

子宮内膜培養細胞における CA125 産生動態に関する研究

—正所内膜と異所内膜の比較—

浜松医科大学産科婦人科学教室 (主任: 川島吉良教授)

*浜松医科大学第1病理学教室

井田 若葉 小林 浩 内藤 恭久*

An in vitro Study on the Mechanism of CA125

Production of Endometrial Cells

—Comparison of Eutopic and Heterotopic Endometrium—

Wakaba IDA, Hiroshi KOBAYASHI and Yasuhisa NAITO*

*Department of Obstetrics and Gynecology, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu
(Director: Prof. Yoshiro Kawashima)***First Department of Pathology, Hamamatsu University School of Medicine, Hamamatsu*

概要 子宮腺筋症における高 CA125血症の原因を検討するため、正所および異所子宮内膜細胞を腺管上皮細胞と間質細胞とに分離、培養し、フローサイトメトリー (以下 FCM と略す) を用いて細胞周期と CA125産生能との関係を比較検討した。

1. Satyaswaroop et al. の方法を modify して正所および異所子宮内膜細胞を腺管上皮細胞と間質細胞に分離、培養した。

2. 初代培養における子宮内膜細胞の増殖曲線は、培養開始後48時間は細胞数の減少を認め、その後対数増殖期に入った。腺管上皮細胞は培養開始後10~14日で、間質細胞は約7日で full sheet に達した。

3. 位相差顕微鏡による形態学的観察では、腺管上皮細胞はおたまじやくし状を呈するのに対し、間質細胞は紡錘状を呈しており両者は明らかに区別された。しかし、正所と異所の形態学的区別は困難であった。

4. 子宮内膜培養細胞における CA125免疫染色 (酵素抗体間接法) では、正所および異所子宮内膜腺管上皮細胞は細胞膜と細胞質に染色されたが、間質細胞では正所も異所も染色されなかった。しかし、蛍光抗体間接法では、間質細胞にも CA125が弱陽性に染色された。

5. CA125と DNA の2重染色を行い、FCM で解析した結果、正所および異所子宮内膜腺管上皮細胞の CA125産生能は G₀期の細胞が cell cycle に介入する時期のみならず、S 期、G₂/M 期の細胞が増加する対数増殖期にも亢進していた。また、異所子宮内膜腺管上皮細胞の CA125産生能は、正所子宮内膜腺管上皮細胞に比べ G₀/G₁期がほとんどを占める定常期で最高約16倍 (培養12日目) と高かった。しかし、間質細胞では正所、異所を問わず CA125陽性細胞はたかだか8%未満であり、CA125産生能も低かった。

以上の結果より、子宮腺筋症患者が高 CA125血症を呈する理由として、正所子宮内膜腺管上皮細胞に加え異所子宮内膜腺管上皮細胞からも CA125が産生され、かつその産生能亢進による相乗効果が示唆された。

Synopsis Human eutopic and heterotopic endometrium were cultured and epithelial cells were isolated from stromal cells by the modified method of Satyaswaroop et al. in order to investigate the cause of elevated serum CA125 levels in patients with adenomyosis. Flow cytometry (FCM) was used to analyze the relationship between cell cycle and CA125 production.

1. Microscopically, epithelial cells showed a tadpole-like appearance, while stromal cells were spindle-shaped. However, morphologically, no difference could be found between eutopic and heterotopic endometrial cells.

2. Immunocytochemical techniques (indirect enzymeimmunoassay and fluorescence method) have demonstrated the presence of CA125 both on the cell membrane and in the cytoplasm of eutopic and heterotopic epithelial cells. Stromal cells were weakly stained by the fluorescence method, but not by

enzyme immunoassay.

3. Double staining of CA125 and DNA was performed and analysed with FCM. Heterotopic epithelial cells produced a significantly higher amount (16 times higher) of CA125 than the eutopic epithelial cells. Stromal cells produced a small amount of CA125.

These findings suggest that the elevation of serum CA125 levels in patients with adenomyosis may be due to greatly increased production of CA125 by heterotopic epithelial cells, in addition to the production of CA125 by eutopic ones.

Key words: Adenomyosis • CA125 • Flow cytometry • Cell culture • Endometrium

緒 言

1981年に Bast et al.⁸⁾により、漿液性嚢胞腺癌由来卵巣癌株 OVCA433より樹立されたモノクローナル抗体により認識される oncodevelopmental antigen として CA125が報告されてから、卵巣癌の血清学的診断や経過観察の方法は飛躍的に進歩した⁹⁾。しかし、血清 CA125は子宮内膜症でも陽性値を示すことが少なくなく、癌診断における specificity 低下の要因となっている。一方、子宮内膜症の観点から CA125を再評価すると、子宮内膜症に対する血清学的診断手段として CA125の有用性が報告されて以来、血清 CA125の測定は子宮内膜症の診断および経過観察にも応用されているのが現状である³⁾⁷⁾。

そこで子宮内膜症、とくに子宮腺筋症患者が高 CA125血症を呈する原因を検討するため、まず、子宮内膜細胞の *in vitro* 培養系を確立した。異所子宮内膜組織として子宮腺筋症を用い、正所および異所子宮内膜を腺管上皮細胞と間質細胞に分離、培養し、子宮内膜細胞の細胞周期と CA125産生についてフローサイトメトリー（以下 FCM と略す）を用いて検討した。

研究対象および方法

1. 対象

子宮内膜組織は、浜松医科大学付属病院に入院し、手術を施行した症例より無菌的に得られた。組織学的には、子宮腺筋症13例および子宮筋腫7例の合計20例であり、子宮腺筋症13例のうち7例については、正所および異所子宮内膜組織をそれぞれ腺管上皮細胞と間質細胞に分離して培養を行った。

2. 子宮内膜細胞の分離および培養方法

正所および異所子宮内膜腺管上皮細胞（以下、正所および異所内膜腺上皮細胞と略す）の培養は、

Satyaswaroop et al.¹²⁾の方法を modify して以下のごとく行つた。すなわち、無菌的に採取した子宮内膜組織を小鋏で1mm³角に細切したのち、0.25%Collagenase（和光純薬）/Ham's F12（Sigma）+5%Fetal calf serum（以下 FCS と略す、Gibco）にて、37°C、2時間、tapping culture bottle（池本理化）内で酵素処理を行つた。次に、ポアサイズ250μm のステンレススチール製フルイ（SANPO）にかけて未消化組織を除去した後、さらに、増殖期子宮内膜細胞の回収には38μm のフルイを、分泌期子宮内膜細胞の場合には、105μm のフルイをそれぞれ用い、フルイに残存した細胞成分を培養液で洗浄した。その後、これらを2時間培養して間質細胞を培養フラスコ壁面に付着させた。この時点で、付着せずに浮遊している腺上皮細胞を回収し、別の培養フラスコに再度播種することにより、腺上皮細胞成分と間質細胞成分に分離した。本培養に供した内膜腺上皮細胞は、培養フラスコに付着しなかつた腺管組織を再度、0.25%Trypsin（Gibco）/0.1%Collagenase の enzyme cocktail により、4~5回酵素処理（37°C、15分）することにより得られた。また、間質細胞は、増殖期内膜の場合には、250μm のフルイ、38μm のフルイの順に通過させた細胞を、分泌期内膜の場合には250μm のフルイから105μm のフルイを通した後、最後に38μm のフルイを通過させて得た細胞を、それぞれ遠心、洗浄して培養に供した。培養液は、Ham's F12を基本培地とし、これに200μl/ml FCS、40μg/ml Insulin（和光純薬）、100IU/ml Penicillin（Gibco）、100μg/ml Streptomycin（Gibco）を加えたものを用いた。培養は37°C、95%air・5%CO₂条件下で行い、培地交換は3~4日間隔で行つた。

3. 子宮内膜培養細胞の増殖曲線の作成と

CA125産生能

直径35mmの plastic culture dish (Corning) に各々 2×10^5 /2ml の細胞を植え込み, full sheet に至るまで連日3 dishes について細胞数を算定し, その平均値を plot することにより増殖曲線を作成した. 各 dish の生細胞数の算出は0.25% trypan blue (CHROMA-GESELLSCHAFT SCHMIDT & CO) による色素排除法によつた¹¹⁾.

倍加時間の算定は, 増殖期の細胞集団について, $\text{Doubling time} = (t - t_0) \log 2 / (\log N - \log N_0)$ (t, t_0 : 細胞数を数えた時の時間, N : t 時での細胞数, N_0 : t_0 時での細胞数) によつて求めた. また, 経日的に培養液中の CA125濃度を算定し, U/ 10^5 cells/24hrs に換算した値をもつて CA125産生能とした. CA125の測定は Centocor 社製 CA125-RIA kit により行つた.

4. 培養細胞における CA125染色

腺上皮細胞と間質細胞は, LAB-TEK culture chamber (Miles Laboratories) に培養 (1×10^5 cells/ml) し, 培養7日目の細胞を CA125染色のために用いた.

CA125染色は酵素抗体間接法⁵⁾と蛍光抗体間接法により行つた. 蛍光抗体法による CA125染色法は後述のごとく2重染色を施した後, 蛍光顕微鏡 (Axioplan, Carl Zeiss) により観察した.

5. FCM による細胞周期と CA125産生の関係

各種子宮内膜培養細胞における細胞周期と CA125産生能との関係を検討するため CA125と DNA の2重染色を行つた⁶⁾. 子宮内膜培養細胞を0.25% trypsin で37°Cで約10分間反応させ, 70% エタノールで-20°C over night 固定した. 免疫染色は蛍光抗体間接法に従い, 1次抗体には100倍希釈の抗ヒト CA125マウス抗体 ($10 \mu\text{g/ml}$) を37°C, 30分反応させ, 2次抗体には50倍希釈の Fluorescein Isothiocyanate (FITC) 標識抗マウス IgG ヤギ抗体 ($20 \mu\text{g/ml}$) (Sigma) を室温, 45分反応させた. 洗浄後, 0.1% RNase (Sigma), 0.1% Triton X-100 (和光純薬) を添加した後, Propidium Iodide (PI) ($50 \mu\text{g/ml}$) (Sigma) による2重染色を行つた. なお, 細胞分散後, 検体を二分し, 一方には1次抗体としてマウス血清を反応させたも

のをコントロールとして用いた.

2重染色した検体を $50 \mu\text{m}$ のナイロンメッシュに通した後, EPICS profile analyser (Coulter) を用いて解析した.

次に, 各試料の PI 染色から DNA ヒストグラムを作成し細胞周期解析を行つた. また, 培養細胞における CA125陽性率の算出法は野澤ら⁶⁾の方法に従つた.

研究結果

1. 形態学的観察

増殖期の内膜腺上皮細胞は分泌期に比べて, 全体に細長く短い集塊となる傾向を示した (写真 1A, B). また個々の内膜腺上皮細胞は主としておたまじやくし状を呈し, 紡錘状を呈する間質細胞とは明らかに区別された (写真 2A, B). 培養開始後の子宮内膜の経日的変化をみると, 正所内膜腺上皮細胞は島状に散在しながらうずまき状に増殖発育して偽腺管構造を形成するが, cell suspension の状態から培養を開始すると明らかな腺管構造を形成することはなかつた. なお, 内膜腺上皮細胞あるいは間質細胞のいずれについても, 形態学的に正所および異所の区別をすることは困難であつた.

正所内膜腺上皮細胞および間質細胞が定常期に至つた時の培養状態は, 両者ともほぼ100%分離されていた. 一方, 異所内膜腺上皮細胞および間質細胞の培養結果は, 95%以上が腺上皮細胞であるが, 間質細胞には若干の平滑筋様細胞の混入を認めた.

2. 培養細胞における CA125染色

正所および異所内膜腺上皮細胞は, 酵素抗体間接法による CA125免疫染色により, とともに細胞膜のみならず, 細胞質も染色された (写真 3A). しかし, 正所および異所内膜間質細胞の CA125染色は陰性であつた.

一方, 蛍光抗体法による染色態度は, 腺上皮細胞の場合, 酵素抗体法の結果と同様であつたが, 正所および異所内膜間質細胞の細胞質にも弱陽性ながら CA125が染色された (写真 3B).

3. 培養細胞の増殖曲線と CA125産生能 (図1)

初代培養開始後48時間は細胞数の減少を認め,

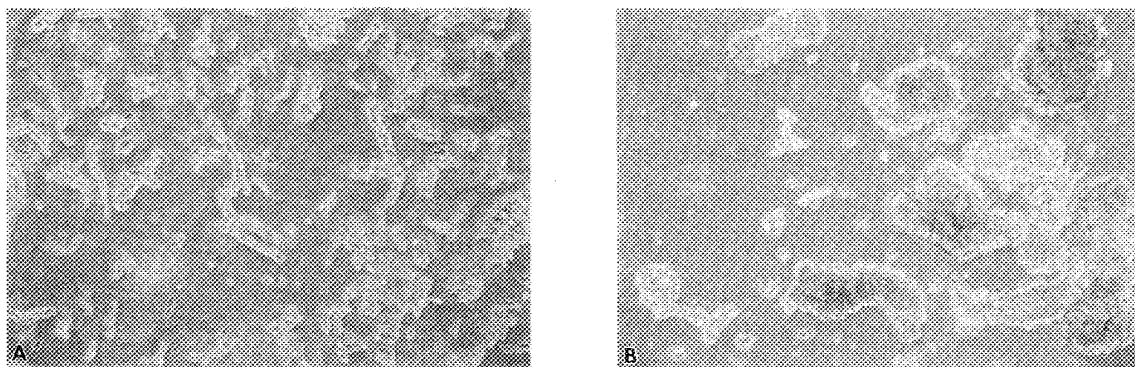


写真1 正所内膜腺上皮細胞の位相差顕微鏡写真。A：増殖期内膜腺上皮細胞（ $\times 100$ ），B：分泌期内膜腺上皮細胞（ $\times 100$ ）。

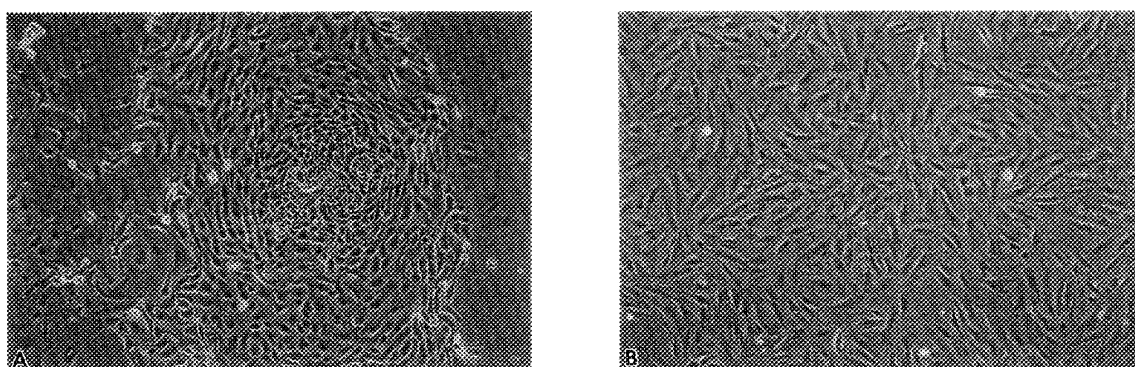


写真2 位相差顕微鏡写真。A：正所内膜腺上皮細胞，培養3日目（ $\times 100$ ），B：正所内膜間質細胞，培養3日目（ $\times 100$ ），異所子宮内膜細胞の形態も正所子宮内膜細胞とほぼ同様である。

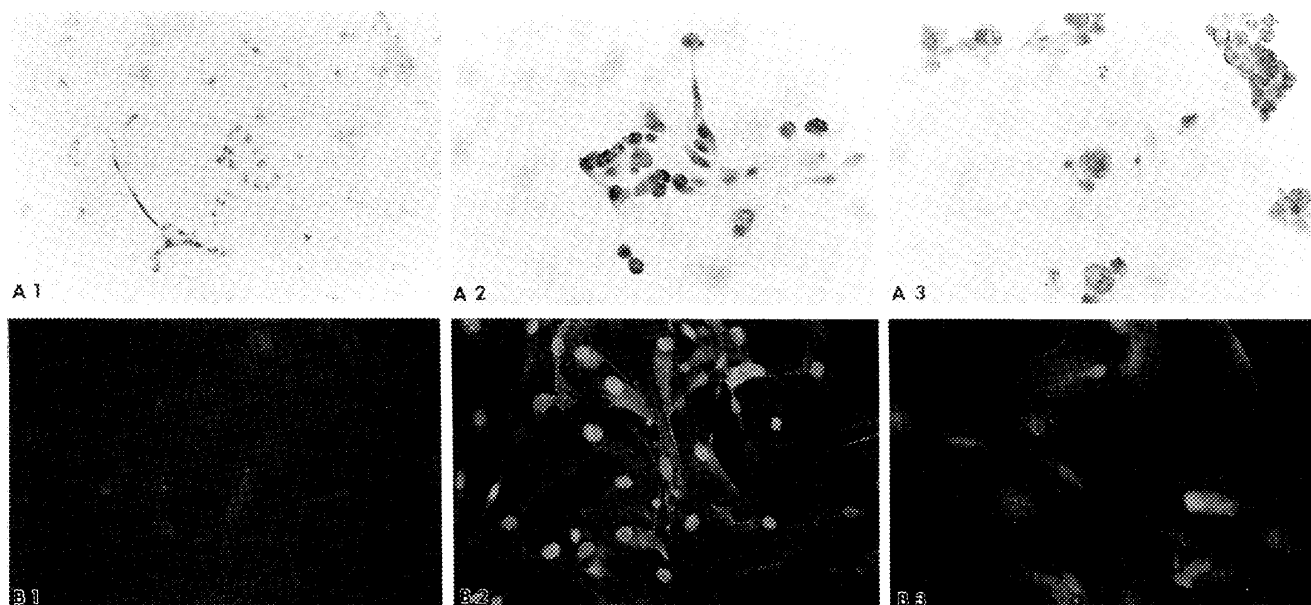


写真3 CA125免疫染色。A：酵素抗体間接法。1. コントロール（ $\times 100$ ），2. 正所内膜腺上皮細胞（ $\times 200$ ），3. 異所内膜腺上皮細胞（ $\times 200$ ），B：蛍光抗体間接法。1. コントロール，2. 正所内膜腺上皮細胞，3. 正所内膜間質細胞（2と3はFITCおよびPI染色による2重染色を示す。核はPIにより染色されている）（いずれも $\times 400$ ）。

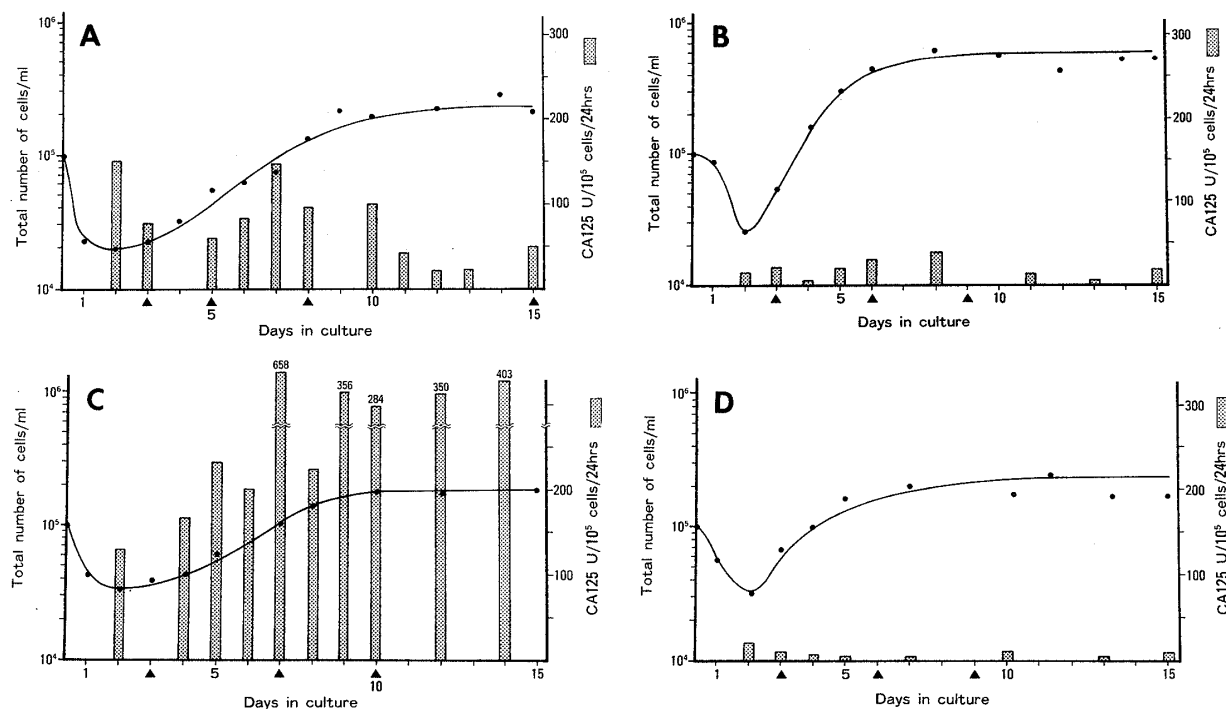


図1 子宮内膜培養細胞のCA125産生能。A：正所内膜腺上皮細胞，B：正所内膜間質細胞，C：異所内膜腺上皮細胞，D：異所内膜間質細胞。▲は培養液交換を示す。

その後対数増殖期に入った。腺上皮細胞は培養開始後10～14日で、間質細胞は約7日で定常期に入り、それ以後は細胞数の増加は観察されなかつた(図1)。正所内膜腺上皮細胞の倍加時間は44時間、正所内膜間質細胞は17時間であつた。また、異所内膜腺上皮細胞の倍加時間は54時間であり、異所内膜間質細胞は36時間であつた。

正所内膜腺上皮細胞の培養液中CA125濃度は培養2日目と細胞の対数増殖期(5～7日目)に高値を示し、定常期にはむしろCA125産生が低下した(図1A)。これに対し、異所内膜腺上皮細胞のCA125産生能は細胞の増殖期のみならず、定常期にも非常に亢進していた(図1C)。一方、間質細胞の培養液中CA125濃度は、正所、異所を問わずきわめて低かつた(図1B, D)。

4. FCMによる細胞周期とCA125産生能(表1)

正所内膜腺上皮細胞のPI染色によるDNAヒストグラムの結果、定常期細胞と考えられる培養12日目のphase fractionを算出すると、 $G_0/G_1=94.3\%$ 、 $S=3.5\%$ 、 $G_2/M=2.1\%$ であつた。細胞

増殖が確認された3日目のphase fractionは、 $G_0/G_1=77.6\%$ 、 $S=12.1\%$ 、 $G_2/M=10.3\%$ と G_0/G_1 期細胞の減少、S期、 G_2/M 期細胞の増加が確認され、この時期と5～7日目の対数増殖期にCA125陽性細胞の割合が上昇していた(表1A)。正所内膜間質細胞では培養期間を通じてほぼ一定した少量のCA125産生しか確認されなかつた(表1B)。異所内膜腺上皮細胞のCA125陽性率は正所内膜腺上皮細胞とほぼ同じ割合であるが、5～7日目の対数増殖期には90%以上と正所内膜腺上皮細胞に比べてやや高率であつた。しかし、正所内膜腺上皮細胞の場合と異なるのは、 G_0/G_1 期細胞がほとんどを占める定常期にも培養液中のCA125濃度が非常に高値[正所の約16倍(培養12日目)]を示し、CA125の産生が亢進している点である(表1C)。

一方、異所内膜間質細胞のCA125産生動態およびCA125陽性率は正所内膜間質細胞とほぼ同様であり、CA125の産生が少量ながら認められた。

CA125陽性細胞の比率が高い培養5日目の正所内膜腺上皮細胞を用いて細胞周期とCA125産生

表1 FCMによる細胞周期とCA125産生能

A 正所内膜腺上皮細胞

培養後日数	G ₀ /G ₁ (%)	S (%)	G ₂ /M (%)	総細胞数	上清中CA125濃度*	CA125陽性細胞(%)
3	77.6	12.1	10.3	2.3×10 ⁴	77.5	84.3
5	72.6	14.5	12.9	4.1×10 ⁴	60.0	91.5
7	82.1	9.6	8.3	9.0×10 ⁴	147.5	82.6
10	89.5	7.1	3.4	1.8×10 ⁵	100.0	67.1
12	94.3	3.5	2.1	2.1×10 ⁵	21.3	69.3
15	94.9	3.1	2.0	2.2×10 ⁵	50.0	64.9

B 正所内膜間質細胞

培養後日数	G ₀ /G ₁ (%)	S (%)	G ₂ /M (%)	総細胞数	上清中CA125濃度*	CA125陽性細胞(%)
3	70.8	16.9	12.3	5.4×10 ⁴	22.5	8.1
5	80.4	11.3	8.3	2.9×10 ⁵	20.0	6.5
8	86.6	5.1	7.8	5.7×10 ⁵	40.0	5.3
11	92.0	3.9	4.1	5.7×10 ⁵	15.0	7.4
13	94.0	3.1	2.9	5.7×10 ⁵	12.5	7.9

C 異所内膜腺上皮細胞

培養後日数	G ₀ /G ₁ (%)	S (%)	G ₂ /M (%)	総細胞数	上清中CA125濃度*	CA125陽性細胞(%)
2	71.4	15.5	13.1	3.4×10 ⁴	130	91.0
5	67.4	17.3	15.3	5.4×10 ⁴	233	97.2
7	76.1	13.6	10.3	1.1×10 ⁵	658	93.6
9	88.6	8.3	3.1	1.7×10 ⁵	356	79.0
12	94.3	3.1	2.6	1.9×10 ⁵	350	72.1
14	93.5	3.6	2.9	1.9×10 ⁵	403	68.9

*U/10⁵ cells/24hrs を示す

能を解析した(図2)。G₀/G₁期細胞にもCA125陽性細胞は存在するが、S期、G₂/M期細胞の方がCA125陽性細胞の比率は高かった。すなわち、G₀期の細胞がcell cycleに介入する時期とS期やG₂/M期細胞の多い時期にCA125の産生が亢進することが証明された。

考 案

1981年にBast et al.⁸⁾により作成されたモノクローナル抗体CA125が認識する抗原であるCA125が、卵巣癌患者のみならず子宮内膜症、とくに子宮腺筋症患者の血中でも高値を示すことが報告されて以来、血中CA125値測定は子宮内膜症患者の診断や治療経過のモニタリングにも臨床応用されている³⁾⁷⁾。子宮内膜症で高CA125血症を呈する理由として、異所子宮内膜細胞におけるCA125産生が亢進していることが推定されてき

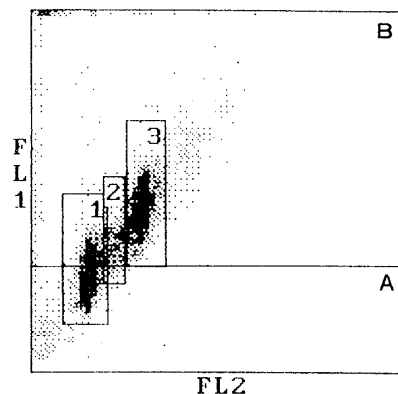


図2 FCMによるCA125とDNAの2重染色。

FL1: FITCによるCA125染色, FL2: PIによるDNA染色, A: CA125陰性領域, B: CA125陽性領域, 1: G₀/G₁期, 2: S期, 3: G₂/M期を示す。

た³⁾⁴⁾。そこで、今回われわれは正所および異所子宮内膜をそれぞれ腺上皮細胞と間質細胞に分離、培養し、CA125産生に関してFCMを用いて検討した。子宮内膜を腺上皮細胞と間質細胞に分けてそれぞれ培養した報告は少ないが、Satyaswaroop et al.¹²⁾の報告では内膜腺上皮細胞を分離培養するために、内膜組織を0.25%Collagenaseで消化し、腺管として培養に供している。この状態で培養すると、細胞数の減少も少なく順調に増殖することをわれわれも確認した。また、石井¹⁾は、培養の基質にCollagen (Cell matrix I-A)を使用すると、子宮内膜細胞の機能を損なわずに培養することが可能であると報告している。

われわれのように各腺上皮細胞を完全にcell suspensionにしてから培養を開始すると、培養開始1~2日目には細胞数の急激な減少が起こり、培養3日目になつてはじめて細胞数の増加が確認できた。子宮内膜細胞を腺上皮細胞成分と間質細胞成分とに分離し、さらにsingle cell suspensionにするために頻回のtrypsin等の酵素処理を行うことによる細胞障害がこうした増殖遅延を招来したものと思われる。

卵巣癌培養株で恒常的にCA125を分泌するものとして、清塚²⁾の樹立したSHIN-3などがある。清塚は、CA125はG₀期細胞がcell cycleに介入する時に産生されると報告している。しかし、今回の良性内膜腺上皮細胞を用いた成績では、細胞の

対数増殖期にも CA125産生の亢進が認められ、とくに、異所内膜腺上皮細胞では定常期に達してからも CA125産生が顕著であり、正所に比べ最高約16倍（培養12日目）の CA125産生能を有していることが確認された。また、FCM による2重染色法の検討では、正所内膜腺上皮細胞における CA125陽性細胞は G₀/G₁期細胞にも存在するが、S期と G₂/M期細胞にも CA125陽性細胞の比率が高いことが判明した。この結果は、清塚の成績とは異なるが、正常細胞と癌細胞という差異もあるため同一には論じられない。

培養開始後の cell cycle の phase fraction について正所と異所内膜腺上皮細胞を比較すると、両者の S期、G₂/M期細胞の比率には大差を認めなかつた。一方、CA125陽性細胞の比率を求めると、定常期には両者とも65~70%であるが、対数増殖期には後者が90%以上とやや高率であつた。しかし、定常期の CA125産生能は後者が前者の最高約16倍と高値を示したので、後者の細胞1個あたりの CA125産生能は明らかに亢進していることが確認された。

一方、正所および異所内膜間質細胞の培養実験では、両者ともわずかながら CA125の産生が認められ、5~8%の間質細胞に CA125陽性細胞が認められた。内膜腺上皮細胞の contamination の可能性を完全には否定できないが、Bischof et al.¹⁰⁾ が培養細胞を用いて間質細胞からの CA125産生を報告していることを考えると、免疫組織化学では染色されにくい程度の CA125が産生されている可能性がある。

以上より、子宮内膜症、とくに子宮腺筋症患者が高 CA125血症を呈する理由として、正所内膜腺上皮細胞に加え異所内膜腺上皮細胞からも CA125が産生され、かつその産生能亢進による相乗効果が示唆された。今後は本培養系を利用して、CA125産生調節機構や子宮内膜症の病理発生を解明したい。

稿を終えるに臨み、御指導、御校閲を賜りました恩師川島吉良教授に心より深謝致しますとともに、直接御指導くださいました浜松医科大学第1病理学教室の諸先生方に深甚の謝意を表します。

文 献

1. 石井 新：コラーゲン・ゲルを使用した、腺上皮細胞と間質細胞の無血清培養による、ヒト子宮内膜 in vitro モデル再構成の試み。日産婦誌, 41: 434, 1989.
2. 清塚康彦：CA125, TPA 産生能を有するヒト卵巢癌培養株の樹立及び腫瘍マーカー産生機序の解析。奈良医誌, 38: 459, 1987.
3. 小林 浩, 金山尚裕, 早田 隆, 川島吉良：子宮内膜症の診断・治療における血清 CA125 値測定の有用性。日産婦誌, 39: 1054, 1987.
4. 小林 浩, 三宅若葉, 山下美和, 金山尚裕, 早田隆, 川島吉良：子宮内膜症における血中 CA125 上昇機序に関する臨床的考察。日産婦誌, 40: 467, 1988.
5. 三宅若葉, 金山尚裕, 小林 浩, 早田 隆, 川島吉良, 内藤恭久, 堀内健太郎：子宮腺筋症腺管上皮における CA125 の染色態度。エンドメトリオーシス研究会会誌, 8: 84, 1987.
6. 野澤志朗, 太田邦彦, 酒依元子：子宮体癌に対するモノクローナル抗体 MSN-1 の FCM による反応性。FCM-Cell Biology, 1: 32, 1989.
7. 高橋健太郎, 渋川敏彦, 吉野和男, 松永 功, 村尾文規, 北尾 学：新しい卵巢癌腫瘍マーカー CA125 の婦人科疾患に関する研究—特に子宮平滑筋腫と子宮腺筋症との鑑別について—。産婦の世界, 37: 69, 1984.
8. Bast, R.C., Feeney, M., Lazarus, H., Nadler, L. M., Colvin, R.B. and Knapp, R.C.: Reactivity of a monoclonal antibody with human ovarian carcinoma. J. Clin. Invest., 68: 1331, 1981.
9. Bast, R.C., Klug, T.L., St. John, E., Jenison, E., Niloff, J.M., Lazarus, H., Berkowitz, R.S., Leavitt, T., Griffiths, C.T., Parker, L., Zurawski, V.R. and Knapp, R.C.: A radioimmunoassay using a monoclonal antibody to monitor the course of epithelial ovarian cancer. N. Engl. J. Med., 309: 883, 1983.
10. Bischof, P., Tseng, L., Brioschi, P.A. and Herrmann, W.L.: Cancer antigen CA125 is produced by human endometrial stromal cells. Human Reproduction, 1: 423, 1986.
11. McLimans, W.F., Davis, E.D., Glover, F.L. and Rake, G.W.: The submerged culture of mammalian cells: The spinner culture. J. Immunol., 79: 428, 1957.
12. Satyaswaroop, P.G., Bressler, R.S., De La Pena, M.M. and Gurrpide, E.: Isolation and culture of human endometrial glands. J. Clin. Endocrinol. Metab., 48: 639, 1979.

(No. 6791 平2・4・9受付)