

# 乳癌のホルモン環境に関する研究

## 第 2 編

### 乳癌患者血中 ESTRADIOL に関する研究

岡山大学医学部第一外科教室 (主任: 田中早苗教授)

中 島 和 雄

[昭和51年3月6日受稿]

#### 第1章 緒 言

ホルモン定量法の進歩や分子生物学の発展によって、乳癌の内分泌療法も、従来の臨床統計や動物実験の成績に基づいた治療法から、さらにより本質的なホルモン療法が追求されるようになった。現在行なわれているホルモン療法は、両側卵巣術、両側副腎切除術<sup>1)</sup>、副腎静脈門脈系静脈吻合術<sup>2,3)</sup>、脳下垂体切除術<sup>4,5)</sup>などであるが、これらに対して生体内にホルモンの面より多くの検討が加えるようになってきた。

しかしながら、これらの治療法に対して治療方針の選択、治療の時期、手術効果の判定などの面で、決定的な基準は確立されていないため、いちじるしい治療成績の向上をみるにはいたっていない。したがって、患者の血中ホルモンの濃度を把握し、これに各乳癌組織のホルモン依存性を加味して治療を検討することは、大きな意義があると考えられる。

血液中に存在するホルモンの定量を困難にしている理由は、主として、その存在様式や turn over の状況が十分に究明されていないためである。

血中 estrogens, androgens の定量法は、double isotope method<sup>6)</sup> とか dilution method<sup>7)</sup> などがあるが、臨床的に応用するには、その手技が困難で routine に用いることができなかったが、最近ホルモンの radioimmunoassay の開発により、臨床的に routine に行なうようになった。私は estradiol の血中濃度を radioimmunoassay により測定し、乳癌患者の内分泌環境の 1 因子としての estradiol の意義を究明するとともに内分泌療法の適応、時期、効果判定などの指標として、その有用性を検討した。

#### 第2章 実験方法

##### 第1節 研究材料ならびに対象

岡山大学第一外科外来患者および入院患者 (1969~73年) の乳腺症、乳癌患者の卵胞期、黄体期の採血を行ない研究材料として用いた (正常婦人の卵胞期、黄体期の血液 5 ml を採血し対象とした)。乳癌患者は術前のみ採血し、両側卵巣切除 (以下卵巣と略)、両側副腎切除 (以下副腎と略) を行なった進行、再発乳癌患者の血液も術前・術後に採血を行なった。血液は採血後、遠心分離し血清を採取し、estradiol 測定まで 5℃ にて冷蔵庫に保存した。閉経症例は閉経後 5 年以上経過した婦人の血清を用いた。血清 estradiol 測定用の radioimmunoassay kit はミドリ十字 R I 株式会社より購入した。実験に使用した試薬は和光製薬、片山化学、東京化成などより購入した試薬特級を用いた。

##### 第2節 estradiol の抽出

通常行なわれている方法を多少 modify した。すなわち、ether 抽出のみでは血中の immunoreaction 阻害物質 (lipids など) を除去することができず回収率が低く、データーの“バラツキ”が多いためである。その方法は図 1 に示したが、estradiol と urea が結合物を作る性質を応用し<sup>8)</sup>、その精度を高めることができた。

図 1 sample serum 0.5 ml  
add ether 4 ml Vortex mixer 2 min.  
centrifuge 2000 rpm 5 min.  
frozen dry-ice acetone  
remove supernatant in test tube  
evaporate

add n-hexan 1 ml & 75% methanol-urea  
1 ml\*

Vortex mixer 2 min.

centrifuge 3000 rpm 5 min.

discard supernatant by vaccum

add water 1 ml & ether 3 ml (sample  
layer)

Vortex mixer 2 min.

reextraction 3 times

remove the water layer in test tube

add water 1 ml & ether 3 ml (sample  
layer)

evaporate the sample layer (ether)

sample

\* Priewe, H.,

### 第3節 radioimmunoassay

radioimmunoassayはCIS kit (ミドリ十字) の方法に従った<sup>9)</sup>。図2のごとくである。

#### 図2 sample

add Tris-EDTA buffer 0.3 ml

3 H-estradiol 0.1 ml

antibody 0.1 ml

direct mixer 10 sec.

incubate 37 °C 30 min.

incubate 4 °C 2 hrs

Dextran charcoal 0.5 ml

direct mixer 2-3 sec.

still stand 4 °C 10 min.

centrifuge 2000 rpm 5 min.

supernatant 0.5 ml + scintillation fluid

10 ml

counting(dpm)

## 第3章 実験成績

### 1. 正常婦人のestradiol値 (図3)

婦人科疾患の既往のない、正常と考えられる女性8例の卵胞期、黄体期および、閉経後5年以上を経過した婦人5例の血中estradiol値は図3に示した。卵胞期婦人の値は200~300pg/mlで、黄体期のものは300~480pg/mlであった。また、閉経婦人のものは100~220pg/mlであった。

### 2. 乳腺症婦人のestradiol値

触診およびマンモグラフィーで乳腺症と診断された閉経前婦人10例 (No14~23) と、閉経後婦人8例

(No24~31) について血中estradiolを測定した。その結果は図4のごとくである。卵胞期250~420pg/ml、黄体期320~440pg/mlとなっている。また、閉経後のものは230~570pg/mlであった。

図3 正常婦人血中 Estradiol

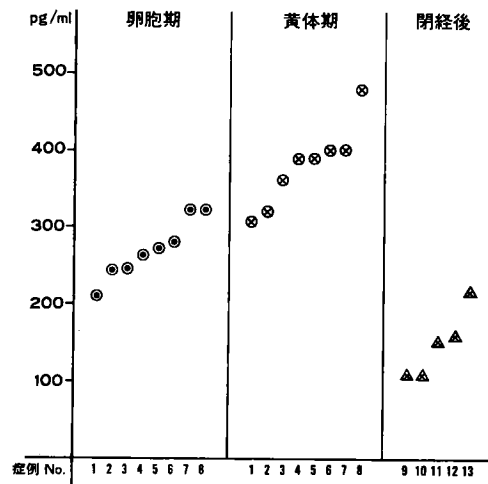
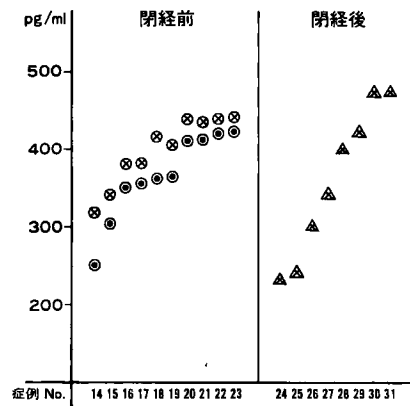


図4 乳腺症患者 Estradiol



### 3. 乳癌患者のestradiol値

乳癌患者30~39才 (No32~37, No45~50) と40~49才 (No38~44, No51~56), 閉経後 (No57~64) について測定したものが図5である。卵胞期のものは160~380pg/ml, 黄体期のものは280~500pg/mlである。閉経後のものは120~590pg/mlであった。

図5 乳癌患者血清 Estradiol

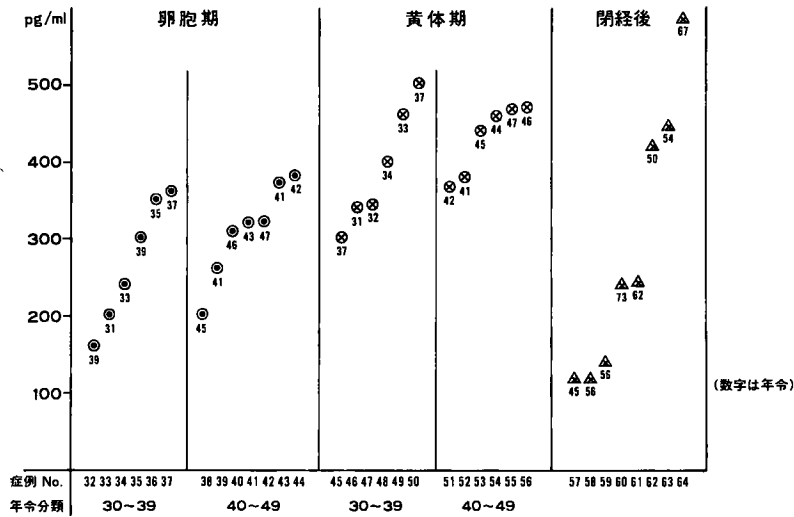
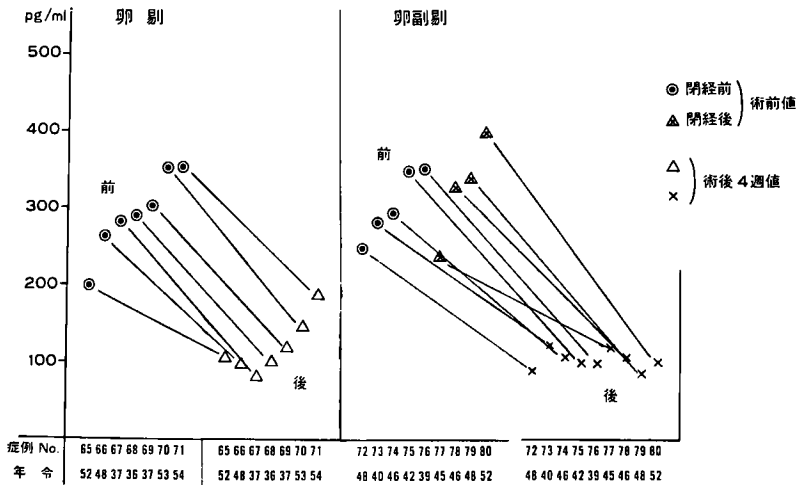


図6 外科的ホルモン療法施行群の血中 Estradiol



4. 外科的ホルモン療法例のestradiol値 (図6)  
 卵巣群は36才45才の症例 (No65~71) である。術前値200~360pg/mlのものが術後80~190pg/mlとなっている。卵巣副群は39才~52才の症例 (No72~80) である。術前 240~400pg/mlのものが術後 90~120 pg/mlとなっている。

第4章 考案

1896年Beatson<sup>10)</sup>が末期乳癌に対して卵巣切除術を行ない、一時的に軽快せしめた臨床経験以来、乳

癌の発育や発生にホルモン分泌異常が関係しているであろうという考えが、乳癌ホルモン環境を調べるという背景となっている。

過去多くの努力がこの方面に払われ、乳癌の内分泌療法に関する多くの基礎的な知見が得られたが、それは主としてホルモン定量法の進歩によるものである。したがって、1955年Brown<sup>11)</sup>による尿中estrogensの化学的な微量測定法の開発には大きな期待が寄せられたが、乳癌の根治術後5年生存率は、現在でも、なお約60%と落胆的なもので、理論と実際のむつかしさをよくあらわしている。

乳癌ホルモン療法の治療指針に関する報告に、そのhormone assayが生物学的活性によるもの、尿あるいは血中ステロイドの測定<sup>12)</sup>、sex chromatinによるもの<sup>13,14)</sup>、sex chromatin刺激テストによるものなどさまざま、統一されたcriteriaは得られていない。乳癌の内分泌療法の成功率が30~40%と低いものに終わっているのも、ある程度正確なホルモン分泌に関する情報の欠除によるものと考えられる。

乳癌患者と正常人の尿中estrogens排泄を比較した成績に関しては、一致した説は現在のところない。藤森<sup>15)</sup>は乳癌、乳腺症、乳腺線維腺腫の患者尿中においてはestriol排出の状況がestrogens全量排泄の状況とほぼ同様の傾向を示し、他の分画、すなわち、estrone や estradiolの排出に比較して量的に大きい比率を占め、乳癌患者では正常値のもの、低いもの、やや高いものなど変異に富むが、閉経後のものでは低値を示したと述べている。Marmorston<sup>16)</sup>は尿中estrone, estradiol, estriolを閉経前後に測定し、閉経前後とも乳癌ではestriolとしての総estrogensは高値であったと述べている。Block<sup>17)</sup>はretrospectiveに術前尿中estradiolの高値のものは卵巣剔除によく反応したといい、Huggins, Dao<sup>18)</sup>らは副腎外科の奏効したものは、術前尿中 estrogensの排泄の高いものであったと述べている。Bulbrook<sup>19)</sup>らは尿中17-OHCSやetiocholanoloneの比からdiscriminant formulaという概念を導き出し、positive discriminantのものは、乳癌根治術後予後のよいものや、内分泌療法後よく反応したものにみられ、negative discriminantは予後も悪く、治療にも反応しがたいと述べている。このように、多くの研究者は正常婦人と乳癌患者の間におけるホルモンの状態を尿中ステロイドの面より比較検討したが、決定的な結論を得るにいたっていない。この研究において血中estradiol濃度を測定したが、乳癌組織のホルモン依存性<sup>20)</sup>の結果と、私の成績より得た、その腫瘍の発育を促進するようなホルモンの値より、治療の適応や時期の決定に関する一つの目安が生じてくると考える。

CBP法によって測定された正常婦人のestradiol血中値はKorenman<sup>21)</sup>によると卵胞期では124.5、黄体期では137とされており、またradioimmunoassayでは卵胞期100±20pg/ml、排卵前より直後では310~430pg/mlと上昇し、黄体期には160±55pg/mlとされている<sup>22,23)</sup>。図3のごとく正常婦人の値は200~300pg/mlとなっており、また黄体期でも他の報告よりも

やや高い値がみられている。このことはestradiol抽出の際ureaを用いることにより、反応阻害物質を充分除去し得たために高い値が得られたものと考えられる。閉経後の値は110~220pg/mlでやや“バラツキ”がみられるが、全体的にみて閉経前の値よりも低値であるのは当然のことである。

乳腺症について、増田<sup>24)</sup>らは17KS値低下による相対的estrogens過剰の状態が多いが、なかには正常範囲のものも少数あるといい、また尿中estrogens対androgensの平均値からも、健常者に比べて相対的estrogens過剰を示すものが64.5%にみられたと報告している。乳腺症の血中estradiol値は図4のごとくで、大部分は健康婦人と同じ範囲にあるが、全体として高値であり、閉経前でありながら正常値なもの、あるいは高値なものに変化に富むようで、この点は後で述べるように閉経前乳癌患者のそれに多少似ているように思われる。閉経後のものは低値より高値まで、その範囲が広く一定の傾向がみられない。

乳癌における卵胞期の血中estradiol値は図5のごとく160~380pg/mlと正常値よりやや高値である。黄体期における値が正常値および、乳腺症患者に比して全体として高値であることが一つの傾向のように考えられる。閉経後の値は100~580pg/mlとさまざまな値を示し、一定の傾向がみられない。

Procopé<sup>25)</sup>は閉経後5年以内の婦人では、それ以後の婦人に比べてestrogensの排泄量が多いと述べている。Brown<sup>26)</sup>、Nissen-Meyer<sup>27)</sup>、Lemone<sup>28)</sup>らは閉経後乳癌についてestriolとしての尿中総estrogensは健常者に比し高値であったと述べているが、閉経後、あるいは卵巣剔除後のestrogens排泄に関しては副腎皮質由来のものであることが推察されており<sup>29,30)</sup>、閉経前では卵巣剔除により尿中estrogens量は著減したが、閉経婦人では卵巣剔除後で変化がみられなかったと報告した中山<sup>31)</sup>らの成績と一致するものである。このことは、血中estradiolを測定することにより、その低値なものに対して不必要な内分泌療法を避けることが可能であることを強調したい。

図6は両側卵巣剔除あるいは卵巣副腎剔除術を行なった結果であるが共に術後値は低くなっている。Bulbrook<sup>32)</sup>らは閉経前症例で両側卵巣剔除をうけたものはestrogensは低下するが、閉経後症例ではかなりの変動をみるという。卵巣副腎剔除術と卵巣剔除を行なった症例は、いずれも術前値に関係なく正

常より低値で、閉経後5年以上経過した婦人の値を示していると述べている。

藤森<sup>33)</sup>の自験例によれば、内分泌療法は尿中estrogens値の高いもの、あるいは17KSに対する相対的estrogens過剰なものに有効であったという。この研究は外科的ホルモン療法の指標となり、また第2回目の手術を検討する上に重要な指標になりうると思われる。

乳癌の内分泌療法はあくまでも補助的治療であるが、臨床医として患者の最適の治療を選ぶべく努力することは当然であり、また、術後よく反応した症例のホルモンパターンは、どのような特殊性をもつか追求していくことにより、乳癌のantecedent factor (婚姻状態や出産などの関連性)を論証していくことにつながり、疫学の面でも大きな有用性をもつものとする。

## 第5章 結 語

乳腺症、乳癌患者血中estradiol値をradioimmu-

稿を終るに当たり、ご指導、ご校閲をいただいた田中早苗教授、山本泰久講師に深謝する。

noassayにより測定し、乳癌疾患における血中estradiol値の傾向を観察するとともに、外科的ホルモン療法、適応、効果判定の指標となりうるか、否かについて検討した。

1) 乳腺症の患者のestradiolはおおむね正常範囲にあるが、時に高値のもの、低値のものが存在し変化に富む。

2) 閉経前乳癌患者の血中estradiolは正常人に比し、高値を示すものが多く、黄体期の値が全体として高い。

3) 閉経後5年以内の乳癌患者の血中estradiolは、低値より高値までさまざまの値を示した。

4) 卵巣副腎剝出術および卵巣剝出を行なったものは、正常人より低値を示した。

乳癌には多くのホルモンが関与していることが知られており、また、ホルモン依存性のないものも存在するが、私はestradiolをとりあげ血中濃度の面より検討を加えた。

## 文 献

- 1) Haggins, C., & Scott, W.W., Ann. Surg., 122: 1031, 1945
- 2) Galante, M., Ann. Surg., 140: 502, 1954
- 3) 井口潔, 福岡医誌, 33: 719, 1962
- 4) Luft, R., & Oliverrenona, H., J. Neurosurg., 10: 301, 1953
- 5) Pearson, O. H., & Ray, B. S., Cancer, 12: 85, 1959
- 6) Svendsen, R., Acta endocrinol., 35: 161, 1960
- 7) 神戸川明, 日本内分泌誌, 42: 756, 1966
- 8) Priewe, H., Am. Soc., 68: 2125, 1946
- 9) CIS (CEA-IRE-SORIN) ミドリ十字RI株式会社 (1973-3-RI), 1973
- 10) Beatson, G. T., Lancet, 2: 104, 1896
- 11) Brown, J. B., J. Biochem., 60: 185, 1955
- 12) 熊原雄一, 重井清一郎, 血中ホルモン 医学書院, 東京 p348, 1969
- 13) Kimel, B. M., Cancer, 10: 92, 1957
- 14) Ehlers, P. N., & Heinz, H. A. Arch. Chir., 288: 485, 1958
- 15) 藤森正雄, ホルモンと臨床, 15: 866, 1967
- 16) Marmorston, J., Growley, L. G., Myers, S. M., Stern, E., Hopkins, C. E., J. Obstet. Gynec., 92: 460, 1965

- 17) Block, G. E., Lampe, J., Vial, A. B., & Coller, F. A., *Surg.*, **47** : 87, 1960
- 18) Huggins, C., & Dao, T., *Ann. Surg.*, **140** : 497, 1954
- 19) Bulbrook, R. D., Greenwood, F. C., & Hayward, J. L., *Lancet*, **1** : 1154, 1960
- 20) Yamamoto, Y., *Gann*, **60** : 23, 1969
- 21) Korenman, S. G., *J. Clin. Endocrinol.*, **26** : 879, 1969
- 22) Wu, C. E., *Steroids*, **18** : 91, 1971
- 23) 牧野拓雄, *日内分泌誌*, **49** : 623, 1973
- 24) 増田強三, *手術*, **23** : 98, 1969
- 25) Procope, B. J., *Acta Endocrinol. (Kobenhavn)* **5** : 110, 1969
- 26) Brown, J. B., Klopper, A., & Loraine, J. A., *J. Endocrinol.* **17** : 401, 1958
- 27) Nissen-Meyer, R., & Sanner, T., *Acta endocrinol.*, **44** : 334, 1963
- 28) Lemon, H. E., Wotiz, H. H., Parsons, L., & Mozden, P. H., *J. Amer. Med. Ass.*, **196** : 1128, 1966
- 29) Mc Bride, *J. Clin. Endocrinol.*, **17** : 1440, 1957
- 30) Brown, J. B., *J. Endocrinol.*, **19** : 52, 1959
- 31) 中山徹也, 原富士雄, *総合臨床*, **14** : 2109, 1965
- 32) Bulbrook, R. D., Greenwood, F. C., Hadfield, G. J., & Scowen, E. F., *Brit. Med. J.*, **11** : 7, 1958
- 33) 藤森正雄, *日本外科学会雑誌*, **67** : 1711, 1966

**Studies on hormonal circumstances in patients with breast cancer**

**Part 2. Serum estradiol of breast cancer patients**

**Kazuo NAKAJIMA**

**Department of Surgery, Okayama University Medical School**

Serum estradiol were examined by radioimmunoassay in 80 patients with breast disease; 13 normal controls, 18 mastopathies, 33 breast cancers, 7 oophorectomized, and 9 adrenalectomized. Estradiol extraction method was modified by urea combing, and obtained accurate results by removing of lipids substance disturbing of radioimmunoassay. Premenopausal mastopathies have a relative high values than that of normals, but within normal limits. Postmenopausals have lower values than that of premenopausals. Breast cancers have various values most of within normal limits. Postmenopausal breast cancers also showed similar results, but more various than that of premenopausals. The patients after hormonal surgery have low values. Hormone therapy for advanced and recurrent breast cancer is selected by hormone dependency of tumor, but the success chance is more expectably by agreement with hormone concentration in serum. Estradiol assay is useful as an indicator for surgical hormone therapy.