

## β-subunit hCG の Radioimmunoassay による ヒト着床期より分娩後にいたる血中 hCG の動態

Serum Levels of hCG Secretion Throughout Pregnancy Measured  
by β-Subunit hCG Radioimmunoassay

東京歯科大学産婦人科学教室

牧 野 恒 久 Tsunehisa MAKINO 大 野 虎之進 Toranoshin OHNO

慶応義塾大学医学部産科婦人科学教室

推 名 正 樹 Masaki SHIINA 飯 塚 理 八 Rihachi IIZUKA

放射線医学総合研究所

玉 置 文 一 Bun-ichi TAMAOKI

**概要** ヒトの黄体化ホルモン(LH)とは免疫学的交叉性がなく、胎盤の絨毛性性腺刺激ホルモン(hCG)のみに特異性の高いhCGのβ-subunit radioimmunoassayを用い、ヒトの着床期より産褥期までの血中のhCGを分析した。妊娠前、少なくとも4周期以上、27~30日周期を有した正常妊婦112名、健康男子2名をその対象とした。測定方法はNIAMDより提供されたhCGのβ-subunit(CR 115 B)に放射性ヨードを標識し、同じくhCG(CR 115, 1ng=4.9mIU of the 2nd International Standard hCG)を標準とする通常の二重抗体法によつた。

健康男子に0.1mgの合成LH-RFを静注投与すると15~30分後に血中LHは著明な上昇を示したが本法によるhCGはほとんど検出不能であり、このradioimmunoassayがLHに干渉されないことを証明した。着床期のhCGは推定排卵日より起算して20日以後に高値を示す例が多かつた。妊娠6~40週の間では10週前後にきわめて高い値(4,500ng/ml serum)を示し15週以後は次第に減少し500~1,000ng/mlの間を上下し、妊娠末期の34~38週にやや上昇し分娩に至るものが多かつた。産褥期の血中hCGは分娩後急激に消失せず、分娩後120時間を経ても血中に検出することが可能の例もありhCGの半減期の長いことを証明した。LHの干渉をうけないβ-subunit hCGのradioimmunoassayは将来のhuman reproduction, chorionic diseaseの貴重な指標の1つとなるものと思われる。

### 緒 言

ヒトの血中chorionic gonadotropin(hCG)の動態は妊卵の着床—妊娠—分娩という10カ月におよぶ生殖過程を生体の外から窺うきわめて貴重な情報の1つと思われる。しかしながら従来のhCGの測定法はbioassayであれ、immunoassayであれ下垂体前葉より分泌される黄体化ホルモン(LH)の影響を無視出来ず微量のhCGの変動を追求する際に血中のLHの存在がつねに測定者を悩ませる原因の1つとなつていた。Vaitukaitis (1972)

らによつて開発されたhCGのβ-subunitのradioimmunoassayはこの弱点を解決し資料中のhCGのみを測定するものと期待され本邦でもいくつかの速報が少数の妊婦、絨毛性腫瘍患者を対象に報告されてきた。一方、着床期より分娩後の産褥期まで統計的に充分処理し得る多数の対象を一貫して観察した報告は少ない。本研究は妊娠前少なくとも4周期以上、27~30日型の性周期を有した妊婦109例を対象にその血中のhCGの変動をβ-subunitのradioimmunoassayにて測定しその分析

を試みた。

### 研究対象および方法

対象は東京歯科大学市川病院の産婦人科外来を訪れた妊婦の内、前述の如く27～30日型の性周期を妊娠前少なくとも4周期以上有し、血圧・体重増加・尿蛋白などの妊婦の routine tests で正常と思われる者109名、拳児希望で通院中の者3名、著者らの中から男子2名を対象とした。妊婦109名については末梢血液検査時に本人の了解を得てその血液の一部をホルモン測定用に供した。また hCG 測定用の採血は原則として1回であったが一部の妊婦については2回または分娩後に1回採血した。全資料は速やかに遠沈し血清を分離し-20°Cに保存した。

男子2名の被検者には0.1mgの合成LH-RF(Lot No. 100 ITFW,第1製薬)を静注投与し、30分、60分、90分、120分後に採血し、血清中のLH、hCGをradioimmunoassayにて測定した。

hCGの $\beta$ -subunitのradioimmunoassayは米国のNIAMDより提供をうけたhCG(CR 115, 1 ng = 4.9m IU of the 2nd International Standard hCG),  $\beta$ -subunit hCG(CR 115B), anti-hCG- $\beta$ -subunitを用いた通常の2抗体法によつた。 $^{125}\text{I}$ または $^{131}\text{I}$ はクロロミンT法(Greenwood et al, 1963)の一部変法を用いhCG- $\beta$ -subunitに標識し、Sephadex G-50のcolumn(0.9×17.0 cm)にてorganicとinorganic fractionに分けた。実際の測定には0.01M磷酸緩衝液(pH 7.2, 0.1%のゼラチンを含む)を用い全tubesには正常男子血清50～100 $\mu\text{l}$ を加え、4°Cで48～72時間incubationを行なつたあと、過剰の抗家兎 $\gamma$ -グロブリン(P-3, Antibody Inc., Davis, California)を加え遊離の放射性hCGを除いた。標準品としてhCG(CR 115)を用い資料中のhCGの濃度はhCG ng/ml serumとして表わした。

血清のLHはNIAMDより提供うけたHLH(LER-960, 1 mg = 4620IU LH of the 2nd IRP Standard by Bioassay)に上述の方法で $^{125}\text{I}$ または $^{131}\text{I}$ で標識し、LER-907(1 mg = 60IU of the 2nd IRP HMG by Bioassay)を標準品とし、抗HLH(Batch

#1)を20,000～70,000倍に稀釈し使用した。LHの血中濃度はLER-907ng/ml serumとして表わした。

測定結果は平均値±標準誤差として表わし一部はstudent's t testにて有意差を検定した。

### 研究結果

図1に0.1mgの合成LH-RFを静注後の男子血

図1 LH-RF投与後の血中LH, hCG値の推移

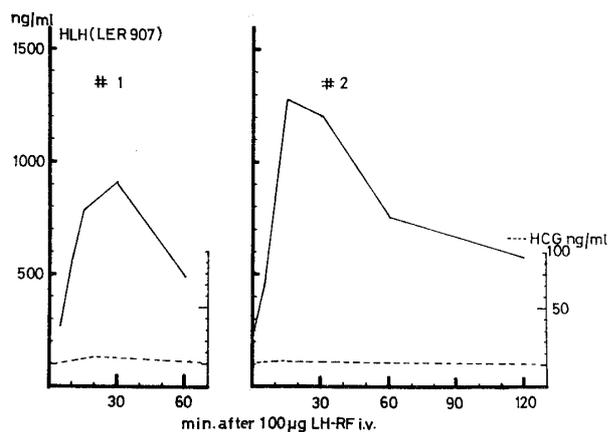
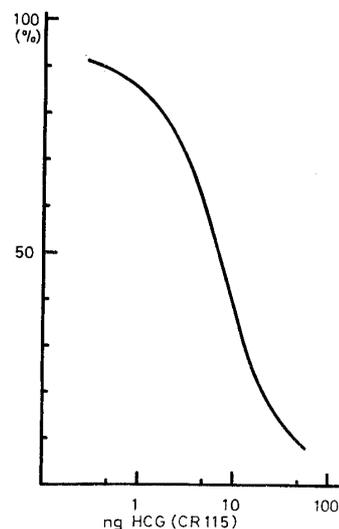
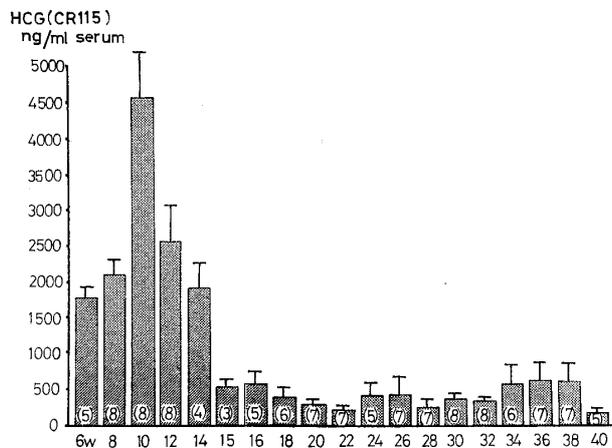


図2  $\beta$ -subunit hCGのradioimmunoassayの標準曲線



清中のLH, hCGの推移を示した。2症例ともにLH-RF投与後血中LHは30分後にpeakに達して以後減少したが、血中のhCGは $\beta$ -subunit hCGのradioimmunoassayでは全く検出不能であった。図2にはhCGの $\beta$ -subunitのradioimmunoassayの標準曲線を示した。この測定系では0.5

図3 正常妊娠6~40週の血中 hCG 値 (mean±S.E.)



~50.0ng の hCG の間で直線的用量曲線が得られた。妊娠6週より40週までの血中 hCG を図3にまとめた。血清中の hCG 値は妊娠6週よりすでにきわめて高値で 1,500~ 2,000ng/ml 前後の値を示し10週前後で 4,550ng/ml と最高値になり、以後妊娠中期にかけて次第に減少し、血清中の平均値では多少の凹凸がみられるが、妊娠後期にやや増加し、分娩直前に再び減少した。妊娠全期を通じての特徴は、妊娠初期とくに14週前後までは血中の hCG 値がきわめて高く、妊娠中期、後期の hCG 値に較べて有意に高値であることである。基礎体温上の推定排卵日を0日とし、以後着床期前後の血中 hCG の上昇は3例の対象者では、約20日以後にその上昇が観察された(図4)。正常分娩後、経目的に血中の hCG 値を観察すると、その濃度は分娩後、次第に減少の傾向にあるが、分娩後3~5日目においても低値ながら過半

図4 着床期における hCG の上昇 (B.B.T. 上の推定排卵日を0日とする)

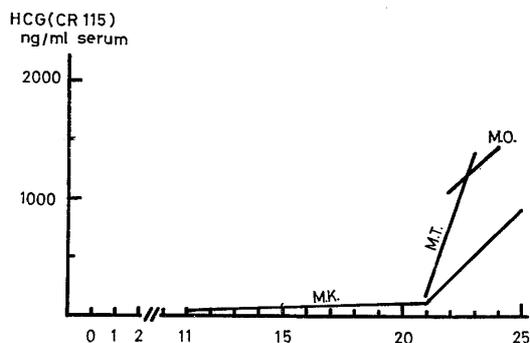
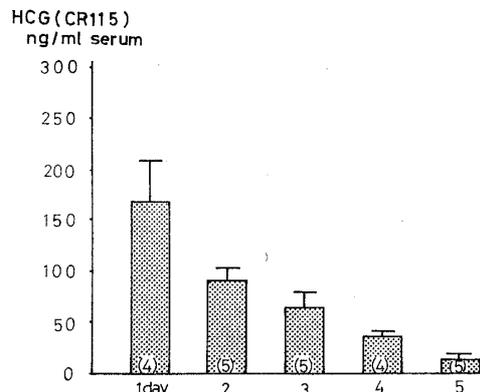


図5 分娩後の血中 hCG 値の減少 (mean±S.E.)



数のもので測定可能な値であった(図5)。

### 考案

Matsuo et al. (1971), Monahan et al. (1971) によつてそれぞれブタ、ウシの視床下部より抽出、構造が決定された、いわゆる LH-releasing factor(LH-RF) は in vivo, in vitro のいずれの場合も下垂体前葉より LH, FSH を有意に放出させることが知られている。本研究でも正常男子の血中 LH 値は 0.1mg の合成 LH-RF を筋注することにより30分後に有意に上昇したが、血中 hCG 値はこの  $\beta$ -subunit の radioimmunoassay によれば同一資料から検出不能であった。このことはこの新しい hCG の radioimmunoassay が同時に存在する血中 LH に全く干渉されないことを裏付けるものと思われる。

妊娠6週より40週にいたる血中 hCG の推移を本研究から分析すると各期にわたつて hCG の絶対値に相当のばらつきが認められるが、最も大きい特色は妊娠10週前後に妊娠全般を通じて血中 hCG 値が最も高い値を示すことで、これは妊娠15週後の血中 hCG 値に較べてきわめて対照的である。本研究では妊娠10週時の平均値は 4,550 ng/ml serum ( $\equiv 22.8$  IU/ml serum) であり、妊娠中期から後期にかけては各週を通じて血中 hCG 値にかなりの凹凸がみられ、妊娠34~38週に再びやや上昇した。これらの結果は Taymor et al. (1966) の bioassay と immunoassay の結果とよく符号していることが判明した。Syncytiotrophoblast から産生、分泌される hCG の真の生物学的作用は衆

知のように生殖生物学上、最も興味のある点であると同時に議論の多いところでもある。1つの *luteotropin* として月経黄体の延長と胎盤の *steroid* 産生・分泌に關与する *physiological role* のほかに、中枢とくに視床下部に作用して下垂体前葉のゴナドトロピンの分泌を抑制する作用や本来異種蛋白の集団である胎児に対して母体が有する抗体産生機構を抑制するために、抗体産生の場合であるリンパ球に作用することも推論されている。妊娠10週前後のきわめて高い hCG 値が上のいずれの作用機序に最も深く關与しているか不明である。

受精卵の着床期の hCG の分泌開始の時期は妊娠の初期を体外から診断する重要な鍵の1つであるが、最後の推定排卵日より起算して10日前後で血中、尿中で検出可能という報告が多い (Wide 1969, 飯塚1971, Kosasa 1973)。本研究における3例の症例ではいずれも着床期の hCG は推定排卵日より起算して20日以後にはじめて急激な上昇を示した。正常性周期の排卵日より逐日的に妊娠初期に至るまで同一の個体の血中のホルモンを測定することは、引き続いて起る受精—着床という現象が必ずしも全症例に期待出来ず、症例数に制限があることは否めない。いずれにしてもこの *radioimmunoassay* による着床期の hCG の血中、尿中よりの検出は今後さらに症例を重ねてその最も早い時期を決定する必要がある。

分娩後の血中 hCG 値も興味ある経過を示した。分娩後、子宮内に胎盤の遺残のないことを確認した症例ではいずれも72時間後までかなり高値の hCG が血中に存在し、以後漸減するが、分娩120時間後でもこの *radioimmunoassay* では検出可能であつた。この事実は下垂体前葉の *gonadotropins* と胎盤中の hCG の血中半減期に大きな差があることを示すもので Rizkallak (1969), 牧野 (1975) らの外因性の hCG 投与後の血中 hCG 値の推移に一致した結果である。

本研究では  $\beta$ -subunit hCG に対する放射性ヨード標識にはクロラミン T (3 mg/ml 0.01M P B S) を60秒間作用させたが足高 (1974) らの報告では約10秒間の作用時間で *peroxidase* により標識されたものと同様の効果が得られるとしており、今後標識蛋白に対するより変性効果の少ない方法が検討されるべきであろう。クロラミン T 法による本法では図2のように 0.5~50.0ng の hCG の用量の間で鋭敏な標準曲線が得られたが、Vaitukaitis らが指摘しているように測定系全体に正常男子血清を加えて血中 *protein* による干渉の影響を除くことが必要であろう。

血中 LH の干渉をうけない hCG の  $\beta$ -subunit の *radioimmunoassay* は近い将来の *human reproduction, cholelionic disease* の重要なアプローチの1つとなり得るものと思われる。

#### 文 献

- 足高善彦, 西村隆一郎, 遠藤善則, 東條伸平 (1974): 日本内分泌学会雑誌, 50, 255.  
 飯塚理八 (1971): 着床の研究, 第23回日本産科婦人科学会総会宿題報告, 東京.  
 牧野恒久, 大野虎之進, 椎名正樹, 飯塚理八 (1975): 産婦人科の世界, in press.  
 Greenwood, F.C., Hunter, W.M. and Glover, T.S. (1963): *Biochem. J.* 89, 114.  
 Kosasa, T., Levesque, L., Goldstein, D.P. and Taymor, M.L. (1973): *J. Clin. Endocrinol Metab.* 36, 622.  
 Matsuo, H., Baba, Y., Nair, R.M.G., Arimura, A. and Schally, A.V. (1971): *Biochem Biophys Res Commun.*, 43, 1334.  
 Monahan, M., Rivier, J., Burgus, R., Amoss, M., Blackwell, R., Vale, W. and Guillemin, R. (1971): *CR Acad Sci Ser D* 273, 508.  
 Taymor, M.L., Goss, D.A. and Tamada, T. (1966): *Fertil. & Steril.*, 17, 613.  
 Vaitukaitis, J.L., Braunstein, G.D. and Ross, G.T. (1972): *Amer. J. Obstet and Gynec.*, 113, 751.  
 Wide, L. (1969): *Lancet*, 2, 863.  
 (No. 2880 昭50・2・3 受付)