

ヒト月経黄体, 妊娠黄体の LH レセプターの研究

慶応義塾大学医学部産婦人科学教室 (指導: 飯塚理八教授)

泉 康 史

Studies on Luteinizing Hormone Receptors of Human Corpora Lutea during Menstrual Cycle and Pregnancy

Yasushi Izumi

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

(Director: Prof. Rihachi Izuka)

概要 ヒト黄体の lifespan を解明するための手がかりとして, ^{125}I -LH の黄体への特異的結合を調べ, ヒト月経, 妊娠黄体の LH レセプターについて検討を加えた。

① ヒト黄体細胞膜 homogenate 20,000g 分画に ^{125}I -LH, ^{125}I -HCG の特異的結合が認められた。LH, HCG は黄体細胞膜分画と ^{125}I -LH, ^{125}I -HCG との結合を抑制するが, HCG は LH に比較して抑制効果は強く, 一方, FSH には抑制効果はほとんど認められなかった。

② ヒト黄体細胞膜分画と ^{125}I -LH との結合は incubation 時間, 温度, ^{125}I -LH 濃度, 細胞膜分画蛋白濃度, incubation medium の pH によって変化し, 37°C, 60分間, pH 6.0 の incubation で最大の結合が得られた。

③ ヒト月経黄体の LH に特異的に結合するレセプター数は黄体期初期より増加し, 中期, 特に排卵後 5 日目に最も多くなり, 後期には減少し, 白体には認められなかった。なお, 解離定数はほぼ一定であった。

④ ヒト妊娠黄体においては ^{125}I -LH と特異的に結合するレセプターは存在しないか, あるいは存在しても少数で, 妊娠 7 週から 42 週迄の LH レセプター数には変動は認められなかった。

以上の成績より, LH レセプターは黄体の lifespan に関連する重要な因子と推察される。さらに, 我々の教室の従来よりのデータとも合わせて黄体機能不全に対する HCG 投与の有効性は認められるが, 切迫流産に対する HCG 投与の効果については疑わしいと推察された。

Synopsis With the purpose of explicating the lifespan of human corpora lutea, using human corpora lutea of the menstrual cycle and pregnancy, binding of ^{125}I -LH to the 20,000g cell membrane fraction was examined.

1) Specific bindings of ^{125}I -LH, ^{125}I -HCG were demonstrated in the 20,000g cell membrane fraction. Although LH and HCG were parallel in inhibiting ^{125}I -LH binding, HCG was found to be more effective. FSH did not inhibit binding.

2) Binding of ^{125}I -LH was dependent on time, temperature, ^{125}I -LH concentration, amount of the cell membrane fraction protein and pH. The highest binding was seen at pH 6.0 while incubating for 60 min at 37°C.

3) The number of LH receptors in human corpora lutea of the menstrual cycle increased towards mid-luteal phase, especially on 5th day from ovulation, and decreased towards late luteal phase. LH receptor was not found in corpus albicans. The apparent dissociation constant of each corpus luteum did not change throughout the menstrual cycle.

4) Corpora lutea of pregnancy contained a few or no receptors which bound ^{125}I -LH specifically. These data suggest that LH receptor is an important factor regulating the lifespan of corpus luteum and exogenous HCG has effect on luteal insufficiency, but the effect of HCG on threatened abortion is uncertain.

Key words: LH-Receptor • Human corpus luteum • Menstrual cycle • Pregnancy

緒言

Luteinizing Hormone (LH), Human Chorionic Gonadotropin (HCG) はヒト月経、妊娠黄体に対して luteotropic に作用する主要なホルモンである²¹⁾。黄体期初期婦人に外来性に HCG を投与すると黄体の lifespan は延長し²⁶⁾、診療においても黄体機能不全に対して HCG 投与¹⁾が汎用されている。また、HCG はヒト月経黄体に対し dose dependent に progesterone 産生を増加させることが *in vitro*³⁾⁵⁾で証明されている。しかし、ヒト妊娠黄体では HCG によつて progesterone 産生は増加しないことが、*in vivo*⁶⁾、*in vitro*⁴⁾⁵⁾で証明され、また、¹²⁵I-HCG はヒト妊娠黄体にはほとんど結合しないことが証明されており²⁵⁾、従来より我々は切迫流産に HCG を投与する意義を認めていない⁶⁾。近年、HCG が黄体に作用する部位としてのレセプターが注目され、ヒト黄体の LH、HCG レセプターの存在が証明されているが、今回著者は黄体の lifespan を解明する手がかりとして、また、黄体機能不全、切迫流産に対する HCG 投与の効果を検討するためにヒト月経、妊娠黄体の LH レセプターに関して検討を加えた。

実験材料ならびに方法

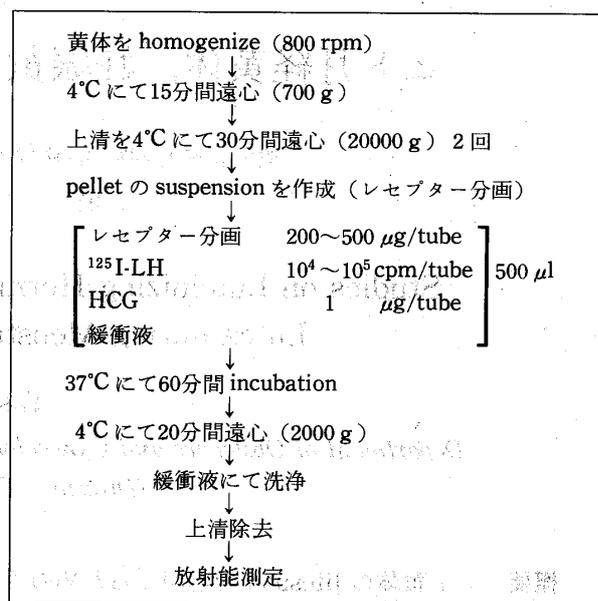
1. 黄体採取

月経黄体26例は、年齢分布26歳から49歳迄の正常月経周期を有する婦人の子宮筋腫、卵巣嚢腫、子宮頸癌手術時に採取し、妊娠黄体12例は、年齢分布20歳から39歳迄の婦人の子宮外妊娠、卵巣嚢腫合併妊娠、帝王切開手術時に採取した。なお、妊娠後期黄体3例については、それぞれ一部を組織学的に検索し妊娠黄体と同定した。月経周期の日付けは最終月経、基礎体温表、子宮内膜組織診および progesterone 値より決定した。採取した黄体は直ちに -80°C にて保存し実験に供した。

2. レセプターの分離 (表1)

黄体実質の重量を測定し、重量 1g 当たり 20ml の 0.01M Tris HCl buffer (pH 7.4) を加え 4°C にて 800rpm で teflon homogenizer を用いて homogenize 後、遠心 (700g, 15分間, 4°C) し、その上清を Sorvall 遠心機を用いて遠心 (20,000 g, 30分間, 4°C) を行い、これを 2 回くり返した

表1 実験方法



後、得られた pellet を LH のレセプターである細胞膜分画として、黄体重量 1g 当たり 20ml の 0.01 M Tris HCl buffer (pH 7.4) with 0.2% BSA で suspension 化した。

3. ホルモンならびに標識ホルモン

Luteinizing Hormone (LH) は Calbiochem 社製, lot No. 801602 (9,465Iu/mg), Human Chorionic Gonadotropin (HCG) は帝国臓器社製, 36-H-2H (14,000Iu/mg), Follicle Stimulating Hormone (FSH) は Calbiochem 社製, lot No. 869001 (5,000Iu/mg) を使用した。¹²⁵I-LH は lactoperoxidase 法により標識したものを使用し, specific activity は $70\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$, ¹²⁵I-HCG は Chloramine-T 法により標識したものを使用し, specific activity は $50\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ であつた。

4. Binding Assay (表1)

黄体細胞膜分画 $200\mu\text{l}$ と種々の濃度の ¹²⁵I-LH (100—1,700pg, 10^4 — 10^5 cpm) を total volume を $500\mu\text{l}$ にして incubation (60分間, 37°C) を行つた。Incubation 終了後、遠心 (2,000g, 20分間, 4°C) して上清を吸引分離し、pellet を buffer にて洗浄後、遠心をくり返し、上清と pellet を分離しそれぞれの放射能を測定 (Aloca-AutoGamma-Counter) した。なお、non specific binding は HCG $1\mu\text{g}$ を各チューブに添加して求め、total binding

より減じた値を specific binding とし、レセプター数、解離定数は Scatchard plot analysis²²⁾により算定した。また、細胞膜分画の蛋白濃度は Lowry 氏¹⁵⁾変法により測定した。

成 績

1. Incubation 時間と温度による結合の変化 (図 1)

黄体細胞膜分画と ^{125}I -LH との結合は 37°C では 60 分間の incubation でプラトーに達し、 4°C では 5 分間でプラトーに達した。また、60 分以後では 37°C では 4°C に比較して約 1.5 から 1.6 倍の結合が認められた。

2. Incubation medium の pH による結合の変化 (図 2)

黄体細胞膜分画と ^{125}I -LH との結合は pH 6.0 で最大であり、pH 6.0 の結合を 100% とすると、pH 7.4 では 80%、pH 8.8 では 40% であつた。なお、

図 1 時間と温度による結合の変化

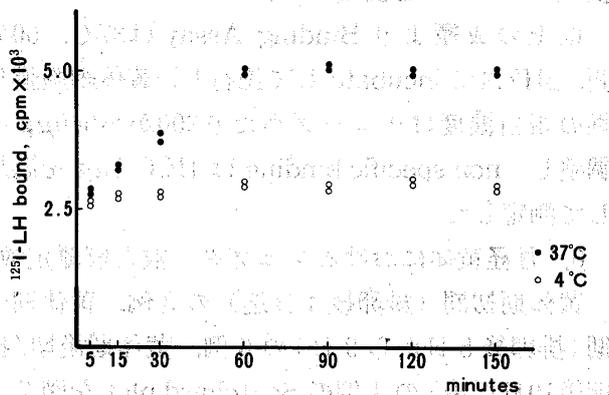
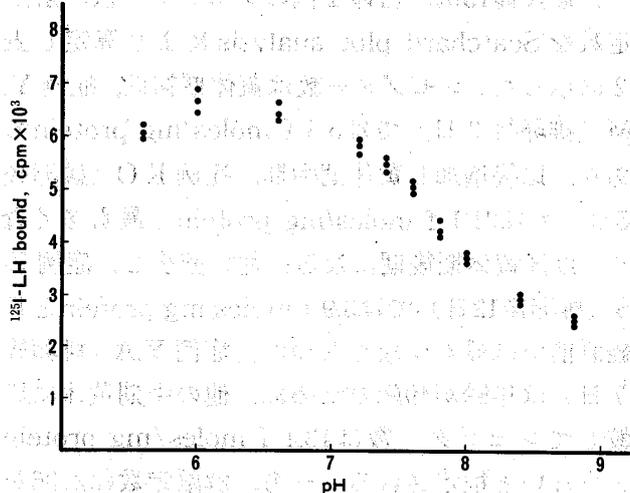


図 2 pH による結合の変化



本実験では生理的条件を考慮の上、incubation medium の pH は 7.4 に調整した。

3. ^{125}I -LH 濃度による結合の変化 (図 3)

黄体細胞膜分画と ^{125}I -LH との結合は ^{125}I -LH 濃度に比例して増加するが、約 170 pM までは直線的に増加し、約 650 pM までは放物線状に増加しプラトーに達した。

4. 黄体細胞膜分画蛋白濃度による結合の変化 (図 4)

黄体細胞膜分画の蛋白濃度が増加するに従い ^{125}I -LH との結合は放物線状の増加を呈した。

5. LH, HCG による結合の抑制 (図 5, 6)

LH, HCG による黄体細胞膜分画と ^{125}I -LH と

図 3 ^{125}I -LH 濃度による結合の変化

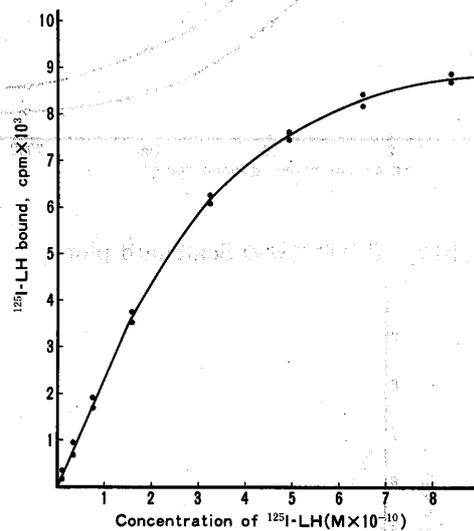


図 4 黄体細胞膜分画蛋白濃度による結合の変化

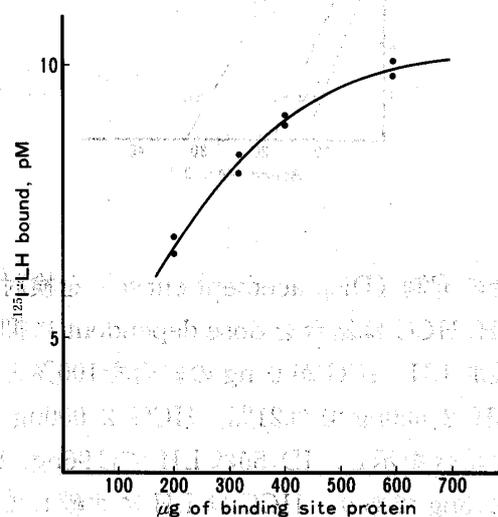


図5 LH, HCG, FSH による ^{125}I -LH 結合の抑制

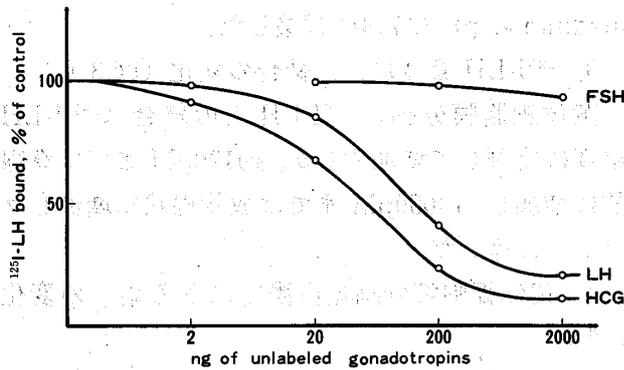


図6 LH, HCG による ^{125}I -HCG 結合の抑制

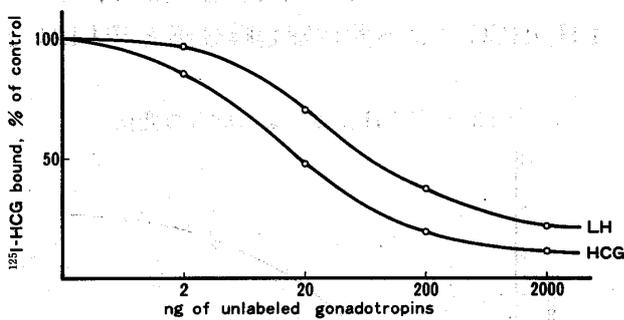
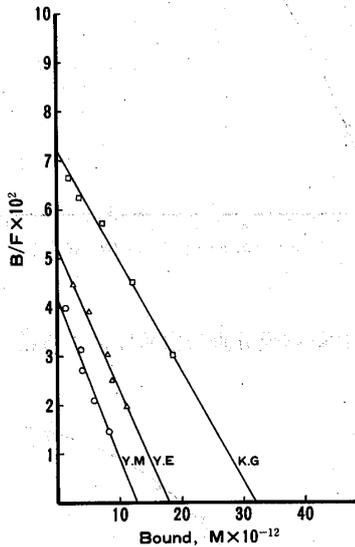
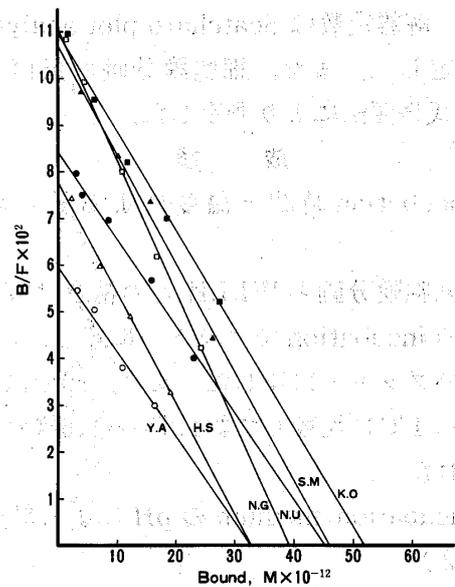


図7 黄体期初期の Scatchard plot



の結合の抑制 (Displacement curve) を検討すると、LH, HCG は結合を dose dependent に抑制した。添加 LH, HCG が 0 ng の結合を100%とすると、LH 2,000ng では21%, HCG 2,000ng では12%の結合を示し、ID 50は LH では96ng, HCG では34.5ng であり、HCG は LH に比較して抑制

図8 黄体期中期の Scatchard plot



効果の強いことが認められた。しかし、FSH には抑制効果はほとんど認められなかつた。また、 ^{125}I -HCG に関しても同様の結合が得られたが、本実験では ^{125}I -LH を使用した。

以上の成績より Binding Assay は37°C, 60分間、pH7.4で incubate して施行し、黄体細胞膜分画の蛋白濃度はチューブ当たり200から500 μg に調整し、non specific binding は HCG 1 μg を添加して測定した。

6. 月経黄体におけるレセプター数と解離定数

黄体期初期 (排卵後4日迄) の3例, 黄体期中期 (排卵後5日から9日) の6例, 黄体期後期 (排卵後10日以後) の4例の Scatchard plot を図7, 図8, 図9 に示した。

月経黄体13例, 白体1例のレセプター数, 解離定数を Scatchard plot analysis により算定し表2に示した。レセプター数は黄体期初期, 症例 Y.M (排卵後3日) では5.5 f moles/mg protein であり, 以後増加し黄体期中期, 症例 K.O (排卵後5日) では21.1 f moles/mg protein と最も多くなり, 以後黄体期後期になるに従い減少し, 症例 E.S (排卵後12日) では3.9 f moles/mg protein と月経直前では最も少なくなつた。症例 Y.A (排卵後7日) は年齢が49歳のために, 他の中期黄体に比較してレセプター数は13.1 f moles/mg protein と少ないと推定される。一方, 解離定数は2.36か

図9 黄体期後期の Scatchard plot

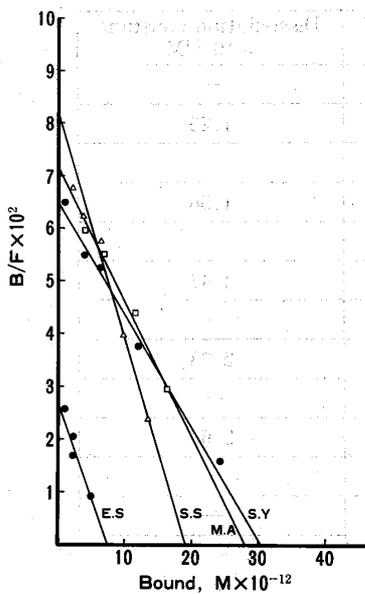


図10 黄体期各期のレセプター数の平均

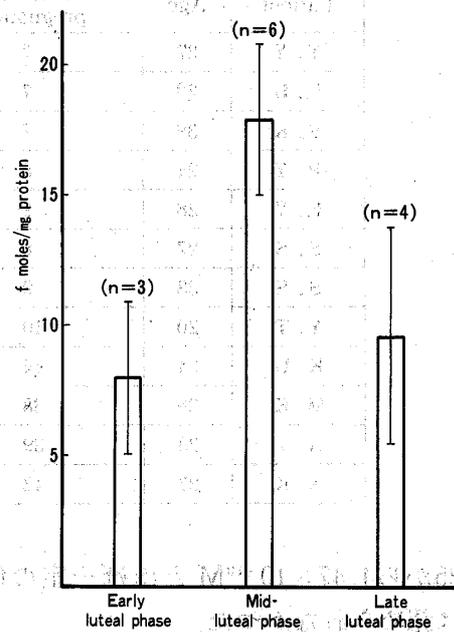
(Mean \pm S.D.)

表2 月経黄体におけるレセプター数と解離定数

Patient	Age	Day from ovulation	No. of binding sites f moles/mg protein	Dissociation constant $\times 10^{-10}M$
Y. M	29	3	5.5	3.05
Y. E	37	3	7.2	3.43
K. G	38	4	11.2	4.44
K. O	40	5	21.1	4.72
S. M	41	5	20.0	4.29
Y. A	49	7	13.1	5.55
N. U	38	8	18.8	5.41
H. S	31	8	18.0	4.21
N. G	27	9	16.4	3.57
S. Y	47	10	13.2	4.61
M. A	32	10	12.1	3.97
S. S	43	10	9.0	2.36
E. S	39	12	3.9	2.87
S. K	37	Corpora albicans	0	—

ら $5.55 \times 10^{-10}M$ とほぼ一定の値を示した。なお、症例 S.K は白体例で結合は示さずレセプター数は 0 であった。

黄体期各期のレセプター数の平均を図10に示した。黄体期初期は 7.9 ± 2.9 f moles/mg protein (Mean \pm S.D. 以下同様)、中期は 17.9 ± 2.8 f moles/mg protein、後期は 9.5 ± 4.1 f moles/mg protein であり、レセプター数は中期において有

意に多かつた ($p < 0.01$)。

7. 妊娠黄体におけるレセプター数と解離定数

妊娠7週から42週の妊娠黄体12例のレセプター数と解離定数を Scatchard plot analysis により算定し表3に示した。妊娠黄体12例中5例のレセプター数は0.89から3.82 f moles/mg protein と少数存在したが、7例には存在せず、妊娠期間を通じての数には変動は認められなかつた。解離定

表3 妊娠黄体におけるレセプター数と解離定数

Patient	Age	Week of pregnancy	No. of binding sites f moles/mg protein	Dissociation constant $\times 10^{-10}M$
Y. Y	27	7	0	—
H. H	23	7	1.49	1.25
S. K	39	7	0	—
R. Y	24	8	0.89	1.56
K. Y	28	8	0	—
S. S	27	8	3.82	4.47
S. S	38	9	0	—
Y. T	20	10	1.02	2.78
K. U	34	14	0	—
M. K	28	38	1.06	2.60
A. I	23	39	0	—
N. K	27	42	0	—

数も1.25から $4.47 \times 10^{-10}M$ とほぼ一定の値を示し変化は認められなかった。

考 察

ヒト黄体の lifespan を決定する因子として様々なものが考えられているが詳細は不明の点が多い。しかし、LHレセプターは lifespan に関連する一つの重要な因子であり、ヒト月経、妊娠黄体のLHレセプターの検討は lifespan を解明する上で、また、黄体機能不全、切迫流産に対するHCG投与の効果を判定する上で重要であると考え本研究を行い興味ある結果を得た。

実験に供するまでの黄体の保存温度について、Cole et al.⁹⁾は $-20^{\circ}C$ では保存期間が長くなるに従いレセプターの特異性は減少すると報告しているが、Rao et al.²⁰⁾は $-80^{\circ}C$ では180日間、さらにRajaniemi et al.¹⁸⁾は $-60^{\circ}C$ では12カ月間結合能力に変化はないと報告している。この様に超低温での保存ではレセプターに変化は起こらないと考えられ、著者は $-80^{\circ}C$ にて凍結保存し1カ月以内に黄体を実験に供した。

レセプター分画を得る方法として、homogenate を用いる方法、2,000gの遠心分離を用いる方法、20,000gの遠心分離を用いる方法、105,000gの超遠心分離を用いる方法などが利用されている。Rajaniemi et al.¹⁸⁾は homogenate を用いる方法と20,000gの pellet を用いる方法では結果にはほとんど差異はないとしているが、

Halme et al.¹¹⁾は homogenate の粗分画を用いる方法では蛋白分解酵素、細胞成分が結合に影響を及ぼし non specific binding が増加すると報告している。しかし、レセプター数を算定するために Scatchard plot analysis を用いる場合、レセプター分画をできる限り純粋に取り出すことが必要である。105,000gの超遠心分離を用いる方法では少量のレセプターしか得られないので、著者は20,000gの遠心を2回くり返す方法で得られた pellet をレセプター分画として利用した。

Binding Assay を行う際に、標識したホルモンは十分な生物学的活性を示すことが必要である。著者は lactoperoxidase 法により標識した ^{125}I -LH を使用したが、Dufau et al.¹⁰⁾による方法で ^{125}I -LH は十分な生物学的活性を保持していることが認められている。

レセプター分画と ^{125}I -LH との結合は incubation の温度、時間(図1)、incubation medium の pH (図2)、 ^{125}I -LH 濃度(図3)、レセプター分画蛋白濃度(図4)により変化した。

Incubation の時間と温度に関して Lee et al.¹⁴⁾、Rajaniemi et al.¹⁸⁾は $37^{\circ}C$ では30分間でレセプターと ^{125}I -LH との結合はプラトーに達するとし、Cole et al.⁹⁾は $37^{\circ}C$ では90分間で結合はプラトーに達することを認めている。著者の実験では $37^{\circ}C$ では60分間、 $4^{\circ}C$ では5分間で結合はプラトーに達し、60分以後 $37^{\circ}C$ では $4^{\circ}C$ に比較して約

1.5から1.6倍の結合が認められた(図1)。

Incubation mediumのpHに関しては, Rajaniemi et al.¹⁸⁾はpH 7.0から7.5でレセプターと¹²⁵I-LHとの結合は最大になるとし, pHを7.0に調整して実験を行っている。Amir-Zaltsmann et al.⁷⁾はpH 6.0から7.0で結合は最大になると報告し, Rao et al.²⁰⁾はpH 6.5で最大の結合が得られるとしている。著者の実験ではpH 6.0で最大の結合が得られたが(図2), 生理的条件を考慮してincubation mediumのpHは7.4に調整した。諸家の報告ではpH 7.0, 7.4, 7.8に調整した実験が多い。

ヒト黄体のLH, HCGレセプターは同一であると考えられている。また, ヒト黄体のLHレセプターにはLH, HCGは特異的に結合するが, ovine LH, bovine LHは結合せず⁸⁾, ヒト黄体のLHレセプターは種属特異性を示すのが特徴である。しかし, 赤毛猿においては黄体はHCGに反応し²⁴⁾, Huhtaniemi et al.¹³⁾はラット精巣ではLH, HCG, ovine LHは同一のレセプターに同程度の結合を示すと報告しており種属特異性は示さないことを認めている。著者の実験ではLH, HCGはレセプターと¹²⁵I-LHとの結合を特異的に抑制したがFSHはほとんど抑制しなかつた(図5)。また, HCGはLHに比較して抑制効果は強かつたが, これはHCGはLHに比較して解離定数が低く¹⁷⁾²⁰⁾親和性が高いこと, また, 生物学的活性が強いことから起こる現象と推定される。

Stouffer et al.²⁴⁾は赤毛猿ではHCGによるprogesterone産生は黄体期中期に最も多く後期になると減少し, 黄体のagingがprogesterone産生やgonadotropinに対する反応性の重要な因子であると報告しているが, ヒト月経黄体のLHレセプターに関して著者の実験でも, レセプター数は黄体期初期より増加し中期, 特に排卵後5日目に最も多くなり後期になるに従い減少し月経直前では最も少なくなつた(表2)。黄体期中期にレセプター数が最も多くなることはCole et al.⁸⁾, Nakano et al.¹⁶⁾, Wardlow et al.²⁷⁾の報告と一致しており, 月経黄体のLHレセプターの消長が黄体の成長, 維持, 退縮のlifespanに重要な関連性

をもつものと推定される。しかし, Rajaniemi et al.¹⁸⁾は月経黄体のLHレセプター数は月経周期の17日目に最も多くなり, その後黄体後期まで数は減少せず, 黄体の退縮はLHレセプター数の減少によるものではないと報告している。また, Halme et al.¹⁴⁾は月経黄体のLH, HCGレセプター数は黄体期初期より増加し後期に最も多くなるが, LHのレセプターに対する親和性は初期より後期にかけて減少し, HCGの親和性は中期に最も高くなることより, LHからHCGへの親和性の転換が黄体の退縮に関連すると報告している。しかし, 著者の実験では解離定数はほぼ一定で, LHのレセプターに対する親和性に変化は認められなかつた。白体に関してはRajaniemi et al.¹⁸⁾は白体にもLHレセプターは存在すると報告しているが, 著者の実験ではLHレセプターは認められず, これはWardlow et al.²⁷⁾の報告と一致している。

赤毛猿妊娠初期黄体はHCGに反応しないが, 妊娠後期黄体ではHCGに反応する²³⁾。また, ウシ妊娠黄体にはHCGレセプターが存在し, HCGに反応する¹⁹⁾。しかし, 我々の教室の亀井ら²⁾はヒト妊娠黄体単層細胞培養を用いた実験で妊娠各期を通じての黄体細胞のprogesterone産生は低下しており, HCGに対して反応しないことを報告している。この反応性の相違は赤毛猿では妊娠6週迄MCGは分泌され, それ以後検出できなくなるが¹²⁾, ヒトにおいては妊娠黄体は妊娠極く初期より後期迄胎盤由来の高HCG下にあるためと考えられる。著者は妊娠7週から42週迄の12例の妊娠黄体のLHレセプターについて検討を加えたが, 12例中5例に少数のLHレセプターを認め, 他の7例には認めることはできなかつた(表3)。これは持続的高HCGによるdown regulationあるいは飽和によるものと推定されるが, Rao et al.²⁰⁾は妊娠黄体にはLHレセプターは存在しないと報告している。一方, Rajaniemi et al.¹⁸⁾は妊娠黄体にはLHレセプターは存在し妊娠後期ではわずかながら数は増加すると報告している。しかし, 著者の実験ではその様な傾向は認められなかつた。

以上の成績より、① ヒト月経黄体にはLH、HCGが特異的に結合するレセプターが存在し、黄体時期によつてレセプター数が変動することより、LHレセプターは黄体のlifespanに関連する一つの重要な因子と推定される。② 黄体期初期より中期にかけてレセプター数が増加することより、黄体機能不全に対してHCGを黄体期初期に投与する治療法の有効性が認められる。③ 妊娠7週以後の妊娠黄体に関してはdown regulationあるいは飽和のためにfreeのレセプターは存在しないか存在しても少数である。④ 妊娠黄体細胞のprogesterone産生の低下と考え合わせて、妊娠黄体にはホルモン産生の場としての意義はないものと推定され、切迫流産に対して妊娠黄体刺激を目的としたHCG投与の効果については疑問である。

稿を終わるに際し、御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました恩師飯塚理八教授、ならびに終始御指導下さいました中村幸雄講師に深謝致します。さらに御指導、御協力をいただきました防衛医大薬理学教室今井重之博士ならびに慶応健康相談センター婦人科研究室橋川絹代嬢に感謝致します。

本論文の要旨は第54回日本内分泌学会総会、第54回日本内分泌学会秋季大会にて発表した。また、本研究の一部は昭和56年度文部省科学研究費補助金一般研究B NO. 56480281によるものであることを付記する。

文 献

- 飯塚理八：第23回日本産婦人科学会宿題報告。“着床の研究”，1971。
- 亀井 清，中村幸雄，吉村泰典，小田高久，松垣敬二，沢田富夫，泉 康史，飯塚理八：ヒト月経黄体及び妊娠黄体の単層細胞培養によるsteroidogenesisの検討。第33回日本産婦人科学会総会抄録集，1981。
- 亀井 清：ヒト月経黄体の単層細胞培養によるsteroidogenesisの研究。日産婦誌，34：261，1982。
- 小林 徹：ヒト黄体に於けるsteroidogenesisに及ぼすHuman Chorionic Gonadotropin並びにdibutyryl cyclic AMPの影響。日産婦誌，(投稿予定)
- 中島 進：ヒト黄体に於けるCyclic AMP Accumulationとsteroidogenesisに及ぼすHuman Chorionic Gonadotropinの影響。日産婦誌，31：178，1979。
- 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。
- Amir-Zaltsmann, Y. and Salomon, Y. : Studies on the receptor for luteinizing hormone in a purified plasma membrane preparation from rat ovary. *Endocrinol.*, 106 : 1166, 1980.
- Cole, F.E., Weed, J.C., Schneider, G.T., Holland, J.B., Geary, W.L. and Rice, B.F. : The gonadotropin receptor of the human corpus luteum. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 117 : 87, 1973.
- Cole, F.E., Weed, J.C., Schneider, G.T., Holland, J.B., Geary, W.L., Levy, D.L., Husbey, R. A. and Rice, B.F. : The specificity of gonadotropin binding by the human corpus luteum. *Fertility and sterility*, 27 : 921, 1976.
- Dufau, M.L., Catt, K.J. and Tsuruhara, T. : Biological activity of human chorionic gonadotropin released from testis binding-sites. *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 69 : 2414, 1972.
- Halme, J., Ikonen, M., Rutanen, E.M. and Seppälä, M. : Gonadotropin receptors of human corpus luteum during menstrual cycle and pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 131 : 728, 1978.
- Hodgen, G.D., Neimann, W.H. and Tullner, W. W. : Duration of chorionic gonadotropin production by the placenta of the rhesus monkey. *Endocrinol.*, 96 : 789, 1975.
- Huhtaniemi, I.T. and Catt, K.J. : Differential binding affinities of rat testis luteinizing hormone (LH) receptors for human chorionic gonadotropin, human LH, and ovine LH. *Endocrinol.*, 108 : 1931, 1981.
- Lee, C.Y., Coulam, C.B., Jiang, N.S. and Ryan, R.J. : Receptors for human luteinizing hormone in human corpora luteal tissue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 36 : 148, 1973.
- Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J. : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193 : 265, 1951.
- Nakano, R., Yamoto, M. and Iwasaki, M. : Effects of oestrogen and prostaglandin $F_{2\alpha}$ on luteinizing hormone receptors in human corpora lutea. *J. Endocrinol.*, 88 : 401, 1981.
- Papaionannow, S. and Gospodarowicz, D. : Comparison of the binding of human chorionic gonadotropin to isolated bovine luteal cells and bovine luteal plasma membranes. *Endocrinol.*, 97 : 114, 1975.
- Rajaniemi, H.J., Rönnerberg, L., Kaupplia, A., Ylöstalo, P., Jalkanen, M., Saastamoinen, J., Selander, K., Pystynen, P. and Vihko, R. : Luteinizing hormone receptors in human ovar-

ian follicles and corpora lutea during menstrual cycle and pregnancy. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 108 : 307, 1981.

19. Rao, CH.V. : The presence of gonadotropin and prostaglandin E receptors in the cell membranes of bovine corpora lutea throughout pregnancy. *Fertility and sterility*, 26 : 1185, 1975.

20. Rao, CH.V., Griffin, L.P. and Carman, F.R. Jr. : Gonadotropin receptors in human corpora lutea of the menstrual cycle and pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 128 : 146, 1977.

21. Rice, B.F., Hammerstein, J. and Savard, K. : Steroid hormone formation in the human ovary : II. Action of gonadotropins in vitro in the corpus luteum. *J. Clin. Endocrinol.*, 24 : 606, 1964.

22. Scatchard, G. : The attractions of proteins for small molecules and ions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 51 : 660, 1949.

23. Stouffer, R.L., Nixon, W.E. and Hodgen, G.D. : The refractory state of luteal cells isolated from rhesus monkeys after prolonged exposure to chorionic gonadotropin during early

pregnancy. *Biol. Reprod.*, 17 : 858, 1978.

24. Stouffer, R.L., Nixon, W.E., Gulyas, B.J. and Hodgen, G.D. : Gonadotropin-sensitive progesterone production by rhesus monkey luteal cells in vitro : A function of age of the corpus luteum during the menstrual cycle. *Endocrinol.*, 100 : 506, 1977.

25. Tanabe, K., Nakamura, Y., Nakashima, S. and Iizuka, R. : In vitro examination of LH-HCG receptors in human corpora lutea of the menstrual cycle and pregnancy. *Endocrinol. Japan*, 253 : 27, 1980.

26. Vande Wiele, R.L., Bogmil, J., Dyrenfurth, I., Ferin, M., Jewelewicz, R., Warren, M., Rizkallah, T. and Mikhail, G. : Mechanisms regulating the menstrual cycle in women. *Recent Prog. Horm. Res.*, 26 : 63, 1970.

27. Wardlow, S., Lauerson, N.H. and Saxena, B.B. : The LH-HCG receptor of human ovary at various stages of the menstrual cycle. *Acta Endocrinol.*, 79 : 568, 1975.

(特別掲載 No. 5111 昭57・7・9・受付)