甲状腺諸疾患の TSH レセプター・アデニル酸 シクラーゼ系に関する研究

第二編：ヒト甲状腺腫瘍

慶應義塾大学医学部 内科学教室

(指導：本間光夫教授)

阿 部 好 文

Studies on the Thyrotropin Receptor and Adenylate Cyclase Activity in Various Thyroid Diseases: II. The Properties of TSH Receptor and Adenylate Cyclase in Human Thyroid Tumors

Yoshifumi ABE

Department of Medicine,
School of Medicine, Keio University,
Tokyo, Japan

(Director: Prof. Mistuo Homma)

Well differentiated human thyroid carcinoma retains some of the functional properties of the normal thyroid, and its growth and metabolic activities are often responsive to thyrotropin (TSH) in vivo. In contrast, the rate of growth of undifferentiated thyroid carcinoma is not suppressed by thyroid hormone administration in vivo, suggesting the tumor is not under the influence of TSH. However, direct biochemical evidence for this responsiveness has not yet been reported.

In this study, we have evaluated TSH receptor and adenylate cyclase in human thyroid tumors. Furthermore, we have studied the effect of TSH on these tumor cells in primary culture.

In adenoma and differentiated carcinoma of the thyroid, two orders of TSH receptor were found. The mean of the capacity of high affinity receptor of adenoma (0.72 pmole/mg protein) and differentiated carcinomata (0.77) was not significantly different from that of normal thyroid. The affinity constants of the receptors in these three tissues were much the same ($7.2 - 9.2 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$). On the other hand, all of the undifferentiated thyroid carcinomata bound only small amounts of ^{125}I -TSH, and a high affinity receptor could not be detected.

The Basal, TSH(166mU/ml) stimulated and NaF(10mM) stimulated adenylate cyclase activities in these tissues were studied. In adenomata, the activity rose to 600% (range, 530–650) with TSH, which was significantly higher than that of normal thyroids ($P < 0.005$). In the differentiated carcinomata, TSH responsiveness of adenylate cyclase was heterogenous

(range, 120–520) but was qualitatively similar to that of the normal thyroids. On the other hand, basal adenylate cyclase activity of undifferentiated carcinomata was markedly lower than that of normal thyroids (0.018 nmole/10 min/mg protein, $P<0.05$) and was not stimulated with TSH. LH, FSH, and ACTH did not stimulate the enzyme in both differentiated and undifferentiated carcinomata of the thyroid.

Primary cultures of thyroid cells were obtained in Ham's F 12 medium containing 10% FSC after trypsinization of adenoma or differentiated thyroid carcinoma tissues. The morphological alteration by TSH stimulation was examined by phase contrast microscopy. In the absence of TSH, the cells of thyroid adenoma and those of differentiated carcinoma grew as a monolayer and had characteristics typical of epithelial cells. When the cells were cultured with TSH(100mU/ml), the cells proliferated faster and showed reorganized form.

These data suggest that growth and metabolic activity of adenoma and differentiated thyroid carcinoma may be affected by TSH, while those of undifferentiated thyroid carcinoma may be independent of TSH.

緒 言

分化したヒト甲状腺癌の中には、放射性ヨードを摂取し²⁰⁾, thyroxine や triiodothyronine を合成する²⁰⁾など、正常甲状腺の機能の一部を保持しているものが存在する。また、甲状腺癌を投与して、甲状腺刺激ホルモン (TSH) の分泌を抑制すると、甲状腺癌が縮小する症例の存在する事が知られている³⁾。さらに転移巣を有する甲状腺全摘患者において血中 TSH 濃度とサイログロブリン濃度が平行して動く事が報告されており³⁰⁾, これらの事実は、甲状腺癌に TSH 反応性が残存している可能性を示している。これに対して、甲状腺未分化癌は極めて進行が早く TSH 抑制療法の効果もほとんどないとされている¹⁵⁾。

一方、ラット甲状腺腫瘍には、TSH に全く不応性のものが存在しており、その組織には TSH レセプターが欠如している事が見出されている^{16) 17)}。さらに、腫瘍組織の増殖・分化には細胞内の cyclic AMP (cAMP) 濃度が密接に関連している^{10) 24)}。したがって甲状腺腫瘍において TSH レセプター・アデニル酸シクラーゼ系を検討し、TSH の増殖に対する作用を明らかにすることは、ホルモンと腫瘍の関連を解明し、また甲状腺癌患者の TSH 抑制療法の意義を明らかにする上で重要と考えられる。

そこで、各種ヒト甲状腺腫瘍における TSH レセプターおよびアデニル酸シクラーゼ活性の特徴を明らかにし、さらに組織培養を用いて、TSH の細胞増殖に対する影響を検討した。

実験材料および方法

1. 実験対象

正常甲状腺組織としては、腺腫摘出手術の際に同時に得られる正常組織 (9 例) を使用した。腫瘍組織としては、手術により得られた甲状腺腺腫 (4 例)、癌 (乳頭状癌 8 例、濾胞腺癌 1 例、未分化癌 1 例) および死亡後 4 時間以内の剖検で得られた未分化癌組織 (4 例) を使用した。

2. 細胞膜

細胞膜の作成、標識 TSH の作成、TSH レセプターの解析、アデニル酸シクラーゼ活性の測定は、第一編に述べた方法¹⁾によりおこなった。

3. 甲状腺細胞の組織培養

手術により摘出された組織を無菌的に SM 200 $\mu\text{g/ml}$, PcG 200 U/ml を添加した Dulbecco リン酸緩衝塩類溶液に入れ水冷した。周囲の結合組織をとりのぞいた上でハサミで 1 mm 角の大きさに細切し, 10 g 相当量を滅菌した瓶にうつし Mg^{++} , Ca^{++} , を含まない Dulbecco リン酸緩衝塩類溶液 [PBS(-)] 20 ml で 2 回洗浄した。洗浄した組織をトリプシナイジングフラスコに入れ, 37°C に暖めた 0.25% のトリプシン溶液 50 ml を加えて 37°C でゆっくり攪拌し, 10 分後にトリプシン溶液をとりのぞいた。新たにトリプシン溶液を加えて, 以後 30 分毎に 3 回トリプシン溶液を交換し, 浮遊細胞を含むトリプシン溶液に最終濃度 1% となるように胎児仔牛血清 (Microbiochemical 社) を加えてトリプシンの反応をとめた。この細胞浮遊液を 1 層のガーゼを通した後 200 g で 10 分間遠心して上清をとりのぞき, PBS(-) で 1 回洗浄した後, 10% 胎児仔牛血清, SM 100 $\mu\text{g/ml}$, PcG 100 U/ml を含む Ham's F 12 培養液 (Gibco 社) で細胞数が $2 \times 10^5/\text{ml}$ となるように希釈した。これを 5 cm 径のペトリ皿にて 5 ml ずつ分注し, TSH 添加しないものと 100 mU/ml の濃度で添加したものの 2 群にわけ 37°C, 5% CO_2 -95% 空気の条件下で培養した。残存する赤血球を除くため 24 時間後に培養液を交換し, 以後 48 時間毎に培養液の交換をした。

成 績

1. 甲状腺腫瘍組織の TSH 受容体

Fig. 1. に各甲状腺組織の ^{125}I -TSH 結合阻害曲線の代表的な例を示した。正常甲状腺, 腺腫, 分化癌組織の細胞膜に対してはいずれも 50% 前後の ^{125}I -TSH が結合し, その結合は非標識 TSH より 25 $\mu\text{U/ml}$ の低濃度から用量反応性に阻害された。しかし未分化癌組織の ^{125}I -TSH の結合は, はば 20% 前後で, 非標識 TSH を添加しても 10 mU/ml までは結合の阻害はみられなかった。これらの置換曲線の Scatchard plot をおこない, Rosenthal の方法に従って TSH レセプターの結合容量と結合定数を分析した (Table 1.)。正常甲状腺, 腺腫, 分化癌においては, 親和性の異なる 2 種類の TSH レセプターが存在した。高親和性レセプターに関しては, 三者の組織において, 結合

Fig. 1. The effect of unlabeled TSH on the binding of ^{125}I -TSH to membrane prepared from normal thyroid, adenoma, differentiated carcinoma or undifferentiated carcinoma.

Table 1. TSH receptors of normal thyroid, adenoma, differentiated and undifferentiated carcinoma of the thyroid.

Case	"high affinity"		"low affinity"	
	K _a 10 ¹⁰ M ⁻¹	Capacity pmole/mg	K _a 10 ⁷ M ⁻¹	Capacity pmole/mg
Normal thyroid				
mean	2.38	0.92	19.4	386
SEM	0.46	0.28	4.0	108
Adenoma				
1	0.56	1.50	4.1	214
2	1.38	0.22	1.0	435
3	2.63	0.18	7.3	286
4	1.96	0.64	9.5	149
mean	1.63	0.72	5.5	271
SEM	0.44	0.32	1.9	62
Differentiated carcinoma				
1	0.69	2.18	1.7	560
2	0.67	0.40	2.4	232
3	1.41	0.33	2.6	450
4	1.42	0.49	3.7	477
5	1.19	0.40	3.2	310
6	1.10	2.30	2.7	396
7	4.06	0.33	1.9	1014
8	3.09	0.13	5.9	451
9	2.50	0.34	3.6	1015
mean	1.79	0.77	3.1 ^a	545
SEM	0.39	0.28	0.4	94
undifferentiated carcinoma				
1	-	-	17.5	66
2	-	-	1.0	635
3	-	-	21.5	100
4	-	-	6.2	420
5	-	-	1.4	498
mean	-	-	9.5	344
SEM	-	-	3.1	83

Scatchard plot analysis of TSH bound to thyroid plasma membranes. The incubation solution contained 20–40μg/tube of membrane proteins, 2000 cpm of ¹²⁵I-TSH and appropriate amounts of unlabeled TSH. Incubation was performed at 37°C for 30 min.

a P<0.05 compared to the normal thyroid by Student t-test

定数，結合容量とも差はみられなかった。しかし低親和性の TSH レセプターに関しては，分化癌においては，その結合定数は正常甲状腺と比較して有意に低値であった。

一方，未分化癌組織においては，低親和性の TSH レセプターは結合定数，結合容量とも他の組織と有意の差はなかったが，5 例の組織すべてにおいて高親和性の TSH レセプターが欠如していた。

2. 甲状腺腫瘍のアデニル酸シクラーゼ活性

正常甲状腺組織および甲状腺分化癌，各 3 例において各種の濃度の TSH を添加してアデニル酸シクラーゼ活性の上昇を比較した (Fig. 2.)。両者とも 0.16 mU から 166 mU の間でアデニル酸シクラーゼ活性は用量反応性に増加し，その反応性に有意差を認めなかった。正常甲状腺，甲状腺腺

Fig. 2. The effect of TSH concentration on adenylate cyclase activity in normal thyroid and differentiated thyroid carcinoma. The basal activities of adenylate cyclase was considered 100% control values. Each point and vertical bar represent the mean $\pm$ SEM of 3 tissues.

腫, 分化癌および未分化癌の各組織における非刺激時, 166 mU/ml の TSH 添加および 10 mM NaF 添加時のアデニル酸シクラーゼ活性を (Table 2.) に示した。甲状腺腺腫において, 非刺激時のアデニル酸シクラーゼ活性は正常甲状腺と差がなかったが, TSH により著明に活性化され, TSH 添加時のアデニル酸シクラーゼ活性と非刺激時のアデニル酸シクラーゼ活性との比率は 6.0 ± 0.3 (平均 $\pm$ SEM) と正常甲状腺の 2.8 ± 0.2 とくらべて有意に高値であった。また NaF の添加によるアデニル酸シクラーゼの活性化も, 非刺激時との比率で平均 27.9 と高値であった。甲状腺分化癌でも非刺激時アデニル酸シクラーゼ活性は正常甲状腺と差がなく, TSH 添加により 6 例すべてにおいてアデニル酸シクラーゼは有意に上昇した。しかし, その程度は組織により異なり, TSH 添加時および非刺激時活性の比は 1.1 から 5.2 と広く分布していた。また NaF による活性化にも組織により差がみられた。

一方, 未分化癌においては非刺激時アデニル酸シクラーゼ活性は 0.016 ± 0.003 nmole cAMP/10 min/mg 蛋白と正常組織あるいは他の腫瘍組織と比較して著明に低く ($P < 0.05$), TSH 添加によってもその活性は全く上昇しなかった。しかし NaF 添加では全例に活性の上昇を認めた。また剖検組織 (Case 1, 2, 3, 5) と生検組織 (Case 4) の成績には差は認めなかった。

正常甲状腺 2 例, 腺腫 3 例, 分化癌 4 例, 未分化癌 5 例, 計 14 例については, TSH レセプターとアデニル酸シクラーゼ活性の両者を同一の組織で検討したが, TSH レセプターの結合定数, 結合容量とアデニル酸シクラーゼの TSH 反応性の間に, 相関を認めなかった。ただ, TSH の高親和性レセプターが欠如している未分化癌組織 5 例のアデニル酸シクラーゼはいずれも TSH 不応性であった。

つぎにレセプターの特異性を検討する目的で, 甲状腺分化癌 3 例および未分化癌 1 例においてアデニル酸シクラーゼの LH, FSH, ACTH に対する反応性を検討したが, アデニル酸シクラーゼ活性の上昇はみられなかった (Table 3.)。

Table 2. Effects of TSH and NaF on adenylate cyclase activity in normal thyroid, adenoma, differentiated and undifferentiated carcinoma of the thyroid.

Case	Basal	TSH 166mU/ml	NaF 10mM	Ratio TSH/Basal	Ratio NaF/Basal
nmole cAMP/10 min/mg protein					
Normal thyroid					
mean	0.35	1.00	2.27	2.8	6.8
SEM	0.17	0.52	1.07	0.2	0.4
Adenoma					
2	0.05	0.32	3.42	6.4	68.4
3	0.21	1.36	2.86	6.5	13.6
4	0.26	1.53	5.34	5.9	20.5
5	0.35	1.87	3.14	5.3	9.0
mean	0.22	1.27	3.69	6.0 ^a	27.9
SEM	0.07	0.34	0.56	0.3	13.7
Differentiated carcinoma					
6	0.24	0.42	0.86	1.8	3.6
7	0.32	0.92	2.26	2.9	7.2
8	0.14	0.33	1.15	2.4	8.2
9	0.15	0.78	2.93	5.2	19.5
10	0.09	0.20	0.91	2.2	10.1
11	1.07	1.21	3.82	1.1	3.6
mean	0.34	0.64	1.99	2.6	8.7
SEM	0.19	0.20	0.61	0.7	3.0
Undifferentiated carcinoma					
1	0.020	0.011	0.116	0.6	5.8
2	0.026	0.025	0.046	1.0	1.8
3	0.011	0.013	0.051	1.2	4.6
4	0.011	0.011	0.239	1.1	22.5
5	0.013	0.014	0.262	1.1	20.2
mean	0.016 ^b	0.015 ^b	0.143 ^b	1.0 ^a	11.0
SEM	0.003	0.003	0.046	0.1	4.2

The incubation solution contained 3mM MgCl₂, 0.5mM ATP, ATP regenerating system and 50μg of membrane protein (10K fraction). Incubation was performed at 37°C for 30 min. The results are the average of duplicate determinations.

a P<0.005 compared to the normal thyroid by Student t-test

b P<0.05 compared to the normal thyroid by Cechran-Cox's method

Table 3. Effect of TSH, LH, FSH and ACTH on adenylate cyclase activity in differentiated or undifferentiated carcinoma of the thyroid.

Case	Basal	TSH 166mU/ml	LH 5U/ml	FSH 5U/ml	ACTH 5U/ml
pmole cAMP / g wet wt. / 10 min					
Differentiated carcinoma					
12	71± 5	142± 7 ^a	58± 5	60± 6	58± 4
13	213±12	618±36 ^a	195± 7	142±15	135±16
14	184± 7	345±16 ^a	136± 5	177± 4	114±24
Undifferentiated carcinoma					
4	19± 5	20± 6	29± 7	20± 6	n.d.

The incubation solution contained crude membrane fraction of 50mg equivalent of thyroid tissue and was incubated at 37°C for 10 min. The results are mean ± SEM of triplicate determinations.

a P<0.05 compared to basal value of each tissue

n.d. = not determined

Fig. 3. Histological appearance of human thyroid cells grown in the absence (A, C, E) or in the presence (B, D, F) of TSH (100mU/ml) for five days.

A, B: Graves' thyroid cells, C, D: Adenoma cells

E, F: Papillary carcinoma cells

3. 培養細胞に対する TSH の影響

バセドウ病甲状腺は TSH を含まない培養液で培養すると多角形細胞と両端に突起を有する細胞が単層性に増殖したのに対して、TSH 100 mU/ml を添加して培養すると、細胞境界が明瞭となり、細胞の重層化がおこった。また一部には濾胞様構造が観察された (Fig. 3. A, B)。甲状腺腺腫でも同様に TSH を添加しない培養では単層性に増殖するのに対して TSH を添加すると重層して細胞密度が上昇した (Fig. 3. C, D)。乳頭状癌は TSH を添加しない場合は、バセドウ病甲状腺や腺腫と同様に単層性の増殖であったが、両者に比較して突起形成が減少していた。しかし TSH を添加すると癌腫においても他と同様に三次元に増殖して細胞密度は著明に上昇し、有機的配列をしめした (Fig. 3. E, F)。なお甲状腺腫瘍細胞では濾胞様構造の形成はみられなかった。

考 案

甲状腺癌の術後や転移例においては、甲状腺癌細胞の TSH 反応性を想定して、甲状腺ホルモン投与による TSH 分泌抑制の試みが甲状腺抑制療法として広くおこなわれている^{4), 32)}。一方、甲状腺未分化癌は、増殖はきわめてすみやかで抑制療法も有効ではない¹⁵⁾。その原因の一つとして分化癌と未分化癌の TSH 反応性が異なる可能性が考えられる。

著者らは、かつて乳頭状癌および腺腫には正常甲状腺およびバセドウ病甲状腺とほぼ同様な 2 種類の親和性の異なる TSH レセプターが存在することを報告した¹¹⁾。今回の多数例の検討でも、分化癌、腺腫ともに高親和性レセプターの結合定数および結合容量は正常と差がみられず、低親和性レセプターの結合定数のみが分化癌で低下していた。しかし第一編で述べたごとく、低親和性レセプターとして測定されるものには TSH と細胞膜の非特異的結合を含んでいる可能性が否定出来ず、その意義はなお今後の検討にまつ必要がある。一方、Takahashi は腺腫および分化癌の高親和性レセプターの結合容量が減少していることを報告²⁸⁾している。この差がなにによるかは明らかでないが、一つには著者が、非特異的結合を Rosenthal の方法にしたがい補正している点あげられる。

甲状腺腺腫のアデニル酸シクラーゼは、その周囲の正常組織と比較して同等あるいは、それ以上の TSH 反応性を示すといわれている^{5), 12), 25)}。今回の成績も同様であり、また NaF に対する反応性も亢進しているものがあつた。NaF はレセプターを介さず TSH とは別の機構でアデニル酸シクラーゼを活性化し²⁷⁾、また高親和性レセプターは正常と差がなかったことから、腺腫の TSH に対する反応性の変化は、アデニル酸シクラーゼ活性化における TSH レセプター以外の機構の変化によるものと思われる。

甲状腺分化癌においてはアデニル酸シクラーゼの TSH 反応性は正常と比較してやや低下しているとの報告^{9), 19)}があるが、著者の成績では、平均値は正常と差がなかった。しかし、個々の症例をみると、その TSH 反応性にはかなりのばらつきを認めた。このような異質性の存在は Field も報告⁸⁾しており、その原因として TSH レセプターの変化を想定している。しかし今回の成績では、少なくとも高親和性 TSH レセプターは、正常甲状腺と差がなく、他の因子の検討が必要と思われた。

一方、甲状腺未分化癌においては非刺激時のアデニル酸シクラーゼ活性は低値で、NaF 添加には反応したにもかかわらず TSH では全く活性の上昇が認められなかった。またこれらの組織では高親和性 TSH レセプターが欠如していた。4 例の未分化癌組織 (Case 1, 2, 3, 5) は、剖検時によりにリンパ節転移部より得た組織であり、死後変化によるものではないかとの疑問があつたが、生検って得られた Case 4 の組織でも全く同様な成績であつた。また手術時と剖検時の組織の間で TSH レセプターには 差がみられなかったとの報告¹⁸⁾もあり、著者も剖検時に得られた正常甲状腺が生検組織とほぼ同様な TSH レセプターの特性を示すことを経験している。したがって未分化癌にみられた高親和性 TSH レセプターおよびアデニル酸シクラーゼの TSH 反応性の欠除は死後変化ではなく、未分化癌に個有の性質と考えられた。このような現象は、他の腫瘍においてもみられ Morris Hepatoma 細胞など transformed cell の中には NaF には反応性を有するが、グルカゴンなど他の活性化因子には反応性がないものがあることが知られている²⁹⁾。

今回の成績は、甲状腺未分化癌において TSH 不応性が TSH レセプターの欠除によることを直接的に示し得たものと考ええる。

腫瘍化にともなう変化としてホルモンレセプターの質的变化があげられている。Ney は副腎癌組

織でACTH以外にエピネフリン、イルエピネフリン、TSH、LHでもアデニル酸シクラーゼが活性化され、その作用が相加的である事を見出し、Specificなホルモンレセプターがmultipleに存在するものと考案している²⁰⁾。またFieldは甲状腺分化癌でTSH以外にACTH、LH、GHでもアデニル酸シクラーゼの活性化を認めたことを報告⁹⁾している。しかし著者の検討した3例の甲状腺分化癌および1例の未分化癌においては、LH、FSH、ACTHに対する反応性はなくmulti receptorは見出されなかった。

線維芽細胞など培養細胞における研究より細胞内cAMP濃度と細胞増殖速度は逆相関するとされているが、この関係は一般的なものではなく、組織により異なっている¹⁰⁾。腫瘍細胞においてもcAMPは腫瘍細胞増殖を抑制するものが多いが不変のものや、逆に促進するものも存在しており組織により差がみられ一定の原則は存在しない²⁰⁾。甲状腺遊離細胞をTSHの存在下で培養すると正常甲状腺と類似した構造に再構成される事が1964年Kerkofにより示された¹⁰⁾。以後、ブタ^{6) 7) 31) 33)}、イヌ^{21) 22)}、ヒト^{21) 13)}の甲状腺細胞を使用して多くの検討がなされ、TSH存在下では細胞内のcAMPが増加しており、DBcAMPでもTSH添加時と同様の漏胞様構造の形成と細胞密度の上昇がみられることが明らかになった。このことより甲状腺組織においてはTSH濃度と増殖は正相関にあると考えられる。しかし甲状腺腫瘍細胞ことにヒト甲状腺腫瘍細胞に関する報告はない。今回、甲状腺腫瘍細胞をTSH 100 mU/mlを含む培養液で培養したところ、TSHレセプター・アデニル酸シクラーゼ系を有する甲状腺腺腫および分化癌はともに三次元の増殖をしめし細胞密度が著明に上昇した。また、バセドウ病甲状腺にみられた漏胞様構造の形成はなかったが、明らかなreorganizationが認められた。これらの成績は少なくともin vitroにおいて甲状腺腫瘍の増殖に対してTSHが促進的に作用することを明らかにしたものとする。

結 論

- 1). 甲状腺腺腫には、高親和性と低親和性の2種類のTSHレセプターが存在した。その結合定数、結合容量は正常甲状腺と有意差は認められなかった。アデニル酸シクラーゼは、TSH(166 mU/ml)で著明に上昇し、非刺激時とTSH添加時の比率 6.0 ± 0.3 (平均 $\pm$ SEM)は正常甲状腺の比率 2.8 ± 0.2 より有意に高かった($P < 0.005$)。
- 2). 甲状腺分化癌にも親和性の異なる2種類のTSHレセプターが存在し、高親和性レセプターの結合定数、結合容量は正常と差がなかった。またアデニル酸シクラーゼもTSHにより活性の上昇をみたがその程度は、症例によりばらつきがみられた。
- 3). 甲状腺分化癌3例および未分化癌1例ではTSH以外にACTH、LH、FSH刺激によるアデニル酸シクラーゼを検討したがTSH以外では刺激されなかった。
- 4). 甲状腺未分化癌では5例の組織すべてにおいて高親和性レセプターが検出されなかった。アデニル酸シクラーゼ活性は非刺激時、 0.016 ± 0.003 nmole cAMP/10 min/mg 蛋白と正常甲状腺の 0.22 ± 0.07 と比較して低値であり($P < 0.05$) NaFには反応したが、TSHに対する反応性が全く認められなかった。
- 5). 組織培養において、甲状腺腺腫、甲状腺分化癌細胞はTSHの添加により有機的配列を示し、また非添加時と比較して細胞密度の上昇がみられた。
- 6). 以上の成績から甲状腺ホルモン投与によるTSH分泌の抑制は甲状腺腺腫および分化癌の増殖抑制に有効である可能性が強いが、TSHレセプター・アデニル酸シクラーゼ系の欠除する未分化癌に対しては意味がないものと思われた。

稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜った恩師本間光夫教授に心より深く感謝いたします。また直接の御指導ならびに御校閲を賜った市川講師および組織培養法の御指導を戴いた病理学教室の向井万起男博士に深謝します。なお TSH の純品を提供していただいた UCLA の J.G. Pierce 博士および種々の便宜をはかっていただいた伊藤病院院長、伊藤国彦博士に感謝の意を表します。

本論文の要旨は、第49回、50回、52回日本内分泌学会総会において発表した。

本研究の一部は厚生省がん研究助成金（班長：阿部薫）および厚生省特定疾患ホルモン受容体異常症調査研究班（班長：井村裕夫）の研究補助金によった。

文 献

- 1) 阿部好文：甲状腺諸疾患の TSH レセプター・アデニル酸シクラーゼ系に関する研究。第一編：基礎的検討ならびにバセドウ病甲状腺と眼窩内脂肪組織のレセプター・アデニル酸シクラーゼ系。日内分泌会誌, 56: 739~753, 1980.
- 2) Bidey, S.P., Marsden, P., Anderson, J., Mckerron, C.G. and Berry, H.: In-vitro studies of normal human thyroid cells: responses to thyrotrophin and dibutyryl cyclic AMP. J. Endocr. 72: 87-96, 1977.
- 3) Crile, Jr. G.: Endocrine dependency of papillary carcinomas of the thyroid. JAMA, 195: 721-724, 1966.
- 4) Crile, Jr. G.: The endocrine dependency of papillary carcinomas of the thyroid, 269-275. Ed, S.D. Smithers, Tumors of the thyroid glands, E. & S. Livingstone, London, 1970.
- 5) DeRubertis, F., Yamashita, K., Dekker, A., Larsen, P.R. and Field, J.B.: Effects of thyroid-stimulating hormone on adenylate cyclase "cold" thyroid nodules and normal human thyroid tissue. J. Clin. Inv. 51: 1109-1117, 1972.
- 6) Fayet, G. and Lissitzky, S.: Cyclic 3', 5'-adenosine monophosphate mediated follicular reorganization of isolated thyroid cells in culture. FEBS lett. 11: 185-188, 1970.
- 7) Fayet, G., Michel-Bechet, M. and Lissitzky, S.: Thyrotrophin-induced aggregation and reorganization into follicles of isolated porcine-thyroid cells in culture. Eur. J. Biochem. 24: 100-111, 1971.
- 8) Field, J.B., Larsen, P.R., Kotani, M., Kerins, M. and Bloom, G.: Biochemical heterogeneity and diminished TSH responsiveness in human thyroid carcinoma, 551-554. Ed, by J. Robbins and L.E. Braverman, Thyroid Research, American Elsevier Publishing Co. Inc., New York, 1976.
- 9) Field, J.B., Bloom, G., Chou, M.C.Y., Kerins, M.E., Larsen, P.R., Kotani, M., Kariya, T. and Dekker, A.: Effects of thyroid-stimulating hormone on human thyroid carcinoma and adjacent normal tissue. J. Clin. Endocrinol. Metab. 47: 1052-1058, 1978.
- 10) Friedman, D.L.: Role of cyclic nucleotides in cell growth and differentiation. Physiol. Rev. 56: 652-708, 1976.
- 11) Ichikawa, Y., Saito, E., Abe, Y., Homma, M., Muraki, T. and Ito, K.: Presence of TSH receptor in thyroid neoplasms. J. Clin. Endocrinol. Metab. 42: 395-398, 1976.
- 12) Kalderon, A.E. and Sheth, V.: Secretion and adenylate cyclase in thyroid nodules. Arch. Pathol. Lab. Med. 102: 381-386, 1978.
- 13) Kaneko, Y.: Cyclic AMP level of human thyroid cells in monolayer culture TSH induced refractoriness to TSH action. Horm. Metab. Res. 8: 202-206, 1976.
- 14) Kerkof, P.R., Long, P.J. and Chaikof, I.L.: In vitro effects of thyrotropic hormone. I. On the pattern of organization of

monolayer cultures of isolated sheep thyroid cells. *Endocrinology* 74: 170-178, 1964.

15) Kyriakides, G. and Sosin, H.: Anaplastic carcinoma of the thyroid. *Ann. Surg.* 179: 295-299, 1973.

16) Macchia, V., Meldolesi, M.F. and Mandato, E.: Alterations in TSH-receptor in two transplantable rat thyroid tumors. *Ann. Radiol.* 20: 752-756, 1977.

17) Mandato, E., Meldolesi, M.F. and Macchia, V.: Diminished binding of thyroid-stimulating hormone in a transplantable rat thyroid tumor as a possible cause of hormone unresponsiveness. *Cancer Res.* 35: 3089-3093, 1975.

18) O'Donnell, J., Trokoudes, K., Silverberg, J., Row, V. and Volpé, R.: Thyrotropin displacement activity of serum immunoglobulins from patients with Graves' disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 46: 770-776, 1978.

19) Orgiazzi, J., Munari, Y., Rostagnat, A., Dutrienux, N. and Mornex, R.: Adenylate cyclase activity in thyroid carcinomas. *Ann. Radiol. (Paris)* 20: 757-760, 1977.

20) Pochin, E.E. and Thompson, E.: Metabolic activity of tumor tissue, 194-204. Ed. by Chr. E. Hedinger, H.I.C.C. Monograph Series vol. 12, Thyroid Cancer, Springer-Verlag, Berlin, 1969.

21) Rapoport, B.: Dog thyroid cells in monolayer tissue culture: adenosine 3',5'-cyclic monophosphate response to thyrotropic hormone. *Endocrinology* 98: 1189-1197, 1976.

22) Rapoport, B.: Acute effects of thyroid-stimulating hormone on cultured thyroid cell morphology. *Endocrinology* 102: 175-181, 1978.

23) Rosenthal, H.E.: A graphic method for the determination and presentation of binding parameters in a complex system. *Anal. Biochem.* 20: 525-532, 1967.

24) Ryan, W.L. and Heidrick, M.L.: Role of cyclic nucleotides in cancers, 81-116. Ed. by P. Greengard and G.A. Robinson, *Advances in Cyclic Nucleotide Research*, Vol.4, Raven Press, New York, 1974.

25) Sand, G., Jortay, A., Pocket, R. and Dumont, J.E.: Adenylate cyclase activities in human thyroid. Comparison of normal glands, hyperfunctional nodules and carcinoma. *Europ. J. Cancer* 12: 447-453, 1976.

26) Schorr, I., Rathman, P., Saxena, B.B. and Ney, R.L.: Multiple specific hormone receptors in the adenylate cyclase of an adrenocortical carcinoma. *J. Biol. Chem.* 246: 5806-5811, 1971.

27) Steer, M.L.: Adenyl cyclase, *Ann. Surg.* 182: 603-609, 1975.

28) Takahashi, H., Jiang, N., Gorman, C.A. and Less, C.Y.: Thyrotropin in normal and pathological human thyroid tissues. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 47: 870-876, 1978.

29) Thomas-Morvan, C., Nataf, B. and Tubiana, M.: Thyroid proteins and hormone synthesis in human thyroid cancer. *Acta. Endocrinol.* 76: 651-669, 1974.

30) Van Herle, A.J., Vassart, G. and Dumont, J.E.: Control of thyroglobulin synthesis and secretion. *N. Engl. J. Med.* 301: 307-314, 1979.

31) Verrier, B. and Cailla, H.: Endogenous cyclic AMP in thyroid cell culture: Effect of thyroid-stimulating hormone and dibutyryl cyclic AMP. *Biochim. Biophys. Acta.* 428: 233-239, 1976.

32) Werner, S.C.: Medical (suppressive) versus surgical therapy of the thyroid nodule; the problem of radiation exposure of the thyroid in youth, 576-583. Ed. by S.C. Werner and S.H. Ingbar, *The Thyroid*, Harper & Row, New York, 1978.

33) Winand, R.J. and Kohn, L.D.: Thyrotropin effects on thyroid cells in culture. *J. Biol. Chem.* 250: 6534-6540, 1975.

(特別掲載)