

乳腺腫瘍に関する研究

とくに、乳癌の hormone 依存性に関する実験的並びに臨床的研究

金沢大学医学部外科学第一講座(主任：卜部 美代志教授)

浅野 英 博

(昭和48年2月9日受付)

緒 言

1945年 Barr & Bertram¹⁾ が牝猫の舌下神経細胞に1 μ 大の核小体が存在することを発見し、その殆んどが核膜に接しており、これを性染色質 (sex chromatin) と命名し、その後哺乳動物の種々なる組織にも性染色質の存在することを確認し、女性にはそれが高頻度に出現していることから性の判定に利用できることが明らかになった。

また、1955年以降腫瘍についても性染色質保有細胞の多寡による核性決定が諸家 (Tavares²⁾, Myers³⁾, Graf⁴⁾, Hienz, Ehlers⁵⁾, Barr & Moore⁶⁾) により行われたが、腫瘍宿主の性と腫瘍組織の性とは必ずしも一致せず、それが一方では腫瘍の生物学的特性とも関連することが追究されるようになってきた。

ことに、乳癌においては1942年 Badger⁷⁾ により hormone 療法が効果的である乳癌患者が報告されて以来、腫瘍の増殖、ないし、腫瘍宿主関係が、性 hormone による影響をうけ、ひいては腫瘍が性的要素によって左右されるという事象が注目されるようになってきた。従って、乳癌組織の性染色質、すなわち、核性は hormone 環境下におけるその増殖に重要な関係をもつものとして、Hienz, Ehlers⁵⁾, Kimel⁸⁾, 本邦では恩田⁹⁾, 原田¹⁰⁾, らによって指摘された。彼らは主として人体材料において、hormone 依存性を乳癌、および周辺疾患に関して、性染色質の面より追究せんとしている。

教室でもかねてこの領域に関する研究が継続されており、既に河合¹¹⁾, 広瀬¹²⁾, が乳癌とそのhormone 依存性についての特徴を、臨床例、並びに、実験について研究報告した。しかし、実験的乳癌について、その性染色質とhormone 依存性との関連を追究した報告は内外ともに極めて寡い。著者は従来複雑視されてきた

本問題を、実験材料の選択により可及的に簡明化した上、解明に資せんとして以下の研究を企てた。

I 研究対象並びに方法

1. 実験的観察方法

1) 乳癌腫瘍移植の方法、性染色質観察の方法

Swiss 系白ネズミ (Swiss albino を random bred 下に飼育繁殖せしめたもの) の雌のみを用い、予備飼育により、体重20~30gに達したもののの中から、健康なものを選んで使用した。

これにCCM腫瘍の固型株 (可移植性乳癌、すなわち、Swiss 系白ネズミの自然発生乳癌を、国立がんセンター研究所で同系に継代34代移植したものを分与された) を右腋窩皮下に移植した。移植方法は、皮下腫瘍継代移植法により移植後21日目に、重量約1g程度にまで十分増殖したものを無菌的に切除し、10mlの生理食塩水を加えて粉碎し、細胞浮遊液としたもの0.2mlを、次代白ネズミの右腋窩皮下に注射する。腫瘍移植と共に、各種hormone製剤を左腋窩皮下に併用投与し、移植腫瘍の状況を観察し計測するのであるが、この場合腫瘍の大きさは、移植後10日目より4日毎に計測し、(長径+短径)×1/2をmmであらわし、屠殺時の重量をはかって、gであらわした。

各群について経時的に屠殺し、剖検の上、腫瘍重量を計測し、腫瘍の組織標本作製し、性染色質を数えて核性の決定を行なった。

別出腫瘍の病理組織標本作製にあたっては、切除した各実験群の材料を直に10%中性ホルマリン液に浸漬固定し、2~3日後、その最大径を通る断面について薄片を作製し、パラフィン包埋の上、平均5 μ の厚さの切片に作成する。切片の染色にあたり、はじめの脱パラフィン後、5N塩酸液に

Studies on the Mammary Tumor with Special Reference to the Investigation of Hormone Dependency of the Tumor. Hidehiro Asano Department of Surgery (I) (Director : Prof. Dr. M. Urabe) School of Medicine, Kanazawa University.

5～8分浸漬し、然るのち hematoxylin-eosin 染色、一部では Feulgen 染色を行なった。すなわち、5 N塩酸をとおすことにより、細胞核内染色質の染色度は低下し、性染色質算定は容易となる。

性染色質の算定には、油浸系で×1,000で鏡検した。腫瘍組織内の細胞変性のない部分数個所を観察して、細胞核内において、核膜に接着し、核内部に凸側をむける大きさ1μ前後、または、それ以上の定型的平凸形の染色質を陽性所見とした。また、性染色質の確認は、核小体をもとめ得る核に存在する場合のみについて行ない、核の厚さによる誤算を除くようにした。

一つの核内に、ときとして2個の性染色質をみいだすことがあるが、この場合には当然一つの性染色質陽性の細胞として数えた。

そこで、性染色質数の割出しには、算定する細胞核数500個を規準とし、その中の性染色質陽性核数を算え、総細胞核数に対する性染色質陽性核数を算術計算により百分率で表わした。

性染色質百分率値による腫瘍組織性決定の規準は諸家によりまだ一定していないが、著者は、乳癌組織の核性に関する原田¹¹⁾の見解を採用し、性染色質出現率が0～5%を男性型(陰性)、6～9%を中間型(不定型)、10%以上を女性型(陽性)と設定した。

因みに核性の計測によれば、34代継代移植のCCM腫瘍は男性型核性を有し、hormone independent carcinoma の属性を具えているとみなされる。

なお、これらの性染色質計数に用いた組織標本は、同時に、移植腫瘍の組織型、および、腫瘍実質細胞、および、間質の諸形態を観察するのに利用することができる。従って、各実験群については、性染色質の出現率計数と同時に、組織学的変化についても観察し、特徴ある所見については記載した。

2) 種々なる hormone 環境を作成してその条件下のCCM固型株(乳癌)の移植を観察する方法

CCM腫瘍移植白ネズミに対して、各種 hormone を、腫瘍移植後1日目より21日目まで毎日注射した。各種 hormone 投与の実験群をつくるにあたり、次の方式に拠った。

i) 各種 hormone 環境下におけるCCM固型株の増殖—いわゆる、hormone依存性の検討法(第1回実験)
a. 卵胞 hormone として estadin benzoate 結晶游液(三全一山之内)(以後 Est. と略)を 30γ/day×21.

b. 黄体 hormone として、progenin 浮遊液(三全一山之内)(以後 Prog. と略)100γ/day×21

c. 男性 hormone として、enarmon 水性懸濁

液(帝国臓器)(以後 Test. と略)30r/day×21

d. 副腎皮質 hormone として、hydrocorton (日本メルク万有)(以後 Hyd. と略)400γ/day×21

e. 脳下垂体 hormone のうち性腺刺激 hormone として serotropin (帝国臓器)(以後 Gonad と略)10iu/day×21

f. 脳下垂体 hormone のうち、向副腎刺激 hormone として、ACTH (第一製薬)(以後 ACTH. と略)0.15u/day×21

g. 対照群として、生理食塩水0.1ml/dayを毎日皮下注射した。

以上の各群はそれぞれ7～8匹のネズミで構成され、第1回実験はCCM腫瘍固型株を前記1)の方法で移植し、i) a.～g.の方法で hormone 投与を行なった。

ii) 各種 hormone 環境下に増殖した腫瘍の hormone 依存性に関する再吟味の方法(第二回実験)

i) の実験で、各種 hormone 投与下に、腫瘍の増殖を観察したところ、Est. 環境下、および、Test. 環境下移植腫瘍をはじめとし、各群のすべてにおいて増殖抑制効果がみとめられた。よって、これらの現象が果して hormone 自体の増殖抑制効果によるものか、あるいは、hormone と特別の関連を有しないものであるかを再吟味する必要をみとめた。

そこで次の実験系列を考えた。

a. 初回 Est 投与下に移植増殖せしめた腫瘍を、移植3週目に、2次的に、Est. 投与 Swiss 系白ネズミに再移植する。2次的に、Prog. 投与 Swiss 系白ネズミに再移植する。2次的に、Test. 投与 Swiss 系白ネズミに再移植する。2次的に、Hyd. 投与 Swiss 系白ネズミに再移植する。2次的に、Gonad 投与 Swiss 系白ネズミに再移植する。2次的に、ACTH 投与 Swiss 系白ネズミに再移植する。

b. 初回 Prog. 投与下に移植増殖せしめた腫瘍について、a.と同様に処置する。

c. 初回 Test. 投与下に移植増殖せしめた腫瘍について、a.と同様に処置する。

d. 初回 Hyd. 投与下に移植増殖せしめた腫瘍について、a.と同様に処置する。

e. 初回 ACTH 投与下に移植増殖せしめた腫瘍について、a.と同様に処置する。

f. 初回 Gonad. 投与下に移植増殖せしめた腫瘍について、a.と同様に処置する。

以上の各々の hormone 投与下増殖腫瘍をひきつづき次代白ネズミに移植し、6種の hormone 投与を繰り返す。

前回と同様にそれら hormone の影響を観察、計測する計画であった。しかし、ここに用いる CCM 固型株が、hormone independent tumor であることを確認するためには、一方の核染色質計測において、本腫瘍の核性が男性型であると推定される状況下では、内分泌学的に estrogen に拮抗する testosterone, あるいは, progesterone の両者を中心に検討すれば、その意図が充たされると考えた。

とくに、乳癌増殖に関連が深いとみなされる estrogen に拮抗作用をもつ男性 hormone, testosterone を中心に再検討をしたので、茲には c 群を中心に行なった第 2 回実験の方法について述べる。すなわち、第 2 回実験では第 1 回実験で移植された腫瘍のうちで Test. 群の腫瘍を 1), および, i) の a~g の方法で再移植、および、hormone 再投与を行ったものである。

Test. 群の腫瘍を使用したのは性染色質が男性型を有する腫瘍が、Test. 依存性を有すか否かを観察吟味するためである。そして、estrogen dependent に対抗し得る hormone は、testosterone, および、progesterone であると考えたからである。

iii) hormone 環境下に増殖した腫瘍の hormone 依存性に関する再々吟味の方法 (第 3 回実験)

第 3 回実験は第 2 回実験群より得た Prog. 群腫瘍を使用し、前回と同様の方法によって、再々移植実験を行ったものである。Prog. 群を選んだのは、第 2 回実験と同じ理由であると同時に、Est. 群が抑制された疑問点を観察解明するためである。

3) Swiss 系白ネズミの自然発生乳癌における観察方法

Swiss 系白ネズミ (Swiss albino) の雌を、上述 1) の系列とは全く別個に 57 匹を分ち、飼料、飲料水を無制限とし、長期間飼育観察し自然発生乳癌の発生状況をみた。

それらに自然発生した乳腺腫瘍については著者の施設で移植系を樹立することには成功しなかった。従ってこの自然発生乳癌は国立がんセンター研究所より分譲された CCM 固型株とは本来別個のものではあるが参考資料として組織学的に観察し、性染色質の計数をあわせ行なった。

4) dba マウスの自然発生乳癌における観察方法

dba マウスの自然発生乳癌の移植 3 代目の腫瘍の平均 3×1.5 mm を同系の右腋窩皮下に移植し、同じく下記の各種 hormone 移植後第 1 日目より 15 日目までを左腋窩皮下へ注射した。

- i) Est. 30 γ /day \times 15
- ii) Prog. 100 γ /day \times 15
- iii) Test. 30 γ /day \times 15
- iv) Hyd. 400 γ /day \times 15
- v) Gonad. 10iu/day \times 15
- vi) ACTH 0.15u/day \times 15

vii) 対照群 生理食塩水 0.1ml/day \times 15 を注射
なお dba マウスの自然発生乳癌の核性は女性型を示し hormone dependent tumor の属性を具えているとみなされる。

2. 乳癌手術患者における臨床検索方法

教室乳癌症例中、原発腫瘍、および、再発転移で内分泌学的な測定が行なわれ、術后切除標本の組織検索が確定され、性染色質の計数が算定され、かつ、予後の明らかにされた 12 例を対象として検討を試みた。上述各項の検査測定方法は次の如くである。

i) 各種 hormone 測定法

尿中 estrogen 排泄量の測定; Jailer-浅野法¹³⁾

尿中 17-ketosteroids 排泄量の測定; Haltorff Koch 法¹⁴⁾

尿中 17-hydroxycorticoids 排泄量の測定; Reddy-佐々木法¹⁵⁾

血漿中 hydroxycortisone 量の測定; Sweat-竹田法¹⁶⁾。なおこれらの測定は、主として教室の河合¹¹⁾により行われたものである。

ii) 乳癌 (原発腫瘍、および、転移巣) 組織の性染色質計測法

前項 1. 1) に記載したものと同一方法によった。

II 研究成績

1. 実験的研究成績

1) Swiss 系白ネズミに移植された CCM 固型株腫瘍乳癌の増殖態度とその性染色質

Swiss 系白ネズミの皮下に移植した CCM 固型株腫瘍は、移植後 4~5 日目頃より移植部皮下に結節として触知しはじめ、約 1 週間で殆んど全例触知し得るようになる。これを、移植後 10 日目より、4 日毎に皮膚上より計測した。本実験群 (表 3、および、図 1 対照群参照) 8 匹の平均値でみると 10 日目で径 23.6 mm となり、18 日目には最大径 41.3 mm となる。性染色質の出現率は 1%~3%、平均 2.0% で、核性では男性型を示した。

2) 各種 hormone 投与時における CCM 固型株腫瘍 (乳癌) の増殖態度と性染色質

i) (第 1 回実験の成績)

Est. Prog. Test. Hyd. Gonad. ACTH 投与の各群にお

けるCCM固型株腫瘍の増殖曲線はいずれも立ち上りが早く、移植後10日目前後では著差をみとめることができない。14~18日目を peak とする。しかし、いずれも対照群に較べて増殖が抑制されている。なお、詳細にみると腫瘍の大きさでは対照群と Est. 投与、Test. 投与の各群では同一成長を示したが、日を経るに従いやや抑制されてきている。その他の各群では10日目に成長は抑制的であり以后もゆっくりとした発育を示している(図1、表1、図6)。

これらの各群について性染色質出現率を窺うに、各群全例において性染色質出現率は男性型を示した。男性型のうち Est. 群で3.6%、Prog. 群で0~0.3%、Test. 群で1.7%を示した。腫瘍の大きさと性染色質出現率とは相関を示していない(表4)。なお、

移植腫瘍の組織形態の観察では、肉眼的大きさの差があるにかかわらず、とくに著しい差異をみとめなかった。

そこで、各種 hormone 投与下のCCM固型株腫瘍の増殖態度を比較すると、Test. 群の腫瘍は3週后において他群に較べ増殖最も顕著であり、Est. 群と同程度の増殖を示している。このことは、hormone 依存性腫瘍に対して拮抗的作用を示すとみなされている estrogen と testosteroneの両 hormone が本腫瘍の増殖に関しては差異を示さないという現象であり、本腫瘍は、この点のみからみても、hormone independent tumor であると思わせる特徴ある知見である。この点に関して再吟味を加える必要があると考え、次の実験を企及した。

図1. Swiss系白ネズミにCCM固型乳癌を移植して種々な hormoneを投与した場合の腫瘍の発育(第1回実験)

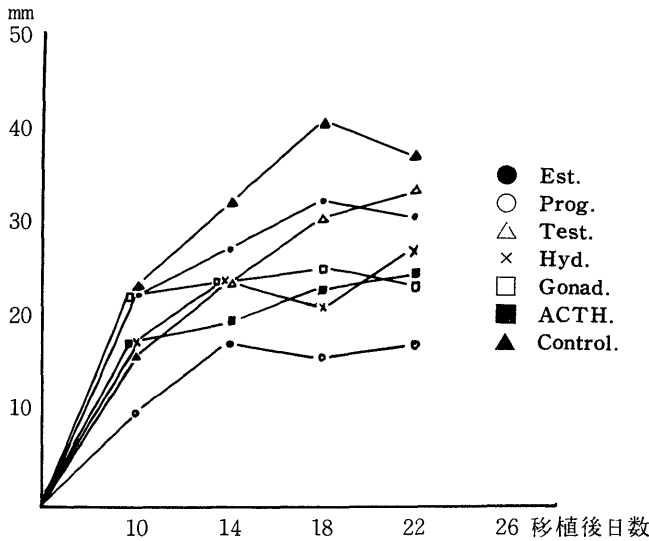


表1 Swiss系白ネズミにCCM固型株乳癌を移植して種々な hormoneを投与した場合の腫瘍の発育(第1回実験)

マウス群	移植後日数	10 (mm)	14 (mm)	18 (mm)	22 (mm)	Cutdown重量 (g)	性染色質 %
Est.	30r/day	22.5	27.5	32.5	31.0	6.8	3.6
Prog.	100r/day	10.0	17.5	16.0	17.5	1.2	0.2
Test.	30r/day	16.0	24.0	31.0	34.0	9.6	1.7
Hyd.	400r/day	17.5	19.0	21.5	27.5	2.3	2.0
Gonad	10iu/day	22.5	24.0	25.5	24.0	2.7	1.0
ACTH	0.15u/day	17.5	20.0	25.5	25.0	2.9	1.7
Control	生理食塩水 0.1ml	23.6	32.5	41.3	37.5	7.6	2.0

図6. 種々なるhormone環境下のSwiss系白ネズミにCCM固型株乳癌を移植した場合に発育した腫瘍の重量

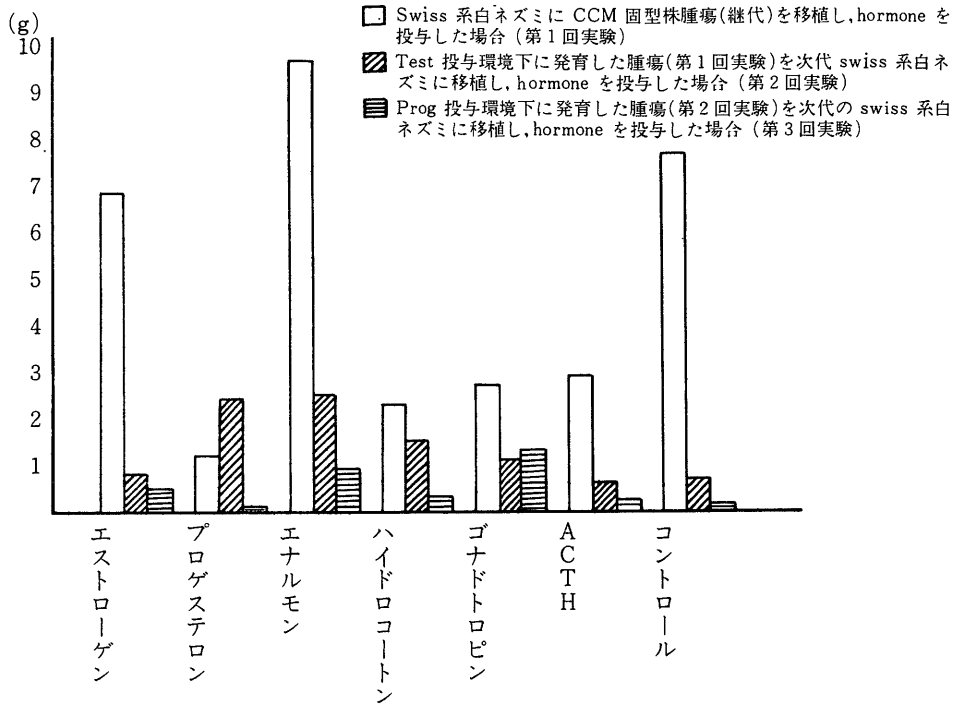


表4 種なる hormone 環境下に発育した Swiss 系白ねずみの性染色質出現率

マウス群	実験回数	性染色質出現率 (%)		
		第1回 (%)	第2回 (%) 第1回移植時Test 投与腫瘍について	第3回 (%) 第2回移植時Prog 投与腫瘍について
Est.	30r/day	3.6	1.5	2.3
Prog.	100r/day	0.2	3.3	2.7
Test.	30r/day	1.7	0.7	0.2
Hyd.	400r/day	2.0	3.8	2.4
Gonad.	10iu/day	1.0	0.7	0.5
ACTH.	0.15u/day	1.7	4.7	1.7
Control	生理食塩水 0.1ml	2.8	3.7	0.9

第1回：Swiss 系白ネズミに CCM 固型乳癌を移植し，種々なる hormone を投与した場合。
 第2回：Test 投与環境下に発育した(第1回) CCM 固形乳癌を次代の Swiss を次代の Swiss 系白ネズミに移植し，種々なる hormone を投与した場合。
 第3回：Prog 投与環境下に発育した(第2回) CCM 固型株乳癌を次代の Swiss 系白ネズミに移植して，種々なる hormone を投与した場合。

ii) (第2回実験の成績) すなわち i) の実験で Test. 投与下に増殖した移植腫瘍をとり、次代 Swiss 系白ネズミに再移植して、再び Est. Test. を含めて6種の hormone の連日投与を繰り返す、その再移植腫瘍の着床増殖の態様を観察した。この場合、対照群は、Test. 環境下に増殖した腫瘍の再移植に対して、生理食塩水のみを連日注射したものである。以上第1回実験と同様にこれら7群(対照を含む)について腫瘍の増殖態度、および、組織の性染色質出現率を計測した(表2, 図2, 図6)。腫瘍の発育曲線は全般的に立ちあがりかゆるやかである(発育が遅い)。14日目までは各群間に殆んど差異を認めない。移植後18日~22日で peak を迎えるとともに各群間にやゝバラツキがみられるようになる。しかし、いずれも対照群に比較して発育は小さい。とくに、Est. 投与群では発育がおさえられ、Test. 投与群とは対

蹠的に抑制されているのを見る。Test. 群, Prog. 群, Gonad. 群では発育が抑えられながらもほぼ段階的に成長している。Hyd. 群ではこれら3群に較べ、14日目から発育の抑制がやや著明である。

一方、これらの各群について性染色質出現率を検索した。

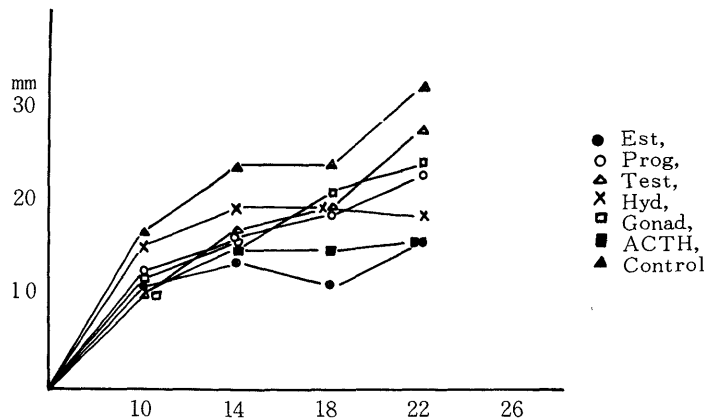
Test. 環境下に増殖した腫瘍を移植してひきつづき Test. を投与した群では腫瘍は益々発育が緩徐となるが、性染色質出現率は0.7%。Est. 投与群では1.5%、Gonad. 投与群では0.7%で、第1回実験時のそれらよりいずれも低下している。逆に性染色質出現率が第1回実験時のそれより上昇しているものは Prog. 群, Hyd. 群, ACTH 群, 対照群であり、腫瘍の大きさと性染色質出現率とは相関を示さない(表4)。

本実験に属する各群の移植腫瘍につき組織学的観察

表2 Test 投与環境下に発育した(第1回実験で)CCM 固型株乳癌を次代の Swiss 系白ネズミに移植し、種々な hormone を投与した時の腫瘍の発育 (第2回実験)

マウス群	移植後日数	10 (mm)	14 (mm)	18 (mm)	22 (mm)	Cutdown 重量 (g)	性染色質
Est.	30r/day	11.0	13.8	11.8	15.8	0.8	1.5
Prog.	100r/day	12.5	16.5	18.8	23.0	2.4	3.3
Test.	30r/day	10.5	17.3	19.5	25.3	2.5	0.7
Hyd.	400r/day	15.8	19.5	19.5	18.5	1.5	3.8
Gonad.	10iu/day	12.5	16.5	21.3	24.5	1.1	0.7
ACTH.	0.15u/day	10.0	15.0	15.0	16.0	0.6	4.7
Control	生理食塩水 0.1ml	17.0	24.0	24.0	32.5	0.7	3.7

図2 Test投与環境下に発育した腫瘍を次代のSwiss系白ネズミに移植し、これに種々なhormoneを投与した場合の腫瘍の発育 (第2回実験)



を行なった。移植後18日以降においては腫瘍中心部の壊死巣が増大する傾向をみとめたが、投与 hormone の種類による差異をみとめなかつた。さらに、図2に示される如く、対照の腫瘍増殖が依然として6種の hormone 投与群におけるよりも優位である (hormone 投与群ではいずれも種々の程度の増殖抑制効果をもとめる)。特異的な所見としては、Test. 群においては他の hormone 投与群に比べ i) の場合と同様最もよい増殖を示し、Est. 群においては、i) の場合と異なり、腫瘍増殖が最もよく抑制されている。これは、移植腫瘍の hormone independency の証明を企てた本実験の予測にやゝ反する成績であるので、つづいて Est. に拮抗的作用をもつ Prog. 環境下の腫瘍について吟味する必要をみとめた。

iii) (第3回実験の成績) 第2回実験において Prog. 環境下に発育した腫瘍をとり、次代の Swiss

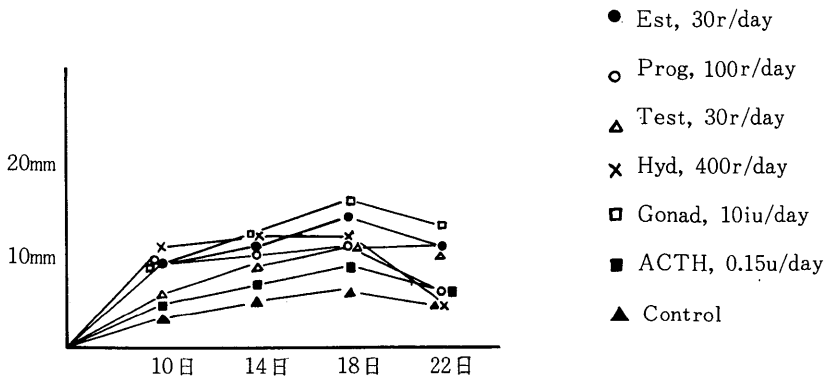
s 系白ネズミに移植し、第2回と同様6種の hormone を投与した。図3をみると第2回実験の場合よりも腫瘍増殖がさらに抑えられ、しかも、各 hormone 群間における増殖の差が小さくなっている。この場合、特異的な所見は対照群 (Prog. 環境下の腫瘍を次代 Swiss 系白ネズミに移植し生理食水を注射したもの) の腫瘍増殖がいつれの hormone 投与群におけるよりも抑制されていること、および、Est. 群と Test. 群とで腫瘍の増殖曲線が同様の状態を示していることである。すなわち、腫瘍の増殖はそれぞれの hormone によって影響を受けているとはみとめられないことが実証されている (表3、図3)。

一方性染色質出現率から核性をみると、全例が男性型を示しており、Prog. 群と Hyd. 群においてのみ、性染色質出現率が僅かに高いが、核性はやはり男性型に属する。すなわち、同じ核性の中での数値変動

表3 Prog 投与環境下に発育した(第2回実験)CCM 固型株乳癌を次代 Swiss 系白ネズミに移植した場合、種々な hormone を投与した時の腫瘍の発育 (第3回実験)

マウス群	移植後日数	10 (mm)	14 (mm)	18 (mm)	22 (mm)	Cutdown 重量 (g)	性染色質 %
Est.	30r/day	8.5	11.3	14.0	11.3	0.5	2.3
Prog.	100r/day	9.1	10.0	10.8	6.4	0.1	2.7
Test.	30r/day	6.0	8.5	10.8	11.0	0.9	0.2
Hyd.	400r/day	10.8	11.6	11.6	5.0	0.3	2.4
Gonad.	10iu/day	8.8	11.8	15.8	13.5	1.3	0.5
ACTH.	0.15u/day	4.8	6.5	9.3	7.2	0.2	1.7
Control	生理食塩水 0.1ml	3.3	4.6	6.0	4.5	0.1	0.9

図3. 第2回実験のProg投与環境下に発育した腫瘍を次代 Swiss系白ネズミに移植し、種々なる hormone を投与した場合の腫瘍の発育 (第3回実験)



- Est, 30r/day
- Prog, 100r/day
- ▲ Test, 30r/day
- × Hyd, 400r/day
- Gonad, 10iu/day
- ACTH, 0.15u/day
- ▲ Control

にとどまると解してよい(表4)。

第3回実験において発育した腫瘍を剔出したもののうち大きさ5mm前後、または、それ以下のもので、とくに、対照群、および、ACTH投与群のものは、腫瘍巢内外、とくに、周辺部の間質反応が著しくみとめられ、それは滲出性細胞反応、および、線維性反応ともに増強してみとめられた。この組織反応は、一部では腫瘍の増殖抑止力として働く宿主側の生体反応の一標識であるとの見解が支持されているが、なお、その本態のすべてが解明されていない。

3) Swiss系白ネズミの自然発生乳癌における観察成績

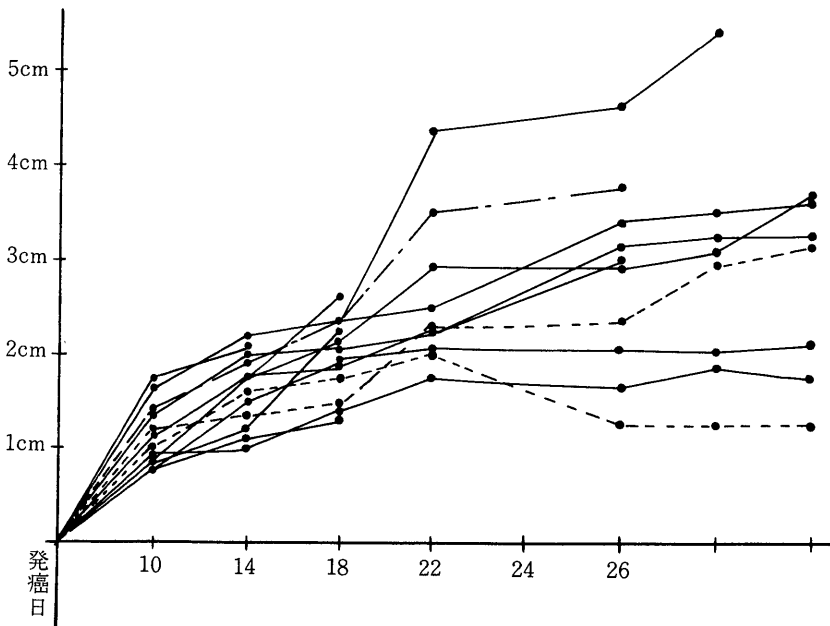
Swiss系白ネズミの自然発生乳癌をもとにして国立がんセンター研究所で継代移植によりつくられたCCM腫瘍の固型株について1)~2)の実験を行ない、同時に性染色質の計測を行なってきたのであるが、それらの組織型は一部腺腔形成、一部充実性胞巣構造を呈する上皮性腫瘍(腺癌)である。また、核の性染色質数を計測すると、1.8~3.0%(平均2.8%)で原田の規準によれば核性は男性型に属するものであった。その条件下で各種hormone投与下のSwiss系白ネズミへの移植実験を行なったわけであるが、比較参照の意味で著者自身、同系のSwiss系白ネズミを飼育し、その自然発生乳癌を観察した。57匹を飼育したが飼育開始後283日より乳腺腫瘍を発生する例をみるようになり、腫瘍発生までの日数が最長756日の例に

至るまで総数57匹中17匹に乳腺腫瘍が発生した。平均発癌日数は472日、発癌により一時的に体重減少がみられるが、これは癌発生、発育による影響とも考えられるが、体重減少は、白ネズミの一時的の食欲減退にもよる。しかし、7日~10日後には食欲は回復する。腫瘍の大きさと体重との間には関係はみられなかった。腫瘍発生後では図4の如き発育曲線を示し、腫瘍発生後22日に急速に大きくなっている。その組織型は上記CCM固型株腫瘍に較べると個体により多少の差はあるが概して腺腔形成が一層明瞭で核異型は軽度の調のものが多い。しかし、それらの腫瘍はいずれも悪性型で動物は結局腫瘍死するに至る。

核性は女性型40%(性染色質出現率11.7%)、中間型60%(性染色質出現率6.0%)である。従って、Swiss系白ネズミ自然発生乳癌は、本来女性型核性、中間型核性を有するものであるが、その継代移植中に核性に变化を来し、ひいてはその生物学的特性、すなわち、悪性度などに関しても、变化を招来し得るものであると考えられる。

4) dbaマウス自然発生乳癌の移植実験における種々なるhormoneの影響についての観察成績 dbaマウスの自然発生乳癌は、腫瘍片(3×1.5mm)の皮下移植法により、同系マウスには100%移植可能であった。このdba自然発生乳癌移植マウスに対して、移植第1日目より、15日目まで6種の

図4. Swiss系白ネズミにおける自然発生乳癌の生長曲線



hormone を注射投与したのである (図5, 表5).

i) 対照群 (生理食塩水0.1ml注射)

本群では移植した腫瘍が確実に触診し得るようになるには5~7日を要する. 15日目において腫瘍の大きさは9.0×18.0mmを示し, 平均重量は0.58g, 20日目において腫瘍の大きさ11.0×21.3mm, 性染色質出現

率は女性型83% (平均性染色質出現率13.0%), 中間型17% (平均性染色質出現率9.0%) であった.

ii) Est. 投与群

本群では皮下腫瘍の増殖は, 最初, 対照群のそれに較べ, やや抑制されるが投与中止後は腫瘍の発育促進が見られる. 性染色質の計測では女性型100% (平均性染色質出現率15.0%) である.

iii) Prog. 投与群

本群では対照群, Test. 群におけるとほぼ等しい腫瘍の増殖傾向を示すが, 投与中止後は腫瘍の発育促進の減退が見られた. 核性では女性型67% (平均性染色質出現率10.5%), 中間型33% (平均性染色質出現率9.0%) である.

iv) Test. 投与群

本群では対照群におけるとほぼ同程度の腫瘍増殖傾向を示す. 投与中止後は腫瘍の発育促進減退がみられた. 核性では女性型80% (平均性染色質出現率11.8%), 中間型は20% (平均性染色質出現率8.0%) である.

v) Hyd. 投与群

本群では腫瘍の増殖は他群のそれに較べてかなり抑制され, 対照群におけるその概ね1/3である. 核性では女性型の50% (平均性染色質出現率12.0%) 中間型50% (平均性染色質出現率8.5%) である.

vi) Gonad. 投与群

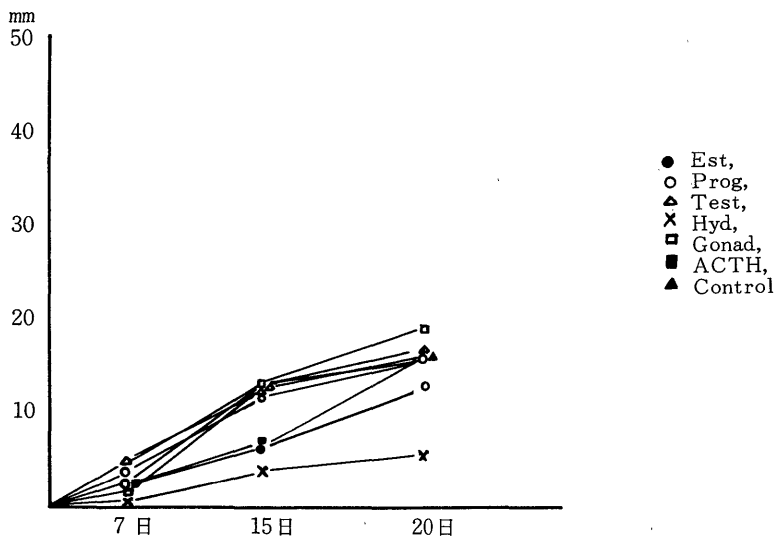
本群では, 腫瘍の発育は移植後15日目迄は対照群に

表5 dba マウスの自然発生癌の移植実験において, 種々な hormone を投与した場合の移植腫瘍の型

() 性染色質出現率

核性% hormone	男性型	中性型	女性型
Est. 30r/day	0	0	100 (15.0)
Prog. 100r/day	0	33 (9.0)	67 (10.5)
Test. 30r/day	0	20 (8.0)	80 (11.8)
Hyd. 400r/day	0	50 (7.5)	50 (12.0)
Gonad. 10iu/day	0	50 (8.5)	50 (10.5)
ACTH. 0.15u/day	0	33 (6.0)	67 (13.0)
Control. 0.1ml	0	17 (9.0)	83 (13.0)

図5. dbaマウス自然発生癌の移植実験において種々なる hormone を投与した場合の腫瘍の発育



おけるそれに較べて変らないか、移植後20日目では、対照群における発育を上まわる増殖（促進）を示した。核性では、女性型50%（平均性染色質出現率10.5%）、中間型50%（平均性染色質出現率7.5%）である。

vii) ACTH 投与群

本群では、腫瘍の増殖は、移植後15日目までは Hyd. 群におけるそれと同程度に強く抑制されているが、移植後20日目では、対照群における発育と変らない増殖を示す。核性では女性型67%（平均性染色質出現率13.0%）、中間型33%（平均性染色質出現率6.0%）であった。

dba マウスも Swiss 系白ネズミ自然発生乳癌と同様の核性を示して、男性型は全例にみあたらない。

5) 実験的研究成績の小结

実験的乳癌における内分泌的影響の研究は種々報告されているが、それらの性染色質（核性）の検索にまで論及して hormone dependency をしらべた研究は少ない。著者はこの分野に関する実験で知見を得たいと考え、Swiss 系白ネズミに種々の hormone 投与環境をつくり、それに同系に樹立された可移植性乳癌 CCM 固型株腫瘍の移植を継代して行ない、この腫瘍増殖の特異な点を追究し、あわせて核染色質の計測によってもそれらの特徴を裏付けた。

すなわち、CCM 固型腫瘍を Swiss 系白ネズミ皮下に移植すると同時に、Est., Prog., Test., Hyd., Gonad., および ACTH の6種の hormone を連日21日間被移植ネズミの皮下に投与する。

その結果では、ここに述べた6種の hormone はいずれも一応 CCM 固型株腫瘍の増殖に対し種々の程度に抑制的に作用するのがみとめられた（第1回実験）。しかし、この成績では、各種の hormone の非特異的な作用ともみられ、性 hormone 依存の特異性を主張することがむずかしい。そこで本来女性型である公算の大きい乳癌細胞に抑制的作用をおよぼすと推察される Test. 投与環境下に増殖した腫瘍をとり、再度次代 Swiss 系白ネズミ皮下に移植して、上述6種 hormone を再投与した（第2回実験）。すると、この場合にも、6種の hormone のいずれもが同じく抑制効果を示し、なかでも、Est. が最も強く抑制効果を示し（投与22日目で他の hormone に比べ2倍の抑制効果）、恰も CCM 固型株腫瘍が hormone 依存性であるかの如き成績を示したのである。この現象は、一方で平行して行なっている核性染色質の計測の成績と一致しないので、著者はさらに第2回実験群のうちより、とくに Prog. 投与環境下に発育した腫瘍細胞をとり、次代 Swiss 系白ネズ

ミに、再々移植下に、3たび各種 hormone 投与をくりかえした（第3回実験）。その結果、移植腫瘍の増殖は投与 hormone のいずれもの影響を被らない増殖態度を示すことが明らかとなり、結論的に CCM 固型株の継代移植腫瘍は hormone independent tumor であることが移植実験的に裏付けられた。これは、さきにも触れたように、移植実験に平行して、各時点で行なった腫瘍細胞の性染色質計測による核性決定の上からも、男性型（hormone independent）であることが確定されており、両検索成績の一致をみたわけである。

なお、Swiss 系白ネズミの自然発生乳癌は、本来、男性型腫瘍であるか否かについて吟味する意味で、著者が別個に、最長700日以上飼育観察した同系白ネズミに自然発生した乳癌の性染色質を計測した結果では、女性型40%、中間型60%であって、男性型の核性ものは含まれなかった。すなわち Swiss 系白ネズミの自然発生乳癌は、本来の核性女性型のものであるが、CCM 固型株腫瘍(乳癌)においては、継代の結果、核性の変化 (transformation) を来し男性型になったものであることが推察されるのである。

次に、dba マウス自然発生乳癌は、腫瘍片(3×1.5 mm)の皮下移植法により、継代移植可能(移植率100%)である。そこで各種 hormone すなわち、Est., Prog., Test., Hyd., Gonad., ACTH 投与の各群および対照の7群にわけた dba マウスの各群に、自然発生乳癌継代3代目腫瘍を移植し、腫瘍増殖態度および、核性を検討して次の結果を得た。

腫瘍増殖態度：対照群を上まわる著明な増殖を示すものは Gonad. 群であり、他の Test. 群、ACTH 群、Prog. 群は、いずれも対照群を下まわる増殖態度を示した。さらに強く増殖抑制されるものは、Est. 群である。また、増殖抑制がもっとも強いのは、Hyd. 群であった。しかし、Est. 群では hormone 投与を中止すると、腫瘍の発育促進がみられ、Prog. 群、および Test. 群では hormone 投与期間中、腫瘍の発育は促進され、投与中止後、発育促進の減退がみられる。従ってこれらのことから、著者の用いた dba マウス自然発生乳癌は hormone dependent tumor とみなされる。

dba 自然発生乳癌の核性：一方、腫瘍の核性を計測すると、女性型が72.4%、中間型が27.6%であった。なお、上記の各 hormone 投与群別にみると、Est. 群の腫瘍の核性は全例女性型であり、Hyd. 群、Gonad. 群の腫瘍では、女性型、中間型がそれぞれ50%であった。いずれの投与群にも男性型は1例もみら

れなかった。すなわち、核性の上から見ても dba マウス自然発生乳癌は hormone dependent tumor とみなされるものであって、その特徴は前述の各種(性) hormone 環境下での増殖態度に示され、hormone independent の特色を有する Swiss 系白ネズミ CCM 固型株の継代移植の腫瘍の場合とは明らかに異なる性格を有することを知った。

2. 乳癌手術患者における臨床検査成績

第一外科教室乳癌患者について estrogen, 17-K. S, 17-OHCS の各1日排泄量、および、血清 hydrocortisone の level を測定し、当該患者の生体 hormone 環境を生化学的に確認し得た症例12例を対象とした。その切除腫瘍の性染色質出現率(核性)と、臨床経過(予後)との比較検討を試みた(表6)。

核性は12例中9例(75%)が女性型、1例(8%)が中間型、2例(17%)が男性型であった。なお詳細にみると、それらの中閉経前の6例の患者にみられた乳癌の核性はすべて女性型、閉経後患者6例中では女性型3例、中間型1例、男性型2例であった。尿および血清中 hormone level の測定によって hormone 依存性が窺がえる7例(症例2, 3, 5, 7, 9, 11, 12)では腫瘍の核性はすべて女性型を示し、依存性が低いとみなされる5例(症例1, 4, 6, 8, 10)では核性の女性型は2例にとどまり、中間型1例、および、男性型2例をかぞえた。さらに予後の点からみると女性型の核性を示した9例では、3例が5年~10年の長期生存を示し、2例が2年以内に死亡している。これに対し、男性型、および、中間型核性を示

表6 乳癌患者の各種 hormone 測定値および性染色質出現率

患者名	年齢・月経	hormone 測定成績 (術前)					組織型	性染色質出現率(%)	予後	その他
		Estrogen r/day	17-KS mg/day	Est / KS	17OHCS mg/day	血漿 Hydrscort r/dl				
1 浜 ○	43 閉		8.0		1.8		硬癌	♀ 12	㊦ 5年1月	卵巣副腎別
2 ○ 木	40 閉	18.3	9.1	2.0	4.3		髓様腺管癌	♀ 18	㊦ 1年3月	X線 Au ¹⁹⁸ 局注
3 寺 ○	32 順	16.3	3.4	4.8	2.1	13.2	髓様腺管癌	♀ 23	—	—
4 ○ 中	53 閉	10.3	5.9	1.7	4.3	10.1	髓様腺管癌	♂ 9	㊦ 3年1月	X線 Au ⁹⁸ 局注
5 坂 ○	39 順	14.3	5.2	2.8	4.4	10.9	硬癌	♀ 16	㊦ 9年	X線
6 ○ 井	27 順	13.1	7.0	1.9	7.3	9.8	髓様腺管癌	♀ 21	㊦ 5月	X線
7 大 ○	54 閉	12.0	3.6	3.3	3.4	16.2	粘液癌	♀ 14	㊦ 2年8月	術後肝炎死
9 橋 ○	60 閉	6.4	4.0	1.6	2.0	12.8	硬癌	♂ 3♂	㊦ 1年3月	
10 天 ○	46 閉	19.7	5.2	3.2	5.1	13.2	乳頭腺管癌	♀ 20	㊦ 10年	副腎別
11 ○ 田	52 閉	6.9	4.3	1.6	4.1	10.8	硬癌	♂ 5	㊦ 2年	副腎別
12 兵 ○	37 順	14.1	6.3	2.2	6.6	14.6	髓様腺管癌	♀ 19	㊦ 2年7月	副腎別
13 ○ 城	47 順	16.6	5.6	3.1	5.7	8.6	硬癌	♀ 21 16	㊦ 10年	副腎別

hormone 測定は教室河合による。

す3例では、3年生1例をみるのみで他の2例はいずれも2年以内に死亡している。すなわち、尿中性 hormone level よりみた hormone 依存性、あるいは、女性型核性は、腫瘍の予後と正の相関を示すことができる(表6)。

小括

乳癌の hormone 依存性については既に幾多の検索、立証が行なわれ、治療面への応用についても幾多の試みがなされている。

そこで、まず対象乳癌患者の hormone 依存性の存否を確定しなければならない。その方法として生化学的に直接血液、尿中の性 hormone level を測る方法がある。また、Hienz & Ehlers⁵⁾は腫瘍の性染色質の計測によって乳癌患者の hormone 依存性の決定に大きい手がかりを得ることができたと述べている。著者は、教室乳癌症例中より尿、血清中性 hormone level の測定が行なわれたものについてさらに性染色質計測をあわせ行ない核性の女性型、男性型、および中間型をきめた。それらの結果を治療成績と比較すると、核性、および、生化学的性 hormone 計測値の両面から女性型で、かつ、hormone dependent とみなされる症例は、著者らの行なった hormone 療法にもよく反応し、予後の点でも hormone independent(男性型)の group よりも優位にあることがわかった。

考 按

性染色質は1949年 Barr¹⁾によって神経細胞に発見されて以来、中性多核白血球(Davison & Smith)¹⁷⁾、口腔内粘膜上皮細胞の塗抹標本中などにもみとめられ、遺伝学上の性の決定に重要であるばかりでなく、腫瘍組織などの性の判定、ひいては、その予後、治療上の問題との関連についてまで論じられるようになった。

とくに、内分泌に密接な関係を持つであろうと推測される第2次性器(乳腺、前立腺)の疾患では、その内分泌的治療に対する指標として、この性染色質による腫瘍の性決定は重要な意義を有すると考えられるようになった。しかし、個々の組織細胞核内の性染色質の陽性、陰性の判定には、かなりの熟練と技術とを必要とし、判定の困難な場合も寡くない。Barr & Moore⁶⁾によると、正常の男性の性染色質出現率は2~21%、女性のそれは67~82%、Graf⁴⁾によると、男性0~4%、女性13~39%、恩田⁹⁾、原田¹⁰⁾によると、男性3%、女性28%とされている。その値に著るしい変動があるのは、Hienz⁵⁾によると不可避の誤認範囲があ

り、核の大きさと組織切片の厚さとの関連、および、核内に染色性を有する他の染色質があつて混同されるためであるという。そこで、著者は誤認範囲をせばめるために核小体の存在を計数上の必要条件とし、核膜に接着した平凸の性染色質のみを算定した。また、核内の染色性を有する他の染色質を除くため5N塩酸に浸析した。また、切片の厚さとして、Blumel¹⁸⁾は3~5 μ 、Graf⁴⁾は5 μ 、Barr¹⁾は5~10 μ を用いている。切片が厚くなると細胞が互に重なりあつて性染色質の判定が困難となる。著者は5 μ の厚さの切片を用いた。

動物実験は Swiss 系白ネズミに国立がんセンター研究所で樹立された同系の可移植性乳癌(CCM固型株)を使用し、hormone independency を解明するために移植腫瘍の核性を計測したところ、男性型であつた。

hormone としては、estrogen, testosterone, progesterone の3者に重点をおいた。それは hormone dependent tumor は estrogen dependent tumor で代表されるのでそれに拮抗的な hormone として testosterone, progesterone を使用したのである。第1回の実験では、用いられた CCM 固型株継代移植腫瘍の核性は男性型性(染色質出現率2.8%)である。この場合 Est. 投与群と Test. 投与群とにおいては同様腫瘍増殖態様を示し、対照群におけるよりも増殖が抑制されている。従つて、この移植腫瘍が hormone dependent である可能性は少ない。第2回実験では、Test. 投与環境下に発育した腫瘍を、次代の Swiss 系白ネズミに6種の hormone 環境下に再移植した。これは一定期間ある環境下に腫瘍をおく時、腫瘍と hormone との関連の推移をみるためである。この場合、対照群においては、腫瘍の増殖がさかんであつて、第1回実験においておかれた

Test. 環境の影響は殆どないものとみなされる。また第1回実験において付加された Test. 環境の影響に打克つ量の Est. が投与された(第2回実験の) Est. 群においては腫瘍の増殖が抑制されている。従つて、短期間設定された hormone 環境の影響は殆どないとみなしてよいようである。しかし、第2回実験における腫瘍増殖は全体として緩徐であり、この点から一見 estrogen dependent tumor のように見えるが、核性はすべて男性型であるという一致しないところがある。そこで、第3回実験では、Est. とは拮抗作用を持つ Prog. 投与環境下に発育した(第2回実験) CCM 固型株腫瘍を次代の Swiss 系白ネズミに移植して、さらに、6種の hormone を投与した。この場合、腫瘍の増殖は第2回実験の場合に比べ

一層緩徐であって、各種 hormone 投与群間の増殖の差異が小さい。Est. 群における増殖は、Test. 群におけるそれを上まわり、投与 3 週間では、Est. 群、Test. 群、Gonad. 群における腫瘍増殖が優位を示した。核性はすべて男性型を示した。以上の所見から、この腫瘍は、hormone の影響を殆どうけないものといえる。すなわち、この腫瘍は hormone independent である。

教室の河合¹¹⁾は、dba マウスの実験において、その自然発生乳癌が hormone 依存性であることを報告している。著者は dba マウスの自然発生乳癌を作成し、同系のマウスに移植し、これに 6 種の hormone 環境を付与して、増殖態様を観察し、性染色質の出現率を計測した。dba マウスの自然発生乳癌では、性染色質出現率からみての核性が、女性型 72.4%、中間型 27.6% であって、男性型はみられない。また、hormone 環境下の移植腫瘍の増殖態様からみても本腫瘍は hormone dependent tumor である。

一方、著者は Swiss 系白ネズミの自然発生乳癌を観察したが、自然発生率は 27% であって、発生までに要する日数は平均 472 日である。その腫瘍の核性は、女性型 40%、中間型 60% であって、男性型はみられない。従って、Swiss 系白ネズミにおける乳癌腫瘍の核性は本来女性型であって、CCM 固型株継代移植腫瘍(乳癌)の核性が男性型であるのは、継代によって核性の transformation を来した結果であるといえることができる。

教室における 12 例の乳癌患者の腫瘍の核性、尿および血清の hormone level、および、内分泌治療の効果とその予後についてみると、まず、核性では女性型 75%、中間型 8%、男性型 17% である。さらにそれらの患者の尿中の Est./KS 比の相関をみるに、核性女性型では Est./KS 1.9~4.8、男性型では 1.6 となり hormone dependency の評価上よく適合している。

内分泌治療として、卵巣切除および、副腎切除術などが行われ、女性型では 9 例中 3 例が術後 5 年~10 年の生存を得ており、男性型、中間型では 1 例の 3 年生存を得ているのみで、後者において成績不良である。

Hienz & Ehlers⁵⁾ Kimel³⁾は性染色質の計測が乳癌患者の hormone 依存性の決定に重要であることを指摘して以来、Wanke, Graf & Marzoli¹⁹⁾ Regel, Wagacs, Blümel & Turcic Verderber, Wasl, Kaufmann & Regel²¹⁾ 恩田⁹⁾ 原田¹⁰⁾らによって乳癌の性染色質出現率について多くの報告がされている。この間の消息については、なお不明の点が多いが、

Graf⁴⁾ は hormone 依存性の乳癌、および、前立腺の腫瘍は、hormone 非依存性の臓器の腫瘍より宿主の性と反対の性染色質出現率を示すことが多いとしている。教室の床例は核性が男性型で、術前の尿 hormone 測定によって Est./KS 比の低い患者に外科的内分泌変換療法を行った場合、効果がなく、予後不良であった。それに反し、核性が女性型の乳癌患者に内分泌変換療法を行った場合 9 例中 8 例に自覚的改善をみとめている。

Kenedy²²⁾ は androgen 療法によって 13.6% estrogen 療法によって 45.5%、androgen+estrogen 治療によって 40.9% の患者に自覚的改善をみとめている。Wermer²³⁾ によると estrogen は閉経期後の患者に有効であり、閉経期前および閉経期の患者には無効であり、閉経期前患者には androgen が有効であるとしている。

Pearson²¹⁾ は乳癌においては estrogen dependency と estrogen independency とがあるとの考えを述べている。Kennedy²³⁾ は再発乳癌患者には卵巣切除術を行い、Dao²⁶⁾ は乳癌患者に対する卵巣切除術、および、副腎切除術の有効性を報告している。さらに、Wanke,⁷⁾ Jessiman,²³⁾ Luft²³⁾ は乳癌患者に脳下垂体の切除を行って 40~65% の有効性をみとめている。しかし、これらの hormone 療法を施行するにあたり hormone 依存性か非依存性かについては検索されていない。これらの治療的確に行うためには hormone 依存性の有無、およびその依存性が如何なる hormone に対してであるかを知ることが必要である。Kimel³⁾ は性染色質出現率の高いもの、すなわち、核性が女性型の場合の乳癌は estrogen 依存性があり、組織分化度の高い乳癌では性染色質の出現率が高いと述べている。

Hienz, Ehlers⁵⁾ によると、核性女性型の乳癌に根治手術後、卵巣切除、男性 hormone 療法を行ったところ予後は良いとし、核性男性型の乳癌は予後が悪いとしている。Regel²⁰⁾ Glässer²¹⁾ は乳癌に対して卵巣切除、副腎切除などの hormone 療法を行ったが、男性型乳癌では予後が悪く女性型乳癌では予後はやや良いとしている。当教室の例では核性が男性型、中間型の乳癌 3 例のうち 3 年生存は 1 例のみである。女性型乳癌の 9 例中 3 例が術後 5 年~10 年生存している。

これらのことは乳癌には hormone 依存性のものと非依存性のものとがあり、性染色質の核性に密接な関係をもつことを示している。しかし、それらの事項について不明の点が少なくない。

結 語

乳癌の hormone 依存性の問題を追求するため、実験的並びに臨床上的の両面から検索を行なった。実験的には、Swiss 系白ネズミ (random bred) に樹立された可移植性乳癌 (CCM 固型株腫瘍で、国立がんセンター研究所より譲与されたもの) を用い、同系白ネズミに継代移植しつつ、同時に被移植動物に6種の hormone (estrogen, progesterone, testosterone, hydrocortisone, gonadotropin, および, ACTH) 投与を行ない、腫瘍の増殖態様、および、腫瘍の性染色質 (sex chromatin) を検索した。また dba マウスに自然発生乳癌を作成して、その性染色質を計測し、hormone 依存性について検索した。臨床的には、乳癌患者に内分泌的治療を施した例をとり上げ、腫瘍細胞の性染色質を計測し、hormone 依存性を考慮して治療成績との関連について検討した。

次のような知見をあげた。

1) Swiss 系白ネズミに継代移植された CCM 固型株腫瘍乳癌の性染色質の計測による核性の決定により、本腫瘍は、34代以降継代株では、男性型100%の核性を有し、hormone independent の腫瘍とみなすことができる。

2) Swiss 系白ネズミと可移植性乳癌 CCM 固型株腫瘍の組み合わせにおいて、本腫瘍の増殖に及ぼす estrogen, progesterone, testosterone, hydrocortisone, gonadotropin, および、ACTH の影響をみると、本腫瘍が hormone independent 腫瘍であり、3回の hormone 負荷環境下移植において、結論的には、上述6種のいずれの hormone の影響をも受けない増殖態度を示すことが明らかにされた。

3) Swiss 系白ネズミにおける自然発生乳癌を作成し、その性染色質を計測して、核性をみると、女性型、中間型であって、男性型はみられない。Swiss 系白ネズミの自然発生乳癌は、本来、女性型の核性をもつものであって、CCM 固型株継代移植腫瘍においては、継代の結果核性の変化 (transformation) を来し、男性型となったものとみなされる。

4) dba マウスの自然発生乳癌を作成して、その性染色質を計測すると、同腫瘍の核性は大多数において女性型を示し、一部において中間型を示す。男性型はみられない。本腫瘍は hormone 依存性であるとみなされる。dba マウス自然発生癌と同系マウスの移植の組み合わせにおいて、上述6種の hormone 投与環境下における移植腫瘍の増殖態様を観察した。それによると、estrogen 投与群においては horm-

one 投与期間中は、腫瘍の発育は抑制的であるが、投与中止后には、腫瘍の発育促進がみられ、その hormone 依存性が明示された。progesterone, testosterone の投与は腫瘍増殖に促進的影響を及ぼし、この腫瘍はこれら hormone に対しても依存性であることが示されている。また、この現象は、estrogen と progesterone, testosterone との hormone 的拮抗作用を裏付ける知見でもある。

5) ヒト乳癌細胞の核性と乳癌患者臨床例における hormone 依存性との関連を追究した。金沢大学医学部第一外科入院乳癌患者中、尿、および、血清中性 hormone level 測定によって hormone 依存性に関する評価の行われた12例について、さらに腫瘍の性染色質計測を行なうと、核性の上では12例中9例 (75%) が女性型、1例 (8%) が中間型、2例 (17%) が男性型であることをたしかめた。この12例については、乳癌根治手術、あるいは、外科的内分泌転換療法が行なわれた。その術后成績の追究により、女性型の核性を示した9例では3例が5年以上10年の長期生存を示し、2年以内死亡は2例にとどまった。男性型、および、中間型の核性を示した3例では、2例が2年以内に死亡し、1例のみが3年生存という成績であった。すなわち、乳癌組織の核性からみると、男性型、すなわち hormone independent の乳癌症例に予後の悪いものが多いという成績を得た。

6) 以上、実験的、並びに、臨床上的知見によれば、乳癌細胞の悪性度と性染色質出現率 (核性) との間には負の相関性があるとみなされる。従って、乳癌患者の治療にあたり、癌組織の性染色質出現率を測定することは、その予後のある程度予測出来ると同時に hormone 依存性を推定して、適切な内分泌療法の指標を提供する有力な手がかりとなりうると考える。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導と御鞭達を賜り、且つ御校閲を忝うした恩師卜部美代志教授に対し、衷心より感謝の意を捧げると共に、御協力、御援助下さいました山本恵一講師並びに金沢大学医学部第1外科教室員各位の御厚意に対し、深く感謝致します。

文 献

- 1) Barr, M. L. & Bertram, E. G. : Nature 163, 676 (1947).
- 2) Tavares, A. s. : Lancet, 1, 948 (1955).
- 3) Myers, L. M. : J. Path. Bact., 78, 29, (1959).
- 4) Graf, R. und Mazoli, G. P. : Bruns Beitr. Klin. Chir., 202, 242 (1961).

5) Hienz, H. A. und Ehlers, P. N. : Klin. Wochensch. 35, 985, (1957).
 6) Barr, M. L. Moore, K. L. : Canad. Cancer Conf. 2, 3, (1957).
 7) Badger, G. M., Elson, L. A., Haddow, & A. Hewett, C. L., & Robinson, A. M. : Proc. R. Soc. London, S. [Biol] 130, 255 (1942).
 8) Kimel, V. M. : Cancer, 10, 922 (1957).
 9) 恩田英明 : 日外会誌, 66, 904 (1965).
 10) 原田 昇 : 長崎医誌, 43, 932 (1968).
 11) 河合 勝 : 十全医誌, 67, 271 (1961).
 12) 広瀬竜夫 : 十全医誌, 68, 431 (1962).
 13) 浅野 繁 : 内分泌, 2, 455 (1955).
 14) Holtorff, A. F. & Koch, F. C. : J. Biol. Chem., 135, 377 (1970).
 15) 鳥居敏雄・佐々木智也・間 得之・吉村 隆・森永武志・吉沢久嘉・背尾林二郎・今村哲夫 : 内分泌のつどい, 7, 177, 協同医書出版, 東京, 1955.
 16) 竹田亮祐 : Endocrinol. Japon., 3, 73 (1956).
 17) Davidson, W. M. & Smith, D. R. : Br. Med. J. 2, 6 (1954).
 18) Blümel, G., Turcic, G., Regele, H. & Vagacs, H. : Wien. klin. Wschr., 75, 41 (1963).
 19) Wanke, R., Graf, R. & Marzoli-kiel, G. P. : Langenbecks Arch. klin. Chir., 295, 96 (1960).
 20) Regele, H., Vagacs, H. Blümel, G. & Turcic, G. : Wien. Klin. Wschr., 73, 649, (1961).
 21) Verderber, W., Wasl, H., Kaufmann, F. & Regele, H. : Langenbecks Arch. klin. Chir., 313, 406 (1965).
 22) Kennedy, B. J. Brown, J. M. : Cancer, 18, 431 (1965).
 23) Wermer, P. L. : J. A. M. A., 146, 471 (1951).
 24) Olof H. Pearson, M. D., Cleveland, obis, and Bronson S. Ray, M. d., : Am. J. Surg. 99, 544 (1960).
 25) Kennedy, B. J. & Foriuny, I. E. : Cancer, 17, 1197 (1961).
 26) Dao, T. L. and Huggins, C. : J. A. M. A., 165, 1793 (1952).
 27) Wanke, R. & Kricke, E. : Med. Klin. 56, 534 (1961).

28) Jessiman, A. G. : Ann. R. Coll. Surg. Engl., 24, 213 (1958).
 29) Luft, R. & Olivecrona, H. : Schweiz. Med. Wschr., 86, 113 (1956).
 30) Regele, H. : Chirug., 35, 316 (1964).
 31) Gläser, A. und Reding, R. : Bruns' Beitr. Klin. Chir. 209, 326 (1964).

写真1 Swiss 系白ネズミに CCM 固型株乳癌を移植, 発育した腫瘍.

写真2 Test. 投与環境下(第1回実験)に発育した CCM 固型株乳癌を次代の Swiss 系白ネズミに移植し, 種々な hormone を投与した第2回実験時の腫瘍の発育.

1) 左上: Est, 右上: Gonad.
 左下: Prog. 右下: Test.

2) 左から対照, ACTH., Hyd.

写真3 CCM 腫瘍固型株(国立がんセンター研究部で Swiss 系白ネズミに樹立された可移植乳癌34代目). H-E×150

写真4 写真3の強拡大. 一部に腺腔形成をみるが大部分は充実性上皮性腫瘍. 核分裂像が豊富. H-E×150

写真5 写真3の細胞核強拡大像. 視野中に1個の性染色質(↑印)を認める. Feulgen染色×1,000

写真6 Prog. 投与下に発育した CCM 腫瘍を, Swiss 系白ネズミ皮下に再投与(第3回実験)移植后22日目の腫瘍. H-E×50

写真7 写真6の周辺部強拡大. 腫瘍巣周辺には渗出性細胞反応が著しい. H-E×150

写真8 同じく写真6の腫瘍巣中心部. 腫瘍細胞の崩壊変性が著しく, pseudoxanthom cellで置換. H-E×150

写真9 dba マウスの自然発生乳癌移植后15日目の腫瘍. 視野中に6個の性染色質(↑印)をみとめる. H-E×1,000

写真10 Swiss 系白ネズミの自然発生乳癌(原発巣). 腺腔形成が著明. H-E×50

写真11 写真10の強拡大. 視野中に4個の性染色質をみとめる(↑印). Feulgen染色×1,000

写真12 症例6 ○井 27才♀ 右乳癌. 髄様腺管癌巣. 視野に性染色質(↑印)10個をみとめる.

Abstract

The author has conducted a research as to hormone dependency of mammary cancer in both experimental and clinical aspects.

Experimentally, transplantable mammary cancer, the CCM solid tumor which originated in a Swiss albino mouse, was successively transplanted into isologous animals, where an individual administration of 6 hormones (estrogen, progesteron, testosterone, hydrocortisone, gonadotropin and ACTH) was done for the following chromation. The growth of the transplanted tumor was observed and sex 21 days. of the tumor cell was analysed. Secondly, as to the spontaneous mammary cancer produced in a dba mouse, its hormone dependency was examined counting sex chromatin of the tumor cell.

Clinically, the author picked up patients of primary and recurrent breast cancers who recieved endocrinological treatment. Sex chromatin of their tumors was analysed and a close examination was done about the relation of hormone dependency to the result of hormone therapy.

The follwing results were obtained :

1) CCM solid mammary cancers successively transplanted in Swiss albino mice proved to have absolutely male nuclear sex on analyzing sex chromatin of the tumor cells. And they were regarded as hormone-depeqdent tumors.

2) When the CCM solid tumor transplanted into a Swiss albino mouse was placed in an environment with a hormonal load 3 times, as freguent, supplying any of the 6 hormones, estrogen, progesteron, testosterone, hydrocortisone, gonadotropin or ACTH, the tumor had no influence from any of the hormones, because it was hormone-independent tumor.

3) Analysing sex chromatin of the sponianeous mammary cancer developed in a Swiss albino mouse, nuclear sex of this tumor was found to be of female type and intermediate type and not of male type. The spontaneous mammary cancer of the Swiss albino mouse was essentially the one of female nuclear sex. In the CCM solid tumor, nuclear sex was transformed to male type by successive transplantation.

4) Analysing sex chromatin of the spontaneous mammary cancer developed in the dba mouse, nuclear sex of this tumor was noticed to be mostly of female type, partly of intermediate type and not of male type. So that it was a hormonexdependent tumor. When the spontaneous mammary cancer of the alba mouse was transplanted into theisologous animals which were treated with an administration of the 6 hormones for the following 15 days, the growth of the tumor was observed. And the tumor was confirmed to be dependent on estrogen, progesteron as well as testosterone.

5) As to 12 cases of the breast cancer patients whose hormonal level of serum and urine was as high as that the tumor assumed hormone-dependent, sex chromatin of the tumors cell was counted. It was confirmed that a cases had female nuclear sex, one case had intermediate and 2 cases had male. Twelve patients underwent radical surgery and hormone converting operation. The patients with tumor of female nuclear sex had a desirable result of long-term survival, while the patients with the tumor of male nuclear sex, being hormone-indemendent, had an unlucky prognosis.

