

絨毛性疾患患者尿中の immunoreactive-human Chorionic Gonadotropin における thyrotropic activity に関する研究

浜松医科大学産科婦人科学教室 (主任：川島吉良教授)

小 林 浩

Biochemical Study on the Thyrotropic Activity in Urinary Immunoreactive-Human Chorionic Gonadotropin of the Patients with Trophoblastic Disease

Hiroshi KOBAYASHI

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

概要 甲状腺機能亢進症を呈した絨毛性疾患患者尿より IR-hCG を抽出・精製し, in vitro 甲状腺スライス実験を行ない thyrotropic activity を有する画分の生化学的性質につき検討した。

1. 絨毛性疾患患者14症例のうち hyperthyroidism を呈した3症例から thyrotropic activity を有する画分 (GB-D₂-S-fraction ③) を抽出・精製することができた。
2. GB-D₂-S-fraction ③ (hCT) の分子量は35,000で hCG と同様に α と β 画分に分離可能であり, hCT- α は15,000, hCT- β は20,000の分子量を有した。
3. 甲状腺スライス実験の結果, hCT 添加により medium 中 cAMP, 組織中 cAMP および medium 中 T₃, T₄ の増加を認め, thyrotropic activity を確認した。
4. 再構成実験による thyrotropic activity の再現性は, hCT- β subunit と hCG- α subunit を再構成した場合のみ thyrotropic activity を認めた。しかし, hCT- β subunit 単独では活性は認めなかった。
5. hCT および hCG の carboxypeptidase による digestion 実験の結果, hCG に CPB および CPY を反応させると, Ile, Leu, Ser, Glu, Pro, Arg, Lys が優位に分解されるが, hCT に対しては carboxypeptidase が作用しなかった。

以上の結果より, hCT は免疫学的に hCG に非常に近いものであるが, hCT- β subunit のC末端のうち, 少なくとも carboxypeptidase が作用するはずの Ile-Leu-Pro-Glu 残基を含めた一部の component が欠如しているか, 分子の conformational change を起こして, thyrotropic activity を発揮するようになったものと考えられる。

Synopsis We have studied the biochemical properties of urinary immunoreactive-human Chorionic Gonadotropin (IR-hCG) using the human thyroid gland in vitro slice method to investigate the thyrotropic activity in purified IR-hCG of patients with thyroid hyperfunction associated with trophoblastic disease.

1. IR-hCG was extracted using a kaolin-acetone-alcohol concentration and purified by DEAE Cellulose, Sephadex G-100 and DEAE Sephacel column chromatographies according to Nishimura et al. with slight modifications.
2. The substance with thyrotropic activity (hCT) was found in 3 cases of trophoblastic disease with hyperthyroidism among the 14 cases investigated.
3. HCT consists of two dissimilar subunits, namely, hCT α -subunit and hCT β -subunit like hCG, whose molecular weights are estimated at about 15,000 and 20,000 respectively and have carbohydrate moiety bound to concanavalin A.
4. The thyrotropic activity was shown by the recombinant hybrid molecules, hCT β -subunit and hCG α -subunit, whereas no potency was found in hCT β -subunit only.
5. The carboxyterminal residues of hCT (Ile-Leu-Pro-Glu) were not digested by carboxypeptidases Band Y.

These results suggest that hCT is an intrinsic activity of hCG and cross-reacts immunologically, while the amino acid residues of the carboxyterminus of the hCT β -subunit are different from those of the hCG

β -subunit.

Key words: Carboxypeptidase • Gonadotropin • Thyrotropic activity • Trophoblastic disease

緒 言

絨毛性疾患患者には, hyperthyroidism を合併することが多いと報告されている¹⁰⁾が, この thyrotropic activity が hCG の intrinsic activity なのか, あるいは hCG 以外の物質による⁴⁾のかは結論に達していない. そこで, hyperthyroidism を呈した絨毛性疾患患者尿中に存在する immuno-reactive-human Chorionic Gonadotropin (IR-hCG) を抽出・精製し, euthyroidism を呈した患者尿中 IR-hCG とその生化学的性質を比較検討し, 甲状腺スライス実験により, その生物活性としての thyrotropic activity につき検討した.

実験材料および実験方法

1. 実験材料

絨毛性疾患患者の内訳は, 表1の如く合計14症例であり, IR-hCG はいずれも治療前に採取した尿より抽出・精製した. また, 甲状腺機能検査として血清 T_3 , T_4 , free T_4 , TBG, reverse T_3 (rT_3), TSH を同時測定した.

2. 尿中 hCG の抽出および精製

患者尿よりの hCG の抽出は Borth の Kaolin-Acetone 法に Albert の Alcohol 沈殿法を行ない, DEAE Cellulose カラム (step wise 法), Sephadex G-100 カラムは西村らの方法²⁾に従った. DEAE Sephacel カラム (linear gradient 法) は, 各免疫活性の主画分を蒸留水で透析後凍結乾燥し, 30ml の 0.05M Tris-HCl buffer, pH 8.0 で溶解し, DEAE Sephacel カラム (2.2×34cm) に添加し, 塩濃度 0 から 0.3M まで linear gradient をかけて溶出した.

3. 分子量の決定

Sephadex G-100 カラムを使用し, marker protein としてベーリング社の Combithek を用いた.

4. hCG subunit の分離および再構成実験

hCG の subunit への分離・精製および hCG- α subunit, hCG- β subunit の再構成実験は奥村らの方法³⁾に従った.

5. Fraction (Fr.) ③の各 subunit の同定

後述の fraction (fr.) ③の α , β の subunit の抗原の同定は anti hCG- α および anti hCG- β を用いオクタロー法を行なった.

6. 生物活性の検討

1) 幼若ラット卵巢重量法²⁾

hCG の luteotropic activity は幼若ラット卵巢重量法を行ない, 精製 hCG 5 μ g を使用した.

2) 甲状腺スライス実験¹³⁾

甲状腺腫の手術時に採取した健常甲状腺組織を 1.0mm の厚さにスライスし(重量20~50mg), 4.5 ml の RPMI 1640 で 37°C, 60 分間 incubation した. もう一方には 1mU/ml の bTSH を 0.5ml 添加し(最終濃度 0.1mU/ml), 37°C, 20 分間 incubation し比較した. Thyrotropic activity の指標として medium 中および組織中 cyclic AMP の増加量 (Δ cAMP), medium 中 T_3 , T_4 の増加量の積 ($\Delta T_3 \times \Delta T_4$) を測定した. Medium 中 cAMP の測定に際し, 反応終了後に 10^{-2} M の theophylline を添加した. また, 組織中 cAMP 濃度の測定は Onaya et al.¹³⁾の方法に従った.

7. hCG の酵素処理実験

Nisula et al.⁶⁾の方法に準じて IR-hCG の carboxypeptidases (CPB と CPY) による digestion 実験を行なった.

8. アミノ酸分析

基質として native hCG および fraction (fr.) ③画分 125 μ g に対し, CPB および CPY を 50 μ g ずつ加え 37°C, 3 時間反応させ, 1N HCl で停止させた. さらに enzyme inhibitor としての UTI 1,000 単位を添加し, 酵素活性を阻害しておいてから基質を加えて反させた場合と比較した. 測定は日立アミノ酸自動分析装置を使用した.

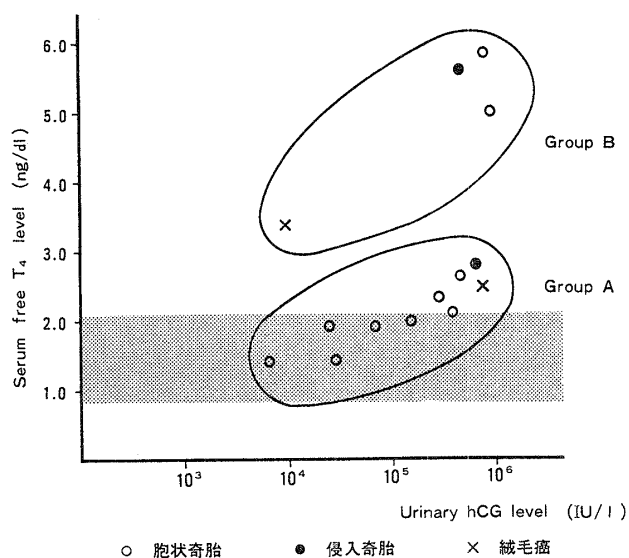
結 果

1. 絨毛性疾患患者尿中 hCG 値と甲状腺機能検査 (表1, 図1)

絨毛性疾患患者14症例の治療前血中 T_3 , T_4 , free T_4 , rT_3 , および TBG はそれぞれ平均が 5.0 ng/ml, 20.0 μ g/dl, 2.9ng/dl, 496pg/ml および 37.9 μ g/ml といずれも高値を示したが, TSH の

表 1 絨毛性疾患患者尿中 hCG 値と甲状腺機能検査

絨毛性疾患	症例	尿中 hCG IU/ml	TSH μ U/ml (2.0~10.0)	T ₃ ng/ml (0.7~2.1)	T ₄ μ g/dl (4.5~12.3)	free T ₄ ng/dl (0.8~2.1)	rT ₃ pg/ml (190~375)	TBG μ g/ml (12~30)
胞状奇胎	1	8.0×10^3	2.0	3.8	14.3	1.4	628	34
	2	2.3×10^4	2.0	4.2	20.1	1.9	456	42
	3	2.6×10^4	2.0	3.4	18.2	1.4	320	38
	4	7.6×10^4	2.0	3.8	13.5	1.9	498	24
	5	1.2×10^5	3.2	2.9	16.3	2.0	480	46
	6	1.8×10^5	2.0	5.1	8.3	2.3	510	48
	7	2.4×10^5	2.4	4.3	9.4	2.1	623	32
	8	3.2×10^5	2.3	4.0	10.3	2.6	668	60
	9	8.9×10^5	2.0	9.2	32.4	5.8	701	36
	10	9.4×10^5	2.0	8.4	24.0	5.0	380	58
侵入奇胎	1	6.7×10^5	2.0	4.3	20.1	2.8	425	24
	2	3.2×10^5	2.0	5.6	40.5	5.6	489	18
絨毛癌	1	8.9×10^5	2.0	3.9	22.1	2.5	362	32
	2	1.0×10^4	2.0	7.3	29.8	3.4	407	39
平均		3.4×10^5	2.1	5.0	20.0	2.9	496	38

図 1 絨毛性疾患患者尿中 hCG 値と血中 free T₄ 値との相関

Group B に属する 4 症例は胞状奇胎の症例 9 と症例 10, 侵入奇胎の症例 2, 絨毛癌の症例 2 である。その他の症例はすべて Group A に属した。は正常域を示す。

み 2.1μ U/ml と正常下限値を示した (表 1)。

尿中 hCG 値と free T₄ 値を比較すると, 図 1 の如く, 胞状奇胎の症例 9 および 10, 侵入奇胎の症例 2, 絨毛癌の症例 2 以外の 10 症例は尿中 hCG 値と free T₄ 値がほぼ相関した (これを Group A とする)。それに対して上記 4 症例は, 尿中 hCG 値

より予想されるよりもはるかに高値の free T₄ 値を示した (これを Group B とする)。

2. hCG の抽出・精製過程における免疫活性と収率

Group A (胞状奇胎の症例 7) の最終標品としての specific activity および recovery は 9,200 IU/mg および 6.9% であり, Group B (胞状奇胎の症例 10) はそれぞれ 6,739 IU/mg および 1.1% であつた。以下にこの 2 症例の精製過程を示す。

Group A よりの hCG の抽出・精製

Kaolin-Acetone-Alcohol 沈澱法に DEAE Cellulose カラムを行ない (図 2), 塩濃度 0.05M 以下の画分 (GA-D₁ と表記する, elution volume は 63 ml から 81 ml までの画分であり, これを $V_e = 63 \sim 81$ と略す), 0.05~0.1M の画分 (GA-D₂: $V_e = 132 \sim 159$), 0.1M 以上で溶出する画分 (GA-D₃: $V_e = 236 \sim 246$ および $V_e = 291 \sim 309$) の 3 画分に分離した。Total activity および specific activity とともに高い GA-D₂ 画分を Sephadex G-100 カラムに添加し, GA-D₂-S 画分 ($V_e = 204 \sim 216$) を得た (図 3)。この画分を DEAE Sephacel カラムに添加し, 0~0.3M の塩濃度で linear gradient をかけると, GA-D₂-S-D 画分 ($V_e = 147 \sim 168$) に高い比活性 (9,200 IU/mg) が

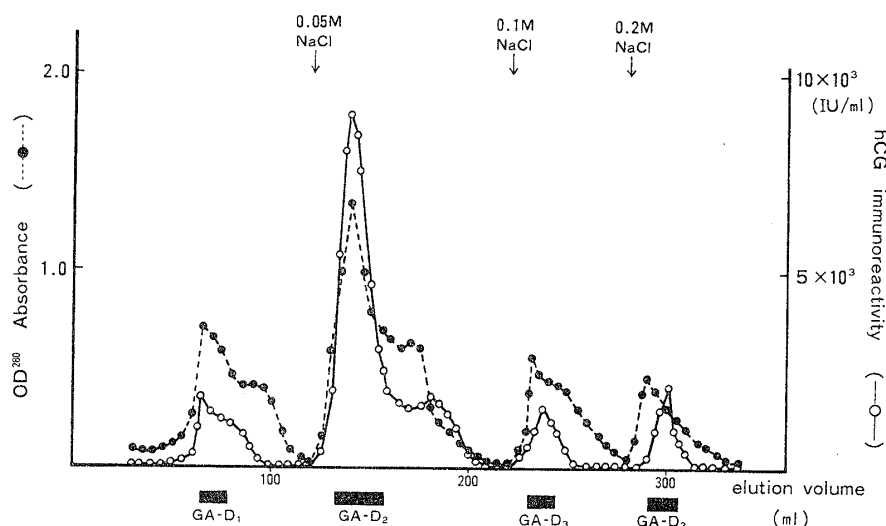


図2 Elution profile of DEAE Cellulose chromatography (step wise)

Group A (GA) の DEAE Cellulose カラムであり, 0.05, 0.1, 0.2M NaCl にて step wise に溶出. 蛋白量は UVICON にて OD²⁸⁰ absorbance (---●---), 免疫活性は (—○—), 各免疫活性の主画分を (■) で表示する.

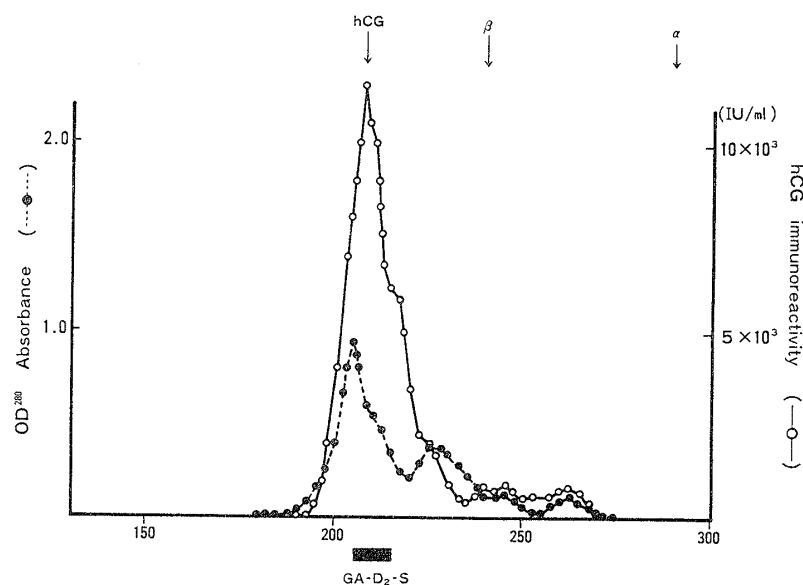


図3 Elution profile of Sephadex G-100 chromatography

GA-D₂画分を Sephadex G-100カラムに添加し GA-D₂-S 画分を得た. 上部の↓は hCG, hCG-β, hCG-α, hCG-α subunit の溶出部位を示した. GA-D₂-S 画分は native hCG に一致した. 蛋白量 (---●---), 免疫活性 (—○—).

得られた. この画分は塩濃度0.06~0.07M で溶出された.

Group B よりの hCG の抽出・精製

4 症例のうち胎状奇胎の症例 9 と 10 および侵入奇胎の症例 2 の 3 症例は Group A とは異なる溶出動態を示した. すなわち, DEAE Cellulose カラムの 0.05~0.1M による抽出画分である GB-D₂画

分 (Ve=63~81) は Group A の GA-D₂画分に一致したが, Sephadex G-100カラムにより得られた GB-D₂-S 画分 (Ve=204~231) は GA-D₂-S 画分にくらべて broad になった (図 4). この GB-D₂-S 画分を以下の三つの fraction (fr.) に分類した. すなわち, fr. ① (Ve=204~216), fr. ② (Ve=216~225), fr. ③ (Ve=225~231) であり, それ

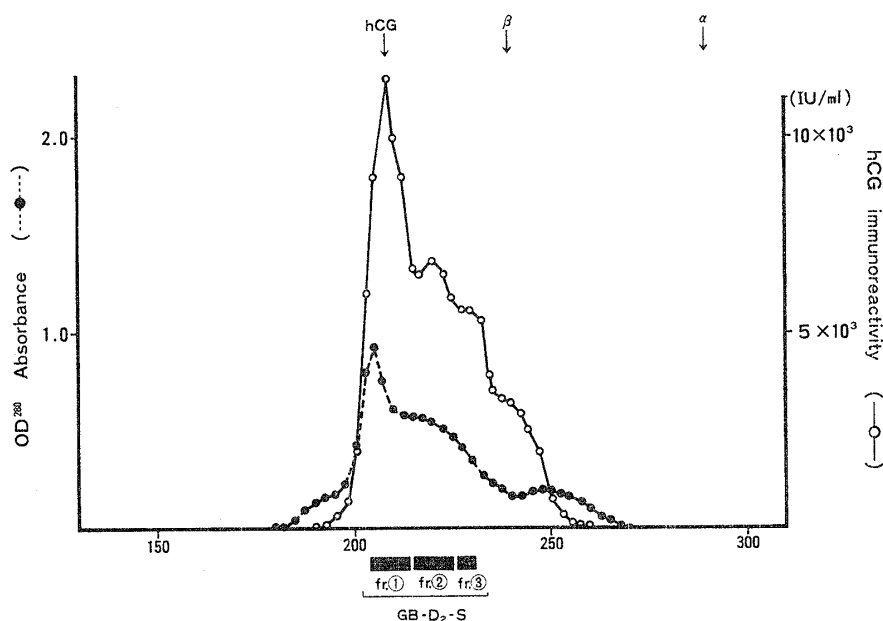


図4 Elution profile of Sephadex G-100 chromatography

Group B の GB-D₂-S 画分を Sephadex G-100 カラムに添加すると GB-D₂-S 画分(■)が得られるが, GA-D₂-S 画分より broad になった. この画分を fr. ①, ②, ③ の三つに分離した. 上部の ↓ は hCG, hCG-β, hCG-α subunit の溶出部位を示す.

表2 生物活性の検討

		GA-D ₂ -S 画分	GB-D ₂ -S 画分			Commertial hCG	bovine TSH
			fr.①	fr.②	fr.③		
幼若ラット卵巣 重量法 (IU/mg)		3,940±185	3,650±200	1,350±80	<500	4,850±380	<500
甲状腺 スライス 実験	medium 中 ΔcAMP (pmole/ml)	<5.0	<5.0	5.2±3.0	8.9±3.0	<5.0	14.3±6.1
	組織中 ΔcAMP (pmole/g)	<100	<100	186±31	314±68	<100	762±130
	ΔT ₃ ×ΔT ₄	<5.0	<5.0	15.6±2.0	25.2±9.0	<5.0	56.4±8.7

GA-D₂-S 画分, GB-D₂-S 画分の fr. ①, ②, ③ および Commercial hCG の最終濃度は 500 IU/ml である.

bTSH は 0.1 μU/ml に調整した. bovine TSH の incubation time は 20 分である.

ぞれ DEAE Sephacel カラムに添加し, 0~0.3M の塩濃度で linear gradient を行なうと, fr. ①と fr. ②は塩濃度 0.06~0.07M で溶出されたのに対して, fr. ③は 0.09~0.1M で溶出された. 胞状奇胎の症例 9 と侵入奇胎の症例 2 も以上と同様の溶出パターンを示した.

Concanavalin A-Sepharose 4B カラムによる糖鎖の検討では, GA-D₂-S 画分, GB-D₂-S 画分の fr. ①, ② および ③ の各画分においていずれも 0.2 M α-D-methyl-glucopyranoside で溶出された.

3. 生物活性の検討 (表 2)

Thyrotropic activity (甲状腺スライス実験)

Commercial hCG, GA-D₂-S 画分および GB-D₂-S 画分の fr. ①には活性は認められなかった. 一方, fr. ②は medium 中 ΔcAMP, 組織中 ΔcAMP および medium 中 ΔT₃×ΔT₄ 値はそれぞれ, 5.2±3.0 pmole/mg, 186±31 pmole/g および 15.6±2.0 であり, fr. ③はそれぞれ, 8.9±3.0 pmole/ml, 314±68 pmole/g および 25.2±9.0 となり, 前 2 者と異なり明らかに thyrotropic activity を認めた.

なお, 対照とした bTSH の活性はそれぞれ,

表3 再構成実験による thyrotropic activity の検討

	$\Delta cAMP$		$\Delta T_3 \times \Delta T_4$
	medium 中 (pmole/ml)	組織中 (pmole/g)	
native hCG- α + fr.③- β	7.1 \pm 1.8	264 \pm 32	23.1 \pm 8.0
fr.③- α + native hCG- β	<5.0	<100	<5.0
native hCG	<5.0	<100	<5.0
fr.③	8.9 \pm 3.0	314 \pm 68	25.2 \pm 9.0
fr.③- α	<5.0	<100	<5.0
fr.③- β	<5.0	<100	<5.0

native hCG- α + fr.③- β とは native hCG- α subunit と fr.③- β subunit との再構成 hCG を意味する。

α -subunit : β -subunit は、重量比で 1 : 2 となるように再構成し、最終濃度は 500 IU/ml に調整した。

fr.③- α は 2mg, fr.③- β は 4mg 使用した。

14.3 \pm 6.1pmole/ml, 762 \pm 130pmole/g および 56.4 \pm 8.7であつた。

4. 再構成実験による thyrotropic activity の検討 (表3)

Thyrotropic activity を有した fr. ③を、奥村らの方法で Urea で処理したところ α と β 画分に分離可能であつたため、fr. ③- α (fr. ③の hCG- α subunit に相当する画分)、fr. ③- β (fr. ③の hCG- β subunit に相当する画分) と native hCG- α , native hCG- β との再構成実験を行なつた。その結果、native hCG および fr. ③- α , fr. ③- β の各 subunit 単独では活性は認められなかつた。Fr. ③- α と native hCG- β の再構成実験でも活性は認められなかつたのに対し、native hCG- α と fr. ③- β では、medium 中 $\Delta cAMP$ は 7.1 \pm 1.8 pmole/ml, 組織中 $\Delta cAMP$ は 264 \pm 32pmole/g および medium 中 $\Delta T_3 \times \Delta T_4$ 値は 23.1 \pm 8.0 とほぼ fr. ③と同等の活性を示した。

5. Sephadex G-100 カラムによる分子量の検討

Native hCG は 38,000, hCG- β subunit は 23,000, hCG- α subunit は 15,000 であり、fr. ③は 35,000, fr. ③- α は 15,000, fr. ③- β は 20,000 の分子量を有した。

6. Native hCG および fr. ③の CPB および CPY による digestion 実験 (アミノ酸分析) (表4)

Native hCG あるいは fr. ③を基質として CPB および CPY を 37°C, 3 時間反応させた。Native

表4 Analysis of degradation products of native hCG or fr.③ by carboxypeptidase

	Amino Acid Residues from native hCG or fr. ③						
	Ile	Leu	Ser	Glu	Pro	Arg	Lys
	(nmoles)						
a	0	0	0	0	0	0	0
b	12.0	13.2	12.0	9.3	8.4	11.6	9.9
c	Tr	Tr	0	0	0	Tr	Tr
a'	0	0	0	0	0	0	0
b'	0	0	0	0	0	Tr	0
c'	0	Tr	3.6	0	0	Tr	0

a : native hCG + inactivated enzymes

b : native hCG + CPB and CPY

c : native hCG + CPB and CPY and UTI (Urinary Trypsin inhibitor)

a' : fr.③ + inactivated enzyme

b' : fr.③ + CPB and CPY

c' : fr.③ + CPB and CPY and UTI (Urinary Trypsin inhibitor)

Tr: Trace

hCG からは、Ile, Leu, Ser, Glu, Pro, Arg, Lys が多く水解されたが、fr. ③からは検出されなかつた。一方、carboxypeptidase inhibitor である UTI 投与群では native hCG からのアミノ酸遊離が抑制された。

考 案

絨毛性疾患患者尿中には正常妊婦尿中には存在しない IR-hCG が存在することはよく知られているが、絨毛癌における asialo hCG など糖鎖の異常による heterogeneity の問題¹⁾、癌に伴う異所性 hCG 産生腫瘍における small molecular size IR-hCG 分泌の問題¹¹⁾、胎盤や絨毛性疾患の組織から抽出・精製した場合の heterogeneity の問題⁹⁾、あるいは、測定する抗体の相違による免疫活性の変化の問題など IR-hCG に関しては非常に複雑な問題が多く残されている。絨毛性疾患患者尿中の IR-hCG の生物活性の一つである thyrotropic activity についても見解の一致をみていないのが現状である。Assay する実験系の違いや、種属の違い⁵⁾、あるいは、crude hCG と pure hCG での生物活性の差⁴⁾などが報告されている。特に絨毛性疾患患者に合併する biochemical hyperthyroidism に関しては、従来より Nisula et al.が報告

しているように, hCG 自体の intrinsic activity であるという考え方⁷⁾と Amir et al.の報告のように, hCG 以外の蛋白質が thyrotropic activity を有しているという考え方⁴⁾がある。

そこで今回我々はヒトの甲状腺組織を使つた in vitro スライス実験を行ない, IR-hCG の components のなかで thyrotropic activity を有する画分を抽出・精製し, その生物活性および生化学的意義を検討した。

表 1 に示す如く, 絨毛性疾患患者は臨床的に hyperthyroidism を呈さなくとも, 尿中 hCG 値が $2 \sim 3 \times 10^5$ IU/ml 以上であれば検査データ上は hyperthyroidism の所見を呈している。Thyrotropic activity の指標として free T_4 値を用いて, 治療前の尿中 hCG 値との相関を求めると, 図 1 の如く両者の間に相関が認められた。しかし, その相関比の異なる 2 群が存在することが明らかとなつた。すなわち, Group A は尿中 hCG 値と free T_4 値が相関して変化する群であり, Group B は尿中 hCG 値から予想されるよりもはるかに高い free T_4 値を示した症例であり, 胞状奇胎の 2 例 (症例 9 と 10), 侵入奇胎 (症例 2), 絨毛癌 (症例 2) 各 1 例の合計 4 例であつた。Group A の thyrotropic activity は hCG 自体と考えても矛盾はないが, Group B は hCG 以外の物質が thyrotropic activity を有していると考えた方が妥当である。そこで両群の IR-hCG の thyrotropic activity の相違を検討した。

西村らの方法による両群の IR-hCG の抽出・精製過程では, DEAE Cellulose カラム (step wise 法) までは両群間に差を認めなかつた。しかし, Sephadex G-100 カラムの結果, GA-D₂-S 画分に対し, GB-D₂-S 画分はその溶出パターンが broad になつた。そこで, GB-D₂-S 画分を fr. ①, ②, ③の 3 画分に分離し DEAE Sephacel カラム (linear gradient 法) での溶出パターンを比較すると, fr. ①と②は塩濃度 0.06~0.07M で溶出されるのに対し, fr. ③は 0.09~0.1M で溶出され, 明らかに分子 charge が異なつた。Fr. ③を 10M Urea で処理⁸⁾したところ, native hCG と同様に α と β 画分に分離された。分子量の検討では fr. ③は native

hCG よりやや分子量が小さく 35,000 と推定されたがこれは fr. ③の β 画分が native hCG- β subunit より分子量が小さいことに由来していると考えられる。

抗原性の検討では fr. ③- α は抗 hCG- α 抗体と, fr. ③- β は抗 hCG- β 抗体とそれぞれ反応した。

生物活性の検討では, fr. ③には明らかに thyrotropic activity が存在したが, hCG 本来の生物活性である luteotropic activity は存在しなかつた。また, fr. ①は native hCG 自体であり, fr. ②は fr. ①と fr. ③の contamination であると考えられる。従つて, fr. ③は Group A には存在しないか, 存在してもごく微量の物質であり, human Chorionic Thyrotropin (hCT) に一致する画分と考えられる。そこで, fr. ③の α および β 画分のいずれに thyrotropic activity が存在するかを検討するため表 3 に示すような組み合わせで再構成実験を行なつた。その結果, native hCG- α subunit と fr. ③- β を再構成した場合にのみ Δ cAMP, $\Delta T_3 \times \Delta T_4$ が増加したので thyrotropic activity は fr. ③- β が関与していることが推定された。しかし, fr. ③- β 単独では thyrotropic activity は示さなかつた。これは hCG- β 単独では luteotropic activity を示さず, native hCG となつてはじめて活性を有するようになることと同様な性質であり興味深い。

ところで, ヒトの甲状腺細胞膜を用いた Nisula et al.⁶⁾の receptor assay では, native hCG を CPB および CPY で処理した CD-hCG は cAMP の増加をもたらすことを報告しているが, T_3 , T_4 の増加に関しては言及していない。また, carbohydrate の除去により甲状腺細胞膜 receptor に対する結合能は増加するが, cAMP 等の増加は認めないとする報告が多い¹²⁾。しかし, 我々の ConA-Sepharose 4B カラムを使用した実験からは GA-D₂-S 画分, fr. ①, ②, ③のいずれも 0.2M α -D-methyl-glucopyranoside で溶出しており, Con A 結合能には大差を認めない。

直接, 胎盤より hCT を抽出・精製した報告としては Hershman et al.の論文⁹⁾があるが, hCT の分子量は bTSH に類似するが, 両者は分子 charge

が異なると言われている。また奇胎組織から抽出した場合には molar thyrotropin の存在が報告され、分子量がより大きく、作用も long acting であり、bTSH とは cross react しない等の差異も報告されている。

hCT として我々が抽出・精製した fr. ③に相当する報告は他に認められない。そこで、IR-hCG としての fr. ③の C 末端のアミノ酸組成が native hCG と同じかどうかを、Nisula et al. の報告⁶⁾した digestion 実験により行なつた。その結果、fr. ③からは Ile, Leu, Pro, Glu 等はほとんど遊出されず、native hCG の C 末端とは異なっていることが判明した。UTI による酵素阻害実験により明らかに carboxypeptidase が作用していることを確認した(表4)。

すなわち、hCT の一つと考えられる fr. ③は、免疫学的には hCG に非常に近いものであるが、C 末端のうち、少なくとも、Ile-Leu-Pro-Glu 残基が欠如しているか、分子の conformational change がおこり、CPB と CPY が作用しにくいのかかもしれない。Native hCG の β subunit の C 末端の変化あるいは修飾が、より一層甲状腺細胞膜 receptor に結合しやすくなり、その結果、cAMP を増加させ thyrotropic activity を発揮するに至つたものと考えられる。しかし、この hCT がそのままの形で絨毛より分泌されるのか、あるいは、hCG として分泌されたものが組織中の carboxypeptidase 等で修飾されて hCT 作用を持つようになつたのかは不明であり、今後は絨毛組織における carboxypeptidase 等の差も検討しなければならない。

文 献

1. 望月真人, 西村隆一郎: hCG と Free α subunit の糖鎖構造の癌性変化. 産婦の世界, 37: 759, 1985.
2. 西村隆一郎, 浜本 保, 田辺恭三, 竹森正幸, 足高善彦, 東條伸平: 胎状奇胎患者尿中 hCG の生物活性・生化学的性格とそのラジオイムノアッセイ. 日内分泌誌, 57: 1632, 1981.
3. 奥村 一, 須藤忠満, 沢井政信, 藤沢宗駿, 早川秀: hCG subunit の分離・精製および生物学的・免疫学的検討. ホと臨, 26: 509, 1978.

4. Amir, S.M., Uchimura, H. and Ingbar, S.H.: Interactions of bovine thyrotropin and preparations of human chorionic gonadotropin with bovine thyroid membranes. J. Clin. Endocrinol. Metab., 45: 280, 1977.
5. Azukizawa, M., Kurtzman, G., Pekary, A.E. and Hershman, J.M.: Comparison of the binding characteristics of bovine thyrotropin and human chorionic gonadotropin to thyroid plasma membranes. Endocrinology, 101: 1880, 1977.
6. Carayon, P., Amr, S., Nisula, B. and Lissitzky, S.: Effect of carboxypeptidase digestion of the human choriogonadotropin molecule on its thyrotropic activity. Endocrinology, 108: 1891, 1981.
7. Davies, T.F., Taliadouros, G.S., Catt, K.J. and Nisula, B.C.: Assessment of urinary thyrotropin-competing activity in choriocarcinoma and thyroid disease: Further evidence for human chorionic gonadotropin interacting at the thyroid membrane. J. Clin. Endocrinol. Metab., 49: 353, 1979.
8. Hershman, J.M. and Starnes, W.R.: Placental content and characterization of human chorionic thyrotropin. J. Clin. Endocrinol., 32: 52, 1971.
9. Imamura, S., Imamichi, S., Tamabe, T. and Ishiguro, M.: Characterization and comparison of two forms of human chorionic gonadotropin from hydatidiform moles with low and high immunoreactivity. Am. J. Obstet. Gynecol., 151: 136, 1985.
10. Kenimer, J.G., Hershman, J.M. and Higgins, H.P.: The thyrotropin in hydatidiform moles is human chorionic thyrotropin. J. Clin. Endocrinol. Metab., 40: 482, 1975.
11. Masure, H.R., Jaffee, W.L., Sickel, M.A., Birken, S., Canfield, R.E. and Vaitukaitis, J.L.: Characterization of a small molecular size urinary immunoreactive human chorionic gonadotropin (hCG)—Like substance produced by normal placenta and by hCG secreting neoplasms. J. Clin. Endocrinol. Metab., 53: 1014, 1981.
12. Moyle, W.R.: Role of the carbohydrate of human chorionic gonadotropin in the mechanism of hormone action. J. Biochem. Chem., 250: 9163, 1975.
13. Onaya, T., Kotani, M., Yamada, T. and Ochi, Y.: New in vitro tests to detect the thyroid stimulator in sera from hyperthyroid patients by measuring colloid droplet formation and cyclic AMP in human thyroid slice. J. Clin. Endocrinol. Metab., 36: 859, 1973.

(No. 6047 昭61・9・9 受付)