

## 子宮頸癌の放射線感受性に関する研究

## 第2編 組織培養による放射線感受性の検討

昭和34年12月30日 受付

信州大学医学部産婦人科学教室 (主任: 岩井正二教授)

助手 山 田 貞 一

## Studies on the Irradiation Sensitivity of Uterine Cervix Cancer

## Part II. Examination of the Irradiation Sensitivity by the Tissue Culture

Teiichi Yamada

Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine,  
Shinshu University

(Director: Prof. S. Iwai)

## 第1章 緒 言

1933年 Gey 等により Roller-Tube 法が考案されて以来、組織培養法は飛躍的な進歩を遂げ、今日まで癌の基礎的な問題を始めとし、多くの研究に応用されているが、産婦人科領域に於ける組織培養の応用も著しく活潑となり、今日まで各種の興味ある知見が報告されている。就中、子宮癌に対する研究が尤も盛んで、今日継代培養が可能で安定した純粋細胞株の最初のものと思われている Hela 細胞も子宮頸癌患者より培養されたものであることは周知の如くである。更に又子宮頸癌は他臓器の癌に比し、病巣よりの材料の採取が容易であることから、今後更に組織培養の成果が期待される。従来組織培養による研究は主として、その増殖率或は制癌剤の効果判定的なものに限局されているが、最近 Gey, Miller 等により本法による腫瘍組織の放射線感受性の研究が行われ、実際臨床面への応用が注目されつつある。即ち子宮頸癌の治療において手術が放射線かを撰択する場合に当該癌の放射線感受性が判れば、極めて有利であることは論をまたぬ所であり、今日迄各方面よりの研究が行われていることは、前編で述べた如くである。之に対し組織培養による本問題の検討も非常に大なる意義を有するものと考えられる。今回余も頸癌の組織培養に就き、少しく実験を行つたので、以下その成績について報告する。

## 第2章 組織培養法

子宮癌の培養法には各種の方法が実施されているが余は Roller-Tube 法により組織培養を行つた。

## 第1節 主要培養器具

## 第1項 Roller-Tube 用回転装置

様式回転培養器は1時間7~12回の減速調節可能。培養液がゴム栓に附着するのを予防するため5~7°の傾斜を有し、200本の培養試験管の挿入可能のものである。

## 第2項 ガラス器具

総べて硬質で良質のものを撰択し、使用都度クローム硫酸に約12時間浸し、之を充分水洗(約10回)、それを更に再蒸留水で水洗(約3回)、160°C 30分加熱滅菌し使用。

## 第3項 ゴム栓類

市販されているゴム栓を4% HCl で煮沸、水洗し更にコッホ釜で100°C 30分間滅菌。

## 第4項 塩類溶液

研究目的により各種塩類溶液が使用されるも、フェノールレッド指示薬を入れた滅菌法の容易な Hanks 液を使用した。

## 第5項 蛋白質類

各種血清の他色々の濾出液や羊水、眼球内液等が用いられるが、余は臍帯血清並びに人血清を用いた。臍帯血は臍帯搏動停止を待ち、注射器で無菌的に採血。尚採血時に「しごく」と溶血を起し易く、後日発育判定の一助となる pH の変化を示すフェノールレッド変色判定に影響するので充分注意を要する。採血液は数時間静置後、3000~4000rpm 15分遠沈し、血清分離を2回行い-15°C、フリーザーで凍結保存する。

## 第6項 鶏胎エキス

培養組織の発育維持並びに促進物質も種々あるが、余は現在最も一般的に採用されている鶏胎圧搾液(11日目の孵化生熟卵)を使用した。即ち卵殻を醋酸で清掃、更に70%アルコールで消毒後、気室側より卵殻を破壊し、鶏胎を採り出し可及的速かに Hanks 液に入れ、

眼球を撥棄し、更に Hanks 液で洗浄した後、ホモゲナイザーで粉砕し、凍結保存。使用時加温融解し、3000rpm で30分間遠沈してその上清を使用する。

#### 第7項 支持体

培養組織片及増殖細胞の支持体としては鶏血漿を使用した。採血に当つては 0.2mg/cc の Heparin Hanks 液を入れ、翼状静脈から無菌的に 10cc 採血。之を 3000rpm で15分間遠沈し、上清の血漿と鶏胎エキスの各1滴を混合して用いた。

#### 第8項 培養液

培養液の処方下表の如くである。

#### R P.

Hanks 液	55%
臍帯血清	40%
鶏胎エキス	5%
ペニシリン	100E
ストレプトマイシン	100r

### 第2節 培養術式

#### 第1項 培養材料採取方法

頸癌組織の採取に当つては、あらかじめ数日前より抗生物質(スプロナール、ペニギン坐薬等)を撒布挿入し可及的に腔、原発巣の清浄化を図つた後充分洗浄後(此際薬剤の使用は厳禁)試験切除器で採取。採取組織片は Hanks 液で数回洗浄し、血液、粘液壊死等の部分を除去、滅菌小試験管又はシャーレ内で、眼科用鉗で辺縁を可及的直線的になる様に注意して1~2mmの小片に細切し、更に Hanks 液で数回洗浄し培養にあてた。

#### 第2項 培養手技

豫め準備した滅菌試験管に鶏血漿の1滴と鶏胎エキス1滴を混合し、先端が軽度曲つたガラス棒で、手速く試験管面に廻転塗布し所謂 Plasma clot を作りゴム栓を施し、少時放置後 Clot の表面に前記培養組織の細切片を約 1cm 間隔で二列に静置、培養液を入れ、Roller-tube 培養器に挿入し、37°C で1時間回転数7回で培養した。培養液はフェノールレッド指示薬の色調の変化程度より隔日又は3日目に交換を実施した。

#### 第3項 判定法

發育増殖した細胞の Outgrowth の計測にも各種の方法があり、何れも一長一短を有する様である。即ち(1)Edinger 投影器法 (2)Planimeter 法 (3)核変化比 (4)乾燥重量法 (5)D・N・A 法 (6)酸素やグリコーゼの消費量測定 (7)浮游液培養法等があるが余は松山の判定方法を参考として、100倍の拡大の検鏡で、一視野中に増殖の認められるもの

(+), 2視野に及ぶもの(++)、3視野及びそれ以上に及ぶもの(+++), 移住を(±)とし、(+)以上を増殖例と判定した。又癌細胞の消失或いは Outgrowth の剥脱をもつて癌組織發育細胞の死滅と判定した。(写真6)

### 第3章 実験成績

#### 第1節 未処置の子宮頸癌患者に於ける組織培養

先づ未処置の子宮頸癌患者に就き組織培養を実施した。

#### 第1項 実験材料

信州大学産婦人科に入院せる未処置子宮頸癌患者。

#### 第2項 実験方法

前述の如く Roller-tube 法によつた。

#### 第3項 実験成績

##### (1) 一般發育様式

先づ一般的培養發育様式は所謂上皮性様式で、培養後数時間後に母組織片周囲に各種の游走細胞がみられるが、いづれも Plasma clot に固着せず培養液中に游走流失する。

移住の起る場合は培養後12時間頃で、母組織片の周囲一部に細胞が扇状地様に拡大する像が認められるが、増殖と異り雑然たる細胞の集団であるが、増殖の場合は所謂上皮性で一層をなし増殖する。(写真1, 2, 3, 4)

癌細胞は一般に6時間~72時間(平均30時間前後)で増殖が認められた。之を Papanicolaou の染色で換鏡すると多少小型化の傾向があるが細胞質と核比の不同、核の大小不同、集団化傾向、核小体の増加核の過染色傾向等通常の癌細胞と同様の特色が観察された。培養4~6日目に一般に母組織片周囲の Plasma clot は液化され、その部分の増殖發育細胞は培養液に流失するが、それ以外の母組織周辺では引き続き細胞の増殖が認められる。(写真5)

又線維芽細胞の發育が屢々観察されるが、その發育は必ず癌細胞の發育増殖より遅れ、一般に培養開始後10日すぎに多くみられ、母細胞片の末梢に行く程、その密度は疎となり、明瞭な紡錘形を呈する。

(2) 子宮頸癌13例を培養した結果は第1表に示す如く、發育増殖の程度の差はあれ全例に發育を認めた。培養試験管数に対する發育試験管数の率(以下増殖率と略)は55.1%であつた。發育内容では(++)以上の發育を示したものが9例、(+)のみが4例で、その中2例では、12本中2本及び1本と發育不良であつた。

表 1 子宮頸癌の組織培養

症 例	年 令	進 行 度	管 数	発 育 (+)	発 育 (-)	増 殖 率 %	発 育 内 容				
							(卅)	(卅)	(+)	(±)	(-)
1	55	Ⅲ	30	13	22	43.3	3	0	10	4	18
2	60	Ⅱ	40	33	7	82.2	2	3	28	3	4
3	71	Ⅲ	36	28	8	77.8	2	5	21	3	5
4	53	Ⅱ	30	30	0	100.0	10	10	10	0	0
5	56	Ⅱ	30	9	21	30.0	1	2	6	6	15
6	43	Ⅱ	40	12	28	30.0	0	2	10	4	24
7	34	Ⅱ	30	30	0	100.0	4	0	26	0	0
8	56	Ⅳ	12	7	5	58.3	1	2	4	3	2
9	59	Ⅳ	12	2	10	16.7	0	0	2	0	10
10	67	Ⅲ	12	6	6	50.0	0	0	6	0	6
11	34	Ⅲ	12	1	11	8.3	0	0	1	0	11
12	55	Ⅱ	10	10	0	100.0	5	2	3	0	0
13	51	Ⅱ	10	5	5	50.0	0	0	6	3	1

全体増殖率55.1% 発育は48～72時間  
発育範囲(卅)～(+)

松山等は子宮頸癌では59.8% (92例中55例) の発育と報じているが、組織培養では多種多様の複雑なる因子が関与し、厳密なる意味での絶対的至適培養条件を見出すことは不可能に近く極めて微妙なる差でもその発育には大なる相違を来すものと考えられる。余の方法と松山との方法に於て (1) 1本あたりの培養組織片数が少ない。(5～10ヶ位)

(2) 鶏胚エキスには殆ど Hanks 液を入れなかつた。

(3) 鶏胎エキスは Plasma clot 用を除き、栄養液用のものは常に新鮮のものを使用した。

(4) Roller-tube の回転数が4～5回、7～8 rph。

(5) 判定法は100倍検鏡で実施した等の差異があり培養成績の差異の1因をなすものと思はれる。

(3) 進行期、組織所見、SRと増殖率との関係  
上記各分類と増殖率との関係については第2表の如くで、例数少き為決定的な事は云へぬが、進行期の早い例に、又組織所見では未熟例、SRとの関係では10%以上のものに増殖率が高い傾向を示す様であるが、今後更に例数を増加して検討する必要があると思はれる。

## 第2節 処置(照射療法)子宮頸癌患者に於ける組織培養

子宮頸癌原発巣は各種放射線療法により程度の差はあれ、何れも可なりの変化の生ずる事は当然である。かかる照射性変化の生じた癌組織の組織培養では、未

表 2 子宮頸癌と各分類と培養との関係

分 類	増 殖		増 殖 率	例 数
	Ⅱ 期	Ⅲ 期		
進 行 期	Ⅱ 期		70.3	7
	Ⅲ 期		44.9	4
	Ⅳ 期		37.5	2
成 熟 度	未 熟		65.0	2
	中 間		59.9	10
	成 熟		16.7	1
S - R	10% 以上		64.9	5
	9.9% 以下		52.6	8

処置のものに比し、一般に増殖の悪い事が充分に予想される所であり、逆にその増殖の変化状態から放射線感受性的なものが予測される可能性があり得る。かかる点から余は放射線療法施行患者の癌組織培養を試みた。

## (A) 照射療法による組織培養の変化

### 第1項 実験材料

信州大学産婦人科学教室に於て照射療法を実施した患者より採取。

### 第2項 実験方法

廻転照射、テレコバルト照射、Co<sup>60</sup> 直接照射の各施行中の6例からの採取材料を前記の法 Roller-tube により培養した。

### 第3項 実験成績

6例につき検索した成績は第3表に示す如くである。一般に治療の進行と共に増殖は低下する傾向にある様で、特に深部量3000r前後になると増殖の低下傾向を示す様である。各増殖発育を観察するに、無処置初代培養時とくらべ、その Outgrowth も一般に不良で、又発育増殖日数も、線量の増加と共に短期間で、その日数も最短7日より最長36日間であつた。もつとも原発巣の変化の大なる Co<sup>60</sup> 直接照射例は2例につき検索したが、1例では増殖をみず、1例では一次効果(卅)であるにもかかわらず5本中3本に増殖を認めたが此等の差は進行期、療法手技、或いは線感受性等の差によるものと思はれ子宮頸癌組織の複雑性を物語るものと考えられた。

## (B) 放射線感受性指数(Miller)に関する検討

Miller は近時組織培養を行つた癌組織に照射を行い、その照射量と培養組織の死滅する日数より、放射線感受性を或る程度予測し得る場合ありと推論しているが、余も此の点につき以下検討を試みた。

### 第1項 実験材料

信大産婦人科に入院加療せる子宮頸癌患者4例(手

写真 1.  
移 住 (子宮頸癌)

(4×10)

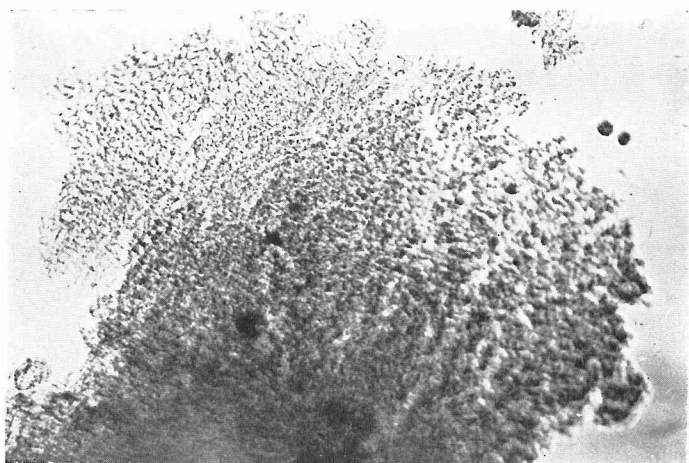


写真 2.  
増 殖 (子宮頸癌)

(4×10)

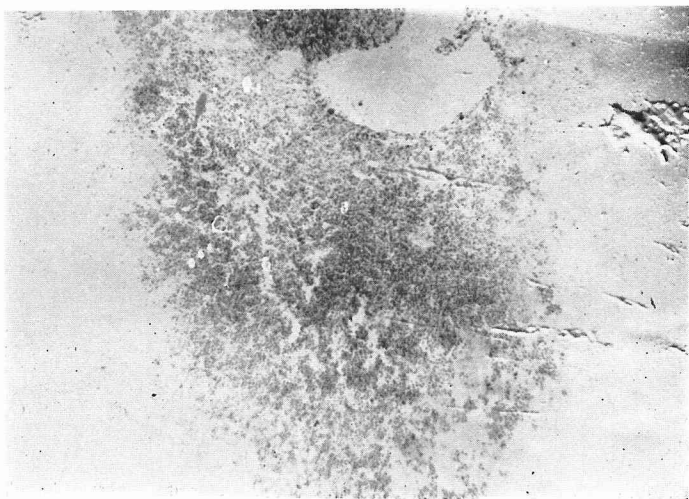
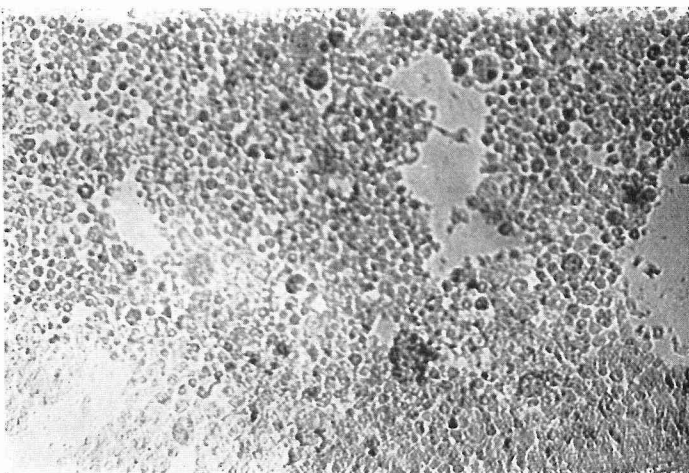


写真 3.  
増 殖 (子宮頸癌)

(10×10)



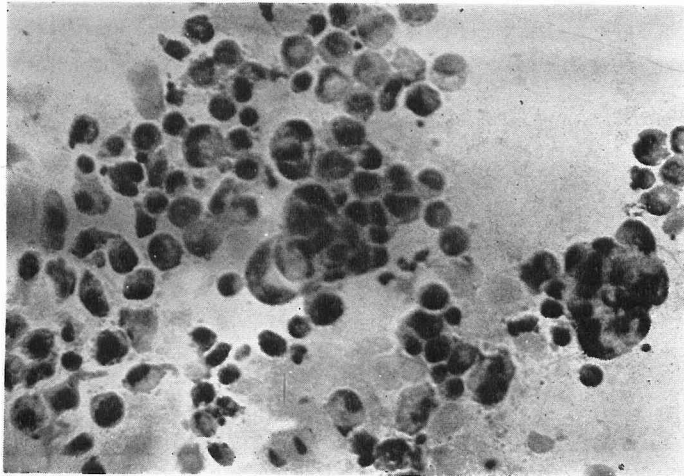


写真 4.  
増殖 (子宮頸癌)

(40×10)

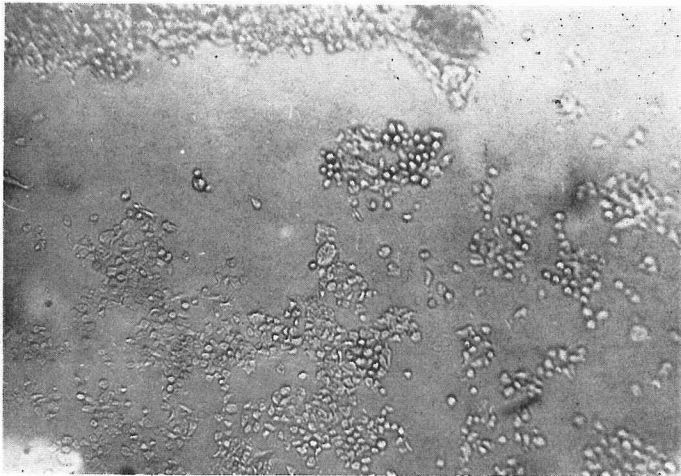


写真 5.  
母癌組織周囲の液化現象による  
癌細胞剝脱

(10×10)



写真 6.  
癌増殖細胞の照射による剝脱

(10×10)

表 3

## 放射療法施行患者の組織培養

症 例	年令・進行度・SR	深 部 量	増殖 管数(+)(-)	細胞の組織 剥脱期間所見	臨床経過概略	一次 効果	パ・診
No. 1 北 〇 原	53才・Ⅱ・23.0 (100.0%) 初代培養増殖率	Tele. 1500 3000 5000	5 5 0 5 1 4 5 0 5	20 9	A 入院時・退院時 鶏卵大→正常大	(+) (+) (+)	(+) (+) (-)
No. 2 降 〇	67才・Ⅲ・29.0 (50.0%)	Pend. 1200 2400	5 4 1 3 2 1	14 7	B 入院時・現在 超鶏卵大 発熱	(+)	(+) (+)
No. 3 三 〇	59才・Ⅳ・40.6 (16.7%)	Tele. 1800 3300 5000	5 3 2 3 0 3 3 0 3	9	C 入院時・現在 超鶏卵大→直径 3cm位となる	(+)	(+) (+) (±)
No. 4 伝 〇	56才・Ⅳ・18.0 (58.3%)	Tele. 820 2260	3 3 0 5 1 4	36 25	B 入院時 噴火口状	(+)	(+) (±)
No. 5 河 〇	42才・Ⅲ・14.0	Tele. 5900 Co <sup>60</sup> . 3550 Pend. 4000	5 3 2	9	入院時・現在 双鶏卵大・鳩卵 大	(+)	(-)
No. 6 倉 〇	66才・Ⅱ・12.0	Pend. 4000 Co <sup>60</sup> . 2190 Tele. 2000	5 0 5		入院時・現在 超鳩卵大→鳩卵 大	(+)	(-)

表 4

## 頸 癌 と 放 射 線 感 受 性

症 例	年令・進行度・SR	初代培養 増殖率%	培養後レ線 開始迄の日	1回線量・照射回数・総線量	X線感受 性指数*	治療区別
No. 1 浦 〇	43・Ⅱ・0.6	30.0	10日目	200 × 10 2000	26	手 術
No. 2 田 〇	34・Ⅱ・1.2	100.0	13日目	200 × 26 5200	102	手 術
No. 3 池 〇	56・Ⅱ・7.8	30.0	12日目	200 × 50 10000	780	手 術
No. 4 北〇原	53・Ⅱ・23.0	100.0	7日目	200 × 50 10000	800	放射線

$$*E = \frac{r \times S}{1000}$$

E = レ線感受性指数

r = 総線量

S = 照射第1日目からの生存期間

術患者3例、照射療法1例)。

## 第2項 実験方法

Roller-tube 法で処置前に採取した癌組織を培養し培養後7~13日経過観察後、癌細胞の比較的発育良好のものを選り、200rを1日1回連日乃至隔日に照射を実施した。照射条件は島津製作所信愛号 STO 200-20, 180KV, 15mA, 濾過板 0.5mm Al+0.5mm Cu 試験管及管路距離40cm, 照射10×15cm。

## 第3項 実験成績

4例の成績は第4表の如くである。各症例につきMillerの  $E = \frac{r \times S}{1000}$  の式にあてはめると、今仮りに連日200r照射したものにつき之をみると26, 103, 780, 800, の数値を得る。4例中3例が放射性抵抗性、1例が良好型であったが、症例No. 1~No. 3は手術療法で第一次効果と併用して観察は出来ず今後の5年治療によらねばならぬが、然し症例4に於てはMiller

の所謂レ線感受性抵抗性を示す数値を示したにもかかわらず局所総線量5000r (Telecobalt 中心部照射前面300r, 后面より200r) の照射を実施した第一次効果は入院時鳩卵大の腫瘍が退院時には著明な縮小を認めた。本例は第3表の成績の示す如く、1500rでは5本中5本、3000rでは5本中1本に増殖がみられ、5000rでは増殖が認められておらず又臨床的経過が極めて順調であつた点等よりin vitro とin vivoにおける成績が一致せずMillerの云う放射線感受性指数に関しては、今後更に慎重なる検討を要するものと考へられる。

## 考 按

組織培養法は今世紀の始め頃より、既に研究が開始され、今日迄多くの業績が発表され、更に術式、培養器具、培地等の改善案が進められつつある。今日迄行はれて来た方法としては Coverslip 法, Carrel 法,

Matland 法, Roller-tube 法, 時計皿法等があるが、現在尤もよく使用されている方法は Roller-tube 法である。

本法は1933年 Gey により考案された方法であるが、抗生物質の発達と共に組織培養法に一大飛躍をもたらし、特に最近 Salk 等が本法を応用して所謂 Salkvaccin を完成し、一般にも非常な関心が払はれる様になつて来ている。人腫瘍組織の培養に関しては、既に相当以前より行はれており、特に悪性腫瘍の組織培養は Carrel, Burrow 等により開始され、今日では各所で癌細胞の培養が実施されている。特に1951年 Gey 等により作られた Hela 細胞は子宮癌患者の材料によつたものであり、今日世界各国で多方面の研究に利用されている事は周知の事実である。子宮頸癌に対する業績としては、今日迄多くのものがあり、即ち1948年 Glatthaare は子宮腔部の正常部と癌変化部との間には、培養によりその上皮細胞増殖の程度に著明なる差のある事を報じ、又1952年 Moore も11例の正常頸部組織と17例の子宮頸癌の培養結果より、悪性病変部は良性病変部に比し、比較的増殖し易い事を認め、更に Sortham 等は Roller-tube 法で培養例の44%に癌細胞の増殖を認め、Volunter の移植実験を試みており、又1959年 Grand は42例の子宮腔部材料につき Maximow double-coverslip 法で実験し、組織培養上の所見は陰塗抹標本の所見と一致し、未熟細胞の多い程、培養活性度も高いと述べている。

近時本邦でも松山等は161例の各種子宮腔部の培養を行い、子宮頸癌59.8%、卵巣癌33.3%、妊娠ビラン30.8%、体部癌20.0%、非妊娠ビラン17.6%、正常腔部11.1%の発育をみたと報告し、頸癌と正常子宮腔部組織との間及び頸癌と癭嚕群との間に有意差を認めている。余の頸癌13例に於ける実験では発育増殖の程度の差はあれ、全例に癌細胞の初代培養の発育を認め、培養試験管数に対する発育試験管数の率は55.1%であつた。体外で増殖する培養組織は、組織切除部位の状態を始めとして培養迄の時間、汚染の程度、培養液の新鮮度組成、廻転培養回数等多くの複雑なる因子に左右せられる事が当然想像され、それ等が相互に微妙なる関係を有するものと考えられる。組織培養法による各種の検索は動物実験に比し有利な点が多く、細胞に対する薬剤の直接作用より、その効果の大局を判定する事が可能である事より、臨床的には比較的最近迄制癌剤効果判定に関するものが、その主体を占める傾向であつたが、現在では単に狭義の制癌剤のみならず、癌に対する抑制作用に関する研究、即ちホルモン、代謝拮抗剤等の検討が行はれている。更に放射性感受性に

就いても組織培養による研究が為される様になり、本邦では野嶽等の Hala 細胞に関する研究があるが、Gey は照射後患者よりの材料を培養し、従来のものと異なる増殖緩慢な小型上皮細胞株をみ、 $r$ 線の作用について報じ、近時更に Miller 等は子宮癌患者から直接採取した癌巢の組織小片の20~40を Roller-tube で培養し、In situ 群（培養試験管を腔内に挿入し照射）と Phantom 群（培養試験管を Phantom 中に挿入して照射）とに分けて照射を行い、その観察結果から興味ある報告を行つている。即ち  $E = \frac{r \times S}{1000}$  ( $E$  = 放射性感受性指数,  $r$  = 総レントゲン量,  $S$  = 照射第1日からの培養日数) の式より  $E$  の値が0~49は放射線感受性良好型, 50~100 中間型, 100 以上抵抗型、として In situ 群10例（9例の頸部癌と1例の唇部癌）では、感受性良好6例、抵抗例3例、中間型2例の成績を得たと報じており、臨床的にも或る程度参考とし得るのではないかと推論しているが、しかし in vitro の培養された癌細胞の放射性感受性が in vivo の腫瘍の反応を実際に示すと思うのは早計であり結論を得るには尚今後の検討が必要と述べている。Lasnitzki も in vitro に於ける照射効果の中照射直接効果は  $1/a$  で他の  $2/a$  は間接的な血行障害等によるものとしているが組織培養癌細胞と臨床上の放射線治療効果或は予後の推測等に際し極めて示唆に富むものと考えられる。又 Graham の SR, RR が如何なる事により生ずるか又その判定基準を如何にすべきか等に就ては今日尚不明の点が多い所であるが、しかし今後組織培養による癌細胞の各方面からの検討により、その事情の一端が解明されるものと考えられる。

余の実験成績では放射線療法施行中より採取した組織では、深部量3000r前後で発育の不良傾向を見、無処置癌初代培養時より発育も一般に不良で、生存期間も短縮化の傾向を示し30日間以内に増殖細胞の剝脱現象をみ、放射線効果の一端を知り得るのではないかと考へられた。又初代培養したもの4例につき、連日~隔日、 $\gamma$ 線照射し、Miller 氏の云う指数より之をみると4例中3例が手術療法を行つた為、第1次効果と併用しての観察は不可能であつたが、第一次効果と共に観察し得た1例では in vitro では放射線抵抗性であつたに拘らず、臨床的に一次効果及経過は良好であつた。此の事は前述の如く in vitro の腫瘍の放射線感受性より癌患者の予後を推定することは、Miller 自身も強く警告する如くいまいしめるべきであると考えられる。最終結果は、勿論5年治療率によらねばならぬが、癌患者の生体反応の複雑性に就いては今后尚多くの追求が必要であるが、然し放射性感受性に関する問

題が大きく取りあげられている現在、組織培養法による検討は大いに今後期待される興味ある方法と考へる。

### 結 語

(1) 未処置子宮頸癌13例につき行つた組織培養は程度の差はあれ、全例に増殖を認めた。しかし、進行期、成熟度、SRとの関係については更に今後の検討が必要と思はれる。

(2) 放射線療法施行患者の組織培養に於ては、一般に3000r前後に於て増殖の程度が低下する事を認めた。

(3) Millerの所謂放射線感受性指数に就いては慎重に検討する必要があると思はれる。

(4) 組織培養による子宮癌の放射線感受性の研究は、従来法と共に大いに今後期待される興味ある問題である。

終りに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲の労をとられた恩師岩井正二教授に心から排謝すると共に多大なる御教授、御援助を戴いた福田助教授、小児科冠木宏之博士・青木元見学士、中央レントゲン部鈴木技

官に対し深謝すると共に、御協力を戴いた津田学士並びに教室の各位に対し感謝の意を表する。

### 主 要 文 献

- ①Carrel, A: J. Exp. Med., 38: 407, 1923.
- ②Gey, G. O: Am. J. Cancer, 17: 752, 1933.
- ③Gey, G. O: Am. J. Cancer, 27: 45, 1933.
- ④Glatthaar, E.: Schweiz. Med. Wchschr: 78: 720, 1948.   ⑤Hanks, J. H. & Wallace, R. E: Proc. Soc. Exp. Biol & Med., 71: 196, 1949.
- ⑥Grand, C. G: Ann. N. Y. Acad. Sci: 63: 1436, 1956.   ⑦勝田: 組織培養法 (綱谷書店), 1955.
- ⑧Lasnitzki, I: Brit. J. Radiol., 18: 1214, 1945.
- ⑨野嶽: 産婦の実際., 8, 1: 55, 1959.   ⑩松山: 日産婦誌., 10: 1491, 1958.   ⑪Miller: Am. J. Obst. & Gynec. 76: 5, 1071, 1958   ⑫Moore, J. G: Am. J. Obst. & Gynec, 64: 13, 1952.   ⑬Moore, J. G.: West. J. Surg., 63: 1, 1955.   ⑭Maximow, A: Contr. Embryol., 66: 214.   ⑮松山: 日産婦誌., 10: 1491, 1958.   ⑯Southam, C. M. & Goettler, J. P. Cancer, 6: 809, 1953.