

# N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine 誘発ラット 甲状腺腫瘍における性ホルモンの影響

奈良県立医科大学口腔外科学教室

西岡 博人

## EFFECT OF SEX HORMONES ON THE DEVELOPMENT OF THYROID TUMORS IN RATS TREATED WITH N-BIS(2-HYDROXYPROPYL) NITROSAMINE

HIROTO NISHIOKA

*Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Nara Medical University*

Received January 10, 1992

**Summary:** The effect of sex hormone on the development of thyroid tumors in rats treated with N-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine (DHPN) was studied. In experiment 1, the incidences of thyroid adenomas induced by DHPN (210 mg/100 g body weight  $\times$  2) at the end of the experiment for 30 weeks were 35% in non-castrated rats, 100% in non-castrated rats treated with 500 ppm phenobarbital diet, 20% in castrated rats, 55% in castrated rats treated with 300 ppm testosterone(T) diet and 36% in castrated rats treated with 0.75 ppm estradiol diet. In experiment 2, the incidences of thyroid carcinomas induced by DHPN (210 mg/100 g body weight  $\times$  4) at the end of the experiment for 30 weeks were 68% in non-castrated rats, 52% in castrated rats, 55% in castrated rats treated with 100 ppm T diet, 66% in castrated rats treated with 300 ppm T diet, 72% in castrated rats treated with 600 ppm T diet, and 40% in castrated rats treated with 900 ppm T diet. Castration decreased the incidence of thyroid tumors in rats treated with DHPN. T (300 ppm~600 ppm) increased and T (900 ppm) decreased the incidence of thyroid tumors in castrated rats treated with DHPN, but estrogen did not. Serum TSH levels did not show the dose response of T in rats treated with DHPN and castration.

### Index Terms

thyroid tumors, castration, testosterone, TSH

### 緒 言

実験的甲状腺腫瘍の誘発については、低ヨード食<sup>1)</sup>, goitrogen<sup>2)</sup>, 放射線照射<sup>3)</sup>, 甲状腺片葉切除<sup>4)</sup>ならびにニトロソ系発癌剤<sup>5)-10)</sup>等の単独または組み合わせによる方法が報告されている。これらの発癌メカニズムは、直接あるいは間接的に TSH(thyroid stimulating hormone) の高値を維持することにより誘発するものと理解されている<sup>11),12)</sup>。疫学的データにおいても、これらのモデルに類

似する腫瘍発生例が示されている<sup>13)</sup>。

一方、臨床的に甲状腺腫瘍は発生頻度、悪性度ならびに予後において明らかな性差が見られるが<sup>14),15)</sup>、腫瘍の発生と性ホルモンとの関連性についての動物実験の報告例<sup>16)</sup>は乏しい。古くは、Napalkov<sup>17)</sup>の報告した methylthiouracil と性ホルモンとの同時投与、さらには Money<sup>18)</sup>らの報告例が見られるが、いずれの報告例も甲状腺腫瘍の発生と性ホルモンとの相関は明らかでない。

今回、著者は二段階発癌プロトコルを用いテスト

テロンおよびエストロゲン投与で性ホルモンが如何かる影響を示すか、さらには、それらの影響が直接的あるいは間接的なものかを検討したので考察を加えここに報告する。

材料および方法

実験1. 甲状腺腫瘍発生に及ぼす精巣切除後のアンドロゲンならびにエストロゲン投与による影響。

[動物および飼料] 実験動物としてSLC(静岡)から購入したWistar系雄ラット100匹(体重160~170g)を使用し、発癌物質としてN-bis(2-hydroxypropyl)nitrosamine(Nakarai tesque, 京都, 以下DHPN)を週1回, 体重100g当たり210mgを腹腔内に2回投与した。精巣切除はDHPN投与終了後7日目に施行した。ホルモン剤の投与は, 17- $\alpha$  methyl testosterone(Sigma, USA). 300ppmまたは17- $\beta$  estradiol(Sigma, USA)を0.75ppmの割合に基礎食(Clea CE-2, 大阪)に混合し, 飼料として自由摂取させた。尚, 陽性対照としてphenobarbitalを500ppmの割合に基礎食に混合した。

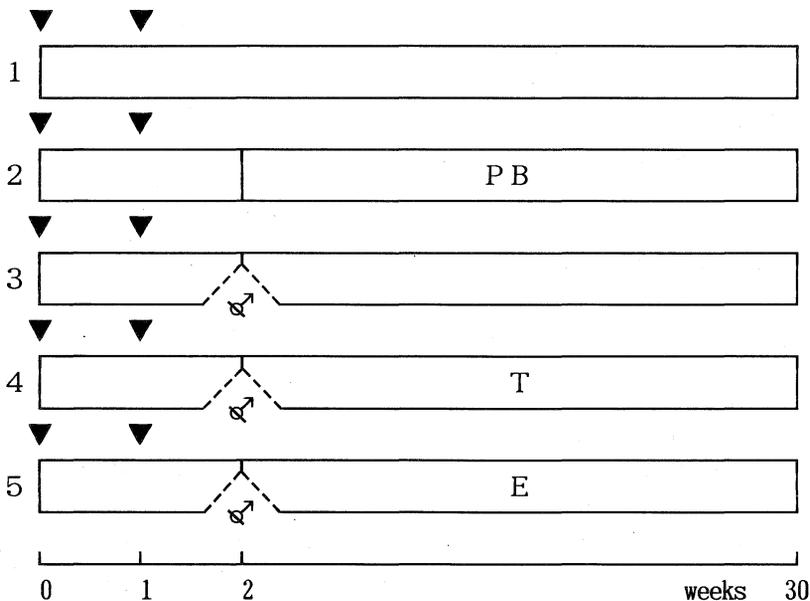
[方法] 実験群は各群雄ラット20匹づつで次の5群である(Fig. 1).

- 1群: 2回DHPN単独
  - 2群: 2回DHPN+500ppmフェノバルビタール
  - 3群: 2回DHPN+去勢
  - 4群: 2回DHPN+去勢+300ppmテストステロン
  - 5群: 2回DHPN+去勢+0.75ppmエストラジオール
- 観察期間は30週間で, 最終時生存した全ての動物から甲状腺と肝臓を摘出後重量測定し, 10%ホルマリンで固定した。固定後これらの臓器は通常の方法で組織標本を作製し組織学的に検索をした。

実験2. 精巣切除ラットの甲状腺腫瘍発生に及ぼすアンドロゲン投与の濃度効果。

[動物および飼料] 実験動物としてSLCから購入したWistar系雄ラット120匹を使用し, 発癌物質としてはDHPNを週1回, 体重100g当たり210mgを腹腔内に4回投与した。17- $\alpha$  methyl testosteroneの投与は100ppmから900ppmまでの4濃度として基礎食に混合し自由摂取させた。また, 対照群としてDHPN単独群とDHPN+去勢群を作成した。精巣切除はDHPN投与終了後7日目に施行した。

[方法]: 実験群は, 下記の如く各群雄ラット20匹づつの6群に分けた(Fig. 2).



- ▼: I.P. injection of 210mg DHPN/100g B.W.
- ♂: Castration
- PB: 500ppm phenobarbital in diet
- T: 300ppm testosterone in diet
- E: 0.75ppm estradiol in diet

Fig. 1. Experiment 1.

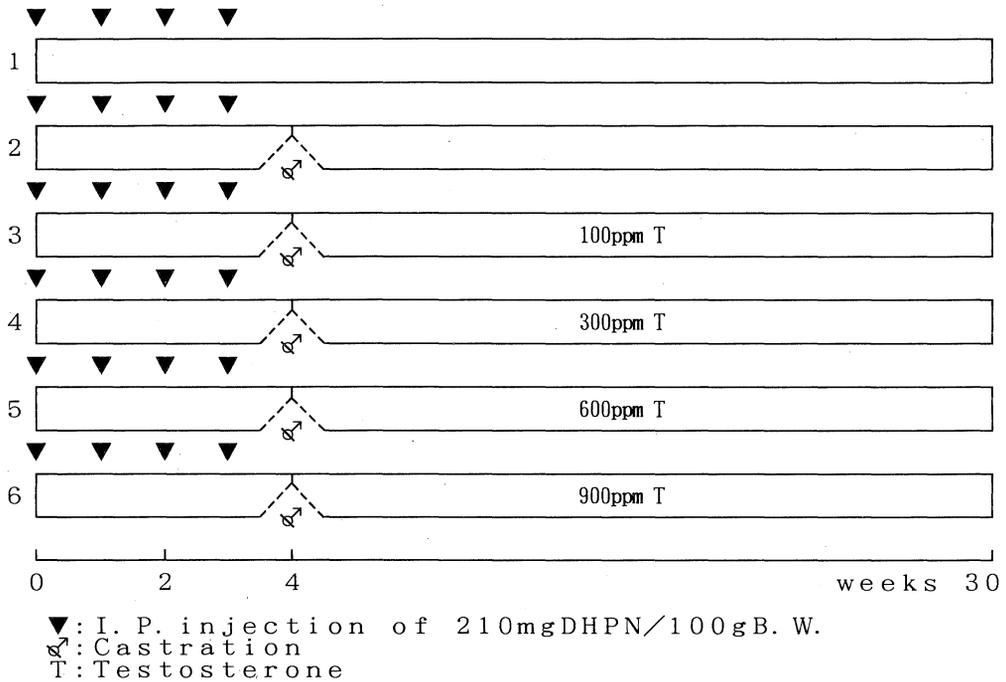


Fig. 2. Experiment 2.

- 1群：4回 DHPN 単独
- 2群：4回 DHPN+去勢
- 3群：4回 DHPN+去勢+100 ppm テストステロン
- 4群：4回 DHPN+去勢+300 ppm テストステロン
- 5群：4回 DHPN+去勢+600 ppm テストステロン
- 6群：4回 DHPN+去勢+900 ppm テストステロン

観察期間は30週間で、最終時生存した全ての動物から血液を採取後、甲状腺、肝臓、下垂体、前立腺および精囊腺を摘出し重量測定後、10%ホルマリンで固定した。これらの臓器は通常の方法で組織標本を作製し組織学的に検索した。

[ラット血清 TSH および T<sub>4</sub> の測定]

TSH 及び T<sub>4</sub> の測定は radioimmunoassay 法で行った。尚、TSH 測定のための抗原及び抗体は Parlow 博士の御好意により NIADDK (national institute of arthritis, diabetes, digestive and kidney diseases) から入手した。

① TSH の標識：標識抗原として rTSH-I-8 (10 μg/10 μl) を用い、<sup>125</sup>I・Na (NEZ-033 A 20, NEN, 1 mCi/10 μl) を chloramine-T 法で標識後、sephadex G-75 (9 × 15 cm) さらには、G-100 カラム (9 × 60 cm) で純化し高純度<sup>125</sup>I・rTSH を作製した。

② TSH の測定の実際：ラット血清にラット TSH 抗体 (rTSH-S-5) ならびに標識 TSH を反応後、48 時間後

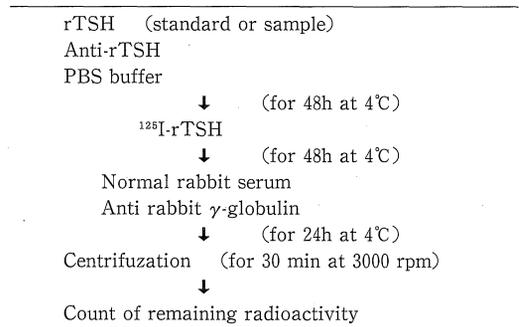


Fig. 3. RIA method of rat TSH.

に第二抗体として家兎 γ-グロブリン抗血清 (第一ラジオアイソトープ研究所) ならびに正常家兎血清 (第一ラジオアイソトープ研究所) を加え、24 h 放置し、3000 rpm、30 分間の遠心で B/F 分離を行った。その後、沈殿物の放射活性を γ-カウンターで測定した (Fig. 3)。尚、標準ラット TSH として TSH-RP-2 を用いた。

③ T<sub>4</sub> の測定：第一ラジオアイソトープ社の spack T<sub>4</sub> を用い固相法で T<sub>4</sub> を測定した。

統計学的処理は  $\chi^2$  および t-test で処理した。

結 果

実験1：甲状腺腫瘍発生に及ぼす精巣切除後のアンドロゲンならびにエストロゲン投与による影響；

①体重、甲状腺および肝重量の変化：屠殺時の体重は、精巣切除を行なった群すべてに増加抑制(P<0.05)を認めた。甲状腺重量ならびにその体重比は、DHPN単独群と比べフェノバルビタールおよびテストステロン投与群で統計学的な有意差を示し増加した(P<0.05)。しかし、精巣切除ならびにエストラジオール投与群には明らかな差が見られなかった。肝重量はフェノバルビタール投与群のみ増加(P<0.05)を認め、去勢、テストステロン投与ならびにエストラジオール投与群では逆に軽度の低下傾向を認めた(Table 1)。

②甲状腺腫瘍の発生：各群の腫瘍発生率、発生数、組織分類および過形成頻度はTable 2に要約した。実験的甲状腺腫瘍には濾胞上皮由来のものが多く見られ、高分化癌(乳頭状、濾胞状)と充実性増殖を示す低分化癌が生じうる。本実験で発生した腫瘍は、Napalkov<sup>19)</sup>の分類に従い組織学的に濾胞、乳頭および充実型に分類し、腺腫ならびに癌腫の区別は腫瘍の固有被膜内さらには非腫瘍部への浸潤の有無、核異型度によって判定した。

腺腫の発生はすべての群に見られ、各群の発生頻度は

第一群から順に35, 100, 20, 55および36%であった。癌腫の発生頻度は同様に5, 50, 10, 10および5%に認められた。陽性対照として用いたフェノバルビタール投与群での腺腫、癌腫ならびに過形成共にその発生頻度は、DHPN単独群と比べ顕著な増加が見られた(P<0.01)。従来の報告通り<sup>9),19),20)</sup>腫瘍発生のプロモーターとしての効果を有することが確認された。一方、去勢群での腫瘍発生率には著しい差は見られないが、発生数において、特に腺腫に著明な抑制が観察された。精巣切除後のテストステロンあるいはエストラジオール投与群での腫瘍発生への効果は、テストステロン投与後に腫瘍発生率の増加、さらには過形成の増加が見られた。しかし、エストラジオール投与群では腫瘍発生率、過形成共に明らかな変化は見られなかった。尚、発生した腫瘍の組織分類は、腺腫では濾胞型が多く、また癌腫では乳頭型が優位であった。

実験2：精巣切除ラットの甲状腺腫瘍発生に及ぼすアンドロゲン投与の濃度効果；

①体重ならびに各臓器の重量変化：最終時の体重変化は、実験1と同様に精巣切除施行群すべてで統計学的差(P<0.05)を示し増加抑制を示した。甲状腺重量は、1から5群にわたり強大な腫瘍形成があり、平均ならびにS.D.値が高値となり各群間に明らかな差を認めることは出

Table 1. Mean final body, thyroid and liver weights

Group	Treatment	No. of rast.	Body wt. (g)	Thyroid		Liver (g)	Liver/body wt. (g)
				Absolute (mg)	Relative <sup>a</sup>		
1	D	20	337±31	21.0±6.3	6.1±1.4	10.2±0.9	3.0±0.1
2	D+P	20	344±27 <sup>c</sup>	55.7±23.2 <sup>b,c</sup>	16.1±6.2 <sup>b,c</sup>	12.2±1.3 <sup>b,c</sup>	3.4±0.3 <sup>b,c</sup>
3	D+C	20	282±21 <sup>b</sup>	27.2±8.3 <sup>b</sup>	9.3±2.5 <sup>b</sup>	6.8±0.6 <sup>b</sup>	2.4±0.2 <sup>b</sup>
4	D+C+T	20	294±11 <sup>b</sup>	36.3±29.4	12.3±10.4 <sup>b</sup>	8.3±0.5 <sup>b,c</sup>	2.8±0.1 <sup>b,c</sup>
5	D+C+E	19	248±16 <sup>b,c</sup>	23.6±5.6	9.4±1.9 <sup>b</sup>	7.7±0.7 <sup>b,c</sup>	3.1±0.2 <sup>b,c</sup>

D, DHPN; P, 500ppm phenobarbital; C, castration; T, 300ppm testosterone; E, 0.75ppm estradiol; a, thyroid/body wt. × 10<sup>4</sup>. Values are mean±S.D.

Analysis of significance by t-test: b, p<0.05 (compared with group 1).

c, p<0.05 (compared with group 3).

Table 2. Histological findings of thyroids in each group

Group	Treatment	No. of rats.	Incidence of tumor (%)		No. of tumor in each histological type								Incidence of focal hyperplasia
			A.	C.	Follicular		Papillary		Solid		Total		
					A.	C.	A.	C.	A.	C.	A.	C.	
1	D	20	7 (35)	1 (5)	12	1	2	0	0	0	14	1	12 (60)
2	D+P	20	20 (100) <sup>a,c</sup>	10 (50) <sup>a,c</sup>	81	1	2	7	0	3	83	11	20 (100) <sup>a,c</sup>
3	D+C	20	4 (20)	2 (10)	2	0	2	2	0	0	4	2	6 (30)
4	D+C+T	20	11 (55) <sup>b</sup>	2 (10)	9	1	1	2	1	0	11	3	13 (65) <sup>b</sup>
5	D+C+E	19	7 (36)	1 (5)	9	1	1	0	0	0	10	1	8 (42)

D, DHPN; P, 500ppm phenobarbital; C, castration; T, 300ppm testosterone; E, 0.75ppm estradiol; A., adenoma; C., carcinoma. Analysis of significance of  $\chi^2$ -test: a, P<0.01 (compared with group 1).

b, P<0.05; c, P<0.01 (compared with group 3).

来なかった。しかし、900 ppm のテストステロンを投与した群のみ重量の絶対値、相対値共に低下傾向を認めた。

肝については全群共に DHPN 投与による形態的变化が見られ、その重量は各群共に差が見られた(P<0.05)。

前立腺および精嚢腺の重量は精巣切除群で明らかな萎縮の為測定は行わなかった。テストステロン投与群ではその投与濃度に比例し性付属器の重量増加が見られ(P<0.05)、テストステロンがラット生体内で有効であることが確認された。また、300 ppm テストステロン投与群の性付属器の重量が DHPN 単独群とおおよそ同じことから、この濃度が生理的レベルと推測された(Table 3)。

②甲状腺腫瘍の発生：各群の腫瘍発生率、発生数、組

織分類ならびに過形成頻度は Table 4 に要約した。腫瘍はすべての群にみられ、腺腫の発生率は第一群より順に 62, 68, 61, 72, 72 および 45 %であった。癌腫の発生率は、同様に 68, 52, 55, 66, 72 および 40 %であった。腫瘍の発生率において、顕著な差が見られた群は 900 ppm のテストステロンを連続投与した群で、腺腫、癌腫共に明らかな抑制が見られた。しかし、精巣切除群では実験 1 で見られた様な著明な抑制効果は認められなかった。

組織別での腫瘍発生数は、腺腫では濾胞型が優位であったが、癌腫は明らかな差がなかった。

③血清 TSH の変化：各群間の平均血清 TSH は Table 5 と Fig. 5 に示した。標準曲線(Fig. 4)から得ら

Table 3. Mean final body, thyroid, prostate, seminal vesicle weights

Group	Treatment	No. of rats.	Body wt. (g)	Thyroid		Liver (g)	Prostate (g)	Seminal vesicle (g)
				Absolute (mg)	Relative <sup>a</sup>			
1	D	16	311±18	50.4±48.8	15.7±13.8	9.0±0.8	0.31±0.05	0.51±0.05
2	D+C	19	289±21 <sup>b</sup>	49.3±55.2	17.6±20.5	7.4±0.8 <sup>b</sup>	.....	.....
3	D+C+100ppmT	18	296±13 <sup>b</sup>	32.9±24.3	11.0±8.1	8.1±0.5 <sup>b,c</sup>	0.12±0.36	0.19±0.04 <sup>b</sup>
4	D+C+300ppmT	18	280±29 <sup>b</sup>	47.7±50.8	17.1±18.5	8.3±0.8 <sup>b,c</sup>	0.32±0.80	0.55±0.14
5	D+C+600ppmT	18	284±17 <sup>b</sup>	33.6±26.5	11.8±9.2	8.6±0.8 <sup>c</sup>	0.43±0.10 <sup>b</sup>	0.69±0.09 <sup>b</sup>
6	D+C+900ppmT	20	261±18 <sup>b,c</sup>	25.3±12.4	9.5±3.9	7.8±0.5 <sup>b</sup>	0.53±0.16 <sup>b</sup>	0.80±0.11 <sup>b</sup>

D, DHPN; C, castration; T, testosterone; a, thyroid/body wt. ×10<sup>4</sup>. Values are mean±S.D.

Analysis of significance by t-test: b, P<0.05 (compared with group 1).

c, P<0.05 (compared with group 2).

Table 4. Histological findings of thyroids in each group

Group	Treatment	No. of rats.	Incidence of tumors(%)		No. of tumor in each histological type								Incidence of focal hyperplasia(%)
			A.	C.	Total		Follicular		Papillary		Solid		
					A.	C.	A.	C.	A.	C.	A.	C.	
1	D	16	10 (62)	11 (68)	21	17	14	2	7	14	0	1	14 ( 87)
2	D+C	19	13 (68)	10 (52)	22	21	12	10	9	3	1	8	18 ( 94)
3	D+C+100ppmT	18	11 (61)	10 (55)	23	24	19	13	3	8	1	3	15 ( 83)
4	D+C+300ppmT	18	13 (72)	12 (66)	26	34	22	11	3	19	1	4	18 (100)
5	D+C+600ppmT	18	13 (72)	13 (72)	35	23	26	6	8	8	1	9	16 ( 88)
6	D+C+900ppmT	20	9 (45)	8 (40)	14	15	9	2	3	9	2	4	17 ( 85)

D, DHPN; C, castration; T, testosterone; A., adenoma; C., carcinoma.

Table 5. Mean value of serum TSH in each group

Group	Treatment	Case	TSH (ng/ml)
1	D	12	2.95±1.81
2	D+C	18	3.74±1.77
3	D+C+100ppm	14	2.06±1.59 <sup>a</sup>
4	D+C+300ppm	13	2.83±1.62
5	D+C+600ppm	12	2.52±1.12 <sup>a</sup>
6	D+C+900ppm	15	2.76±1.64

D, DHPN; C, castration; T, testosterone.

Values are mean ±S.D.

Analysis of significance by t-test:

a, P<0.05 (compared with group 2).

Table 6. Mean value of serum T<sub>4</sub> in each group

Group	Treatment	Case	T <sub>4</sub> (μg/dl)
1	D	16	3.95±0.66
2	D+C	19	3.42±0.27 <sup>a</sup>
3	D+C+100ppm	16	3.25±0.54 <sup>a</sup>
4	D+C+300ppm	17	3.17±0.51 <sup>a</sup>
5	D+C+600ppm	16	3.03±0.36 <sup>a,b</sup>
6	D+C+900ppm	16	2.91±0.74 <sup>a,b</sup>

D, DHPN; C, castration; T, testosterone.

Values are mean ±S.D.

Analysis of significance by t-test:

a, P<0.05 (compared with group 1).

b, P<0.05 (compared with group 2).

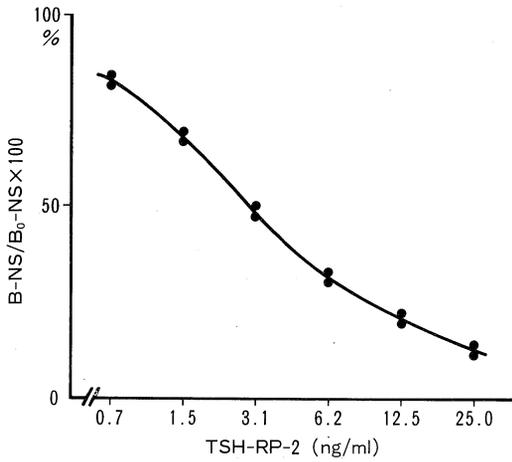


Fig. 4. Standard curve of rat TSH.

れた TSH 値は, DHPN 単独群と比較し統計的に差が見られなかったが, 精巣切除群と比べた場合, 100 ppm ならびに 600 ppm テストステロン投与群で平均値の低下が見られた。

④血中 T<sub>4</sub> の変化: 各群間の平均 T<sub>4</sub> 値は Table 6 に示した. 各群の S. D. は TSH の測定値と較べ小さかったものの, 各グループ間における T<sub>4</sub> 値の著明な変動は認められなかった。

### 考 察

ヒト甲状腺腫瘍の発生は女性に多く, 明らかな性差が特徴とされている. しかし, ラットの自然発生頻度では顕著な差が見られず, むしろ発癌剤で誘発した場合, 多くの報告で雄ラットに高頻度となることが知られている<sup>16), 21)</sup>. Doniach(1969)<sup>21)</sup>らはその理由として, 雄ラット

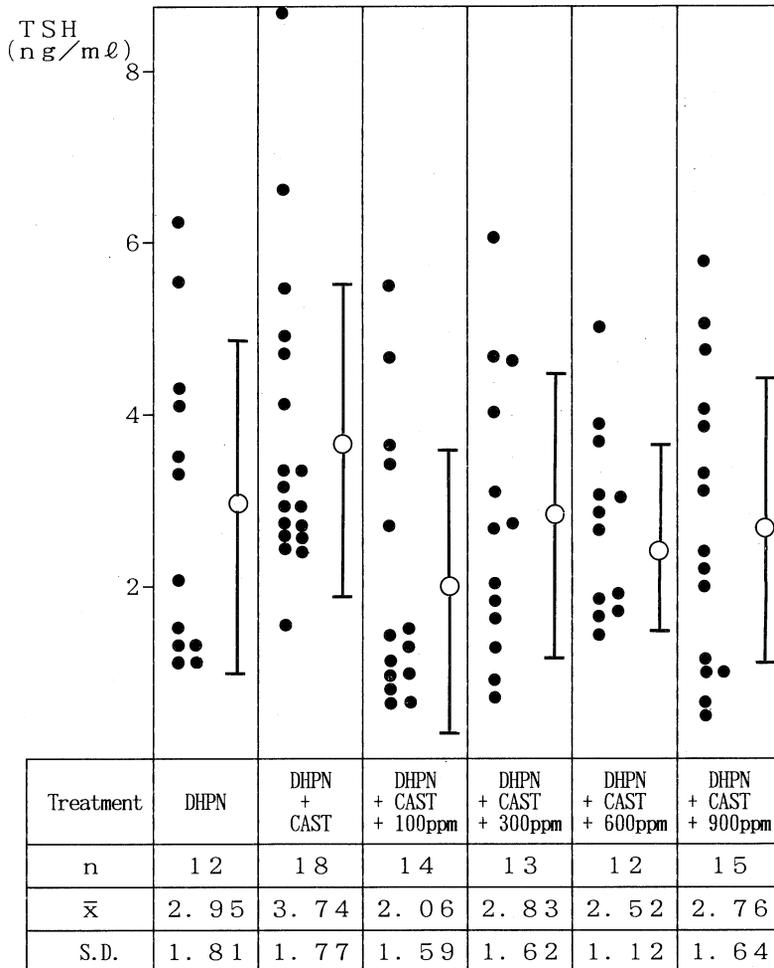


Fig. 5. Serum TSH concentration.

には TSH 活性を反映するとされる背丈の高い濾胞上皮細胞が正常ラットに多く見られることから、血中 TSH 値は雄ラットの方が高いと推測し、この様に正常の TSH 値の違いが腫瘍発生率の性差を生み出すものと述べている。事実、飛躍的進歩を遂げた radioimmunoassay 法で測定した雌雄ラットの血中 TSH 値では、おおむね雄ラットが高値である<sup>22)</sup>ことから、上記の説を裏付ける結果となっている。Paloyan<sup>16)</sup>らは、<sup>131</sup>I・Na 誘発甲状腺腫瘍発生過程で精巣切除を行うと腫瘍発生率が低下し、雌ラットと同様な発生率を示したことを認め、さらに、精巣切除後にテストステロンを投与すると、血中 TSH の回復と共に腫瘍発生頻度が上昇したことを報告している<sup>23)</sup>。この様に、多くの研究者が甲状腺腫瘍発生には血中 TSH 高値維持が不可欠であると述べている<sup>24)</sup>。

一方、日浅ら<sup>25),26)</sup>は、DHPN 誘発ラット甲状腺腫瘍の発癌モデルを用い、腫瘍多発群と非多発群、さらには、担癌群と非担癌群には、腫瘍発生と TSH 値との間に相関関係はなかったことを報告し、血中 TSH 値のみでは腫瘍発生メカニズムを解決しきれないとする興味深い報告を行っている。

今回、著者は雄ラットを用い、腫瘍発生に対する性ホルモン関与の可能性の有無、さらにはそのメカニズムの一端を解明する為、実験を行った。実験 1 では、Paloyan らの報告<sup>15),23)</sup>を参考として、精巣切除が DHPN 誘発癌においても彼等と同様な腫瘍発生率に抑制効果を示すのか、そして、精巣切除によって生体内でのテストステロンが極度に低下した状態でアンドロゲンあるいは、エストロゲン投与を行い、その影響についての検索を行った。今回の実験では、DHPN 腫瘍誘発過程での実験 1 および 2 の精巣切除効果は、著しい腫瘍発生率の低下を示さなかったが、発生した腫瘍数において特に腺腫、又は過形成に著しい低下を認めた。つまり、雄ラットの腫瘍形成にアンドロゲンが深く関与することを示唆させるものであった。さらに、その後の性ホルモン剤投与による結果では、アンドロゲン及びエストロゲン投与は発生した腫瘍数には明らかな差を示さなかったが、腫瘍発生率あるいは過形成の発生頻度に、明らかなアンドロゲンの影響の差が確認された。Money<sup>18)</sup>らは雌雄ラットに methylthiouracil とアンドロゲン、又はエストロゲンを同時投与し、アンドロゲン投与には腫瘍形成期間の短縮と腫瘍成長の傾向が、エストロゲン投与には腫瘍形成期間の延長が見られたと報告しており、著者の結果でも腫瘍発育に関してアンドロゲン投与群に巨大な腫瘍が見られたことは、彼らの結果を支持する所見であると思われる。さらに、著者は、実験 1 で認められた精巣切除後のアンド

ロゲンによる回復効果が濃度依存性なのか、この効果が血中 TSH を介する間接的効果か、あるいは直接的効果であるかを明らかにする為、実験 2 を施行した。その結果では、精巣切除後の腫瘍発生、特に癌腫の発生が、性付属器の重量から推測されるテストステロンの生理的レベル(300 ppm)までは濃度依存性に増加し、薬理量と思われる 900 ppm 投与群では、逆に腫瘍発生率に抑制傾向が認められた。また、腫瘍発生率の差が見られた群間での血中 TSH および  $T_4$  値は、発生率との相関関係が明らかでなかった。以上の結果は、雄ラットの腫瘍発生にはアンドロゲンの影響を示し、その効果は血中 TSH を介するよりもむしろ直接的作用の可能性が考えられ、またテストステロンの生理的レベル維持の重要性が示唆される結果であった。一方、文献的にげっ歯類で高濃度テストステロンが TSH, LH, 及び FSH の下垂体分泌ホルモンの調節を行っている可能性を示唆させる報告がある<sup>27)</sup>。

甲状腺と増殖因子(growth factor)との関係について in vivo では TSH, in vitro では TSH, EGF(epidermal growth factor)ならびに IGF-1 (insulin-like growth factor-1)などが報告されている<sup>11),28)-30)</sup>。テストステロンの作用経路は視床下部一下垂体系を介さない別の経路と考えられるが、乳癌で示唆されているエストロゲンと増殖因子の様な協調作用の機構を有している可能性も考えられる。今回の著者の結果から考察されたアンドロゲンの直接的な増殖促進効果が存在するとするならば、腫瘍細胞にアンドロゲン・レセプターの存在が必要不可欠となってくる。性ホルモン・レセプターと腫瘍増殖との関係については、乳癌、前立腺ならびに子宮内膜癌などで多くの研究がなされている<sup>31)-36)</sup>。甲状腺腫瘍においても性ホルモン・レセプターが存在するとする、報告例が少数ながらあり、その中で Prinz, R. A.<sup>37)</sup>らは、非悪性病変よりも分化型甲状腺癌にアンドロゲン・レセプターが多く存在すると述べている。

一方、Molteni, A.ら<sup>38)</sup>や Chaudhuri, P. K.ら<sup>39)</sup>は、ヒト甲状腺疾患は女性に多く見られることから甲状腺組織内のエストロゲン・レセプターに着目し、腫瘍と非腫瘍部での発現頻度の差について検討しており、著者<sup>40)</sup>もエストロゲン・レセプターが、悪性化に伴い顕著に発現頻度の低下を示すことを報告した。最近、北堀ら<sup>41)</sup>はラット甲状腺癌組織中にエストロゲンおよびアンドロゲン・レセプターが存在し、性ホルモン誘導による増殖機構への直接的関与の可能性を示唆する報告を行っており、ヒト甲状腺腫瘍の男女差を生む諸因子解明の手掛かりとする材料を提供している。

今回の実験結果から、雄ラット甲状腺腫瘍増殖へのア

ンドロゲンの関与を示唆させる結果を得、いくつかの腫瘍が精巣切除後にアンドロゲン依存性に発育した可能性が考えられる。これは、ラット甲状腺腫瘍発生における性差に起因する資料を提供するとともに、ヒト甲状腺腫瘍発生での性差を研究するうえにおいても興味ある結果である。今後、アンドロゲンが *in vitro* においても腫瘍細胞の増殖に関与しうるか、また、なぜ生理的レベルのアンドロゲンが必要なのか、そして癌のホルモン・レセプターは失われやすいとされるなかで、どれだけの期間アンドロゲンに依存した腫瘍増殖があるかは、さらに検討されなければならないと考える。

### 結 語

ヒト甲状腺腫瘍発生における性差解明を目的として、雄ラットを用いて腫瘍成長過程に及ぼす性ホルモンの影響を検索した。

①腫瘍発生頻度は精巣切除で減少するが、アンドロゲンの投与で回復を示した。

②精巣切除後のアンドロゲン投与による発生頻度は、アンドロゲン濃度依存性に増加を認め、生理量レベルで最も高い発生頻度を示したが、薬理量では逆に減少傾向が観察された。

③血清 TSH および  $T_4$  値は腫瘍発生率と明らかな相関関係は見られず、アンドロゲンが TSH を介さずに腫瘍増殖を促している可能性が示唆された。

稿を終えるにあたり、終始、御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました日浅義雄教授に深謝を捧げると共に、論文の御校閲と御助言を賜りました腫瘍病理学教室小西陽一教授、本研究の機会を与え、御校閲を賜った口腔外科学教室杉村正仁教授に心から感謝致します。あわせて研究を御援助下さった北堀吉映助手をはじめ、教室諸兄に深く感謝致します。

本論文の一部は、第 80, 81 回日本病理学会総会、第 50 回日本癌学会総会および第 10 回アジア・太平洋癌学会にて発表した。

### 文 献

- 1) Axelrad, A. A. and Leblond, C. P. : Cancer 8 : 339-367, 1955.
- 2) Money, W. L. and Rawson, R. W. : Cancer 3 : 321-335, 1950.
- 3) Lindsay, S. and Chaikoff, I. L. : Cancer Res. 24 : 1099-1107, 1964.
- 4) Doniach, I. and Williams, E. D. : Br. J. Cancer 16 : 222-231, 1962.
- 5) Hiasa, Y., Kitahori, Y., Ohshima, M., Fujita, T., Konishi, N. and Miyashiro, A. : Carcinogenesis 3 : 1187-1190, 1982.
- 6) Hiasa, Y., Ohshima, M., Kitahori, Y., Yuasa, T., Fujita, T. and Iwato, C. : Carcinogenesis 3 : 381-384, 1982.
- 7) Kitahori, Y., Hiasa, Y., Konishi, N., Enoki, N., Shimoyama, T. and Miyashiro, A. : Carcinogenesis 5 : 657-660, 1984.
- 8) Hiasa, Y., Kitahori, Y., Enoki, N., Konishi, N. and Shimoyama, T. : JNCI. 72 : 471-476, 1984.
- 9) Hiasa, Y., Kitahori, Y., Konishi, N., Shimoyama, T. and Lin, J. -C. : Cancer Res. 45 : 4087-4090, 1985.
- 10) Konishi, Y., Kondo, H., Ikeda, T., Kawabata, A., Shoji, Y. and Denda, A. : Gann 69 : 573-577, 1978.
- 11) Hiasa, Y., Kitahori, Y., Kato, Y., Ohshima, M., Konishi, N., Shimoyama, T., Sakaguchi, Y., Hashimoto, H., Minami, S. and Murata, Y. : Jpn. J. Cancer Res.(Gann)78 : 1335-1340, 1987.
- 12) Kitahori, Y., Ohshima, M., Matsuki, H., Konishi, N., Hashimoto, H., Minami, S., Thamavit, W. and Hiasa, Y. : Cancer Letters 45 : 115-121, 1989.
- 13) Mazzaferri, E. L. and Young, R. L. : Am. J. Med. 70 : 511-518, 1981.
- 14) Eisenberg, H. : Thyroid cancer. New York, Springer-Verlag, p 305-321, 1969.
- 15) Franssila, K. O. : Cancer 36 : 1138-1146, 1975.
- 16) Paloyan, E., Hofmann, C., Prinz, R. A., Oslapas, R., Shah, K. H., Ku, W. W., Ernst, K., Smith, M. and Lawrence, A. M. : Surgery 92 : 839-848, 1982.
- 17) Napalkov, N. P. : Acta Un. int. Cancer 19 : 756-757, 1963.
- 18) Money, W. L. : Thyroid cancer. New York, Springer-Verlag, p 140-149, 1969.
- 19) Napalkov, N. P. : Pathology of tumours in laboratory animals. vol. 1, part 2, p 239-253, Lyon, France : international agency for research on cancer, 1976.
- 20) McClain, R. M. : Toxicologic Pathol. 17 : 294-306, 1989.
- 21) Doniach, I. : Thyroid cancer. New York :

- Springer-Verlag, p 131-134, 1969.
- 22) Kieffer, J. D., Mover, H., Federico, P. and Maloof, F. : *Endocrinology* 98 : 295-304, 1976.
- 23) Hofmann, C., Oslapas, R., Nayyar, R., McCall, A. and Paloyan, E. : *Surgery* 100 : 1078-1087, 1986.
- 24) Prinz, R. A., Oslapas, R., Hofmann, C., Shah, K. H., Ernst, K., Refsguard, J., Lawrence, A. M. and Paloyan, E. : *J. Surg. Res.* 32 : 329-337, 1982.
- 25) Hiasa, Y., Kitahori, Y., Kitamura, M., Nishioka, H., Yane, K., Fukumoto, M., Ohshima, M., Nakaoka, S. and Nishii, S. : *Carcinogenesis* 12 : 873-877, 1991.
- 26) 北堀吉映, 家根旦有, 西岡博人, 松永 喬, 日浅義雄 : *ホルモンと臨床* 39 : 53-57, 1991.
- 27) Ross, D. S. : *Horm. metabol. Res.* 22 : 163-169, 1990.
- 28) Clark, O. H. and Castner, B. J. : *Surgery* 85 : 624-632, 1979.
- 29) Westermark, K., Westermark, B., Karlsson, F. A. and Ericson, L. E. : *Endocrinology* 118 : 1040-1046, 1986.
- 30) Russell, W. E., Van Wyk, J. J. and Pledger, W. J. : *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 81 : 2389-2392, 1984.
- 31) Raymond, W. A. and Leong, A. S.-Y. : *J. Pathol.* 160 : 295-303, 1990.
- 32) Kinsel, L. B., Szabo, E., Greene, G.L., Konrath, J., Leight, G. S. and McCarty, K. S. : *Cancer Res.* 49 : 1052-1056, 1989.
- 33) Cowen, P. N., Teasdale, J., Jackson, P. and Reid, B. J. : *Histopathology* 17 : 319-325, 1990.
- 34) Ferno, M., Borg, A., Johansson, U., Norgren, A., Olsson, H., Ryden, S. and Sellberg, G. : *Acta Oncologica* 29 : 129-135, 1990.
- 35) Jsaacs, J. T., Heston, W. D. W., Weissmas, R. M. and Coffey, D. S. : *Cancer Res.* 38 : 4353-4359, 1978.
- 36) Ianne, O., Kauppila, A., Kontula, K., Syrjala, P. and Vihko, R. : *Int. J. Cancer* 24 : 545-554, 1979.
- 37) Prinz, R. A., Sandberg, L. and Chaudhuri, P. K. : *Surgery* 96 : 996-1000, 1984.
- 38) Molteni, A., Warpeha, R. L., Brizio-Molteni, L. and Fors, E. M. : *Arch. Surg.* 116 : 207-210, 1981.
- 39) Chaudhuri, P. K. and Prinz, R. : *Am. J. Otolaryngol.* 10 : 322-326, 1989.
- 40) 西岡博人, 北堀吉映, 家根旦有, 中岡伸吾, 大嶋正人, 北村元一, 西井清治, 杉村正仁, 松永 喬, 日浅義雄 : *病理と臨床* 10 : 219-224, 1992.
- 41) 北堀吉映, 家根旦有, 西岡博人, 中岡伸吾, 大嶋正人, 小西 登, 西井清治, 北村元一, 松永 喬, 日浅義雄 : *ホルモンと臨床* 39 : 103-107, 1991.