

子宮内膜癌の自然発生に関する実験的研究

千葉大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 高見沢裕吉教授)

森川 真一 内藤 正文 関谷 宗英

岩沢 博司 武田 敏 高見沢裕吉

Experimental Studies on Spontaneous Occurrence of
Uterine Adenocarcinoma

Shinichi MORIKAWA, Masabumi NAITO, Souei SEKIYA, Hiroshi IWASAWA,

Bin TAKEDA and Hiroyoshi TAKAMIZAWA

Department of Obstetrics and Gynecology, School of Medicine, Chiba University, Chiba

(Director: Prof. Hiroyoshi Takamizawa)

概要 子宮内膜癌発生に関する実験モデルとして無排卵性不妊ラット (以下 ASR) を作製し, 長期間 follow up を行ない, 以下の結果を得た。

1) 対照正常ラット (以下 NR) は 111 例を 70 日齢から 750 日齢まで経時的に観察しても内膜の異常は認められなかった。一方 ASR は 70~100 日齢では 25 例中, 扁平上皮化生 (以下化生) 4 例, 200~360 日齢では 20 例中, 化生 9 例, 非異型腺増殖 2 例, 500~750 日齢では 25 例中, 化生 9 例, 非異型腺増殖 1 例, 異型腺増殖 2 例, 腺癌 2 例を認めた。

2) ASR に発生した子宮腺癌 2 例はいずれも, 化生を合併していた。

3) 腺癌の組織型は 1 例は分化型腺癌で一部未分化型腺癌を伴っており, 他の 1 例は未分化型腺癌と扁平上皮癌の混合型であった。

4) 加齢 ASR の子宮腺癌発生例における内分泌環境は NR を比較すると estrogen/progesterone (以下 E/P) 比の上昇を認めた。

5) 500 日齢以後, NR は 33 例中, 下垂体腫瘍 2 例, 乳腺腫瘍 6 例, 副腎腫瘍 3 例を認めた。ASR は 25 例中, 下垂体腫瘍 2 例, 乳腺腫瘍 2 例を認めた。

Synopsis Abnormal uterine proliferation was not detected in all 111 control normal rats (NR) during 750 days' observation period.

In androgen sterile rats (ASR), 4 squamous metaplasias were detected in 25 ASR at 70-100 days of age. Thereafter, 9 squamous metaplasias and 2 non-atypical hyperplasias were detected in 20 ASR at 200-360 days of age. At 500-750 days of age, 12 squamous metaplasias, one non-atypical hyperplasia, 2 atypical hyperplasias and 2 adenocarcinomas were detected.

Histological examination revealed that one of adenocarcinoma was composed of well differentiated type, poorly differentiated type and squamous metaplasia. Another case was composed of poorly differentiated adenocarcinoma, squamous cell carcinoma and squamous metaplasia.

Hormonal environment of ASR with adenocarcinoma was characterized by an increase in estrogen/progesterone ratio, as compared to NR. After 500 days of age, 2 pituitary, 6 mammary and 3 adrenal tumors were detected in 33 NR, whereas 2 pituitary and 2 mammary tumors were detected in 25 ASR.

Key words: Abnormal uterine proliferation • Anovulatory sterile rat • High risk factor

結 言

ヒト子宮内膜癌の high risk 因子として, 不妊, 肥満, 糖尿病, 高血圧および多嚢胞性卵巣, 内分泌活性卵巣腫瘍など異常卵巣, あるいは長期間ピル服用等の内分泌失調が臨床上問題とされている

が, 明らかな関連については不明である。

子宮腺癌の自然発生に関する研究としては, 加齢家兎¹⁾あるいは高危険群ラット²⁾が作製され, その子宮内膜の増殖性変化について検討されてきた。即ち Pfeiffer (1949)²⁾は内分泌環境と内膜の

表1 Comparison of endometrial abnormalities between normal rats and androgen sterilized rats

	Age(Day)	No. of examined	Non atypical Hyperplasia	Atypical Hyperplasia	Adeno-carcinoma
Normal Rat (n=111)	70-100	48	0	0	0
	200-360	30	0	0	0
	500-750	33	0	0	0
Androgen Sterilized Rat (n=70)	70-100	25	0	0	0
	200-360	20	2	0	0
	500-750	25	1	2	2

変化に着目し, testis を雌ラットに移植することによつて子宮腺癌の自然発生を報告し, Baba and Haan (1967)⁶⁾は家兎に長期間 estrogen を投与し, 非投与例に比し, 比較的短期間に子宮腺癌の発生を認めた。

内分泌失調を伴う動物実験モデルとしては, Barraclough et al. (1961)⁷⁾⁸⁾の方法により作製された無排卵ラットが知られ⁹⁾¹⁴⁾¹⁸⁾卵巣は多嚢胞性で持続的発情を示し¹⁾²⁾子宮内膜は増殖性変化を認める²⁾。

通常, ラットは長期間飼育により, 下垂体腫瘍, 乳腺腫瘍, 副腎腫瘍等が比較的高頻度に発生する。子宮腫瘍は筋腫, 線維腫, 肉腫が主なものであり, 子宮腺癌の発生は一般にきわめてまれであるが, Sprague-Dawley 系ラットでは自然発生の子宮腺癌の報告はみられない²⁰⁾。今回我々は Sprague-Dawley 系ラットを用いて, 無排卵性不妊ラットを作製し, その内分泌失調に着目し, 長期間 follow up し, 子宮腺癌の natural history に関して, いささかの知見を得たので報告する。

実験材料および実験方法

使用ラット: Sprague-Dawley 系雌ラット (高杉実験動物) を用いた。

無排卵性不妊ラット作製法: Barraclough の方法⁷⁾⁸⁾に従い, 詳細は既に報告した²⁾。生後3週齢にて離乳し, 以後オリエンタル MS (オリエンタル酵母) にて飼育し, 照明時間は午前7時から14時間とした。

臓器重量: 生後70日より750日まで経時的に屠殺した。子宮, 卵巣, 副腎, 下垂体の諸臓器および各腫瘍を摘出し, その湿重量を計測した。

病理組織学的検索: 重量計測後各臓器を10%ホ

ルマリン液にて固定し, パラフィン切片を作製し, hematoxylin and eosin (H.E.) 染色, periodic acid-Schiff (PAS) 染色, Alcian blue 染色を施行した。

血清中性ステロイド測定: エーテル麻酔下で開腹, 腹部大静脈より採血, 遠沈後得られた血清を-20℃に保存し, estrone (E₁), estradiol (E₂), progesterone (P) および testosterone (T) を CEA-IRE-SORIN (日本アイソトープ協会) RIA キットを用いて測定した。

実験結果

1) 70~100日齢ラットにおける子宮内膜の変化 (表1, 表3)

NR48例, ASR25例は共に子宮内膜の増殖性変

表2 Comparison of serum sex steroid levels of 750-day-old normal rats and androgen sterilized rats

	E ₁ (pg/ml)	E ₂ (pg/ml)	P (ng/ml)	T (ng/ml)
Normal Rats (n=10)	47.6±1.7*	24.4±5.7	5.7±1.3	22.2±3.0
Androgen Sterilized Rats (n=10)	31.7±4.0	18.6±3.9	1.4±0.4	18.7±3.8

* Mean±S.E.

表3 Comparison of squamous metaplasia between normal rats and androgen sterilized rats

	Age(Day)	No. of examined	Squamous Metaplasia
Normal Rat (n=111)	70~100	48	0
	200~360	30	0
	500~750	33	0
Androgen Sterilized Rat (n=70)	70~100	25	4(16%)
	200~360	20	9(45%)
	500~750	25	12(48%)

写真1 NR (300-day-old) normal endometrium
H.E. ×100

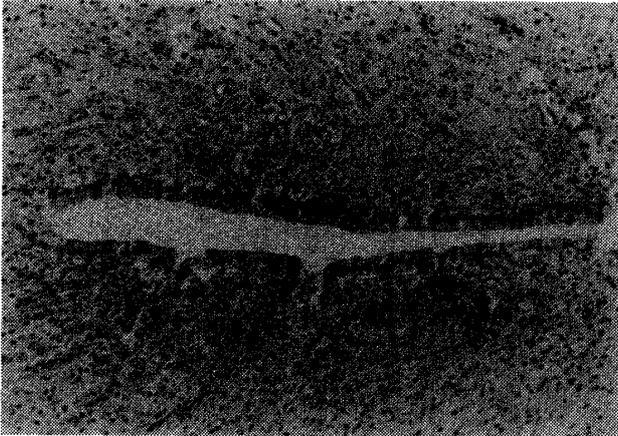


写真2 ASR (300-day-old) squamous metaplasia
H.E. ×100

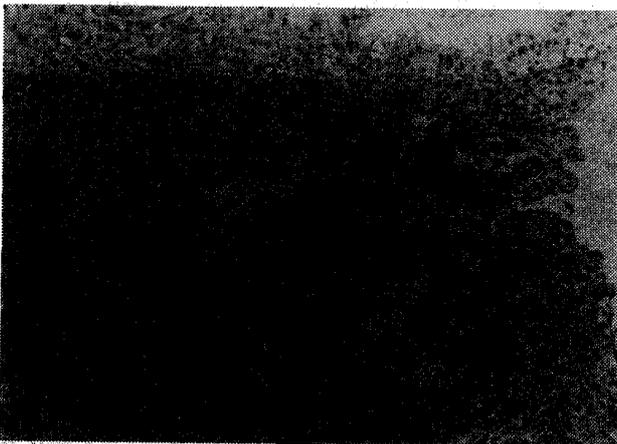


写真3 ASR (330-day-old) stratification of non-atypical hyperplasia H.E. ×400

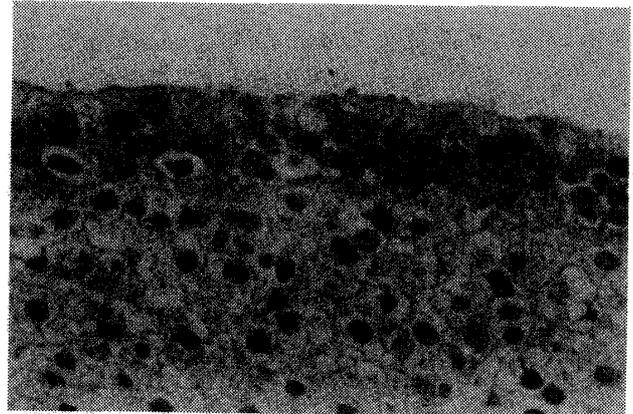
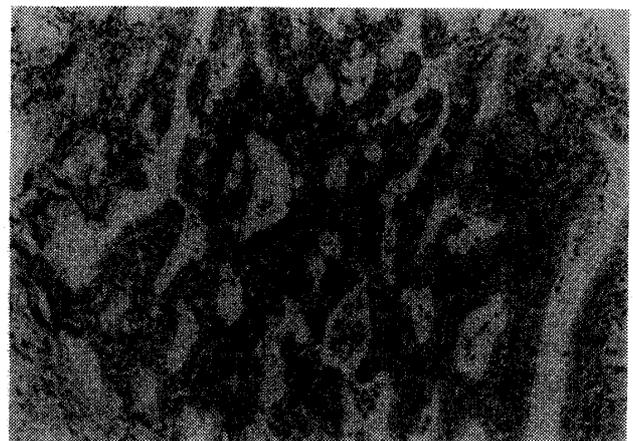


写真4 ASR (570-day-old) atypical hyperplasia
H.E. ×100



化を認められない。化生はASRのみに4例認められた。

2) 200~360日齢ラットにおける子宮内膜の変化(表1, 表3, 写真1~写真3)

NR30例は異常を認められない(写真1)。ASRは20例中, 化生9例(写真2), 非異型腺増殖2例(写真3)を認めた。しかし異型腺増殖, 腺癌および他の子宮腫瘍は発生しなかつた。

3) 500~750日齢ラットにおける子宮内膜の変化(表1, 表3, 写真4)

NR33例は異常を認められない。ASRは25例中, 化生12例, 非異型腺増殖1例, 異型腺増殖2例(写真4), 腺癌2例を認めた。しかし転移および重複腫瘍は認められなかつた。又他の子宮腫瘍は発生しなかつた。

4) ASRに発生した2例の子宮腺癌の組織型(写真5~写真9)

ASRに自然発生した子宮腺癌の1例は500日齢に発生し, その組織型は分化型腺癌(写真5)に一部未分化型腺癌(写真6)が存在していた。他の1例は730日齢に発生し, 未分化型腺癌(写真7)と扁平上皮癌(写真8)が混在していた。腺癌2例はいずれも化生を伴っていた(写真9)。

5) 加齢NRおよびASRの内分泌環境について(表2)

腺癌の発生した500~750日齢におけるNRとASR各10例の estrone (E_1), estradiol (E_2), progesterone (P), testosterone (T)各値はASRではNRに比し, E_1 , E_2 , P, T値共に低値を示した。 $E_1/P \times 10^3$ 比および $E_2/P \times 10_3$ 比はNRが

写真5 ASR(500-day-old) well differentiated adenocarcinoma H.E. $\times 100$

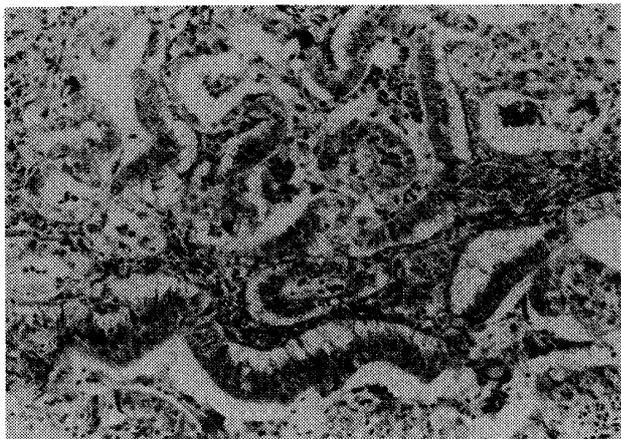


写真7 ASR (730-day-old) poorly differentiated adenocarcinoma H.E. $\times 100$

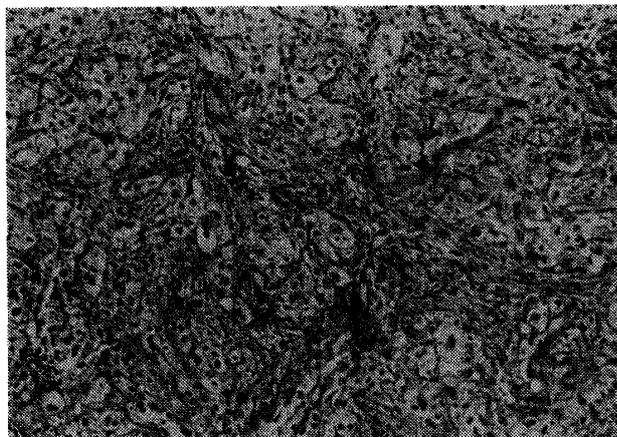


写真6 ASR (500-day-old) poorly differentiated adenocarcinoma H.E. $\times 100$

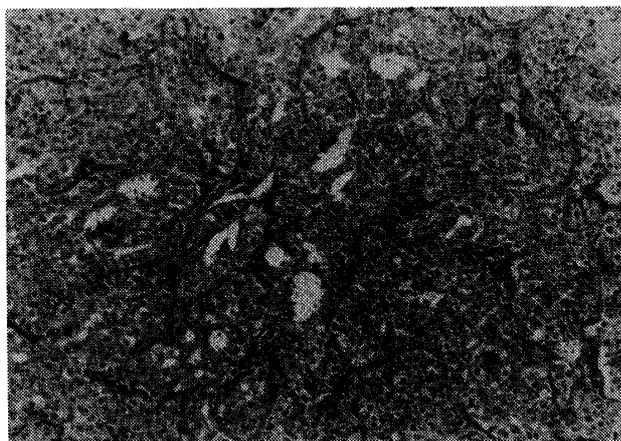
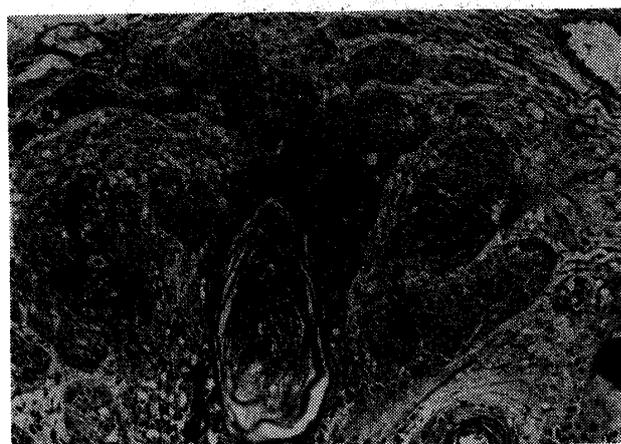


写真8 ASR (730-day-old) squamous cell carcinoma H.E. $\times 100$



8.4, 4.3に対し, ASRは夫々22.6, 13.3とASRが約2.7~3倍高値を示した。ASRの腺癌発生2例は E_1 19.5pg/ml, E_2 29.5pg/ml, P 1.2ng/ml, T 15.5ng/ml (いずれも平均値)であり $E_1/P \times 10^3$ 16.3, $E_2/P \times 10^3$ 24.6であつた。尚, 300日齢に関しても同様の結果が得られた。

6) NRおよびASRにおける子宮以外の他臓器腫瘍発生について。

NRおよびASR共に70~100日齢群, 200~360日齢群では腫瘍の発生は認められなかつた。

NRは500~750日齢群32例中, 下垂体腫瘍2例, 乳腺腫瘍6例, 副腎腫瘍3例認められた。一方ASRは500~750日齢群25例中, 下垂体腫瘍2例, 乳腺腫瘍2例認められたが, 副腎腫瘍は認められなかつた。

写真9 ASR(500-day-old)adenocarcinoma with squamous metaplasia H.E. $\times 100$



考 案

子宮内膜癌の natural history を実験動物を用いて検索出来れば、子宮内膜癌の病因ないし、高危険因子の解析に有力な手段となる⁶⁾。動物種間では性ステロイドによる子宮内膜の調節が異なり¹¹⁾²⁴⁾、又内因性ホルモン環境の違い等により、実験動物における子宮内膜癌の自然発生率は異なると考えられる⁶⁾。

2年以上経過した家兎では2,624匹中512匹(19.5%)に子宮内膜癌の自然発生が認められるが¹⁰⁾¹³⁾¹⁶⁾²¹⁾、実験動物として大量飼育が不可能であり、性ステロイドの研究が、ラット、マウスに比較して十分解明、確立されていない点、estrogenを投与しても無処理対象群との間に内膜癌発生率に有意差を認めない点⁶⁾等より家兎が内膜癌の natural history の動物モデルとして最適であるとは言いがたい。ラットは加齢に従って、下垂体、副腎、乳腺、甲状腺等のホルモン産生ないし標的臓器に比較的高頻度に自然発生腫瘍は認められるが、子宮に発生する腫瘍に関しては、筋腫、線維腫、肉腫は多く認められるが、腺癌の発生はきわめてまれである⁴⁾⁵⁾¹²⁾。

しかし Sprague-Dawley 系ラットでは Thompson et al.(1961)²⁶⁾、Tannenbaum et al.(1962)、Mackenzie and Garner (1973)²⁰⁾、螺良(1981)⁵⁾によれば平均600~800日齢のラット2,473匹中25匹(1%)に子宮腫瘍を認めたが、子宮腺癌の自然発生は認められていない。しかし testis を雌ラットに移植し、内分泌失調ラットを作製し、子宮腺癌を発生させた報告²²⁾や高蛋白食、高脂肪食、無炭水化物を投与し、子宮腫瘍が高頻度かつ早期に発生した等の報告がある¹²⁾¹⁷⁾。

ASR は持続的発情を示し、内分泌失調の状態にあり、300日齢の ASR の内分泌環境は既に報告²⁾した様に、卵巣の黄体欠如に基づく progesterone 値の低下により E_1 、 E_2 値は NR に比較して大差ないが、E/P 比の上昇を伴った相対的 estrogen 優位のホルモン環境が認められている。500~750日齢の ASR は E_1 、 E_2 値は共に NR に比し、低値を示しているが、P 値が NR の約1/4のため E_1/P 、 E_2/P 比は NR に比し、夫々2.7~3倍の上昇が認

められ、加齢を加えても更に内分泌失調の状態にあることが判明した。2年に及ぶ、長期間の相対的 estrogen 優位のホルモン環境が、子宮内膜の異常増殖症の一つの誘因になっている可能性は否定出来ない。

500~750日齢の ASR において25匹中2匹(8%)に自然発生の子宮腺癌を認めた。今後、ASR を使用することにより、Sprague-Dawley 系ラットでは腺癌の自然発生が再現性を伴って認めることが可能になったと考えられるが、更に今後かかる内膜癌“高危険群ラット”の作製による内分泌失調および異常子宮内膜増殖症の詳細な検討が必要であろう。

化生は 1) chronic irritation (異物、化学物質) 2) chronic inflammation 3) 持続的 estrogen の投与にて発生するが¹⁵⁾¹⁸⁾²³⁾ ASR のみに化生を認めた理由としては、持続的発情に伴う子宮内膜への刺激、および E/P 比の上昇を伴ったホルモン環境が考えられる。

化生は腺癌2例中2例、異型増殖2例中1例に合併していた。この詳細は不明であるが、化生の状態に aging, 肥満、子宮内膜に対する hormonal dysregulation などいくつかの誘因が加わり、一部は異型増殖ないし癌化への過程を経たものと思われる。

ヒト子宮内膜癌の発生の病因を他の動物実験モデルにて検討を加える場合、当然種の特異性により、かならずしも普遍性を有するものではないにしろ、一つの有力な研究手段になると推測される。

今回の ASR に自然発生した子宮腺癌から、1) 持続的発情を伴う性周期の欠如、2) E/P 比の上昇に基づく内分泌失調、3) 子宮内膜の estrogen に対する反応性の低下、4) aging、5) 肥満等はラットにおける有力な子宮腺癌の high risk factors と考えられるが²⁾その詳細は ASR を検討することにより更に明らかになると考えられる。

本研究は厚生省がん研究助成金による班研究「子宮体癌の高危険群に関する研究」によつて援助された。

文 献

1. 林 要, 大沢悌二, 鷲尾元夫, 吉結一郎: Androgen 不妊ラットの卵巣の morphogenesis に関する研究. 日産婦誌, 25: 1289, 1973.

2. 森川真一, 内藤正文, 関谷宗英, 武田 敏, 高見沢裕吉: 子宮内膜癌 high risk 因子の基礎的解析—実験的無排卵ラットにおける卵巣, 子宮の機能及び形態の異常. 日産婦誌, 34: 165, 1982.
3. 関谷宗英: 子宮内膜異常増殖の発生及び治療に関する性ステロイドの作用機構. 日産婦誌, 30: 846, 1978.
4. 螺良義彦, 豊島桂次, 渡辺聡子, 東條俊二, 辻 弘達, 高橋昭夫, 福山隆之: 実験動物における自然発生癌. 医学のあゆみ, 78: 677, 1971.
5. 螺良義彦: 実験動物における自然発生腫瘍. 癌と化学療法, 8: 479, 1981.
6. *Baba, N. and von Haan, E.*: Experimental carcinoma of the endometrium. *Progr. Exp. Tumor Res.*, 9: 192, 1967.
7. *Barraclough, C.A.*: Production of anovulatory sterile rats of single injection of testosterone propionate. *Endocrinol.*, 68: 62, 1961.
8. *Barraclough, C.A. and Gorski, R.A.*: Evidence that the hypothalamus is responsible for androgen-induced sterility in the female rat. *Endocrinol.*, 68: 68, 1961.
9. *Barraclough, C.A. and Fajer, A.B.*: Progesterin secretion by gonadotropin-induced corpora lutea in ovaries of androgen-sterilized rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 128: 781, 1968.
10. *Burrows, H.*: Spontaneous uterine and mammary tumors in rabbit. *J. Path. Bact.*, 51: 385, 1940.
11. *Dogdanove, E.M.*: Hypothalamic-hypophyseal interrelationships: basic aspects, In Balin. H., Glasser, S., (eds.), 5. *Reproductive Biology*, Excerpta Medica, Amsterdam, 1972.
12. *Gilbert, C., Gillman, J., Loustalot, P. and Lutz, W.*: The modifying influence of diet and the physical environment on spontaneous tumor frequency in rats. *Brit. J. Cancer*, 12: 565, 1958.
13. *Greene, H.S. and Saxton, J.A.*: Uterine adenomata in the rabbit. I. Clinical history, pathology and preliminary transplantation experiments. *J. Exp. Med.*, 67: 691, 1938.
14. *Harlan, R.E. and Gorski, R.A.*: Steroid regulation of luteinizing hormone secretion in normal and androgenized rat at different ages. *Endocrinol.*, 101: 741, 1977.
15. *Hayashi, S.*: Hyperplasia and metaplasia of the uterine epithelium following estrone injections in ovariectomized adult rats given neonatal injection of sex steroids. *Endocrinol. Jpn.*, 15: 229, 1968.
16. *Ingalls, T.H., Adams, W.W., Lurie, M.B. and Ipsen, J.*: Natural history of adenocarcinoma of the uterus in the Phipps rabbit colony. *J. Nat. Cancer Inst.*, 33: 799, 1964.
17. *Kobayashi, H., Kikuchi, K., Maki, J. and Nishiya, I.*: Two transplantable uterine adenocarcinomas in the rat. *J. Nat. Cancer Inst.*, 34: 13, 1965.
18. *Labhsetwar, A.P.*: Ovarian sensitivity to ovulatory stimuli in the androgen-induced persistent oestrus rats. *Acta Endocrinol.*, 66: 266, 1971.
19. *Lobl, R.T. and Maenza, R.M.*: Androgenization: alteration in uterine growth and morphology. *Biol. Reprod.*, 13: 255, 1976.
20. *Mackenzie, W.F. and Garner, F.M.*: Comparison of neoplasms in six sources of rats. *J. Nat. Cancer Inst.*, 50: 1243, 1973.
21. *Merriam, J.C., Easterday, C.L., McKay, D.G. and Hertig, A.T.*: Experimental production of endometrial carcinoma in the rabbit. *Obstet. Gynec.*, 16: 253, 1960.
22. *Pfeiffer, C.A.*: Adenocarcinoma in the uterus of an endocrine imbalance female rat. *Cancer Res.*, 9: 349, 1949.
23. *Reiter, R.J.*: Stratified squamous metaplasia of the uterine epithelium in early androgen-treated rats and its inhibition by light deprivation. *Anat. Rec.*, 164: 479, 1969.
24. *Short, R.V.*: Reproduction, *Annu. Rev. Physiol.*, 29: 373, 1967.
25. *Tannenbaum, A., Vesselinovitch, S.D., Maltoni, C. and Mitchell, D.S.*: Multipotential carcinogenicity of uretan in the Sprague-Dawley rat. *Cancer Res.*, 22: 1362, 1962.
26. *Thompson, S.W., Huseby, R.A., Fox, M.A., Davis, C.L. and Hunt, R.D.*: Spontaneous tumors in the Sprague-Dawley rat. *J. Nat. Cancer Inst.*, 27: 1037, 1961.

(No. 4977 昭56・10・8受付)