, Osaka)

* 大阪市東区京橋 1-47 (〒540)

Jap. J. Oral Biol. 12 : 130-141, 1970.

ホルマリン固定、三塩化酢酸脱灰、パラフィン包埋ののち切片となし、主として、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して検鏡した。また、同時に全身の各臓器を摘出し、ホルマリン固定後、切片をヘマトキシリン・エオジンで染色して腫瘍細胞の有無を検査した。

5. 腫瘍移植歯髓の腹腔内移植試験

腫瘍細胞が確実に歯髓内に移植され、そこで増殖しているかどうかを、生物学的に確認するために、正常ラットの腹腔内に腫瘍移植歯髓の細胞浮遊液を移植した。すなわち、移植後8日および13日経過した各2例の歯髓内移植ラットの両側顎骨を、前記と同様の方法で摘出し、顎骨と切歯とを分離して、得られた根尖部歯髓に、少量の生理食塩水を加えて軽く磨砕して腫瘍細胞浮遊液を作り、正常ラットの腹腔内に移植した。なお、この腹腔内移植は腫瘍細胞移植側と対側の歯髓につき、それぞれ別個のラット各2匹に試みた。

6. PとCaの定量

腫瘍細胞移植後11~13日間経過した実験群のなかから、任意に選択した10例につき、歯の硬組織、歯髓および血清のPとCa量を測定した。切歯の摘出は、組織標本作製時と同方法で行ない、歯の硬組織と歯髓を分離後、あらかじめ歯髓が移植陽性であることを塗抹Giemsa染色標本で確認したのち、歯髓は生理食塩水で洗浄して、血液を可及的に除いたものを、硬組織は附着軟組織を除去して水洗し、その根尖部約 $\frac{2}{3}$ を試料とした。試料は約40°Cの定温乾燥器中で、その重量が一定になるまで乾燥し、秤量後、約1000°C、60分灼熱灰化した。その灰分を5% trichloroacetic acidに溶解し、乾燥試料1mg中の総P量およびCa量を、Fiske-Subbarow法¹²⁾によりもとめた。また、同一個体の血清無機PおよびCaは、あらかじめ5% trichloroacetic acidで除蛋白したのち、以下同様の方法で定量した。なお、対照として、同週令の吞竜ラット10例について、歯の硬組織、歯髓および血清のPとCa量を同一方法で測定した。

7. 移植成否の判定

移植陽性の判定は、腫瘍細胞を歯髓内に移植したのち、一定期間で移植側頬部および顎下部に腫脹をきたし、組織学的にも明らかに腫瘍細胞の増殖によって死に至ったと確認できたもののみを移植陽性とした。したがって、腫瘍移植後8日および13日に、生化学的ならびに病理組織学的検索のために屠殺したものは、頬部および顎下部に腫瘍性腫脹を認め、Giemsa染色所見でも移植陽性であったが、最終的な腫瘍死を確認していないので、移植成績からは除外した。

実験結果

1. 歯髓内移植成績

実験動物60例のうち、最終的な腫瘍死を確認せずに生化学的検索に用いた10例(移植後11~13日目)、病理組織学的検索に用いた12例(8日目6例、13日目6例)、および腫瘍移植歯髓の腹腔内移植に用いた4例(8日目2例、13日目2例)の計26例は、本成績から除外した。これらの実験群を除いた歯髓内移植動物34例中、他の疾患に罹患したもの、Cannibalismなどの事故例は3例である。したがって、有効動物は31例で、そのうち腫瘍死したもの21例、移植率は67.7%、平均生存日数は13日であった。

2. 腹腔内移植成績

腫瘍細胞歯髓内移植後、8日および13日経過の移植側および対側の歯髓を、正常ラットの腹腔内に移植すると、8日(2例)および13日(2例)経過例の腫瘍細胞移植側歯髓では4例とも移植陽性(8例)であった。すなわち、宿主は定型的な腫瘍性腹水の貯溜、大網部、腸間膜、後腹壁脂肪組織への浸潤、および胸腺や縦隔洞リンパ節への転移が認められ、7日から10日の生存日数で腫瘍死した。また、対側歯髓の8日(2例)および13日(2例)経過例のうち、13日経過の1例は腹腔内移植陽性であった。これらの結果から、再移植を試みた腫瘍細胞移植側の歯髓には、腫瘍細胞が確実に移植され、そこで増殖していることが明らかになった。また、症例によっては、対側歯髓にまで増殖が進展していることも明らかになった。

3. 肉眼的所見

歯髓内移植陽性動物の定型的な肉眼的所見は、Photo. 1 および 2 に示すような咬合異常と、顎下および頸部リンパ節の肥大、顎下腺、舌下腺および耳下腺とその周囲組織の腫瘍性腫脹である。

4. 病理組織学的所見

移植後 8 日目の歯髓では、本来の組織構造がまったく失われていた。すなわち、腫瘍細胞がび慢性に増殖して、歯髓固有細胞はほとんど失われ、また、基質の結合組織や、象牙質壁の象牙芽細胞もほとんど消失し、一部残存する象牙芽細胞も萎縮変性が著明であった (Photo. 3~5)。また、歯根膜、顎骨および筋組織にも著明な腫瘍細胞の浸潤増殖が認められた (Photo. 6, 7)。13 日経過例では、これらの腫瘍性破壊はさらに進行していた。しかし、この時期になっても、外胚葉性造歯細胞であるエナメル芽細胞は、その外側の諸組織がごとく腫瘍性破壊をうけているにもかかわらず、比較的整然とした配列と形態を保っていることが多かった (Photo. 8~10)。また、多くの場合、この時期の移植側臼歯部歯髓と、対側切歯および臼歯部歯髓にも軽度の腫瘍浸潤が認められた (Photo. 11)。その他、顎下、頸部および縦隔洞リンパ節、胸腺、顎下腺、舌下腺および耳下腺と、その周囲脂肪組織にも著明な腫瘍浸潤や転移が認められ、少数例では脳脈絡叢にも初期転移巣が認められた。

5. 歯の硬組織、歯髓および血清の P と Ca 量

腫瘍細胞移植後 11~13 日経過した 10 例の移植側切歯と、対照群 10 例 (測定時 7 週令) の切歯について、その硬組織と歯髓の総 P 量および Ca 量を測定した結果は、それぞれ Table 1 および 2 に示すとおりである。すなわち、腫瘍移植側切歯の硬組織における Ca 含量 (γ/mg) は、最小 362.0、最大 462.4、平均 406.8、総 P 量 (γ/mg) は、最小 190.2、最大 247.2、平均 219.0、Ca/P は最小 1.65 最大 2.08、平均 1.85 である。これと比較して対照群 10 例の平均値は、Ca が 548.0、P が 259.0、Ca/P が 2.11 である。この結果から、実験群における Ca/P は対照群に比べて明らかに低下し、その低

Table 1 Phosphorus, calcium and Ca/P in dental hard tissue of rats inoculated intrapulpally with Tawa sarcoma

Rat NO.	Ca (γ/mg)	P (γ/mg)	Ca/P
1	388.8	202.6	1.92
2	434.8	240.8	1.81
3	462.4	247.2	1.87
4	362.0	191.6	1.90
5	385.6	190.2	2.03
6	420.0	202.2	2.08
7	407.6	238.8	1.71
8	403.0	267.2	1.65
9	402.0	232.0	1.73
10	401.6	200.6	2.00
Average	406.8	219.0	1.85
Control*	548.0	259.0	2.11

* Average value of 10 normal rats

Table 2 Phosphorus, calcium and Ca/P in pulp of rats inoculated intrapulpally with Tawa sarcoma

Rat No.	Ca (γ/mg)	P (γ/mg)	Ca/P
1	16.2	14.7	1.10
2	16.3	16.0	1.02
3	17.4	17.1	1.02
4	14.2	14.8	0.96
5	18.8	15.6	1.21
6	14.2	14.2	1.00
7	14.1	14.8	0.95
8	13.6	11.6	1.17
9	12.6	15.9	0.79
10	16.4	15.0	1.09
Average	15.4	15.0	1.03
Control*	22.6	16.4	1.37

* Average value of 10 normal rats

下の主体は Ca の減少によるものと推定される。また、腫瘍移植歯髓の Ca 含量は、最小 12.6、最大 18.8、平均 15.4、総 P 量は最小 11.6、最大 17.1、平均 15.0、Ca/P は最小 0.79、最大 1.21、平均 1.03 である。これと比較して対照群の平均値は Ca が 22.6、P が 16.4、Ca/P が 1.37 である。この結果から、腫瘍移植歯髓の Ca/P は対照群に比べて明らかに低下し、その低下の主体は、歯の硬組織の

Table 3 Phosphorus, calcium and Ca/P in sera of rats inoculated intrapulpally with Tawa sarcoma

Rat No.	Ca(mg%)	P (mg%)	Ca/P
1	7.80	3.82	2.02
2	9.83	4.01	2.43
3	10.44	5.01	2.08
4	11.21	5.21	2.15
5	8.64	4.83	1.79
6	8.94	3.98	2.25
7	9.67	4.68	2.07
8	7.65	3.21	2.38
9	8.42	4.44	1.90
10	9.38	4.98	1.88
Average	9.19	4.42	2.08
Control*	9.46	4.57	2.07

* Average value of 10 normal rats

場合と同じく、Caの減少によるものと考えられる。一方、同一実験群の血清無機PおよびCa含量と、対照群のそれとを測定比較した結果は、Table 3に示すとおりである。実験群の平均値(mg%)は、Caが9.19、Pが4.42、Ca/Pが2.08で、対照群はCaが9.46、Pが4.57、Ca/Pが2.07である。したがって、この結果からは、実験群と対照群との間に量的変化が認められない。

総括および考察

呑竜系ラットの腹腔内¹³⁾⁻¹⁵⁾、皮下¹³⁾⁻¹⁵⁾および尾静脈内¹⁶⁾に多和肉腫を移植すると、宿主はほとんど100%腫瘍死することが知られている。本実験では歯髄という内部環境の異なった局所に腫瘍の移植を試み、67.7%の移植率を得たが、この成績は腹腔内、皮下および尾静脈内移植成績よりも、はるかに低い移植率である。この移植率の低下は、単に移植部位の相違による腫瘍のviabilityがもつ、組織あるいは臓器親和性によるものではなく、移植側切歯破折例のほとんどが陰性に経過したこと、および陰性例では、炎症性細胞浸潤が著明であったことなどから、切歯破折例や、注入部位の封鎖不完全な症例では、皮下移植の陰性例にみられると同様な二次的感染を惹起し、そのために陰性に経過したものと考えられる。したがっ

て、腫瘍細胞注入部位の破折防止と、注入孔封鎖のより強固な方法を考案採用すれば、化膿菌の侵入が防止でき、高い移植率を得ることが期待できる。

顎骨に可移植性腫瘍を移植したKAWAHARA(1952)²⁾は、少数例の歯髄に腫瘍の進展がみられることを報告し、この場合、腫瘍の増殖は、骨組織を破壊し、それが漸次増大して歯根端部に波及し、歯髄組織にも侵襲した所見であると述べている。また、顎下腺内に吉田肉腫を移植した島田(1960)¹⁰⁾も、顎骨が腫瘍性破壊をうけた少数例のものでは、歯髄にも軽度の腫瘍浸潤を認めたと報告している。さらに臨床的には、ヒトEwing肉腫の1例に、歯髄の著明な腫瘍性破壊が認められたとの報告もある。しかし、これらの歯髄所見は、歯髄全体、あるいはその一部に腫瘍細胞の浸潤増殖があったという記載にすぎず、歯髄内における腫瘍細胞の動態を、病理組織学的に詳細に検討し、腫瘍の進展に伴う歯髄や歯の硬組織の変化を生化学的に検索したものではない。そこで本実験では、腫瘍細胞を直接歯髄内に移植し、移植後8日および13日経過例の組織所見をまず比較検討した。その結果、移植後8日の歯髄では、歯髄固有細胞や基質の結合組織がことごとく腫瘍性破壊をうけ、さらに象牙芽細胞の大多数も腫瘍性破壊をうけていた。しかし、局所的には、軽度の萎縮変性をうけてはいるが、ほとんど正常の形態を保っている象牙芽細胞も一部残存していた。ところが、移植後13日になると、軽度の萎縮変性をうけただけの象牙芽細胞も完全に消失し、歯髄は完全に腫瘍細胞で充満していた。移植後13日経過の症例で興味ある所見は、歯髄がことごとく腫瘍性破壊をうけ、さらに歯根膜、顎骨および咬筋なども著明な腫瘍浸潤をうけているものでも、エナメル芽細胞だけは比較的整然とした配列と形態を保っていたことである。これは多和肉腫が、本来、細網肉腫として非上皮性細胞を母細胞として発生したことから、多和肉腫のviabilityがもつ臓器あるいは組織親和性の相違によるものとも考えられるが、皮下移植の場合には外胚葉から分化した組

臓器官にも、他の胚葉から発生分化した臓器官と同じように、浸潤増殖することから、単に臓器あるいは組織親和性の相違や、分化の程度によってのみ、エナメル芽細胞が腫瘍性破壊をうけなかったと断定することはできない。やはり、外胚葉から由来するエナメル芽細胞自体が、他の同一胚葉から発生分化した臓器組織とは、さらに異なった局所感受性の相違を、分化の過程でもつためと考えられる。本来、エナメル芽細胞は、骨芽細胞、象牙芽細胞などとは異なって、細胞成分が基質中に埋入せずに分泌機能を営み、エナメル質を形成し、細胞成分と形成基質とは混在することなく配列することから、この基質のもつ影響が局所感受性の相違の一因をなしているのかも知れない。しかし、このエナメル芽細胞の腫瘍細胞に対する局所感受性の本態が、正確に何に起因するのかは、本実験の結果からだけでは結論を下すことはできない。

一方、腫瘍組織の生化学的検索から、腫瘍組織の Ca 含量は一般に低下しているといわれている¹⁷⁾⁻¹⁹⁾。また、前癌状態の組織でも Ca 含量は、正常組織に比べて少ないと報じられている。すなわち、SUNTZEFF ら(1943)²⁰⁾は、マウスの皮膚に扁平上皮癌を生ずる最小有効量のメチルコラントレンを塗付すると、その肥厚部の Ca 含量は非常に低下していたという。さらに、これに関連して MILLER ら(1950)²¹⁾は、肥厚した皮膚の Ca が減少するのは、Ca-citrate complex が形成されるためであり、これは細胞の透過性を変化させる原因になると説明している。また、COMAN (1954)²²⁾の電子顕微鏡による細胞学上の Ca の役割を示す論文があるが、これは、ZEIDMAN (1947)²³⁾のいう、細胞膜の Ca が減少すると、腫瘍細胞同志が相互にゆるい結合になり、アメーバー運動が激しくなり、隣接組織に浸潤し、さらに血液またはリンパ液中に流入して、転移癌などの原因にもなるという説を裏付けるものであるという。腫瘍組織では、このように Ca 含量は一般に低下しているといわれているが、それとは逆に、腫瘍組織の壊死部分には、正常組織よりも Ca が多量に含まれる

という報告もみられる^{24) 25)}。

本実験では、歯髄内に腫瘍細胞を移植したので、歯髄はもとより、歯根膜、顎骨なども著明な腫瘍浸潤をうけた状態にある宿主の血清と、歯の硬組織および歯髄の P と Ca 量を測定した。この状態の歯は全体的には腫瘍化した歯として包括されるけれども、硬組織だけからみると、腫瘍細胞でとり囲まれた組織であり、一般の腫瘍組織とその周囲の軟組織や骨組織との関連性とは異なった環境にある。したがって、歯の硬組織の無機質測定は、厳密な意味での腫瘍組織中に含まれる無機質の測定ではなく、腫瘍浸潤にともなう二次的な代謝障害をうけた組織環境下における無機質の測定といえる。本実験のこのような条件下における担癌生体では、その血清の無機 P 量と Ca 量には、末期になっても変化がみられなかった。しかし、歯の硬組織では、対照群に比べて、Ca 量の減少による Ca/P の低下が著明にみられた。この実験群の歯の硬組織にみられた Ca の減少は、腫瘍移植歯髄中の Ca 量が対照に比べて著しく減少していたことから、腫瘍の歯髄内移植と、それに続く、腫瘍増殖という局所的要因によって、二次的に惹起されたものと考えられる。ところが、病理組織所見でみられるように、象牙芽細胞はことごとく腫瘍性破壊をうけ、腫瘍細胞に対して親和性を示していたが、エナメル芽細胞は末期になっても、比較的整然とした配列と形態を保ち、象牙芽細胞とは異なった腫瘍に対する感受性(抵抗性)を示していた。これらの組織所見と、歯の形成過程からみれば、象牙芽細胞の腫瘍性破壊は、象牙質形成不全、あるいは形成不能につながり、エナメル芽細胞の感受性(抵抗性)は、腫瘍の増殖によりエナメル質形成に多少の影響があるにしても、象牙質がうけた影響と比べれば、むしろ腫瘍の増殖に対して防禦的に働いていると考えられる。造歯細胞の健否だけで石灰化に伴う Ca および P の代謝のすべてについて言及はできない。しかし、歯髄中の Ca 含量が低下し、さらに歯髄組織はことごとく腫瘍性破壊をうけ、エナメル芽細胞だけが末期になっても整然とした配列と形態を保っていた

ことから、歯の硬組織にみられた Ca 減少の主体は、腫瘍の歯髄内移植という局所的要因によって、象牙質における歯髄からの Ca のとりこみが阻害されたことによると考えられる。

結 論

多和肉腫を呑竜ラットの下顎切歯歯髄内に移植し、その増殖に伴う組織変化と、歯の硬組織および歯髄にみられる生化学的变化を検索して、次の所見を得た。

1. 歯髄内移植率は67.7%，平均生存日数は13日である。
2. 定型的な肉眼的所見は、切歯の咬合異常と、唾液腺、顎下および頸部リンパ節の腫瘍性肥大である。
3. 歯髄固有細胞、基質の結合組織、および象牙

芽細胞などは、ことごとく腫瘍性破壊をうけるが、エナメル芽細胞は、比較的整然とした配列と形態を末期になっても保っている。

4. 血清の無機PとCa量には変化を認めないが、移植側切歯の硬組織と歯髄では、Ca量の減少によるCa/Pの低下が著明である。

5. 歯の硬組織における、Ca量の減少の主体は、歯髄が腫瘍性破壊をうけ、その結果、象牙質が形成不全、あるいは形成不能になったためと考えられる。

本論文の要旨は、第27回日本癌学会総会（昭和43年10月）、第160回（昭和43年3月）および第171回、大阪歯科学会例会（昭和44年12月）で発表した。

ご指導いただいた多和敏一教授ならびに榊鉄也講師に深く感謝いたします。

Summary: Tawa sarcoma cells were transplanted into the pulp of the lower lateral incisor of 60 Donryu rats, and histopathological observations were chiefly made of pulp cells, odontoblasts, ameloblasts and fibers following a proliferation of the tumor cells.

Simultaneously the phosphorus and calcium in serum, dental pulp and hard tissue of the incisor were determined with Fiske-Subbarow's method in reference to possible relations between the metabolism of those inorganic substances and the proliferation of tumor cells.

The results obtained were as follows:

- 1) The intrapulpal transplantation accounted for 67.7%. The rats survived average 13 days.
- 2) The typical gross findings consisted of an abnormal occlusion of the incisor, and a tumorous swelling of the salivary glands and of submaxillary and cervical lymphnodes.
- 3) The pulp cells, fibers and odontoblasts were all subjected to tumorous destruction, but ameloblasts always remained comparatively normal in their arrangement and morphology.
- 4) The inorganic phosphorus and calcium in serum showed no quantitative changes, while the hard tissue and pulp of the transplanted incisor markedly revealed a decrease in calcium with a decreased Ca/P.
- 5) It was assumed that the decrease in calcium of the incisor was mainly due to an incomplete or non dentin formation accompanying the tumorous destruction of odontoblasts.

文 献

- 1) LUTZ, B. R., FULTON, G. P., PATT, D. I., HANDLER, A. H. and STEVENS, D. F.: The cheek pouch of the hamster as a site for the transplantation of a methylcholanthreneinduced sarcoma. *Cancer Res.*, 11: 64, 1951.
- 2) KAWAHARA, M.: On the transplantation of transplantable animal tumors into the hard tissue (1st report). *Gann*, 43: 292, 1952.
- 3) KAWAHARA, M.: On the transplantation of transplantable animal tumors into the os tissues (2nd report). *ibid.*, 44: 309, 1953.
- 4) 河合男: 顎腫瘍の診断に関する研究第1報. 吉

- 肉腫の移植による実験的研究. 日外会誌, **53** : 719, 1952.
- 5) 河合男 : 顎腫瘍の診断に関する研究 第2報. 癌腫に於けるエナメル構造の電子顕微鏡像に対する臨床的並びに実験的観察. 名古屋医誌, **70** : 1541, 1955.
 - 6) 市川辰己, 磯貝豊 : 可移植性マウス癌腫の顎部移植成績. 口外誌, **3** : 133, 1957.
 - 7) 富田光男 : Brown-Pearce 家兔癌の同種動物顎内移植実験(第1報). 名古屋医誌, **75** : 1, 1958.
 - 8) 富田光男 : Brown-Pearce 家兔癌の同種動物顎内移植実験(第2報). 名古屋医誌, **76** : 1178, 1958.
 - 9) 富田光男 : 吉田肉腫の同種動物顎内移植実験. 名古屋医誌, **76** : 1511, 1958.
 - 10) 島田惣四郎 : 吉田肉腫を移植したラット顎下腺について. 歯科医学, **23** : 1503, 1960.
 - 11) HUNTER, H. A. and POYTON, H. G. : Pulpal metastases from Ewing's sarcoma. *Oral Surg. Med. pathol.*, **16** : 136, 1963.
 - 12) FISKE, C. H. and SUBBAROW, Y. : The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, **66** : 375, 1925.
 - 13) TAWA, T., SAKAKI, T., YOKOTA, Y., YAMADA, S. and SHIMADA, S. : A new spontaneous transplantable tumor in Donryu rat. *Gann*, **56** : 75, 1965.
 - 14) 榊鉄也, 島田惣四郎, 野上福秀, 榊田美雄, 寺本幸文, 岡田惣太郎 : 多和肉腫に関する研究(1) 腹腔内累代移植にみられる生物学的細胞学的特性について. 歯基礎誌, **6** : 53, 1965.
 - 15) 榊鉄也, 島田惣四郎, 榊田美雄, 野上福秀, 福島国臣, 岡田惣太郎 : 多和肉腫に関する研究(2) 剖検所見にみられた増殖性の変化と生存日数および経過の型について. 歯基礎誌, **6** : 103, 1956.
 - 16) 榊田美雄 : 腫瘍細胞の血行性散布と肺転移形成に関する実験的研究. 歯科医学, **31** : 473, 1968.
 - 17) DELONG, R. P., COMAN, D. R. and ZEIDMAN, I. : The significance of low calcium and high potassium content in neoplastic tissue. *Cancer*, **3** : 718, 1950.
 - 18) POLICARD A. and PILLET, D. : Recherches histochimiques sur la teneur en matieres minérales fixes des cancers expérimentaux. *Compt. rend. soc. Biol.*, **92** : 273, 1925.
 - 19) KISHI, S., FUJIWARA, T. and NAKAHARA, W. : Comparison of chemical composition between hepatoma and normal liver tissue. II. Sodium, potassium, magnesium, iron, iodine, and chloride, including sodium chloride. *Gann*, **31** : 1, 1937.
 - 20) SUNTZEFF, V. and CARRUTHERS, C. : The effect of methylcholanthrene upon epidermal sodium and calcium. *Cancer Res.*, **3** : 431, 1943.
 - 21) MILLER, H. and CARRUTHERS, C. : Citric acid metabolism in carcinogenesis and its relationships to calcium metabolism. *ibid.*, **10** : 636, 1950.
 - 22) COMAN, D. R. : Cellular adhesiveness in relation to the invasiveness of cancer: Electron microscopy of liver perfused with a chelating agent. *ibid.*, **14** : 519, 1954.
 - 23) ZEIDMAN, I. : Chemical factors in the mutual adhesiveness of epithelial cells. *ibid.*, **7** : 386, 1947.
 - 24) MORAVEK, V. : Über die anorganischen Elemente im malignen Gewebe (Rous-Sarkom der Hühner). *Biochem. Z.*, **258** : 340, 1933.
 - 25) MORAVEK, V. : Biochemie des Rous-Sarkoms der Hühner. II. Biochemie. 4. Calcium. *Z. Krebsforsch.*, **36** : 386, 1933.

Explanation of Plates

- Photo. 1 13 days after transplantation; abnormal occlusion of incisor and tumorous swelling of submandibular region observed.
- Photo. 2 13 days after transplantation; a marked tumorous swelling of salivary glands and of submaxillary lymphnodes observed.
- Photo. 3 8 days after transplantation ; marked tumorous cell infiltration and proliferation observed in pulp, periodontal membrane, mandibula and masseteric muscle.
H-E stain. $\times 70$.
- Photo. 4 8 days after transplantation ; pulp cells and fibers were absent and replaced by many tumor cells ; some remaining odontoblasts are mostly atrophic.
H-E stain. $\times 330$.
- Photo. 5 8 days after transplantation ; the pulp is devoid of its primary structure and filled with tumor cells.
H-E stain. $\times 330$.
- Photo. 6 8 days after transplantation ; marked tumor cell infiltration into mandibula observed.
H-E stain. $\times 330$.
- Photo. 7 8 days after transplantation ; marked tumor cell infiltration into masseteric muscle observed.
H-E stain. $\times 125$.
- Photo. 8 13 days after transplantation ; odontoblasts disappear ; the pulp is filled with tumor cells.
H-E stain. $\times 330$.
- Photo. 9 13 days after transplantation ; the pulp is devoid of its primary structure due to infiltration and proliferation of tumor cells ; some tumor cells show vacuolar degeneration.
H-E stain. $\times 330$.
- Photo. 10 13 days after transplantation ; ameloblasts remained comparatively normal in their arrangement and shape.
H-E stain. $\times 330$.
- Photo. 11 13 days after transplantation ; the molar pulp on the transplanted side partially shows a tumorous cell infiltration.
H-E stain. $\times 22$.