การศึกษารีเซพเตอร์โปรตีนของอีสโตรเจนในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม

นาย โกวิท พัฒนาปัญญาสัตย์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
แผนกวิชาชีวเคมี
บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
พ.ศ. 2520

000189

A Study on Estrogen Receptor Protein in Human Breast Cancer

Mr. Kovit Pattanapanyasut

A Thesis Submitted in Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science

Department of Biochemistry

Graduate School

Chulalongkorn University

1977

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....
(ศาสตราจารย์ ดร.วิศิษฐ์ ประจวบเหมาะ)
คณบดี

คณะกรรมการตรวจวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ศาสตราจารย์ ไขศรี อาภรณ์รัตน์)

.....กรรมการ
(อาจารย์ ดร.จริยา บุญญวัฒน์)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราพรรณ คานอุตรา)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ บรรเทอง รัชตะปิติ)

อาจารย์ผู้ควบคุมการวิจัย อาจารย์ ดร. จริยา บุญญวัฒน์

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หัวข้อวิทยานิพนธ์เรื่อง การศึกษารีเซพเตอร์โปรตีนของอีสโตรเจนในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม
โดย นาย โกวิท พัฒนาบัญญาสัตย์
แผนกวิชา ชีวเคมี

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การศึกษารีเซพเตอร์โปรตีนของอีสโตรเจนในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม
ชื่อ นาย โกวิท พัฒนาปัญญาสัตย์
แผนกวิชา ชีวเคมี
ปีการศึกษา 2519

บทคัดย่อ

วิธีการทางชีวเคมี ซึ่งจะใช้แยกกลุ่มผู้ป่วยเป็นมะเร็งเต้านมออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่จะรักษาได้ผล เมื่อให้ฮอร์โมนหรือเมื่อผ่าตัดตอมไรทอ กับกลุ่มที่จะใช้ฮอร์โมนรักษาไม่ได้ผลนั้น ยังทำไม่สำเร็จ มีเพียงผู้ป่วย หนึ่งในสามเท่านั้น ซึ่งมีอาการดีขึ้น เมื่อรักษาด้วยการตัดรังไข่ ตอมหมวกไต หรือตอมใต้สมอง จึงได้มีผู้พยายามเสาะหาวิธีการที่จะใช้ทำบางอย่างเพื่อพิจารณาว่าควรจะผ่าตัดผู้ป่วยหรือไม่ ผู้ป่วยรายที่ทราบแน่ว่าจะรักษาด้วยการผ่าตัดไม่ได้ผลก็จะได้งดเสีย ไม่ต้องให้ผจญกับอันตรายจากการผ่าตัด หรือทำให้ผู้ป่วยนั้นอ่อนแอลง และรักษายากขึ้น ในระยะหลังนี้ ปรากฏว่า การวัดปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม อาจใช้เป็นครรชนี แบ่งกลุ่มผู้ป่วยเป็น 2 กลุ่ม ดังกล่าวได้

การวิจัยในครั้งนี้ มุ่งศึกษาวิธีวัดปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน และได้ทำการศึกษาเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม ชนิดปฐมภูมิ 85 ตัวอย่าง เนื้องอกเต้านมชนิดธรรมดา 15 ตัวอย่าง เนื้องอกประเภท gynaecomastia และเนื้อเยื่อเต้านมปกติ อย่างละ 5 ตัวอย่าง โดยใช้วิธีดูดซับด้วยผงถ่านเคลือบเดกซแทรน (DCC)

การตรวจหาปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน ทำโดยอินคิวเบทไซโตซอลจากเนื้อเยื่อเต้านมชนิดต่าง ๆ กับ ^{3}H - estradiol - 17β ซึ่งมีความเข้มข้นตั้งแต่ 3.68×10^{-14} ถึง 147.2×10^{-14} โมล/0.1 มล. assay buffer ต่อจากนั้นได้ทำการอินคิวเบท 2 ชั่วโมง ที่ 20 องศาเซลเซียส เพื่อให้สารละลายเข้าสู่สมดุล ซึ่งขณะสมดุล ในสารละลายจะประกอบไปด้วย ^{3}H - estradiol - 17β อิสระ กับ ^{3}H - estradiol - 17β ที่รวมกับรีเซพเตอร์โปรตีนอย่างหลวม ๆ และอย่างค่อนข้างแน่น เมื่อเติมผงถ่านเคลือบเดกซแทรนลงไป ผงถ่านจะดูดซับ ^{3}H - estradiol - 17β ที่อยู่เป็นอิสระแล้วเมื่ออินคิวเบทต่อไปอีก 15 นาที ที่ 30 องศาเซลเซียส ผงถ่านก็จะดูด ^{3}H - estradiol - 17β ซึ่งรวมตัวกับรีเซพเตอร์โปรตีนอย่างหลวม ๆ ด้วย ทำให้เหลือแต่ ^{3}H - estradiol - 17β ที่รวมกับรีเซพเตอร์โปรตีนค่อนข้างแน่นอยู่ในสารละลาย นำมาหา

ปริมาณรีเซพเตอร์โปรตีน ด้วยการตรวจ ปริมาณรังสี ในส่วนที่เป็นน้ำใสได้

จากผลการทดลองปรากฏว่า ในจำนวนเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมปฐมภูมิ 85 ตัวอย่าง มี 43 ตัวอย่าง หรือ ร้อยละ 51 ที่ตรวจพบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน ซึ่งมีค่าคงที่ของการแตกตัว $2.4 \pm 2.4 \times 10^{-10}$ โมลา โดยมีพิกัด ตั้งแต่ 0.2 ถึง 12×10^{-10} โมลา ความเข้มข้นของรีเซพเตอร์ เมื่อคำนวณเป็น เฟมโตโมล/มก. ไซโตซอลโปรตีน จะมีค่าระหว่าง 10 ถึง 167.3 หรือคิดเป็นค่าเฉลี่ย 67.1 ± 40.4 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน และเมื่อคิดหน่วยเป็นไบน์ดิงไซท์/เซล ก็จะได้ค่าความเข้มข้น ตั้งแต่ 783 ถึง 39130 ไบน์ดิงไซท์/เซล หรือคิดเป็นค่าเฉลี่ย 6339 ± 7547 ไบน์ดิงไซท์/เซล การที่มีค่าพิกัดกว้างนี้ อาจเนื่องมาจาก ความแตกต่างของส่วนต่าง ๆ ในก้อนเนื้อมะเร็งเต้านม ความแตกต่างของจำนวนเซล ปริมาณของโปรตีนในพลาสมาที่ปะปนมา หรือระดับฮอร์โมนอีสโตรเจนในเนื้อเยื่อของคนไข้

สิ่งที่น่าสนใจคือ จากการทดลองพบว่า ถ้าในสารละลายไซโตซอลมีปริมาณโปรตีน น้อยกว่า 1 มก./มล. จะพบจำนวนอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน เพียงร้อยละ 17 (4/24) หากในสารละลายไซโตซอลมีปริมาณโปรตีนเกินกว่า 1 มก./มล. จะพบจำนวนอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน ถึงร้อยละ 70 (37/54) ข้อมูลนี้ชี้นำว่า หากสารละลายไซโตซอลมีปริมาณโปรตีนน้อยไป อาจจะเป็นสาเหตุให้ตรวจไม่พบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน

จากผลการทดลองไม่น่าจะมีความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจพบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน กับ พยาธิสภาพของมะเร็งเต้านม ทำนองเดียวกันการแพร่กระจายของโรคในต่อมน้ำเหลือง ก็ไม่สัมพันธ์กับปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน

เนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมจากผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 50 ปี มีปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนมากกว่า ผู้ป่วยที่มีอายุน้อยกว่า 50 ปี คงจะเป็นเพราะปริมาณฮอร์โมนอีสโตรเจนในตัวผู้ป่วย จับกับรีเซพเตอร์ไซท์ ทำให้ตรวจไม่พบ

ในการศึกษาเนื้องอกเต้านมชนิดธรรมดา 15 ตัวอย่าง พบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนเพียง 2 ตัวอย่าง และมีความเข้มข้น 50 กับ 21.4 เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน หรือ 1563 และ 783 ไบน์ดิงไซท์/เซล ในเนื้อเยื่อเต้านมปกติ และ gynaecomastia ไม่พบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน

Thesis Title A Study on Estrogen receptor Protein in Human Breast Cancer

Name Mr. Kovit Pattanapanyasut

Department Biochemistry

Academic year 1976

Abstract

A biochemical basis for the distinction between human breast cancers that are responsive to hormone therapy or to endocrine organ ablative surgery and those are not responsive has been difficult to achieve. Since approximately one - third of patients with breast cancer will response to ovariectomy, adrenalectomy or hypophysectomy, a method which is able to predict breast cancer of the hormone - dependent type before the endocrine ablation would give a reasonable chance of success. This will spare many patients that trauma of a major operation can not help them and therfore render them more able to tolerate alternative types of therapy. It now appears that this objective may be attained by determination of cytoplasmic estrogen receptor content in an excised specimens of the tumor.

This project is a preliminary one to figure out the presence of cytoplasmic estrogen in Thai patients. Of all the 110 samples determined, 85 were from primary breast cancer subjects, 15 were benign breast tissues, 5 were gynaecomastia and 5 were normal breast tissues. The method used for determination was the dextran - coated charcoal technique (DCC). In which aliquots of cytoplasmic

fraction were incubated with increasing amount of ^{3}H - estradiol - 17β ranging from 3.68 to 147.2 x 10^{-14} mole/0.1 ml assay buffer. After incubation for 2 hours at 20 °C, the incubation mixture showed an equilibrium of free ^{3}H - estradiol - 17β and ^{3}H - estradiol - 17β bound to both high and low affinity sites. At this point dextran - coated charcoal was added to each tube and incubate at 30 °C with shaking for 15 minutes to adsorb free ^{3}H - estradiol - 17β and also the low affinity complex which rapidly dissociate under these condition . By centrifugation ^{3}H - estradiol - 17β in the free form and dissociated low affinity complex were sedimented down with dextran coated charcoal pellet and the ^{3}H - estradiol - 17β in the high affinity complex with receptor protein would remain in the supernatant fraction which then would be measured by scintillation counting .

In this experiment, 43 out of 85 (51%) of primary human breast cancer samples were found to be estrogen receptor positive, these receptor sites show an average dissociation constant of 2.4 ± 2.4 x 10^{-10} M, ranging from 0.2 to 12.0 x 10^{-10} M, which are of high affinity type. The concentration of estrogen receptors in term of femtomole/mg cytosol protein were found distributed from 10 to 167.3 femtomole/mg cytosol protein, with an average of 67.1 ± 40.4 femtomole/mg cytosol protein. Whereas the concentration of estrogen receptor protein based on cellular DNA was found to range from 783 to 39130 binding sites/cell with an average of 6339 ± 7547 binding sites/cell. The wide range of estrogen receptor protein content could be ascribed to hetergeniety with in tumor, difference in cell population, the amount of contaminating sera protein in the homogenate and also menstrual status of patients.

When the protein concentration of the determining cytosol was less than 1 mg/ml, only 4 out of 24 samples (17%) were found to be receptor positive, but in samples with protein concentration higher than 1 mg/ml, 70% (37/54) were found receptor positive. This indicates that false negative results could be obtained from too low concentration of protein in cytosol.

The presence of estrogen receptor shows no remarkable relationship with the clinical stages of the patients, histological type of the tumor and also between positive and negative lymphnodes metastases.

Tumors from patients older than 50 years of age shows values of estrogen receptor in femtomole/mg cytosol protein higher than these of less than 50 years old patients, however, when the receptor concentration were determined as binding sites per cell on the basis of DNA content. There is no significant difference in number of binding sites per cell between those two groups of patients.

In 5 normal and 5 gynaecomastia breast tissues determined, all were found receptor negative, but 2 out of 15 benign breast tissues showed receptor concentration of 50.0 and 21.4 femtomole/mg cytosol protein or 1563 and 783 binding sites/cell respectively.

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอบกราบขอบพระคุณ และขอบคุณ ท่านผู้มีรายนามต่อไปนี้ ที่ได้กรุณารับเป็นผู้ควบคุมการวิจัย ให้คำแนะนำ ตลอดจนให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี

อาจารย์ ดร. จริยา บุญญวัฒน์

ศาสตราจารย์ ไขศรี อาภรณ์รัตน์

รองศาสตราจารย์ ดร. กำจัด มงคลกุล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วราพรรณ ดานอุตรา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ บรรเทอง รัชตะปิติ

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ เฉลี่ย วัชรพุกก์

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ พิสิฏฐ์ วิเศษกุล

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ รมไทร สุวรรณิก

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ เปรม บุรี

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ เกษม ชินประหัษฐ์

รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ จรัส สุวรรณเวลา

รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง สายสงวน อุณหนันทน์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิง พัชรา วิสุทกุล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ พิทยา กำรงวัฒน์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ นิตย์ สุภพงศ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วรวิทย์ คลอวุฒิวัฒน์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ วารินทร์ ตัณฑศุภศิริ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ นิกร กุสิตสิน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ประมวล วีรุตมเสน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ พร สถิตพันธุ์เวชา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ทองดี ชัยพานิช

พ.ต.อ. นายแพทย์ ไพฑูลย์ หลิมรัตน์

อาจารย์ ดร. สุกัญญา วีรวัฒนะกุมพะ

อาจารย์ ดร. พีรกา ศิริจินตกานต์

อาจารย์ นายแพทย์ กริช โพธิสุวรรณ

อาจารย์ ปรีชา ขาวนิล

คุณ สมัย ลีพิพัฒน์ไพบูลย์

คุณ วิฑูร ชัยชาญวัฒนากุล

คุณ ศิริรัตน์ พลอยบุตร

คุณ ชัยยิ่ง เสรีจันทน์

คุณ วาสินี เกยานนท์

พยาบาล และเจ้าหน้าที่ ห้องผ่าตัดใหญ่ โรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์

พยาบาล และเจ้าหน้าที่ ห้องผ่าตัดใหญ่ โรงพยาบาล ศิริราช

พยาบาล และเจ้าหน้าที่ ห้องผ่าตัดใหญ่ โรงพยาบาล รามาธิบดี

เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ ศูนย์นวมินทราชินี โรงพยาบาล จุฬาลงกรณ์

ผู้ป่วยทุกท่านที่ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณสภาวิจัยแห่งชาติ ที่ได้กรุณาให้ทุนอุดหนุนการวิจัยในครั้งนี้

สารบาญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... ง

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบาญ ..... ฌ

รายการตารางประกอบ ..... ฐ

รายการรูปประกอบ ..... ฑ

คำย่อ ..... ฒ

บทนำ 1

วัสดุและวิธีทำการวิจัย 16

- สารเคมี 16
- เครื่องมือ 18
- การเก็บสารตัวอย่างและน้ำเหลือง 19
- การเตรียมสารละลายต่าง ๆ 20
- วิธีวัดปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนโดยการดูดซับด้วยผงถ่าน 25
- หลักการและการคำนวณหาค่าความเข้มข้นและค่า dissociation constant (K_d) ของอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน 29

ผลการวิจัย 40

- ประเภท จำนวน และสภาพทางพยาธิของเนื้อเยื่อเต้านมที่ทำการวิจัย ... 40
- ปฏิกริยาการจับตัวของรีเซพเตอร์โปรตีนกับ 17-β ^3H - E_2 ที่เวลาและอุณหภูมิต่าง ๆ 40
- ผลการหาความเข้มข้นของสารมาตรฐาน 17-β ^3H - E_2 ที่ใช้ในการวัดปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน 44
- ผลการหาปริมาณของผงถ่านที่เหมาะสมในการแยกพวก free form ออกจาก bound form 44
- เวลาและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการขจัดพวก low affinity binding complex และ free 17-β ^3H - E_2 โดยผงถ่าน 46
- ผลของความร้อนที่มีต่อสมบัติของอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน 49

- ผลการเก็บไซโตซอลและการสูญเสียปฏิกริยาการจับกัว 51
- ปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนภายในก้อนเนื้อมะเร็งก้อนเดียวกัน ... 55
- ความแม่นยำของการวัดปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน 55
- ปริมาณของอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนและกา dissociation constant (K_d) ในเนื้อเยื่อเต้านมปกติ benign และ gynaecomastia 58
- ปริมาณของอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนและกา dissociation constant (K_d) ในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม 58
- ความสัมพันธ์ระหว่างอายุของคนไข้กับจำนวนคนไข้ที่มีอีสโตรเจน - รีเซพเตอร์โปรตีน (receptor positive) 61
- ความสัมพันธ์ระหว่างช่วงอายุของคนไข้ กับปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์-โปรตีน 61
- ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนคนไข้ที่มีอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน และ-ปริมาณมิลลิกรัมไซโตซอลโปรตีน 64
- ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนคนไข้ที่มีอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน และ-ปริมาณไมโครกรัม DNA 64
- ระดับของฮอร์โมนอีสโตรเจนในน้ำเหลืองของคนไข้ประเภทที่หมด-ประจำเดือน (menopause) 68
- ผลการทดสอบความบริสุทธิ์ของ 17-β ^3H-E_2 ที่จับกับรีเซพเตอร์โปรตีน .. 68

การอภิปรายผลการวิจัย 71
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 88
บรรณานุกรม 91
ภาคผนวก 102
ประวัติการศึกษาของผู้เขียน 108

รายการตารางประกอบ

ตารางที่		หน้า
1	แสดงส่วนประกอบของสารเคมีต่าง ๆ ใน incubation mixture	28
2	แสดงวิธีวัดปริมาณ E_2 ในน้ำเหลือง	38
3	แสดงสภาพทางพยาธิของเนื้อเยื่อเต้านมประเภทต่าง ๆ	41
4	แสดงปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนภายในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมก้อนเดียวกัน	56
5	แสดงความแม่นยำในการวัดปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์	57
6	แสดงปริมาณของอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน และค่า dissociation constant ในเนื้อเยื่อเต้านมปกติ และเนื้องอกชนิดธรรมดา	59
7	แสดงปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน และค่า dissociation constant ในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมที่เป็นรีเซพเตอร์บวก จำนวน 43 ราย	60
8	แสดงปริมาณของธอร์โมนอีสโตรเจนในน้ำเหลืองของคนไข้ที่หมดประจำเดือนเทียบกับคนปกติที่หมดประจำเดือน	69
9	แสดงการเปรียบเทียบเปอร์เซนต์ที่พบรีเซพเตอร์บวก ในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมของคนจากผู้ทดลองต่าง ๆ	72
10	แสดงการเปรียบเทียบปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีนในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมของคน จากผู้ทดลองต่าง ๆ	83
11	แสดงผลการหาปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน และสภาพทางพยาธิคลีนิค ในเนื้อเยื่อเต้านมปกติ gynaecomastia เนื้องอกเต้านมประเภทธรรมดา และ มะเร็ง	104

รายการรูปประกอบ

รูปที่		หน้า
1	ปฏิกริยาของฮอร์โมนอีสโตรเจนที่มีต่อเซลเป้าหมาย (target cell).....	3
2	แสดงแผนภูมิการรักษาคนไข้ที่ป่วยเป็นมะเร็งเต้านม โดยใช้ประโยชน์จากการหาปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน	13
3	แสดงการจับตัวของรีเซพเตอร์โปรตีน และ 17-β ^{3}H-E_2 ที่อุณหภูมิและเวลาต่าง ๆ	42
4	แสดง Scatchard plot ในการหาปริมาณอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน และค่า dissociation constant ของไซโตซอล ในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านมจากตัวอย่างเดียวกัน เมื่ออินคิวเบทที่ 30 °ซ 1 ชม. และ 20 °ซ 2 ชม.	43
5	แสดงกราฟ Saturation ของการจับตัวระหว่างรีเซพเตอร์โปรตีน และสารมาตรฐาน 17-β ^{3}H - E_2.....	45
6	แสดงปริมาณของผงถ่านที่ใช้ในการดูดซับพวก low affinity binding และ free 17-β ^{3}H - E_2	47
7	แสดงอิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาที่มีต่อการดูดซับของผงถ่าน	48
8	แสดงความสามารถในการดูดซับของผงถ่าน 0.25 กัม% ที่อุณหภูมิ 30 °ซ ในช่วงเวลาต่าง ๆ	50
9	แสดงอิทธิพลของความร้อนที่มีต่อ activity ของอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน	52
10	แสดง activity ของรีเซพเตอร์โปรตีนในไซโตซอลจากเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม เมื่อเก็บไซโตซอลที่ 20 °ซ เป็นเวลา 1; 3, 7 และ 14 วัน ...	53
11	แสดงอัตราการสูญเสีย activity ของรีเซพเตอร์โปรตีนในไซโตซอล เมื่อแช่แข็งและทำให้ละลาย (freeze และ thaw) หลาย ๆ ครั้ง	54
12	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนคนไข้ที่พบรีเซพเตอร์ (R_c+)และอายุของคนไข้	62
13	แสดงปริมาณของอีสโตรเจนรีเซพเตอร์โปรตีน (เฟมโตโมล/มก.ไซโตซอลโปรตีน) ในคนไข้ที่มีอายุต่างกัน	63

รูปที่		หน้า
14	แสดงปริมาณไซโตซอลอีสโตรเจนไบน์ดิงไซท์ต่อเซลในเนื้อเยื่อมะเร็ง-เต้านม จากคนไข้ที่มีอายุต่างกัน	65
15	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนคนไข้ที่พบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์ และปริมาณไซโตซอลโปรตีน	66
16	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนคนไข้ที่พบอีสโตรเจนรีเซพเตอร์ และปริมาณ DNA	67
17	แสดงความบริสุทธิ์ของ 17-β ^{3}H - E_2 ภายหลังจับกับรีเซพเตอร์โปรตีน เทียบกับสารมาตรฐาน 17-β ^{3}H - E_2 ที่ไม่ได้จับกับรีเซพเตอร์	70
18	แสดงกราฟมาตรฐานในการวัดปริมาณอีสโตรเจนในน้ำเหลือง เทียบกับสารมาตรฐานอีสโตรเจนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	103
19	แสดงกราฟมาตรฐานในการวัดปริมาณไซโตซอลโปรตีน โดยเทียบกับสาร-มาตรฐาน BSA	105
20	แสดงกราฟมาตรฐานในการวัดปริมาณ DNA โดยเทียบกับ DNA มาตรฐาน จาก calf thymus	106
21	แสดงการแก้กราฟ Scatchard ในกรณีกราฟที่ได้ไม่เป็นเส้นตรง	107

คำย่อ	คำเต็ม
A	Absorbance
B	Bound form
BSA	Bovine serum albumin
CA	Carcinoma
D	Differentiated cell cancer
DCC	Dextran coated charcoal
E , E_2	Estrogen
$17\beta - E_2$	(1,3,5 (10))estratrien - 3β, 17β - diol
$17\beta\ ^3H - E_2$	(2,4,6,7 N - ^3H) estradiol
$E \cdot R_c$	Estrogen receptor complex
F	Free form
IDC	Infiltrating ductal carcinoma
K_d	Dissociation constant
LC	Lobular carcinoma
MC	Mucin-ous carcinoma
N	Nonspecific binding complex
P_o	Total receptor sites
R_c	Receptor
R_c+ , R_c-	Receptor positive and Receptor negative
SC	Squamous cell carcinoma
S	Svedberg
UD	Undifferentiated cell cancer

E.O.R.T.C. = European Organization on Research and Treatment of Cancer