

組織培養液中에서 轉化시킨 自己組織의 發癌防止效果(第I報)

機器分析科
金 大 恩

Prophylactic Effect of in vitro Transformed Autochthonous Tissue on Tumor Formation (I)

Theresa Dae-Eun Kim

Instrument Analysis Division

= Abstract =

Intraperitoneal injection of extransplanted C₃H mice skin treated with 3,4-benzpyrene in vitro was effective to prevent tumorigenesis of autochthonous mice from subcutaneous injection of 3,4-benzpyrene.

The possibility of the development of autovaccine against tumor formation was discussed.

緒 論

癌組織이 抗原的인 變化를 이르켰다는 事實은 Strong¹⁾에 의하여 이미 1926년에 알려졌으며, Lumsden²⁾은 1927년에 cancer vaccine의 開發可能性에 對하여 말하였다. 그러나 Lumsden이 實驗에 使用한 抗原은 xeno-genic origin의 癌細胞를 利用하였고, 따라서 그는 transplantation antigen의 一般的인 性格을 보았다고 보아야 하겠다.

1950年代에 들어서서 cancer vaccine의 研究는 inbred animal에서 유래한 腫瘍細胞나 腫瘍組織을 抗原으로 使用하므로써, 이 不當性에 修正을 加하려고 하였는데^{3,4,5,6)} 이때에 攻擊用으로 使用한 細胞는 發癌을 한 후에 오랜 時間이 經過하고 여러번 繼代되어 나려온 것이었다. 初期의 癌細胞의 抗原과 繼代를 거듭하여온 癌細胞나 轉位癌의 癌細胞의 抗原性과는 同一하지 아니하므로^{7,8)}, 自然狀態에서 發生하는 初期의 癌細胞를 죽이거나 그 成長을 防害하는 것을 目的으로 하며 施行되어야 하는 것이 cancer vaccination인바, 所期의 目的에 一致하지 못한다고 본다.

1960年代에 와서는 autochthonous origin의 腫瘍細胞를 抗原으로 하고 同一組織으로 攻擊을 하는 研究가 進

行되어 왔는데^{9,10,11)} 이들은 모두가 post operative autovaccine의 性格을 띄고 있어서 疾病의 發生을 未然에 防止하여야 하는 vaccination 本來의 意味에서 벗어난 것을 위하여 進行된 研究였다고 본다.

Maisin¹²⁾은 1964년에 inbred mice를 dimethylaminobenzene으로 飼育하여서 mice에 發生시킨 hepatoma cell의 microsome을 抗原으로 새로운 마우스에 接種하여 마우스를 免疫시킨 후에 dimethylaminobenzene으로 飼育하면, hepatoma의 發生率이 對照마우스에 比하여 적어지는 事實을 發見하였다. 이로써 發生初期의 癌을 豫防하는 研究가 이루어졌다고 볼 수 있지만, 이 成績을 利用하여 사람에게 發生하는 癌을 豫防하려고 할 때에는 Maisin이 使用한 方法과 같이 다른 inbred individual에서 부터 抗原을 얻는다는 일은 不可能한 일이라고 生覺한다.

Hellström과 Hellström¹³⁾은 1972년에 사람의 癌豫防에 言及하여, 動物의 類似組織의 癌을 利用하여, blocking serum activity가 없을 때만, 해당器管에서 일어나는 發癌作用을 억제할 수 있을 수도 있을 것이라고 말한 바 있다.

1963년에 Berwald와 Sachs¹⁴⁾에 의하여 組織培養液中에서 細胞 發癌物質로 處理하여 起病性이 있는 癌細胞로 轉化된 細胞를 얻게 된 以後에, 많은 研究가 이 方

面으로 進行되었고^{15, 16, 17, 18, 19, 20, 21)} 또 組織培養을 繼續하면 發癌物質의 도움이 없어도 正常細胞가 spontaneous transformation을 한다고 하므로²²⁾, 사람이 動物의 細胞가 아닌 自己몸의 一部分에서 얻어진 細胞를 가지고 體外에서 癌細胞로 變化시킨 細胞를 가지고 vaccination 받을 수 있을지도 모른다는 一縷의 希望이 안겨진다. 이러한 vaccine에서는 histocompatibility에서 부터 오는 여러가지 問題가 除去될 수 있을 것이다. 그 中에서도 Chen과 Heidelberger^{17, 22)}는 adult animal의 組織을 invitro에서 transformation시키는 일에 成功하였으며, 그런 고로 免疫機構가 懈弛해진 老斷期(senescence)에 主로 發生하며²³⁻³¹⁾, vaccination도 adult stage에 施行할 必要性을 느끼는 癌問題를 다루는데 接近할 可能性을 엿볼 수 있게 하였다.

Hellström과 Hellström이 指摘한 두번째 問題인 "blocking serum activity"³²⁻³⁴⁾는 7S와 19S serum protein fraction에서 作用한다고 볼 수 있으며³⁵⁾ 腫瘍細胞안에 있는 抗原의인 要素에 의하여 誘發되는 現象이라고 보아야 한다³⁶⁻⁵²⁾.

마우스 細胞에 있어서는 이것이 H-2 locus에 있고 抗原의인 物質은 熱에 強하고⁴⁶⁾ alcohol, ether等に 추출되며, pH3以下 10以上에서는 그 作用을 잃고 trypsin, hyaluronidase, DNAase 및 neuraminidase處理에 의하여 變化를 입는다고 한다^{37, 44, 53)}. 그러므로 이들의 諸性質을 利用하여 抗原으로 使用하는 癌細胞를 適切하게 處理할 때에 Hellström과 Hellström이 提示한 第二의 問題도 解決될 수 있을 것이라고 生覺한다.

材料 및 方法

3個月齡의 C₃H 雄性 마우스의 등부분을 가위로 털을 깎고 ether로 麻痺시킨 다음, ethanol과 phenol로 털이

깎기위 들어난 皮膚를 消毒하고 나서 약 1cm²의 넓이로 皮膚를 도려낸 다음 mercurochrome으로 傷處를 消毒하고 箱子속에서 飼育을 繼續하였다.

切除한 皮膚는 PBS에서 두번 씻고 나서 가위로 2mm 넓이로 細切하고 Eagle培地(calfserum 10%, mycostatin 100units/ml.) 10ml에 넣어서 37°C 恒溫室에서 培養하였다.

切除培養을 實施한 다음날 10μg 3, 4-benzopyrene/ml를 含有하도록 調製한 上記 培地 10ml로 培養하였으며 이 培養을 10日間 繼續한 후에 細織片을 0.25% trypsin in PBS에 15分 담겼다가 다시 benzopyrene이 없는 培地로 繼續培養하였는데, benzopyrene을 培地에 添加하였을 때에는 培養用試驗管을 세운 stand를 검은 종이로 덮어서 光線과 차단하였으며 benzopyrene이 묻은 硝子器具는 濃黃酸에 담겼다가 물로 씻은 후에 다시 acetone으로 씻고 물로 씻었고, 廢棄하는 培養液은 benzopyrene이 남아 있을 경우에 對備하여 4時間동안 紫外線燈 밑에 露出시킨 후에 下水口에 버렸다. 培養用培地는 2~3日만에 한번씩 交換해 주었고 이러한 培養은 皮膚切除後로부터 5週日間 繼續하여 實施하였다.

最初의 手術日로부터 5週日이 經過한 다음에 組織片을 培養液으로 부터 꺼내서 生理的食鹽水로 씻고 乳鉢로 갈고 나서 그 乳劑를 0.1N NaOH를 가지고 pH10으로 調整하고 한 時間동안 室溫에 放置한 다음 0.1N HCl로 中和시켰다.⁴⁴⁾

上記한 乳劑에다 Freund's complete adjuvant를 添加한 다음 組織을 提供한 마우스에게 全乳劑量의 節半式으로 나누어서 1週日 間隔으로 2回 腹腔內에 注射하였다.

發癌物質로서 攻擊하기 爲하여 마지막 腹腔內接種 2週日後에 1mg 3, 4-benzopyrene/0.25ml trycaprylin을 left scapula部位에 皮下注射하였다^{54, 55)}. 發癌物質을 皮

Table. 1. Results of Attempts to Produce Autochthonous Immunity, Against Subcutaneous B.P. Challenge by Inoculation of Extransplanted Mouse Skin Treated with B.P. in vitro.

Exp. Group	No. Mice Takes	Treatments					No. Mice with Tumor	Ratio of Tumorigenesis	Tumor Regression	Regression Ratio
		Skin Uptake	B. P. in Media	Alkali Treatment	Immunization	Challenge with B. P.				
I	10	NT	NT	NT	NT	T	10	10/10	0	0/10
II	6	T	NT	T	T	T	6	6/6	0	0/6
III	19	T	NT	T	T	NT	0	0/19		
IV	14	T	T	T	T	T	4	4/14	4	4/4

B. P. -3, 4-benzopyrene, NT-Not treated, T-Treated

下注射한 후에 120日間 하루에 한번씩 마우스를 觀察하면서 注射部位의 發癌性 如否를 檢査하였다.

結 果

實驗結果는 表 1과 같다.

考 察

3, 4-benzpyrene으로 處理한 extraplanted mice skin을 乳劑로 하고 0.1N NaOH로 pH 10이 되게 하여 한 時間 室溫에 放置한 다음 0.1N HCl로 中和하고 adjuvant와 함께 注射하면 autochthonous host mouse를 3, 4-benzpyrene에 의한 tumorigenesis로 부터 保護할 수 있다는 結論을 얻었다.

Burnet가 1964년에 쓴 綜說⁵⁶⁾에서는 benzopyrene으로 誘發된 腫瘍은 거의 모두가 抗原性を 가지고 있지 아니하다고 하였으나, 그에 앞서서 1961년에 發表된 Koldovsky⁸⁾의 實驗에서는 alcohol로 죽인 benzopyrene tumor는 benzopyrene tumor에 對해서 뿐만이 아니고 同一한 strain에 있어서는 다른 polycyclic hydrocarbon으로 誘導된 腫瘍 및 spontaneous tumor에 對해서도 protective하게 作用하였다.

本試驗에서는 높은 pH로 處理하여 enhancing factor를 除去하면 benzopyrene 誘導 tumor cell이 antigen을 갖게 되며 vaccination으로 向한 새로운 門戶가 열렸다고 볼 수 있는데; 이에 反하여 同一個體內에서라도 chemically induced TSTA는 서로 相異한 antigenicity를 가지고 있다고 믿게 하던 많은 實驗成績들을 보면^{53, 57, 58, 59, 60)} 모두가 그 實驗을 施行할 때에 enhancing factor를 考慮하지 아니하고 있다.

腫瘍의 抗原性を 論할 때에 operon의 概念을 받아들인다면; 어떤 hepatoma에서는 organospecificity of liver cell을 잃어버린다는 記錄⁶¹⁾과 同一個體에서 同一作用을 하는 operon이 同一할 것이라는 觀點에서 볼 때에 同一個體에서 생긴 alloantigen이 同一할 것이 가능한 일이며: 腫瘍의 抗原性を somatic mutation에서 오는 immunological attack라고 볼 때에는; 同一個體에서 各器官에 있는 모든 DNA는 서로 差異가 없다는 事實⁶²⁾에 의하여 考察할 때에 同一한 個體에서 DNA의 同一한 部分에 同一한 carcinogen이 作用한다면, 同一個體內에서는 同一한 carcinogen에 의하여 생긴 腫瘍抗原은 同一할 수가 있을 것이다.

Daudel과 Daudel⁶³⁾은 1966년에 chemical carcinogen을 構造로 보아서, polycyclic hydrocarbons, aromatic

amins, azocompounds 및 alkylated carcinogens 등으로 4大別하였는데, 同一한 構造體系에서는 發癌作用을 하는 部位가 同一部分에 있거나, 또 그 發癌物質의 어떤 一定한 代謝產物이 發癌作用을 가지고 있어서 그 代謝產物과 接觸을 하는 部位나 器官에 腫瘍이 나타난다고 한다.

Koldovsky⁸⁾의 成績과 위와 같은 carcinogen의 性質로 미루어 생각하여 보면, chemical carcinogen에 대한 腫瘍을 豫防하려고 하면, 4個의 group의 代表的인 carcinogen이나 그의 代謝物로 invitro transformation 시켜준 다음에 enhancing factor를 除去한 autochthonous tissue를 vaccine으로 使用할 수도 있을 것 같다.

그러나 chemical carcinogen에 의한 發癌過程을 發癌의 全部라고 본다면, 環境管理에 철저를 期하기만 하면 環境要因인 이들 chemical carcinogen을 위하여 特히 vaccination을 必要는 없다.

또한 virus에 의한 oncogenesis가 cancer의 主要原因이라고 친다면, 앞으로 어느 날엔가 그 原因體인 virus가 分離될 날이 있을 것이며 分離된 virus에 對한 研究가 virus cancer에 對한 解決策을 갖거나 줄 것은 當然한 일이다. 그러고 보면 virus에 의한 癌을 爲하여 本 研究를 繼續할 必要가 없다고 생각된다.

단지 steroid hormone의 代謝異狀으로 因하여 그 構造가 carcinogenic polycyclic hydrocarbon으로 變形되어 일어날 수 있다고 보는 發癌說이 事實일 때에는 그 原因除去가 不可能한 것이므로 steroid hormone과 類似한 構造를 가진 hydrocarbon에 대한 prophylaxis 만에 留意하면 장차로 cancer 問題를 解決할 수 있을 것으로 생각한다.

本實驗에서는 마우스만을 對象으로 benzopyrene으로 處理한 組織을 가지고 benzopyrene의 皮下攻擊에 對한 反應만을 觀察하였으나 넓은 範圍에 걸친 動物과 넓은 範圍에 걸친 攻擊 route 및 많은 carcinogen으로 實驗을 繼續하여서 各發癌物質의 相互關係 및 發癌部位에 對한 많은 調査가 이루어져야 할 것이다.

結 論

C₃H 마우스의 皮膚를 조금 떼내서 組織培養을 하며 培養液중에 3, 4-benzpyrene을 添加하여 腫瘍組織으로 轉化시킨 다음, 알카리로 處理하여 enhancing factor를 除去한 후에 adjuvant와 함께 皮膚를 提供한 마우스의 腹腔內에 注射하면 3, 4-benzpyrene 皮下注射에 의한 發癌을 防止할 수 있었다.

上記 實驗成績을 土臺로 하여 著者は 癌에 對한

vaccine의開發이 가능한 것이라고 考察하였다.

끝으로 助言과 協力を 아끼지 않으신 所長 朴在柱博士와 研究費를 補助하여준 카톨릭神父 申麟均神父님, 그리고 賓驗을 도와준 金元哲氏와 金時和嬢에게 甚深한 謝意를 表하는 바이다.

參 考 文 獻

1. Strong, L.: On the occurrence of mutation within transplantable tumor neoplasms, *Genetics* 11: 294 (1925)
2. Lumsden, T.: On the nature of immunity to implanted malignant tumours. *Lancet* Jan, 15: 116 (1927)
3. Bubenik, J. and Koldovsky, P.: The mechanism of antitumor immunity studied by means of transfers of immunity. *Folia Biol. Praha* 10: 427 (1964)
4. Chao, H.U., Peiper, S.C., Aach, R.D. and Parker, C.W.: Introduction of cellular immunity to a chemically altered tumor antigen. *J. Immun.* 111: 1800 (1973)
5. Foley, E. J.: Antigenic properties of methylcholanthrene-induced tumors in mice of the strain of origin. *Cancer Res.* 13: 835 (1953)
6. Prehn, R.T. and Main, J.M.: Immunity to methylcholanthrene-induced sarcomas. *J. Natl. Cancer Inst.* 18: 769 (1957)
7. Axelrad, J.: Differences in histocompatibility of primary tumors and its metastases. *Transpl. Bull.* 3: 109 (1956)
8. Koldovsky, R.: The question of the universality of tumor antigen in isologous and homologous relationships. *Folia Biologica* 7: 162 (1961)
9. Ishibashi, S., Hattori, D., Hujii, G., Okada, S., Sekiguchi, M. and Serikawa, K.: Autoimmune therapy of cancer. *Gekachiryō* 6: 1 (1962)
10. Klein, G., Sjögren, H.O., Klein, E. and Hellström, K.E.: Demonstration of resistance against methylcholanthrene-induced sarcomas in the primary autochthonous host. *Cancer Res.* 20: 1561 (1960)
11. Takeda, K., Aizawa, M., Kikuchi, Y. and Yamawaki, S.: Tumor autoimmunity against methylcholanthrene-induced sarcomas of the rat. *Gann.* 57: 221 (1966)
12. Maisin, J.H.F.: Immunoprophylaxis of induced experimental hepatoma. *Nature* 202: 202 (1964)
13. Hellström, K.E. and Hellström I.: Cellular Antigens (edited by Alois Nowotny). p. 231, Springer Verlag New York. Heidelberg. Berlin. (1972)
14. Berwald, Y. and Sachs, L.: In vitro cell transformation with chemical carcinogens. *Nature* 200: 1182 (1963)
15. Berwald, Y. and Sachs, L.: In vitro transformation of normal cells to tumor cells by carcinogenic hydrocarbons. *J. Natl. Cancer Inst.* 35: 641 (1965)
16. Chen, T.T. and Heidelberger, C.: In vitro malignant transformation of mouse prostate cells with carcinogenic hydrocarbons. *Proc. Am. Ass. Cancer Res.* 91: 13 (1968)
17. Chen, T.T. and Heidelberger, C.: Quantitative studies on the malignant transformation of mouse prostate cells by carcinogenic hydrocarbons in vitro. *Int. J. Cancer.* 4: 166 (1969)
18. Chen, T.T. and Heidelberger, C.: In vitro malignant transformation of cells derived from mouse prostate in the presence of 3-methylcholanthrene. *J. Natl. Cancer Inst.* 42: 915 (1969)
19. Dipaolo, J.A. and Donovan, P. J.: Properties of syrian hamster cells transformed in the presence of carcinogenic hydrocarbons. *Exptl. Cell Res.* 48: 361 (1967)
20. Huberman, E. and Sachs, L.: Cell susceptibility to transformation and cytotoxicity by the carcinogenic hydrocarbon benzo(a)pyrene. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 56: 1123 (1966)
21. Sivak, A. and Van Duuren, B.L.: Studies with carcinogens and tumorpromoting agents in cell culture. *Exptl. Cell. Res.* 49: 572 (1968)
22. Chen, T.T. and Heidelberger, C.: Cultivation in vitro of cells derived from adult C3H mouse ventral prostate. *J. Natl. Cancer Inst.* 42: 963 (1969)
23. Argvins, B.F.: Acquired tolerance to skin homografts in mice. III Role of immune status of host in induction and maintenance of tolerance. *J. Immun.* 93: 114 (1964)

24. Burnet, F.M.: The concept of immunological surveillance. *Prog. exp. Tumor Res.* 13:1(1970)
25. Burnet, F.M.: Immunological aspects of malignant disease. *Lancet* 1:1171 (1967)
26. Good, R.A. and Finstad, J.: Essential relationship between the lymphoid system, immunity, and malignancy. *Nat. Cancer Inst. Monogr.* 31:41 (1969)
27. Krohn, P.L.: Review-lectures on senescence II Heterochronic transplantation in the study of aging. *Proc. Roy. Soc. (Biol.)* 157:128 (1962)
28. Makinodan, T. and Petterson, W.J.: Relative antibody forming capacity of spleen cells as a function of age. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 48:234 (1962)
29. Makinodan, T. and Peterson, W.J.: Growth and senescence of the primary antibody-forming potential of the spleen. *J. Immun.* 93:886 (1963)
30. Teller, M.N. Stohr, G., Curlett, W., Kubisek, M.L. and Curtis, D.: Aging and cancerigenesis. I. Immunity to tumor and skin grafts. *J. Natl. Cancer Inst.* 33:649 (1964)
31. Wigzell, H. and Stjernswärd, J.: Age-dependent rise and fall of immunological reactivity in the CBA mouse. *J. Natl. Cancer Inst.* 37:513 (1966)
32. Hellström, I., Evans, C.A. and Hellström, K.E.: Cellular immunity and its serum-mediated inhibition in Shope-virus-induced rabbit papillomas. *Int. J. Cancer* 4:601 (1969)
33. Hellström, I., Hellström, K.E. and Sjögren, H.O.: Serummediated inhibition of cellular immunity to methylcholanthrene-induced murine sarcomas. *Cellular Imm.* 1:18 (1970)
34. Hellström, I., Sjögren, H.O., Warner, G. and Hellström, K.E.: Blocking of cell-mediated tumor immunity by sera from patients with growing neoplasma. *Int. J. Cancer* 7:226(1971)
35. Bubenik, J., Ivanyi, J. and Koldovsky, P.: Participation of 7S and 19S antibodies in enhancement and resistance to methylcholanthrene-induced tumours. *Folia Biol. Prague* 11:426 (1965)
36. Amos, D.B. and Day, E. D.: Passive immunity against four mouse leukoses by means of isoimmune sera. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 64:851. (1957)
37. Bagshawe, K.D. and Currie, G.A.: Immunogenicity of L 1210 murine leukaemia cells after treatment with neuraminidase. *Nature* 218:54 (1968)
38. Bubenik, J. and Koldovsky, P.: Factors influencing the induction of enhancement and resistance to methylcholanthrene-induced tumours in asyngeneic system. *Folia Biol. Prague.* 11:258 (1964)
39. Bubenik, J., Adamcova, B. and Koldovsky, P.: The dual effect of antibodies against sex-linked histocompatibility antigen. *Folia Biol. Prague.* 12:11 (1966)
40. Casey, A.E.: Experiment with a material from the brown-pearce tumor. *Cancer Res.* 1:134 (1941)
41. Currie, G.A., Doorninck, W. V. and Bagshawe, K.D.: Effect of neuraminidase on the immunogenicity of early mouse prophyblast. *Nature* 219:191(1968)
42. Hellström, I. and Hellström, K.E.: Studies on cellular immunity and its serum-mediated inhibition in moloney-virus-induced mouse sarcoms. *Int. J. Cancer.* 4:587 (1969)
43. Kaliss, N.: Immunological enhancement of tumor homografts in mice. *Cancer Res.* 18:992 (1958)
44. Kandutsch, A.A. and Wenck, U.R.: Studies on a substance that promotes tumor homograft survival(The "Enhancing Substance"). *J. Exptl. Med.* 105:125 (1957)
45. Klein, E., Klein, G. and Hellström, K.E.: Further studies on isoantigenic variation in mouse carcinomas and sarcomas. *J. Natl. Cancer Inst.* 25:271 (1960)
46. Miroff, G., Martinez, C. and Bittner, J.J.: Acceleration in the transplantation and killing time of mammary tumors in mice pretreated with a heat-stable tumor tissue preparation. *J. Cancer Res.* 15:437 (1955)
47. Prehn, R.T.: The immunity-inhibiting role of the spleen and the effect of dosage and route of antigen administration in a homograft reaction.

- In biological problems of grafts 12 : 163 (1959)
48. Prehn, R. T.: Failure of immunization against tumorigenesis. *J. Natl. Cancer Inst.* 26 : 223 (1961)
 49. Shimada, A and Nathenson, S.G.: Murine histocompatibility-2(H-2) alloantigens. Purification and some chemical properties of soluble products from H-2^b and H-2^d genotypes released by papain digestion of membrane fractions. *Biochem.* 8 : 4048 (1969)
 50. Sjögren, H.O.: Transplantation methods as a tool for detection of tumor-specific antigens. *Progr. exp. Tumor Res.* 6 : 289 (1965)
 51. Snell, G.D., Clou dman, A.M., Failor, E. and Douglass, P: Inhibition and stimulation of tumor homoiotransplants by prior injectios of lyophilized tumor tissue. *J. Natl. Cancer Inst.* 6 : 30 (1964)
 52. Snell, G.D.: The homograft reaction. *Ann. Rev. Microbiol.* 11 : 439 (1957)
 53. Old, L.J., Boyes, E.A., Clarke, D. A. and Carswell, E. A.: Antigeonic properties of chemically induced tumors. *Ann. N.Y. Acad Sci.* 101 : 80 (1962)
 54. Bryan, W.R. and Shimkin, M.D.: Quantitive analysis of dose-response data obtained with carcinogenic hydrocarbons. *J. Natl. Cancer Inst* 1 : 807 (1941)
 55. Bryan, W.R. and Shimkin, M.D.: Quantitative analysis of dose-response data obtained with three carcinogenic hydrocarbons in strain C₃H male mice. *J. Natl. Cancer Inst.* 3 : 533 (1943)
 56. Burnet, M.: Immunological factors in the process of carcinogenesis. *Brit. Med. Bull.* 20 : 154 (1964)
 57. Globerson, A. and Feldman, M.: Antigenic specificity of benzo (a) pyrene-induced sarcomas. *J. Natl. Cancer Inst.* 32 : 1229 (1964)
 58. Ishidate, M. Jun.: Recognition of individuality of tumour strain by sensitized peritoneal lymphoid cells. *Nature* 215 : 184 (1967)
 59. Prehn, R.T. Specific isoantigenicities among chemically induced tumors. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 101 : 107 (1962)
 60. Rosenau, W. and Morton, D.L. Tumor-specific inhibition of growth of methylcholanthrene-induced sarcomas in vivo and in vitro by sensitized isologous lymphoid cells. *J. Natl. Cancer Inst.* 36 : 825 (1966)
 61. Beloshapkina, T. and Khramkova, N.: Organospecificity of liver cell surface antigens and its loss by ascitic hepatoma. *Nature* 214 : 1366 (1967)
 62. Kondo, N. and Osawa, S.: Differences in chromatographic patterns of deoxyribonucleic acid from various tissue. *Nature* 183 : 1602 (1959)
 63. Daudel, P. and Daudel, R.: Chemical carcinogenesis and molecular biology. Wiley & Sons. Ltd. New York. (1966)