

Title	TSH Bioassayの臨床応用に関する基礎的研究
Author(s)	土岐, 泰久
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	http://hdl.handle.net/11094/28386
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

【24】

氏名・(本籍)	土 岐 泰 久 と き やす ひき
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 293 号
学位授与の日付	昭 和 37 年 3 月 26 日
学位授与の要件	医学研究科 内科系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	TSH Bioassay の臨床応用に関する基礎的研究 (主 査) (副 査)
論文審査委員	教 授 吉 田 常 雄 教 授 吉 井 直 三 郎 教 授 岡 野 錦 弥

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

甲状腺疾患の病態生理解明には敏感にして良好な精度を有し、かつ臨床応用に適する TSH 測定法を確立することが必要である。しかるに、甲状腺刺激ホルモン (TSH) の化学的構造が決定されていない現在、その検定には生物学的方法が用いられており、就中最も鋭敏でかつ主観性の入り難い放射性同位元素を利用する方法に就て種々論議されているがまだ満足な測定法は確定されていない。そこで私は ^{131}I または ^{32}P を利用する in vivo の方法と ^{131}I の代謝を指標とする in vitro の方法とに就てそれぞれに基礎的検討と改良を加え、さらに臨床応用に資せんとした。

〔方法並びに成績〕

1) 初生嚙甲状腺の ^{32}P 攝取能を指標とする Bioassay (in vivo) に関する検討。

孵化後第 3~4 日目の白色レグホン雄雛に ^{32}P 10~25 $\mu\text{c}/0.5\text{ml}$ を腹腔内注射し、標準 TSH としては、プレチロンを腹腔内投与では 1 ml, 心内投与では 0.1 ml を注射し、実験後両側甲状腺を摘出し、Geiger-Müller Counter でその放射能を測定した。かくして TSH 反応性の指標の選び方、TSH と ^{32}P の投与時期等に就て検討した結果、TSH と ^{32}P の腹腔内同時投与 6 時間後甲状腺の全放射能を測定するのが最良であることを明らかにし得た。本改良法での精度指数 λ は 0.44, 感度は 25 mJSu. であった。

2) マウスの血中 ^{131}I 放出を指標とする Biassay (in vivo) に関する検討。

体重 14~16 g の ddO 系雌マウスに前処置として ^{131}I 10 $\mu\text{c}/0.5\text{ml}$ の腹腔内注射と、さらに 4 時間後 L-thyroxine 10 $\mu\text{g}/0.2\text{ml}$ の頸部皮下注射を行った。標準 TSH としてプレチロン 0.5 ml を尾静脈から注入し、採血は眼静脈叢より行い、血液中の放射能を well-type scinillation counter で測定し、次式により TSH 反応性の算出を行った。

$$\frac{\text{TSH 投与後の血液 } 0.1 \text{ ml 中の放射能 (cpm)}}{\text{TSH 投与前の血液 } 0.1 \text{ ml 中の放射能 (cpm)}} \times 100$$

かくして、TSH 作用は投与後 2 時間で最大、TSH の反応性は前処置後の経過日数が短い程大なることを認め、前処置の翌日 TSH 測定を実施することにより検量曲線の精度が改善された ($\lambda = 0.24$)。なお本改良法による測定可能範囲は 1~16 mJSu.であった。

3) 牛甲状腺切片のヨード代謝を指標とする Bioassay (in vitro) に関する検討。

牡牛屠殺後の新鮮な甲状腺より free hand で厚さ約 0.5 mm, 重量 70~80 mg の切片を作製し, medium として carrier iodide 10 μ g/dl, メルカゾール 1mg/dl を含有する pH 7.35~7.40 の Krebs-Ringer phosphate buffer を使用した。まず切片を ¹³¹I 0.2 μ C/ml 含有 medium 3ml 中で 1 時間 incubate し, ¹³¹I を攝取せしめた後 (Uptake phase), TSH 含有 medium (¹³¹I を含有せず) 3 ml 中でさらに 4 時間 incubate して切片の攝取 ¹³¹I を medium 中に放出せしめ (Release phase), この際切片の Uptake phase における ¹³¹I 濃縮能 (U) と Release phase における ¹³¹I 保持能 (U') との間に正の相関の存することを見出し, U'/U を TSH 反応性の新しい指標として採用した所, ¹³¹I 放出率 (R) を指標とするよりも精度の著しい改善を得た。

$$U = \frac{T + M'}{M} \times 100 \quad R = \frac{M'}{T + M'} \times 100$$

$$U' = 100 - R = \frac{T}{T + M'} \times 100 \therefore U'/U = \frac{T \cdot M}{(T + M')^2}$$

但し, T : Release phase 後の甲状腺切片の放射能。

M : Uptake phase 前の medium 3ml 中の放射能。

M' : Release phase 後の medium 3ml 中の放射能。

なお, 本改良法による精度指数 λ は 0.33, 測定可能範囲は 0.1~10 mJSu. であった。

4) 臨床成績

(a) Bioassay の臨床応用に際し, 留意せねばならない点は本法に用いる標準 TSH と人 TSH との反応性の関係並びに同一検体を 2 種以上の方法で測定し比較検討を行なうことである。私は人下垂体より 2% Na Cl 溶液で TSH 抽出を行ない, さらに一部はそれを DEAE-C および CM-C column で分離精製したものに就て, 2), 3) で述べた in vitro の改良法で比較検討した。人 TSH と豚 TSH (プレチロン) との用量反応曲線は略々平行し, また両方法による人下垂体中の TSH 含量測定値も略々等しかった。すなはち, これら両方法とも標準 TSH として豚 TSH 使用が可能で, かつ臨床にも応用し得ることを明らかにし得た。

(b) 人血清中の TSH 活性測定。

1) の方法による測定では感度, 精度が低く, 人血中 TSH 活性測定には不適で, 2) の方法でも感度の点で健常人では測定不能であった。3) の方法による TSH 活性測定の結果は健常人 (6 例) では 1.91 \pm 0.99 mJSu/ml, 機能亢進症 (11 例) では一定の傾向が見られず, 機能低下症 (5 例) では一般に高値を示した。

〔総括〕

以上原理の異なる TSH Bioassay の 3 方法に就き種々検討し, 1) 初生雛の甲状腺 ³²P 攝取能をみる方法は感度の点で臨床応用し難く, マウスの血中 ¹³¹I 放出法および牛甲状腺切片のヨード代謝に基づく方

法では、これに改良を加えることにより測定精度の向上をもたらした。2) 改良法により人 TSH と標準 TSH (豚) 間の反応性に平行関係を確認し、さらに同一検体に就き測定、従来問題の多かった人下垂体および人血中 TSH 測定を可能にした。

論文の審査結果の要旨

甲状腺疾患の病態生理解明に必要な人体液中における TSH 測定法はまだ確立されていない現状である。著者はまず *in vivo* 並びに *in vitro* の Bioassay に改良を加え、さらにその臨床応用に関する基礎的研究を行った。

1) 初生雛甲状腺の ^{32}P 攝取能と指標とする方法 (*in vivo*) では TSH 反応性の指標の採り方、TSH と ^{32}P の投与時期並びにその投与方法に就て検討し改良を加えた。

2) マウスの血中 ^{131}I 放出を指標とする方法 (*in vivo*) ではサイロキシンによる内因性 TSH 分泌の抑制効果と TSH 投与時期との関係に就て検討し改良を加えることにより検量曲線の精度の著明な改善を得た。

3) 牛甲状腺切片のヨード代謝を指標とする方法 (*in vitro*) では切片に ^{131}I を攝取せしめる時期とそれを放出せしめる時期とにおける切片のヨード濃縮能の間に正の相関関係の存することを見出し、この両者の比率を以て TSH 反応性の新しい Parameter とすることにより各切片間の個体差が僅少となり従来の ^{131}I 放出率を指標とした場合に比し検量曲線の著しい改善を得た。

4) 標準 TSH (豚 TSH) との反応性を検し両者の間に略々平行関係の存することを認め、さらに同一検体 (人下垂体抽出液) を *in vivo* 並びに *in vitro* の両改良法で同時測定しこの両測定値も略々平行することを認め、これら改良法の臨床応用可能なことを証明した。次で感度の最も良好な *in vitro* の改良法で人血清の TSH 活性測定を行い、甲状腺機能低下症では健康人に比し一般に高値を示し甲状腺機能亢進症では低値から高値にわたることがわかった。

以上、本研究は *in vivo* 並びに *in vitro* の TSH Bioassay に改良を加えることにより臨床応用可能なことを確認し、従来種々問題の多かった人血中並びに人下垂体中の TSH 測定を可能にしたもので甲状腺疾患の病態生理解明上有意義なものと考えられる。