

子宮頸部扁平上皮癌 (CaSki) 細胞の EGF 受容体発現, 細胞増殖能 ならびに SCC 産生能に及ぼすエストロゲンと 甲状腺ホルモンの影響

神戸大学医学部産婦人科学教室 (主任: 望月真人教授)

吉田 茂樹 丸尾 猛 松尾 博哉 望月 真人

Effects of Estrogen and Thyroid Hormone on EGF Receptor Expression, Proliferative Activity and SCC Production in the CaSki Cervical Carcinoma Cells

Shigeki YOSHIDA, Takeshi MARUO, Hiroya MATSUO and Matsuto MOCHIZUKI

Department of Obstetrics and Gynecology, Kobe University School of Medicine, Kobe

(Director : Prof. Matsuto Mochizuki)

概要 子宮頸部扁平上皮の異型化, 癌化に EGF 受容体 (EGF-R) 及び c-myc の発現が密に連動し, その組織内発現レベルは頸部病変の悪性を反映することを著者らはすでに報告した. 今回, 子宮頸部扁平上皮癌細胞での EGF-R 発現に関与する因子を明らかにする目的で子宮頸部扁平上皮癌 (CaSki) 細胞を用い, エストロゲン (17β -estradiol, E_2) と甲状腺ホルモン (L-triiodothyronine, T_3) などの成長因子が CaSki 細胞の EGF-R 発現と細胞増殖能ならびに SCC 産生能などにいかなる影響を及ぼすかを無血清培地培養系で検討した. EGF-R レベルは抗 EGF-R モノクローナル抗体を用いた免疫組織学的手法と ^{125}I -EGF binding の Scatchard plot により解析し, 細胞増殖能は, 細胞数, ^3H -thymidine uptake, PCNA (proliferating cell nuclear antigen) 免疫染色によって検討した. SCC 産生能は細胞内 SCC レベルを SCC-RIA キットで測定して判断した. ^{125}I -EGF 結合能の検討では, E_2 あるいは T_3 の添加は CaSki 細胞 EGF-R の affinity には影響せず, その capacity を増加させた. EGF-R 免疫染色の検討では, E_2 あるいは T_3 添加によって, CaSki 細胞の EGF-R 免疫染色強度が増強した. 細胞増殖能の検討では, E_2 あるいは T_3 添加は CaSki 細胞の ^3H -thymidine uptake と PCNA 免疫染色陽性率を増大させ, 細胞数を増加させた. また E_2 あるいは T_3 添加により CaSki 細胞内 SCC レベルも増加した. 以上より, E_2 ならびに T_3 は子宮頸部扁平上皮癌 (CaSki) 細胞での EGF-R の up regulation 因子として働き, その増殖能を高めると同時に, SCC 産生をも促進することが明らかとなった.

Synopsis This study was undertaken to see if estrogen and thyroid hormone affected EGF-receptor (EGF-R) expression, proliferative activity and intracellular SCC levels in uterine cervical squamous carcinoma cells. The uterine cervical cancer cell line (CaSki) was cultured in vitro in the absence or presence of 17β -estradiol (E_2) or L-triiodothyronine (T_3) in a serum free condition. Effects of E_2 or T_3 on the characteristics of EGF-R were assessed by the Scatchard analysis of the binding assay with ^{125}I -EGF. Cellular levels of EGF-R expression were examined by the immunoperoxidase method with a monoclonal antibody to EGF-R. Proliferative activity of the cells was determined by proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining, ^3H -thymidine uptake and the number of cells. The effects of E_2 or T_3 on intracellular SCC levels were also examined by determining the intracellular SCC concentration with an SCC-RIA Kit. The scatchard analysis of ^{125}I -EGF binding to CaSki cells showed that the addition of E_2 or T_3 had little effect on the affinity of EGF-R for CaSki cells but increased the capacity of EGF-R for the cells. Immunocytochemical staining with anti EGF-R antibody demonstrated that EGF-R expression in the CaSki cells was augmented by the

addition of E₂ or T₃. The addition of E₂ or T₃ also resulted in an increase in ³H-thymidine uptake by the CaSki cells, the PCNA positive rate and the number of cells. Furthermore the addition of E₂ or T₃ increased intracellular SCC in the CaSki cells. These results suggest that E₂ and T₃ act as factors involved in increasing EGF-R expression, proliferative activity and SCC production in uterine cervical squamous carcinoma cells (CaSki).

Key words: Estrogen • Thyroid hormone • Uterine cervical squamous carcinoma cell • Epidermal growth factor receptor • SCC

緒言

近年、EGF 受容体 (EGF-R) の膜貫通ドメインと細胞内ドメインはトリ赤芽球症ウイルス (ver-b-B) 産物とホモロジーがあること¹⁾、EGF-R の細胞内ドメインにチロシンキナーゼ活性があり、これを通して細胞にシグナルが伝達されること²⁾などから、EGF-R を介した異常細胞増殖は多くの腫瘍系で成立すると推察されるに至った。特に、乳癌、胃癌といった上皮系腫瘍で、EGF-R 発現と予後との関連について多くの報告がみられる。子宮頸部扁平上皮癌との関連では、著者らは子宮頸部扁平上皮の異型化、癌化が EGF-R 及び c-myc の発現と密に連動し、その組織内発現レベルは頸部病変の悪性を反映することを報告した^{3,4)}。

そこで今回、子宮頸部扁平上皮癌細胞での EGF-R 発現に関与する因子を明らかにする目的で特にエストロゲンならびに甲状腺ホルモンに注目し、これらの細胞成長因子が、子宮頸部扁平上皮癌 (CaSki) 細胞における EGF-R 発現に対し、いかなる影響を及ぼすかを検討すると同時に、その細胞増殖能と SCC 産生能に及ぼす影響を検討した。

研究方法

1. 細胞株

CaSki 細胞は大日本製薬ラボラトリーより入手したヒト子宮頸部扁平上皮癌由来細胞培養株 CaSki を用いた。

2. 培養方法

CaSki 細胞の培養は CO₂-incubator 内で 37°C、5%CO₂-95%air の条件下に行い、まず 10% fetal bovine serum (FBS) 含有培養液 (RPMI 1640: Phenol red 非含有) を用いて 10×10⁴細胞/ml に調整された細胞懸濁液 5ml を culture dish (FALCON) に、また 1ml を chamber slide (Lab-Tek)

に散布して培養を開始し、位相差顕微鏡による観察でほぼ 60% の confluency となる 5 日目に FBS 含有培地を無血清培地に変え、17β-estradiol (E₂) あるいは L-triiodothyronine (T₃) をそれぞれ 10 ng/ml, 10⁻¹¹nM となるように添加して 72 時間継続培養した。なお、これら E₂ あるいは T₃ の添加濃度は、生体内での生理的濃度と著者ら⁵⁻⁷⁾がヒト絨毛組織培養系で認めた最大刺激濃度をそれぞれ指標として、各種濃度の E₂ あるいは T₃ 添加の基礎実験を行い、CaSki 細胞増殖能に対する最大刺激濃度を求めて設定した。

3. EGF-R の解析

E₂ あるいは T₃ 添加 72 時間後に ¹²⁵I-EGF を ligand とした binding assay を行い、CaSki 細胞の EGF-R を解析した。この際、cold-EGF 濃度は 0.1~100 μg/ml、反応条件を 37°C、1 時間に設定し、得られた結合曲線の Scatchard 解析から解離定数と細胞あたり総受容体数を求めた。

他方、chamber slide を用いた培養系では、Omnitags (Lipshaw Co. Ltd.) 免疫染色 Kit を用い、抗 EGF-R モノクローナル抗体 (Oncogene Science) を一次抗体とした ABA (avidin biotin-affinity) 法によって、EGF-R 発現レベルを免疫組織化学的に検討した。なお、一次抗体の反応時間は 4°C で over night とし、3-Amino-9-Ethylcarbazol (AEC) による発色後ヘマトキシリンで核染色を行い、鏡検した。

4. 細胞増殖能の検討

CaSki 細胞の ³H-thymidine uptake は autoradiography により検討した。Chamber slide を用いた培養系において、E₂ あるいは T₃ 添加 20 時間後より 4 時間、³H-thymidine 1 μCi/ml を添加し、パルスラベルした。ついで冷 PBS (-)、冷 5% TCA で洗浄後、chamber slide を乳剤 (Kodak)

につけ、余分な乳剤を除去後約2時間暗室内で乾燥後、4°C暗室内で露光させた。2週間後にスライドガラスを取り出し現像、停止、定着、水洗を行い、位相差顕微鏡で観察し、³H-thymidineのlabeling indexを求めた。

E₂あるいはT₃添加後24, 48, 72時間の細胞数はCoulter Counter (Coulter Electronics Ltd) にて求めた。

また、抗PCNAモノクローナル抗体 (Signet Laboratories Inc) を用いてABA法による免疫染色を行い、CaSki細胞のPCNA染色陽性率を調べた。PCNA免疫陽性率は、顕鏡下に細胞1,000個以上の染色を観察して算定した。

5. CaSki細胞内SCCの測定

CaSki細胞内SCC濃度はCaSki細胞をsonicator (microultrasonic cell disrupter, Kontes) で超音波処理し、低温遠心分離機にて遠心分離 (3,000rpm 15分) して得た上清中SCCをSCC RIA-Kit (Dainabot) で測定し、細胞1万個あたりのSCC量に換算して表現した。

研究成績

1. E₂ならびにT₃のCaSki細胞のEGF-Rに及ぼす影響

培養72時間後のCaSki細胞と¹²⁵I-EGFの結合曲線よりScatchard解析を行うと、非添加対照群、E₂あるいはT₃添加群ともにstraightなprofileを示し、解離定数は非添加対照群、E₂あるいはT₃添加群においてそれぞれK_d=240pM, 260pM, 234pMであり、総受容体数はそれぞれR=2.17×10⁵sites/cell, 2.29×10⁵sites/cell, 2.86×10⁵sites/cellであることを認めた(図1)。

他方、抗EGF-Rモノクローナル抗体を一次抗体としてABA法によってCaSki細胞のEGF-R発現を免疫細胞化学的に検討すると、E₂あるいはT₃添加群でCaSki細胞のEGF-R免疫染色強度は非添加対照群に比較して増強することを認めた。このE₂あるいはT₃添加に伴うCaSki細胞のEGF-R免疫染色強度の増強はE₂あるいはT₃添加後24時間の時点で最も顕著であった(図2)。

2. E₂ならびにT₃のCaSki細胞増殖能に及ぼす影響

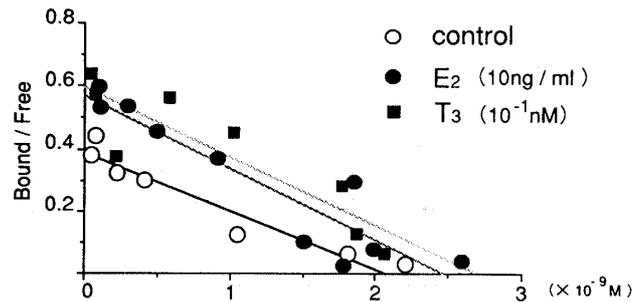


図1 CaSki細胞の¹²⁵I-EGF bindingに及ぼすE₂ならびにT₃の影響：Scatchard解析での検討

E₂あるいはT₃添加後24時間の時点でのCaSki細胞内³H-thymidine uptakeをautoradiographyによって検討した成績では、非添加対照群に比し、E₂添加群において58%、T₃添加群において55%の³H-thymidine labeling rateの増大を認めた(図3)。

図4は、E₂あるいはT₃添加後24, 48, 72時間における培養細胞数を示す。非添加対照群に比しE₂あるいはT₃添加群においてCaSki細胞数は増加した。

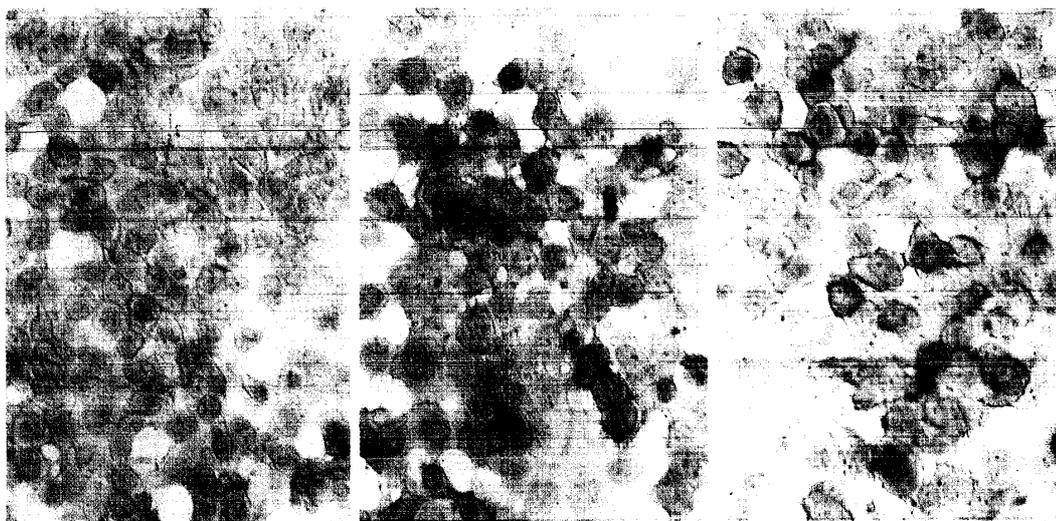
図5はE₂あるいはT₃添加後24, 48時間におけるCaSki細胞のPCNA免疫染色陽性率を非添加対照群のそれと比較した成績である。CaSki細胞のPCNA免疫染色陽性率は、E₂あるいはT₃添加24時間後では非添加対照群に比して、E₂添加群において24%、T₃添加群において12%の増加を認め、またE₂あるいはT₃添加48時間後では非添加対照群に比して、E₂添加群において41%、T₃添加群において34%の増加を認めた。

3. E₂ならびにT₃のCaSki細胞内SCCレベルに及ぼす影響

E₂あるいはT₃添加24, 48時間後におけるCaSki細胞内SCCを細胞1万個あたりに換算して示したものが図6である。E₂あるいはT₃添加24時間後では非添加対照群に比して細胞内SCCレベルが有意な差を示さないが、添加48時間後ではE₂あるいはT₃添加群においてそのレベルは有意に増加した。

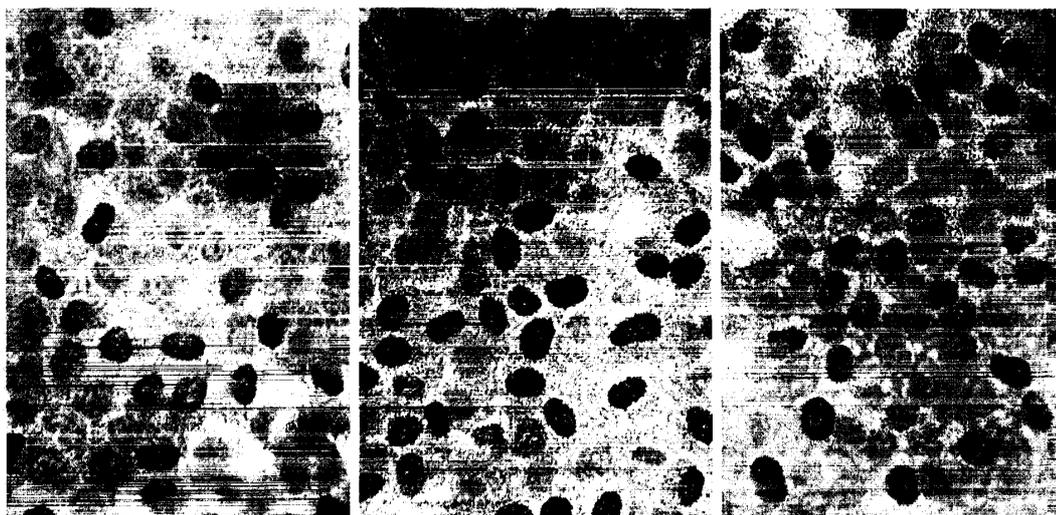
考 察

今回、CaSki細胞には単一の性格のEGF-Rが存在し、そのEGF-R発現レベルはE₂あるいはT₃



control 群 E₂添加群 T₃添加群

図2 E₂あるいはT₃添加24時間後におけるCaSki細胞のEGF-R免疫染色



control 群 E₂添加群 T₃添加群

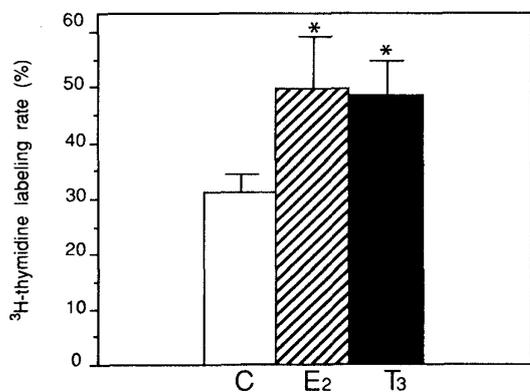


図3 E₂あるいはT₃添加24時間後におけるCaSki細胞内³H-thymidine uptakeのautoradiography (上図)と³H-thymidine labeling rate (下図)
□: control群, ▨: E₂ (10ng/ml) 添加群, ■: T₃ (10⁻¹¹nM) 添加群, *: p<0.05

添加によって増大するが、E₂あるいはT₃添加に伴うEGF-R発現レベルの増大がEGF-Rの

affinityの増大によるのではなく、capacityの増加によることが明らかとなった。

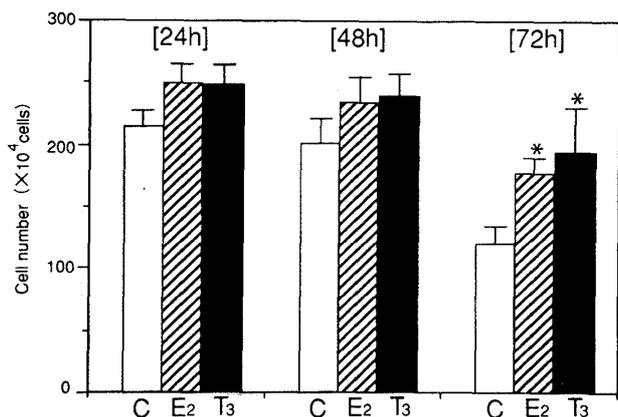


図4 E₂ならびに T₃の CaSki 細胞数に及ぼす影響
□: control 群, ▨: E₂ (10ng/ml) 添加群, ■: T₃ (10⁻¹nM) 添加群, *: p<0.05

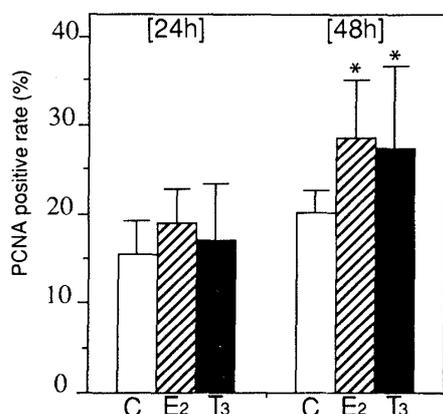


図5 E₂ならびに T₃の CaSki 細胞 PCNA 免疫染色陽性率に及ぼす影響: E₂あるいは T₃添加24, 48時間後における PCNA 免疫染色陽性率
□: control 群, ▨: E₂ (10ng/ml) 添加群, ■: T₃ (10⁻¹nM) 添加群, *: p<0.05

すでに、癌細胞での EGF-R 発現に関しては、食道癌、乳癌、胃癌などの細胞株で多くの報告がみられるが、婦人科領域では子宮頸癌の Virchow リンパ節転移腫瘍組織(大細胞非角化型頸部上皮癌)から樹立した(OMC-1)細胞株での EGF-R の親和性と総受容体数はそれぞれ300~500pM, 2.4×10⁴/cell であり⁸⁾, また別の子宮頸部扁平上皮癌(SKG-3a)培養細胞での EGF-R の親和性と総受容体数はそれぞれ477pM, 1×10⁴/cell であったと報告されている⁹⁾。今回、著者らが得た CaSki 細胞 EGF-R の親和性と総受容体数は OMC-1細胞ならびに SKG-3a 細胞での成績とほぼ合致しており、

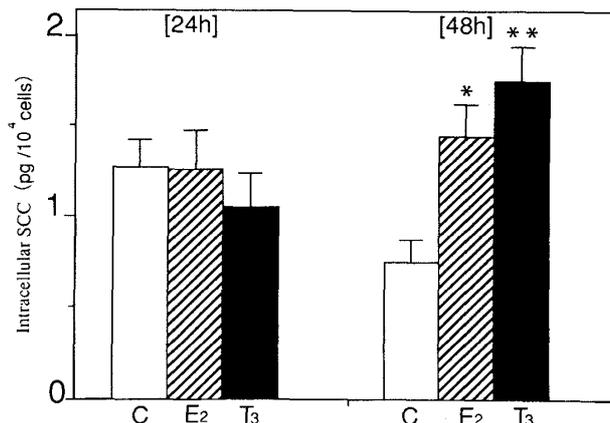


図6 E₂ならびに T₃の CaSki 細胞内 SCC レベルに及ぼす影響
□: control 群, ▨: E₂ (10ng/ml) 添加群, ■: T₃ (10⁻¹nM) 添加群, *: p<0.05; **: p<0.01

多くの癌細胞で EGF-R の解離定数は nM レベルであるのに対して、CaSki 細胞を初めとした子宮頸部扁平上皮癌細胞 EGF-R のそれは pM レベルであることから、子宮頸部扁平上皮癌細胞は EGF に対して非常に高い親和性を有することが確認された。

Wittmaack et al.¹⁰⁾は婦人科癌において、¹²⁵I-EGF binding assay 法による EGF-R 量と抗 EGF-R 抗体を用いた免疫染色強度はよく相関すると報告している。事実、著者らの抗 EGF-R モノクローナル抗体を用いた免疫染色による検討でも、E₂あるいは T₃添加によって、添加24時間後の EGF-R 免疫染色強度は非添加群でのそれに比して増強することを認め、前述の¹²⁵I-EGF binding assay の成績を支持するものであった。

ところで、甲状腺ホルモンと EGF との関連では、甲状腺機能亢進症患者において尿中への hEGF 排泄が著明に増加し、治療により甲状腺機能が正常に回復するとともに尿中への hEGF 排泄は正常に低下することが知られている。他方、Vonderhaar et al.¹¹⁾はマウス正常乳腺及び良性乳腺腫瘍で、甲状腺ホルモンの EGF レセプターの発現に及ぼす影響を検討し、甲状腺機能低下マウスにおいては甲状腺機能正常マウスに比べ、正常乳腺及び良性乳腺腫瘍における EGF-R 発現が 30~40%減少し、この EGF-R レベルの低下は

EGF-R に対する親和性の変化によるのではなく、受容体数の減少によることを報告している。また、甲状腺ホルモンは中毒性急性腎不全に続く腎機能回復を促進することが知られ、Humes et al.¹²⁾は、ウサギの腎近位尿細管細胞培養系において、T₃が EGF-R の遺伝子発現を高めて EGF-R の総受容体数を増加させることを報告している。これらの知見は、甲状腺ホルモンが EGF-R の調節因子として働くことを示唆している。

ところで近年、癌の予後を左右するものとして性ステロイドホルモンが注目されてきた。性ステロイドホルモン依存性癌としては乳癌と子宮内膜癌が知られるが、子宮頸部もまたホルモン標的臓器であり正常子宮頸部及び子宮頸癌組織がエストロゲンならびにプロゲステロンのレセプターを有することが報告され¹³⁾、子宮頸癌と性ステロイドホルモン間にも密接な関連があることが推察される。著者らは本研究で E₂ が子宮頸部扁平上皮癌 (CaSki) 細胞での EGF-R 発現を高め、EGF-R の up regulation 因子として働き、細胞増殖活性を高めると同時に扁平上皮癌関連抗原 SCC の産生を促進することを認めた。他方、E₂ 刺激によって EGF を初めとした成長因子の発現が高まること¹⁴⁾、エストロゲンレセプターと erb-A 産物との相同性が指摘されていること¹⁵⁾などから、性ステロイドホルモンレセプター系を介した成長因子の産生、制御の可能性が示唆されている。事実、著者らはエストロゲンレセプターならびに甲状腺ホルモンレセプターと遺伝子構造上の高い相同性が知られている erb-A cDNA プロブを用いて Northern blot 法により CaSki 細胞での erb-A mRNA 発現を確認している (未発表)。

ところで、性ステロイドホルモン及びそのレセプターと子宮頸部扁平上皮との関連に関しては、これらのホルモンが正常子宮扁平上皮や cervical intraepithelial neoplasia (CIN) さらには子宮頸部扁平上皮癌の細胞増殖能に影響を及ぼすこと¹⁶⁾、閉経後女性の萎縮子宮頸部扁平上皮細胞が estrogen replacement therapy (ERT) によって増殖、成熟すること、さらにこの ERT に伴う効果は正常子宮頸部扁平上皮中のエストロゲンレセプ

ターを介すること¹⁷⁾が報告されている。White et al.¹⁸⁾は子宮頸部扁平上皮癌 (HOG-1) 細胞株の培養系で E₂ 添加が HOG-1細胞数と HOG-1細胞への³H-thymidine 取り込みを増大させることを認め、同時にこの E₂ 添加に伴う³H-thymidine 取り込みの増大はタモキシフェン、あるいはメドロキシプロゲステロンアセテート (MPA) の同時添加によって抑制されることを明らかにしている。さらに、プロゲステロンおよび MPA 添加群では非添加対照群に比して HOG-1細胞数が減少することを示し、ヒト子宮頸部扁平上皮癌細胞の増殖に対してエストロゲンは促進的に、プロゲステロンが抑制的に働く可能性を示唆している。これらの知見は、E₂ が子宮頸部扁平上皮癌細胞の増殖能に対して up regulation 因子として働くことを示唆した著者らの成績と符合し興味深い。

ところで、子宮頸部扁平上皮癌における EGF-R と腫瘍関連抗原 SCC の組織内発現は類似した傾向を示す¹⁹⁾。他方、著者らは EGF が CaSki 細胞による SCC 産生を高めることを初めて報告し²⁰⁾²¹⁾、植田ら⁸⁾も OMC-1細胞において同様の知見を報告している。つまり、子宮頸部扁平上皮癌細胞においては、EGF は EGF-R を介して腫瘍関連抗原である SCC の産生を調節していると考えられる。

これらの知見より、E₂ ならびに T₃ は、子宮頸部扁平上皮癌 (CaSki) 細胞での EGF-R 発現を高め、EGF-R の up regulation 因子として働き、細胞増殖能を高めると同時に SCC 産生を促進することが明らかとなった。したがって、子宮頸部扁平上皮癌に対する抗癌化学療法あるいは放射線療法を施行中は、頸部扁平上皮癌細胞の細胞増殖促進を抑えるうえでエストロゲンと甲状腺ホルモンのレベルを正常域低値に維持することが望ましいと推察される。今後、腫瘍内分泌相関をも考慮に入れた子宮頸癌に対する集学的治療の管理方式を確立させる必要がある。

本研究の要旨は第45回日本産科婦人科学会学術講演会 (大阪)、第66回日本内分泌学会学術総会 (金沢) で発表した。なお、本研究の一部は文部省科学研究費補助金、一般 B (05454451) ならびに日母おぎゃー献金助成金によった。

文 献

1. Downward J, Yarden Y, Mayers E, Scrace G, Totty N, Stockwell P, Ullrich A, Schlessinger J, Waterfield MD. Close similarity of epidermal growth factor receptor and v-erb-B oncogene protein sequences. *Nature* 1984; 307: 521-527
2. Cohen S, Ushiro H, Stosheck C, Chinkers M. A native 170,000 epidermal growth factor kinase complex from shed plasma membrane vesicles. *J Biochem* 1986; 257: 1523-1531
3. 山崎正明, 丸尾 猛, 赤堀泰一郎, 望月真人. 子宮頸部扁平上皮癌における EGF 受容体ならびに癌遺伝子 myc 産物の発現に関する免疫組織学的検討. *日産婦誌* 1988; 40: 51-58
4. Maruo T, Yamasaki M, Cecilia AL, Mochizuki M. Immunohistochemical demonstration of elevated expression of epidermal growth factor receptor in the neoplastic changes of cervical squamous epithelium. *Cancer* 1992; 69: 1182-1187
5. Maruo T, Matsuo H, Otani T, Hoshina M, Mochizuki M. Differential modulation of chorionic gonadotropin (CG) subunit messenger ribonucleic acid levels and CG secretion by progesterone in normal placenta and choriocarcinoma cultured in vitro. *Endocrinology* 1986; 119: 855-864
6. 松尾博哉, 丸尾 猛, 保科 眞, 望月真人. 17 β -Estradiol による培養絨毛内 hCG α の生成, 分泌の選択的促進と特異的 mRNA の推移. *日内分泌誌* 1986; 62: 1352-1361
7. Maruo T, Matsuo H, Mochizuki M. Thyroid hormone as a biological amplifier of differentiated trophoblast function in early pregnancy. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1991; 125: 58-66
8. 植田政嗣, 岡本吉明, 山田隆司, 御前 治, 鶴長建充, 岩井恵美, 柳川泰彦, 植木 実, 杉本 修. 子宮頸癌細胞の EGF 受容体の解析, およびその増殖と腫瘍マーカー分泌能に対する EGF の効果に関する研究. *日産婦誌* 1988; 40: 1700-1706
9. 馬 軍, 鈴木正明, 高田道夫. 女性性器癌由来培養細胞株の EGF 受容体の発現状況並びに抗癌剤と EGF 併用による抗腫瘍効果の増強作用について. *日産婦誌* 1992; 44: 49-54
10. Wittmaack FM, Schworer D, Wintzer O, Baukne T, Pfeleiderer A. The immunohistochemical expression of epidermal growth factor (EGF) receptors in various gynecological tumors. *J Cancer Res Clin Oncol (Suppl)* 1988; 115
11. Vonderhaar BK, Tang E, Lyster RR, Nascimento MCS. Thyroid hormone regulation of epidermal growth factor receptor levels in mouse mammary glands. *Endocrinology* 1986; 119: 580-585
12. Humes HD, Cieslinski DA, Johnson LB, Sanchez IO. Triiodothyronine enhances renal tubule cell replication by stimulating EGF receptor gene expression. *Am Physiol Soc* 1992; 262: 540-545
13. Soutter WP, Pegoraro RJ, Green-Thompson RW, Naidoo DV, Joubert SM, Philpott RH. Nuclear and cytoplasmic oestrogen receptors in squamous carcinoma of the cervix. *Brit J Cancer* 1981; 44: 154-159
14. Lingham RB, Stancel GM, Loose Mitchell DS. Estrogen regulation of epidermal-growth-factor receptor messenger ribonucleic acid. *Mol Endocrinol* 1990; 2: 230-235
15. Green S, Walter P, Kumar V, Krust A, Bornert JM, Argos P, Chambon P. Human oestrogen receptor cDNA: Sequence, expression and homology to v-erb-A. *Nature* 1986; 320: 134-139
16. Grenman S, Shapira A, Carey TE. In vitro response of cervical cancer cell lines CaSki, Hela and ME-180 to the antiestrogen tamoxifen. *Gynecol Oncol* 1988; 30: 228-238
17. Sanborn BM, Held B, Kuo HS. Specific estrogen-binding proteins in human cervix. *J Steroid Biochem* 1975; 6: 1107-1112
18. White JO, Jones RN, Croxtall JD, Gleeson RP, Krausz T, Pervez S, Jamil A, Guida L, Beesley JE, Soutter WP. The human squamous cervical carcinoma cell line, HOG-1, is responsive to steroid hormones. *Int J Cancer* 1992; 52: 247-251
19. 丸尾 猛. 産婦人科領域における成長因子と Oncogene. *産婦人科の世界* 1990; 42: 209-218
20. Hussa RO, Maruo T, Strobel JL, Pattillo RA, Mochizuki M. Production of tumor associated antigen, TA-4, by the CaSki cervical carcinoma cell line. *Obstet Gynecol* 1986; 67: 802-805
21. Maruo T, Matsuo H, Nishino R, Hussa RO, Strobel JL, Pattillo RA, Mochizuki M. Discordant induction of tumor-associated antigen, TA-4 and chorionic gonadotropin β in cultured cervical carcinoma cells. *Acta Obstet Gynecol Jpn* 1987; 39: 291-296

(No. 7564 平6・9・16受付)