胞状奇胎患者尿中hCGの生物学的・生化学的性格と そのラジオイムノアッセイ

神戸大学医学部産科婦人科学教室

西 村 隆一郎, 浜 本 保, 田 辺 恭 三
竹 森 正 幸, 足 高 善 彦, 東 條 伸 平

Biological and Biochemical Properties of Human Chorionic Gonadotropin from Urine of Patients with Hydatidiform Mole and its Radioimmunoassay

**Ryuichiro NISHIMURA, Tamotsu HAMAMOTO, Keizo TANABE,
Masayuki TAKEMORI, Yoshihiko ASHITAKA and Shimpei TOJO**

Department of Obstetrics and Gynecology,
Kobe University School of Medicine

Human chorionic gonadotropin (hCG) was extracted and purified from the urine of four patients with hydatidiform mole. The immunological activities of the hCG-hydatidiform mole by hCG radioimmunoassay (RIA) ranged from 9,380 to 9,700 IU/mg, and the biological activities measured by the immature rat ovarian weight method ranged from 7,250 to 7,780 IU/mg.

The results of the amino acid compositions of all the hCG-hydatidiform moles were practically identical with those of hCG-normal pregnancies. The carbohydrate moiety of the hCG-hydatidiform mole was also suspected to be almost similar to that of hCG-normal pregnancies by the results of their in vitro and in vivo biological activities.

It was demonstrated that hCG-hydatidiform mole was composed of α and β subunits (similar to a hCG-normal pregnancy) when hCG-hydatidiform mole was separated into subunits by SDS disc electrophoresis after treatment with mercaptoethanol.

The RIA system of hCG-hydatidiform mole can be established. The concentrations of hCG in sera of normal pregnant women and patients with trophoblastic diseases assayed by hCG-hydatidiform mole RIA were equivalent to those obtained by a standard hCG RIA.

Hence, a standard hCG-immunoassay method used in the management of trophoblastic diseases is considered reasonable so far as the immunoantigenicity of hCG is concerned.

緒 言

胞状奇胎妊婦の血中や尿中には正常妊娠該当時期に比して極めて大量のヒト絨毛性ゴナドトロピン (human chorionic gonadotropin, hCG) が分泌、排泄される場合が多いことはよく知られており、このことは胞状奇胎妊娠の診断上、不可欠な要素ともなっている。また胞状奇胎娩出後の予後判定において血、尿中hCG濃度の消長の追跡は重要な臨床パラメーターとしてすでにルーチン化されている。現在、通常行われるhCGの免疫学的測定法は正常妊婦尿由来hCGに対する抗血清が用いられており、このことは胞状奇胎妊娠時に分泌されるhCGが正常妊娠時のそれと免疫学的に同一であろうとの前提のもとに行われている。

胞状奇胎hCGの質的性格についての現在までの報告^{9) 10)}では、その免疫抗原性に関しては正常妊婦尿由来hCGとの間に大きな差異はないものと推定されているが、化学組成の分析が許される程度に純化した胞状奇胎hCGについての成績はChoyら⁸⁾が1例の胞状奇胎に行った報告をみるにすぎない。

そこで、私共は4例の胞状奇胎患者尿中より個別にhCGを抽出・精製し、それらの生化学的、生物学的諸性格を検討すると共に、その抗血清を作製して胞状奇胎尿hCGのhomologous radioimmunoassay (RIA)を設定し、それらの免疫抗原性について検討を加えた。

実 験 方 法

I. 実験材料

胞状奇胎と診断された4人の婦人、T.K.(21才、初産婦)、N.O.(24才、初産婦)、M.T.(24才、経産婦)、S.M.(26才、経産婦)の胞状奇胎娩出前に採取した尿を抽出材料とした。4例共に胞状奇胎娩出後の予後は現在まで良好である。

II. 尿中hCGの抽出と精製

全操作過程は4℃下で行われた。

1) 抽出方法

尿中よりのhCGの抽出はBorthら⁵⁾の報告したKaolin-acetone法にアルコール沈澱法¹⁾を加えて行った。

2) DEAE-Cellulose イオン交換クロマト

得た粗抽出物を凍結乾燥末とし、約80mlの0.005Mトリス塩酸緩衝液、pH8.0で溶解、bufferizeしたのち、同緩衝液で十分にbufferizeしたDEAE-Celluloseカラム(2×30cm)に添加した。溶出は0.05、0.1、0.2Mの塩濃度で段階溶離を行い、溶出液は1画分3ml採取し、吸光度(280nm)とhCG-RIAにて各画分の免疫活性を測定した。

3) Sephadex G-100ゲルクロマト

DEAE-Celluloseクロマト後のhCG免疫活性の主画分を蒸留水で透析後、凍結乾燥し、0.05Mリン酸ナトリウム緩衝液、pH7.2、1mlで溶解し、同緩衝液でbufferizeしたSephadex G-100カラム(2.8×96cm)に添加した。流速10ml/時で1画分3ml採取し、280nmでの吸光度とhCG-RIAにて各画分の免疫活性の測定を行った。

III. SDS電気泳動

Weber and Osbornの方法¹⁹⁾に準じ、2%mercaptoetanol-0.05%W/V boromophenol blue-4M urea-50μl glycerol-0.02Mリン酸ナトリウム緩衝液(pH7.2) 50μlに各精製hCG標品50μgを加えて、

100℃, 2 分間 incubate したのち, その 30 μ l をゲル上面に注入した。ゲルは 7.5% を用い, 1 本 7mA 通電した。染色は 0.01% coomassie brilliant blue R-250-50% メタノール-10% 酢酸で行い, 7% 酢酸溶液中で脱色した。分子量測定のために同条件下で Lysozyme の重合体からなる分子量マーカー (BDH, 14300-71500) を同時泳動した。

IV. アミノ酸分析

各 hCG 標品約 1mg を 6N 塩酸 1ml で溶解し, 密封試験管中で 110℃, 12 時間加水分解し, evaporation により塩酸を除いた後, 蒸留水にて 2 回洗浄した加水分解産物を自動アミノ酸分析器 (JLC-6 AH, JEOL) にて分析した。Tryptophan 定量は行わなかった。

V. 免疫活性の検討

得た胎状奇胎尿 hCG の免疫活性は既報の²⁾二抗体法 hCG-RIA における 50% Inhibition の検討により行い, 標準 hCG として 2nd IS hCG と NIH より供与された CR-119 を用いた。また, hCG- α 及び hCG- β RIA 系²⁾におけるそれぞれの標準曲線についても検討を加えた。

VI. 生物活性の検討

1) 幼若ラット卵巣への影響

hCG の生物活性は幼若ラット卵巣重量法により行い, 総量 0.2, 1, 5 μ g 投与群についてはその卵巣の組織学的検索を行った。

2) レセプターアッセイによる検討

Catt ら⁷⁾の方法にもとずき, ラット睾丸ホモゲネートの binding fraction を用いた hCG のラジオレセプターアッセイ (RRA) を行い, 各種 hCG のレセプター結合能を検討した。

3) in vivo での Parlow rat 卵巣への集積

22 日令の Wister 系幼若雌ラットに PMSG 50IU 投与後 96 時間で hCG を 25IU 投与し, さらにその 5 日後に尾静脈より生食 1ml に溶解した¹²⁵I 標識胎状奇胎尿 hCG を注入し, 経時的に卵巣への放射能集積を測定した。

VII. 胎状奇胎尿 hCG の RIA

1) 抗血清の作製

Vaitukaitis ら¹⁶⁾の方法を用い, 生後 3 ヶ月の New Zealand white rabbit に初回量 200 μ g を 2.5mg の BCG ワクチンと共に 1ml 生食に溶解し, Freund の complete adjuvant で乳剤としたのち多部位に皮下注射し, 別部位に百日咳ワクチン 0.5ml を皮下注射した。初回免疫後 2 週間毎に 100 μ g を Freund の incomplete adjuvant と共にブースターを行った。

2) ¹²⁵I の標識

Miyachi ら¹⁰⁾の方法に準じ, 酵素標識法により行い, 各種 hCG 標品の比放射能は 50-65 μ Ci/ μ g であった。

結 果

I. 胎状奇胎尿中 hCG の抽出・精製

症例 T.K. の尿について行った hCG の抽出・精製の結果を Table 1 に示した。他の 3 症例についてもほぼ同様な結果が得られ, それぞれの%回収率は T.K.=15%, N.O.=14%, M.T.=18%, S.M.=15% であった。

DEAE-Cellulose クロマトでは hCG 免疫活性は 0.05-0.1M NaCl 濃度でその大部分が溶出されたが, その約 70% は 0.05M NaCl 画分に認められた (Fig.1)。

Table 1. Immunological activity and recovery of hCG from urine of the patient with hydatidiform mole (T.K.)

	Total Volume ml	Concentration IU/ml	Specific Activity IU/mg	Total Activity IU	Recovery %
URINE	2,000	300	120	600,000	
KAOLIN-ACETONE- ALCOHOL	28	4,900	2,700	137,200	22.9
DEAE-C	21	5,200	6,000	109,200	18.2
SEPHADEX G-100	15	6,000	9,700	90,000	15.0

Fig. 1. Chromatography on DEAE-Cellulose. The lyophilized powder in 80ml of 0.005M Tris-HCl buffer, pH 8.0 was applied to a column of DEAE-Cellulose. The elution was performed by a stepwise change of NaCl concentration in the same buffer and fraction of 3ml were collected. ↓, when NaCl concentration was changed; —, fraction pooled.

Sephadex G-100ゲルロカでは吸光度のピークに一致してhCG免疫活性のピークが認められ(Fig. 2), その部分を採取し, 十分に蒸留水で透析した後, 凍結乾燥粉末とした。

II. SDS電気泳動

Fig.3に示すごとく, 4例の胎状奇胎尿hCGは全て, CR-119と同じく2つのバンドとなって泳動され, 標準分子量マーカールとの関係から, これらの分子量は移動度の大きいもの(A)は約19,000であり, 小さいもの(B)は約29,000と計算された(Fig.4)。

III. アミノ酸分析

4例の胎状奇胎尿hCGのアミノ酸組成比をTable 2に示した。諸家の報告による正常妊婦尿由来hCGのアミノ酸組成比と比較すると, aspartic acidが4例共やや低値であったこと, 逆にvalineとleucineが4例共にやや高値であったこと, またT.K.のprolineが高値となったこと以外にはほとんど差異を認めなかった。

Fig. 2. Gel-filtration on Sephadex G-100. The major peak from DEAE-Cellulose chromatography was applied to a column of Sephadex G-100 (superfine) in 0.05 M sodium phosphate buffer, pH 7.2 and fraction of 3ml were collected, —, fraction pooled.

Fig. 3. SDS disc electrophoresis of purified hCG-preparations. Gel 1=CR-119, gel 2 =hCG from T.K., gel 3=hCG from N.O., gel 4=hCG from M.T., gel 5=hCG from S.M., gel 6=standard molecular markers.

IV. 免疫活性の検討

hCG のRIA 系で調べた免疫活性は T.K.= $9,700 \pm 230$, N.O.= $9,610 \pm 190$, M.T.= $9,380 \pm 212$, S.M.= $9,670 \pm 320$ ($M \pm SD$) IU/mg であった。hCG- α , hCG- β の RIA 系でのこれらの hCG 標品の標準曲線は CR-119 と比べて、用量置換性や平行性の点ではほぼ同一の免疫交叉性を示した (Fig. 5)。

Fig. 4. Molecular weight determination of the dissociation products of hCG-hydatidiform mole by SDS disc electrophoresis. Mobility was expressed as a rate of that of bromophenol blue as reference.

Table 2. Amino acid analyses* of hCG from normal pregnant women and the patients with hydatidiform mole (expressed as moles/mole hCG).

	hCG*	hCG-hydatidiform mole			
		(T.K)	(N.O)	(M.T)	(S.M)
Lysine	4.4	4.3	4.1	4.4	4.3
Histidine	1.9	1.4	1.6	1.5	1.4
Arginine	6.6	6.1	6.7	6.5	6.3
Aspartic acid	8.0	6.2	7.2	6.8	6.9
Threonine	7.4	7.7	7.3	7.4	7.3
Serine	8.9	8.7	9.3	8.6	8.8
Glutamic acid	7.9	7.3	7.4	7.5	7.7
Proline	12.2	13.9	12.9	12.7	12.4
Glycine	5.6	5.5	5.5	5.4	5.8
Alanine	5.9	5.9	5.8	6.1	6.0
Half-cystine	7.8	7.7	7.5	7.5	7.6
Valine	7.4	8.5	8.7	8.7	8.8
Methionine	1.4	1.0	1.1	1.4	1.2
Isoleucine	2.5	2.8	2.9	2.6	3.0
Leucine	6.6	7.6	7.5	7.9	7.7
Tyrosine	3.0	2.5	1.8	2.4	2.3
Phenylalanine	2.8	2.8	2.7	2.7	2.5

*Data taken from Canfield et. al. (11)

Tryptophan analysis was not examined

Fig. 5. Dose-response lines for hCG (CR-119) and hCG-hydatidiform mole (T.K.) in homologous hCG, hCG- α and hCG- β radioimmunoassay systems. m-hCG, hCG from hydatidiform mole.

V. 生物活性の検討

幼若ラット卵巢重量法による生物活性は T.K. = $7,400 \pm 480$, N.O. = $7,250 \pm 520$, M.T. = $7,600 \pm 470$, S.M. = $7,780 \pm 240$ (M $\pm$ SD) IU/mg であり, 同一方法で得た正常妊婦尿由来 hCG の示した $7,300 \pm 320$ IU/mg とほぼ同力価を示した。

卵巢の組織学的所見については 4 例の胞状奇胎尿 hCG は正常妊婦尿 hCG 投与群と差を認めなかった。胞状奇胎尿 hCG (T.K.) 0.2 μ g 投与 (Fig. 6-a) では発育卵胞と共に閉鎖卵胞の存在も認められ, 生食投与群ではみられない黄体形成も認めたが, 間質発育はほとんど認められなかった。同じく 5 μ g 投与群では (Fig. 6-b), 発育卵胞はほとんど認めず, cystic degeneration に陥っており, 著明な黄体形成と間質肥大が認められた。

Fig. 6. Ovaries of immature rats in treatment with $0.2\mu\text{g}$ (A) $5.0\mu\text{g}$ (B) of hCG-hydantidiform mole. ($\times 5$, HE)

Fig. 7. Dose-response lines for the receptor assay using rat testis homogenates of hCG (CR-119) and hCG-hydantidiform mole. m-hCG, hCG from hydantidiform mole (T.K.).

2) レセプターアッセイによる検討

4例の胞状奇胎尿hCGの辜丸レセプターに対する 125 I-hCG (CR-119) との競合的結合はhCG (CR-119) とほぼ同程度の用量反応性で置換された (Fig.7)。

3) in vivoでのParlow rat 卵巣への集積

125 I-胞状奇胎尿hCG 静注後, 卵巣の放射能は急速に増加し, 2時間で最高値に達した後プラトーとなり, 4時間後より減少傾向を示した (Fig.8)。

Fig. 8. Uptake of radioactivity in Parlow rat ovary after administration of 125 I-hCG (CR-119) and 125 I-hCG-hydatidiform mole with time course. m-hCG, hCG-hydatidiform mole.

Fig. 9. Dose-response lines for hCG (CR-119) and hCG-hydatidiform mole in a homologous hCG-hydatidiform mole radioimmunoassay system. m-hCG, hCG from hydatidiform mole (T.K.).

Fig. 10. Relationship of hCG concentrations in sera of normal pregnant women and patients with trophoblastic diseases assayed by standard hCG and hCG-hydatidiform mole radioimmunoassay.

VI. 胞状奇胎尿hCGのRIA

その標準曲線をFig.9に示した。アッセイ内, 間の変動係数はそれぞれ9, 13%CVであった。この胞状奇胎尿hCG-RIAを用いて測定した正常妊婦と絨毛性疾患患者血中のhCG濃度は従来よりのhCG-RIAによる値とFig.10のように良い相関を示した。

考 察

4例の胞状奇胎患者尿中より同一の抽出・精製法を用いて, 一般に標準品とされる正常妊婦尿由来hCG (CR-119) とほぼ同程度の生物活性と免疫活性を有する胞状奇胎尿hCGを得ることができた。

これら4種の胞状奇胎尿hCGは全てmercaptoethanolによる還元と4 M urea処理後のSDS電気泳動で容易に2つの異なる物質に分離された。この泳動上分離された両者の分子量19,000および29,000という値は正常妊婦尿由来hCGについて行ったMorgan and Canfield¹¹⁾の成績による分子量18,000及び30,000の物質とそれぞれ近似した結果となった。Reichert and Lawson¹³⁾によってmercaptoethanol還元後のSDS電気泳動によりhCG, LH, FSHなどの糖蛋白ホルモンがsubunitに分離されることが明らかにされていることから, 胞状奇胎尿hCGも正常妊婦尿hCGと同じく α と β subunitの非共有結合から構成されているものと考えられる。しかも, 従来よりのhCGとその α , β subunitのRIA系でも4例の胞状奇胎尿hCGはCR-119とほぼ同一の免疫交叉性を示したことから, これを構成している両subunitはそれぞれ免疫活性を有することが明らかとなった。さらに, 正常絨毛組織ではすでにhCGの α と β subunitそれぞれのm-RNAが別個に存在することが確認され⁴⁾ hCG生合成がsubunitを介して行われるものと強く考えられているが, 胞状奇胎絨毛においてもそのhCG生合成はsubunitを介する可能性が推定される。

4例の胞状奇胎尿hCGのアミノ酸組成比は諸家の報告⁶⁾による正常妊婦尿由来hCGのそれらとよく近似した結果となった。精製された胞状奇胎尿hCGのアミノ酸組成に関する知見は少なく, 1例の胞状奇胎についてのChoyら⁸⁾の最近の報告によると, 彼らもそのアミノ酸組成に関しては正常妊

婦尿hCGと差を認めていない。一般に糖蛋白体の抗原性決定基はその糖部分にではなく、蛋白部分に存在するものと考えられており、今回得られた胞状奇胎尿hCGの免疫活性が4例共にほぼ同程度であったことは、それらの間でアミノ酸組成に変化が認められないという結果でも理解される。

hCGの生物活性の一面としてのin vitroにおける胞状奇胎尿hCGのラット睾丸ホモゲネートレセプター分画への結合能の点においてもCR-119と変らない用量置換性を示し、さらにin vivoでの生物学的作用においても、幼若ラット卵巢重量増加の面や卵巢への組織学的影響からみてCR-119とほぼ同程度の力価を示した。糖蛋白ホルモンの生物活性の発現において、その糖部分が重要な役割を担うことが明らかにされつつある。これに関する一連の研究はhCGの糖鎖をシアル酸から順にそれらの切断酵素で除去した不完全糖鎖hCG誘導体の諸性格を検討したものであるが、主要な知見は次の3点であろう。(1)desialylationによりhCGの血中半減期が短くなり、in vivoでの生物活性が減少する¹⁷⁾¹⁸⁾。(2)シアル酸を完全に除去したhCGのin vivoでのレセプター結合率は減少し¹⁵⁾、肝に摂取され易くなる¹²⁾が、in vitroでのレセプター結合能は逆に亢進する¹⁹⁾。(3)シアル酸からマンノースに至る糖鎖切断により免疫活性に大きな変化はないが、レセプター結合後に起る細胞内反応に影響を及ぼす³⁾。以上の知見を背景に今回得られた胞状奇胎尿hCGの示した免疫活性やin vivoおよびin vitroの生物活性を検討すると、この胞状奇胎尿hCGの糖部分は正常妊婦尿hCGに比してほとんど変わらないか、少なくとも生物活性に影響を与える程の大きな変化は生じていないものと推定される。臨床的にも胞状奇胎患者の約10-20%に卵巢の過剰刺激にもとづくルテイン嚢腫がみられるが、これもin vivo生物活性を有するhCGが大量に分泌された結果であろう。

実際に正常妊婦血清や絨毛性疾患患者血清を胞状奇胎尿hCGのhomologous RIAで測定したhCG濃度は従来からの正常妊婦尿hCG-RIAによる値とよく相関していた。胞状奇胎尿hCGについてのhomologous RIA系設定の試みは現在まで報告をみないが、今回の結果から、胞状奇胎患者の血中や尿中のhCGを通常行われている正常妊婦尿hCGを用いた免疫学的測定法により測定することはその免疫抗原性に関しては妥当性があるものと考えられた。

結 語

4例の胞状奇胎患者尿中よりそれぞれ別個にhCGを抽出・精製し、それらの生化学的、生物学的諸性格を正常妊婦尿hCGと比較検討し、以下の成績を得た。

- 1) 4例の胞状奇胎尿hCGの免疫活性および生物活性は正常妊婦尿hCGのそれらとほぼ同等であった。
- 2) 4例の胞状奇胎尿hCGのアミノ酸組成は正常妊婦尿hCGのそれとよく近似しており、メルカプトエタノール処理後のSDS電気泳動により2つのsubunitに分離されることから、やはり α および β subunitから構成されることが推定された。またその糖部分に関しても正常妊婦尿hCGに比して大きな差異はないものと考えられた。
- 3) 胞状奇胎尿hCGについてのRIA系を設定することができた。このRIA系による正常妊婦や絨毛性疾患患者の血中hCG濃度は通常のhCG-RIAによる値とよく相関した。

精製hCG(CR-119)を提供いただいた米国NIHに感謝する。本研究の一部は文部省科研費(No. 548285, 567284)及び厚生省がん研究助成金に負うものである。

なお、本論文の要旨は第53回日本内分泌学会総会(昭55年5月、横浜)、第53回日本内分泌学会秋期大会(昭55年10月、大阪)において発表した。

文 献

- 1) Albert, A., Kobi, J., Leiferman, J. and Derner, I.: Purification of pituitary gonadotropin from urine of normal men. *J. Clin. Endocr. Metab.*, 21: 1–20, 1961.
- 2) Ashitaka, Y., Nishimura, R., Endo, Y. and Tojo, S.: Subunits of human chorionic gonadotropin and their radioimmunoassays. *Endocrinol. Jpn.*, 21: 429–435, 1974.
- 3) Bahl, O.P.: Human chorionic gonadotropin, its receptor and mechanism of action. *Fed. Proc.*, 36: 2119–2127, 1977.
- 4) Boime, I., Landefeld, T., McQueen, S. and McWilliams, D.: The biosynthesis of chorionic gonadotropin and placental lactogen in first- and third-trimester human placenta. 235–257, Ed. by K.W. McKerns, *Structure and Function of the Gonadotropins*, Plenum Press, New York, 1978.
- 5) Borth, R., Lunnenfeld, B. and Menzi, A.: Comparison of Kaolin-acetone methods, p.13. Ed. by A. Albert, *Human Pituitary Gonadotropins*, Springfield, Ill., Charles C. Thomas, 1961.
- 6) Canfield, R.E., Morgan, F.J., Kanmerman, S., Bell, J.J. and Agosto, M.M.: Studies of human chorionic gonadotropin. *Recent Progr. Horm. Res.*, 27: 121–164, 1971.
- 7) Catt, K.J., Dufau, M.L. and Tsuruhara, T.: Radioligand receptor assay of luteinizing hormone and chorionic gonadotropin. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34: 123–132, 1972.
- 8) Choy, Y.M., Lau, K.M. and Lee, C.Y.: Purification and characterization of urinary choriogonadotropin from patients with hydatidiform mole. *J. Biol. Chem.*, 25: 1159–1163, 1979.
- 9) Lewis, J., Jr., Dray, S., Genuth, S. and Schwartz, H.S.: Determination of immunological similarities of human pregnancy gonadotropin and choriocarcinoma gonadotropin with antisera prepared in rabbits and monkeys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 24: 197–204, 1964.
- 10) Miyachi, Y., Vaitukaitis, J.L., Nieschlag, E. and Lipsett, M.B.: Enzymatic radioiodination of gonadotropins. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 34: 23–28, 1972.
- 11) Morgan, F.J. and Canfield, R.E. Nature of the subunits of human chorionic gonadotropin. *Endocrinology*, 88: 1045–1053, 1971.
- 12) Odink, J., Brand, E.C. and Van Hall, E.V.: Ovarian binding and intrinsic biological activity of desialylated human chorionic gonadotropin (asialo-hCG) in immature super-ovulated rats. *Acta Endocrinol. (Kbh)* 90: 349–360, 1979.
- 13) Reichert, L.E., Jr. and Lawson, G.M., Jr.: Molecular weight relationships among the subunits of human glycoprotein hormones. *Endocrinology*, 92: 1034–1042, 1973.
- 14) Reisfeld, R.A. and Hertz, R.: Purification of chorionic gonadotropin from the urine of patients with trophoblastic tumors. *Biochim. Biophys. Acta*, 43: 540–543, 1960.
- 15) Tsuruhara, T., Van Hall, E.V., Dufau, M.L. and Catt, K.J.: Ovarian binding of intact and desialylated hCG in vivo and in vitro. *Endocrinology*, 91: 463–469, 1972.
- 16) Vaitukaitis, J.L., Robbins, J.B., Nieschlag, E. and Ross, G.T.: A method for producing specific antisera with small doses of immunogen. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 33: 988–991, 1971.
- 17) Van Hall, E.V., Vaitukaitis, J.L. and Ross, G.T.: Immunological and biological activity of hCG following progressive desialylation. *Endocrinology*, 88: 456–464, 1971.
- 18) Van Hall, E.V., Vaitukaitis, J.L. and Ross, G.T.: Effects of progressive desialylation on the rate of disappearance of immunoreactive hCG from plasma in rats.

1644 胞状奇胎患者尿中 hCG の生物学的・生化学的性格とそのラジオイムノアッセイ(西村, 他 5 名)

Endocrinology, 89: 11–15, 1971.

19) Weber, K. and Osborn, M.: The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. J. Biol. Chem., 244: 4406–4412, 1969.

(受付日: 56. 4. 10)