原 著

ヌードマウス移植ヒト未分化胚細胞腫に対する
ステロイドホルモンの影響

——特に基礎的形態学的検討を中心に——

東京慈恵会医科大学産婦人科

磯西 成治 落合 和徳 乾 裕昭
安田 允 寺島 芳輝 蜂屋 祥一

当教室で樹立したヌードマウス移植ヒト未分化胚細胞腫を用い、エストロゲン $1\mu\text{g/day}$ 投与群 (E)、プロゲステロン 1mg/day 投与群 (P)、コントロール群 (C) の3群に分類し、おのおのにつき、移植卵巢腫瘍の病理組織および細胞診を検討するとともに、腫瘍組織サイトゾール中のホルモンレセプターを測定し、形態、機能の両面から検討を行った。

成績：(1) 組織像の変化；C群は継代ごとに、細胞充実性の増加、およびMitotic Index (以下 MI) の軽度上昇を認めた。ほか2群はホルモン投与による組織構築の変化はみられなかったが、MIは2群とも著しい上昇を示した。

(2) 細胞像の変化；C群は全継代を通じ細胞診上著変は認めなかった。E群は細胞質内小空胞、核の大小不同の出現、クロマチンの淡染化を認めた。一方、P群の細胞は全体に小型で細胞質内に小空胞の出現、網様構造の消失を認めた。核は小型で、クロマチンは不規則細顆粒状を示した。核長径の計測ではC群 $14.1\pm 2.6\mu$ 、E群 $13.7\pm 3.2\mu$ 、P群 $10.9\pm 1.6\mu$ であった。

(3) 細胞質レセプターの変化；移植前腫瘍は、エストロゲンレセプター (ER)、プロゲステロンレセプター (PR)、いずれも約 5fmol/mg protein を有し、E群において、エストロゲン投与によるPRの増加を認めた。

以上より、細胞診、組織診を細胞質ホルモンレセプターと合わせ検討することにより、本腫瘍のホルモン依存性が示唆された。

Key words : Ovarian cancer—Human atypical dysgerminoma—Cytopathology—
Hormone receptor

I. 緒 言

近年、卵巢癌のホルモンレセプターについて、種々の観点から検討が加えられ卵巢腫瘍の発生、発育に関与す

る内分泌学的因子の意義が注目されつつある。上皮性卵巢腫瘍にゲスタゲン療法が効を奏した^{11,23,24}との報告や、プロゲステロン大量療法を進行卵巢癌患者に使用した有効例はきわめて少数例であったとの報告もあり¹²、卵巢悪性腫瘍のステロイドホルモン感受性につい

Histopathological study in hormone-treated ovarian cancer

Seiji ISONISHI, M.D., Kazunori OCHIAI, M.D., Hiroaki INUI, M.D., Makoto YASUDA, M.D., Yoshiteru TERA-SHIMA, M.D., Shoichi HACHIYA, M.D.

Department of Obstetrics and Gynecology, Jikei Uni-

versity School of Medicine

論文別刷請求先 105 東京都港区西新橋3の25の8 東京慈恵会医科大学産婦人科 磯西成治

昭和60年9月25日受付

昭和61年6月20日受理

図 1 方法 ①

てはいまだ画一的な見解をみていない。さらに、卵巣癌の細胞像、病理組織型とホルモンレセプターとの関係については、両者の間に特別な相関はないとの報告が多い^{6,16,20}。

そこで今回、われわれはヌードマウス移植継代系を用い、ステロイドホルモンを負荷した一定の内分泌環境下における、移植卵巣腫瘍の形態を観察し、組織中のステロイドホルモンレセプターレベルとの関連において検討し興味ある知見を得たので報告する。

II. 材料ならびに方法

21歳の女性右卵巣に発生した卵巣腫瘍 Atypical Dysgerminoma を継代培養して得られた JOHYL-1 株を生後、5~6週めに両側卵巣摘出術を施行した BALB/C ヌードマウス皮下に移植、以下に示す方法により継代移植を行った(図1)。すなわち移植1週間後、腫瘍生着を確認し、エストラジオール 1 μ g/0.1 ml 隔日皮下注群(E)、プロゲステロン 1 mg/0.1 ml 隔日皮下注群(P)、対照群としてゴマ油 0.1 ml 隔日皮下注群(C)、の3群にわけ、3週間ごとにおおのの群につき腫瘍の継代移植を行った。継代は初代から8代まで行い、各継代ごとに腫瘍組織細胞質中のエストロゲンレセプター(ER)、プロゲステロンレセプター(PR)を測定するとともに、移植腫瘍の組織、形態学的変化につき比較検討を行った。

1. 組織、形態学的検討

① Papanicolaou (PAP) 染色による観察

腫瘍採取後、ただちに標本の一部より捺印細胞診を採取、エーテル 95% エチルアルコールの等量液にて固定、PAP 染色を施し、染色性のよい部分につき 400 倍で検鏡した。さらに継代を経るごとに、核の腫大あるいは縮小

図 2 方法 ②

を認めたため、Micrometer を用い、核長径を測定した。

② Hematoxylin-Eosin (以下 H-E) 染色による組織学的検討—Mitotic Index (以下 MI) の変化を中心に—腫瘍組織の一部は 10% ホルマリン液により固定後、H-E 染色を施し、400 倍にて観察した。MI は、同一標本における Mitosis の認められた細胞の比率より求めた。

2. ホルモンレセプターの測定

腫瘍組織塊の一部約 1 gr をただちに冷生理食塩水にて洗浄、血液、壊死部分を十分に取り除いたのち、ただちに -80°C に凍結保存した。細胞質分画調整時、当標本を解凍、4 倍量の 0.01 M Tris Buffer (0.01 M Tris (hydroxymethyl) amino methan), 0.01 M EDTA, 0.012 M Thioglycerol 10% glycerol) を加え、0°C~4°C 下 physcotron にて粉碎、105,000 g にて遠沈しその上清を細胞質分画とした。なお、細胞質中蛋白定量は、Lowry¹⁰⁾ らの方法により求めた。レセプター測定には、[2, 4, 6, 7- 3 H]-Estradiol (106.0 Ci/mmol) および [17 α -Methyl- 3 H]-Promegestone (84.6 Ci/mmol) を使用し、Dextran-coated-Charcoal (0.25% Norit A Charcoal, 0.0025% Dextran) を加え、非結合型ステロイドを除去する、いわゆる DCC 法によった。これより Scatchard¹⁹⁾ 解析により解離定数と最大結合部位数を求めた(図2)。

III. 成 績

1. 形態学的変化(表1)

① C 群の継代変化: 細胞像の変化; 移植前腫瘍(F0)から第2代継代移植腫瘍(F2)に至るまでは細胞

表 1 Histological observation of the steroid hormone treated ovarian carcinoma

		Control			Estradiol			Progesterone		
		F0~F2	F3~F5	F6~F8	F0~F2	F3~F5	F6~F8	F0~F2	F3~F5	F6~F8
Cytoplasm	Staining	normal	slightly weak		normal	weak		normal	slightly strong	
	Reticular pattern	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
	Vacuole	(-)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
Nucleus	Chromatin	variform			variform	granular		variform	granular	
	MI	0.5~0.8	0.6~0.9	0.9~1.2	2.3	2.5~3.5	6.1~6.7	0.7	2.8	4.8
	Diameter	14.5	12.9	11.8	12.7	13.9	14.5	11.9	10.5	10.2

図 3 継代2代め. コントロール群 (H-E 染色, $\times 400$)
移植前腫瘍と変化のない Atypical
Dysgerminoma の像を示す

図 4 継代2代め. コントロール群 (Pap. 染色, $\times 400$)
腫瘍細胞は大型で, 大小不同の核を有し, 種々の
クロマチン模様がみられ, 原腫瘍の細胞像と著変
は認めなかった

像の変化はみられなかった. すなわち腫瘍細胞は大型 (12~20 μ) で, 円形あるいは類円形を示す大型で大小不同の核を有し, 種々のクロマチン模様がみられた. 細胞質は概して明るく, しばしば半透明にみえる場合があり, 胚細胞由来の特徴を示す網様構造を認め, いわゆる Atypical Dysgerminoma の所見がみられた. F3~F8 においては, 細胞質の軽度淡染化を認めたが核所見は F0 と同一であった. Micrometer を用いた核長径の計

図 5 継代8代め. コントロール群 (H-E 染色, $\times 400$)
細胞稠密性が高くなり, MI の軽度上昇を認めた

図 6 継代8代め. コントロール群 (Pap. 染色, $\times 400$)
初期継代の細胞像と著変はみられなかった

測では, 継代ごとに縮小傾向を認めたが, 平均核長径は $13.1 \pm 2.6 \mu$ であった (図 4, 6).

組織学的変化; 細胞学的には C 群全継代を通して結合組織がきわめて少なく細胞密度の高い像を呈した. 核分裂像は継代が進むにつれ増加傾向を示し, F0~F4 では MI は 0.5~0.9, F5 以降では 0.9~1.2 であった (図 3, 5).

⑧ E 群の形態変化: 細胞像の変化; 初代から F2 にかけては形態学的変化は少なく C 群の像に酷似した. F4~F8 に至り, 細胞質の淡染化, 細胞膜の明瞭化, 細胞

図 7 継代 2 代め, E 群 (H-E 染色, $\times 400$)
F 2 まではコントロール群と著変は認められない

図 8 継代 2 代め, E 群 (Pap. 染色, $\times 400$)
細胞質, 核ともにコントロール群と著変は認められない

図 9 継代 8 代め, E 群 (H-E 染色, $\times 400$)
分裂期細胞が多数みられ, MI の著しい上昇を認めた

質内空胞の出現を認めた。核はあいかわらず円形～楕円形を示したが, 大小不同, 不明瞭な核縁, 細顆粒状のクロマチンパターンを認め, C 群との差が出現した。核長径の計測では C 群とは逆に継代ごとにやや増大する傾向を示したが, 平均核長径は $13.7 \pm 3.2 \mu$ にとどまり, C

図 10 継代 8 代め, E 群 (Pap. 染色, $\times 400$)
腫瘍細胞は大型化し, 細胞膜の明瞭化がみられ, 核は増大傾向を示すとともに大小不同が認められた

図 11 継代 2 代め, P 群 (H-E 染色, $\times 400$)
2 代めまでは E 群同様, C 群との間に著変はみられない

図 12 継代 2 代め, P 群 (Pap. 染色, $\times 400$)
初期継代では細胞像にも著変は認めなかった

群との間に有意差は認めなかった (図 8, 10)。

組織学的変化; F 0～F 2 では細胞像同様著変はなく, やはり C 群に酷似した。E 群の組織像で注目すべき点は核分裂像の増加であり, F 2 における MI は C 群 0.8 に

図 13 継代8代め, P群 (H-E 染色, $\times 400$)
細胞質内網様構造の消失と, 多数の分裂期細胞を認める

対し E 群 2.3 と約 3 倍弱の分裂像を示した。C 群との差異は F 4 から現れ, F 4~F 8 において細胞間隙が少なくなるとともに, MI の測定では, F 2~F 4 で 2.5~3.5, F 4 以後は急激に多数の分裂期像を認め, 6.1~6.7 と F 2 の約 3 倍に増加した (図 7, 9)。

◎ P 群の形態変化: 細胞像の変化; F 2 までの継代移植では E 群同様, C 群の像に類似しており, プロゲステロン投与による変化はやはり F 4 から現れた。すなわち, 腫瘍細胞は全体に小型化し, 同時に細胞質の濃染性, 細胞膜の明瞭化, 細胞質内小空胞の出現, 細胞質内網様構造の消失が観察された。核は分裂期の大型核を除くと小型化し, これにより N/C の低下がみられ, 核膜は薄く, クロマチンは細顆粒状, 核小体はむしろ縮小, 淡染化を示した。核長径を計測すると全体に小型で, 平均長径は $10.9 \pm 1.6 \mu$ と C, E 群に比べ有意の縮小化とともに大小不同の減少が認められた (図 12, 14)。

組織学的変化; 組織像の変化も F 2 までは認められず, C 群の像に類似した。P 群においても組織像で注目すべきは MI の変動であり, F 2 で 0.7 を示したが, F 4 で 2.8, F 6 では 4.8 と 4 倍ないし 7 倍に上昇し, 分裂期細胞の急増加が観察された (図 11, 13)。

2. 細胞質内ホルモンレセプターの変化 (表 2)

移植前腫瘍細胞質中のレセプター濃度は, ER, PR のいずれも 5 fmol/mg protein であった。

① C 群の継代による変化: F 0~F 2 にかけて, ER は 10~20 fmol/mg protein と軽度増加を示したが, その後は 7 fmol/mg protein 前後とほとんど不変であった。PR は, F 2 で 15 fmol/mg protein といった増加がみられたが, その後継代を進めても 0~5 fmol/mg protein と低値が続く, 全継代を通じて移植前腫瘍の PR 値と著変は認めず平均 2.3 fmol/mg protein であった。

表 2 Cytosol receptor level (fmol/mg cytosol protein)

	n	ER	PR
Control	9	10.0 ± 3.4	$2.3 \pm 2.0^*$
Estradiol	9	19.0 ± 5.7	$16.8 \pm 6.2^*$
Progesterone	9	12.0 ± 3.1	5.6 ± 3.2

mean $\pm$ SEM, * $p < 0.05$

図 14 継代8代め, P群 (Pap. 染色, $\times 400$)
腫瘍細胞は小型化し, 細胞膜の明瞭化, 細胞質内網様構造の消失がみられた。核も小型で, 核膜は薄く, クロマチンは細顆粒状を示した

② E 群のレセプター変化: E 群では継代移植の初期からレセプター含有量に軽度の変化がみられた。ER は, F 3 までは検出されず, 4 以後になり 10~30 fmol/mg protein の ER が測定され, 全継代を通じての平均は 19.0 ± 5.7 fmol/mg protein と C 群に比べ上昇傾向を示した。一方, PR は F 2, F 3 でそれぞれ 27, 63 fmol/mg protein と一過性に上昇を示したが, F 4 以降は 10 fmol/mg protein 前後で安定し, 全継代を通じての平均値は 16.8 ± 6.2 fmol/mg protein となり, C 群と比べエストロゲン投与により PR に有意の増加を認めた。

◎ P 群のレセプター変化: P 群においては, F 2~F 8 を通し, レセプター濃度はほとんど不変であり, 一定の傾向はみられなかった。すなわち ER, PR ともにいずれの継代も 2~25 fmol/mg protein であり, 全継代の平均値はそれぞれ, 12.0 ± 3.1 , 5.6 ± 3.2 fmol/mg protein となり, プロゲステロン投与によるレセプター濃度の変動は認めなかった。

IV. 考 案

1. ホルモン投与による形態学的変化

ホルモン依存性癌の組織型とホルモンレセプターの関係については乳癌をはじめ種々の報告がある。Bloom²⁾,

McCarty¹⁴⁾ らによれば、乳癌の組織学的異型度とホルモンレセプターの有無との間に強い相関を示したと述べている。また、子宮内膜癌において加藤⁹⁾ は、組織型を3段階に分類し、低分化型では ER, PR はほとんどが陰性であるのに対し、分化型では大部分が陽性を示し、組織型との間に明らかな相関性を報告している。さらに Richard¹⁷⁾ らは子宮内膜癌の Architectural differentiation や Nuclear grade と PR との相関を考察し同様の成績を得ている。彼らはまた、ヌードマウス移植ヒト子宮内膜癌に対し、Estradiol, Tamoxifen, Medroxyprogesterone を投与し、ホルモンレセプター陽性例の癌にのみ組織学的変化を認めたと報告している¹⁸⁾。

卵巣癌のホルモン依存性については近年、報告例が散見されるが^{5,9)}、同腫瘍のステロイドホルモンレセプターと組織異型度に関する文献はきわめて少ない。片渕⁷⁾ は、ラット DMBA 誘発卵巣癌を用い、高エストロゲン環境下において光顕的に、結合織の増生, signet ring cell の増加, 血管の増生, 腺管および小腺管の形成を示している。今回われわれは、Atypical Dysgerminoma (JOHYL-1 株) を両側卵巣摘出術を施したヌードマウスに継代移植し、エストロゲン、プロゲステロン単独投与による特定のホルモン環境下において、病理形態学的変化を追求し検討した。

今回の実験モデルでは腫瘍継代移植が8代にも及ぶため、継代による組織変化も考慮すべきであり、このためまずC群での継代変化を観察した。この結果MIの軽度上昇がみられたがF8においても間質結合組織はきわめて少なく、腫瘍細胞は密に増生し空胞を多く認めるものの胚細胞由来の特徴を示す細胞質内の淡明な網様構造を認め、いわゆる Atypical Dysgerminoma の像が保たれているものと解釈される。したがって継代による組織学的変化は除外できると考えた。

E群では、F4以後により、細胞間隙の稠密化、核分裂像の増加などの変化が著明に出現し、MIも6.1~6.7と上昇を認めた。このことは本腫瘍がエストロゲンに感受性をもつ腫瘍であり、本剤の投与により腫瘍細胞の増殖促進が起きたものと推察された。

一方、P群において、プロゲステロン投与による細胞像の変化はF4から出現した。細胞間隙は逆に広く、腫瘍細胞は小型化し、細胞質内網様構造が消失しびまん性に染色された。MIはF6で4.8と分裂期細胞の増加を認め、平均核長径は $10.9 \pm 1.6 \mu$ と大小不同の消失および核の縮小化を認めた。以上の変化は松井²³⁾、西谷¹⁵⁾らの示す子宮内膜癌に対するプロゲステロンによる形態学的変化の報告とも一致しており、特に滝²¹⁾の示す組織学

的効果判定基準の3~4項目を満たしている点で腺癌と類似の変化を起こしているものと考えられ注目すべき点である。以上から本腫瘍はプロゲステロンに感受性を有するものと考えられたが、これらホルモン剤の作用機序を形態的变化のみから推察するのは困難であった。

今回の成績ではホルモン投与による細胞像の変化はいずれもF4以後になって出現している。継代3代めまでホルモン投与による形態変化を認めなかったことは、ステロイドホルモンの効果発現機序の一因がレセプターを介する経路によるもので直接的作用によるものは少ないことが推察される。

2. 卵巣腫瘍の細胞質内レセプターの検討

次に本腫瘍の細胞質内レセプターにつき考察する。

Thomas らは彼らの継代するヒト卵巣腫瘍株-NIH: OVCAR-3-を用い、 17β -Estradiol 投与により、プロゲステロンレセプターが誘導されたと報告している^{4,22)}。

本実験においては、やはり継代による細胞質内レセプター結合部位数の変化を考慮すべきであるが、移植前腫瘍細胞質中 ER, PR はいずれも $5 \text{ fmol/mg protein}$ C群の全継代を通しての ER, PR はそれぞれ 10 ± 3.4 , $2.3 \pm 2.4 \text{ fmol/mg protein}$ と著変を認めなかったため、継代による変化はないものとしいちおう除外した。なお、ヌードマウス背部皮下軟部組織には ER, PR は存在せず、移植腫瘍との contamination によるレセプター値の変動も除外できた。

E群ではまず、ERがF4以後で軽度の変動はあるものの継代を通じての平均は $19.0 \pm 5.7 \text{ fmol/mg protein}$ となり、一方、PRはF3で一過性の上昇を示し、平均値も $16.8 \pm 6.2 \text{ fmol/mg protein}$ と明らかな上昇を認めた。これらはC群に比しERは軽度上昇傾向を示すにとどまったが、PRについては明らかな有意差を認め、本腫瘍において、エストロゲン投与によるPRの誘導効果が示唆された。ここでPRの有意な上昇はF2から認められたにもかかわらず、細胞像の変化はF3まで明らかでなく、形態と機能の変動にずれが生じた。このことは、F2~F3の間に Receptor の Priming が起きていたものと推察される。一方、エストロゲンの細胞に及ぼす直接的な薬理作用に関しては今後さらに検討を要するものと思われる。

P群については全継代を通じ ER, PR に変動は少なく、平均値はそれぞれ、 12.0 ± 3.1 , $5.6 \pm 3.2 \text{ fmol/mg protein}$ であり、C群との間に有意差は認めなかった。すなわち、P群でのレセプター含有量は不変であるのに対し、細胞像の著明な変化がF4以後にみられた。プロゲステロンはエストロゲン依存性腫瘍の治療薬剤として臨床的

に使用されている。近年になり、卵巣腫瘍に対しても有効性が報告されてはいるが^{1,3)}、いずれも細胞質内レセプター含量との間に相関は認めておらず、レセプターの多少にかかわらず、ゲスタゲンが有効であったと述べている。本実験においても、プロゲステロン投与による細胞像の変化は細胞質内レセプター含量だけでは説明できず、本剤がレセプターを介していたか否かさえ推論できなかった。しかし、形態上の効果発現がF4以後に著明であったことは、今後さらに核レセプターおよびERとの相関関係などの検討を要するものと思われた。

V. 結 語

卵巣腫瘍に対する内分泌学的因子の意義が近年注目をあびつつある。今回われわれは、当教室樹立ヌードマウス移植ヒト卵巣腫瘍 (Atypical Dysgerminoma: JOHYL-1) を用い、一定の内分泌環境下における移植腫瘍の病理組織学的変化を考察するとともに、腫瘍細胞質の性ステロイドホルモンレセプターを測定し卵巣腫瘍の性ステロイドホルモン依存性につき基礎的検討を試みた。その結果、形態学的には、4代継代より変化が現れ、E群ではMIの著しい上昇、P群ではMIの上昇と並び細胞質内網様構造の消失が特徴的であった。一方、細胞質内レセプターの測定では、E群においてPRの増加がみられ、形態、機能の両面にステロイドホルモン投与の影響が認められ、当卵巣腫瘍のホルモン依存性が強く示唆された。

本論文の要旨は第23回日本臨床細胞学会秋期大会(於郡山)において発表した。また一部は第57回内分泌学会総会(於神戸)、第68回日本産婦人科学会、関東連合地方部会総会(於松本)、第37回日本産婦人科学会総会(於福岡)において発表した。本研究の一部は文部省科学研究費補助金(59771177)によった。

Summary

Since recent reports have provided some evidence for possible hormone-mediated effects of some ovarian tumors, this study was undertaken to investigate the effect of estrogen (E) and progesterone (P) on histological changes and hormone receptor content of tumors in this model system. Ovarian dysgerminoma tissue was transplanted to ovariectomized nude athymic mice (OVX-NU). OVX-NU were divided into three groups and subcutaneous injection of 1 µg of estradiol or 1 mg of progesterone in oil

or oil alone was given every other day for two weeks. The morphologic study and hormone receptor assay were carried out during serial transplantation. Results: The most significant histologic change following hormone administration is the elevation of mitotic index (MI) of E and P group comparing to control group. E treatment resulted in elevated concentrations of progesterone receptors (PR) as compared with control group. These results demonstrate that the morphologic changes have some relation to hormone receptor status of this tumor, and they provide the suggestion that receptor mediated hormone effect was displayed in the morphologic features of ovarian cancer.

文 献

- 1) Bergqvist, A., et al.: A study of estrogen and progesterone cytosol receptor concentration in benign and malignant ovarian tumors and a review of malignant ovarian tumors treated with medroxyprogesterone acetate, *Acta Obstet. Gynecol. Scand. Suppl.*, 101: 75, 1981.
- 2) Bloom, H.J.G., et al.: Histological grading and prognosis in breast cancer, *Br. J. Cancer*, 11: 359~377, 1957.
- 3) Christopher, J.J., et al.: Estrogen and progesterone therapy in advanced ovarian cancer: Preliminary report, *Gynecol. Oncology*, 16: 532~539, 1983.
- 4) Hamilton, T.C., et al.: Estrogen and progesterone receptors in ovarian neoplasms, *Gynecologic Oncology*, 15: 299~304, 1983.
- 5) Janne, O., et al.: Comparison of cytosol estrogen and progestin receptor status in malignant and benign tumors and tumor-like lesion of human ovary, *Int. J. Cancer*, 25: 175~179, 1980.
- 6) Jones, L.A., et al.: Estrogen and progesterone receptor titers in primary epithelial ovarian carcinomas, *Int. J. Cancer*, 32: 567~571, 1983.
- 7) 片岡秀樹: ラット DMBA 誘発卵巣癌の内分泌学的検討, エストロゲンレセプターの検出とエストロゲン投与による形態学的な検討, *日産婦誌*, 35: 1634~1640, 1983.
- 8) 加藤順三: 人子宮内膜癌の受容体分析—ホルモン依存性本態の解明—, *日産婦会誌*, 30: 818~827, 1978.
- 9) Larry, C.F., et al.: Estrogen and progesterone receptors in ovarian neoplasms, *Gynecologic Oncology*, 15: 299~304, 1980.
- 10) Lowry, O.H., et al.: Protein measurement with the Folin phenol reagent, *J. Biol. Chem.*, 193: 265~275,

- 1951.
- 11) Malkasian, G.D., et al. : 6-dehydro-6, 17-and dimethylprogesterone (NSC-123018) for the treatment of metastatic and recurrent ovarian carcinoma, *Cancer Chemother. Rep.*, 57 : 241~250, 1973.
 - 12) Mangioni, C., et al. : High dose medroxyprogesterone acetate in advanced epithelial ovarian cancer, resistant to first- or second-line chemotherapy, *Gynecol. Oncol.*, 12 : 314~318, 1981.
 - 13) 松井義明・他 : スー・マウス継代移植ヒト子宮内膜腺癌と長期大量性ステロイドホルモン投与に対する反応性, *日産婦誌*, 37 : 1177~1184, 1985.
 - 14) McCarty, K.S., et al. : Correlation of estrogen and progesterone receptors in histologic differentiation in mammary carcinoma, *Cancer*, 46 : 2851~2858, 1980.
 - 15) 西谷 巖・他 : Flow Cytometry による子宮内膜癌細胞と前駆増殖病変細胞の Progesterone 効果発現機構に関する研究, *日産婦誌*, 37 : 1161~1168, 1985.
 - 16) Pollow, K., et al. : ^3H -Estradiol and ^3H -R5020 binding in cytosols of normal and neoplastic human ovarian tissue, *Int. J. Cancer*, 31 : 603~608, 1983.
 - 17) Richard, J.Z., et al. : The relationship of histologic and histochemical parameters to progesterone receptor status in endometrial adenocarcinomas, *Gynecologic Oncology*, 16 : 196~208, 1983.
 - 18) Richard, J.Z., et al. : Morphology of human uterine cancer in nude mice, *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 108 : 571~578, 1984.
 - 19) Scatchard, G. : The attractions of proteins for small molecules and ions, *Ann. New York Acad. Sci.*, 51 : 660~672, 1949.
 - 20) Schwartz, P.E., et al. : Estrogen receptors in ovarian epithelial carcinoma, *Obstet. Gynecol.*, 59 : 229~238, 1982.
 - 21) 滝 一郎 : 子宮内膜癌とホルモン反応性, *臨床科学*, 11 : 938, 1975.
 - 22) Thomas, C.H., et al. : Induction of progesterone receptor with 17β -estradiol in human ovarian cancer, *JCE & M.*, 59 (3) : 561~571, 1984.
 - 23) Tobias, J.S., et al. : Management of ovarian carcinoma, Current concepts and future prospects, *New Engl. J. Med.*, 294 : 877~882, 1976.
 - 24) Weeth, J.B. : Large dose palliation; valuable in solid tumorpatients, *Cancer Res*, 15 : 165~171, 1976.
-