The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	子宮内膜癌細胞に対するダナゾールの増殖抑制作用
Author(s)	池上, 博雅
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35652
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

【31】

氏名・(本籍)	池上博雅（いけがみ ひろまさ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7840 号
学位授与の日付	昭和62年8月3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	**子宮内膜癌細胞に対するダナゾールの増殖抑制作用**
論文審査委員	(主査) 教授 谷澤 修 (副査) 教授 宮井 潔　教授 松本 圭史

論文内容の要旨

［目　的］

17α－ethinyltestosteroneの誘導体であるdanazolは子宮内膜症ならびに良性乳腺疾患の内分泌療法剤として広く日常臨床に用いられている。Danazolが有する抗ゴナドトロピン作用あるいは卵巣のエストロゲン生合成阻害作用が，これら疾患に対する主たる治癒機序と考えられている。しかしながら，子宮内膜症組織に対するdanazolの直接効果を示唆する成績も報告されており，その詳細な作用機構についてはいまだ明らかでない。一方，danazolは種々のステロイドホルモンレセプターと結合し，アンドロゲン，プロゲスチン，グルココルチコイド作用を示すことが知られている。近年，私共はプロゲステロンレセプター（ＰＲ）を保有する子宮内膜癌樹立細胞株ＩＫ－90を用いた研究により，danazolがＩＫ－90のPRと結合するとともにその細胞増殖を抑制することを見出した。従って本研究においては，手術により摘出された子宮内膜癌組織を対象として，danazolの内膜癌性ホルモンレセプターに対する結合の有無，ならびに内膜癌の初代細胞培養系を確立することによりdanazolの内膜癌細胞増殖抑制効果を検索し，danazolが子宮内膜癌の内分泌療法剤となり得るか否かを明らかにしようとした。

［方　法］

子宮内膜癌22症例を対象とし，摘出腫瘍組織を病理組織診，性ホルモンレセプター測定，初代培養における細胞増殖能検討のために分けたのち，以下の如く実験をおこなった。

① 性ホルモンレセプターの測定

内膜癌組織をphosphate buffer（5 mM sodium phosphate, 10mM sodium molybdate, 3 mM $MgCl_2$, 5 mM mercaptoethanol, 20%glycerol, pH8.0）でホモゲナイズし，細胞質分画を得たのち，〔^{3}H〕

estradiol－17β，〔^{3}H〕promegestone，〔^{3}H〕methyltrienoloneをligandとして4℃，16時間のインキュベーションをおこない，ＤＣＣ法によりエストロゲン（ＥＲ），プロゲステロン（ＰＲ），アンドロゲンレセプター（ＡＲ）を測定した。レセプターの判定は原則としてScatchard分析によりおこなったが，充分な腫瘍組織が得られなかった際には，飽和濃度である10nM〔^{3}H〕ligandを用いてレセプター測定をおこなった。本研究では，mg蛋白当たり10fmol以上をレセプター陽性とした。

Danazolと内膜癌ＥＲ，ＰＲ，ＡＲとの結合の有無を調べるため，レセプター陽性と判断されたすべての腫瘍の細胞質分画について，10nMの〔^{3}H〕estradiol－17β，〔^{3}H〕promegestone，〔^{3}H〕methyltrienoloneと種々の濃度（lnM～10μM）のdanazolをインキュベートすることにより，danazolの各レセプターに対する結合親和性（relative binding affinity）を求めた。

② 初代細胞培養と細胞増殖能の検討

内膜癌組織を細切し，抗生剤を含む培養液（ＴＣＭ 199）と室温で1時間インキュベートしたのち，ピペットで細胞に分離し，滅菌ガーゼで濾過することにより単離細胞を得た。10%牛胎児血清含有ＴＣＭ 199を培地として，dish（35×14mm）当たり1×10^6個の細胞をplatingさせ，37℃で初代培養をおこなった。培養開始7－10日後，内膜癌細胞がほぼconfluentになった際に細胞を洗浄したのち，ＤＣＣ処理した2%牛胎児血清と種々の濃度（1nM～10μM）のdanazolを含むＴＣＭ 199を添加し24時間のインキュベーションをおこなった。その後，1μCiの〔^{3}H〕thyidineを培地に添加し，2時間のpulse－labelingをおこなうことにより〔^{3}H〕thymidineのＤＮＡへのとり込みを検討した。なお，各実験群においてdish当たりの細胞数に差はないこと，95%以上の細胞はviableであることをtrypan blue dye exclusion testで確認した。

［成　　績］

① 22例の内膜癌のうち，ＥＲは12例（55%），ＰＲは14例（64%），ＡＲは4例（18%）に陽性であった。従来の報告とは異なり，本研究においてはＥＲ，ＰＲの保有と内膜癌の分化度には必ずしも相関は認められなかった。Danazolは内膜癌ＰＲとＡＲに有意な結合を示し，ＰＲ，ＡＲ，に対するrelative binding affinityはpromegestoneの6.8%，methyltrienoloneの8.5%であった。一方，danazolは内膜癌ＥＲには全く結合を示さなかった。

② 初代培養に成功した5例の内膜癌細胞についてdanazolが細胞増殖能に及ぼす効果を検討した結果，2例の内膜癌細胞はdanazolの添加により〔^{3}H〕thymidineのとり込みは濃度依存性に抑制され，残りの3例についてはその細胞増殖はdanazolによって影響をうけなった。danazolの添加により細胞増殖の抑制がみられた2例の内膜癌は，ＥＲならびにＰＲ陽性，ＡＲ陰性であり，残り3例の内膜癌はＥＲ，ＰＲ，ＡＲとも陰性であった。

［総　　括］

本研究において，danazolは子宮内膜癌のＰＲとＡＲに有意な結合を示すこと，ならびに初代培養系においてdanazolはＰＲを保有する内膜癌細胞の増殖を抑制することを明らかにした。DanazolはＰＲを維持する子宮内膜癌樹立細胞株ＩＫ－90の細胞増殖をも抑制する成績と併せ，danazolがＰＲを保有する子宮内膜癌の内分泌療法剤となる得る可能性が示唆された。

論文の審査結果の要旨

17α－ethinyltestosteroneの誘導体であるダナゾールは子宮内膜症ならびに良性乳腺疾患の内分泌療法として広く日常臨床にもちいられているが，その詳細な作用機構については明らかでない。

本研究は子宮内膜癌樹立細胞株ならびに手術により得られた内膜癌の初代細胞培養系を用いて，ダナゾールが内膜癌細胞プロゲステロンレセプターと結合し，内膜癌細胞の増殖を抑制することを初めて明らかにした。同時にダナゾールがプロゲステロンレセプター陽性の子宮内膜癌に対する内分泌療法剤となり得る可能性をも示唆している。

これらは独創的な新知見を生殖内泌学に加えたものであり，医学博士の学位を授与する価値があると思われる。