

Radioreceptorassay (RRA) による血中 HCG の測定

—その基礎的検討と臨床応用—

慶応義塾大学医学部産科婦人科学教室 (指導: 飯塚理八教授)

田 辺 清 男

Radioreceptorassay (RRA) of Serum Human Chorionic Gonadotropin

—Its Basic Examinations and Some Clinical Applications—

Kiyoo TANABE

Department of Obstetrics and Gynecology, Keio University School of Medicine, Tokyo

(Director: Prof. Rihachi Iizuka)

概要 LH-HCG レセプターを用いた HCG の Radioreceptorassay (RRA) を開発するために, その基礎的検討を行なうとともに, 排卵前より連続的に採血し妊娠した12例 (正常初期妊娠9例, 初期流産3例) について, RRA により血中 HCG 動態を明らかにし, かつ RIA による HCG 値との比較検討を行なった.

(1) レセプターとして, 性成熟雄ラット睾丸 homogenate を, 600g から 2,000g にわたる遠心分離した上清を用いた.

(2) 緩衝液として, 10mM Tris-HCl, pH 7.4, 250mM Sucrose に, Na^+ を50mEq/L, Ca^{++} と Mg^{++} を10mEq/L 加えたものを用いた.

(3) incubation には, 37°Cで6時間あるいは室温一昼夜放置法を用いた.

(4) RRA においては, HCG と LH とは 100%交叉し, FSH とは 4%交叉した.

(5) 血清による結合阻害が認められるため, 標準 HCG に正常黄体期血清を測定する検体と等量加え, 補正した.

(6) 感度は 5 mIU であり, intra-assay 及び inter-assay precision はそれぞれ C.V.=3.71%, 5.62%であった.

(7) 正常初期妊娠では, RRA により LH ピーク後13日目より HCG は検出可能であり, HCG の最大値は35日目から56日目頃に認められ, 140IU/ml から 500IU/ml であった. RIA による HCG 値と比較すると, RRA によるものは 1.5倍から 3倍高値を示し, その差は80IU/ml から 250IU/ml であった.

(8) 初期流産の HCG 動態は症例により異なる様相を示した.

以上から, RRA による血中 HCG の測定は, 操作が簡単で, かつ約6時間という短時間の incubation ですみ, 感度及び信頼性にすぐれ, 早期の妊娠診断, 子宮外妊娠の診断, 切迫流産の予後判定, 胎状奇胎や絨毛上皮腫の follow-up 等に応用可能である.

Synopsis Basic Examinations were made to establish Radioreceptorassay (RRA) of HCG. Serum HCG levels were measured by RRA during early pregnancy in twelve subjects, consecutively observed from pre-ovulation, which were compared with those by RIA.

1) The supernatant prepared by centrifugation at 600 g to 2,000 g after homogenization of rat testes was used as receptors.

2) Buffer contains 10 mM Tris-HCl, 250 mM Sucrose, 50 mM NaCl, and 5 mM CaCl_2 and 5 mM MgCl_2 .

3) Incubation of receptors was done for 6 hours at 37°C, or overnight at room temperature.

4) LH showed cross-reactivity equal with HCG, while FSH approximately 4%.

5) Normal luteal phase serum, same in amount as samples, was added to standards to neglect the non-specific binding of serum.

6) Sensitivity was 5 mIU, while intra-assay and inter-assay variances were 3.71% and 5.62%, respectively.

7) In nine normal pregnant cases, HCG was found detectable first on the 13th day after LH peak. The maximum HCG levels varied from 140 to 500 IU/ml. The HCG values were 1.5 to 3 times higher than those by RIA.

8) Three spontaneous abortions showed individual differences of HCG levels.

From the results, RRA was simple, rapid, reliable and sensitive, and applicable to some clinical uses.

緒 言

Human Chorionic Gonadotropin (HCG) は、現在もつばら免疫学的測定法により測定されている。しかし、免疫学的測定法は異種動物血中に産生された抗体を用いるために、それが生物活性を有する HCG を測定しているのかどうか、常に問題となつて来た。

一方、ホルモンの作用機序の解明が進むに従つて、各ホルモンに特異的なレセプターが存在することが解り、抗体の代わりにレセプターを用いることにより、いわば試験管内の bioassay とも言える Radioreceptorassay (RRA) の可能性が示唆されて来た。

著者は、母体血中 HCG の RRA による測定法を開発するとともに、それによる血中 HCG 値と、Radioimmunoassay (RIA) による値とを、排卵前より連続的に採血し、妊娠した正常初期妊娠及び初期流産例において比較検討したので報告する。

研究方法ならびに対象

(I) 研究方法

(1) レセプターの分離

性成熟雄ラット (Sprague-Dawley 系ラット、体重250g~300g) より睪丸を摘出し、白膜を除去し、細切した後緩衝液を加え、Teflon homogenizer を用いて homogenize (約1,000rpm, 15 strokes) したものを、600g から2,000g にわたる遠心分離 (4°C, 3,000rpm, 20分) し、その上清をレセプターとして用いた。

(2) 標識 HCG の作製

標識用 HCG (帝国臓器製, 10,000~12,000IU/mg) を 5 μ g, 125 I (Na 125 I, NEN, 033H) 1mCi を用い、これに Chloramine T を 5 μ g 加えて1分間反応させた後、Sodium Metabisulfite 20 μ g 加えて反応を止め、KI 1,000 μ g 添加し、0.8 $\times$ 15 cm の Sephadex G-50 カラムにて分離した。

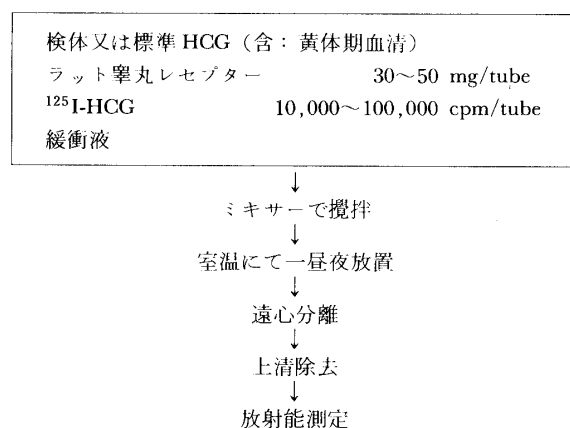
(3) 緩衝液

緩衝液として、10mM Tris-HCl, pH 7.4, 250 mM Sucrose, 5mM MgCl₂, 5mM CaCl₂, 50mM NaCl, 0.2% BSA (W/V) を用いた。

(4) RRA による血中 HCG の測定法

標準用 HCG としては4190IU/mg(帝国臓器製)のものを希釈して100 μ l ずつ用いた。検体としては血清を用いた。これにレセプターを 30mg から50mg (初期ラット睪丸重量相当) と、 125 I-HCG を 10,000cpm から 100,000cpm (通常は 20,000cpm から40,000cpm) を加え、ミキサーで良く攪拌した後、37°Cで6時間あるいは一昼夜室温に放置し、遠心分離 (4°C, 3,000rpm, 15分) した上清を吸引除去し、沈渣の放射能を測定 (Aloca-Auto-Gamma-Counter) し、B/T または B-N/B₀-N(%) を算出した (図1)。

図1 RRA による血中 HCG 測定法



なお、標準曲線は、標準 HCG に測定しようとする検体と等量のプールされた正常黄体期血清を加え、補正した。

(5) RIA による血中 HCG 及び LH, FSH, Estradiol, Progesterone の測定

抗 HCG 抗体及び抗 HCG β -subunit 抗体を用いた血中 HCG の測定は、奥村ら⁴⁾の方法によつた。また、LH, FSH は第一ラジオアイソトープ社製キットを用いた。Estradiol, Progesterone の測定は、牧野²⁾の方法によつた。

(II) 研究対象

対象は、慶応病院産婦人科家族計画相談所及び慶応健康相談センター婦人科に不妊を主訴として来院し、排卵前より連続的に採血し妊娠に至つた12例である。そのうち、順調に妊娠が継続した者9例、自然流産に終つた者3例である。

採血はできる限り早朝空腹時に行ない、採血後直ちに血清を分離し、測定に供するまで -20°C で保存した。

成 績

(I) 基礎的検討

(1) 緩衝液

10mM Tris-HCl, pH 7.4, 250mM Sucrose を基本緩衝液とし、これにイオン等の濃度を変えて加えたときの、 ^{125}I -HCG とレセプターとの結合に及ぼす影響を検討した。

(i) イオンによる結合率の変化

Na^+ イオンでは 50mEq/L において、 K^+ イオンでは 0mEq/L において、 Ca^{++} と Mg^{++} イオン

図 2 1価陽イオンによる結合率の変化

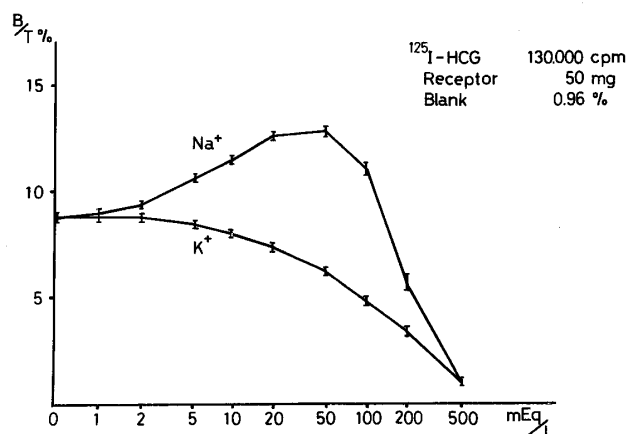
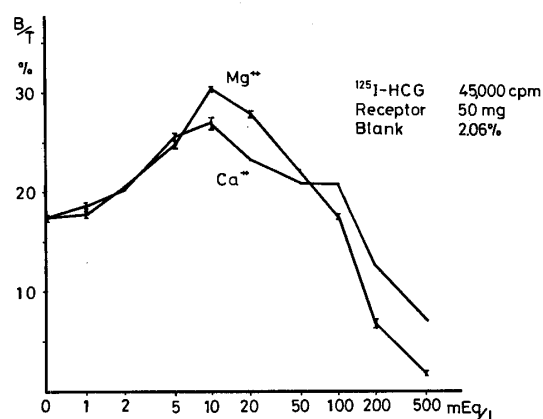


図 3 2価陽イオンによる結合率の変化



においては共に10mEq/L において、最大の結合が認められた (図 2, 図 3)。

(ii) Dithiothreitol (DTT)による結合率の変化

図 4 ジチオスライトールによる結合率の変化

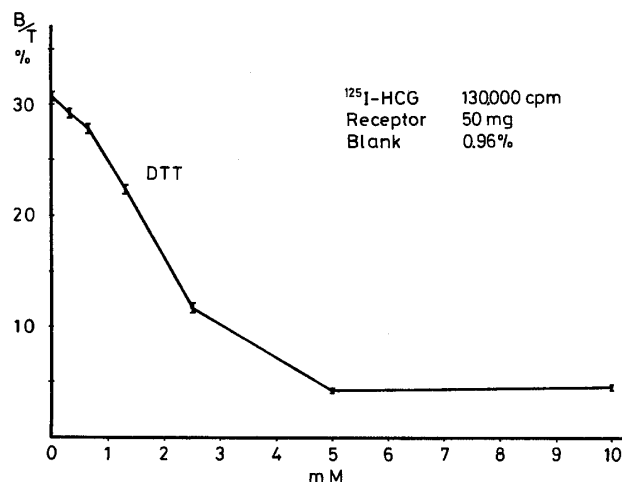
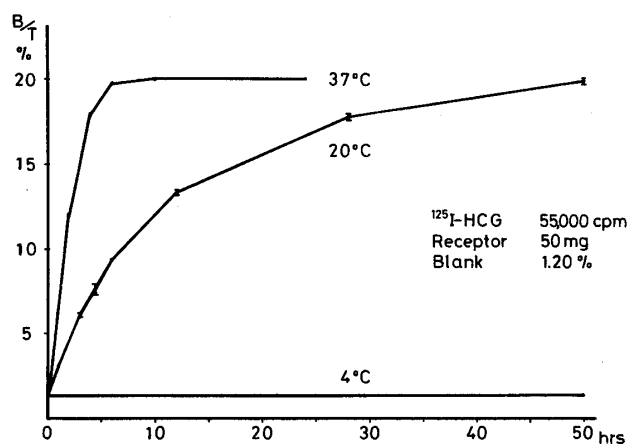


図 5 温度、時間による結合率の変化



DTT の濃度が高くなるに従い、結合率は減少した (図 4)。

以上の成績より、前述の組成からなる緩衝液を用いた。

(2) incubation 温度と時間による結合率の変化

incubation の温度と時間による、 ^{125}I -HCG とレセプターとの結合率の変化を検討したところ、図 5 の如き結果を得た。すなわち、 37°C では約 6 時間で結合はプラトーに達するが、 4°C では 2 日間 incubate してもほとんど結合率は増加しなかった。

以上の成績より、通常は室温一昼夜放置法を用い、至急結果を必要とするときは 37°C で 6 時間 incubate した。

(3) 交叉反応及び血清による結合阻害

2nd-IRP にて検定した LH と FSH を用い、RRA における HCG との交叉反応を検討したところ、HCG と LH とはほぼ100%交叉し、FSH とは50%結合率において約4%交叉した(図6)。

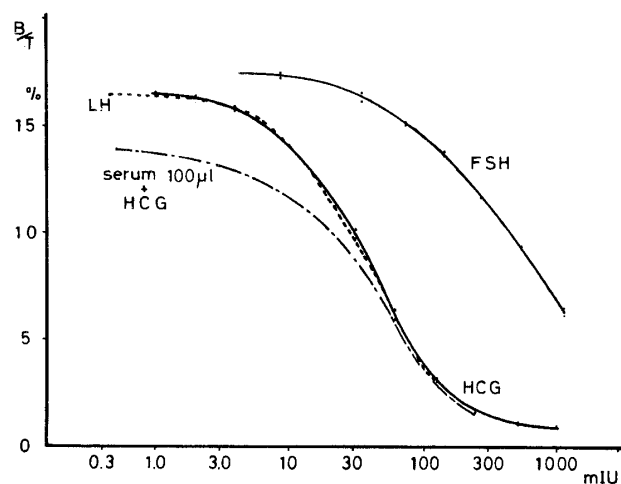
また、標準 HCG に Sheehan 症候群患者より得られた血清を 100 μ l 加えて曲線を描くと、B/T では1~3%下方へ標準曲線が移動し、B-N/B₀-N では5~10%上方へ移動した。

以上の結果より、正常性周期には存在しない HCG を測定するためには、プールされた正常黄体期血清を測定する検体と等量標準 HCG に加え、標準曲線とした。

(4) 測定範囲、感度及び精度

レセプターを 50mg/tube 用いたとき、標準曲線は4.9mIU/ml(0.49mIU) から 10,000mIU/ml

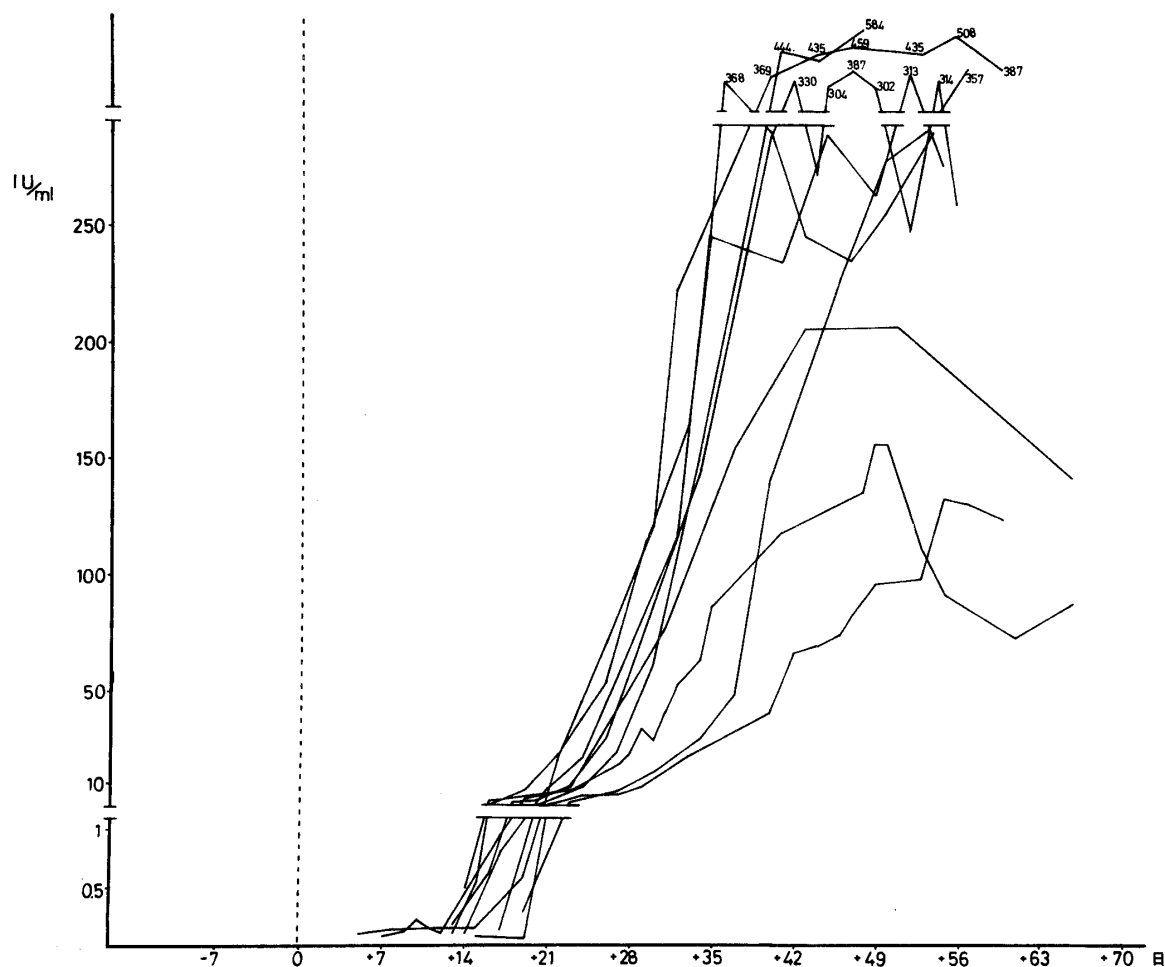
図6 交叉反応曲線及び血清による結合阻害



(1,000mIU) にわたって描くことができた。

感度は、緩衝液系の標準曲線では30mIU/ml (3 mIU) であり、正常黄体期血清が100 μ l 加わった

図7 正常初期妊娠の HCG 値の変動 (RRA)



標準曲線では50mIU/ml (5mIU) であった。上限はいずれも5,000mIU/ml (500mIU) であった。

precisionは, intra-assay precisionが C.V.=3.71%, inter-assay precision が C.V.=5.62%であった。

(Ⅱ) 臨床応用

(1) 正常初期妊娠

(i) RRA による血中 HCG 動態

RRA による正常初期妊娠の HCG 動態は, 以下の如き傾向が認められた (図7)。

RRA による HCG (RRA-HCG) は, LH ピーク後13日目より検出可能であった。その後直ちに急増し, 早い例では15日目より, 遅い例でも21日目に1,000mIU/ml を越す。妊娠5週頃まではどの症例もほとんど同様な経過をたどる。しかしその後は, 徐々に増加して最高値でも140IU/ml 程

度までしか増えない例や, 急激に増加して500IU/ml 以上にまで増加する症例もみられる。最高値は35日目から56日目頃 (7週より10週頃) に認められ, その値は300IU/ml から450IU/ml であることが多い。その後 HCG は減少する。

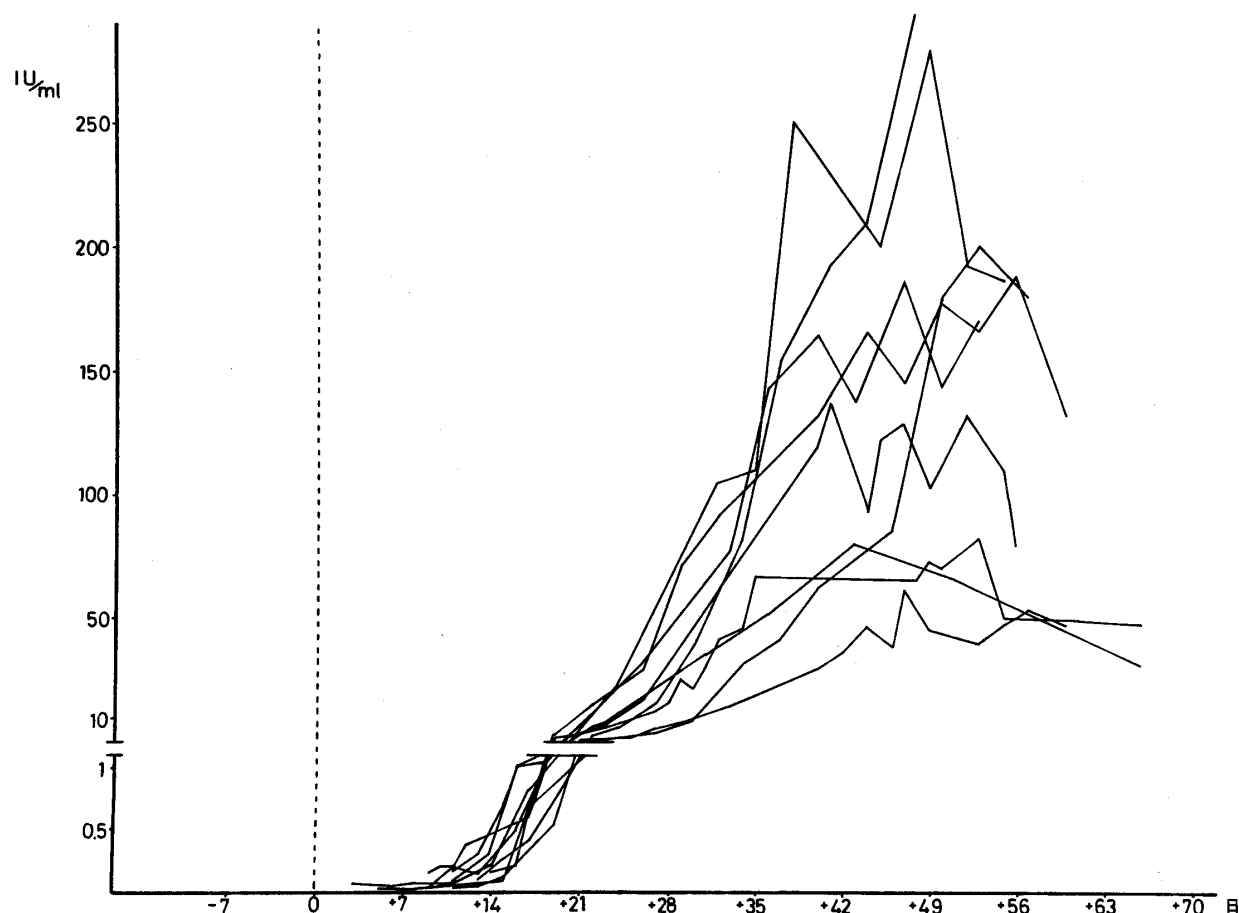
(ii) RIA による血中 HCG 動態

正常初期妊娠における抗 HCG 抗体を用いた RIA による HCG (RIA-HCG) は, 早い例では LH ピーク後9日目より検出可能であった。その後増加して, 遅い例でも21日目までには1,000mIU/ml を越す。以後は症例により経過はまちまちであるが, 最高値を示すのはほぼ49日 (9週) 前後であり, その後減少する。最高値は50IU/ml から300IU/ml であった (図8)。

(2) 初期流産

RRA 及び RIA いずれの方法によつても, 血中

図8 正常初期妊娠の HCG 値の変動 (RIA)



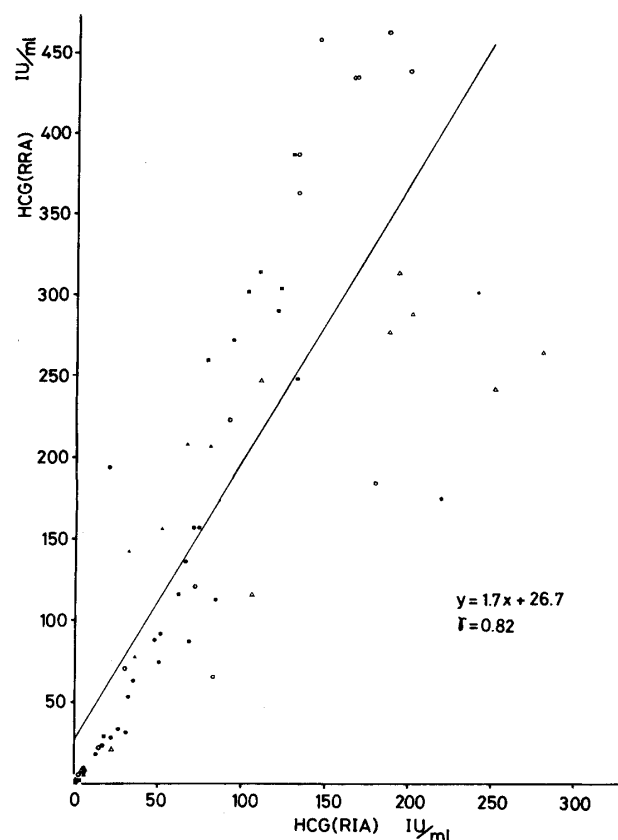
HCG 動態は症例により全くまちまちであり、一般的傾向は認められなかつた。ただ、性器出血が認められた時点では、すでに血中 HCG 値は低下している事が多かつた。さらに、Prog esterone と Estradiol も同様に低下している事が多かつた。

(3) RRA と RIA による血中 HCG 値の比較

(i) 正常初期妊娠

RRA-HCG 値と RIA-HCG 値とを、同一検体にて比較すると、一般に RRA-HCG が高値を示した(図9)。

図9 HCG 値の RIA と RRA による比較



低 HCG 領域においては、両者の差 [(RRA-HCG)-(RIA-HCG)]及び比 [RRA-HCG/RIA-HCG]ともに小さいが、HCG 値が増大するに従つて、その差は著明に拡大した。また、比も増大するが、差ほどは著明ではなかつた。妊娠7週より10週にかけて HCG が最高を示す時期において、

両者の差は 80IU/ml から 250IU/ml 程度であるが、最も大きな差を示したものでは約300IU/mlであつた。また、同時期における両者の比は1.5から3程度であるが、最も比の大きいものでは4.42であつた。

X軸に RIA-HCG 値 (IU/ml) を、Y軸に RRA-HCG 値 (IU/ml) を表わすと、図9の如くであり、 $y=1.7x+26.7$, 相関係数は0.82であつた。

図10 正常初期妊娠の血中ホルモン動態

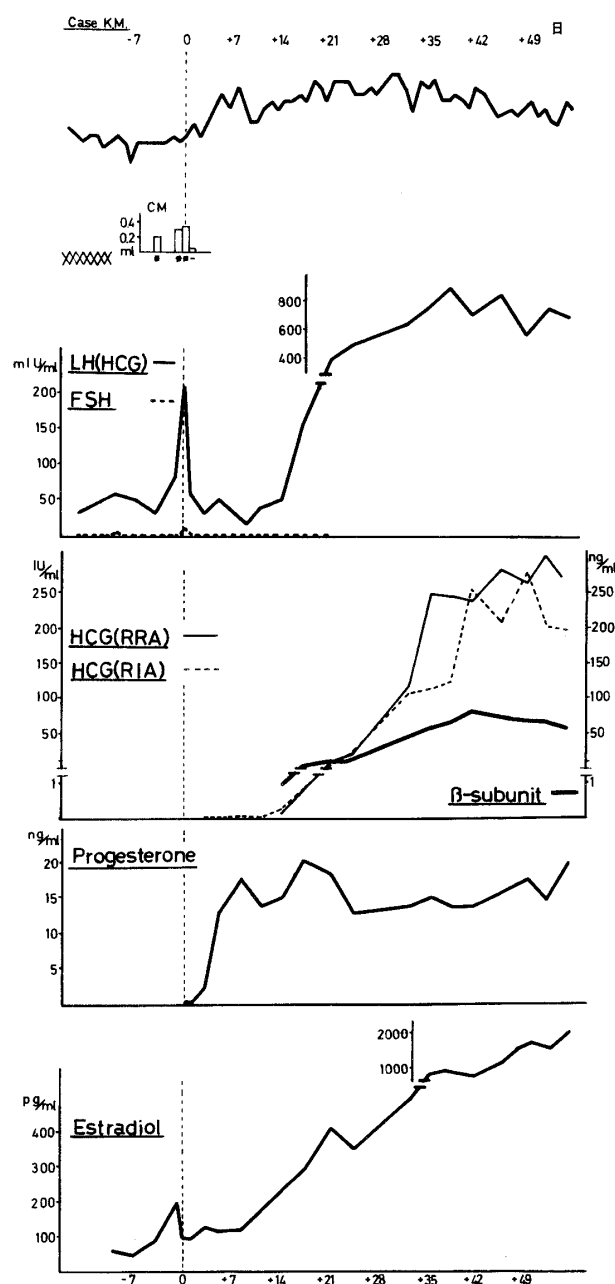
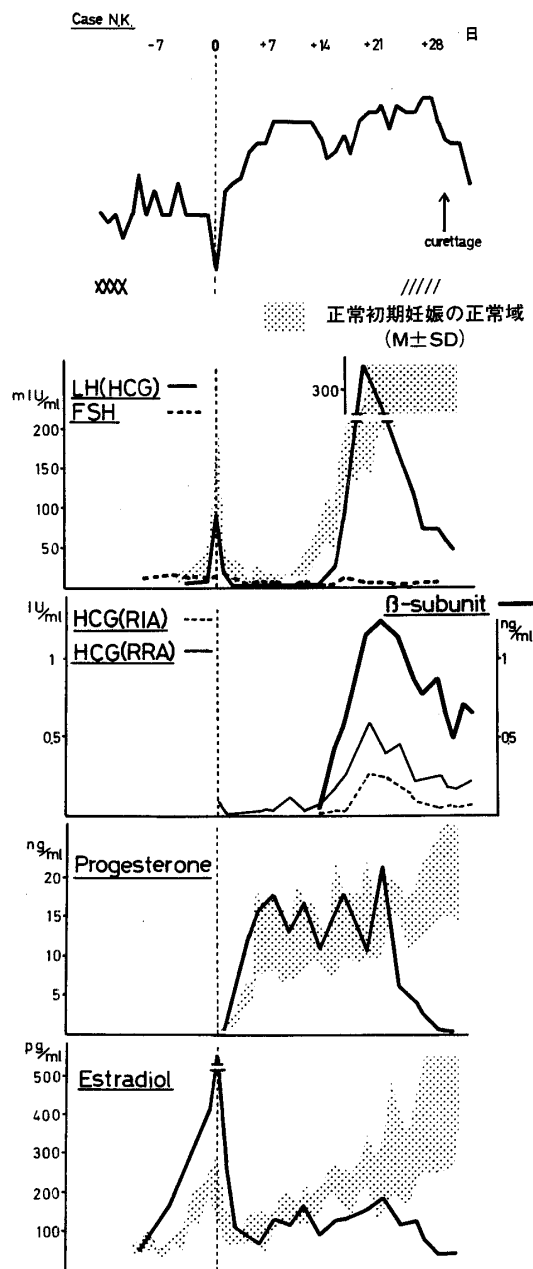


図11 初期流産の血中ホルモン動態



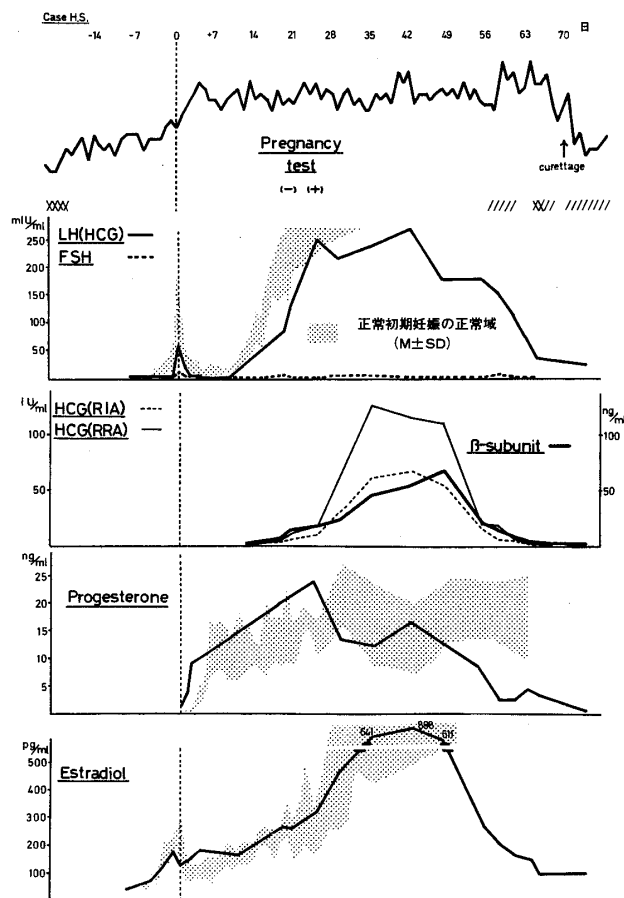
(ii) 初期流産

初期流産例における RRA-HCG 値と RIA-HCG 値とを比較すると、正常初期妊娠で認められたとほぼ同様の傾向を示し、著明な相違は認められなかった。すなわち、X軸に RIA-HCG 値(IU/ml)を、Y軸に RRA-HCG 値 (IU/ml)を表わすと、 $y=2.0x-2.8$ 、相関係数は0.955であつた。

(4) 正常初期妊娠及び初期流産の例

図10は順調に妊娠が継続した1例である。LH-

図12 初期流産の血中ホルモン動態



HCG では、LH ピーク後9日目より徐々に増加しはじめ、18日目に LH ピークを越し、35日目よりほぼプラトーに達している。RRA-HCG は、14日目より検出可能であり、その後急速に増加する。しかし、35日頃より上昇がぶくも52日目に最高に達し、その値は 313.1IU/ml であつた。RIA-HCG は、RRA より 2日早く12日目より検出可能であり、その後は RRA-HCG とほぼ同じ値を示しつつ増加するが、30日目からは低値をとりながら増加した。抗 HCG β -subunit 抗体による HCG β -subunit-HCG では、14日目より検出可能であり、その後は徐々に増加し、41日目に最高に達している。

図11は妊娠7週初めに流産に終つた1例である。RRA-HCGは、LH ピーク後12日目より HCG が検出され始めるも、その後の上昇は緩徐で、最高でも18日目に 580mIU/ml しか示さず、出血開

始とともにその値は減少の一途をたどっている。しかし、子宮内容清掃術施行後3日目でも、RRAにてHCGは検出されている。

図12は妊娠12週で流産に終った1例である。RRA-HCGは、LHピーク後47日目で111.1IU/mlと全く順調な経過を示しているが、その後の8日間で19.6IU/mlにまで急激に低下し、その2日後より出血が開始している。また同様に、ProgesteroneやEstradiolも急激に低下している。

考 案

HCGの測定は、初期にはFriedman法などのbioassayにより測定されていたが、その後WideとGemzellにより免疫学的測定法が取り入れられると、尿中HCG動態に関する情報は飛躍的に増加した。さらに、RIAが開発されると、ごく微量のHCGの測定も可能となり、着床期周辺の血中HCG動態も明らかになった¹⁾。ところが、1971年Catt et al.⁵⁾により、ラット辜丸のLeydig細胞膜に存在するLH-HCGレセプターと¹²⁵I-HCGとの特異的な結合についての研究が報告されると、Catt et al.⁶⁾やSaxena et al.¹⁶⁾により、HCGのRRAに関する報告もみられるようになった。

ところで、レセプターの存在する細胞膜として、通常は105,000gの超遠心分離による沈渣が利用されているが、この方法では少量のレセプターしか得られずRRAには適さない。また、2,000gの遠心分離の沈渣を用いる方法⁶⁾や、レセプターを可溶化する方法⁹⁾も報告されているが、著者の方法の如く上清を用いる方が、簡便でかつ多数の検体の測定が可能であつた。

生物活性を有する標識ホルモンを得るためにはLactoperoxidase法¹⁴⁾が良いと言われている。著者もこの方法を検討したが、効率と安定性が悪かつたため、Chloramine T法を採用し、そのうちで最も生物活性が高く、しかも多量に¹²⁵I-HCGが得られるChloramine Tの量及び反応時間を検討し、設定した。

緩衝液として、Krebs-Ringer bicarbonate bufferを用いる方法⁶⁾、PBSを用いる方法⁷⁾、Tris buffer

を基本とするもイオンを全く加えない方法¹¹⁾、1mMのCaCl₂と1mMのDTTを加える方法⁷⁾、5mMのMgCl₂のみを加える方法¹²⁾、等が報告されている。しかし、ペプチドホルモンが作用する際に、Mg⁺⁺、Ca⁺⁺及びNa⁺等が重要であることは良く知られている。著者の実験は、細胞そのものではなくhomogenateを用いているものの、実験結果より明らかにイオンが、hormone-receptor interactionに重要な因子となつてることが解る。さらに、緩衝液の組成は細胞外液のイオンの組成と比較して、Na⁺は約1/3であり、Ca⁺⁺はほぼ等量、Mg⁺⁺は約3.5倍多く、一方K⁺は全く必要としていない点が注目される。

incubationの温度と時間に関して、Catt et al.⁵⁾は37°Cでは約3時間で¹²⁵I-HCGとレセプターとの結合はプラトーに達するとし、Saxena et al.¹⁶⁾は37°Cで20分、Levin et al.¹³⁾は38°Cで1時間、Lee et al.¹¹⁾は4°Cで2日間ないしは25°Cで一昼夜、Leidenberger et al.¹²⁾は37°Cで2時間必要であると報告している。しかし、著者の実験では37°Cでは6時間のincubationが必要であり、25°Cでは一昼夜必要であつた。

実際に検体を用いてHCGを測定する際に注意すべき点は、血清による¹²⁵I-HCGとレセプターとの結合の阻害がみられることである。Tomoda et al.¹⁹⁾は、尿では8倍以上に、血清では32倍以上に希釈すれば阻害は認められなかつたとしているが、著者の実験では、血清を100倍以上に希釈しても多少標準曲線の移動が認められた。従つて、血清による非特異的結合を除くためには、血清よりHCGを抽出するか、あるいはLHやHCGを含まぬ血清を、測定する検体と等量標準HCGに加えたものを標準曲線とするか、いずれかである。しかし、抽出操作が加わると操作が繁雑になると同時に、HCGの性状の変化等も考慮する必要が生じる。従つて、著者は抽出法を採用しなかつた。さらに、著者の方法によれば、basal levelのLHをも除外することにもなり好都合である。

RRAの感度は、Catt et al.⁶⁾は5mIU/ml、Lee et al.¹¹⁾は1mIU/ml、Saxena et al.¹⁷⁾は3mIU/ml

と報告しており、精度は、Catt et al.⁶⁾ は inter-assay variance は15%, Saxena et al.¹⁷⁾ は intra-assay, inter-assay variance をそれぞれ6%及び11%と報告している。これらの報告と比較すると、著者の RRA では感度はややおとるも、精度はすぐれている。

次いで、RRA の臨床応用に関しては、非妊時より連続的に採血し妊娠に至った正常初期妊娠例では、抗 LH 抗体を用いて測定すると、LH ピーク後9日目より LH-HCG が増加しはじめる³⁾。また、抗 HCG β -subunit 抗体を用いても同様に9日目より検出可能であつた。一方、Saxena et al. は、RRA により血中では排卵後6日目から8日目に検出可能¹⁶⁾であり、尿中では8日目から10日目に検出可能¹⁸⁾であるという。これに対して Catt et al.⁷⁾ は、排卵後12日目より検出可能であるといい、6日目から8日目での早期の検出は、血清による非特異的結合のためであると反論している。著者の成績では LH ピーク後13日目より検出可能であり、Catt et al.⁷⁾ の報告とほぼ一致する。

流産例における RRA による血中 HCG 動態に関する報告は、Rosal et al.¹⁵⁾ の非連続的観察例のみである。著者は3例の少数ではあるが、連続観察した成績から、流産に終る例では、性器出血を示した時点ではすでに胎盤機能が低下してしまい、血中の HCG やステロイドホルモンも低下し、その結果出血が起こっていることが推察される。

HCG は黄体期に黄体刺激作用を有することが一般に認められ、臨床的にも黄体機能不全の治療に広く用いられている¹⁾。一方、切迫流産時には胎盤より分泌される HCG の性状に変化が起こり、RIA で測定された HCG 値がたとえ正常にみえても、生物活性を持たず黄体機能不全を引き起こし、その結果流産に至る可能性も考えられた。しかし、著者の検討した3例では、一種の bioassay と考えられる RRA により流産時においても血中 HCG は検出され、かつ RIA-HCG 値とほぼ同様な値を示した。従つて、切迫流産時に

おける血中 HCG も、生物活性を有する HCG であることが解つた。

妊娠時の RRA-HCG 値と RIA-HCG 値との不一致について、現在まで著者の如く連続的に観察した症例での報告はなく、非連続観察例の報告のみである。Lee et al.¹¹⁾ は1.3倍から2.1倍 RRA-HCG が高値を示し、その原因は、標準 HCG として用いている HCG が尿より抽出された代謝を受けた HCG であるために、免疫活性は有するものの、生物活性に変化が起きているためではないかとしている。一方 Landesman et al.¹⁰⁾ は、immuno-reactive な物質が血中で変化しているためであるとしている。さらに、Dufau et al.⁸⁾ によると、desialo-HCG の生物活性は、in vivo の検査である OAAD 法や VPW 法によるとほとんど存在しないが、in vitro で測定すると元の HCG とほとんど同じか、逆に高い生物活性を示し、その原因は、desialo-HCG の体内における半減期が非常に短い(約20分)ためであるとしている。しかし、desialo-HCG も immuno-reactive であることから、desialo-HCG の存在だけではこの不一致は説明されない。

RRA と RIA における HCG 値の不一致は、血中に non-immunoreactive で receptor-reactive な物質が存在するためか、あるいは RRA が in vitro での測定法であるためのものか明らかではない。この問題は、HCG の構造式、特にその糖部分の構造がまだ解明されていないための宿命である。いずれにしろ、RRA はレセプターと結合する能力をもつた HCG を測定している事は事実であり、RIA より、より HCG の生物活性を測定していると考えられる。従つて、母体内の HCG の作用と意義を研究するための第1歩として、RRA による血中 HCG の測定は意義があるといえる。

また、RRA は感度も RIA と比較して遜色がなく、非常に安定で、再現性にすぐれ、操作も簡単ですぐ結果が得られることから、妊娠の早期診断、子宮外妊娠の診断、切迫流産の予後判定、胎状奇胎や絨毛上皮腫の follow-up 等に应用可能である。

稿を終るに臨み、御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました、慶応大学医学部産婦人科学教室恩師飯塚理八教授、ならびに終始御指導、御鞭撻を戴きました中村幸雄講師に衷心より感謝致します。また、さまざまな御便宜を計って下さいました、帝国臓器製薬(株)松島早苗博士、難波脩一博士、須藤忠満博士、奥村一博士、ならびに神戸川明博士、国分知子先生に感謝致します。さらに、検体の採取ならびに測定に御協力いただきました慶大産婦人科家族計画相談所の諸兄姉、ならびに慶応健康相談センター婦人科榎本悦子、橋川絹代両嬢に感謝致します。

なお、本論文の要旨は、第50回日本内分泌学会総会(福岡)、昭和52年度日本不妊学会関東・東北連合地方部会(新潟)、及び第29回日本産科婦人科学会総会シンポジウム「初期流産管理の基礎」(秋田)の一部として発表した。

本研究の一部は、昭和52年度文部省科研費(248303)によった。

文 献

1. 飯塚理八：着床の研究。第23回日産婦総会宿題報告, 1971.
2. 牧野拓雄：性ステロイドホルモンの Radioimmunoassay. 日内分泌会誌, 49: 629, 1973.
3. 中村幸雄：初期流産管理の基礎。第29回日産婦総会シンポジウム, 日産婦誌, 29: 1216, 1977.
4. 奥村 一, 須藤忠満, 藤沢宗駿, 難波脩一, 松島早苗: hCG subunit の分離・精製およびその Radioimmunoassay. 日内分泌会誌, 52: 105, 1976.
5. Catt, K.J., Dufau, M.L. and Tsuruhara, T.: Studies on a radioligand-receptor assay system for luteinizing hormone and chorionic gonadotropin. J. Clin. Endocr., 32: 860, 1971.
6. Catt, K.J., Dufau, M.L. and Tsuruhara, T.: Radioligand-receptor assay of luteinizing hormone and chorionic gonadotropin. J. Clin. Endocr., 34: 123, 1972.
7. Catt, K.J., Dufau, M.L. and Vaitukaitis, J.L.: Appearance of hCG in pregnancy plasma following the initiation of the blastocyst. J. Clin. Endocrinol. Metab., 40: 537, 1975.
8. Dufau, M.L., Catt, K.J. and Tsuruhara, T.: Retention of in vitro biological activities by desialylated human luteinizing hormone and chorionic gonadotropin. Biochem. Biophys. Res. Commun., 44: 1022, 1971.
9. Dufau, M.L., Charreau, E.H. and Catt, K.J.: Characteristics of a soluble gonadotropin receptor from the rat testis. J. Biol. Chemist., 238: 6973, 1973.
10. Landesman, R. and Saxena, B.B.: Results of the first 1000 radioreceptorassays for the determination of human chorionic gonadotropin: A new, rapid, reliable, and sensitive pregnancy test. Fert. Steril., 27: 357, 1976.
11. Lee, C.Y. and Ryan, R.J.: Radioreceptor assay for human chorionic gonadotropin. J. Clin. Endocrinol. Metab., 40: 228, 1975.
12. Leidenberger, F. and Reichert, L.E. Jr.: Evaluation of a rat testis homogenate radioligand receptor assay for human pituitary LH. Endocrinology, 91: 901, 1972.
13. Levin, R.M., Rao, C.V. and Yussman, M.A.: The measurement of human chorionic gonadotropin-luteinizing hormone levels in plasma by means of radioreceptorassay. Fert. Steril., 26: 190, 1975.
14. Miyachi, Y., Vaitukaitis, J.L., Nieschlag, E. and Lipsett, M.B.: Enzymatic radioiodination of gonadotropins. J. Clin. Endocr., 34: 23, 1972.
15. Rosal, T.P., Saxena, B.B. and Landesman, R.: Application of a radioreceptorassay of human chorionic gonadotropin in the diagnosis of early abortion. Fert. Steril., 26: 1105, 1975.
16. Saxena, B.B., Hasan, S.H., Haour, F. and Schmidt-Gollwitzer, M.: Radioreceptor assay of human chorionic gonadotropin: Detection of early pregnancy. Science, 184: 793, 1974.
17. Saxena, B.B. and Landesman, R.: The use of a radioreceptorassay of human chorionic gonadotropin for the diagnosis and management of ectopic pregnancy. Fert. Steril., 26: 397, 1975.
18. Saxena, B.B., Saito, T., Said, N. and Landesman, R.: Radioreceptorassay of luteinizing hormone-human chorionic gonadotropin in urine: Detection of the luteinizing hormone surge and pregnancy. Fert. Steril., 28: 163, 1977.
19. Tomoda, Y., Miwa, T. and Ishizuka, N.: Radioligand receptor assay for urinary and serum hCG. J. Clin. Endocrinol. Metab., 40: 644, 1975.

(特別掲載 No. 4268 昭52・11・12受付)