

エストロゲン, プロゲステロンレセプターを持つヒト分化型 子宮体内膜腺癌細胞株 (Ishikawa 株) の樹立

筑波大学臨床医学系産婦人科 (主任: 岩崎寛和教授)

西田 正人 笠原 国武 金子 實 岩崎 寛和

帝人バイオサイエンスラボラトリーズ

林 一 雄

Establishment of a New Human Endometrial Adenocarcinoma Cell Line, Ishikawa Cells, Containing Estrogen and Progesterone Receptors

Masato NISHIDA, Kunitake KASAHARA, Minoru KANEKO
and Hirokazu IWASAKI

*Department of Obstetrics and Gynecology, Institute of Clinical Medicine,
University of Tsukuba, Ibaraki*

(Director: Prof. Hirokazu Iwasaki)

Kazuo, HAYASHI

Teijin Bio-Science Laboratories Inc., Tokyo

概要 39歳の子宮体癌患者から新しい子宮体内膜腺癌細胞株 (Ishikawa 株) の樹立に成功した。細胞は単層シート状に配列して増殖し、容易に重積する。培養開始後3年8ヵ月を経過して安定した増殖を続けており、現在第60代に至っている。細胞増殖倍加時間は9代、40代、50代でそれぞれ約36, 29, 27時間である。染色体は diploid 領域にモードを持っている。本細胞をヌードマウスに移植すると分化型子宮体内膜腺癌に一致した管状腺癌組織を再構築する。移植腫瘍組織と in vitro 培養細胞からエストロゲン, プロゲステロンレセプターが共に陽性に検出された。in vitro において培地中から estrogen を除去しても細胞増殖は維持され、本細胞株は estrogen に依存性を示さなかつた。

Synopsis A new human endometrial adenocarcinoma cell line, Ishikawa cells, was established from an endometrial adenocarcinoma from a 39-year-old woman and has been maintained in vitro for more than 3 years.

The cells were found to form a monolayer in a mosaic fashion and to tend to pile up.

Population doubling time was calculated to be about 36, 29 and 27 hours at the 9th, 40th and 50th generations, respectively.

The modal chromosomal number of the cells fell in a diploid range.

Histology of the tumor induced in athymic nude mice showed it to be a well differentiated adenocarcinoma which closely resembled the original human tumor.

Estrogen receptor and progesterone receptor were demonstrated to occur not only in the induced tumor in athymic nude mice but also in in vitro culture cells.

From the fact that the cell growth was maintained in an estrogen-free medium, it appeared that the cells had no estrogen dependency.

Key words: Endometrial carcinoma • In vitro • A new cell line • Steroid hormone receptor

緒 言

近年、組織培養技術の向上に伴って、多くのヒト由来悪性腫瘍細胞株が樹立され、既にすぐれた実験系として悪性腫瘍の研究に貢献している。し

かしながら、単一の腫瘍株細胞が普遍的にすべてのヒト悪性腫瘍の性格を備えていると考えるのは誤りであり、臨床的な腫瘍の性格が原発臓器や組織型によつて異なるように、株細胞もまた個々の

個性を持ち合わせている。従つて、より多くの、より variety に富んだ細胞株が樹立され実験に供されることが望ましく、この点において新しい細胞株の樹立は意義あるものと考えられる。

今回、われわれは39歳の子宮体癌患者から分化型腺癌細胞株の樹立に成功し、この細胞株がエストロゲン、プロゲステロンレセプターを有するという特徴を有していたため、その樹立経過並びに細胞性格について報告する。

実験材料及び方法

症例は39歳の2回経妊2回経産婦である。29歳時に第2児分娩後、経口避妊薬を服用していた既往がある。昭和55年8月不正性器出血を主訴として当院を受診し、同年10月14日子宮体癌Ⅱ期の診断の元に入院、10月21日広汎性子宮全摘術を受けた。摘出子宮は超手拳大で、腫瘍は子宮腔全面を覆い、内腔へ向けて乳頭状に突出していた(図1)。筋層内浸潤は壁の1/2を超えていたが漿膜には至っていなかった。リンパ節転移は認められず、組織学的には、腫瘍は大部分が高分化型管状腺癌であり、部分的に低分化な部分、また一部に扁平上皮化生を伴っていた(図2)。PAS, Alcian blueの粘液染色では陽性所見が得られた。症例は術後化学療法を施行し、同年12月27日退院、現在外来管理を受けているが再発徴候はない。

1. 初代培養

手術標本から無菌的に拇指頭大の腫瘍組織を採取した。組織は非常にもろく、鈍的に線維性の間質部と上皮性と思われる部分との分離が可能であった。この上皮性成分を20mg/mlのCefoxitin sodium(マーキシン、萬有製薬)を含むPBS(-)(ニッスイ)溶液中で洗浄、抗生物質を含まないPBS(-)中で2回洗った後細切し、0.25%トリプシン(ニッスイ)中でスターラーを用いて攪拌、10分毎にトリプシン溶液を交換、攪拌を続けた。得られたトリプシン溶液を1,000回転5分間遠沈し、上清を捨て細胞成分を初代培養に供した。培地は15%胎仔牛血清(FCS)(Flow Laboratories)添加Eagle MEM(ニッスイ)を用いた。培養器は6cm径プラスチックシャーレ(Falcon)、培地5mlとし、5%炭酸ガス、95%空気、湿度100%の炭

図1 手術標本の肉眼所見

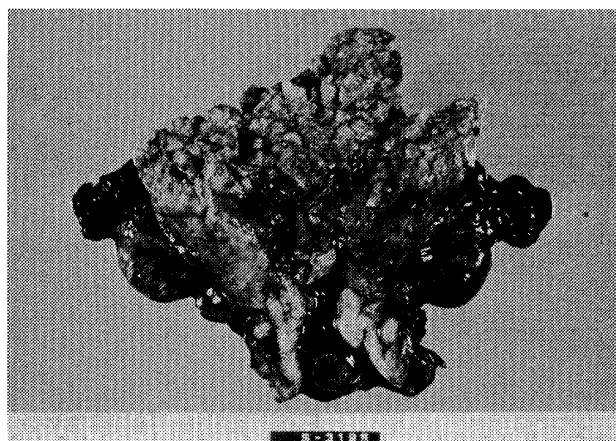
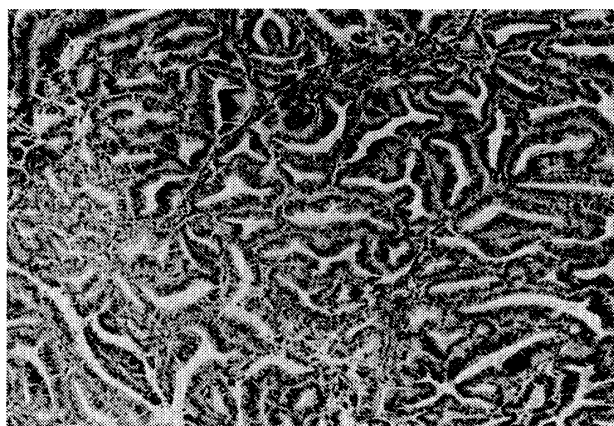


図2 原腫瘍組織(HE染色, ×40), 高分化型管状腺癌である。



酸ガス培養器内に静置した。

細胞増殖はきわめて良好で、ほとんど線維芽細胞の混入もみられず、10月27日培養開始後6日目に第2代へと継代した。継代時は0.02%EDTAと0.1%トリプシン溶液にて細胞を剥離させた。11月4日第3代から培養器をTD40(池本理化)とし閉鎖系培養とした。現在第60代に至っており、安定した増殖を続けている。

2. 細胞増殖倍加時間

細胞増殖倍加時間は細胞増殖曲線から求めた。すなわち、 3×10^5 個の細胞を6cm径シャーレにまき、2日毎に培地交換をする一方、2枚ずつ細胞を剥離させ細胞数を算定し、平均値を片対数グラフ上にプロットして増殖曲線を描き、このグラフの傾きから population doubling time を算出した。

3. 染色体標本の作成

約 4×10^6 個の細胞を10cm 径シャーレにまき、培地10mlを加え開放系環境で培養、2日目に培地交換をおこない、3日目にColcemid (GIBCO Laboratories) を $0.1 \mu\text{g}/\text{ml}$ 添加して2時間 37°C にてincubation, 培地を捨て 0.25% トリプシン5mlにて細胞を剥離させ、培地5mlを加えてトリプシンの作用を止め、1,000回転5分間遠沈した後、細胞成分を $0.2\% \text{NaCl}$ 5ml中にsuspensionとして40分間低張処理をおこない、 10% カルノア(メタノール; 3:氷酢酸; 1)を4ml加えて15分間一次固定し、遠沈して細胞成分を集め、 100% カルノア5ml中にsuspensionとして15分間二次固定の後、再度遠沈して細胞成分を1mlの 100% カルノア中にsuspensionとし、スライドグラスに滴下、乾燥固定した後、 15% ギムザ液にて15分間染色し標本とした。

4. ノードマウス移植腫瘍の作成

6~8週齢, BALB/c 系雌ノードマウスを使用した。マウス背部皮下に 1×10^7 個の細胞を移植し、腫瘍体積はBattle Columbus Laboratories protocol¹⁾によつて算出した。すなわち、腫瘍を楕円形と考え、長径aと短径bとを測定し、体積Vを次の計算式($V = \frac{a \times b^2}{2}$)によつて算出した。腫瘍はマウス屠殺後直ちに摘出し、半分をホルマリオン固定して光顕標本とし、隣接部分を -80°C に凍

結保存してホルモンレセプターアッセイ検体とした。

腹腔内移植の場合も、ノードマウスは同様のものを用い、移植細胞数は 1.5×10^7 個とした。

5. ステロイドホルモンレセプターの検索法

ステロイドホルモンレセプターはcytosol 分画におけるエストロゲンレセプター(ER), プログステロンレセプター(PgR)についておこなった。方法はMcGuire et al. の方法⁴⁾に準拠したdextran-coated charcoal (DCC)法により図3, 図4に示すようにおこなった。すなわち標本をhomogenizeした後、2回の遠沈をおこない、その上清を試料とし、5ポイントのScatchardプロット⁵⁾から対蛋白当りの結合部位数を求めた。蛋白量はローリー法により求め、ligandとしては ^3H -estradiol, ^3H -R5020を用いた。レセプターが全く

図3 ステロイドホルモンレセプターの検索法(1)

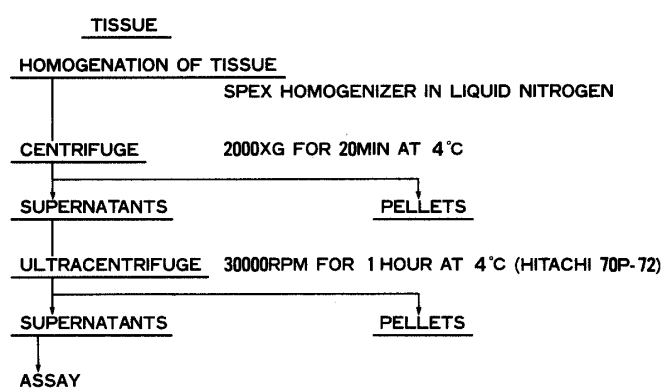


図4 ステロイドホルモンレセプターの検索法(2)

5POINTS					
TUBE No.	DESCRIPTION		^3H -ESTRADIOL	^3H -ESTRADIOL-DES*	
1-3	COUNTER EFF. STD		-	-	
4, 5	BACKGROUND		-	-	
6, 7	TOTAL COUNTS	LEVEL-1	+	-	
8, 9		-2	+	-	
10, 11		-3	+	-	
12, 13		-4	+	-	
14, 15		-5	+	-	
16, 17	BLANK	LEVEL-1	+	-	
18, 19		-2	+	-	
20, 21		-3	+	-	
22, 23		-4	+	-	
24, 25		-5	+	-	
26	SAMPLE NON-SPECIFIC	LEVEL-1	-	+	
27		LEVEL-2	-	+	
28		LEVEL-3	-	+	
29		LEVEL-4	-	+	
30		LEVEL-5	-	+	

*DES=DIETHYLSTILBESTEROL

×200

検出されない場合に陰性とした。

6. in vitro 培養細胞におけるステロイドホルモンレセプターの検索

3×10⁵個の細胞を6cm 径プラスチックシャーレ25枚にまき、7日目に1回だけ或いは3日目、7日目の2回の培地交換をおこない、8日目にHMG (パーゴナル, 帝国臓器) 100mIU/ml を添加した場合, しない場合とで検討した。いずれも11日目に細胞をスクレーパーにて剥離させ, PBS (一) 中に cell suspension とした後, 3,000回転15分間遠沈し, 細胞成分を-80℃に凍結保存し, 組織標本と同様の方法でレセプターの検索をおこなった。

7. エストロゲン依存性の検討

培地に添加する FCS を無処理のものと DCC 処理によつてエストロゲンを除去したものに分け, 培地を下記の3群に分けて第40代の細胞を用いてその増殖曲線を比較した。その他の実験条件は細胞増殖倍加時間を求めた時と同一である。1群), 無処理 FCS 添加培地, 2群), DCC 処理 FCS 添加培地, 3群), 2群と同様に調整した培地中に estradiol-17 β 100pg/ml 添加培地。FCS の DCC 処理は下記のごとくおこなった。25g の activated charcoal (Norit "extra", 和光純薬) を25ml の蒸留水中に suspension とする一方, dextran (Dextran T70, Pharmacia Fine Chemicals, AB Upsala, Sweden) 2.5g を25ml の蒸留水に溶解し, 両者を混合した溶液を dextran-coated charcoal (DCC) とした。この DCC 溶液25ml を FCS 500ml と混合し55℃30分間 incubate の後, 2,000G 15分間遠沈し, 上清を更に Millipore filter (Millex[®] HA, 0.45 μ m) を通して残存する DCC を除去し, DCC 処理 FCS (DCC-FCS) を得た。

実験成績

1. 細胞形態

細胞は単層シート状に培養器底面に接着して増殖する。位相差顕微鏡下での観察では, 細胞は大小不同著しく, 多形性に富み, 細胞辺縁は明瞭でいわゆる jigsaw puzzle 様を呈する。核は細胞質ほぼ中央に位置し, 明瞭な核小体を認める。増殖中期から単層シート状の細胞が一部円形にガラス

面より剥離し, 半球形の腺腔 (hemicyst) を形成する。confluent となると容易に重積する (図5)。Papanicolaou 染色では細胞質は淡染し, 細胞縁は不明瞭である。核は大小不同著しく, 時に多核を呈し, その chromatin は細顆粒状で均等に分布し, 核縁の肥厚は顕著ではない (図6)。PAS, Alcian blue による粘液染色では陽性所見が得られる。これらの形態的特徴は, 初代培養開始後第45代頃 (昭和58年4月頃) 迄は不変であつたが, その後やや細胞境界が不明瞭となるなど, 低分化傾向が認められるようになってきている。

2. 細胞増殖倍加時間

第9代における population doubling time は約36時間であり, 第40代におけるそれは約29時間,

図5 Ishikawa 株の in vitro 位相差顕微鏡所見 (×100)

細胞は多形性に富み, jigsaw puzzle 様に配列し, 左下方に hemicyst を形成している。

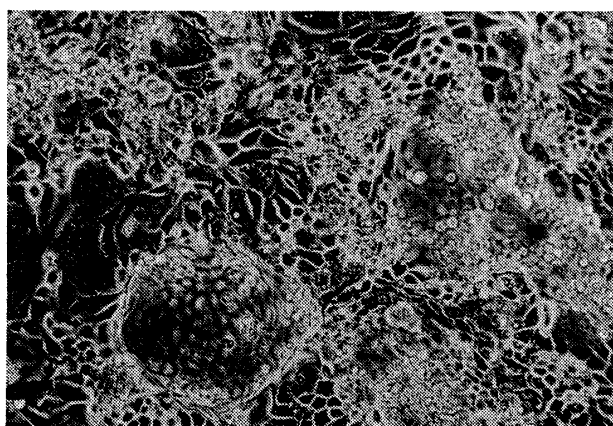
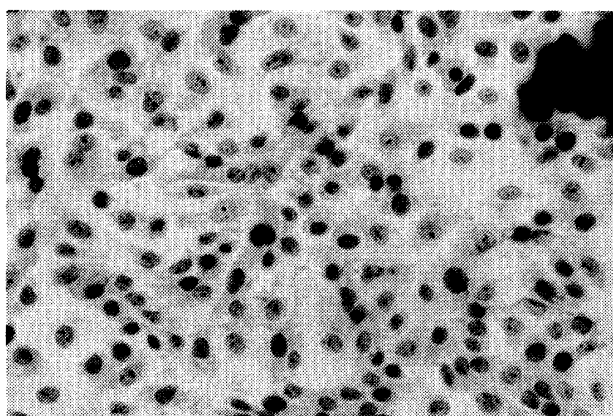


図6 Ishikawa 株の Papanicolaou 染色所見 (×200)

上皮性の配列をとり, 細胞辺縁は不明瞭である。



第50代においては約27時間と継代が進むにつれ増殖倍加時間は短くなってきている(図7)。

3. 染色体分析

第22代において166個の分裂像につき exact count をおこなった結果, 染色体数は19本から163本まで広く異数性に分布していたが, 125個(75.3%)がdiploid 領域に, 36個(21.7%)がtetraploid 領域に存在した。更に diploid 領域にある125個の標本の染色体数は46本をピークとして図8の様な分布を示した。核型分析をおこなうと,

図7 Ishikawa 株の増殖曲線
継代数が進むにつれ, 増殖倍加時間(単位: 時間)が短縮してきている。

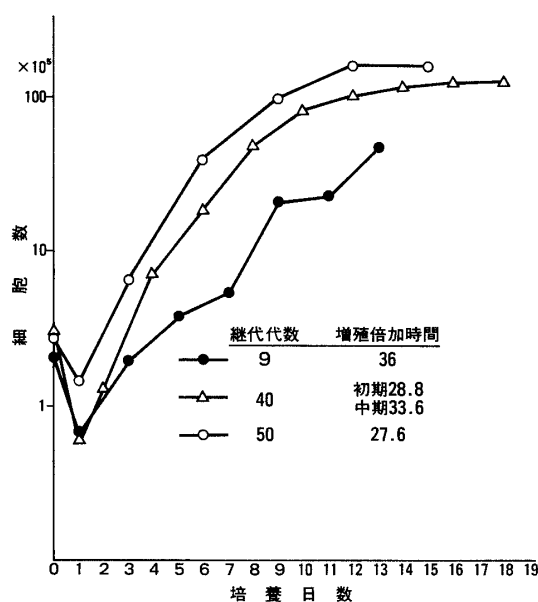
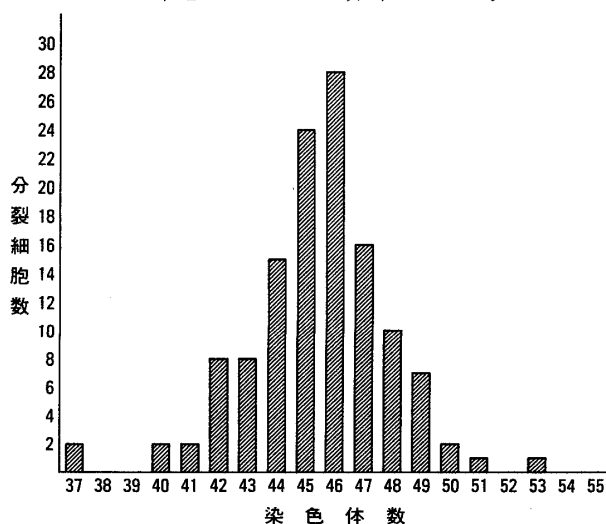


図8 モード領域にある染色体の分布
46本をピークとして分布している。



同じ46本の染色体数であつてもその核型は異なっており特定の型を示していなかった。従つてDember方式に従つて染色体配列を決定することはおこなわず, 図9には単に染色体の大きさの順に並べて核型の1例を示した。

4. ノードマウス移植腫瘍

移植腫瘍の増殖は緩徐で, 1,000~2,000mm³大となるとそれ以上に増大することはない。第6代における移植後103日目の組織所見が図10である。腫瘍は9×8×5mmであつた。腫瘍は充実性で大部分が高分化型管状腺癌であり, 原腫瘍(図2)ときわめて類似した組織を再構築した。PAS, Alcian blue 染色では陽性物質が腺管腔内に認めら

図9 染色体数46本時の核型の1例

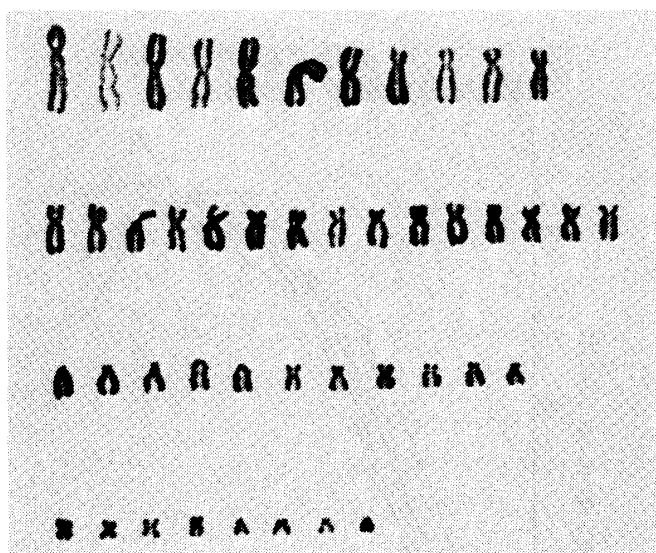
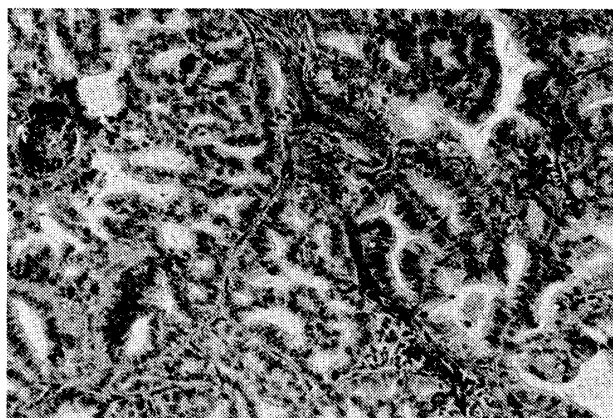


図10 ノードマウス皮下に再構築された腫瘍組織
(HE 染色, ×100)
原腫瘍組織と類似の分化型管状腺癌である。



れた。この腫瘍組織を更に5匹のヌードマウスに継代移植した時の腫瘍体積増加曲線が図11である。腫瘍体積は約1,000~2,000mm³で plateau となり、増殖倍加時間は約2.7日と算出される。増殖が停止すると、中心部壊死が強くなり、腫瘍表面は潰瘍化する。

5. ステロイドホルモンレセプターの検出

ヌードマウス移植腫瘍の検索を第6代の細胞移植時、第25代の細胞移植時及び第6代でヌードマウスに構築された腫瘍を更にヌードマウスに継代したヌードマウス継代1代、更に継代した継代2代の腫瘍についておこなった。結果は表1に示すごとく、第6代の組織はER(-), PgR(+), 継代1代ではER(+), PgR(+), 第2代ではER(+), PgR(-)と変化した。第25代ではER, PgR

図11 ヌードマウス移植腫瘍の体積増加曲線
増殖倍加時間は約2.7日と算出される。

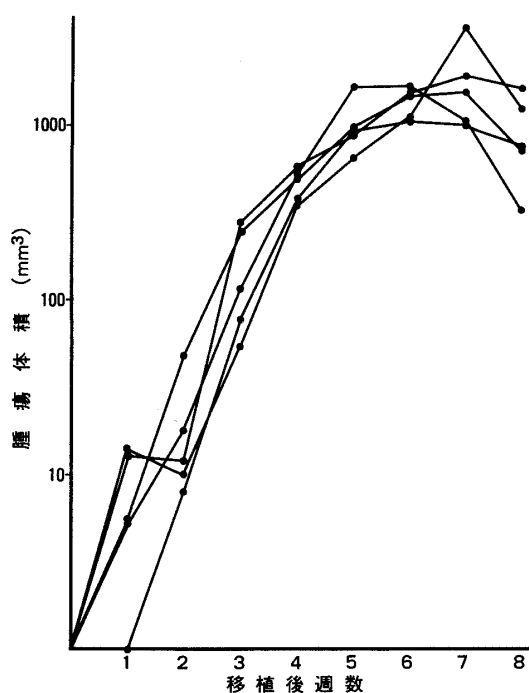


表1 ヌードマウス移植腫瘍のステロイドホルモンレセプター

	ER*	PgR*
第6代	(-)	132
継代1代	87	35
継代2代	35	(-)
第25代	238	50

*f mol/mg protein

共に陽性に検出された。この時の組織学的所見は第6代、第25代、継代1代では高分化型腺癌であつたが、継代2代では低分化な部分が多くなつていた。またPAS, Alcian blue 染色では継代2代で陰性であり、それ以外はすべて陽性であつた。第6代においてERが陰性であつた原因は明らかでないが、以上の結果から、本細胞株はヌードマウスにER, PgR共に陽性の分化型子宮体内膜腺癌に一致した組織を再構築することが明らかとなつた。

一方、in vitroでの培養細胞におけるステロイドホルモンレセプターの有無に関しては、培地、培養条件を種々変化させて検索をおこなつた結果、表2におけるように確実にER, PgRが誘導される条件は見出されていないものの、継代数が若い方が陽性率が高く、第50代となると陰性化し、更に培地中にHMGを添加した場合の方が陽性率が高い（添加した場合は第50代を除いて5回すべてがER或いはPgR或いは両者が陽性に検出され、添加しない場合には6回中3回しか陽性に検出されていない）などの傾向がみられた。従つ

表2 in vitro 培養細胞のステロイドホルモンレセプター

継代数	培養条件	ER*	PgR*
28	DCCFCS+HMG ¹⁾	(-)	18
"	DCCFCS ¹⁾	(-)	(-)
"	DCCFCS ²⁾	(-)	(-)
"	DCCFCS+HMG ²⁾	32	18
30	DCCFCS+HMG ¹⁾	(-)	24
"	DCCFCS ¹⁾	26	30
"	DCCFCS ²⁾	103	14
"	DCCFCS+HMG ²⁾	47	30
33	FCS ²⁾	26	9
"	DCCFCS ²⁾	(-)	(-)
36	DCCFCS+HMG ¹⁾	91	(-)
50	DCCFCS+HMG ¹⁾	(-)	(-)
"	DCCFCS ¹⁾	(-)	(-)
"	DCCFCS ²⁾	(-)	(-)
"	DCCFCS+HMG ²⁾	(-)	(-)

FCS ; 15% FCS 添加 Eagle MEM

DCCFCS ; 15% DCC 処理 FCS 添加 Eagle MEM

HMG ; 培養開始後8日目にHMG.

(パーゴナル ; 帝国臓器) 100mI.U./ml 添加

*f mol/mg protein

1) ; 培養開始後7日目に培地交換

2) ; 培養開始後3日目, 7日目に培地交換

て本細胞株は *in vitro* 培養細胞においても ER, PgR を保有する能力は持つており, 培養条件さえ整えば ER, PgR は誘導され得ると考えてよさそうである. なお本実験における第28代, 30代, 33代の細胞は凍結保存されていた細胞を解凍後実験に供したものである. 第50代において ER, PgR が陰性化したことは, 同時期の *in vitro* の細胞形態が低分化傾向を帯びてきたこと, またヌードマウスに再構築された組織がより低分化になつてきたことと関連した結果と思われる.

6. エストロゲン依存性の検討

無処理 FCS の各種ホルモン濃度は LH 2.0 mIU/ml, FSH 2.9mIU/ml, E₂ 32pg/ml, progesterone 20ng/dl 以下であり, DCC-FCS のそれは LH 2.0mIU/ml, FSH 2.3mIU/ml, E₂ 10pg/ml 以下, progesterone 20ng/dl 以下であつた. 図12に示すように, 増殖の最も良いのは1群すなわち無処理 FCS 添加培地であり, その増殖倍加時間は対数増殖期前半で28.8時間, 後半で33.6時間であつた. これに対し2群(DCC-FCS), 3群(DCC-FCS+E₂ 100pg/ml) ではほぼ平行に増殖曲線が描かれ, 増殖倍加時間はそれぞれ51.6時間, 50.4

時間となつた. 培養開始後18日目には3群共に細胞数は 10×10^6 /dish となり confluent に達した. このように本細胞株は培地からエストロゲンを除去した環境でも増殖は維持され, 更にエストロゲンの存在下に増殖が亢進するという結果も得られなかつた.

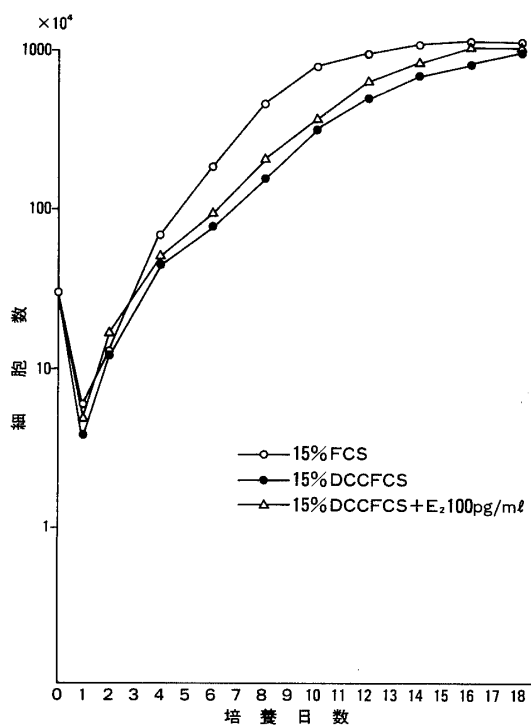
考 案

本細胞株の特徴は, ヌードマウスに分化型子宮体内膜腺癌に一致した ER, PgR 陽性の組織を再構築するという点である. このことから *in vitro* で培養されている細胞も分化型の腺癌細胞の性格を有すると考えてよからう.

子宮体内膜腺癌に関し, 分化型と低分化型の相異点について培養細胞ではほとんど明らかにされていない. そこで本細胞株の特徴を北里大学医学部産婦人科学教室蔵本博行博士より分与された HEC-1株³⁾と比較しつつ述べると以下のようなになる. すなわち, まず HEC-1株は *in vitro* において比較的小型, 均一であつて大小不同性に乏しく, 多形性が少ない. 胞体内空胞を持たず, 重積すると細胞が無秩序に重なり合い, 特定の組織構築を模倣することはない. またシート状に配列する細胞は位相差顕微鏡下に細胞境界が不明瞭で, 細胞の厚みが薄いという印象を受ける. 更に培養器との接着力が弱く, 継代培養時の EDTA, トリプシン処理により容易に剝離する. 増殖倍加時間は約42時間である. ヌードマウスに皮下移植するときわめて旺盛な増殖を示し, その重量はほぼマウスと同じ23gにも達し, 3~4カ月でマウスを腫瘍死させる. その組織像は低分化型で, PAS, Alcian blue などの粘液染色陰性であり, 特定の粘液産生能, 組織構築能を持たない. 腹腔内移植の場合には1~2カ月後に血性腹水が貯留しマウスは腫瘍死する. 腫瘍は主として子宮に形成され, その他の部位に腫瘍が形成されることは少ない. 移植腫瘍のステロイドホルモンレセプターは ER 10f mol/mg protein であり, PgR は陰性であつた.

これに対し, Ishikawa 株においては, ことごとくこれと異なつた性格が観察される. まず *in vitro* の形態では多形性に富み, 大小不同著しく, 胞体内空胞を持ち, 細胞辺縁及び細胞境界は明瞭

図12 FCS を無処理の場合, DCC 処理した場合, E₂ 添加時の細胞増殖曲線の比較



で胞体が厚いという印象を受ける。単層シート状の細胞は hemicyst を形成してガラス面からドーム状に一部剝離する。培養器との接着力は HEC-1 株に比しはるかに強く、しばしば剝離に30分以上を要す。移植腫瘍は分化型の管状腺癌を再構築し、粘液染色陽性であり、ステロイドホルモンレセプターは ER, PgR 共に陽性に検出される。しかしながら移植腫瘍の増殖は緩徐で $1,000 \sim 2,000 \text{ mm}^3$ で増殖は止つてしまい、放置すると中心部壊死が強くなつて腫瘍は徐々に萎縮し、マウスを腫瘍死させることはない。腹腔内移植をおこなつた場合には、3～4カ月後に血性腹水が貯留しマウスを腫瘍死させることが可能である。この際腫瘍は両側卵巣に形成されることが多いが、肝や横隔膜下にも形成されることがある。

このように HEC-1 株と Ishikawa 株は同じヒト子宮体内膜腺癌由来の細胞株でありながら、その細胞性格はことごとく異なっており、同等に扱うことに疑問を感じる程である。これらの相異点が個々の細胞株のいわゆる個性に由来する部分が多いであろうことは当然考えられるが、或る部分では確実に一般的な分化型と低分化型の培養細胞の差を示しているであろう。

一方、分化型の細胞株が継代培養を続けることによって低分化型へ変化していく現象がみられる。前述した HEC-1 株においても Kuramoto et al. の報告³⁾の時点ではその付図における組織像から分化型であつた。しかしながらわれわれが譲り受けた細胞は in vitro の形態もヌードマウスに移植して得られた腫瘍組織も低分化なものであつた。Ishikawa 株においても培養開始後3年半を経てこの傾向がうかがえる。第47代でヌードマウスに再構築された組織は分化傾向は認められるものの低分化な部分が多くなつていた。このように分化型の株細胞が継代するにしたがつて低分化となつてゆくのは宿命のようで、継代培養中に何らかの細胞の選択をおこなわないかぎり、分化型のままで存続させることは困難のようである。Ishikawa 株に関しては、幸いにして第25代の細胞が大量に凍結保存されており、この細胞は解凍後においてもヌードマウスに分化型の腫瘍を創ること

が確認されているため、実験の必要に応じて常に分化型の細胞を供給することが可能である。

本細胞株はヌードマウスに ER, PgR を持つ腫瘍を形成する。従つて in vitro における培養細胞も当然このホルモンレセプターを保持していると考えられた訳であるが、当初種々の条件下に実験をおこなつても in vitro の細胞からはレセプターが検出されなかつた。そこでわれわれは in vitro の環境ではレセプターの inducer が欠けているのではないかと考えるようになっていた²⁾。しかしながら、最近 FCS を DCC 処理し、開放系環境で11日間培養し、この間1～2回の培地交換をおこない、細胞の剝離をスクレーパーでおこなうという条件下ではかなり高率にレセプターが検出されることに気付いた。更に培地中に gonadotropin を添加した場合には、その検出頻度がより高くなるという結果を得た。一般的に培養条件を悪化させると細胞の分化が誘導されることが知られているが、DCC 処理もこれと同じ理由で細胞の分化を誘導し、レセプターの検出頻度を高めたのかも知れない。一方 gonadotropin に関しては、その子宮内膜或いは内膜癌に対する直接作用は現在肯定されておらず、また添加しない場合にも検出が可能であることから、その機序についてはなお検討中である。いずれにしても培養細胞が ER, PgR を持つことは確かであり、条件設定さえ整えば常時検出できるものと考えられる。

このように Ishikawa 株は in vitro においても ER, PgR を保有しているわけであるが、DCC 処理によつて血清中のエストロゲンを除いても細胞増殖は維持され、エストロゲンの無い環境において増殖力を失つたり、死滅したりすることはなかつた。このことは Ishikawa 株の増殖がエストロゲン依存性でないことを物語っている。また上記の条件にエストロゲンを添加しても増殖能はほとんど変わらず、エストロゲンが増殖力を高めるともいえない。従つて現時点では、本細胞株に関する限り、ER を細胞が保有することはエストロゲン依存性であることを必ずしも意味しないという考えを裏付けた結果となつた。

近年、ステロイドホルモンレセプターが測定可

能となつて以来、各種悪性腫瘍のホルモン療法が見直され、新たな発展の可能性が考えられている。とくに子宮体癌に対するホルモン療法は一層意義を認められてきた感があり、その機構の解明はきわめて興味ある課題である。本細胞株は分化型であるというその特徴から考えてこの種の実験に用いるには最も適した細胞株と考えられる。

実験に御協力頂いた本学技官寺島日出子嬢に感謝する。

文 献

1. 花谷勇治, 久保田哲朗, 山田好則, 露木 建, 中田宗彦, 松本純夫, 熊井浩一郎, 吉野肇一, 石引久弥, 阿部令彦: ヌードマウス可移植性ヒト胃, 結腸癌 5 株を用いた実験的化学療法, 日癌治, 15:

1114, 1980.

2. 西田正人, 岩崎寛和: 悪性腫瘍に対する黄体ホルモン療法の可能性と限界. 臨婦産, 36: 840, 1982.
3. Kuramoto, H., Tamura, S. and Notake, Y.: Establishment of a cell line of human endometrial adenocarcinoma in vitro. Am. J. Obstet. Gynecol., 114: 1012, 1972.
4. McGuire, W.L. and DeLaGarza, M.: Improved sensitivity in the measurement of estrogen receptor in human breast cancer. J. Clin. Endocrinol. Metab., 37: 986, 1973.
5. Scatchard, G.: The alterations of proteins for small molecules and ions. Ann. N.Y. Acad. Sci., 51: 660, 1949.

(No. 5579 昭59・8・10受付)