大韓病理學會誌 : 第18卷 第2號
K.J.Path., Vol. 18(2):152, 1984

효소면역법을 이용한 Human Chorionic Gonadotropin β—subunit의 임상적 고찰*

전주예수병원 임상병리과

이 춘 회·박 숙 자

전북대학교 의과대학 병리학교실

최 호 열

서 론

Human chorionic gonadotropin(HCG)는 trophoblast에서 분비되는 glycoprotein으로서 α-subunit와 β-subunit로 이루어져 있다. α-subunit는 체내의 다른 glycoprotein과 구조가 비슷한데 비해서 β-subunit는 구조가 다름으로 표적기관의 특이성과 면역학적 특성을 가지고 있다. 이러한 HCG는 임신뿐만 아니라 여러 임상 질환에서 증가되기 때문에 HCG 측정은 임상진단에 널리 이용될 수 있으나 종래의 정량 측정방법은 Latex agglutination inhibition이나 direct latex agglutination법을 제외하고는 bioassay, immunoassay, radioimmunoassay, radioreceptor assay등 많은 시설과 복잡한 수기를 필요로 하였다. 그러나 최근, 효소면역법이 개발됨에 따라 용이하게 혈청 β-HCG의 정량측정이 가능하게 되었으며 따라서 저자들은 어느 병원에서나 특별한 장비없이 간단히 시행할 수 있는 효소면역법을 이용하여 혈청 β-HCG를 측정함으로써 그 임상적 의의를 찾고자 본 연구를 시도하였다.

연구대상 및 방법

연구대상은 수술 및 조직생검에 의해서 생식기 질환의 진단이 확인되고, 혈청 β-HCG값을 측정할 수 있었던 총 59예(포상기태 환자 20예, 융모상피암 4예, 자궁외 임신 8예, 만성 자궁 경관염 14예, 그외 산부인과적 질환 환자 11예, 기타 2예)이었으며 대조군으로는 임신하지 않은 건강한 여성 27명을 대상으로 하였다(Table 1). 포상기태 환자 20명 중에는 포상기태 제거직전부터 혈청 β-HCG를 측정했던 9예와 포상기태제거 1주일이내에 처음으로 혈청 β-HCG를 측정했던 3예, 그리고 포상기태라고 진단받은 후 1개월에서 2년사이에 혈청 β-HCG를 처음으로 측정한 8예가 합되어 있다. 융모상피암 환자에서는 진단 당시 혈청 β-HCG 측정을 시행한 환자가 1예이고 나머지 3예는 진단받은 후 1개월에서 2년사이에 실시한 경우이다.

혈청내 β-HCG의 정량분석을 위해서 ABBOTT-

Table 1. Number of investigated patients according to diagnostic disease and control group

Disease	No. of patients
H-mole	20
Choriocarcinoma	4
Ectopic pregnancy	8
Chronic cervicitis	14
Other gynecologic disease	11
Others(testicular tumor)	2
Control group	27
Total	86

접 수 : 1984년 4월 28일

* 이 논문의 요지는 3月 9日 호남지역 월례집담회에서 (광주 조선의대) 구연으로 발표하였음.

HCG EIA Kit(ABBOTT Lab.)와 Quantum을 이용한 효소면역법을 사용하였으며 그 방법은 다음과 같다.

1) 상지정맥에서 정맥혈 3 ml를 채취하여 15분간 3,000 rpm으로 혈청을 분리한다.

2) 반응 well에 희석용액, 표준용액, 그리고 환자의 혈청을 각각 200 μl씩 넣은 후 희석용액 100 μl를 첨가한다.

3) 여기에 다시 Anti-β-HCG(Goat) coated bead를 각각 1개씩 넣고 실온에서 60분간 180 rpm 회전기위에서 incubate시킨다.

4) Pentawash를 이용하여 생리적 식염수로 3번 씻은 후 Anti-β-HCG coated Peroxidase(Horseradish) conjugate 300 μl를 첨가한 후 실온에서 60분간 180 rpm 회전기 위에서 incubate시킨다.

5) 다시 Pentawash를 이용하여 생리적 식염수로 bead를 씻은 후 반응 시험관에 bead를 옮긴다. 여기에 OPD substrate 용액 300 μl를 첨가한 다음 30분간 incubate시킨다.

6) 모든 시험관에 반응을 중단시키기 위해 1 N sulfuric acid 1.0 ml를 넣고 Quantum을 이용하여 β-HCG의 값을 표준용액과 비교하여 읽는다(mIU/ml).

성 적

1) 포상기태와 융모상피암 환자군

Table 2에서와 같이 포상기태 환자 20명중에서 포상기태를 제거하기 직전에 혈청 β-HCG 값을 측정한 9명에서 평균값은 111.9×10^3mIU/ml로 최저 4.9×10^3 mIU/ml에서 최고 200×10^3mIU/ml이었으며 이중 4.9×10^3mIU/ml를 보인 예를 제외하고 나머지 8예는 10×10^3mIU/ml 이상의 값을 보여주었다. 이중 5예에서는 비교적 수술후의 경과를 잘 관찰할 수 있었으며 경시적으로 β-HCG 측정이 가능하였는데 이를 도시하여 보면 Fig. 1에서와 같다. 즉 3예에서는 8주이내에 5 mIU/ml 이하의 값으로 떨어졌고 나머지 2예도 12주이내에 5 mIU/ml 이하로 되돌아왔다. 과거에 이미 포상기태라고 진단을 받고 제거 1주일이내에 혈청 β-HCG를 측정한 3명에서는 최저 133 mIU/ml에서 최고 2,500 mIU/ml로 평균 963 mIU/ml였다. 반면에 포상기태를 제거한지 1개월에서 2년사이에 처음으로 혈청 β-HCG를 측정했던 8명에서의 평균치는 38 mIU/ml(0~200 mIU/ml)이었다.

융모상피암군(4예)에서 수술전의 혈청 β-HCG는 단지 1예에서만 측정이 가능했는데 이 환자의 값은 200×10^3mIU/ml이었으며, 이 환자는 수술당시 이미 장막까지 전이를 보인 예이었다. 나머지 3예는 수술후 1개월에서 2년사이에 β-HCG를 측정한 예였으며 그 평균치는 45 mIU/ml였고 그 범위는 19~85 mIU/ml이었다.

2) 자궁외 임신 환자군

개복수술로 자궁외 임신이 확진된 8예의 혈청 β-HCG는 최저 184 mIU/ml에서 최고 2,640 mIU/ml로 평균 853 mIU/ml이었다.

Table 2. Serum β-HCG levels in various diseases

Disease		No. of patients	Mean(mIU/ml)	Range(mIU/ml)
H-mole	preevacuated stage	9	111.9×10^3	4.9×10^3~200×10^3
	within 7 days after evacuation	3	963	133~2,500
	from 1 month to 2 yrs after evacuation	8	38	0~200
Choriocarcinoma	preevacuated stage	1	200×10^3	
	from 1 month to 2 yrs after evacuation	3	45	19~85
Ectopic pregnancy		8	853	184~2,460
Chronic cervicitis		14	0.6	0~3
Other gynecologic disease		11	0.5	0~3
Others(testicular tumor)		2	1.0	1.0
Control group		27	0.8	0~4

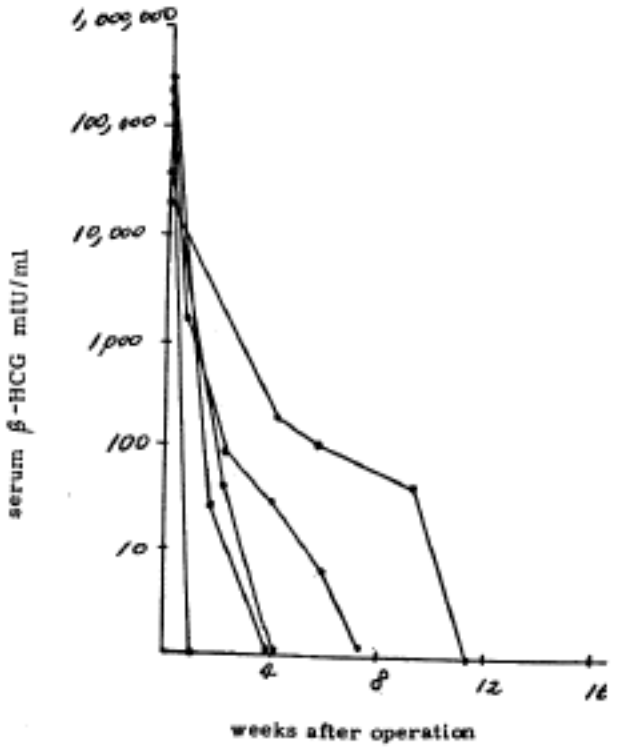

Fig. 1. Serum β-HCG levels following removal of H-mole.

3) 만성 자궁 경관염 환자군

만성 자궁 경관염 환자군의 혈청 β-HCG 값은 0~3 mIU/ml로 평균 0.6 mIU/ml이었다.

4) 그외 산부인과적 질환의 환자군

그외 산부인과적 질환을 갖는 11명의 환자 혈청 β-HCG는 0.5 mIU/ml(0~3 mIU/ml)이었다.

5) 기타

여기에는 견림선암이라고 의심했던 1예와 고환으로부터 전이된 전이성 선암이라고 의심된 환자 1예로서 이들의 혈청 β-HCG는 각각 1.0 mIU/ml이었다.

6) 정상대조군

건강하고 임신하지 않은 여성 27명의 혈청 β-HCG 값은 0.8 mIU/ml로서 그 범위는 그 최저 0 mIU/ml에서 최고 4 mIU/ml이었다.

고 찰

Human chorionic gonadotropin(HCG)는 분자량이 18,000인 α-polypeptide subunit와 분자량이 32,000인 β-polypeptide subunit로 구성되어 있다. α-subunit는 구조가 다른 glycoprotein인 LH, FSH, TSH와 거의 비슷한데 비해서[1] β-subunit는 아미노산의 배열이 다르다. 이러한 HCG는 황체를 유지시키는데 중요한 역할을 하며, 남자태아에서는 Leidig 세포형성과 그 세포에서의 testosterone 생성을 자극시킨다고 한다.

HCG에 의한 임신 진단에 관해서는 일찌기 Aschheim과 Zondek[2]이 쥐에서 bioassay 법에 의한 HCG 측정으로 초기 임신 진단이 가능하다 하였으며 그후 많은 이용을 하게 되었다. 그후 HCG 측정은 정상 임신진단뿐 아니라 자연유산의 예견[3,4]이나 자궁외 임신의 진단[3,5~9], 그리고 다태임신[3]을 진단하는데도 유용하게 사용되어 왔으며, 특히 융모성 질환을 갖는 환자에서 유효한 종양 표식이 되고 있음은 주지의 사실이다[10~13]. 또한 HCG는 간[14], 췌장, 위, 폐, 신장[15]의 종양을 포함한 여러가지 비 내분비 종양에서도 발견되었으며 그외 자궁경부[16], 난소, 유방[17], 고환[18,19], 견림선[20]등의 종양, 그리고 germ 세포기원의 두개강내 종양[21,22]에서도 HCG가 생성됨이 밝혀져 HCG 측정은 다각도로 유용케 되었다. 서론에서와 같이 HCG의 정량 측정방법에는 bioassay, immunoassay, radioimmunoassay 법 등이 있었으나 최근에는 간편하고 특별한 장비가 없어도 쉽게 이용할 수 있는 효소면역법에 의하여 측정이 가능하게 되었다. 본 성적에서 포상기태라고 조직생검으로 진단된 환자에서 포상기태 제거직전의 혈청 β-HCG는 평균값이 111.9×10^3mIU/ml로 이는 이등[10]이 radioimmunoassay를 이용하여 측정한 449.8×10^3mIU/ml보다 낮은 값이지만 대조군의 0.8 mIU/ml에 비하면 저명한 상승치를 보이고 있었다. 일반적으로 포상기태와 융모상피암같은 융모성 종양에서는 높은 혈중 HCG 값을 보이나 5,000 mIU/ml 정도의 낮은 값도[23] 있었으며 본 성적중에도 4.9×10^3mIU/ml의 혈청 β-HCG 값을 보인 예가 있었다. 비교적 경과를 잘 알 수 있었던 포상기태 환자의 수술후 β-HCG 값은 Fig. 1에서와 같이 대부분 8주 이내에 정상대조군과 비슷한 값을 보여주었는데 이는 포상기태 제거후 60일이내에 환자의 75%가 정상으로 된다는 Delfs[24]의 보고나 Morrow[25]등에 의한 포상기태 제거후 정상되행 곡선과도 잘 일치된 결과이다. 또한 포상기태를 제거하고 상당기간이 경과한 후에 계측하였던 β-HCG의 혈청치는 Morrow[25]등에 의한 정상되행 곡선에서도 그 범위가 넓은 것으로 보아 별 의의가 없으리라 사료된다.

융모상피암군에서도 1예에서만 수술직전의 β-HCG 측정이 가능하였으며 그 값은 200×10^3mIU/ml로 저명히 상승되어 있으나 나머지 3예는 진단후 수개월이

경과한 예였을 뿐 아니라 그 조사대상이 너무 적어서 의의를 언급하기 어렵다.

자궁외 임신의 경우에는 혈청 β-HCG 값이 853 mIU/ml 이었는데 장등[5] radioimmunoassay에 의해서 대부분 200 mIU/ml 이상이고 하였고, Milwidsky[26,27]는 그 범위를 150~800 mIU/ml로 보고한 바 있어 대체로 같은 결과라 사료된다. 그러나 어떤 경우의 자궁외 임신은 HCG 값이 10 mIU/ml 이하일 수도 있음이 보고[28]된 바 있다.

만성 자궁 경관염과 그외 산부인과 질환 환자에서는 평균치와 범위가 정상대조군과 비슷하여 HCG의 특이성을 엿볼 수 있었다.

임상적으로 전립선암과 고환의 전이성 선암이 의심된 환자는 조사수가 너무 적어서 해석하기 곤란하였다.

결 론

수술이나 조직생검에 의해서 생식기 질환으로 진단이 확진되고 효소면역법을 이용하여 혈청 β-HCG 값을 측정할 수 있었던 59예와 건강한 정상대조군 27예를 비교 관찰한 결과 다음과 같다.

1) 포상기태 환자중 혈청 β-HCG 값은 포상기태 제거전에 실시했을 경우 111.9×10^3mIU/ml로 정상대조군에 비하여 의의있는 상승치를 보였으며 수술 후 진행결과을 추적할 수 있었던 5예에서 β-HCG 치는 모두 12주 이내에 정상값이하로 회복되었다.

2) 융모상피암 환자에서 수술전 혈청 β-HCG 값은 저명한 상승을 보였다.

3) 자궁외 임신군에서 혈청 β-HCG 값은 853 mIU/ml로 현저한 증가를 보였다.

4) 만성 자궁 경관염과 기타 산부인과 질환 환자의 혈청 β-HCG 값은 정상치를 나타냈다.

이상의 소견으로 보아 간편하고 특수한 설비없이 시행할 수 있는 효소면역법을 이용한 혈청 β-HCG 측정은 융모성 질환과 자궁외 임신의 임상적 진단에 중요한 지침이 될 것으로 사료된다.

REFERENCES

1) Ross GT: *Clinical relevance of research on structure of human chorionic gonadotropin. Am J Obstet Gynecol 129:759, 1977*

2) Aschheim S, Zondek B: *Hypophysenvorderlappenhormon und ovarial-hormon in Harn von Schwangeren. Klin Wochenschr 6:1322, 1927*

3) Saxena B, Landesman R: *Diagnosis and mangement of pregnancy by the radioreceptor assay of human chorionic gonadotropin. Am J Obstet Gynecol 131:97, 1978*

4) Manganiello PD, Nazian SJ, Ellegood JO, McDonough PG, Mahesh, VB: *Serum progesteron, 17 α-hydroxyprogesteron, human chorionic gonadotropin, and prolactin in early pregnancy and a case of spontaneous abortion. Fertil Steril 36:55, 1981*

5) 장호준, 오보훈, 이재현 : 자궁외 임신의 조기진단을 위한 혈청 *β-HCG* 정성분석의 임상적 의의. 대한산부회지 *25:455, 1982*

6) 이규인, 이종용, 이태호 : 자궁외 임신과 *β-HCG* 치. 대한산부회지 *25:885, 1982*

7) 박문일, 문 형, 김두상 : 자궁외 임신 조기 진단에서의 혈청 *β-HCG* 측정. 대한산부회지 *25:975, 1982*

8) Kadar N, DeVore G, Romero R: *Discriminatory HCG zone: its use in the sonographic evalution for ectopic pregnancy. Obstet Gynecol 58:156, 1981*

9) Kakar N, Caldwell BV, Romero R: *A method of screening for ectopic pregnancy and its indications. Obstet Gynecol 58:162, 1981*

10) 이진용, 이홍제 : 포상기태환자의 혈중 *HCG, Estradiol-17β* 및 *Progesteron* 치의 동태에 관한 연구. 대한산부회지 *22:1071, 1979*

11) 조진호, 박찬규, 이위현, 박금자, 노성일 : 임신성 악성융모종양의 예후인자가 치료결과에 미치는 영향. 대한산부회지 *25:741, 1982*

12) 이승훈, 윤순옥, 김은중, 강병철, 남궁성은, 김승조 : 포상기태 환자의 예후평가. 대한산부회지 *26:379, 1983*

13) Dawood MY, Saxena BB: *Human chorionic gonadotropin and its subunit in hydatidiform mole and choriocarcinoma. Obstet Gynecol 50:172, 1977*

14) Braunstein GD, Bridson WE, Glass A, Hull EW, McIntire KR: *In vivo and in vitro production of human chorionic gonadotropin and*

alpha-fetoprotein by a virilizing hepatoblastoma. J Clin Endocrinol Metab 35:857, 1972

15) Braunstein GD, Vaitukaitis JL, Carbonne PP, Ross GT: *Ectopic production of human chorionic gonadotropin by neoplasms. Ann Intern Med 78:39, 1973*

16) Sheth NA, Adil MA, Nadkarni, JJ, Rajpal RM, Sheth AR: *Inappropriate secretion of human placenta lactogen and β-subunit of human chorionic gonadotropin by cancer of the uterine cervix. Gynecol Oncol 11:321, 1981*

17) Donaldson ES, VanNagell JR, Pursell S, Gay EC, Meeker WR, et al: *Multiple biochemical markers in patients with gynecologic malignancies. Cancer 45:948, 1980*

18) Skinner DG, Scardino PT, Daniels JR: *Testicular cancer. Ann Rev Med 32:543, 1981*

19) de Vere White R, Karian S, Hong WK, Olsson CA: *Testis tumor markers; how accurate are they? J Urology 125:661, 1981*

20) Broder LE, Weintraub BD, Rosen SW, Cohen MH, Tejada F: *Placental proteins and their subunits as tumor markers in prostatic carcinoma. Cancer 40:211, 1977*

21) Vaitukaitis JL: *Immunologic and physical characterization of human chorionic gonadotropin(HCG) secreted by tumors. J Clin Endocrinol Metab 37:505, 1973*

22) Sklar CA. Conte FA, Kaplan SL, Grumbach MM: *Human chorionic gonadotropin-secreting pineal tumor. Relation to pathogenesis and sex limitation of sexual precocity. J Clin Endocrinol Metab 53:656, 1981*

23) Todd, Sanford, Davidsohn: *Clinical diagnosis and management by laboratory methods. 16th edition. Philadelphia, WB Saunders, 1979, p686*

24) Delfs F: *Quantitative chorionic gonadotropin determinations in patients with H-mole and chorioepithelioma. Ann NY Acad Sci 80:125, 1959*

25) Morrow CP, Kletzky OA, Disaia PJ, Townsend DE, Mishell DR, Nakamura RM: *Clinlcal and laboratory correlates of molar pregnancy and trophoblastic disease. Am J Obstet Gynecol 128:424, 1977*

26) Milwidsky A, Adoni A, Palti Z, Stark M, Segal S: *The significance of human chorionic gonadotropin in blood serum for the early diagnosis of ectopic pregnancy. Acta Obstet Gynecol Scand 56:19, 1977 a*

27) Milwidsky A, Adoni A, Segal S, Palti Z: *Chorionic gonadotropin and progesteron levels in ectopic pregnancy. Obstet Gynecol 50:145, 1977 b*

28) Kosasa TS, Taymor ML, Godstein DP, Levesque, LA: *Use of a radioimmunoassay specific for human chorionic gonadotropin in the diagnosis of early ectopic pregnancy. Obstet Gynecol 42:858, 1973*

=Abstract=

A Clinical Study of Human Chorionic Gonadotropin Determined by Enzyme Immunoassay

Chun Hee Lee, M.D. and **Sook Ja Park**, M.D.
Department of Clinical Pathology, Jeonju Presbyterian Medical Center

Ho Yeul Choi, M.D.
Department of Pathology, College of Medicine Jeonbug National University

Human chorionic gonadotropin is a glycoprotein secreted by trophoblast It has been determined by several methods, but recently enzyme immunoassay is developed. The authors investigatedser um levels of β-HCG determined by enzyme immunoassay in normal controls and patients with diseases of the reproductive organs.

The results were as follows:

1) In hydatidiform mole, serum β-HCG levels were significantly increased(111.9×10^3 mIU/ml), but the elevated levels were returned to normal in 12 weeks after operation.

2) In choriocarcinoma, serum β-HCG levels were also markedly increased.

3) In ectopic pregnancy, serum β-HCG levels were increased moderately.

4) In chronic cervicitis and other diseases of the reproductive organs, serum β-HCG showed normal levels.

According to the above results, enzyme immunoassay is a simple, rapid, highly specific, and sensitive method for determination of serum β-HCG. Evaluation of serum β-HCG levels is very important in diagnosis of trophoblastic diseases and ectopic pregnancies.