

卵巣癌培養株に対する Medroxyprogesterone Acetate (MPA) の 増殖抑制効果に関する基礎的検討

久留米大学医学部産婦人科

*兵庫県立西宮病院産婦人科

**東大阪市立中央病院産婦人科

***奈良県立医科大学第二病理

清塚 康彦 伊藤 公彦* 中野 司朗* 田守 陳哉*
安達 進** 野田 恒夫** 吉田 雅代*** 今井 俊介***

Antiproliferative Actions of Medroxyprogesterone Acetate (MPA) to Human Ovarian Cancer Cell Lines *in vitro*

Yasuhiko KIYOZUKA, Kimihiko ITO*, Shiro NAKANO*,
Nobuya TAMORI*, Susumu ADACHI**, Tsuneo NODA**,
Masayo YOSHIDA*** and Shunsuke IMAI***

Department of Obstetrics and Gynecology, Kurume University School of Medicine, Fukuoka

**Department of Obstetrics and Gynecology, Hyogo Prefectural Nishinomiya Hospital, Hyogo*

***Department of Obstetrics and Gynecology, Higashi Osaka Central Hospital, Osaka*

****The 2nd Department of Pathology, Nara Medical University, Nara*

概要 経口黄体ホルモン製剤 (medroxyprogesterone acetate : MPA) の *in vitro* における卵巣癌培養株 (SHIN-3, MN-1) に対する細胞増殖抑制効果を検討し, その細胞形態・colony 形成能における変化を観察した。

1) 細胞の対数増殖期における倍加時間に与える MPA の影響の検討では, SHIN-3株において MPA 10^{-8} M 添加群で2.5倍, 10^{-5} M 添加で3.2倍の倍加時間の延長が示されたが, MN-1株においては有意な増殖抑制効果は観察されなかつた。

2) FCS 添加培地で, SHIN-3株の細胞数測定による MPA の IC_{50} は, 2.7×10^{-5} M, 無血清培地培養での同様の評価は 6.4×10^{-6} M であつた。

3) SHIN-3株の120時間培養後の腫瘍マーカーCA125産生量は, MPA 10^{-8} M 添加で35%, 10^{-5} M 添加で79%抑制された。

4) MPA 添加培地では, SHIN-3細胞の細胞質に小粘液空胞や膨化変性の所見が出現し, 核の大型・菲薄化が著明となつた。

5) collagen gel を用いた colony 形成実験では, 添加した MPA の濃度依存性に colony size の減少がみられ, 同時に colony 形態の分様化を示すのが観察された。

すなわち, ムチン性卵巣腺癌 (MN-1) 株に対して MPA の細胞増殖抑制効果は観察されなかつたが, 漿液性腺癌 (SHIN-3) 株においては倍加時間の延長に表現される増殖抑制効果が確認され, 細胞形態学的にも変性を主体とする変化が進行することが示された。MPA 単剤での *in vitro* における殺細胞効果が認められなかつたことより, MPA の卵巣癌治療における役割は限定的である。しかし, 組織型を考慮することにより, 集学的治療の一端としての内分泌・化学療法が有用となる可能性につき指摘した。

Synopsis The cytostatic effect of medroxyprogesterone acetate (MPA ; an oral luteohormone preparation) on two cell lines of ovarian carcinoma cultured *in vitro* (SHIN-3 and MN-1) was studied. At the same time, changes in the morphology and colony formation of these cancer cells after exposure to the drug were examined.

1) The doubling time of SHIN-3 cells in the logarithmic growth phase was prolonged 2.5 times at a MPA dose of 10^{-8} M and 3.2 times at a MPA dose of 10^{-5} M. The drug, however, exerted no significant cytostatic effect on MN-1 cells.

2) When the IC_{50} of MPA was assessed by counting live SHIN-3 cells in an FCS-added medium, it was 2.7×10^{-5} M. When the same assessment was done with a medium without serum, IC_{50} was 6.4×10^{-6} M.

3) After 120 hours of incubation in a medium containing 10^{-8} M of MPA, CA125 (a tumor marker) production by SHIN-3 cells was suppressed by 35%. The suppression rate was 79% for SHIN-3 cells

incubated in a medium containing 10^{-5} of MPA.

4) The cytoplasm of SHIN-3 cells, incubated in a MPA-added medium, showed the formation of small mucous vacuoles and expansive degeneration, accompanied by a marked increase in size and thinning of the nucleus.

5) In an experiment on colony formation with collagen gel, the colony size decreased MPA concentration dependently, and was accompanied by the appearance of lobulated colonies.

MPA was thus found to have a cytostatic effect (represented by prolonged doubling time) on SHIN-3 cells (a line of serous adenocarcinoma) and to cause cytomorphological changes (chiefly degeneration) in SHIN-3 cells, although the drug exerted no significant cytostatic effect on MN-1 cells (a line of mucinous ovarian adenocarcinoma). Because MPA did not exert a cytotoxic effect *in vitro* when the drug was used independently without combination with other drugs, the role of this drug in the treatment of ovarian cancer is limited. However, the results suggest that chemoendocrine therapy is potentially useful as a component of interdisciplinary therapy if it is applied considering the histologic type of ovarian cancer.

Key words: Medroxyprogesterone acetate (MPA) • Human ovarian cancer • Antitumor effects • Hormonal therapy

緒言

medroxyprogesterone acetate (MPA) は黄体ホルモン系ステロイド剤であるが、乳癌、子宮内膜癌及び前立腺癌等に臨床応用され、その抗腫瘍効果が確認されている。また、近年、gestagen 剤と抗癌剤の併用療法 (chemo-endocrine therapy) が子宮内膜癌症例で試みられ、その臨床効果が期待される。しかし、過去の卵巣癌患者に対する MPA 単剤での臨床評価に関しては奏効率に乏しいとする報告が多い。また、その抗腫瘍効果とは別に、これらの悪性腫瘍患者への化学療法中に MPA を内服させた場合、白血球減少等の副作用の発現が少なく、食欲増進、performance status (P.S.) の改善などの作用が期待されるという報告が散見される。我々も、P.S. の改善を目的に卵巣癌患者に MPA を投与する例があり、その再評価を目標に、樹立ヒト卵巣癌株を用いて *in vitro* での抗腫瘍効果に関する基礎的検討を行い若干の知見を得たので報告する。

研究材料及び実験方法

I. ヒト卵巣癌培養株の樹立

卵巣漿液性嚢胞腺癌のモデルとして SHIN-3 株を、ムチン性腺癌のモデルとして MN-1 株を使用した。SHIN-3 株は、細胞分散法による primary culture により樹立後²⁾、現在、4年2ヵ月を経過し、安定した増殖能を維持している。一方、MN-1 株は手術時摘出腫瘍細胞を継代培養後、2回の cloning 操作を経て樹立され、継代68代に達する⁶⁾ (図1)。

II. MPA の調整

MPA は ethanol に 10mg/ml の濃度に溶解後、10%FCS (Flow lab., USA) 加 Eagle's MEM (Nissui Pharmaceious Co., Ltd.) にて順次、使用直前に段階希釈し、 10^{-4} から 10^{-10} M までの溶液

を作製した。ethanol の最終濃度は 0.2 (v/v)% を越えないよう調整し、control medium 中には同濃度の ethanol を添加し使用した。

III. MPA の細胞増殖に与える影響

(1) 細胞増殖曲線上での倍加時間の検討

SHIN-3 株を 7.9×10^4 個/well, MN-1 株を 3.8×10^4 個/well にて 24 multi well plate に分散した。細胞が plate 面に付着したのを確認後、MPA 10^{-5} M 及び 10^{-8} M を含んだ medium で液交換し、そこを起点として最大 120 時間後まで経時的に細胞数を 6 well で count し、その平均値から両細胞株の growth curve 上での増殖抑制効果を観察した。

(2) MPA の濃度依存性細胞増殖効果の検討

SHIN-3 株を 1.28×10^5 個/well, MN-1 株を 1.85×10^5 個/well にて分散した。MPA を 10^{-4} M から 10^{-10} M まで段階希釈した medium で液交換し、72 時間後に同様に細胞数を count してその平

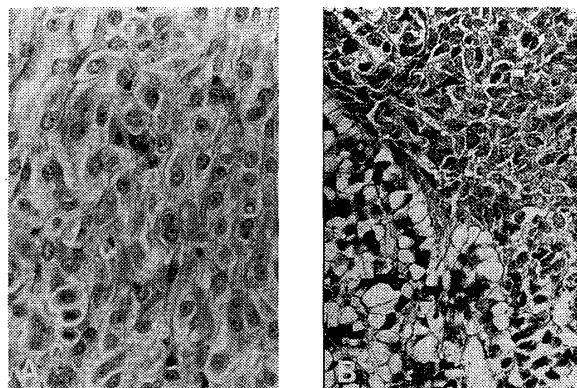


図1 Light micrograph of established SHIN-3 (A) and MN-1 (B) cells transplanted to nude mice (HE stain, $\times 400$)

(A: SHIN-3株): Homogenous な腺癌細胞の集団を示す。(B: MN-1株): 一部、腺腔形成を示し、細胞質内の粘液空胞形成が著しい。

均値から両細胞株の濃度依存性増殖抑制曲線を描き, MPA の IC_{50} 値を求めた。

(3) 無血清培地中での MPA の濃度依存性増殖抑制効果

SHIN-3株を無血清培地 HB101 (Hana Media, Inc., USA) で継代培養後, MPA を $10^{-4}M$ から $10^{-9}M$ まで添加した HB101 で 72 時間培養し, その細胞数 count から濃度依存性増殖抑制曲線を描き Eagle's MEM の場合と比較した。

IV. MPA 添加 Eagle's MEM 培養下での SHIN-3 株の腫瘍マーカー産生量の検討

SHIN-3 株 1.43×10^6 個を $25cm^2$ culture bottle に分散した。MPA $10^{-5}M$ 及び $10^{-8}M$ 含有の Eagle's MEM を添加後, 24 時間おきに 120 時間後まで medium を採取した。ELISA 125Kit® (ミドリ十字 (株)) 及びプロリフィゲン TPA キット® (第一ラジオアイソトープ研究所 (株)) を用いて, この medium 中の CA125 及び TPA 値を triplicate で測定し, その平均値から両腫瘍マーカー産生量の時間的変動を観察した。

V. MPA 添加培養における細胞形態の検討

MPA $10^{-8}M$ 添加 Eagle's MEM で 72 時間培養後の SHIN-3 株の細胞形態の変化を位相差顕微鏡下で観察し, また, tissue culture chamber (ラプテック®, 三光純薬) 内で培養したものにつき, HE 染色を行い光顕下で観察した。

VI. MPA 添加 Collagen Gel Embedded Culture における colony 形態の観察

MPA 添加 collagen gel 内で SHIN-3 株を培養

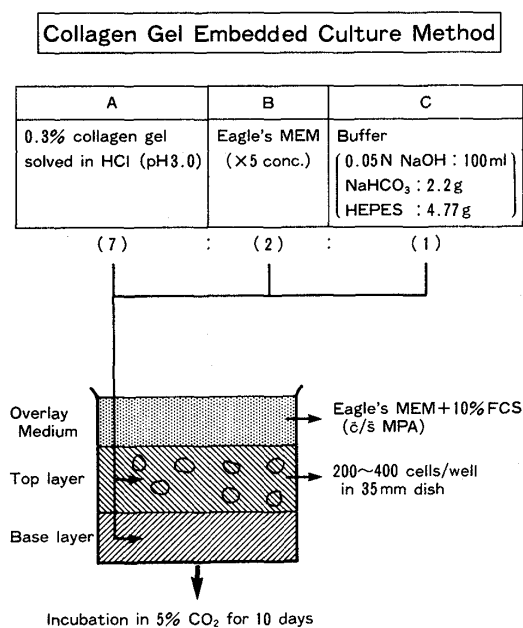


図 2

し, 形成された colony の size 及び形態を control と比較した。rat tail より抽出後, γ 線滅菌にて調整された collagen gel の溶液調整後 (図 2), 35 mm dish 内で base layer をゲル化させ, 細胞を分散させた top layer を重層ゲル化, 次いで $10^{-5}M$ 及び $10^{-8}M$ の MPA を溶解した overlay medium を加えて 10 日間培養し, 位相差顕微鏡にて形態観察した。

成 績

I. MPA の SHIN-3, MN-1 株に対する細胞増殖抑制効果

SHIN-3 株の増殖曲線上, MPA 添加群においても細胞増殖は緩やかに継続された。MPA 添加開始後 24~48 時間の対数増殖期において control が, 19.8 時間の doubling time を示したのに対し, MPA $10^{-8}M$ 添加群では 2.5 倍, $10^{-5}M$ 添加群では 3.2 倍の doubling time の延長が観察された。最終的には 120 時間培養後, control に対し, MPA $10^{-8}M$ 添加群で 24.8%, $10^{-5}M$ 添加群で 38.9% の増殖抑制効果が観察された (図 3)。一方, 同様の評価を MN-1 株に対して行つたが, control と MPA 添加群との間に有意な増殖抑制効果は観察されなかつた (図 4)。MPA の濃度依存性増殖抑制の評価では, SHIN-3 株が濃度依存性に順次, 生細胞数 count を減じ, control に対する MPA の IC_{50} 値は $2.7 \times 10^{-5}M$ であつた。しかし, MN-1 株に対する抑制効果は軽度であり, $10^{-4}M$ の MPA 添加においても 17% の inhibition が観察されたのみであり, IC_{50} 値を求めるに至らなかつた (図 5)。

II. 無血清培地培養での評価

SHIN-3 株は HB101 培養下では壁付着能が低下し, 球型の立体構造を形成しながら発育する。これに MPA 添加培養の結果, control に対する IC_{50} 値は $6.4 \times 10^{-6}M$ を得, Eagle's MEM に比較

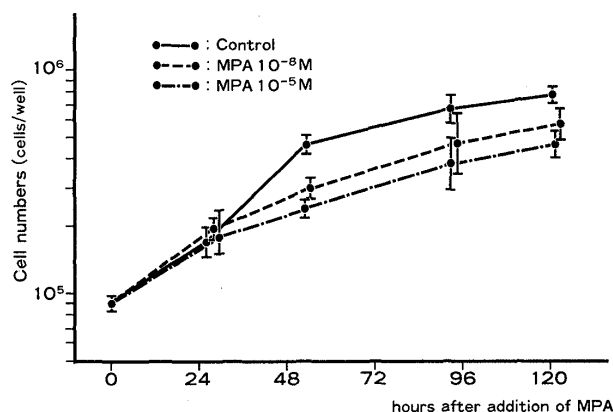


図 3 Effects of MPA on the growth curves of SHIN-3 cells

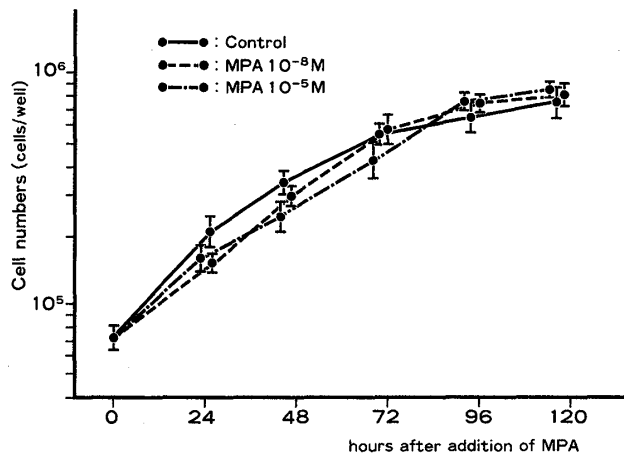


図4 Effects of MPA on the growth curves of MN-1 cells

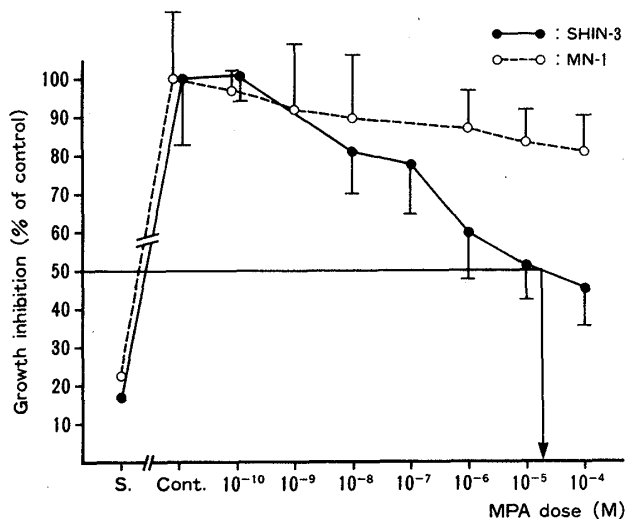


図5 Effects of MPA on cell growth of SHIN-3 and MN-1 cells

S.: 培養開始時の細胞数を示す。Cont.: MPA free の control 群を示す。

し低濃度での抑制効果が観察された (図6)。

III. MPA 添加実験での腫瘍マーカー産生量の変動について

培養液上清中の CA 125 値の測定では、MPA 10^{-8} M 添加群においては、MPA 添加後24時間、MPA 10^{-5} M 添加群においては48時間後まで、その値は測定感度以下であった。その後、時間経過に伴い培養液中の CA 125 量は増加した。最終120時間後、control に比し MPA 10^{-8} M 添加で35%、 10^{-5} M 添加で79%の産生抑制がみられた。一方、TPA 産生量の評価では、control と MPA 10^{-8} M 添加群との間に有意差はみられず、 10^{-5} M 添加で培養48時間以降に産生量を減じたが、その減少率に一定の傾向は見出されなかつた (図7)。

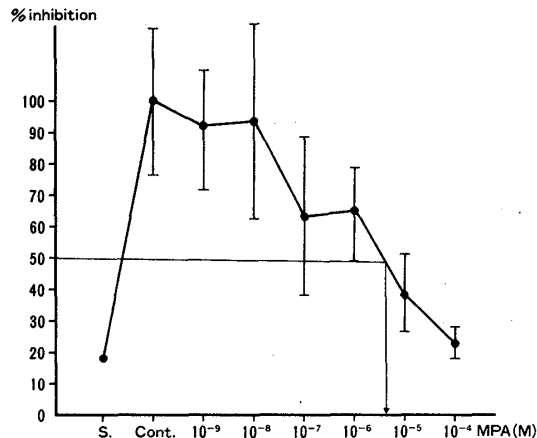


図6 MPA dose dependent growth inhibition of SHIN-3 cells cultivated in HB101

S.: 培養開始時の細胞数を示す。Cont.: MPA free の control 群を示す。

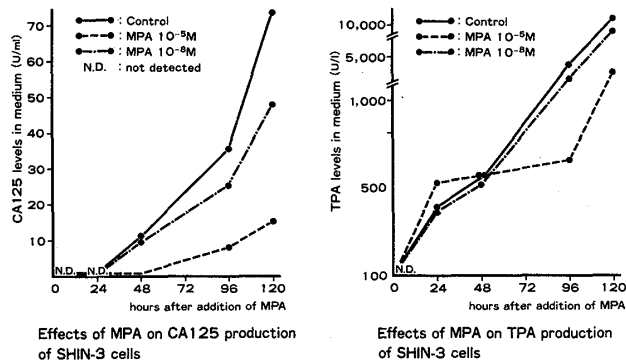


図7

IV. MPA 添加による細胞形態の変化

control medium 中での SHIN-3 細胞は敷石状に増殖後、細胞数の増加に伴い次第に小型化し、平板状に pile up するのを特徴とする。MPA 添加開始後は細胞質が菲薄化した大型の細胞が目立つようになる (図8)。同時に細胞質内には、小粘液空胞の充満もしくは膨満した数個の粘液空胞の形成が認められ、さらに、細胞質全体が膨化したものが散在性に観察される。また、数個の著明な核小体を有する核も次第に大型化し、その chromatin pattern は粗網状を呈する。全体的には細胞集団が平板状に pile up する性質は次第に失われ、ridge 状に隆起しながらそれらが互いに錯綜して interlacing な様相を呈していくのが観察される (図9)。

V. Collagen Gel Embedded Culture

control gel を用いた群では、培養開始後5日より明らかな colony の形成が観察され、次第に細胞数は増加しほぼ spheroid の colony を形づく

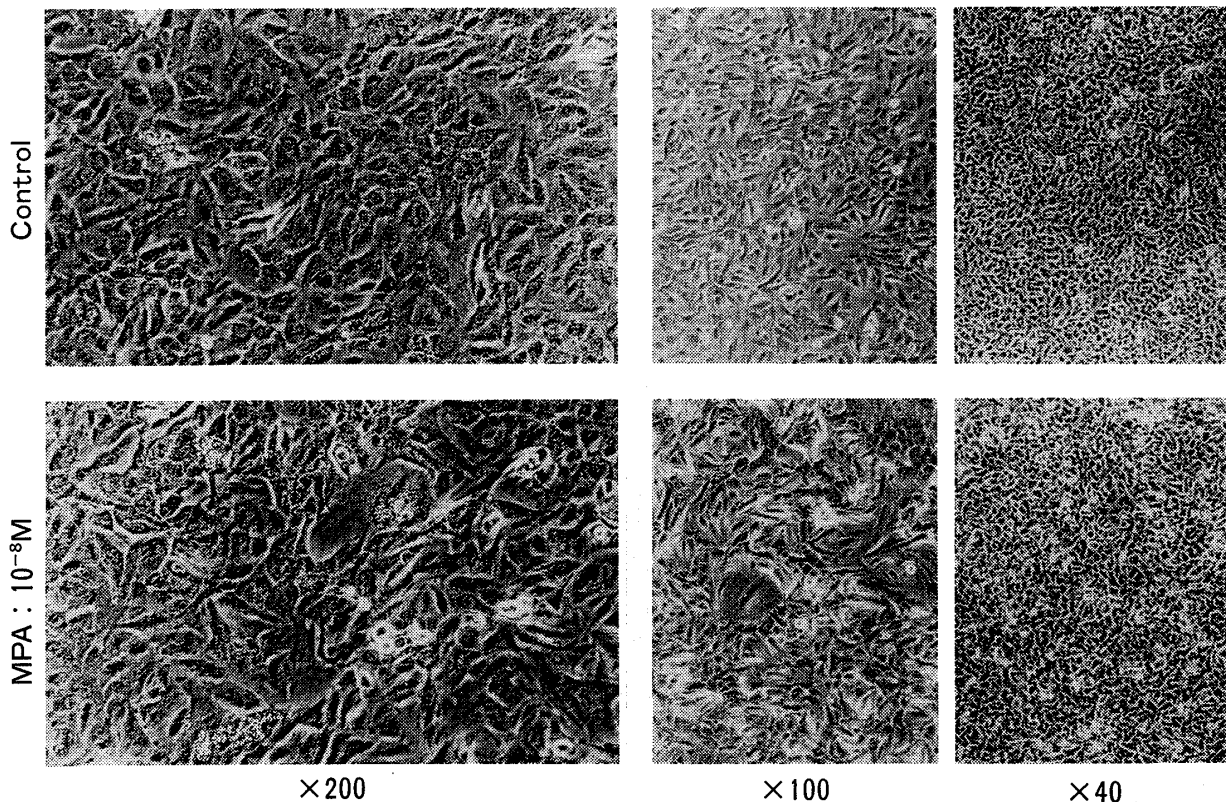


図8 Effects of MPA on morphological changes in SHIN-3 cells (by phase difference microscope)

上段の control に対し、MPA 添加培養下では、個々の細胞が大型化し、細胞質の非薄化した巨細胞の出現が観察される。

る。MPA 添加 gel での colony の出現は遅れ、培養10日目では図10上段に示すような MPA 濃度に依存した colony size の差を認めた。MPA 添加 gel での培養をさらに継続すると、図10下段に示すように細胞数は明らかに増加するが、その colony は、いくつかの分様した突起の集合体としての形態をとり、一見、腺管構造のようにもみられる。しかし、この形成された colony の断面を観察しても、明らかな線管は認めなかつた。

考 察

ステロイド・ホルモン産生臓器である卵巢組織は、発生段階でその影響下にあることが強く示唆されてきた。従来、estrogen 依存性に増殖するといわれる乳癌や子宮内膜癌等に、そのホルモン応答能を期待して progesterone や抗 estrogen 剤が臨床応用され、さらには MPA の大量療法による臨床効果が確認されると、この、癌に対するホルモン療法は卵巢癌の分野でもただちに応用が試みられた。しかし、1970年代後半から実施された数多くの case study ではIII期及びIV期卵巢再発癌が対象として選択された結果、化学療法抵抗群に対する MPA 単剤使用での奏効率は平均16.5%

(range : 0~36%) と、他領域での効果と比較し、当初の期待を裏切るものであつた⁸⁾¹⁰⁾¹⁵⁾¹⁷⁾。その後、1980年代前半に行われた、いくつかの化学療法剤と MPA の combination でも有意差を示した報告は知られておらず⁹⁾¹⁶⁾、以降、卵巢癌のホルモン療法に対する興味は次第に薄らいできた感がある。このように、MPA の再発卵巢癌に対する奏効率は乏しいものであつたが、初期の trial の成果で注目すべき点は化学療法剤治療群に比較し MPA 併用群ではその奏効期間は有意に延長し¹⁶⁾、また化学療法に伴う副作用の発現が少なく全身状態の改善に有効であつたとする報告⁹⁾が多いことである。しかしながら、過去の報告においては、実際の臨床上での奏効に対し期待を抱きすぎたせい、clinical trial が先行し、乳癌や子宮内膜癌を対象として行われたような基礎的実験に基づく評価はほとんどない¹²⁾¹⁴⁾。特にヒト卵巢癌培養細胞株を用いた *in vitro* での progesterone の細胞効果については、西田の receptor 応答を介しない progesterone の非特異的抗腫瘍効果を紹介した先見的な報告が知られているのみである³⁾。

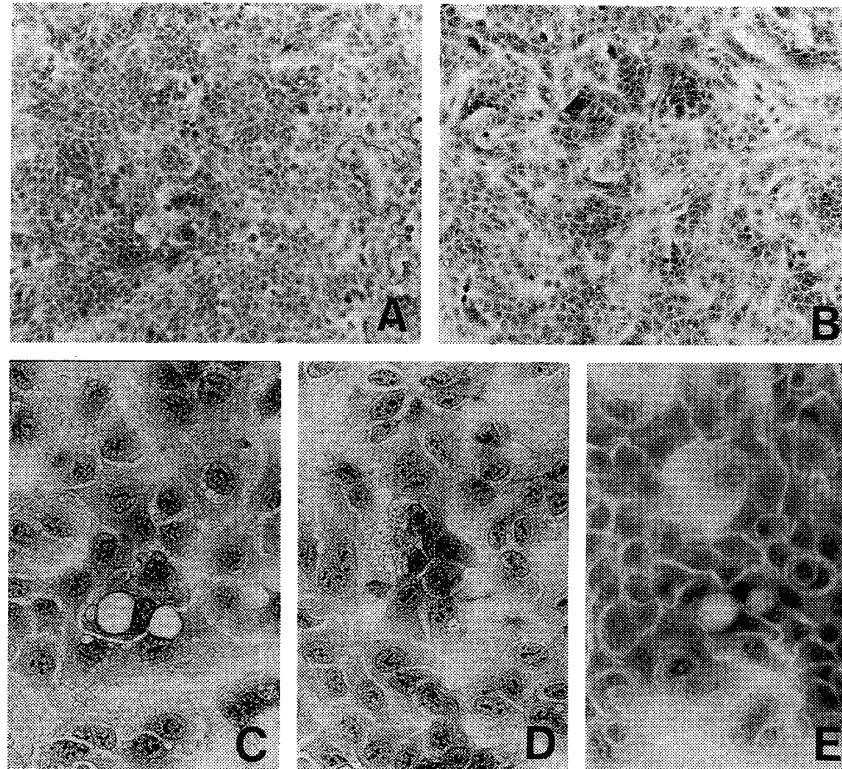


図9 Effects of MPA on morphological changes in SHIN-3 cells (HE stain) control (A: $\times 100$) に対し, MPA $10^{-5}M$ 添加 (B: $\times 100$) では, 細胞集団配列の interlacing 様配列が明らかとなる. 個々の細胞では, 細胞質内大型粘液空胞 (C: MPA $10^{-6}M$, $\times 400$), 細胞質内小型多量粘液空胞 (D: MPA $10^{-8}M$, $\times 400$) を有するものや膨化腫大した細胞 (E: MPA $10^{-5}M$, $\times 400$) が認められる.

我々も, 卵巣癌治療の臨床において P.S. の改善や食欲増進の目的で MPA を使用し⁵⁾, ある程度の効果を得ているが, 今回, MPA の卵巣癌に対する抗腫瘍効果に関する不十分な情報を補足する目的で基礎的検討を試みた. 実験に供した SHIN-3 及び MN-1 株は, とともに我々が樹立した細胞株であるが, 卵巣癌を代表する組織型である漿液性癌及びムチン性癌に対する反応を検討する目的で両株を選択した.

まず, 細胞の増殖曲線上では, 乳癌株や子宮内膜癌株では十分に殺細胞効果の観察される濃度の MPA 添加においても¹¹⁾, 両細胞株とも細胞増殖は継続され, 特に MN-1 株においては MPA 添加による増殖抑制効果は観察されなかつた. SHIN-3 株に対しても, 倍加時間の増加にみられるように, 細胞回転周期を延長させることによると推測される増殖抑制は観察されるが殺細胞的な抗腫瘍効果は認められなかつた. さらに, dose response curve から得られた SHIN-3 株の IC_{50} 値 ($2.7 \times 10^{-5}M$) は, ステロイド・ホルモン receptor の存在と MPA の効果とが関連づけられている MPA 高応答性の乳癌株で報告されている一般的な値に

比べ 1 オーダー高い値である⁴⁾. ただし, 通常の 10% FCS 添加培地中には estrogen 活性が測定されるため, 以上の実験結果は estrogen の priming の後の反応であると解釈される. この条件を除外する目的で行われた FCS free の HB101 での培養条件下では, 細胞集団が spheroid を形成するため, トリプシンによる細胞分散が困難となり細胞数計測での偏差が大きくなつたが, 得られた SHIN-3 株の IC_{50} 値 ($6.4 \times 10^{-6}M$) は低下する傾向を示した. SHIN-3 株が estrogen に応答する可能性も示唆されるが詳細については, 今後の検討を要する. 培養細胞株を用いて MPA の作用機序を flow cytometry で検討した善積ら⁷⁾は, 高濃度 MPA が, G_1 期ないし G_1 -S 移行期での cell progression を延長することにより DNA 合成や細胞分裂を阻害する, と報告しているが, 今回の検討でも同様な現象がおきている可能性が高い. 特に SHIN-3 株においては cell cycle 上, G_1 期に遊離・放出されることが推測される CA 125 産生量²⁾が, control に比した細胞数の増殖抑制を上回る抑制を示したことは, これを裏付けると考える. また, Holt et al.¹³⁾は MPA の細胞増殖抑制効果の観察

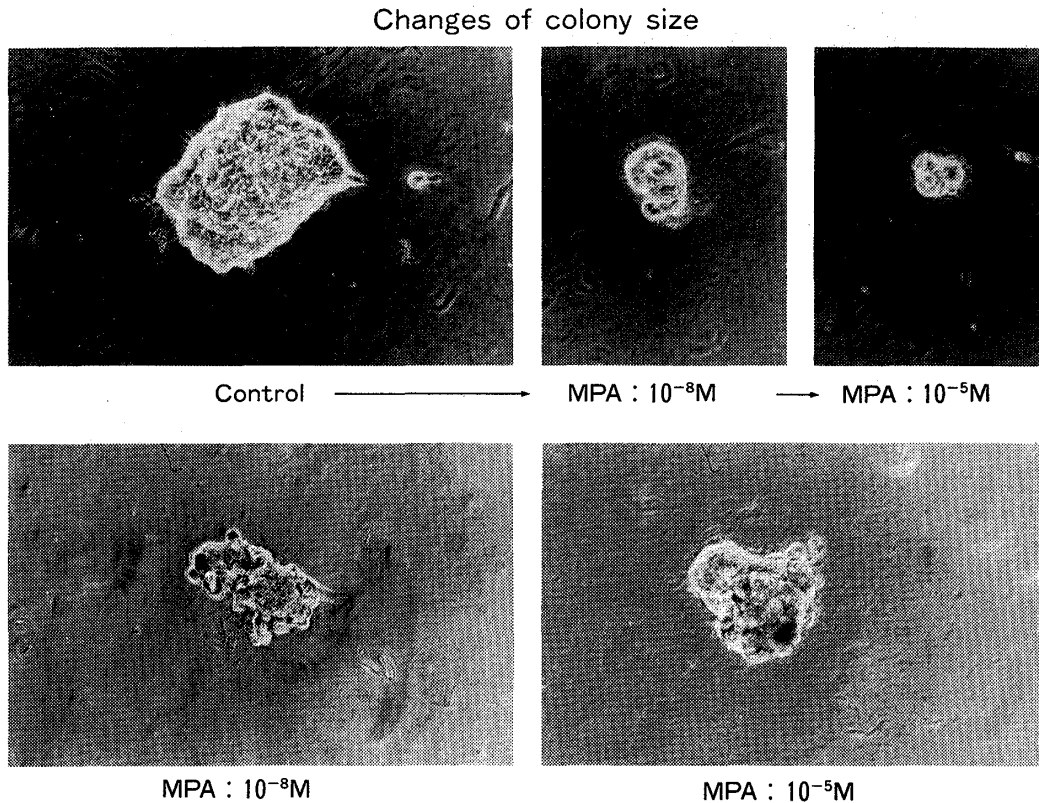


図10 Effects of MPA on morphological changes of SHIN-3 cells (Collagen gel embedded culture : phase contrast view, $\times 200$)

されない CA 125産生性 NIH-OVCAR-3株を用いた nude mouse 移植実験において CA 125産生能は steroid regulation を受けないことを主張していることから、やはり細胞増殖抑制に由来する現象である可能性が高い。

MPA 添加による細胞形態観察では、数値で得られた細胞増殖抑制効果が与える印象以上の変化がみられた。実験結果に示した細胞質や核における所見は、主に変性に基づくものであろうと推測するが、子宮内膜癌株での実験で報告されているように、doubling time の延長に由来する同調作用の結果、ある特定の cyclic phase の細胞が集積した状態を表現している、とも考えられる。また、従来 MPA の作用として強調される細胞分化能に関しても、今回の colony 形成実験では、それを示唆するごとく colony 分様傾向までは観察されたが、実際の腺管形成まで誘導するに至らなかった。分化の表現としての指標の設定も含め、今後の実験方法の工夫により解決されるべき問題点になると考える。

すなわち、MPA は卵巣ムチン性癌株には全く効果を示さなかつたが、漿液性癌株に対して興味ある応答が観察された。これは、MPA の卵巣癌に対する clinical trial での組織型別評価を裏付け

るものであり、今後、卵巣癌の chemo-endocrine therapy の有効性を検討する目的からも *in vitro* での実験が集積される必要があると考える。

MPA を供与下された協和発酵工業(株)、ならびに、コラーゲン試料を提供下された大阪府立大学附属研究所・岩井良昭博士に深謝いたします。また、本論文の御校閲を賜った、久留米大学医学部産婦人科・西村治夫講師ならびに薬師寺道明教授に感謝いたします。

文 献

1. 新井正夫, 上坊敏子, 角田新平: 卵巣癌に対する制癌剤と progestogens の併用療法. 産と婦, 55: 902, 1988.
2. 清塚康彦, 今井俊介, 野田恒夫, 森本純司, 森山郁子, 一條元彦, 螺良義彦: CA125 及び TPA 産生性卵巣漿液性嚢胞腺癌培養株の樹立とその性状. 日臨細胞誌, 27: 926, 1988.
3. 西田正人: 黄体ホルモンの *in vitro* における胃, 卵巣, 子宮原発腺癌に及ぼす殺細胞効果. 北里医学, 11: 588, 1981.
4. 野村雍夫, 田代英哉, 高永甲文男: ホルモン依存性ヒト乳癌培養細胞 (MCF-7) とその Antiestrogen 耐性細胞における諸種内分泌療法の効果. 癌と化療, 12: 844, 1985.
5. 富永 健, 北村正次, 林 和雄: Medroxyprogesterone acetate (MPA) の大量経口投与による進行乳癌の治療. 癌と化療, 8: 1727, 1981.
6. 吉田雅代, 清塚康彦, 今井俊介, 野田恒夫, 一條元彦: 新しいヒト卵巣ムチン性嚢胞腺癌培養株

- (MN-1)の樹立とその性状について。日臨細胞誌、投稿中。
7. 善積 昇, 佐藤 健, 西谷 巖: ヒト子宮内膜癌細胞 Ishikawa およびヒト乳癌培養細胞 MCF-7 に対する Progestogens 効果の基礎的検討。日内分泌会誌, 61: 220, 1985.
 8. Aabo, K., Pedersen, A.G., Hald, I. and Dombernowsky, P.: High-dose medroxyprogesterone acetate (MPA) in advanced chemotherapy-resistant ovarian carcinoma: A phase II study. *Cancer Treatment Reports*, 66: 407, 1982.
 9. Bumma, C., Bertetto, O. and Gentile, G.: The treatment of ovarian cancer with medroxyprogesterone acetate. In *Role of Medroxyprogesterone in Endocrinorelated Tumors*, Vol. II (eds. L. Campio, et al.), 177. Raven Press, New York, 1983.
 10. Freedman, R.S., Saul, P.B., Edwards, C.L., Jolles, C.J., Gershenson, D.M., Jones, L.A., Atkinson, E.N. and Dana, W.J.: Ethinyl estradiol and medroxyprogesterone acetate in patients with epithelial ovarian carcinoma: A phase II study. *Cancer Treatment Reports*, 70: 369, 1986.
 11. Fujimoto, J., Fujita, H., Hosoda, S. and Okada, H.: Mechanism of antitumoral activity of medroxyprogesterone acetate for endometrial cancer. *Acta Obst. Gynaec. Jpn.*, 41: 1836, 1989.
 12. Gronroos, M., Kangas, L., Maenpaa, J., Vanharanta, R., Nieminen, A.L. and Johansson, R.: Steroid receptors and response of ovarian cancer to hormones in vitro. *Br. J. Obstet. Gynecol.*, 91: 472, 1984.
 13. Holt, L.A., Waggoner, S.E., Lee, E.Y., Hubby, M.M. and Hamilton, T.C.: Serum CA125 and survival of mice inoculated with ovarian carcinoma and treated with antiestrogen, estrogen or progestin. *Gynecol. Oncol.*, 27: 282, 1987.
 14. Runge, H.M., Teufel, G., Neulen, J., Geyer, H. and Pfeleiderer, A.: In vitro responsiveness of ovarian epithelial carcinomas to endocrine therapy. *Cancer Chemother Pharmacol.*, 16: 58, 1986.
 15. Teufel, G., Geyer, H., Gregorio, G., Kline, W. and Pfeleiderer, A.: Steroid receptors in ovarian carcinoma: The value of gestagens in therapy of ovarian carcinomas. *German Italian Oncological Symp.*, 2: 63, 1983.
 16. Trope, C., Buchhave, P. and Stendahl, U.: High-dose medroxyprogesterone acetate for the treatment of advanced ovarian carcinoma resistant to chemotherapy. In *Proceedings of the International Symposium on Medroxyprogesterone Acetate* (eds. F. Cavalli, et al.), 490. Excerpta Medica, Amsterdam—Oxford—Princeton, 1982.
 17. Trope, C., Johnson, J.E., Sigrudsson, K. and Simonsen, E.: High-dose medroxyprogesterone acetate for the treatment of advanced ovarian carcinoma. *Cancer Treatment Reports*, 66: 1441, 1982.

(No. 7072 平3・9・9受付)