

恶性肿瘤中人绒毛膜促性腺激素 β 亚单位的研究进展

赵兴会 周晓光 赵霞 朱文秀 韩世愈[△]

(哈尔滨医科大学第四临床医学院妇产科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 人绒毛膜促性腺激素是一种糖蛋白激素。在妊娠期主要由胎盘合体滋养层细胞分泌产生,在非妊娠情况下,机体内含量极微。目前发现几乎所有组织,尤其是肿瘤包括乳腺癌、子宫癌、卵巢癌、膀胱癌等均可产生人绒毛膜促性腺激素 β 亚单位。人绒毛膜促性腺激素对胎盘和生殖细胞起源的滋养细胞肿瘤是一个非常敏感和特殊的肿瘤标志物。很多非滋养细胞肿瘤只产生 β hCG,而这是侵袭性疾病的标志,血清中提高的 β hCG水平是和肿瘤的不良预后相联系的。

关键词 β hCG; 恶性肿瘤

中图分类号: R730.231 R737.3 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2012)24-4773-04

Progress in Study on Expression of β hCG in Malignant Tumors

ZHAO Xing-hui, ZHOU Xiao-guang, ZHAO Xia, ZHU Wen-xiu, HAN Shi-yu[△]

(The Fourth Clinical College of Harbin Medical University, Harbin, 150001, China)

ABSTRACT: Human chorionic gonadotropin (hCG) is a glycoprotein hormone. It is mainly secreted by placental syncytiotrophoblastic cells during pregnancy. In non-pregnancy period, there is few hCG in body. At present β hCG has been found in almost all tissues especially tumor tissues including mammary cancer, cervical carcinoma, ovarian carcinoma, bladder carcinoma etc. Human chorionic gonadotropin is an extremely sensitive and specific marker for trophoblastic tumors of placental and germ cell origin. Many nontrophoblastic tumors only produce hCG β . This is usually a sign of aggressive disease and elevated serum levels of hCG β which is strongly associated with poor prognosis.

Key words: β hCG; Malignant tumor

Chinese Library Classification(CLC): R730.231, R737.3 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2012)24-4773-04

人绒毛膜促性腺激素 β 亚基(β hCG)除了在正常的妊娠滋养层细胞中分泌外,人们很长时间也已经知道大多数非滋养细胞恶性肿瘤在晚期也能够产生高糖化的hCG游离 β 单位。另外,早期的报道显示游离 β 单位是由宫颈癌、乳腺、膀胱、卵巢、大脑、结直肠、子宫、肺部的恶性肿瘤细胞系所产生^[1]。一般认为 β hCG与卵巢恶性肿瘤也有一定的关系。本文就 β hCG在恶性肿瘤中的表达和指导临床诊断、治疗、判断预后等情况做一综述,并对它在恶性肿瘤中的应用前景进行了展望。

1 β hCG分子的结构和生物活性

人绒毛膜促性腺激素是妊娠期间由胎盘滋养层细胞分泌的一种糖蛋白激素,它是糖蛋白激素家族的一员,它是由黄体生成素、卵泡刺激素和促甲状腺激素组成。所有的糖蛋白激素都是由一个 α 亚单位和一个 β 亚单位组成异质二聚体。 α 亚单位对于所有的糖蛋白激素都是共有的,包含92个氨基酸。而 β 亚单位决定糖蛋白激素的生物活性,它是由145个氨基酸组成。 β hCG的分子形式包括规则游离 β 亚单位、缺口游离 β 亚单位、 β 单位羧基末端丢失的hCG、高糖基化游离的 β 亚单位等。规则游离 β 单位与组成规则hCG的 β 亚单位相同,缺口游离 β 亚单位在大部分在 β 47-48位发生断裂。 β 亚单位核心碎

片是由 β 亚单位的两个碎片 β 6-40和 β 55-92通过二硫键紧密联系在一起的。

2 β hCG的功能

对hCG最近几年的研究中已经发现,在妊娠期间hCG已经在胎盘、子宫,也可能在胎儿上显示出了很多功能,但它的主要功能是在妊娠早期维持妊娠激素黄体酮,从而使胚胎发育,一直维持到足月生产,而这一功能是它的受体LH/hCG来调节的。各种其它的组织也表达LH/hCG受体,它存在于子宫的脉管系统上很可能显示hCG在子宫这种组织上显示了一种重要的生理功能。这种受体也表达在除了卵巢外的许多其它组织中,因此hCG很可能有许多未知的功能。而hCG的 β 亚基主要和激素与受体的结合相关,并且 β 亚基能够调控恶性肿瘤的自我生长,与肿瘤的转移特性和分化程度、以及与肿瘤微环境和免疫耐受的形成等都具有密切关系^[2]。

3 β hCG与恶性肿瘤的关系

现在许多报道已经显示游离 β hCG在肿瘤细胞恶性转化方面起着具体的作用,在这些报道和它的研究中显示游离 β hCG有刺激恶性肿瘤细胞生长的作用^[3]。在一些研究恶性肿瘤的血浆样品中发现的游离 β hCG和在尿液样品中发现它的降解产物 β hCG核心碎片和肿瘤的低分化、晚期,或者恶性肿瘤的预后不良有着清晰的联系^[4]。现在就 β hCG与相关的恶性肿瘤的关系做一具体阐述。

作者简介 赵兴会(1980-)男,硕士研究生,研究方向:从事妇科肿瘤学研究。电话:15134562892 E-mail:413817625@qq.com

△通讯作者 韩世愈 E-mail:shiyu382@hotmail.com

(收稿日期:2012-02-05 接受日期:2012-02-29)

3.1 β hCG 和滋养细胞肿瘤的关系

所有滋养细胞肿瘤都能产生 hCG,检测它很大程度上依赖于血清中 hCG 的检测^[5],而更多的恶性形式表达过多的 β hCG,同时检测 hCG 和 β hCG 能够用来区分分子疾病和滋养细胞肿瘤^[6]。但在绝大多数滋养层疾病中发现高浓度的游离 β hCG 且游离 β hCG 与总 hCG 的比值在葡萄胎时最低,绒癌时最高,可能是游离 β hCG 的增多与未成熟的滋养层细胞有关。因此,通过游离的 β hCG 检测也可判断滋养层细胞的分化程度^[7]。虽然单独检验 hCG 对绒毛膜癌治疗的监控是十分有效的,但如果同时检测 β hCG 则能更早的发现它的复发^[6]。美国的 hCG 查询服务也表明:高糖化的 hCG 游离 β 亚单位占总 hCG 的 30% 以上很可能是识别绒毛膜癌和胎盘部位滋养细胞肿瘤的一个绝对的标志物。因此在这个时间,美国的 hCG 查询服务用一种 hCG 游离 β 亚单位来检测显示:14 例需要鉴别的患者不是胎盘部位滋养细胞肿瘤而是绒毛膜癌^[8],这在数月内被病理所证实。

3.2 β hCG 和非滋养细胞肿瘤的关系

在许多非滋养层细胞肿瘤中, hCG 免疫反应性的表达是动态变化的,这种免疫反应性主要是由 β hCG 组成的,显而易见:这些升高的测量值主要是由 β hCG 引起的,但也有一部分病人 hCG 轻微的升高^[9]。对非滋养细胞恶性肿瘤来说游离 β hCG 的是一个好的肿瘤标志物和肿瘤不良预后的标志物^[10]。

3.2.1 生殖细胞肿瘤 20-40% 的精原细胞肿瘤的患者中只有血清 β hCG 提高^[11]。在最近的研究中发现,83% 的精原细胞瘤中有 β hCG 的表达,72% 的非精原细胞瘤中 β hCG 有表达^[12]。检验分析认为 β hCG 和 hCG 都可以用来监测睾丸癌^[11]。但由于 hCG 高参考值的限制,只产生 β hCG 的肿瘤只能应用特殊的 β hCG 检测分析,比通过 hCG 和 β hCG 的联合检测,发现这种肿瘤要早,因此,只监测分析 β hCG 很可能更早的发现它的复发^[12]。

3.2.2 膀胱癌 在非滋养层细胞肿瘤中,膀胱的过渡细胞癌和泌尿系的肿瘤中, hCG 的免疫反应性是研究最广泛的。特殊的检验分析研究显示:血清中 hCG 免疫反应性是由 β hCG 组成的^[13],而 hCG 免疫反应性的表达是和肿瘤的不良愈后相关的^[14]。膀胱癌细胞系也表达 β hCG,但这种表达在恶性和正常的尿路上皮细胞中也可以被检测到^[15]。据报道,在膀胱癌细胞中能够产生游离的 β hCG 而抑制 TGF β 的活性,从而导致膀胱癌细胞的生长和向恶性方面发展^[16]。

3.2.3 肾癌 高灵敏性的检验分析研究已经显示 23% 的病人中血清中 β hCG 水平增高,而这种表达和肿瘤的分期和分级是不相关的^[17]。通过免疫组织化学和 RT-PCR 检测肿瘤组织中 β hCG 的表达,而这种表达和肿瘤的预后也是不相关的^[18]。

3.2.4 前列腺癌 通过 RT-PCR,在正常的和恶性前列腺组织中 β hCG mRNA 的能够被检测到^[19]。

3.2.5 胃肠癌 hCG 的免疫反应性在所有的胃肠道肿瘤中都有表达。通过放射免疫测定发现 hCG 和 β hCG 在血清中总的 hCG 升高值发生率是 21%^[20]。用特殊的检验分析研究显示,这是 β hCG 引起的,而只有个别病例 hCG 有轻微的升高^[21]。这种升高值的频率在胆囊癌中是 60%,胰腺癌中是 46%,胃癌中是 40%^[22],在肝癌中是 20%^[22],结肠直肠癌中是 15%^[23]。在肝细胞

癌中表达是很少的^[24],但是在这种疾病的晚期,血清中水平可能是升高的^[22]。 β hCG 已经被用来联合诊断胃肠道肿瘤,比单独应用 CA19-9 和 CEA 的诊断价值要高^[22]。组织中阳性 β hCG 性表达率在胃癌,胰腺癌,胆管癌是最高的^[25]。然而,在正常组织中也有 β hCG 基因的表达^[26]。

在大部分研究中^[27],但是不是所有的研究中^[28],发现组织中的 β hCG 表达或者血清中的高 β hCG 水平和不良预后有联系。而在组织和血清中的表达,两者之间的关系不大,在一些研究中发现, β hCG 在组织中的表达并不能预测它的预后^[28]。在胃肠道肿瘤血清中 β hCG 的表达,是一个预后因子^[29]。

3.2.6 肺癌 尿液中 β hCG 核心片段水平的升高已经被发现在 49% 的病例中,在血清中的研究显示这来源于 β hCG^[30]。所以,血清中的可能 β hCG 在临床上用来监控肺癌。

3.2.7 乳腺癌 用免疫组织化学的方法已经检测到乳腺癌组织中有 β hCG 蛋白的动态表达^[31]。通过 RT-PCR,在正常和恶性组织中都能检测到 β hCG mRNA 水平的表达,而这两种基因水平的高表达是乳腺癌不良预后的明显标志^[32]。用灵敏和特殊的监测分析方法,在一半的晚期患者中, β hCG 水平都升高^[33]。

3.2.8 妇科肿瘤 β hCG 游离的 β hCG 和尿液的 β 核心片段在检测和管理一些妇科肿瘤上已经被证明是有用的^[34,35]。从手术前的各种妇科肿瘤(如卵巢癌,子宫内膜癌,宫颈癌,外阴癌)患者中抽取 20% 到 75% 的样本,也发现尿液中都有高水平 β hCG 核心片段^[36]。而一些研究显示尿液中 β hCG 核心片段来源于肿瘤中的 β hCG^[37,38]。在外阴癌^[36]和宫颈癌^[39]中,尿液中的 β hCG 核心片段是一个预后不良的因子。尿液中 β hCG 核心片段已经用来和血清中的 CA-125 来联合提高卵巢癌的诊断率^[40]。在一篇关于卵巢癌预后因子的研究中发现,血清中的 β hCG 是一个独立的预后因子^[41]。在应用血清中的 β hCG 为肿瘤标志物来检测 315 例妇科恶性肿瘤的患者中发现,有 37% 患者的血清中检测到有游离的 β hCG,卵巢恶性肿瘤患者血清中的游离的 β hCG 被观测到灵敏度是最高的(灵敏度为 38%),在宫颈和子宫内膜的恶性肿瘤中灵敏度分别为 37% 和 33%^[42]。在恶性肿瘤的患者中检测到的游离的 β hCG 和 β 核心片段和肿瘤的分期和分级相关^[43]。

3.2.9 头和颈癌症 在口腔癌中,64% 的肿瘤通过免疫组织化学的方法能够证实有 β hCG 的免疫反应性,但是,只有 0.5-5% 的细胞是阳性的。着色最强的是分型差的肿瘤^[44]。59 例有头颈部癌症的患者在治疗前,发现 14% 的患者血清中有高水平 β hCG 而且复发率也比表达正常水平 β hCG 的时间要短^[44]。

3.2.10 血液系统肿瘤 在培养的健康淋巴细胞中发现有 β hCG 基因的表达^[45]。所以,在血液的恶性肿瘤中可能发现 β hCG 基因。

4 β hCG 在恶性肿瘤中的应用

游离 β hCG 在非妊娠肿瘤的生物化学上或者作为启动子或者作为恶性肿瘤转化上的一个因素,起着重要作用。的确,这些成果现在正在用来指导用不同的 β hCG 亚单位派生物作为疫苗来治疗非妊娠肿瘤,用 β hCG 亚单位的免疫性来改善肿瘤的预后和生存率^[46,47]。应用游离的 β 亚单位免疫学来提高癌症

的结局和生存率已经被成功的报道^[48,49]。定点游离 β 亚单位疫苗技术的应用显示,由游离 β 亚单位引起的非妊娠期肿瘤的靶向治疗中是一种可行的辅助癌症治疗路线。一种 β hCG亚单位衍生物疫苗在商业上已经应用(Seattle USA)。在美国临床上的实验已经用来检测不同的非妊娠期肿瘤。

综上所述, β hCG的检测在滋养细胞肿瘤的管理上起着重要的作用, β hCG和其它肿瘤标志物在非滋养细胞肿瘤上的表达是很普遍,血清中的 β hCG和尿液中的 β hCG核心片段可能被用来提高一些肿瘤诊断准确性。 β hCG的表达和肿瘤的不良预后相联系,当更多的恶性肿瘤的治疗变得有效时,检测这种表达就可能变得很重要了。大多数恶性肿瘤的预后因子是,肿瘤的分期、分级、和组织标志物,而这只能在手术后才能被决定。在恶性肿瘤治疗前的效用,上 β hCG可能被用来做病人的临床实验分层和病人的确认,而这对恶性肿瘤的病人在临床治疗上都是有用的,此外还可以通过抑制机体抗肿瘤免疫活性而促进肿瘤生长。因而,可以认为 β hCG的检测对恶性肿瘤诊断、监测病情变化、评价药物疗效、随访均是个极为重要的指标,并可为探索肿瘤生物治疗开辟新途径。

参考文献(References)

- [1] Butler SA, Ikram MS, Mathieu S, et al. The increase in bladder carcinoma cell population induced by the free beta subunit of hCG is a result of an anti-apoptosis effect and not cell proliferation [J]. Brit J Cancer, 2000,82:1553-1556
- [2] HayasbJ T, Area G, Hyoclli N, et al. Suppression of spermatogenesis in ipsilateral and contralateral testicular tissues in patients with seminoma by human chorionic gonadotropin beta subunit [J]. Urology, 2001,58(2):251-257
- [3] Li D, Wen X, Ghali L, et al. hCGB expression By cervical squamous carcinoma - in vivo histological association with tumor invasion and apoptosis[J]. Histopathology, 2008, 53:147-155
- [4] Iles RK. Ectopic hCGB expression By epithelial cancer: Malignant Behavior metastasis and inhibition of tumor cell apoptosis [J]. Molec Cellul Endocrinol, 2007, 260:264-270
- [5] Bagshawe KD. Choriocarcinoma. A model for tumour markers [J]. Acta Oncol, 1992,31:99-106
- [6] Vartiainen J, Alfthan H, Lehtovirta P, et al. Identification of choriocarcinoma by the hCG beta-to-hCG proportion in patients with delayed diagnosis caused by contraceptive use [J]. Contraception, 1998,57: 257-260
- [7] Stenman UH, Alfthan H, Hotakainen K. Human chorionic gonadotropin in cancer[J]. Clin Biochem, 2004, 37(7):549-561
- [8] Cole LA, Khanlian SA, Muller CY. Blood Test for Placental Site Trophoblastic Tumor (PSTT) and for Non-Trophoblastic Malignancy for Evaluating Patients with Low Positive hCG Results[J]. J Reprod Med, 2008, 53:457-464
- [9] Alfthan H, Haglund C, Roberts P, et al. Elevation of free β -subunit of human choriongonadotropin and core β fragment of human choriongonadotropin in the serum and urine of patients with malignant pancreatic and biliary disease[J]. Cancer Res, 1992,52:4628-4633
- [10] Iles RK. Ectopic hCG β expression by epithelial cancer: malignant behavior metastasis and inhibition of tumor cell apoptosis [J]. Mol Cell Endocrinol, 2007,260:264-270
- [11] Saller B, Clara R, Spottl G, et al. Testicular cancer secretes intact human choriongonadotropin (hCG) and its free beta subunit: evidence that hCG (+hCG-beta) assays are the most reliable in diagnosis and follow-up[J]. Clin Chem, 1990,36:234-239
- [12] Hoshi S, Suzuki K, Ishidoya S, et al. Significance of simultaneous determination of serum human chorionic gonadotropin (hCG) and hCG-beta in testicular tumor patients[J]. Int J Urol, 2000,7:218-223
- [13] Hotakainen K, Haglund C, Paju A, et al. Chorionic gonadotropin beta-subunit and core fragment in bladder cancer: mRNA and protein expression in urine, serum and tissue[J]. Eur Urol, 2002,41:677-685
- [14] Iles RK, Persad R, Trivedi M, et al. Urinary concentration of human chorionic gonadotropin and its fragments as a prognostic marker in bladder cancer[J]. Br J Urol, 1996,77:61-69
- [15] Iles RK, Chard T. Immunochemical analysis of the human chorionic gonadotropin-like material secreted by 'normal' and neoplastic urothelial cells[J]. J Mol Endocrinol, 1989,2:107-112
- [16] Butler SA, Staite EM, Iles RK. Reduction of Bladder cancer cell growth in response to hCG Beta CTP37 vaccinated mouse serum[J]. Oncol Res, 2003,14:93-100
- [17] Hotakainen K, Ljungberg B, Paju A, et al. The free beta-subunit of human chorionic gonadotropin as a prognostic factor in renal cell carcinoma[J]. Br J Cancer, 2002,86:185-189
- [18] Hotakainen K, Ljungberg B, Haglund C, et al. Expression of the free beta-subunit of human chorionic gonadotropin in renal cell carcinoma: prognostic study on tissue and serum [J]. Int J Cancer, 2003,104: 631-635
- [19] Span PN, Thomas CM, Heuvel JJ, et al. Analysis of expression of chorionic gonadotropin transcripts in prostate cancer by quantitative Taqman and a modified molecular beacon RT-PCR [J]. J Endocrinol, 2002,172:489-495
- [20] Hussa RO. The clinical marker Hcg[M]. New York: Praeger, 1987
- [21] Marcillac I, Troalen F, Bidart JM, et al. Free human chorionic gonadotropin beta subunit in gonadal and nongonadal neoplasms [J]. Cancer Res, 1992,52:3901-3907
- [22] Louhimo J, Finne P, Alfthan H, et al. Combination of hCG β , CA 19-9 and CEA with logistic regression improves accuracy in gastrointestinal malignancies[J]. Anticancer Res, 2002,22:1759-1764
- [23] Lundin M, Nordling S, Lundin J, et al. Tissue expression of human chorionic gonadotropin beta predicts outcome in colorectal cancer: a comparison with serum expression[J]. Int J Cancer, 2001, 95:18-22
- [24] Louhimo J, Nordling S, Alfthan H, et al. Specific staining of hCG β in benign and malignant gastrointestinal tissue with monoclonal antibodies[J]. Histopathology, 2001,38:418-424
- [25] Louhimo J, Nordling S, Alfthan H, et al. Specific staining of human chorionic gonadotropin beta in benign and malignant gastrointestinal tissues with monoclonal antibodies [J]. Histopathology, 2001,38:418-424
- [26] Bellet D, Lazar V, Bieche I, et al. Malignant transformation of non-trophoblastic cells is associated with the expression of chorionic gonadotropin beta genes normally transcribed in trophoblastic cells[J]. Cancer Res, 1997,57:516-523
- [27] Louhimo J, Carpelan-Holmstrom M, Alfthan H, et al. Serum HCG beta, CA 72-4 and CEA are independent prognostic factors in colorec-

- tal cancer[J]. *Int J Cancer*, 2002,101:545-548
- [28] Webb A, Scott-Mackie P, Cunningham D, et al. The prognostic value of CEA, beta HCG, AFP, CA125, CA19-9 and C-erb B-2, beta HCG immunohistochemistry in advanced colorectal cancer [J]. *Ann Oncol*, 1995,6:581-587
- [29] Louhimo J, Kakkola A, Alfthan H, et al. Preoperative hCGbeta and CA 72-4 are prognostic factors in gastric cancer. *Int J Cancer*, 2004 Oct 10;111(6):929-933
- [30] Yoshimura M, Nishimura R, Murotani A, et al. Assessment of urinary beta-core fragment of human chorionic gonadotropin as a new tumor marker of lung cancer[J]. *Cancer*, 1994,73:2745-2752
- [31] Agnantis NJ, Patra F, Khaldi L, Filis S. Immunohistochemical expression of subunit beta HCG in breast cancer [J]. *Eur J Gynaecol Oncol*, 1992,13:461-466
- [32] Span PN, Manders P, Heuvel JJ, et al. Molecular beacon reverse transcription-PCR of human chorionic gonadotropin-beta-3,-5, and-8 mRNAs has prognostic value in breast cancer [J]. *Clin Chem*, 2003,49:1074-1080
- [33] Sjöström J, Alfthan H, Joensuu H, et al. Serum tumour markers CA 15-3, TPA, TPS, hCGbeta and TATI in the monitoring of chemotherapy response in metastatic breast cancer [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2001,61:431-441
- [34] Li D, Wen X, Ghali L, et al. hCGβ expression by cervical squamous carcinoma - in vivo histological association with tumor invasion and apoptosis[J]. *Histopathology*, 2008,53(2):147-155
- [35] Vartiainen J, Lassus H, Lehtovirta P, et al. Combination of serum hCG beta and p53 tissue expression defines distinct subgroups of serous ovarian carcinoma[J]. *Int J Cancer*, 2008,122:2125-2129
- [36] Carter PG, Iles RK, Neven P, et al. The prognostic significance of urinary beta core fragment in premenopausal women with carcinoma of the cervix[J]. *Gynecol Oncol*, 1994,55:271-276
- [37] Nishimura R, Koizumi T, Yokotani T, et al. Molecular heterogeneity of hCGbeta-related glycoproteins and the clinical relevance in trophoblastic and non-trophoblastic tumors [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 1998,60(Suppl.1): S29-32
- [38] Crawford RA, Iles RK, Carter PG, et al. The prognostic significance of beta human chorionic gonadotrophin and its metabolites in women with cervical carcinoma[J]. *J Clin Pathol*, 1998,51:685-688
- [39] Kinugasa M, Nishimura R, Koizumi T, et al. Combination assay of urinary beta-core fragment of human chorionic gonadotropin with serum tumor markers in gynecologic cancers [J]. *Jpn J Cancer Res*, 1995,86:783-789
- [40] Schwartz BF, Auman R, Peretsman SJ, et al. Prognostic value of BHCG and local tumour invasion in stage I seminoma of the testis [J]. *J Surg Oncol*, 1996,61:131-133
- [41] Iles RK. Ectopic hCGβ expression by epithelial cancer: malignant behavior metastasis and inhibition of tumor cell apoptosis [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2007,260:264-270
- [42] Butler SA, Iles RK. Ectopic human chorionic gonadotrophin β secretion by epithelial tumors and human chorionic gonadotrophin β-induced apoptosis in Kaposi's sarcoma is there a connection? [J]. *Clin Cancer Res*, 2003,9:4666-4673
- [43] Ugrinska A, Bombardieri E, Stokkel MP, et al. Circulating tumor markers and nuclear medicine imaging modalities: breast, prostate and ovarian cancer[J]. *Q J Nucl Med*, 2002,46:88-104
- [44] Bhalang K, Kafrawy AH, Miles DA. Immunohistochemical study of the expression of human chorionic gonadotropin-beta in oral squamous cell carcinoma[J]. *Cancer*, 1999,85:757-762
- [45] Hotakainen PK, Serlachius EM, Lintula SI, et al. Expression of luteinising hormone and chorionic gonadotropin beta-subunit messenger-RNA and protein in human peripheral blood leukocytes [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2000,162:79-85
- [46] Delves PJ, Iles RK, Roitt IM, et al. Designing a new generation of anti-hCG vaccines for cancer therapy [J]. *Molec Cellular Endocrinol*, 2007, 260:276-281
- [47] Guan QD, Wang Y, Chu YW, et al. The distinct effects of three tandem repeats of C3d in the immune responses against tumor-associated antigen hCGBeta By DNA immunization [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007, 56:875-884
- [48] Delves PJ, Iles RK, Roitt IM, et al. Designing a new generation of anti-hCG vaccines for cancer therapy [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2007, 260-262:276-281
- [49] Guan QD, Wang Y, Chu YW, et al. The distinct effects of three tandem repeats of C3d in the immune responses against tumor-associated antigen hCG-beta by DNA immunization [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2007,56:875-884