Osaka University Knowledge Archive

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	大阪大学, 1962, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/28411
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【15】

氏　名・(本籍)	隠　岐　和　之（おき かずゆき）
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 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**
論文審査委員	(主　査) 教授 吉田　常雄 (副　査) 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，さらにその両種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，超遠心法並に炉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

成熟雌性家兎に抗原（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法，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感作家兎血清（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～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に指数函数関係を認めた。

(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 Bakkc-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～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，さらにその両種 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。甲状腺刺戟ホルモン（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沪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る。