

Title	ヒト肝細胞癌におけるアロマターゼ活性の存在と組織分化度との関係
Author(s)	藪内, 以和夫
Citation	大阪大学, 1991, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/37489">https://hdl.handle.net/11094/37489</a>
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、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

Osaka University

氏名・(本籍)	やぶ	うち	い	わ	お
	薮	内	以	和	夫
学位の種類	医	学	博	士	
学位記番号	第	9603	号		
学位授与の日付	平成	3年	3月	14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	ヒト肝細胞癌におけるアロマターゼ活性の存在と組織分化度との 関係				
論文審査委員	(主査)	教授 垂井清一郎			
	(副査)	教授 鎌田 武信	教授 松本 圭史		

## 論文内容の要旨

### (目 的)

ホルモン依存性癌である乳癌、子宮内膜癌などと同様、ヒト肝細胞癌においても、エストロゲン・レセプターの存在が証明されている。また、経口避妊薬により誘発された肝腫瘍が、薬の服用中止により、しばしば退縮するという事実や、さらに、臨床的に抗エストロゲン剤の投与が、ヒト肝細胞癌の増殖を抑制したとの報告があり、女性ホルモンが肝細胞癌の増殖を促進する可能性が示唆されている。

一方、C-19ステロイドの aromatization を触媒し、アンドロゲンをエストロゲンに転換するアロマターゼ シトクローム P450 は、性腺や胎盤に存在する。アロマターゼ活性はこれらの臓器以外にも存在する。とくに、乳癌などでは、癌細胞自身が、エストロゲン合成を行っていることが知られており、細胞増殖に関わっている可能性が考えられている。このアロマターゼは正常肝にも存在する。しかし、肝細胞癌における本酵素の存在および役割については、未だ、十分には明らかにされていない。

本研究では、ヒト肝細胞癌におけるアロマターゼ活性の有無を明らかにするとともに、その活性と臨床的、組織学的因子との関連を検討した。

### (方 法)

1. 症例および組織材料。肝切除術の施行された肝細胞癌症例13例を対象とした。また、3例の大腸癌肝転移切除例を対照とした。切除肝は、壊死のない部分を選び、癌部と非癌部に分け、直ちに液体窒素で凍結保存した。その後、リン酸緩衝液中でホモジナイズし、超遠沈にて、ミクロソーム分画を調整し、測定まで $-80^{\circ}\text{C}$ で保存した。
2. アロマターゼ活性の測定。基質として、 $[1\beta-^3\text{H}]$  androstenedione を用い、aromatization に

より estrone と同時に生成する  $^3\text{H}_2\text{O}$  の測定を行う Thompson and Siiteri の方法の, Ackerman らによる変法を用いた。標準的なアロマトラーゼ測定系として, 試料のマイクロソーム分画 (蛋白0.5mg) に, 基質の androstenedione と NADPH generating system を加え, 総量を1.25mlとして, 37°C30分間, 空气中でインキュベートした。反応停止後, 基質ステロイドを抽出除去し, 水相のみを分離し, 水に含まれる放射活性を測定した。マイクロソームを加えずに同様の測定を行ったものを blank とし, その値を各試料の測定値より差し引いて活性とした。また, [1, 2, 6, 7- $^3\text{H}$ ] androstenedione を基質に用い, 薄層クロマトグラフィーにて生成物を分離同定した。

3. アロマトラーゼ活性の阻害実験。無酸素条件, NADPH非添加, 一酸化炭素添加のほか, KCN, Aminoglutethimide, Ketoconazole などの阻害剤を添加し, 活性を測定した。

#### (成 績)

1. 2.200nM 基質を用いた検討で, 癌部, 非癌部, どちらのマイクロソームを用いた際にも, インキュベーション時間60分まで活性の上昇はリニアリティを示し, さらにマイクロソーム分画の量を増して反応液の蛋白濃度を1.0mg/1.25mlまで増大せしめても活性の上昇はリニアリティを示した。Kinetics study により, 癌部のマイクロソームで  $K_m$  460nM,  $V_{max}$  160fmol/30min/mg protein, 非癌部のマイクロソームで  $K_m$  800nM,  $V_{max}$  330fmol/30min/mg protein, の値を得た。[1, 2, 6, 7- $^3\text{H}$ ] androstenedione を基質に用いて, 生成物を分離同定した結果  $^3\text{H}_2\text{O}$  の生成と同時に, estrone の生成されていることを確認し得た。
2. アロマトラーゼ活性は, 無酸素条件下では認められず, NADPH非添加ではコントロール活性の29%まで減少した。また, 一酸化炭素による抑制は受けなかった。KCN 5 mM, Aminoglutethimide 50  $\mu\text{M}$ , Ketoconazole 500  $\mu\text{M}$  添加により, それぞれ有意な抑制が得られた。
3. 測定した13例すべての肝細胞癌組織でアロマトラーゼ活性が認められた。周辺非癌組織に比して, 癌部の活性は低い傾向にあった。しかし, 大腸癌の肝転移巣よりは明らかに高い活性を示した。とくに, 3例においては, むしろ癌部において周辺非癌部より活性が高いという結果が得られた。しかも, この3例の組織分化度は, いずれも Edmondson II型であった。

癌部の活性は, 組織分化度別検討で, Edmondson II型の方が, 同III型よりも有意に高値を示した ( $P < 0.05$ )。

#### (総 括)

1. ヒト肝細胞癌においては, アロマトラーゼ活性の存在することを明確にした。肝細胞癌組織のアロマトラーゼは, 一酸化炭素にて活性阻害を受けず, また Aminoglutethimide や Ketoconazole により抑制を受けることより, 性腺のアロマトラーゼ P450 と同様の性質を有することを明らかにした。
2. 組織分化度別には, Edmondson II型の方が同III型よりも有意に高い活性を示した。

## 論文審査の結果の要旨

ホルモン依存性腫瘍である乳癌などと同様、ヒト肝細胞癌においても、その増殖と女性ホルモンとの関係が注目されている。一方、性腺や胎盤においてアンドロゲンをエストロゲンに転換するアロマターゼ シトクロームP450が、乳癌や子宮内膜癌においても存在し、癌細胞自身がこのアロマターゼによりエストロゲン合成を行っている事が知られており、細胞増殖に関わっている可能性が考えられている。

本研究は、ヒト肝細胞癌組織を用いて、このアロマターゼ活性の有無について検討を行ったものである。その結果、ヒト肝細胞癌においても、アロマターゼ活性の存在することを明らかにした。又、その活性は、より分化度の高い Edmondson II 型の方が、同 III 型よりも有意に高く、組織分化度と関連することを示した。

本研究の結果は、肝細胞癌と性ホルモンとの関連性を解明していく上で、重要な知見を与えるものであり、学位に値すると評価される。