

乳癌のホルモン依存性に関する実験的研究：
器官培養によるホルモン感受性試験とHormone
receptorの比較

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8844

乳癌のホルモン依存性に関する実験的研究

— 器官培養によるホルモン感受性試験と Hormone receptor の比較 —

金沢大学第二外科学教室 (主任: 宮崎逸夫教授)

木 下 元

(昭和55年6月25日受付)

本論文の要旨の一部は、1979年第38回 (東京) 日本癌学会総会に於て発表した。

乳癌は前立腺癌と並んで代表的なホルモン依存性癌として知られ、手術、放射線療法、化学療法および免疫療法の他に内分泌療法が古くから行われている。特に進行および再発乳癌に対する外科的内分泌療法の歴史は古く、1896年 Beatson¹⁾ が末期乳癌患者に卵巣摘出術を行い効果を認めたのが最初である。その後1952年 Huggins ら²⁾ は卵巣摘出に加え両側副腎摘出術を行い、また1953年 Luft と Olivecrona³⁾ は下垂体摘出術を行って効果を認めており、これら外科的内分泌療法は今日重要な乳癌治療法の1つとなっている。しかし後の多くの研究によって、内分泌療法は30~40%の症例にのみ有効であり、残りの60~70%の症例には無効であることが明らかになってきた⁴⁾。従って内分泌療法が無効な60~70%の症例に下垂体摘出術や卵巣副腎摘出術など侵襲の大きい外科的内分泌療法を行うことは不合理であるばかりでなく、時には逆効果を生ずることにもなりかねない。このような意味から内分泌療法の適応に際して、あらかじめ内分泌療法が有効な症例と無効な症例を鑑別することを目的とした多くの研究がなされてきた。すなわちそれらの方法は患者自身の内分泌環境を指標とするものと、腫瘍のホルモン感受性など腫瘍側の態度を検討するものの2つの方向に大別することができる。前者は患者の年齢、閉経の有無、膺 smear、尿中ステロイド分画の測定などであり、ある程度治療効果との相関を認めるものの、内分泌療法の指標としては十分ではないと考えられている⁵⁾。後者は in vivo と in vitro の方法に分けられるが、とくに in vitro の方法としては実験

乳癌およびヒト乳癌の腫瘍組織片を用いて³ H-estradiol の取り込みの有無⁷⁾, estrogen, prolactin などのホルモンを加えた組織培養における組織所見、酵素活性の変化^{8)~10)}, ³ H-thymidine の取り込み量の測定^{11)~13)}, および腫瘍組織における estrogen などの hormone receptor の測定^{14)~15)}などがあげられる。

特に1962年 Jensen ら¹⁶⁾ が発見した estrogen receptor (以下 ER と略す) は定量性、再現性に優れ、今日乳癌のホルモン依存性を予測する指標として臨床においても普及してきており、さらに estrogen 作用発現のマーカーとしての progesterone receptor (以下 PgR と略す) 測定へと発展してきている。

一方組織培養によるホルモン感受性試験はその測定操作が複雑であり、定量性や再現性に乏しいとの批判がある。しかし androgen や prolactin など receptor 測定の技術が十分に確立、普及していないホルモンを含めて、乳癌組織の増殖に関与する種々のホルモンの影響を in vitro で直接的に知る方法として捨て難いと考えられる。

そこで著者は、ホルモン依存性を有する点でヒト乳癌に類似すると考えられている 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene 誘発ラット乳癌をモデルとして用い、ER, PgR の測定および各種ホルモンを用いた器官培養によるホルモン感受性試験を行い、それらを卵摘効果によって比較検討し、さらに卵摘後の再発腫瘍のホルモン依存性に関しても同様の検索を行い興味ある知見を得たので報告する。

Experimental Studies in Hormone Dependency of Breast Cancer — Comparison between Hormone Sensitivity Test in Organ Culture and Hormone Receptor Assay —. Hajime Kinoshita, Department of Surgery II, (Director: Prof. I. Miyazaki) School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920, Japan.

材料および方法

I DMBA 投与によるラット乳癌の誘発方法と卵摘効果の判定

1. 実験動物は Sprague-dawley 系雌ラット (生後 49 日目, 体重 150gr 前後) を用い, 飼育にはオリエンタル固型飼料および水道水を用いた. 発癌剤として 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene (Sigma, 以下 DMBA と略す) を用いた.

2. DMBA の投与方法は発癌率, 発生腫瘍個数およびホルモン依存性の差異を検討するため, ether 麻酔下に投与量および回数の異なる, 次の 3 つの方法で試みた. すなわち 1) 群, 市販の sesame oil 1 ml に溶かした DMBA 5 mg を atom 6 号 tube にて週 1 回胃内に注入し, 計 25 mg を投与した. 2) 群, sesame oil 1 ml に溶かした DMBA 10 mg を同様に投与し, さらに 2 週間後に同量を追加投与した. 3) 群, sesame oil 1 ml に溶かした DMBA 20 mg を 1 回, 同様に投与した. DMBA 投与はいずれも生後 49 日目より開始し, 投与終了後 4 週目より週 1 回, 各乳腺部位において腫瘍の出現の有無, 部位, 大きさを観察した. 発生してきた複数の腫瘍中, 最も大きい腫瘍が長径 2 cm に達した時点で, ether 麻酔下に無菌的にこの腫瘍の半部分切除と下腹部正中切開による両側卵巣摘出術を行った. 切除した腫瘍の一部を直ちに hormone receptor 測定のため -80°C (Pluto freezer PF-11) に凍結し, 他の一部をホルモン感受性試験に供し, また他の一部は 10% ホルマリンに固定し, H. E. 染色による組織標本作成後, 組織学的にすべて腺癌であることを確認した.

残存腫瘍はその後 10 週間, 毎週その長径を測定し, 卵摘による効果判定を行った. すなわち a) 卵摘後, 腫瘍が退縮を続け, 10 週間以内に再増殖しないものを卵摘有効群, b) 卵摘後, 3 週間以上退縮し, その後再増殖するものを卵摘中間群, c) 卵摘後, 腫瘍退縮の全くないものと, 一時的な退縮をみるが, 3 週間以内に再増殖するものを卵摘無効群と判定した.

卵摘無効群と中間群においては腫瘍が再増殖し, 再びその長径が 2 cm に達した時点で無菌的に腫瘍の摘除を行い, hormone receptor の測定および器官培養によるホルモン感受性試験を行った.

II 器官培養によるホルモン感受性試験

1. 培養液の調合

培養液には 199 Medium Earles 培地 (大日本製薬) を用い, AB-PC (明治製薬) $5\mu\text{g}/\text{ml}$, insulin (清水製薬) $0.06\text{u}/\text{ml}$ を添加, NaHCO_3 (大塚製薬) に

て pH 7.4 に調整し, 孔径 0.45μ の millipore filter にて陰圧濾過滅菌したものを基礎培養液 (対照) とした. 次に in vitro におけるホルモンの乳癌組織におよぼす影響をみるため基礎培養液に 17β -estradiol (Sigma) は $0.02, 0.2, 2, 20\mu\text{g}/\text{ml}$, testosterone propionate (Merk) は $0.5, 5, 50\mu\text{g}/\text{ml}$, prolactin (帝国臓器) は $0.022, 0.22\text{u}/\text{ml}$ をそれぞれのホルモンの培養液中の最終濃度となるように添加した.

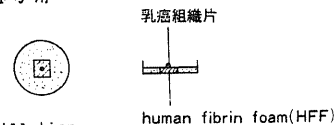
2. Autoradiography による方法

培養に際しては滅菌済の器具を使用し, 操作はすべて無菌的に行った. Multi-dish-tray (16 mm 径, 24 穴, Linbro) 内に matrix として $5 \times 5 \times 1\text{mm}^3$ に作成した human fibrin foam (Sevac, 以下 HFF と略す) を入れ各種培養液 0.4ml を注入し, Stadie-Riggs slicer および外科用メスにて約 1mm^3 に細切した初発あるいは卵摘後の再発乳癌組織片を HFF の上においた. この条件で組織片は気相と液相の中間に位置するように培養できた. CO_2 培養器 (Tokiwa, CO_2 5%, air 95%, 温度 37°C , 湿度 95% 以上) で pH メーターの監視下に pH 7.2 ~ 7.4 で 24 時間静置培養を行った (図 1 の a). 培養終了 1 時間前に methyl- ^3H -thymidine $5\mu\text{Ci}/\text{ml}$ を添加し, 培養終了後直ちに 10% ホルマリンで固定し組織標本を作成し, Sakura-NR-M₂ emulsion にて autoradiography を行い, 培養組織片の表層部 (100μ 以内) の最も取り込みの多い部分を観察し, 細胞 1000 個とその標識細胞を数え, labelling index をえた. Insulin 単独添加 (対照) と各種ホルモン添加の labelling index を比較し, 対照比が 120% 以上 (写真 1, 2) をホルモン依存性, 120 ~ 80% (写真 3, 4) を非依存性, 80% 以下を感受性と判定した.

3. Liquid scintillation counter による方法

Autoradiography による計測には主観が介在する可能性を否定できないので培養組織の単位 DNA あたりの ^3H -thymidine の放射能を liquid scintillation

a) autoradiography 用



b) liquid scintillation counter 用

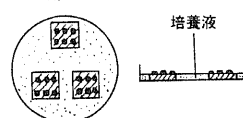


図 1 静置器官培養法

counterにて測定した。autoradiographyに比べて多くの組織量と ^3H -thymidineを必要とするためMulti-well-plate(35mm径,6穴, Linbro)を用い組織片の量を総計約50mgに増量するとともに, ^3H -thymidine添加の培養時間を2時間にして静置培養

を行った(図1のb)。培養終了後, Schmidthannhauser-Schneider¹⁷⁾変法にてDNA分画の分離抽出を行い, そのDNA分画200 μl にaquasol II scintillator(New England Nuclear)10mlを加えてliquid scintillation counter(Aloka LSC-671)に

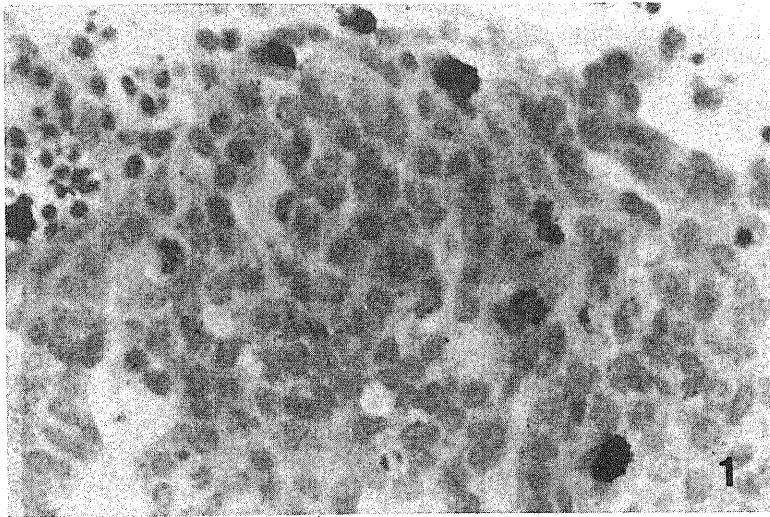


写真1 卵摘有効群ラット乳癌組織のinsulin単独添加(対照)24時間培養後のautoradiogram所見。黒色顆粒が ^3H -thymidineのnuclear labellingを示す。HE \times 400

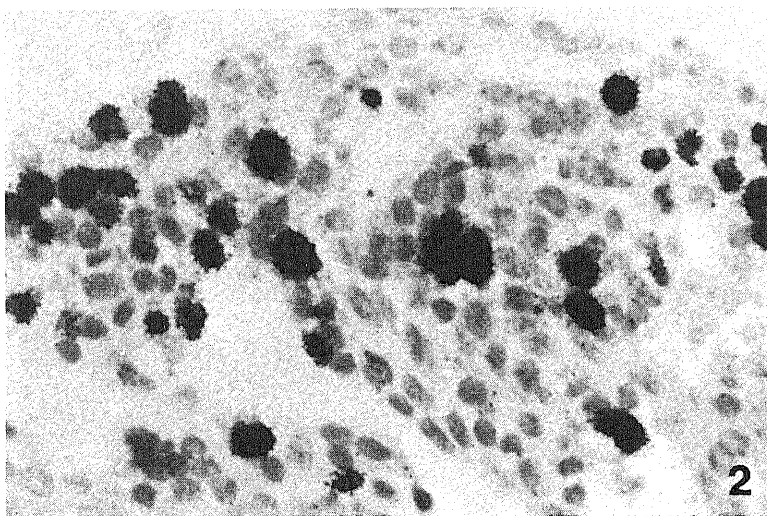


写真2 同組織 17β -estradiol 0.02 $\mu\text{g/ml}$ 添加24時間培養後のautoradiogram所見。標識細胞が著明に増加し, 対照のlabelling indexとの比較よりestrogen依存性と判定された例。HE \times 400

て10分間測定した。また同分画 $500\mu\text{l}$ の DNA を Burton¹⁸⁾ 法にて定量し、単位 DNA あたりの ^3H -thymidine の放射能を算出した。各種ホルモン添加群の単位 DNA あたりの放射能を insulin 単独添加 (対照) のそれと比較して、autoradiography と同様に 120% 以上をホルモン依存性、120 ~ 80% を非依存性、

80% 以下を感受性と判定した。

Ⅲ Hormone receptor の測定

1. 材料および試薬

初発および卵摘後に再発した DMBA ラット乳癌組織を使用し、ER の測定には ($2, 4, 6, 7\text{-}^3\text{H}$) 17β -estradiol, specific activity $90\text{ ci}/\text{mmol}$ (New

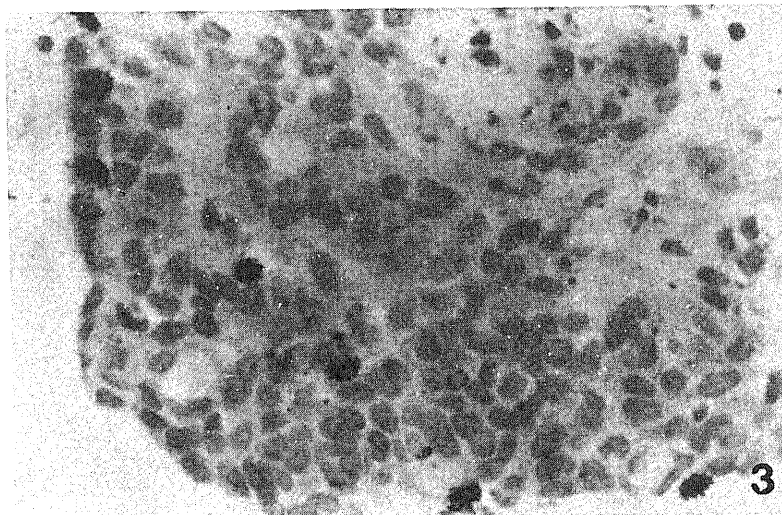


写真3 卵摘無効群ラット乳癌組織の insulin 単独添加 (対照) 24時間培養後の autoradiogram 所見。HE×400

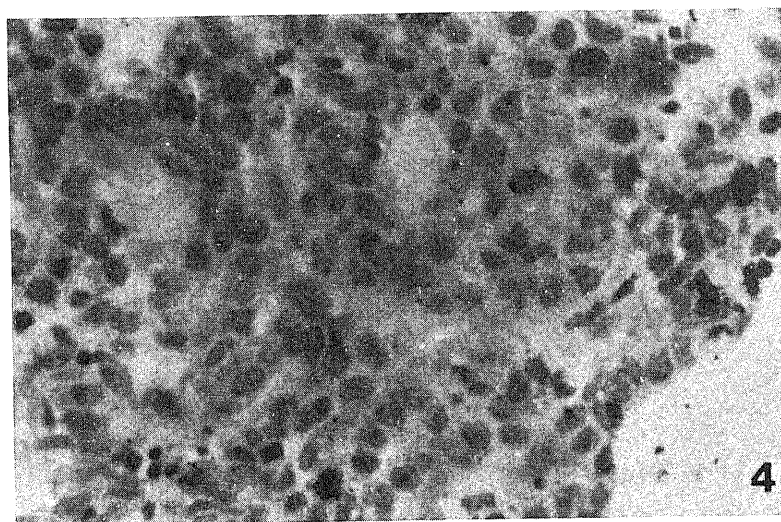


写真4 同組織 17β -estradiol $0.02\mu\text{g}/\text{ml}$ 添加24時間培養後の autoradiogram 所見。標識細胞の増加が見られず、対照との labelling index の比較より estrogen 非依存性と判定された例。HE×400

England Nuclear) を, PgR の測定には合成 progesterone である (6, 7-³H) 17 α , 21-dimethyl-19-nor-4, 9-pregnadiene-3, 20-dione $\cdot \cdot \cdot$ ³H-R5020 (New England Nuclear) を使用した.

2. Estrogen receptor 測定方法 (図2)

1) Cytosol の調整: -80℃で凍結保存しておいた乳癌組織約0.5gを外科用メスにて細切し, 8倍量のTED-buffer [10mM Tris-HCl (Merk), 1.5mM EDTA (Daiichi), 0.5mM DTT (Sigma), 250mM Sucrose (Wako), pH 7.4] を加え, 氷冷しながら polytron homogenizer (PT-10) で15秒間作動, 45秒間静止を3回繰り返してホモジネートを作成した. Beckman model L3-50 (105000 \times g, 60分, 4℃)にて遠心分離し, その上清を cytosol 分画とした. その蛋白量は Lowry 法¹⁹⁾の方法により bovine serum albumin (Daiichi) を標準として行った.

2) Incubation: Cytosol 150 μ l を各々9本の小試験管に入れ, そのうち6本に TED-buffer 50 μ l に溶解した種々の濃度の³H-17 β -estradiol を添加して最終濃度が0.0625から2.0pmole/mlとなるようにした. 残り3本には非特異的結合を算出するため³H-17 β -estradiol とともに1000倍量の非放射性 (cold) 17 β -estradiol を添加し, 4℃ over night incubation を行った.

3) Dextran coated charcoal 処理: Incubation 終了後, dextran-coated charcoal 液 [2.5% acid washed Norit A (American norit), 0.025%

dextran T-40 (Pharmacia)] 50 μ l を加え ice bath にて20分間強く振盪した. 1200 \times g, 15分, 4℃にて遠心分離し, その上清 150 μ l に aquasol II scintillator 10 ml を加え, liquid scintillation counter (Aloka LSC-671) にて10分間放射能を測定した.

4) Scatchard analysis: Binding parameter の算出は scatchard plot により行った. すなわち横軸に使用した³H-17 β -estradiol の量, 縦軸にその時に蛋白と結合した³H-17 β -estradiol の量をとって飽和曲線を作り, 総結合量から非特異的結合をひいて特異的結合 (レセプター結合) を算出し, この特異的結合曲線より横軸には各条件における特異的結合, 縦軸にはその時の特異的結合対非結合の割合 (B/F) を plot し, scatchard plot を作成した. 各点を結んだ線と横軸との交点を最大結合部位数 (NBS), それを縦軸との交点で割ったものを解離定数 (Kd) とした^{20,21)} (図3). この条件で NBS 10 femto moles/mg cytosol protein 以上, Kd 1 \times 10⁻⁹M 以下を ER 陽性と判定した.

3. Progesterone receptor 測定方法

ER 測定における TED-buffer の代わりに, PgR 測定には glycerol phosphate buffer [5mM sodium phosphate, 1 mM monothioglycerol, 10% glycerol (Wako), pH 7.4] を使用し, ホモジネートおよび遠心分離操作は ER 測定と同様の方法で行った. cytosol 150 μ l に種々の濃度の³H-R5020 を溶解した glycerol phosphate buffer 50 μ l を添加し, 最

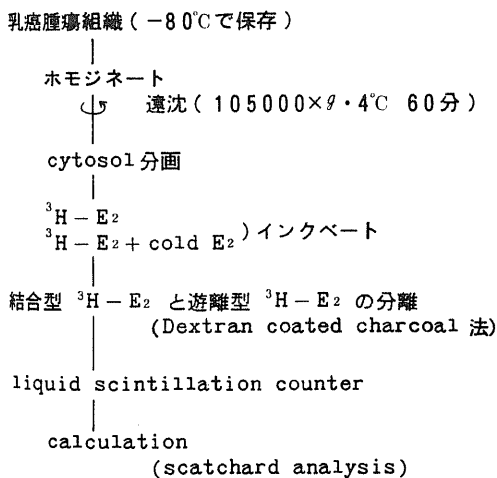


図2 Estrogen receptor 測定方法

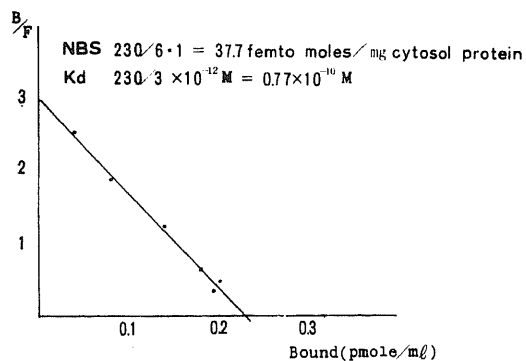


図3 Estrogen receptor 陽性例の scatchard analysis. NBS は結合定数, kd は解離定数, 縦軸の B/F は遊離型に対する結合型 ³H-E₂ の比を示す.

終濃度が0.25から8.0pmole/mlとなるようにした。更に非特異的結合を算出するため³H-R5020とともに1000倍量の非放射性R5020(New England Nuclear)を添加したものを4℃ overnight incubationし、ER測定と同様にdextran coated charcoal処理を行い²²⁾、scatchard plotにてNBS, Kdを算出した。この条件でNBS 20 femto moles/mg cytosol protein以上、Kd 1×10^{-8} M以下をPgR陽性と判定した。

成 績

I DMBA投与によるラット乳癌誘発と卵摘効果

DMBA投与方法別の発癌率は1)群(5mg×5α):95.6%(43/45), 2)群(10mg×2α):85%(85/100), 3)群(20mg×1α):75%(9/12)で1)群が最も高い発癌率を示した。発生腫瘍個数は一匹あたりの平均で1)群:3.3個, 2)群:2.3個, 3)群:1.7個であり3)群が少なかった。また卵摘中間群および無効群は卵摘後、腫瘍が再発するが、その再発率は1)群:23.1%(6/26), 2)群:20%(9/45), 3)群:16.7%(1/6)で1)群が高かった。しかしこれら3群の投与方法別による発癌率、発

生腫瘍個数および再発率は統計学的にいずれも有意の差はなく、これから述べる実験結果ではすべて一括して扱った。

II 器官培養によるホルモン感受性試験

1. Autoradiographyによる結果

器官培養後の autoradiography により算出した対照に対する各ホルモン添加時の labelling index の比を卵摘有効、中間、無効、卵摘後再発群に分け、各々のホルモンの濃度別に検討した。卵摘有効群は17β-estradiol 0.02, 0.2μg/mlで159.7±22.3, 212.1±31.6%と依存性を示し、感受性あるいは非依存性を示した卵摘無効群および卵摘後再発群とに有意差を認めた(p<0.01)。しかし卵摘有効群はより高濃度(20μg/ml)で85.5±9.6%と非依存性を示し、低濃度との間に有意差を認めた(p<0.01)。Testosterone propionateでは各群間に有意差はなく、非依存性あるいは感受性を示す傾向にあった。また卵摘有効群ではprolactin 0.022, 0.22 u/mlで162.4±12.6, 179.3±20.8%と依存性を示し、非依存性あるいは感受性を示した卵摘無効群と卵摘後再発群とにprolactin 0.022 u/mlで有意差を認めた(p<0.05) (図4)。

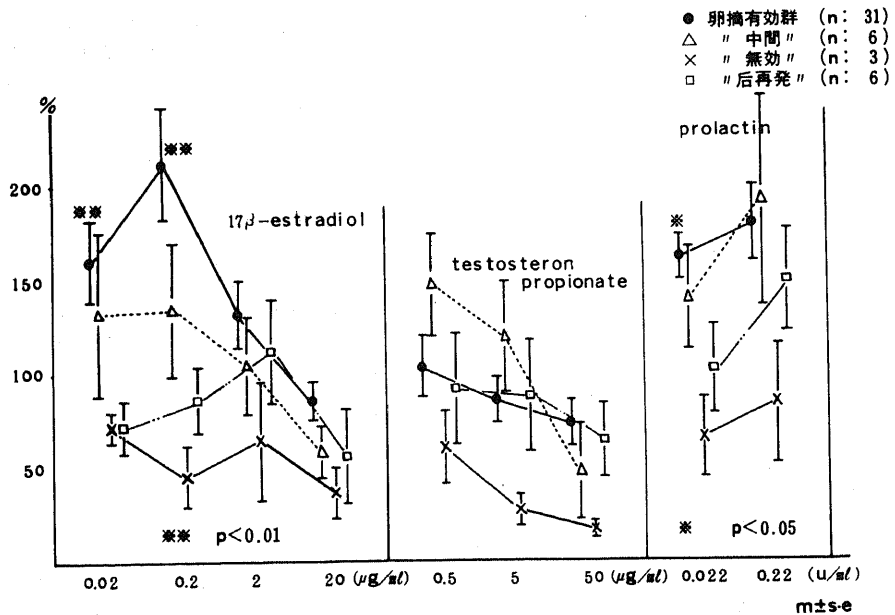


図4 Autoradiographyによる卵摘効果とホルモン感受性試験の関係

縦軸はinsulin単独添加の対照(100%)に対する各ホルモン添加時のlabelling indexの百分率を示す。卵摘有効群は無効、再発群に対し17β-estradiol 0.02, 0.2μg/ml, prolactin 0.022 U/mlで有意差を認める。

2. Liquid scintillation counter による結果

卵摘中間、無効および卵摘後再発群は症例数が少ないのでそれらを一括して、卵摘有効群と比較した。卵摘有効群は 17β-estradiol 0.02, 0.2μg/ml で 266.2 ± 39.7, 197.6 ± 48.4%, prolactin 0.022, 0.22 u/ml で 227.4 ± 61.5, 344.8 ± 109.2% と依存性を示し、他の群との間に有意差を示した (p < 0.05)。また卵摘有効群はより高濃度の 17β-estradiol 2μg/ml で 107.9 ± 10.5% と非依存性を示し、autoradiography と同様に低濃度との間に有意差を認めた (p < 0.01)。次に testosterone propionate では各群間に有意差はなく、非依存性あるいは感受性を示す傾向にあった (図 5)。

3. 17β-estradiol によるホルモン依存性判定

Autoradiography および liquid scintillation counter による計測の結果より、17β-estradiol の 0.02, 0.2μg/ml がそのホルモン依存性を知るうえで至適濃度と考えられた。そこで実際にそのホルモン依存性を判定するため、17β-estradiol 0.02 μg/ml で autoradiography および liquid scintillation counter 別に各症例の対照に対するホルモン添加時の

比を plot した (図 6)。初発腫瘍で依存性と判定された 33 例中、卵摘有効は 30 例 (90.9%) と高いが、非依存性と判定された 12 例中 8 例 (66.7%)、感受性と判定された 11 例中 5 例 (45.5%) にも卵摘有効例が認められた。この初発腫瘍における予測能は 17β-estradiol 0.2 μg/ml あるいは prolactin 0.022, 0.22 u/ml の成績を加味しても改善されることはなかった。一方卵摘後の再発腫瘍は依存性 1 例、非依存性 4 例、感受性 4 例であり、非依存性および感受性が多い傾向にあった。

III Hormone receptor 測定による依存性判定

1. Estrogen receptor 測定による結果

初発腫瘍 66 例の ER を測定したところ解離定数 (Kd) は 1 × 10⁻⁹M 以下で最大結合部位数 (NBS) は 0 ~ 80.5 femto moles/mg cytosol protein に分布しており、ER 陽性と判定されたものは 56 例、ER 陰性と判定されたものは 10 例であった。ER 陽性 56 例中、卵摘有効は 50 例 (89.3%) であり、ER 陰性例の 10 例にも 2 例 (20%) の卵摘有効を認めた。この ER の予測能 89.3% は、ホルモン感受性試験において依存性を示した 33 例中卵摘有効 30 例 (90.9%) とほぼ同様

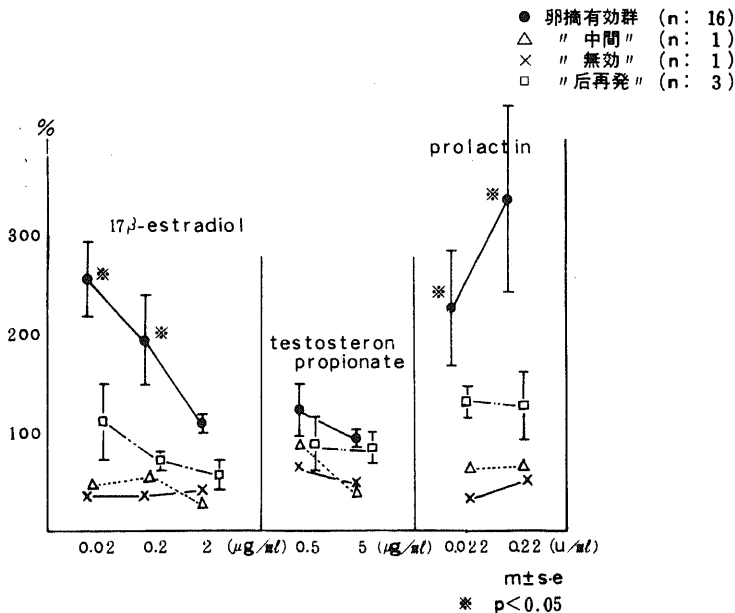


図 5 Liquid scintillation counter による卵摘効果とホルモン感受性試験の関係
縦軸は insulin 単独添加の対照 (100%) に対する各ホルモン添加時の単位 DNA あたりの ³H-thymidine uptake (10cpm/μg DNA) の百分率を示す。卵摘有効群は無効、再発群に対し 17β-estradiol 0.02, 0.2μg/ml, prolactin 0.022, 0.22 U/ml で有意差を認める。

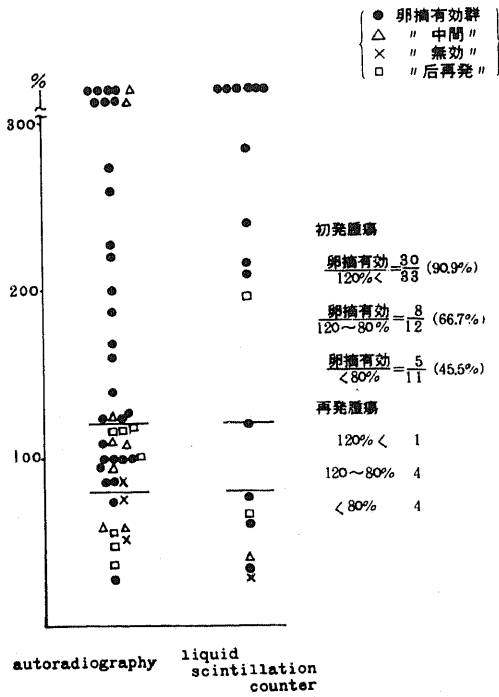


図6 ホルモン感受性試験と卵摘効果の関係
縦軸は insulin 単独添加の対照 (100%) に対する 17β -estradiol $0.02\mu\text{g/ml}$ 添加時の labelling index および ^3H -thymidine uptake ($10\text{cpm}/\mu\text{g}$ DNA) の百分率を示す。

であった。しかしホルモン感受性試験で非依存性の12例中8例(66.7%),感受性の11例中5例(45.5%)にも卵摘有効が認められるのに対して, ER測定では陰性例中卵摘有効は2例にすぎず, この点でER測定の予測能の方が, 統計学的に有意差を認めないものの優れる傾向にあると考えられた(図7)。一方卵摘後の再発腫瘍はER陽性1例, ER陰性8例でその初発腫瘍との関係を見るとER陽性→ER陰性4例, ER陰性→ER陰性4例, ER陰性→ER陽性1例で卵摘後の再発腫瘍ではER陰性が多くなる傾向を認めた(図8)。

2. Progesterone receptor 測定による結果

初発腫瘍30例のPgRを測定したところ, K_d は $1 \times 10^{-8}\text{M}$ 以下でNBSは $0 \sim 426$ femto moles/mg cytosol proteinに分布しており, PgR陽性と判定されたものは24例, PgR陰性と判定されたものは6例であった。PgR陽性の24例中22例(91.7%)が卵摘有効であったが, PgR陰性の6例中4例(66.7%)にも卵摘有効例を認めた。ERとPgRの両者を測定することがその予測能の向上につながると考えられている。その両者を測定したものは初発腫瘍24例, 卵摘后再発腫瘍5例と少ないが, ER, PgRとも陽性の初発腫瘍19例中, 卵摘有効は18例(94.7%)であり, ER単独測定に比べてその予測能は統計学的に有意差を認めないものの, 改善される傾向にあった。しかしER陽性

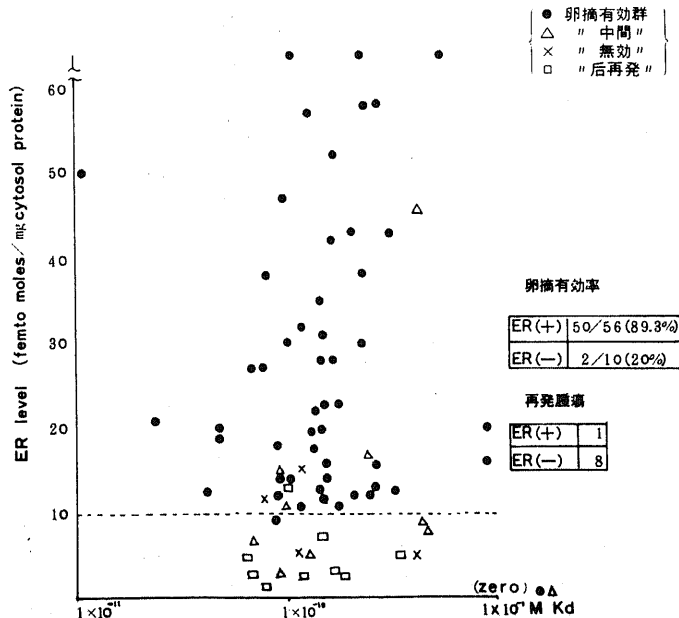


図7 Estrogen receptor と卵摘効果の関係

PgR 陰性, ER 陰性 PgR 陽性にも各々 1 例の卵摘有効を認めた. 卵摘後の再発腫瘍では ER 陰性 PgR 陰性が 3 例, ER 陽性 PgR 陰性および ER 陰性 PgR 陽性が各々 1 例であった (図 9).

考 察

乳癌は前立腺癌と並んで代表的なホルモン依存性癌として知られている。これらホルモン依存性癌は生体のホルモン調節機構からの逸脱が不完全であり、癌細胞の自律性がもう一つ完全に確立されていない癌腫であると考えられる²⁹⁾。このような腫瘍の性格を利用して乳癌の治療には手術, 放射線療法, 化学療法, 免疫療法などの一般的な癌治療法の他に内分泌療法が行なわれている。特に進行および再発乳癌に対する外科的内分泌療法の歴史は古く, 1896 年 Beatson¹⁾ が 2 例の末期乳癌患者に始めて卵巣摘出術を行って効果をあげて以来, 1952 年 Huggins ら²⁾ は卵巣摘出術に加え両側副腎摘出術を, 1953 年 Luft ら³⁾ は下垂体摘出術を行って効果を収め, 現在も重要な治療法として行われている。しかしながら, すでに 1900 年の時点で 54 例の両側卵巣摘出術施行例を集計した Boyd²⁴⁾ がその有効率を 35% と報告した如く, これら乳癌症例のすべてに内分泌療法が有効であるわけではなく, 最近の Dao⁴⁾ や本邦乳癌研究会の集計⁵⁾ をみてもその有効率は全体の 30~40% と一致している。従って内分泌療法が無効な残りの 60~70% の症例に下垂体摘出術や卵巣副腎摘出術などの侵襲の大きい外科的内分泌療法を行うことは不合理であり, 内分泌療法の効果を予測することが今世紀ははじめより懸案となっている。

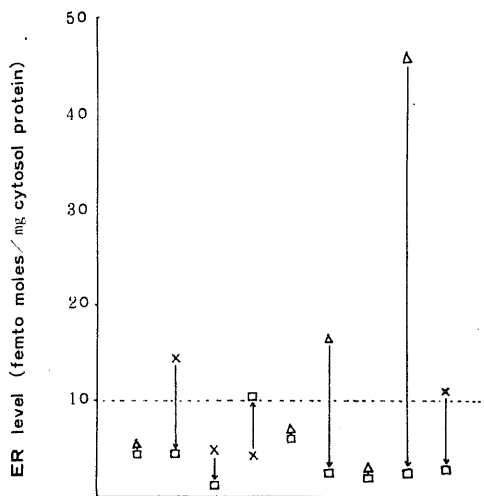


図 8 初発腫瘍と卵摘後再発腫瘍の Estrogen receptor の変化
縦軸は NBS, 横軸は各症例を示す。

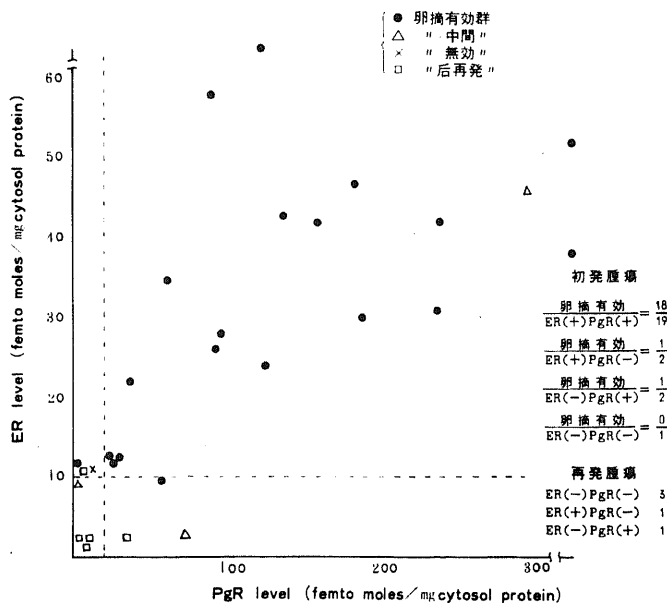


図 9 Estrogen receptor & progesterone receptor と卵摘効果の関係

本来乳腺組織は卵巣、副腎、下垂体、甲状腺などの諸臓器から産生される種々のホルモンの影響を受けており、それから発生する乳癌組織もそれら種々のホルモンの影響を複雑に受けていることが考えられ、そのホルモン依存性を適確に知ることは容易ではない。従来のホルモン依存性の予測法は患者自身の内分泌環境を指標とするものと、腫瘍自身のホルモン依存性など腫瘍側の態度を検討するものの2つの方向に大別される。前者の患者自身の内分泌環境を指標とした予測法としては Emerson ら²⁵⁾の estrogen 負荷試験、cortison 投与試験、Bulbrook ら²⁶⁾の Etiocholanolone/17 OHCS の比や、Miller ら²⁷⁾の 11 deoxy-17 oxosteroid/17-OHCS の比、Kumaoka ら²⁸⁾の 17-KS を指標とするものなどがあり、ある程度、内分泌療法の効果との相関を認めるものの、その予測法としては十分ではないと考えられている。また後者として近年、腫瘍側の態度すなわち腫瘍自体のホルモンに対する反応をみるという観点から実験乳癌およびヒト乳癌の腫瘍組織を用いた *in vitro* での研究がさかんになってきた。

Salih ら⁹⁾、Hobbs ら⁹¹⁾はヒト乳癌の組織片をホルモン添加の培養液で24時間培養し、培養後の組織像、酵素活性を調べ、そのホルモンに依存性のある場合に組織は *viability* を保つが、依存性がない場合およびホルモンを添加していない場合には変性に陥いることを明らかにした。また根来¹¹⁾、Welsch ら¹²⁾、Aspegren ら¹³⁾はヒトあるいはラット乳癌組織を同様の方法で培養し、³H-thymidine の取り込み量より、そのホルモン依存性を予測している。

一方 Jensen ら¹⁶²⁹⁾はラット子宮に estradiol と親和性の強い蛋白、estrogen receptor が存在することを発見した。その後、この ER は子宮のみならず陰、乳腺などの estrogen 標的臓器にも存在し、さらに Korenman ら³⁰⁾、McGuire ら³¹⁾はヒト乳癌組織中にも存在することを発見した。今日、ER は estrogen の標的臓器における効果発現機序の解明に役立つとともに、乳癌のホルモン依存性を予測する方法としてその有用性が確認され、臨床にも普及してきている。

In vitro でのこれら2つの方法、すなわち組織培養によるホルモン感受性試験および estrogen をはじめとする hormone receptor の測定法は、乳癌のホルモン依存性を予測する方法として代表的なものであり、その各々については前述の如く、実験乳癌およびヒト乳癌で検討されているところである。しかし同一の乳癌モデルを用いてその両者の予測能を卵摘効果より比較した報告をみず、わずかに1978年 Israel ら³²⁾はヒ

ト乳癌を用い、insulin 単独とそれに estrogen などのホルモンを加えた培養液で組織培養を行い、ER および PgR の測定と比較し、ER および PgR を有する乳癌組織は *in vitro* で 17 β -estradiol 添加により単位 DNA あたりの ³H-thymidine 取り込み量が促進されることを報告しているにすぎない。著者は DMBA ラット乳癌をモデルとしてその ER、PgR 測定と器官培養によるホルモン感受性試験を行い、卵摘効果からその予測能を比較検討するとともに、卵摘後の再発腫瘍のホルモン依存性についても同様の検索を行い検討を加えた。

DMBA ラット乳癌はそのほとんどが乳管由来の adenocarcinoma であり、さらにホルモン依存性においてもヒト乳癌に類似していると考えられている³³⁾³⁴⁾。その作成には乳腺組織の発育が最も盛んな50~60日令の Sprague-dawley 雌ラットに DMBA を経静脈的に投与する方法、局所に投与する方法などもあるが、著者は経管的に胃内に投与する方法で行った。本法は比較的簡単で、短期間に乳癌が発生するため乳癌の実験的研究に広く用いられている。DMBA の投与量および投与回数は3つの方法で行い、それにより発癌率、発生腫瘍個数を検討し、さらに発生した乳癌のホルモン依存性の割合がそれぞれ異なることを期待した。しかし卵摘後の再発率には有意差はなく、また発癌率、一匹あたりの発生腫瘍数にも有意差は認められなかった。

次に器官培養によるホルモン感受性試験は、生体における腫瘍組織の特性を比較的失わずに、*in vitro* で種々のホルモンの影響を観察することができ³⁵⁾³⁶⁾、さらに腫瘍増殖の直接の parameter である ³H-thymidine の取り込み量からみるため理想的と考えられる。しかし実際には、依存性を示したものの中で卵摘有効が90.9% (30/33例)と高いものの、非依存性あるいは感受性を示したものの中でも66.7% (8/12例)、45.5% (5/11例)とかなりの卵摘有効が認められた。*In vitro* での DMBA 乳癌の増殖におよぼすホルモンの作用について述べると、prolactin は DMBA 乳癌の増殖に促進的に働くことが Welsch ら¹²⁾により報告され、さらに Sasaki ら³⁷⁾も prolactin 添加により ER 結合能が増し腫瘍の増殖が促進されると報告している。著者の実験でも prolactin 添加培養液中で卵摘有効例の腫瘍組織片は高い ³H-thymidine の取り込みを示した。しかし 17 β -estradiol の *in vitro* の作用については意見がわかれる。すなわち Welsch ら¹²⁾は 17 β -estradiol 単独では腫瘍増殖に促進的に働かず、かえって高濃度の 17 β -

estradiol (5, 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$) で抑制的に働くこと述べている。しかし根来¹¹⁾は 17β -estradiol (0.1 $\mu\text{g}/\text{ml}$) で促進作用を認め、Israel ら³²⁾は先に述べた如くヒト乳癌の組織培養で 17β -estradiol (10^{-8}M) による促進作用を認めている。著者の実験では低濃度の 17β -estradiol (0.02, 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$) で促進、高濃度の 17β -estradiol (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$) で抑制の作用を認めた。高濃度の 17β -estradiol が抑制的に働くことは Welsch ら¹²⁾と同様であるが、低濃度における促進作用は一致しない。Sterental ら³⁰⁾によると *in vivo* では卵巣摘出により退行した DMBA ラット乳癌は estrogen 投与により回復するが、下垂体摘出ラットでは estrogen 投与によっても腫瘍の再増殖は起こらないと報告し、長澤³³⁾も下垂体の存在が estrogen の作用発現に不可欠なことを述べている。そこで諸家の *in vitro* における培養条件を吟味すると Israel ら³²⁾の培養時間は 72 時間であるが、培養液に血清を添加しており、一方血清を添加しなかったものではその培養時間が Welsch ら¹²⁾の 5 日間、根来¹¹⁾の 30 分、著者の 24 時間と異なっている。従ってこれらの培養条件の差異がすなわち血清あるいは培養組織中に下垂体由来である prolactin などのホルモンが残留し、それらが 17β -estradiol の *in vitro* の作用に影響しているかと示唆される。

一方 DMBA 乳癌に ER が存在し、その卵摘効果とよく相関することが、McGuire ら³⁹⁾、Nomura ら^{40,41)}により報告されている。著者も 66 例中 56 例に ER 陽性を認め、ER 陽性例中の卵摘有効は 89.3% (50/56 例)、ER 陰性例中の卵摘有効は 20% (2/10 例) にすぎなかった ($p < 0.01$)。従ってその予測能はホルモン感受性試験と比較すると統計学的に有意差を認めないものの、優れている傾向にあった。しかし完全な予測法とは言えない。ER 測定は cell free system の立場で estrogen と receptor の結合という最初の段階をみるものにすぎず、その作用発現までには Chan ら⁴²⁾の解明した如く、細胞質内に estrogen が入り receptor と結合した後、さらにその複合体が核内に translocate され、染色体の非ヒストン部分と結合して estrogenic な作用を伝達する m-RNA を産生し、これが核外へ出てリボゾームに命令を伝達し、蛋白が合成されるといういくつかの段階が必要である。Freifeld ら⁴³⁾、Jänne ら⁴⁴⁾は PgR が標的臓器における estrogen の作用によってその量が著明に増加することをラット子宮で確認し、最近 PgR が estrogen 翻訳後の作用発現の 1 つのマーカーとして考えられるに至った。すなわち ER、PgR の両者を測定することが ER 単独測定よりも予測能を向上させることが考えら

れている。著者の実験でも ER 陽性例 PgR 陽性例中の卵摘有効は 94.7% (18/19 例) と改善される傾向にあったが統計学的に有意差を認めなかった。また ER 陽性 PgR 陰性、ER 陰性 PgR 陽性にも各々 1 例ずつ卵摘有効が認められた。ヒト乳癌においても松本ら⁴⁵⁾、Nomura ら⁴⁶⁾、McGuire ら^{47,48)}により hormone receptor と内分泌療法に対する効果の比較研究が行われたが、ER 陽性の約 40% に内分泌療法が無効であること、ER 陰性でも 10% 程度の有効例がみられること、ER 測定に PgR 測定を加えても両者陽性の約 30% に無効例があり、理論上から期待されたほどの改善がみられず、今後の検討課題と考えられている。

乳癌のホルモン依存性は常に不変というわけではなく、癌腫が自律性を確保する過程において変化することが十分考えられる。内分泌療法に著効を示しても、その効果は一時的であり、多くの患者は再発を起こし再増殖した癌腫瘍のため死亡し、完治に至らないことは臨床上市しばしば経験されることである。すなわちこのような再発腫瘍ではホルモン療法以前の腫瘍とは性格が異なり、ホルモン依存性に変化が起こることが伺われる。Vignon ら⁴⁹⁾はラットで卵摘後の ER を 10 日間経時的に測定し、急速に ER が減少していくと報告しており、Tominaga ら⁵⁰⁾も 18 例中 17 例が卵摘により数日間で ER 陽性から ER 陰性になったと報告している。しかしホルモン療法後の再発腫瘍の ER について言及した文献は少なく、Nomura ら⁵¹⁾は DMBA ラット乳癌およびヒト乳癌でホルモン療法前後の ER を比較したところ ER は変化しないと述べている。それに対して ER 陽性の腫瘍は一般的にホルモン依存性であり、ER 陰性の腫瘍はホルモン非依存性であることが多く³⁹⁾⁵²⁾⁵³⁾、また卵摘後の再発腫瘍は estrogen 非依存性の状態と考えられることから、ER も当然、陰性化することが推測される。著者の実験における再発腫瘍はホルモン感受性試験で 9 例中 8 例が、 17β -estradiol に非依存性あるいは感受性であり、また ER の測定でも 9 例中 8 例が ER 陰性であった。すなわちホルモン療法後の再発腫瘍では、ホルモン感受性試験および ER 測定において 17β -estradiol に依存性を失っていることが明らかとなった。このホルモン依存性に変化が生ずる機序としては 2 つの考え方が成立する。その 1 つは乳癌腫瘍は ER 陽性と判定されても決して均一な細胞集団から構成されているわけではなく、Fidler ら⁵⁴⁾の提唱する如く、ホルモン依存性と非依存性の細胞が heterogous に混在しており、卵摘などの hormone ablation によりホルモン依存性の細胞は減少して腫瘍の縮小が起こるが、その後、ホルモン非

依存性の細胞が増殖し再発腫瘍は ER 陰性と判定されるに至るという考え方である。他の 1 つは、最近松本⁵⁵⁾は androgen にのみ依存性を有するマウス乳癌 (Sionogi carcinoma 115) は androgen receptor (以下 AR と略す) 陽性であるが除手術後に出現する再発癌は AR 陰性であり、これは androgen を廃絶することにより AR 陽性であった癌細胞が AR 陰性へ transformation し、そのため腫瘍の androgen 依存性が失われると説明している考え方である。ホルモン依存性癌腫瘍の自律性を説明するこの 2 つの考え方のいずれが正しいかは、今後の研究に待たねばならない。乳癌の内分泌療法に際しては、以上述べてきたように内分泌療法の効果は一時的であり、最初から内分泌療法とともに化学療法などを併用することがその治療効果を向上させるために必要と考えられる。

結 論

乳癌における内分泌療法の効果を予測する目的で、DMBA ラット乳癌をモデルとして器官培養によるホルモン感受性試験と hormone receptor の測定を行い、両者の予測能を卵摘効果によって比較検討し、更に卵摘後の再発腫瘍のホルモン依存性に関しても同様の検索を行った。その結果

1. 器官培養では 17 β -estradiol 0.02, 0.2 μ g/ml が estrogen 依存性を知る上で至適濃度と考えられ、この濃度で依存性と判定されたもので実際に卵摘有効であったのは 90.9% であった。しかし非依存性および感受性と判定されたものにもそれぞれ 66.7%, 45.5% の卵摘有効がみられた。一方 ER 測定では ER 陽性例中の卵摘有効は 89.3%, ER 陰性例中の卵摘有効は 20% であり ER 測定の方がホルモン依存性予知に関して優れる傾向にあった。

2. 卵摘後の再発腫瘍 9 例中 8 例がホルモン感受性試験で非依存性あるいは感受性を示し、さらに ER 測定で ER 陰性であり、卵摘後の再発腫瘍は estrogen 依存性を失う傾向にあることが明らかになった。

即ち以上の実験結果より、ヒト乳癌の内分泌療法の指標を得るためには、estrogen などの hormone receptor の検索が有意義であり、また乳癌の内分泌療法に際しては、腫瘍のホルモン依存性の変化を考慮し、最初からホルモン療法と化学療法を併用するなどの複合療法が、治療成績の向上につながると考えられた。

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜った宮崎逸夫教授、並びに、終始御教示戴いた野口昌邦博士に謹んで謝意を捧げると共に、御教示、御助言戴いた中央検査部松原藤継教授、御協力戴いた国立ガンセンター内分泌部大津俊平氏、金

沢大学医学部第二外科教室各位に篤く感謝の意を表します。

文 献

- 1) **Beatson, G. T.** : On the treatment of inoperable cases of carcinoma of the mamma. Suggestions for a new method of treatment with illustrative cases. *Lancet*, ii, 104 - 107 (1896).
- 2) **Huggins, C. & Dao, T. L.** : Adrenalectomy for mammary cancer. *Ann. Surg.*, 136, 595 - 603(1952).
- 3) **Luft, R. & Olivecrona, H.** : Experiences with hypophysectomy in man. *J. Neurosurg.*, 10, 301 - 316 (1953).
- 4) **Dao, T. L.** : Ablation therapy for hormone-dependent tumors. *Ann. Rev. Medicine*, 23, 1 - 18 (1972).
- 5) **Breast cancer group in Japan.** : The effect of endocrine treatment on advanced breast cancer in Japan. *Jap. J. Clin. Oncol.*, 3, 13 - 18 (1973).
- 6) **野村雍夫** : 乳癌におけるホルモン依存性腫瘍と hormone receptor. 現代外科学大系, 77B, 203 - 219, 中山書店, 東京, 1977.
- 7) **Mobbs, B. G.** : The uptake of triated oestradiol by dimethylbenzanthracene induced mammary tumors of the rat. *J. Endocrin.*, 36, 409 - 414 (1966).
- 8) **Salih, H., Flax, H. & Hobbs, J. R.** : In vitro estrogen sensitivity of breast cancer tissue as a possible screening method for hormonal treatment. *Lancet*, i, 1198 - 1202 (1972).
- 9) **Hobbs, J. R., Salih, H., Flax, H. & Braunder, W.** : Prolactin dependence among human breast cancer. *Excerpta Medica International Congress Series*, 308, 249 - 265 (1973).
- 10) **Hobbs, J. R., Desouza, I., Salih, H. & Raggatt, P.** : Selection of hormone-dependent breast cancer. *Br. J. Surg.*, 61, 785 - 786 (1974).
- 11) **根来洋** : 乳癌のホルモン依存性に関する研究. In vitro における乳癌細胞 DNA 合成能に及ぼす性ホルモンの影響について. *日本外科学会誌*, 72, 1735 - 1743 (1971).
- 12) **Welsch, C. W. & Rivera, E. M.** : Differential effect of estrogen and prolactin on DNA synthesis in organ culture of DMBA induced rat mammary carcinoma. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*

- 139, 623-626 (1972).
- 13) **Aspegren, K.** : On human mammary cancer in organ cultures. *Am. J. Surg.*, **131**, 575-580 (1976).
- 14) **Witliff, J. L., Hilf, R., Brooks, W. F., Savlov, E. D., Hall, T. C. & Orlando, R. A.** Specific estrogen binding capacity of the cytoplasmic receptor in normal and neoplastic breast tissues of humans. *Cancer Res.*, **32**, 1983-1992 (1971).
- 15) **McGuire, W. L., Minerava, D. L. & Chamness, G. C.** : Evaluation of estrogen receptor assays in human breast tissue. *Cancer Res.*, **37**, 637-639 (1977).
- 16) **Jensen, E. V. & Jacobson, H. I.** : Basic guides to the mechanism of estrogen action. *Recent Prog. Horm. Res.*, **18**, 387-414 (1962).
- 17) 嶋田拓・寺山宏 : 比色定量のための核酸分画法. 核酸の化学 I. 生化学実験講座 2 (化学学会編), 第一版, 5-20, 東京化学同人. 1975.
- 18) **Burton, K.** : A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *Biochem. J.*, **62**, 315-323 (1965).
- 19) **Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. & Randall, R. J.** : Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
- 20) 松本圭史, 越智温夫 : 乳癌とエストロゲンレセプター. *臨床医*, **3**, 100-101 (1977).
- 21) **Johnson, R. B., Nakamura, R. M. & Libby, R. M.** : Simplified scatchard plot assay for estrogen receptor in human breast tumor. *Clin Chem.*, **21**, 1725-1730 (1975).
- 22) **Powell, B., Garola, R. E., Chamness, G. C. & McGuire, W. L.** : Measurement of progesterone receptor in human breast cancer biopsies. *Cancer Res.*, **39**, 1678-1682 (1979).
- 23) 西塚泰章 : ホルモン依存性癌. 癌と化療, **1**, 721-727 (1974).
- 24) **Boyd, S. M. B.** : On oophorectomy in cancer of the breast. *Br. Med. J.*, **2**, 1161-1167 (1900).
- 25) **Emerson, K. & Jessiman, A. G.** : Hormonal influences on the growth and progression of cancer. *New England J. Med.*, **254**, 252-258 (1956).
- 26) **Bulbrook, E. D., Greenwood, F. C. & Hayward, J. L.** : Selection of breast cancer patients for adrenalectomy or hypophysectomy. *Lancet*, **i**, 1154-1157 (1960).
- 27) **Miller, H., Durant, J. A., Jacobs, A. G. & Allison, J. F.** : Alternative discriminating function for determining hormone dependency of breast cancer. *British Med. J.*, **21**, 147-149 (1967).
- 28) **Kumaoka, S., Sakauchi, N., Kusama, M. & Takatani, O.** : Urinary 17-ketosteroid excretion of woman with advanced breast cancer. *J. Clin. Endocr.*, **28**, 667-672 (1968).
- 29) **Jensen, E. V., Suzuki, T., Kawashima, T., Stumpf, W. E., Jungbluff, P. W. & Desombre, E. R.** : A two step mechanism for the interaction of estradiol with rat uterus. *Proc. N. A. S.*, **59**, 632-638 (1968).
- 30) **Korenman, S. G. & Dukes, B. A.** : Specific estrogen binding by the cytoplasm of human breast carcinoma. *J. Clin. Endocr.*, **30**, 639-645 (1970).
- 31) **McGuire, W. L.** : Estrogen receptor in human breast cancer. *J. Clin. Invest.*, **52**, 73-77 (1973).
- 32) **Israel, N. & Saez, S.** : Relation between steroid receptor content and response to hormone addition in isolated human breast cancer cells in short-term culture. *Cancer Res.*, **38**, 4314-4317 (1978).
- 33) 長澤弘 : ヒト乳癌モデルとしての実験動物の乳癌. *医学のあゆみ*, **104**, 12-20 (1978).
- 34) **Boylan, E. S., Fowler, E. H. & Wittliff, J. L.** : Morphology, growth characteristics and oestrogen-binding capacity of DMBA induced mammary tumors from ovariectomized rat. *Br. J. Cancer*, **35**, 602-609 (1977).
- 35) 野口昌邦 : 人癌組織の器官培養に関する実験的研究. *十全医会誌*, **84**, 548-562 (1975).
- 36) **Matthias, M.** : Methoden und Anwendungsmöglichkeiten der Organkultur in der klinischen und experimentellen Krebsforschung. *Arch. Geschwulstforsch*, **41**, 382-397 (1973).
- 37) **Sasaki, G. H. & Leung, B. S.** : On the mechanism of hormone action in 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene induced mammary tumor. *Cancer*, **35**, 645-651 (1975).

- 38) Sterental, A., Dominguez, J. M., Weissman, C. & Pearson, O. H. : Pituitary role in the estrogen dependency of experimental mammary cancer. *Cancer Res.*, **23**, 481-484 (1963).
- 39) McGuire, W. L. & Deragarza, M. : Similarity of the estrogen receptor in human and rat mammary tumor. *JCE. & M.*, **36**, 548-552 (1973).
- 40) Nomura, Y., Abe, Y., Hattori, T. & Inokuchi, K. : Measurement of estrogen binding capacity in the hormone dependent and independent rat mammary tumors. *Gann*, **64**, 401-404 (1973).
- 41) Nomura, Y., Abe, Y. & Inokuchi, K. : Specific estrogen receptor and its relation to response to oophorectomy in rat mammary cancer induced by 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene. *Gann*, **65**, 523-528 (1974).
- 42) Chan, L. M. B. & O'Malley, B. W. : Mechanism of action of the sex steroid hormones. *New Eng. J. Med.*, **294**, 1322-1328 (1976).
- 43) Freifeld, M. L., Feil, P. D. & Bardiin, C. W. : The in vitro regulation of the progesterone receptor in guinea pig uterus : dependence on estrogen and progesterone. *Steroids*, **23**, 93-103 (1974).
- 44) Jänne, O., Kontula, K., Luukkainen, T. & Vihko, R. : Oestrogen-induced progesterone receptor in human uterus. *J. Ster. Biochem.*, **6**, 501-509 (1975).
- 45) 松本圭史・野村雍夫・菅野晴夫 : ヒト乳癌とホルモン受容体・医学のあゆみ, **105**, 1-9 (1978).
- 46) Nomura, Y., Kobayashi, S., Takatani, O., Sugano, H., Matsumoto, K. & McGuire, W. L. : Estrogen receptor and endocrine responsiveness in Japanese versus American breast cancer patients. *Cancer Res.*, **37**, 106-110 (1977).
- 47) McGuire, W. L., Horwitz, K. B., Pearson, O. H. & Segaloff, A. : Current status of estrogen and progesterone receptors in human breast cancer. *Cancer*, **39**, 2934-2947 (1977).
- 48) McGuire, W. L. : Steroid receptors in human breast cancer. *Cancer Res.*, **38**, 4289-4291 (1978).
- 49) Vignon, F. & Rochefort, H. : Regulation of estrogen receptors in ovarian dependent rat mammary tumors. I. Effect of castration and prolactin. *Endo.*, **98**, 722-729 (1976).
- 50) Tominaga, T., Kitamura, M. & Tei, N. : Effect of oophorectomy on estrogen receptors in rat mammary tumors induced by 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene. *Biken Journal*, **20**, 143-145 (1977).
- 51) Nomura, Y., Abe, Y., Yamagata, J. & Takenaka, K. : Possible retention of the estrogen binding capacity after endocrine ablation therapy in the rat and human breast cancer. *Gann*, **67**, 101-104 (1976).
- 52) McGuire, W. L. & Julian, J. A. : Comparison of macromolecular binding of estradiol in hormone-dependent and hormone-independent rat mammary carcinoma. *Cancer Res.*, **31**, 1440-1445 (1971).
- 53) McGuire, W. L., Jennings, A. & Chamness, G. C. : Mammary carcinoma : a specific biochemical defect in autonomus tumors. *Science*, **175**, 335-336 (1972).
- 54) Fidler, I. J. : Tumor heterogeneity and the biology of cancer invasion and metastasis. *Cancer Res.*, **38**, 2651-2660 (1978).
- 55) 松本圭史 : 乳癌とホルモン受容体. *ホと臨床*, **28**, 29-37 (1980).

Experimental Studies in Hormone Dependency of Breast Cancer-Comparison between Hormone Sensitivity Test in Organ Culture and Hormone Receptor Assay. Hajime Kinoshita, Department of Surgery II, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920, Japan. *J. Juzen Med. Soc.*, **89**, 453-467 (1980).

Abstract It is important for the clinician to discriminate between hormone dependent and independent breast cancer before endocrine therapy. Hormone receptor assay and hormone sensitivity test in organ culture are representative methods for predicting hormone dependency. In this paper, hormone receptor assay, hormone sensitivity test in organ culture and response to oophorectomy in rat mammary cancer induced by 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene were comparatively studied, and hormone dependency of recurrent mammary cancer after oophorectomy was also studied by the both methods. In organ culture, 17β -estradiol 0.02 and 0.2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ was considered to be proper for estimating estrogen dependency, 90.9% of tumors which were estrogen dependent in hormone sensitivity test showed regression after oophorectomy. But 66.7% of estrogen independent tumors and 45.5% of estrogen sensitive tumors showed regression after oophorectomy. In estrogen receptor assay, 89.3% of tumors which were positive in estrogen receptor showed regression after oophorectomy, although only 20% of the tumors which were negative showed regression after oophorectomy. This predicting ability of estrogen receptor was slightly improved by measuring progesterone receptor concurrently. So it appeared that hormone receptor assay was more useful than hormone sensitivity test in organ culture for predicting hormone dependency. Eight of 9 recurrent tumors after oophorectomy showed independent or sensitive in hormone sensitivity test and negative in estrogen receptor, so recurrent tumor after oophorectomy was inclined to be hormone independent. Because hormone dependency of breast cancer was considered to be lost after endocrine therapy, combined hormonal-chemotherapy would be more effective for treatment of breast cancer.