

|              |   |
|--------------|---|
| Title        | 甲状腺刺戟ホルモン（TSH）の抗原性に関する研究  |
| Author(s)    | 隠岐, 和之  |
| Citation     |   |
| Issue Date   |   |
| Text Version | none  |
| URL          | <a href="http://hdl.handle.net/11094/28411">http://hdl.handle.net/11094/28411</a> |
| DOI          |   |
| rights       |   |
| Note         |   |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

【 15 】

|         |                               |
|---------|-------------------------------|
| 氏名・(本籍) | 隱岐和之                          |
| 学位の種類   | 医学博士                          |
| 学位記番号   | 第 284 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<br>学位規則第 5 条第 1 項該当 |
| 学位論文題目  | 甲状腺刺戟ホルモン (TSH) の抗原性に関する研究    |
|         | (主査) (副査)                     |
| 論文審査委員  | 教授 吉田 常雄 教授 天野 恒久 教授 松倉 豊治    |

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

近年新しい免疫学的手法の導入と蛋白質分離精製法の進歩に刺戟されて成長ホルモンを始め二、三の蛋白質ホルモンの抗原性が明かにせられ、中にはその免疫学的測定が試みられつつあるものもある。甲状腺刺戟ホルモン (TSH) は分子量 25,000~30,000 と称せられる蛋白体で、当然抗原性を有することが予想せられるが、まだ TSH の抗原性を明かにした報告を見ない。本研究により豚並びに人の TSH の抗原性、さらにその兩種 TSH 間の交叉免疫成立の有無を種々の免疫学的並に生物学的方法を用いて系統的に証明しようと試みた。

〔方法並に成績〕

I. Cellulose column による TSH の分離精製

豚並に人の TSH を Carboxymethyl cellulose (CM-C) 並びに Diethylaminoethyl cellulose (DEAE-C) により分離精製し、超遠心法並に灼紙電気泳動法を用い均一性を確認した。

II. 抗 TSH 血清の作成

成熟雌性家兔に抗原 (豚 TSH 2 mg 宛, 人 TSH 1.5 mg 宛) を adjuvant (Ramon) とともに 1 週間々隔で 3 回皮注, さらに 1 週間後 booster として抗原 (1 mg) を生理的食塩水に溶かして静注, その 7~10 日後に採血, その血清の抗体価を赤血球凝集反応を用いて測定した。

III. 豚 TSH の抗原性の検討

- (a) 赤血球凝集反応 (Boyden) : タンニン酸処理の上に豚 TSH を被覆した羊赤血球が豚 TSH 感作家兔血清 (56°C 30分非働化, 次いで羊血球で吸収) により凝集を起した (抗体価は 2,000~20,000)。感作前の血清では凝集を起さなかった。
- (b) 赤血球凝集阻止反応: 豚 TSH は上記赤血球凝集を阻止した。即ち, プレチロン (粗豚 TSH 製剤)

のDEAE-C分画中生物学的 TSH 活性の最も大なる分画 ( $B_1 \sim B_2$ ) が著明な凝集阻止を示した。豚血清 (非働化と吸収を行ったもの) も同様に凝集を阻止した。この阻止反応を用いて抗原の量的関係を検討した結果、抗血清稀釈倍数と抗原量の間指数関数関係を認めた。

- (c) ゲル内沈降反応: Bowen 変法と Ouchterlony 法を併用し、抗豚 TSH 血清と豚 TSH の間に1本の沈降帯の出現を認めた。(抗プレチロン血清とプレチロンの間には1乃至2本の沈降帯が出現した。)
- (d) 中和実験: TSH-bioassay (in vivo の Mckenzie 法 と in vitro の Bakke-小倉変法) を用いて抗豚 TSH 血清が豚 TSH の生物学的活性を抑制するのを認めた。

#### IV. 人 TSH の抗原性の検討

- (a) 赤血球凝集反応: 人 TSH 被覆血球が人 TSH 感作家兎血清により凝集を起した (抗体価は 2,000 前後)。感作前の血清では凝集は起らなかった。
- (b) 赤血球凝集阻止反応: 人 TSH が上記赤血球凝集を阻止した。人血清 (非働化と吸収を行ったもの) も同様に阻止したが、人血清アルブミンは阻止しなかった。

#### V. 人並に豚の TSH 間交叉免疫の検討

- (a) 赤血球凝集反応: 豚 TSH 被覆血球は抗人 TSH 血清により、逆に人 TSH 被覆血球は抗豚 TSH 血清により凝集を起した。非感作家兎血清はいずれの血球をも凝集させなかった。
- (b) 赤血球凝集阻止反応: 人 TSH は抗豚 TSH 血清による豚 TSH 被覆血球の凝集を阻止した。即ち、人下垂体アセトン分画物 (粗人 TSH) の DEAE-C 分画中生物学的活性の最も大きな分画 ( $B_1 \sim B_2$ ) が著明な凝集阻止を示した。人血清 (非働化と吸収) も凝集を阻止したが、人血清アルブミンは阻止しなかった。
- (c) ゲル内沈降反応: 抗豚 TSH 血清と人 TSH の間に1本の沈降帯の出現を観察した。
- (d) 中和実験: Mckenzie 法を用いて抗豚 TSH 血清が人 TSH の生物学的活性を抑制するのを認めた。

#### 〔総括〕

- (1) Column chromatography により分離精製した豚並に人 TSH を用いて家兎を感作し、その血清中に TSH 抗体の産生せられることを、赤血球凝集反応 (Boyden) 並に赤血球凝集阻止反応を用いて示した。
- (2) ゲル内沈降反応を用いて抗豚 TSH 抗体が単一のものであることを示唆する成績を得た。
- (3) 中和実験として in vivo 並に in vitro の bioassay を用いて抗豚 TSH 血清が豚 TSH の生物学的活性を抑制するのを認めた。
- (4) 赤血球凝集反応並に赤血球凝集阻止反応を用いて豚と人の TSH の交叉反応を示した。
- (5) ゲル内沈降反応を用いて、人 TSH と抗豚 TSH 血清の間に抗原抗体反応が起り、しかもその反応系が単一のものであることを示唆する成績を得た。
- (6) 中和実験として in vivo の bioassay を用いて抗豚 TSH 血清が人 TSH の生物学的活性を抑制するのをみた。

以上豚並に人の TSH が抗原性を有すること、さらにその兩種 TSH 間に交叉免疫が成立することを証明し得た。

## 論文の審査結果の要旨

近年になって成長ホルモンを始め、三の蛋白質ホルモンの抗原性が明かにせられ、中にはそれらの免疫学的測定が試みられているものもある。甲状腺刺激ホルモン (TSH) は分子量 25,000~30,000 と称せられる蛋白体であり、抗原性を有するものと予想せられているが、従来 TSH の分離精製法が不完全であり、一方 adjuvant 使用以前の古典的動物感作法では充分の抗体産生が得られず、また感度の高い抗体証明法がない等の理由により、その抗原性を立証せる報告を見なかった。

本研究では現在の段階で最も優秀と考えられる Bates らの方法により cellulose column (CM-C 並に DEAE-C) を用いて分離精製し超遠心法並に沔紙電気泳動法により均一性を確認した人並に豚 TSH を抗原として家兎を感作し、その血清中に TSH 抗体の産生せられることを種々の免疫学的方法 (赤血球凝集反応、赤血球凝集阻止反応およびゲル内沈降反応) を用いて証明し、また生物学的方法としては *in vivo* 並に *in vitro* の TSH bioassay を用い抗血清が TSH の生物学的活性を中和することを明かにした。さらに実験の第二段階として人並に豚 TSH 間交叉免疫性を同様の諸方法を用いて立証した。

これを要するに、著者の成績は人血中 TSH の免疫学的測定法の基礎をなすものとして重要な意義を有するものと考えられる。