

ヒト培養絨毛癌細胞の hCG 産生分泌動態に及ぼす
MTX, epidermal growth factor, LH-RH の影響

新潟大学医学部産科婦人科学教室 (主任: 竹内正七教授)

須藤 祐悦

The Effect of MTX, Epidermal Growth Factor, LH-RH on the
Dynamics of hCG Synthesis and Secretion in
Human Choriocarcinoma Cell Line

Yuetsu SUDO

*Department of Obstetrics and gynecology, Niigata
University School of Medicine, Niigata
(Director: Prof. Shoshichi TAKEUCHI)*

Mechanism of hCG synthesis and secretion in human trophoblastic cell is not clarified. In order to investigate the effect of Methotrexate (MTX), epidermal growth factor (EGF) and luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH), the established human choriocarcinoma cell line was used for evaluation of the secretion of native hCG and its subunits in culture media. Furthermore, The effect on cell growth, DNA synthesis, ^3H -thymidine incorporation as well as hCG/LH and LH-RH receptor was analysed.

The results were as follows.

1) Effect of MTX

Significant increase of hCG- β secretion was observed but no decrease of cell growth at the concentration of 10^{-8} M. On the other hand, increase of native hCG and its subunits was observed at the concentration of 5×10^{-8} M with remarkable suppression of cell growth. These results are not consistent with the cell disintegration theory or DNA suppression theory for so called cellular effect.

2) Effect of EGF

Significant Increase of cell growth was not observed at the concentration of 10, 10^2 ng/ml. However, only hCG- β secretion was significantly increased at the concentration of 10^2 ng/ml.

Reprint requests to: yuetsu SUDO,
Department of Obstetrics and Gynecology,
Kenritsu Muikamachi Hospital,
636-2 Muikamachi, Minamiuonumagun,
Niigataken, 949-66, JAPAN.

〒949-66 新潟県南魚沼郡六日町636-2
県立六日町病院産婦人科 須藤 祐悦

3) Effect of LH-RH

It was at the concentration of $10, 10^2$ ng/ml that both cell growth and native hCG and its subunits secretion were significantly increased. However, at the concentration of 10^3 ng/ml hCG subunits secretion were, on the contrary, decreased with increment of cell growth.

Remarkable decrease was shown in corresponding maximum binding capacities (B max) for LH-RH receptor at the concentration of $10, 10^2, 10^3$ ng/ml. This is suggestive that down regulation mechanism is attributable to the chronic LH-RH administration.

Key words: MTX, epidermal growth factor, LH-RH, hCG secretion, choriocarcinoma cell line

MTX, 上皮増殖因子, LH-RH, hCG 分泌, 絨毛癌細胞株

緒 言

絨毛細胞より産生分泌される糖蛋白の一つである hCG は、免疫学的手法によれば、native hCG, hCG- α , hCG- β subunit (以下 n-hCG, hCG- α , hCG- β と略す) 何れもが syncytiotrophoblast に局在しており、さらに hCG- α は一部の cytotrophoblast にも認められる¹⁾。Boime ら²⁾も、autoradiogram で同様の結果を報告している。しかし、産生部位あるいはその産生分泌の制御がいかに行なわれているかについては、未だ不明な点が多い。足高ら³⁾は、正常絨毛細胞培養系において、hCG 産生が dbc-AMP, LH-RH, EGF の添加により促進され、dbc-GMP, progesterone により抑制されされると報告し、その中で、c-AMP は調節遺伝子のレベルに作用して m-RNA を増加させると推定し⁴⁾、また、絨毛細胞内の LH-RH 様物質に対応する hCG が c-AMP を介して syncytiotrophoblast で産生されるとしている⁵⁾。さて Epidermal Growth Factor (EGF) は、種族特異性がなく多彩な種類の細胞に対し、増殖分化促進作用があり⁶⁾、絨毛細胞に対しても hCG 産生分泌刺激作用のあることが知られている⁷⁾⁸⁾⁹⁾。また視床下部より産生分泌される LH-RH も同様の hCG 産生分泌刺激作用のあることが報告されている¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾。一方、葉酸拮抗剤である Methotrexate (MTX) は、すべてに絨毛性疾患治療薬として確立されたものになっており、投与早期に hCG 分泌が亢進してくることが知られている¹³⁾¹⁴⁾。しかし、その細胞効果と称される一過性の亢進機序についても明らかにされていない。そこで、1980年当教室の田中が樹立したヒト絨毛癌細胞培養株¹⁵⁾(以下 GCH-1 と略す)を用いて、LH-RH, EGF, MTX を

それぞれ添加することにより、n-hCG, hCG- α , hCG- β の産生分泌動態と細胞増殖、蛋白合成から、細胞効果現象を含めて hCG の産生分泌機構について検討し、更には絨毛 LH-RH receptor (以下 LH-RH-R と略す)が hCG 産生分泌に関与しているか否かについても検討した。

研究 方法

使用培養株：当教室田中が樹立したヒト絨毛癌細胞株 (GCH-1) を用いた。

培養方法：10% Fetal Calf Serum (三菱化成) を添加した Eagle's minimum essential medium (日本製薬) に 100μ /ml のカナマイシンを加えて培養液として用いた。GCH-1 継代時 10^6 cells/bottle とし、MTX (日本レダリー社)、EGF (Sigma 社)、LH-RH (Sigma 社) を基礎実験により最終濃度が下記になるように添加し、 37°C 5%炭酸ガス培養器中で静置単層培養した。

MTX : $10^{-8}, 5 \times 10^{-8}$ M

EGF : 10, 10^2 ng/ml

LH-RH : 1, 10, $10^2, 10^3$ ng/ml

実験方法：

1. 培養液中の n-hCG, hCG- α , hCG- β の測定。

培養液は、培養48時間後より24時間毎96時間まで回収し、遠心分離後上清を -20°C で凍結保存した。測定方法は、それぞれミドリ十字社 ^{125}I KIT を用い RIA 2 抗体法により行なった。

2. DNA 分画、膜分画の抽出。

培養48時間後より24時間毎96時間までの細胞を回収し、遠心分離後上清を捨て、0.3M ショ糖液を加え、Politon PT-homogenizer で homogenize 後ガーゼで濾過し、

濾液を 1,000g で10分間遠心した。得られた沈渣は, Tris HCl buffer (0.01M Tris HCl, 1.5mM EDTA, 10% Glycerol, pH7.4) を加え再度 homogenize 後 1,000g で10分間遠心し, その沈渣に TKED buffer (0.6M TKED buffer, 0.01M Tris HCl, 0.6M KCl, 1.5mM EDTA, 0.5mM dithiothreitol, pH8.5) を加え, 4℃下にて60分間攪拌し, 更に 10,000g 10分間遠心, その沈渣を Tris HCl buffer に浮遊させ DNA 分画とした。また, 最初の homogenize, ガーゼ濾過, 遠心により得られた上清については, 3,000g 30分間, 更にその上清を 15,000g で30分間遠心し, 最終的に Tris HCl buffer に浮遊させて膜分画とした。

3. 細胞増殖 (cell growth)

3.5cm 径の plastic dish に 2×10^5 cells を植えこみ, それぞれの濃度の MTX, EGF, LH-RH を添加し, 24時間毎に細胞を回収し, トリプシン/EDTA 液処理後ニグロシン染色をして生細胞を数えた。

4. DNA 合成 (DNA synthesis)

2.の方法により得られた DNA 分画について, DNA 量を, Burton 法にて処理後 600nm の吸光度で測定した。

5. ^3H -thymidine のとりこみ (^3H -thymidine incorporation)

培養した時間毎の細胞を microplate に植えこみ, ^3H -thymidine (New England Nuclear 社) $1\mu\text{Ci}$ を加えて12時間培養後 cell harvester にて集め, liquid scintillation counter で測定した。結果は未添加群を100%として比較した。

6. hCG/LH receptor, LH-RH receptor (以下 hCG/LH-R, LH-RH-R と略す) の解析

2.の方法により得られた膜分画について, ^{125}I -hCG, ^{125}I -LHRH (New England Nuclear) を ligand とした binding assay により, 得られた結合曲線から Scatchard plot を行ない, 最大結合数 (以下 B max と略す) を決めた。

7. 測定値の2点間の有意差検定は, Student's t test により行なった。

研究成績

MTX 添加群:

1. n-hCG, hCG- α , hCG- β

n-hCG, hCG- α は, 培養48時間以降96時間まで未添加群と比較して差がなかったが, hCG- β は96時間後において MTX 10^{-8}M 添加群が未添加群に比し有意に高

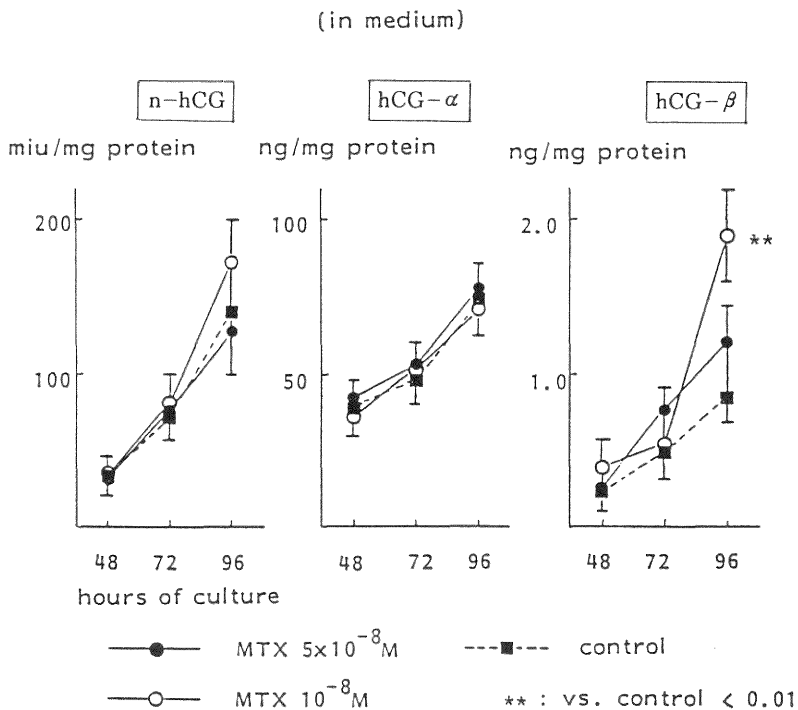


図1 Effect of MTX on n-hCG, hCG- α and hCG- β secretion by GCH-1

値を示した。(図 1)

2. 細胞増殖, DNA 合成, ^3H -thymidine のとりこみ

細胞増殖は濃度依存性に抑制傾向にあり, 96時間後には $5 \times 10^{-8}\text{M}$ 添加群では未添加群に比し有意に抑制されていた。DNA 合成は72時間まで各群間に差がないが, 96時間後の $5 \times 10^{-8}\text{M}$ 添加群で未添加群に比し有意に低下していた。 ^3H -thymidine のとりこみについては有意の差はないが, 96時間後に未添加群に比し 10^{-8} , $5 \times 10^{-8}\text{M}$ 添加群とも抑制される傾向にあった(図 2)。

3. hCG/LH-R, LH-RH-R

未添加群においては, hCG/LH-R, LH-RH-R とも時間依存性に B max が増加傾向にあったが, $5 \times 10^{-8}\text{M}$ 添加群では96時間後において, hCG/LH-R, LH-RH-R とも有意に減少していた(図 3)。

EGF 添加群:

1. n-hCG, hCG- α , hCG- β

n-hCG, hCG- α については各濃度とも差はなかったが, hCG- β のみが 10^2ng/ml 添加群で培養72, 96時間後に未添加群に比し有意に高値を示した(図 4)。

2. 細胞増殖, DNA 合成, ^3H -thymidine のとりこみ
いずれについても, 添加群, 味添加群間に有意の差はみられなかった(図 5)。

3. hCG/LH-R, LH-RH-R

添加群, 未添加群間に有意の差はみられなかった。LH-RH-R については, 時間依存性に B max が増加傾向にあるものの, hCG/LH-R については96時間後に抑制傾向が認められた(図 6)。

LH-RH 添加群:

1. n-hCG, hCG- α , hCG- β

n-hCG については, 培養48時間の時点で未添加群と 1ng/ml 添加群では差がないが, それ以上の添加群ではすでに高値傾向にあり時間依存性に増加していた。しかし, 10^3ng/ml の高濃度添加群では96時間後に低値傾向を示した。hCG- α についても培養48時間後で 10 , $10^2 \cdot 10^3\text{ng/ml}$ 添加群とも未添加群に比しすでに高値傾向であり, 10 , 10^2ng/ml 添加群の72, 96時間後では有意に高値を示した。 10^3ng/ml 添加群では96時間後に低値傾向にあった。hCG- β については 10 , $10^2 \cdot 10^3\text{ng/ml}$

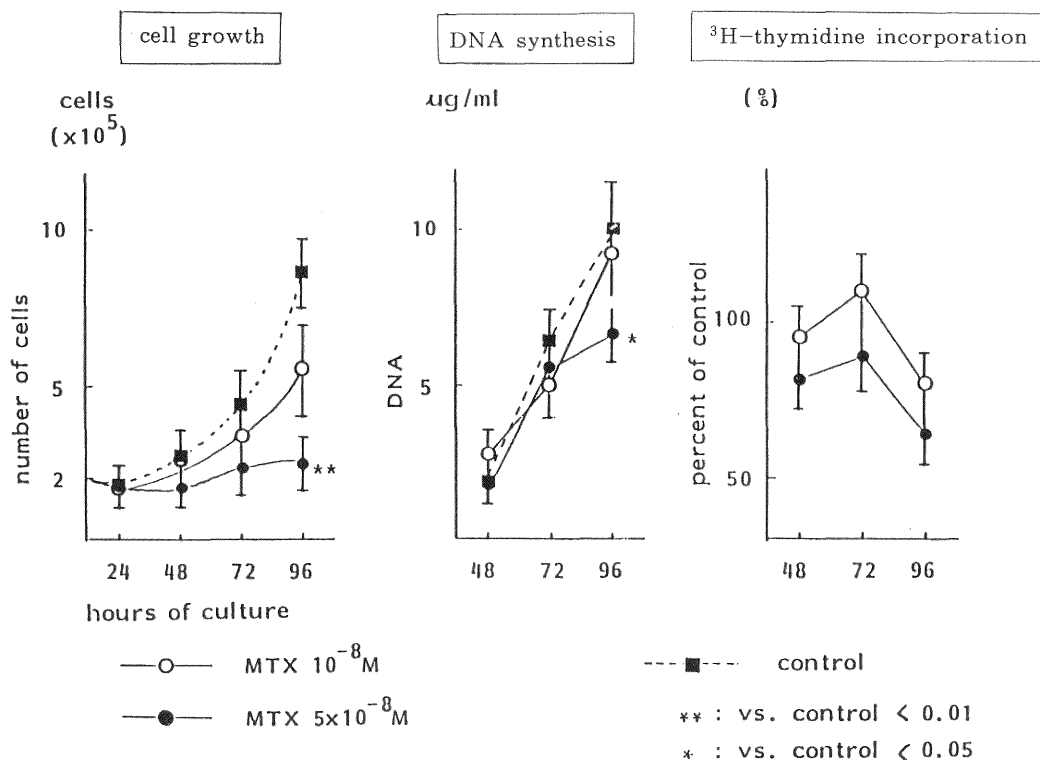


図 2 Effect of MTX on cell growth, DNA synthesis and ^3H -thymidine incorporation by GCH-1

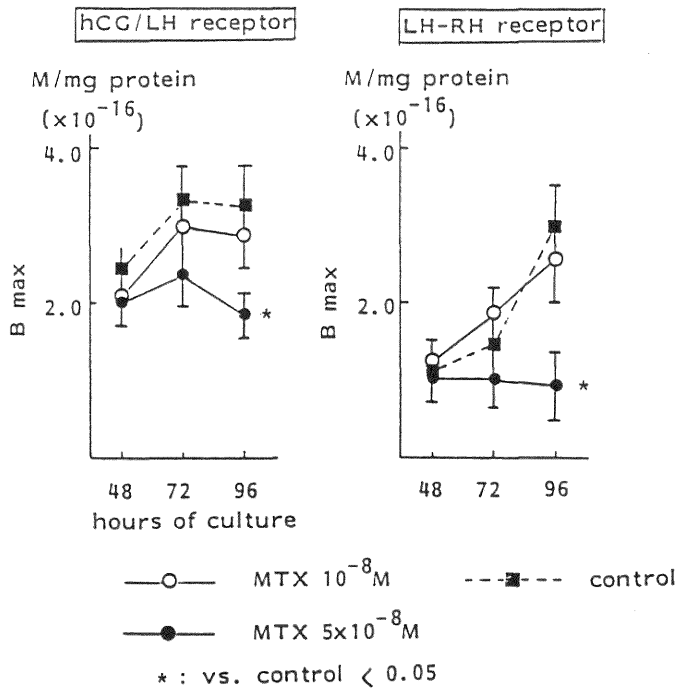


図3 Effect of MTX on hCG/LH and LH-RH receptor by GCH-1

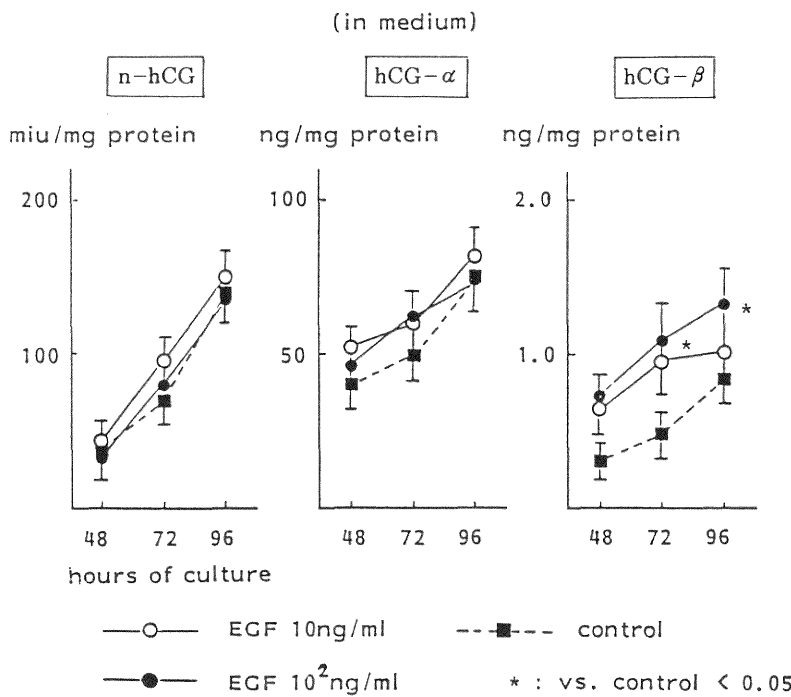


図4 Effect of EGF on n-hCG, hCG- α and hCG- β secretion by GCH-1

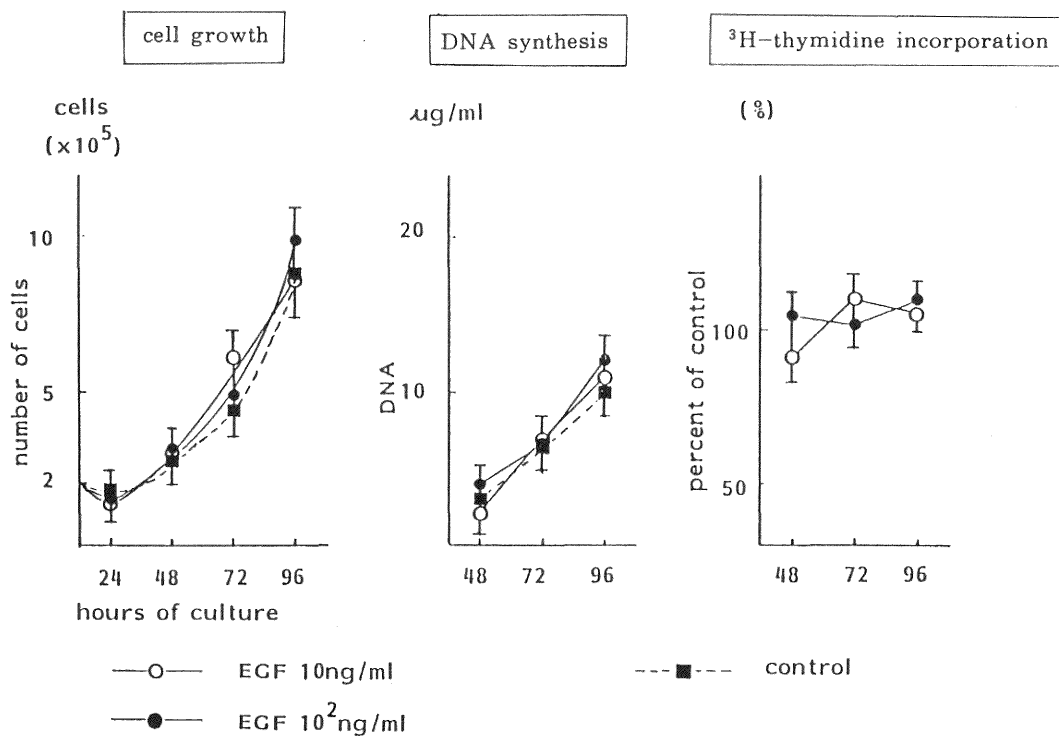


図 5 Effect of EGF on cell growth, DNA synthesis and ³H-thymidine incorporation by GCH-1

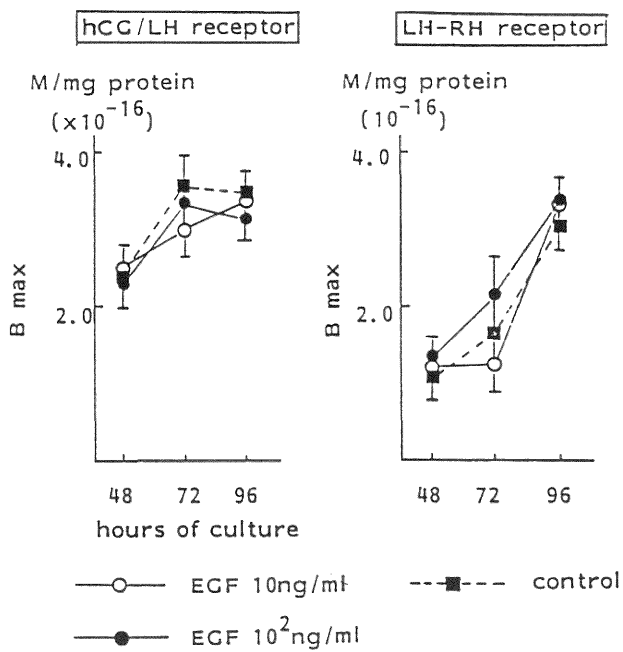


図 6 Effect of EGF on hCG/LH and LH-RH receptor by GCH-1

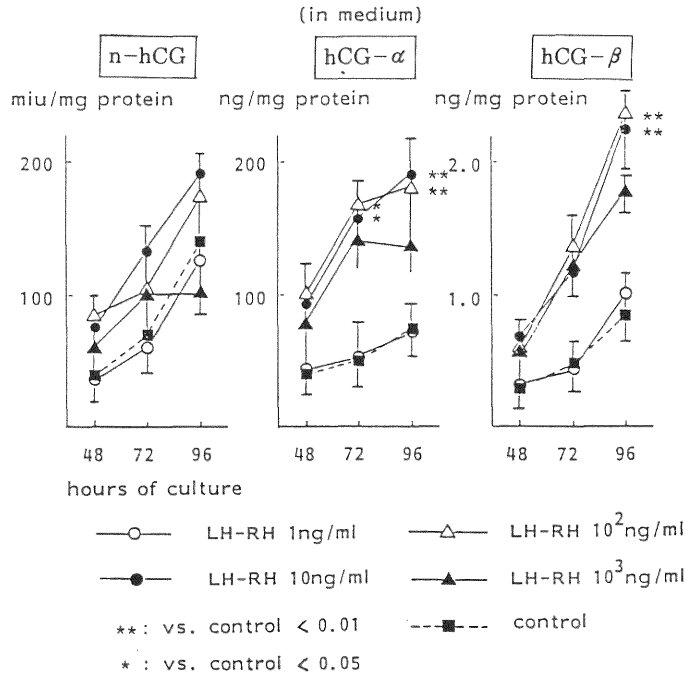


図 7 Effect of LH-RH on n-hCG, hCG- α and hCG- β secretion by GCH-1

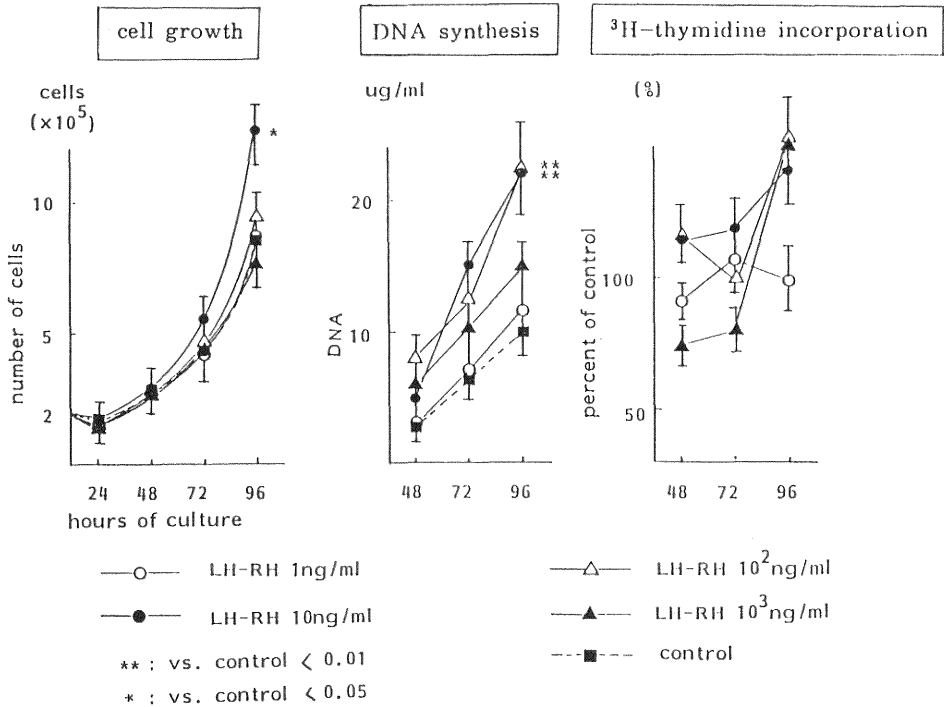


図 8 Effect of LH-RH on cell growth, DNA synthesis and ³H-thymidine incorporation by GCH-1

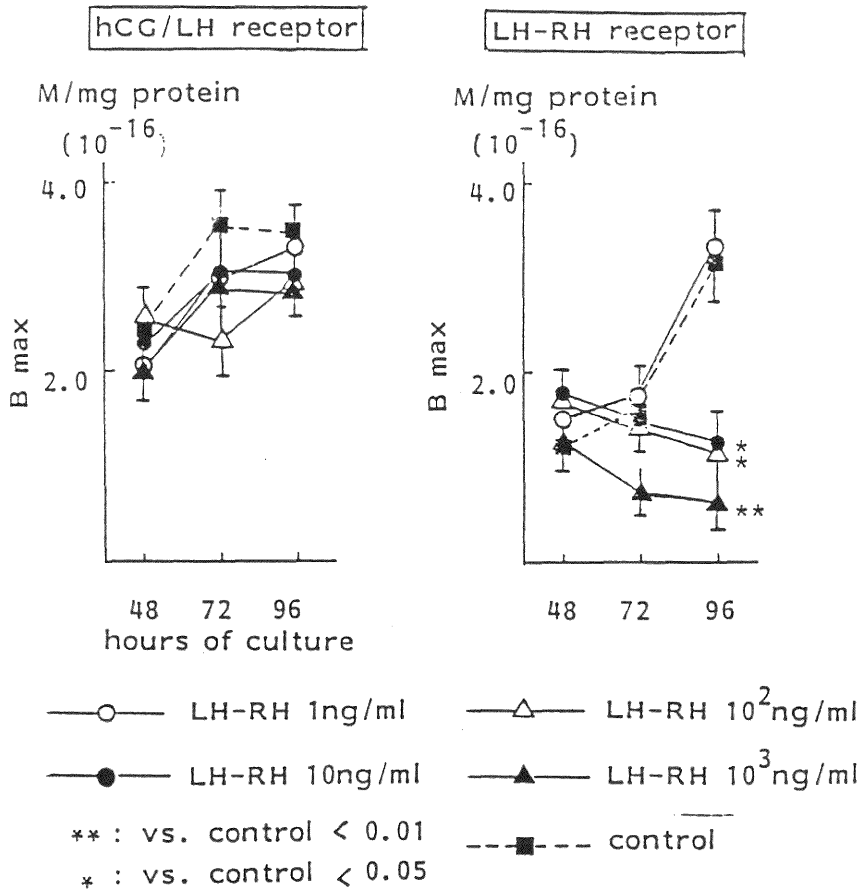


図9 Effect of LH-RH on hCG/LH and LH-RH receptor by GCH-1

添加群とも時間依存性に高値傾向を示し、10、10²ng/ml 添加群の96時間後においては未添加群に比し有意に高値であった(図7)。

2. 細胞増殖, DNA 合成, ³H-thymidine のとりこみ
 細胞増殖については、添加各濃度群とも時間依存性に増加傾向を示し、10ng/ml 添加群の96時間後において未添加群に比し有意の差があった。DNA 合成についても時間依存性にその合成能が高まり、10、10²ng/ml 添加群の96時間後において未添加群に比し有意に増加していた。³H-thymidine のとりこみについては、10、10²・10³ng/ml 添加群の96時間後において未添加群に比し増加傾向を認めたが、有意差はなかった(図8)。

3. hCG/LH-R, LH-RH-R

hCG/LH-R については各添加群とも未添加群に比し有意の変化は認められなかった。LH-RH-R について

は10、10²・10³ng/ml 添加群とも時間依存性に B max が減少傾向にあり、96時間後においては未添加群に比し有意に減少していた(図9)。

以上の研究成績を一括して図10に全体的な傾向としてまとめた。太字の矢印は有意の変化、細字の矢印は有意ではないが傾向を示し、平行矢印は変化なしを意味している。

考 案

1. MTX の影響

絨毛性疾患に対して抗腫瘍剤を投与した際に、一過性に hCG 値の上昇をきたすことは臨床的によく経験する。これについて石塚ら¹³⁾は、腫瘍細胞の抗腫瘍剤に対する感受性のあらわれであり、換言すれば腫瘍の残存を示唆するものと考え、細胞効果と称した。しかしその

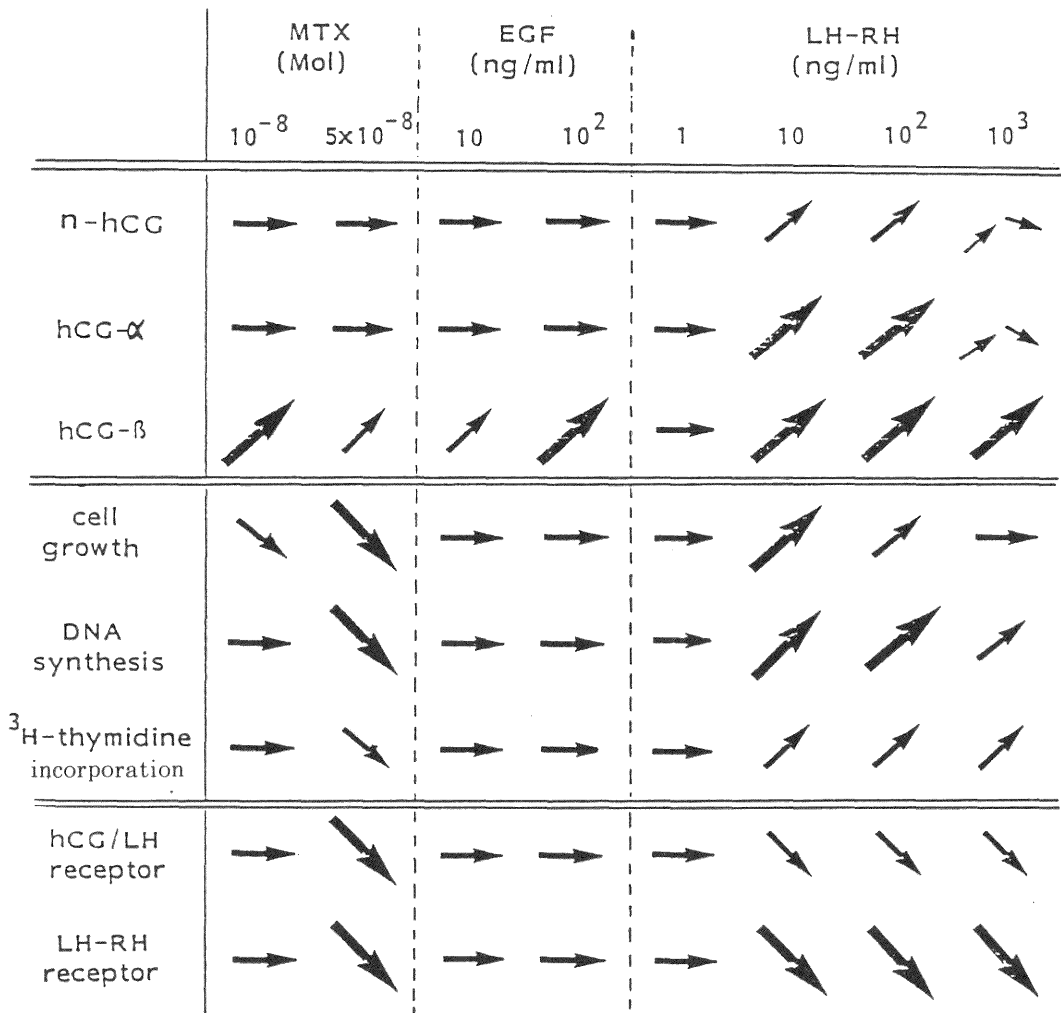


図10 Effect of MTX, EGF and LH-RH on GCH-1

原因の一つとして、抗腫瘍剤投与に起因する卵巣機能不全に続発する二次的下垂体亢進による LH の交叉性が考えられたが、浅井¹⁶⁾は hCG により特異的な anti β-subunit hCG 測定系により、細胞効果が腫瘍細胞からの hCG 分泌によることを明確にしている。また平島¹⁷⁾は、胃原発絨毛癌株 (SCH 株) を用いて抗腫瘍剤を添加したところ、両者において hCG 値の上昇が認められ、その発現機序として、抗腫瘍剤に感受性を持つ腫瘍性 trophoblast が死滅ないし変性を起こす過程において内蔵するホルモンを放出する可能性を報告している。一方城武¹⁸⁾は、絨毛癌株への MTX 添加実験により、hCG の分泌上昇は細胞融解、細胞数、多核細胞

の増加に必ずしも起因せず、生細胞 DNA 合成低下時の hCG 合成及び分泌亢進に由来するとしている。このように、いわゆる細胞効果については未だ結論は得られていない。本研究成績では、MTX 10^{-8} M 添加群で細胞数はやや抑制されるものの、DNA 合成、³H-thymidine のとりこみは未添加群と差がない。そのような状態での n-hCG、hCG-α は増加しているが未添加群とは差がなく、ただ hCG-β においてのみ有意の増加が認められる。これがいわゆる細胞効果現象と考えられる。更に 5×10^{-8} M 添加群では、かなり細胞増殖が抑制されているにもかかわらず、n-hCG、hCG-α、hCG-β とも未添加群に比べ差がみられない。本研究は細胞の形態的変

化については検討しなかったが、前述の如き細胞効果の機序を考えてみると、 10^{-8} M 添加において細胞数、DNA 合成、 ^3H -thymidine のとりこみが抑制されていない状態での hCG- β の有意の上昇は細胞崩壊によるものとは考え難く、また一方 5×10^{-8} M 添加において細胞数、DNA 合成、 ^3H -thymidine のとりこみが抑制されているにもかかわらず、hCG の上昇がみられないことからすると、城武らのいう細胞効果の機序としての DNA 合成低下時の hCG 合成及び分泌亢進とも異なっている。これは絨毛癌株の種類あるいは添加する MTX の濃度にも関係すると思われるが、細胞効果のメカニズムの複雑さを物語っている。MTX の hCG/LH-R, LH-RH-R への影響については、 10^{-8} M 添加群では未添加群に比し差がないが、 5×10^{-8} M 添加群では有意に両 receptor とその B max の低下が認められ、これは細胞増殖の抑制と関連して receptor 量も抑制されていると考えられる。

2. EGF の影響

EGF は1962年、米国の Stanley Cohen により雄マウス顎下腺より発見され、ヒトでも近似した物質が認められ、immune affinity chromatography で検索した結果、顎下腺、十二指腸のみならず甲状腺、膵、空腸、腎にも存在することが明らかになっている。この物質は「上皮の成長を促進する因子」という意味で EGF と命名され、当初は上皮細胞にのみ作用するものと考えられていたが、その後の研究により多様な種類の細胞の成長、発育、分化に重要な役割を持つことがわかってきた。絨毛組織に対しても同様の作用が考えられるわけであるが、絨毛組織内に EGF に対する receptor が存在することについてはいくつかの報告があり⁷⁾⁸⁾¹⁹⁾、Huot ら⁸⁾は蛍光抗体法で絨毛癌組織と正常絨毛組織いずれにもその存在を証明している。そしてその receptor を介して EGF がいかなる働きかけをするかについては未だ結論は得られていないが、その一つには hCG 分泌刺激作用がある⁷⁾⁸⁾⁹⁾。Huot ら⁸⁾は絨毛癌組織、正常絨毛組織に EGF receptor は存在するものの、hCG 分泌刺激作用については絨毛癌組織に対してはあるが、正常絨毛組織に対してはその作用を認めていない。Emery ら⁹⁾も同様の報告をしており、その違いについては明確にされていない。また Benveniste ら⁷⁾は絨毛癌株 (JEG-3) を用いて EGF による hCG 分泌刺激作用をみたところ、n-hCG については著明に増加するが hCG- α についてはさほどの変化はみられないとしている。このように従来の報告では絨毛の良性悪性による違い、あるいは産生される hCG

も subunit による違いがある。本研究では材料が絨毛癌細胞であるが、n-hCG、hCG- α 産生については未添加群と差がなかった。しかし hCG- β については濃度依存にその増加が認められた。これは絨毛癌の株の違いとその株細胞に対する EGF の至適濃度の違いも関係していると思われるが、細胞数、DNA 合成、 ^3H -thymidine のとりこみにおいては添加、未添加群間に差が認められない状態で hCG- β のみが有意に増加していることは興味深いところである。hCG/LH-R, LH-RH-R に対しての影響は認められなかったが、この濃度では細胞増殖に差がないことからすると当然と考えられる。

3. LH-RH の影響

LH-RH についても絨毛細胞にその receptor の存在、あるいは LH-RH そのものの局在が報告されている^{20) 21) 22) 23)}。Khodr ら²¹⁾は、蛍光抗体法により胎盤性 LH-RH が cytotrophoblast (C と略す) 内、syncytiotrophoblast (S と略す) の細胞膜表面、そして絨毛間質内に局在しており、C 内において産生された LH-RH が、S からの hCG 産生分泌を制御しているのではないかと推察している。また Currie ら²³⁾は radioreceptor assay により正常絨毛、胎状奇胎共に類似の LH-RH receptor が存在すると報告している。このように絨毛細胞が産生する LH-RH が自らに存在する receptor を介して、種々の peptide, steroid hormone の産生分泌に関与している可能性 (auto endocrine regulation) が考えられるわけであるが、特に hCG 産生分泌におよぼす影響についてはいくつかの報告がある。加藤ら¹¹⁾は正常絨毛の培養系を用いて検討した結果、hCG- α については有意に放出促進効果を示したが、hCG- β については効果を認めず、n-hCG については放出促進効果を示したが、有意性は hCG- α のそれより低かったと報告している。一方 Siler-Khodr ら¹²⁾は、加藤らと同様に正常初期絨毛の培養系を用いての検討で、LH-RH 添加により hCG- α 、hCG- β とも濃度依存性にその放出促進効果を認めており、hCG- β については異なった結果となっている。本研究では、LH-RH 10^{-10} 、 10^{-9} ng/ml 添加群では n-hCG、hCG- α 、hCG- β とも濃度依存性に刺激効果が認められた。しかし 10^{-8} ng/ml 添加群では、n-hCG、hCG- α について96時間後にその増加傾向が鈍化しており、hCG- β についてはその傾向はないが高濃度の添加により分泌が抑制される可能性が示された。加藤らのデータでも言及はしていないが、やはり同様の傾向が認められる。細胞数、DNA 合成、 ^3H -thymidine

のとりこみの面から LH-RH の影響をみると、細胞数では 10ng/ml 添加群の96時間後、DNA 合成では 10、10²ng/ml 添加群の96時間後、また ³H-thymidine のとりこみでは 10、10²・10³ng/ml 添加群の96時間後に上昇が認められ、至適濃度に差があるものの、おおむね LH-RH は直接的にはないにしても細胞増殖にも関与しているようである。次に hCG/LH-R, LH-RH-R に対する影響についてであるが、hCG/LH-R は未添加群に比し差は認められなかった。しかし LH-RH-R は、10、10²、10³ng/ml 添加群いずれにおいてもその96時間後に有意に B max の減少が認められた。これはおそらくは LH-RH に長時間さらされたことにより、Conn²⁴⁾のいう down regulation が働いたためと推測される。更に図 7 に示したごとく高濃度の LH-RH 添加により n-hCG, hCG- α の分泌が抑制されてくるのは、この LH-RH-R の down regulation の結果としておこってくる可能性が考えられる。

以上、絨毛癌細胞に対する MTX, EGF, LH-RH の影響について論じたが、syncytiotrophoblast と cytotrophoblast という性格の異なった二種類の細胞により構築される絨毛組織は、妊娠という特殊な環境下にいろいろな物質の関与をうけて、最終目標である分娩に達するために分化増殖を行っており、そのメカニズムの複雑さははかりしれない。本研究はそのごく一部の面である hCG 産生分泌のメカニズムの一部分しかとらえていないが、特に、LH-RH 添加時の、細胞増殖が亢進している状態での hCG 産生分泌の低下は興味ある新しい知見であり、いろいろな問題を包含していると考えられ、更に検討していく必要がある。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました恩師竹内正七教授に心から感謝の意を表します。また直接御指導をいただいた佐藤芳昭講師、広橋武助手、田中耕平香川医科大学講師そして実験室の西村厚子嬢に深くお礼申し上げます。なお、本研究の概要は第36回日本産科婦人科学会学術講演会（仙台市、1984）において発表した。

参 考 文 献

- Hoshina, M., Ashitaka, Y. and Tojo, S.: immunohistochemical interaction on antisera to hCG and its subunits with chorionic tissue of early gestation. *Endocrinolo. Japon.*, **26**: 175, 1979.
- Hoshina, Y., Boothby, M. and Boime, I.: Cytological localization of chorionic gonadotropin and placental lactogen mRNAs during development of the human placenta. *J. Cell. Biol.*, **93**: 190~198, 1982.
- Ashitaka, Y., Nishimura, R., et al.: Production and secretion of hCG and hCG subunits by trophoblastic tissue. In S.J. Segal (Ed.), *Chorionic Gonadotropin*, Plenum Press, New York, p.147~175, 1980.
- 望月真人, 松尾博哉, 丸尾 猛, 他: 胎盤ホルモンの産生分泌に関する自動制御機構. *産婦治療*, **48**: 727, 1984.
- Chatterjee, M. and Munro, H.N.: Structure and biosynthesis of human placental peptide hormones. *Vit. Horm.*, **35**: 149~208, 1977.
- 平田結喜緒: Epidermal growth factor. *日本医師会雑誌*, **85**: 833~841, 1981.
- Benveniste, R., Speeg, K.V. Jr., Carpenter, G., Cohen, S., Linder, J. and Rbinowitz, D.: Epidermal growth factor stimulates secretion of human chorionic gonadotropin by cultured human choriocarcinoma cells. *J. Clin. Endocrinolo. Metab.*, **46**: 169, 1978.
- R.I. Huot, J.M. Foidart, R.M. Nardone and K. Stromberg: Differential Moduration of human chorionic gonadotropin secretion by epidermal growth factor in normal and malignant placental cultures. *JCE and M*, Vol. **53**, No. 5: 1059~1063, 1981.
- Emery, A., Wilson, M.D., M.J. Jaward, M.S. and Michael, W., Vernon, Ph.D.: Effect of epidermal growth factor on hormone secretion by term placenta in organ culture. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, Vol. **149**, No. 5: 579~580, 1984.
- Gabriel Khodr, M.D., Theresa, M. and Siler-Khodr, Ph.D.: The effect of luteinizing hormone-releasing factor on human chorionic gonadotropin secretion. *Fertil. Steril.*, **30**: 301~304, 1978.
- 加藤隆郎, 木下幹久, 村松拡巳, 矢野樹理, 小笹宏, 富永敏郎, 西村敏雄: 人培養トロホプラストの hCG 分泌におよぼす LH-RH の効果. *産婦進*

- 歩, 32: 289~294, 1980.
- 12) T.M. Siler-Khodr and G.S. Khodr: Gonadotropin releasing hormone (Gn RH) in the placenta. Proceeding of the workshop sponsored by the Reproductive Biology Study section of the division of Research Grants; 347~363, 1983.
 - 13) 石塚直隆, 友田 豊, 青木孝充, 水谷栄彦, 岡本美枝: 絨毛性腫瘍における低単位 hCG の測定. 日産婦誌, 21: 593, 1969.
 - 14) Bagshawe, K.D.: Choriocarcinoma. 218 Edward Arnold Ltd., London. 1969.
 - 15) 田中憲一: ヒト絨毛癌細胞培養株の樹立とその性状. 新潟医学会誌, 95: 95, 1981.
 - 16) 浅井保正: 絨毛性腫瘍管理に於ける β -subunit hCG system による尿中 hCG 測定の意義. 日産婦誌, 28: 703~711, 1976.
 - 17) 平島直信, 三浦清巒, 石丸忠之, 高村慎一, 泰 知紀, 山辺 徹: 絨毛性腫瘍における細胞効果の判定基準と発現機序に関する検討. 臨婦産, 32: 437~441, 1978.
 - 18) 城武昇一, 関谷宗英, 小林 治, 高見沢裕吉: 人絨毛癌培養細胞に於ける DNA 合成と hCG の合成分泌調節. 抄録, 日産婦誌, 35: 1480~1481, 1983.
 - 19) O'Keefe, E., Hollenberg, H.D. and Cuatrecasas, P.: Epidermal growth factor: Characteristics of specific binding in membranes from liver, placenta and other target tissues. Arch. Biochem. Biophys., 164: 518, 1974.
 - 20) Khodr, G.S. and Siler-Khodr, T.: Localization of luteinizing hormone releasing factor on human chorionic gonadotropin secretion. Fertil. Steril., 30: 301~304, 1978.
 - 21) Gabriel, S., Khodr, M.D., Theresa Siler-Khodr, Ph.D.: Localization of luteinizing hormone-releasing factor in the human placenta. Fertil. Steril., 29: 523~526, 1978.
 - 22) Theresa, M., Siler-Khodr, Ph.D., Gabriel, S. and Khodr, M.D.: Content of luteinizing hormone-releasing factor in the human placenta. Am. J. Obstet. Gynecol., 130: 216~219, 1978.
 - 23) A.J. Currie, M.M. Fraser and R.M. Sharpe: Human placental receptors for luteinizing hormone releasing hormone. Biochemical and biophysical research communications, 99: 332~338, 1981.
 - 24) Conn, P.M., Conti, M., Harwood, J.P., Dufau, M.L. and Catt, K.J.: Internalization of gonadotropin-receptor complex in ovarian luteal cells. Nature, 274: 598, 1978.

(平成元年1月9日受付)