



Title	Diethylstilbestrol慢性刺激によるエストロゲンレセプターの変動とマウス睪丸間質細胞腫発生との関係
Author(s)	寺川, 直樹
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33478
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏名・(本籍)	寺 ^{てら} 川 ^{かわ} 直 ^{なお} 樹 ^き
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5882 号
学位授与の日付	昭和 58 年 1 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	Diethylstilbestrol 慢性刺激によるエストロゲンレセプターの変動とマウス睾丸間質細胞腫発生との関係
論文審査委員	(主査) 教授 倉智 敬一
	(副査) 教授 松本 圭史 教授 園田 孝夫

論文内容の要旨

〔目 的〕

マウスにエストロゲンを長期間持続投与すると、ある系では睾丸に間質細胞腫が発生するが、別の系では発生しないことが知られており、またマウス睾丸間質細胞はエストロゲンの標的組織であることもすでに明らかにされている。そこでエストロゲンに感受性を有し、最終的に睾丸間質細胞腫を形成するBALB/c系とエストロゲンに抵抗性を示し間質細胞腫を形成しないC₃H系マウス間において、間質細胞のエストロゲンレセプター (ER) システムに差異が認められるかどうかについて検討するとともに、ホルモン依存性癌の発生機構に検討を加えようと試みた。

〔方法ならびに成績〕

エストロゲンの慢性投与は、生後 6 週の雄マウスの皮下に 10% の diethylstilbestrol (DES) を含む 10mg の cholesterol ペレットを移植することにより行なった。各実験群は 8 個の睾丸を材料とし、間質細胞は Dufau らの方法に準じ collagenase digestion method によって採取した。この方法により、8 個の睾丸から得られた細胞数は約 $3.5-4.5 \times 10^7$ 個であり、90% 以上が viable であること、全細胞数の 30—40% が間質細胞よりなることを 3β -hydroxy steroid dehydrogenase 活性の測定により確認した。間質細胞作製後の実験操作はすべて 4℃ でおこなった。細胞を 1.0ml の TE (0.01 M Tris, 1.5m EDTA, pH 7.4) buffer でホモゲナイズしたのち核分画と細胞質分画を採取した。核は TE buffer にて洗浄した後に、細胞質は 0.2ml の 5 % charcoal- 0.05 % dextran と 15 分間 incubate したのちに ER の測定に供した。なお ER の測定は 15nM [³H]-estradiol-17 β [E₂] を用いた exchange assay によりおこなったが、細胞質は 20℃ で 1 時間 incubate したのち Sephadex G-25 カラムにより、

核は37℃で30分間 incubate し、0.25% Triton X-100にて懸濁したのち TE buffer で洗浄後ERを分離した。そのほか5—20%蔗糖密度勾配法およびKCl抽出法を用いてERの性状を検討した。

① 初めにBALB/cとC₃Hマウス間でDESのとり込みに差異があるかどうかを知るため、30μCiの [³H]-DESを含む5μg DESをゴマ油に溶かし7日間連日皮下に注射したのち、 辜丸を 0.28 M sucrose, TE bufferでホモゲナイズしてDES含量を測定した。両者ともDES含量は29 fmole/mg 辜丸組織であり、DESのとり込みに全く差異がなかった。また両者とも得られた total radioactivity のうちの約60%が代謝されずにDESとして存在することを thin layer chromatographyを用いて確認した。

② 次いで無処置の両系マウスより得られた間質細胞を使って Scatchard 分析をおこなうと、最大結合部位数はBALB/cの方がC₃Hより大きかったが、解離定数は細胞質分画、核分画とも4.0—4.6 nMであり、ほぼ同程度の親和性を示した。なお細胞質ERのステロイド特異性の検討では、両者ともE₂とDESのみに結合を示し、progesterone, testosterone, cortisolとの結合はみられなかった。

③ 無処置時の細胞質ER（以後ER値は10⁷間質細胞数当たりで表わす）はBALB/c 201.7±15.5, C₃H 164.3±12.0 fmole, 核ERはBALB/c 29.8±2.5, C₃H 17.3±1.0 fmoleであるが、DESペレットにより慢性刺激をおこなうと1—2週後には両者の細胞質ER（BALB/c 302.7±25.6, C₃H 250.0±25.2 fmole）ならびに核ER（BALB/c 69.5±14.6, C₃H 30.8±8.6 fmole）はともに無処置時に比して有意な（P<0.05）増加を示した。しかしながらBALB/cの核ERの上昇はC₃Hの上昇に比べると有意に（P<0.01）大きかった。C₃HマウスではDESペレット移植後10週に至るまで両分画ERの有意な増加はなく、ほぼこの値を維持した。一方、BALB/cマウスでは前癌状態ともいふべき間質細胞の過形成が認められたDESペレット移植後10週まで、細胞質ERと核ERはともに反応性の増加を示し、細胞質ERは460.0±55.3, 核ERは157.7±18.3 fmoleに達した。

④ 5—20%蔗糖密度勾配法をおこなうと、DESによる刺激の有無にかかわらず、またペレット移植後のどの時期においても、両者とも細胞質ERは7—8 Sに、核ERは高イオン濃度下、5—6 Sにピーク形成した。

⑤ ERと核クロマチンとの結合の程度を調べるため、[³H]-E₂と核ER複合体を作製後に0.4M KClによる抽出操作を行なうと、DESによる刺激後のどの時期においても radioactivityの抽出がC₃Hの方により多く認められたため、BALB/cの方がC₃HよりもERとの結合が強いことが示された。

〔総括〕

BALB/cとC₃Hマウスはともに辜丸間質細胞にほぼ同様な性状のエストロゲンレセプターを有しながら、エストロゲンによる慢性刺激に対して、BALB/cマウスにみられたレセプターのより著しい増加と、E₂-ER複合体の核クロマチンとの結合能の高いことが究極的に間質細胞腫を形成することに重要な役割を果たしていることが示唆された。

論文の審査結果の要旨

エストロゲン刺激下で、睪丸間質細胞腫を形成するBALB/c系マウスと、形成しないC₃H系マウスの睪丸間質細胞エストロゲンレセプターについて、間質細胞比の高い検体を用いて検討した結果、両者とも同様性状のレセプターを有しながら、エストロゲンによる慢性刺激下では、BALB/cはC₃Hに比してレセプター結合部位数のより著しい増加と同時に核クロマチンとのより高い結合能が認められ、このことが間質細胞腫の発生に重要な役割をもつ可能性を明らかにした。本研究はホルモン依存性癌の発生機序の解明に貢献するもので、極めて価値が高く学位論文に値する。