

異所性 Alpha Subunit 産生腫瘍で認められた 妊娠反応の解離

国立大阪病院産婦人科

森 本 紀 彦 小 沢 満

神戸大学医学部産科婦人科学教室

西 村 隆一郎 浜 本 保

足 高 善 彦 東 條 伸 平

Discordance of Competitive and Non-competitive Pregnancy Tests for Human Chorionic Gonadotropin, as Related to Alpha Subunit Producing Tumor

Norihiko MORIMOTO and Mitsuru OZAWA

Department of Obstetrics and Gynecology, Osaka National Hospital, Osaka

Ryuichiro NISHIMURA, Tamotsu HAMAMOTO, Yoshihiko ASHITAKA and Shimpei TOJO

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

概要 32歳の経産婦に認められた異所性糖蛋白ホルモン α -subunit 単独産生腫瘍の診断に際して、各種免疫学的妊娠反応による測定値の解離が、そのきつかけとなつた1例を経験した。

妊娠反応は直接凝集反応を用いる非競合反応系では、凝集阻止反応を用いる競合反応系による場合と比較して極端な高値を示した。これらの事実は、患者尿より分離精製された異所性 α -subunit を用いた再現実験でも確認され、一連の測定値の解離は極めて高濃度 (20,000ng/ml) の free alpha subunit と抗 hCG 血清との交叉反応によるものと解釈されたが、特に非競合反応系においては、使用される抗血清の特異性の認識に充分な注意が必要であると考えられた。

Synopsis Ectopic production of isolated alpha subunit of glycoprotein hormone(s) in a 32-year-old woman with metastatic lung tumor was first detected by a discordance in the immunological pregnancy tests for native human chorionic gonadotropin (hCG). Quantitative discrepancy of titrations among different types of pregnancy test kits, that is, competitive (hemagglutination or latex agglutination inhibition) and non-competitive (hemagglutination or latex agglutination) reactions, was also confirmed by the experimental study using highly purified ectopic α -subunit from the patient's urine. Thus, the discrepancy among the two types of assay systems was due by crossreaction of high concentrations (20,000ng/ml) of ectopically secreted α -subunit of glycoprotein hormone(s).

We report herein the atypical behavior of immunological assay systems for native hCG in determining immunoreactive free hCG- α and stress the diagnostic value of the discordance observed in these assay systems.

Key words: Alpha subunit • Glycoprotein hormone • Ectopic production • Pregnancy test

緒 言

異所性ホルモン産生腫瘍は、近年ホルモン測定技術の進歩に伴い大きく注目されるようになった。産生されるホルモンは、活性アミン、活性ペプチド、糖蛋白、ステロイドと多くのものが知ら

れているが¹⁾¹⁰⁾、このような異所性ホルモン産生腫瘍は、これら産生されたホルモンによる特異的な臨床症状や各種の内分泌学的検索の結果発見されることが多い。これら異所性に産生されるホルモンのうち、糖蛋白ホルモンであるゴナドトロピン

の大部分は human chorionic gonadotropin (hCG) であり、その臨床症状としては男性では女性化乳房、性成熟期の女性では無月経であることが最も多い¹⁰⁾。非絨毛性異所性 hCG 産生腫瘍はまた、hCG を構成する 2 つの subunit、すなわち alpha (hCG- α)⁸⁾ と beta (hCG- β)¹²⁾ の両者あるいはそのいずれかの産生を伴うことが報告されているが、このような subunit は生物活性を欠くことから臨床症状にも乏しく、特に native hCG の産生を伴わない subunit 単独産生の場合は診断に困惑することが予想される。今回われわれは各種免疫学的妊娠反応の解離がきっかけとなり、糖蛋白ホルモン α -subunit 単独産生腫瘍の診断が可能であった 1 例を経験したので報告する。

症 例

患者は 32 歳の経産婦で、昭和 51 年 6 月頃より左大腿部内側の鶏卵大腫瘍の存在に気付いていたが、特に自覚症状もないため放置していた。昭和 52 年 6 月第 2 子分娩後腫瘍は増大してきたため、同年 12 月当院整形外科にて腫瘍摘出術を行った。この間胸部レ線所見には異常を認めなかった。術後 Cyclophosphamide (Endoxan) を用いて化学療法を行っていたが、53 年 6 月頃左肺下葉に円形の異常陰影を認め、同年 12 月頃より血痰を訴えるようになった。その後肺の異常陰影は大きさも増大し多発性に認められるようになった。54 年 7 月に至り 3 カ月間持続する無月経を主訴として、当産婦人科を受診、基礎体温も高温相が持続するため妊娠反応を行ったところ反応陽性を認めた。しかしながら子宮腔試験搔爬、子宮鏡検査、超音波断層法により妊娠は否定された。その後妊娠反応を用いた測定で尿中 hCG として 1,000iu/l 前後、hCG-RIA 法による血中レベルは 100iu/l 前後の値を持続した。また CEA, alpha-fetoprotein は正常域値内であった。このため異所性 hCG 産生腫瘍の疑いで、55 年 4 月から Methotrexate, Actinomycin-D を主体とする化学療法を行った。その後の尿中 hCG 値の follow-up に際し、各種の免疫学的妊娠反応における極端な測定結果の解離が観察された。すなわち赤血球またはラテックス凝集反応を用いた非競合反応系では、赤血球またはラテッ

クス凝集阻止反応および二抗体法による RIA を用いた競合反応系による測定値に比較して極端な高値を示した。このため詳細な内分泌学的検索を行つた結果、高濃度 (20,000ng/ml) の α -subunit の単独産生が確認された。患者はその後 Melphalan を主体とした化学療法をうけたが、昭和 56 年 1 月死亡した。大腿部腫瘍の自覚からの全経過は約 4 年半であつた。病理組織学的には、大腿部腫瘍と転移巣と思われる肺病変部は同一であることが確認され、unclassified carcinoma とされた。昭和 55 年 6 月の時点での各種ホルモンの homologous RIA 法による血中測定値は表 1 に示すごとくである。

表 1 Some endocrine studies in the patient

Determination	Result	Normal Range
hCG- α	20,000 ng/ml	<2.5
hCG- β	<5 ng/ml	<5.0
hCG	143 miu/ml	<100
FSH	52 miu/ml	8~43
LH	210 miu/ml	10~182
TSH	2.3 μ u/ml	<8.0
GH	15.5 ng/ml	<5.0
Prolactin	6.1 ng/ml	<30
CEA	<5 ng/ml	<5.0
AFP	<20 ng/ml	<20
ACTH	145 pg/ml	10~100
Calcitonin	130 pg/ml	<300
Calcium	7.6 mg/dl	8.5~10.5
Estrone	174 pg/ml	10~100
Estradiol	22.4 pg/ml	10~150
Estriol	<5 pg/ml	5~40
Progesterone	1.02 ng/ml	0.5~22
Testosterone	0.78 ng/ml	0.15~0.89

剖検所見

両肺野全体に広汎な多発性の転移巣と思われる病変が存在し、剖面は淡黄色弾性軟を呈し中心部では壊死に陥っている部分も認められる。原発巣と思われる大腿部には再発を思わせる所見はなく、リンパ節にも異常を認めない。頭部、縦隔、腹腔内臓器、後腹膜臓器には特記すべき所見は認められない。子宮内膜、両側卵巣は高度に萎縮し、卵巣には原始卵胞、发育卵胞は全く認められず、卵巣実質の大部分は硝子体様の所謂 corpus albi-

表 2

		Dilution											
		× 1	× 2	× 4	× 8	× 16	× 100	× 200	× 500	× 1,000	× 10,000	× 30,000	× 60,000
GVS	(LAR)	±	±	+	+	+	+	+	+	—			
HGV	(HAR)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Pregnate	(LAIR)	+	±	—									
GV	(HAIR)	+	—										
UCG	(HAIR)	+	±	—									

cans で占居されている。

研究方法

患者尿は採取後直ちに -20°C に凍結保存した。尿中 α -subunit の半定量的測定は、通常用いられる免疫学的妊娠反応試薬、すなわち Gonavislide (GVS), Gonavis (GV), HiGonavis (HGV) (持田製薬), UCG-titration set (UCG) (Wampole Laboratories, USA) および Pregnate (Fisher Scientific Co. USA) を用いて行つた。原尿を用いた各試薬の hCG に対する検出感度は、GVS, GV 1,000iu/l, Pregnate 800iu/l, UCG 600iu/l, HGV 5iu/l である。また GVS はラテックス凝集反応 (latex agglutination reaction, LAR), HGV は赤血球凝集反応 (hemagglutination reaction, HAR), GV および UCG は赤血球凝集阻止反応 (hemagglutination inhibition reaction, HAIR), Pregnate はラテックス凝集阻止反応 (latex agglutination inhibition reaction, LAIR) をそれぞれ用いている。

さらに free α -subunit の各種免疫学的妊娠反応におよぼす影響を検討するため、患者尿より分離精製された異所性 α -subunit および正常妊婦尿中 hCG より in vitro で分離した standard hCG- α^2 を用いた再現実験を行つた。患者尿よりの異所性 α -subunit の分離精製は既に報告したごとく⁶⁾, kaolin-aceton 法を用い Sephadex G-100 によるゲルクロマトグラフィにより行つた。妊娠反応試薬として上記の GVS, HGV, GV, UCG および Pregnate を用い, phosphate buffered saline (pH 7.4) により順次 α -subunit の稀釈系列を作成し測定を行つた。結果は陽性反応を示した α -subunit の濃度をもつて表示した。

本研究で用いられた抗 hCG 血清の特異性の検

定は、hCG- α , hCG- β , follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH) を用いた RIA 系における 50% inhibition での交叉率をもつて表現した。

また抗 hCG 血清を用いて検体尿に含まれる免疫活性物質の吸収試験を行い、その検定には HGV を用いた。さらに非特異的反応検索のために家兎ガンマグロブリン感作ヒツジ赤血球を用いた検討を行い、すべての検体尿は Multistix (Ames) による pH, 糖, 蛋白およびウロビリノーゲンのチェックを行つた。また治療中に用いられた同一の薬剤を使用している他の患者尿を用いて、薬物による非特異的反応の有無を HGV で検討した。

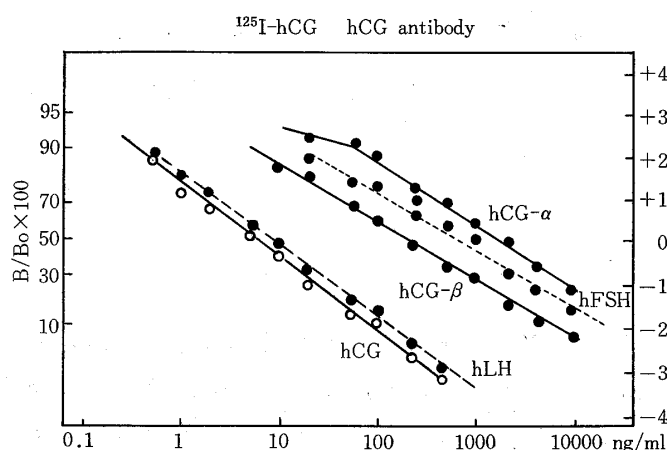
研究成績

表 2 に HAR, LAR, HAIR および LAIR との間にみられた測定結果の解離を示した。反応陽性を示す最大稀釈濃度から計算した値は hCG 換算で、GVS 50×10^4 iu/l, HGV 15×10^4 iu/l, Pregnate 1,600iu/l, GV 1,000iu/l および UCG 1,200iu/l であつた。表 3 に異所性 α -subunit および standard hCG- α を用いた再現実験の結果を示す。陽性反応は GVS 32ng/ml, HGV 4ng/ml, Pregnate 4,096ng/ml, GV, UCG 8,192ng/ml で観察され、両 subunit はほぼ同一の測定値を示した。図 1 に homologous hCG-RIA 系における各種精製糖蛋

表 3

Pregnancy test kit	Alpha subunit (ng/ml)
GVS (LAR)	32
HGV (HAR)	4
Pregnate (LAIR)	4096
GV (HAIR)	8192
UCG (HAIR)	8192

図 1



白ホルモンの交叉反応性を示した。ここで最も問題となる抗hCG血清に対するhCG- α の交叉率は、50% inhibitionで約0.7%であった。

尿中に存在する免疫活性物質の抗血清による吸収試験では、等量の抗血清と反応させた場合は2,000倍稀釈までHGV陽性であるが、9倍量の抗血清と反応させると100倍稀釈でも反応は陰性であった。家兎ガンマグロブリン感作赤血球および薬物による非特異的反応の検索では、凝集反応に対する影響は認められず、一般検尿でpH 6, 蛋白30mg/dl, 糖およびウロビリノーゲンは陰性であった。

考 察

異所性ホルモン産生は、生物活性をもつ種々のホルモンによる臨床症状によつて気付かれることが多い¹⁰⁾。hCGの異所性産生が生殖年齢にある女性に認められる場合、最も多い臨床症状は無月経である。しかしながら生物学的に不活性なホルモンの産生は、臨床症状の欠如とも相まつてその発見が困難な場合が多い。本症例においては異所性 α -subunit産生腫瘍診断の契機を与えたのは無月経と妊娠反応陽性の2つの事実であったが、まずこれらの発現機序について考察を加えてみたい。

hCGを構成する α および β の2つのsubunitは単独ではhCG本来の生物作用を発揮出来ないことは、よく知られた事実である。Rosen et al.⁸⁾は27歳の女性に認められたhCG- α の異所性産生腫瘍に伴う無月経について、大量のhCG- α がゴナドトロピンの卵巢に対する感受性を阻害するの

ではないかと推定している。しかしながらマウス卵巢重量法を用いた再現実験では、これを裏づける結果は得られなかつた。彼等の経験した症例ではその治療中にかなりの量のCyclophosphamideが使用されており、薬物による影響も否定出来ないとしているが、本症例では無月経発来まではCyclophosphamideを主として使用していたこと、その使用量は無月経発来までに1日100mg 3週間、全経過を通じて総量23gを36週にわたつて投与していること、さらにCyclophosphamideには重篤な抗性腺作用があることが報告されていること¹¹⁾、以上の点から本症例で認められた無月経および卵巢の荒廃は、使用されたCyclophosphamideによるものであらうと考えられる。

次に本症例で観察された妊娠反応陽性は、この物質の免疫活性が抗hCG血清で吸収されることから明かなように、尿中にhCG類似の免疫活性をもつ物質が存在することを示している。また既に報告したごとく⁶⁾、患者血清および尿でのゲルクロマトグラフィの結果では、native hCG, hCG- β は検出されなかつたこと、さらにこれらの反応系に影響を与えうと思われるFSH, LH, TSHについてもほぼ正常域内にあることから、妊娠反応陽性は尿中に存在するfree α -subunitによるものであると判断された。これは患者尿より分離精製された異所性 α -subunitおよびstandard hCG- α による再現実験の結果により裏づけることが出来た。

本症例では直接凝集反応を用いた非競合反応系では、RIAを含めた競合反応系によるものと比較して極端な高値を示しているが、このような測定値の解離はなぜおこるのであらうか。非競合反応系（直接凝集反応）では、検体中に存在する物質は抗体で感作された赤血球またはラテックス粒子と直接反応する。これらの感作は通常過剰量の抗体を血球またはラテックス粒子の表面にcoatingすることによつて行われている。したがつて本来交叉反応性が無視可能な程度の免疫活性をもつ物質とも容易に結合し、その結果凝集反応がおこりうると考えられ、この反応現象は極端な抗原過剰の条件下では特に著しい。一方競合反応系（凝集

阻止反応)では,免疫活性物質はあらかじめ反応系に添加された抗体と反応する.その結果その測定系に使用されている抗体との親和性が無視出来る程度のものである場合は,大量に存在しない限り排除され測定結果に影響を与えることは少ないと考えられる.この現象は二抗体法によるRIAでも同様に観察される.すなわち測定すべき物質と抗体との結合が,純化された標識物質との競合のもとに行われる競合反応系では,使用された抗体に対する親和性よりも小さな親和性をもつ物質は大量に存在しない限り排除され,測定結果に影響をおよぼすことは少ない.一方測定物質と抗体との結合が直接行われる非競合反応系では,通常抗体が過剰に存在する状況下で反応が行われるので,親和力の小さな物質も容易に結合する可能性がある.

これらの現象は,基本的には抗hCG血清とfree α -subunitとの交叉反応に基づいておこると考えられる.交叉反応に基づくと考えられるこのような妊娠反応のみかけ上の測定値は,特に競合反応系(HAIR, LAIR)で抗血清と α -subunitとの交叉率0.7%から計算した値とよく一致する.またnative hCGがまったく存在しないにもかかわらず,二抗体法によるhCG-RIA系で比較的低濃度のhCGが測定される現象も,同様に説明可能であると考えられる.一方非競合反応系(HAR, LAR)でみられた著しく高い測定値は交叉率からは解釈出来ないが,これは既に述べたごとく極めて高濃度の α -subunit存在下での直接凝集反応という反応系のもつ特異性によるものと判断される.

さらに免疫学的妊娠反応に影響を与える因子として,ある種の向精神作用をもつ薬物⁷⁾や蛋白尿⁴⁾が偽陽性反応の原因となることが報告されているので,これらの点にも注意が必要である.また診断に困惑する場合には,hCG- β 特異性をもつ妊娠反応⁵⁾を使用してみることも有用であろう.

hCGが妊娠時のみならずさまざまな状況下の生体で分泌されており,とりわけ絨毛性疾患以外の悪性腫瘍でもその産生がかなりの高頻度で観察されることが報告されている³⁾⁹⁾.このようにhCG

分泌動態は臨床上 tumor index として有用であるところから,hCG測定はすでに routine に行うべきものとなりつつあるのが現状である.しかしながら精製 α -subunitを用いた再現実験で示したように,比較的低濃度の α -subunitの存在下でもみかけ上の妊娠反応陽性がおこりうることから,妊娠反応を用いてhCGを測定する場合には感度の点で差異はあるにしても,随伴して出現する可能性のあるhCG以外の免疫活性物質の存在も念頭におかねばならず,とりわけ非競合反応系(直接凝集反応)では,競合反応系(凝集阻止反応)との測定値の解離が観察される場合にはfree subunitによる可能性が強く疑われる.

以上 α -subunitの異所性産生腫瘍発見の端緒となつた妊娠反応の解離について考察を加えた.もとよりこれらsubunitの検出,測定にはsubunit特異性をもつhomologous RIA系によるのが最も正確であることは論をまたないが,本症例でみとめられたような測定値の解離を注意深く観察することにより,極めて稀とされるこれら異所性 α -subunitの産生が臨床的にも診断可能であることを改めて強調したい.

終りに,種々の御教示をいただいた群馬大学内分泌研究所若林克己先生,抗血清の提供をいただいた持田製薬株式会社に深謝するとともに,国立大阪病院臨床検査部船橋修之先生,武市美智子さんの御協力に感謝します.本論文の一部は,第19回日本癌治療学会総会(1981,京都)において発表した.

文 献

1. 井村裕夫:異所性ホルモン産生腫瘍.ホルモン産性腫瘍(石川七郎ら編),17,医学書院,東京,1977.
2. Ashitaka, Y., Nishimura, R., Endoh, Y. and Tojo, S.: Subunits of human chorionic gonadotropin and their radioimmunoassays. *Endocrinol. Japon*, 21: 429, 1974.
3. Guerin, M.D., Stolarczyk, A. and Borkowski, A.: Prospective study of the alpha and beta subunits of human chorionic gonadotropin in the blood of patients with various benign and malignant conditions. *Europ. J. Cancer*, 14: 525: 1978.
4. Hogan, W.J. and Price, J.W.: Proteinuria as a cause of false positive results in pregnancy tests. *Obstet. Gynecol.*, 29: 585, 1967.
5. Isikoff, S.K., Civantos, F. and Deforge, M.J.:

- Evaluation of a new pregnancy test claiming β -subunit specificity. *Am. J. Clin. Pathol.*, 74 : 98, 1980.
6. *Nishimura, R., Hamamoto, T., Morimoto, N., Ozawa, M., Ashitaka, Y. and Tojo, S.* : The characterization of alpha subunit of glycoprotein hormone produced by undifferentiated carcinoma. *Endocrinol. Japon*, 29(1), 1982. in press.
7. *Ravel, R., Riekers, H.G. and Goldstein, B.J.* : Effects of certain psychotropic drugs on immunologic pregnancy tests. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 105 : 1222, 1969.
8. *Rosen, S.W. and Weintraub, B.D.* : Ectopic production of the isolated alpha subunit of glycoprotein hormones. A quantitative marker in certain cases of cancer. *N. Engl. J. Med.*, 290 : 1441, 1974.
9. *Rosen, S.W., Weintraub, B.D., Vaitukaitis, J.L., Sussman, H.H., Hershman, J.M. and Muggia, F.M.* : Placental proteins and their subunits as tumor marker. *Ann. Int. Med.*, 82 : 71, 1975.
10. *Vaitukaitis, J.L.* : Ectopic hormonal syndromes. In *Reproductive Endocrinology*, (ed. SSC Yen, RB Yaffe) 388. WB Saunders, Philadelphia, 1978.
11. *Warne, G.L., Fairley, K.F., Hobbs, J.B. and Martin, F.I.R.* : Cyclophosphamide-induced ovarian failure. *N. Engl. J. Med.*, 289 : 1159, 1973.
12. *Weintraub, B.D. and Rosen, S.W.* : Ectopic production of the isolated beta subunit of human chorionic gonadotropin. *J. Clin. Invest.*, 52 : 3135, 1973.

(No. 5035 昭57・2・4 受付)