



Title	ヒト下垂体性LHの免疫学的測定について
Author(s)	宮田, 順
Citation	大阪大学, 1967, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/29134
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	宮 田 順 みや た じゆん
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 1 1 7 2 号
学位授与の日付	昭 和 42 年 3 月 28 日
学位授与の要件	医 学 研 究 科 外 科 系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	ヒト下垂体性 LH の免疫学的測定について
論文審査委員	(主査) 教 授 足 高 善 雄 (副査) 教 授 天 野 恒 久 教 授 山 野 俊 雄

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

下垂体性黄体化ホルモン (luteinizing hormone, LH) の尿中排泄量の測定は，産婦人科領域では，月経異常の病因究明にきわめて重要である。しかし，尿中 LH の排泄量は非常に少なく，しかも尿からの純化精製が困難であるため，今日未だ適当な化学的定量法がなく，操作が煩雑で長時間を要する生物学的測定法に依存する現況である。

近年，LH とその生物学的作用がきわめて類似するヒト絨毛性ゴナドトロピン (human chorionic gonadotropin, HCG) の免疫学的研究により，LH と HCG が免疫学的にも共通の抗原性を有することが知られてきた。そして HCG の免疫学的測定法を応用した，比較的簡単な尿中 LH の免疫学的測定法の開発が求められるようになってきた。

そこで，尿中 LH の測定法として，抗 HCG 家兎血清および HCG 感作羊血球を用いた免疫学的測定法につき，その可能性を検討するため以下の実験を行なった。

〔方法ならびに成績〕

I 抗 HCG 血清の純化

抗 HCG 血清は，部分精製 HCG (Primogonyl) を，complete Freund's adjuvant と共に家兎に注射して作製した。この抗 HCG 血清を免疫電気泳動法により検討すると，HCG を含まない正常ヒト血清や小児尿蛋白と反応する数種類の夾雑蛋白に対する抗体が混在していることが明らかとなった。これ等の夾雑蛋白に対する抗体を除くため，抗 HCG 血清を正常ヒト血清および小児尿蛋白で吸収すると，免疫電気泳動法で部分精製 HCG とのみ一本の沈降線を形成する吸収抗 HCG 血清が得られた。以後この吸収抗血清を用いて実験を行なった。

II 抗 HCG 血清に対する LH の抗原性について

吸収抗 HCG 血清に対して、LH が抗原性を示すか否かを、LH および卵胞刺激ホルモン (FSH) を含む閉経期ゴナドトロピン製剤 (HMG-Pergonal) を用いて検討した。

まず、HMG につき、吸収抗 HCG 血清と HCG 感作羊血球を用いて血球凝集阻止反応を行なうと、明らかな凝集阻止がみられ、ゲル内沈降反応および免疫電気泳動法でも吸収抗 HCG 血清に対して、HCG と一本につながる単一の沈降線を形成した。また、抗 HCG 血清による HMG の LH, FSH の生物学的活性に対する中和作用を検討すると、LH 活性が完全に中和される場合でも FSH 活性は有意の減少を示さなかった。

これらのことより、LH が抗 HCG 血清に対して HCG と共通の抗原性を示し、その生物活性が中和されたものと推定される。

Ⅲ 尿中 LH の免疫学的測定法の条件検討

以上の実験結果より、尿中 LH を抗 HCG 家兎血清および HCG 感作羊血球を用いた凝集阻止反応により測定することができると考えられる。そこで、測定条件につき検討を行なった。尿中 LH の排泄量は微量であるため、被検尿をビスキングチューブ、カーボワックス 6.000 で濃縮し、さらにアルコール沈澱法により尿蛋白として抽出した後20倍濃縮被検体とした。測定には、20倍濃縮被検体の倍数希釈系列に、希釈吸収抗 HCG 血清を加え、さらに HCG 感作羊血球浮遊液を加えて一定時間放置し、何倍希釈まで凝集阻止が起るかを判定した。既知単位の標準 HCG 溶液について、同時に同じ操作を行なって、凝集阻止を起すに要する HCG の最低濃度を求めて反応系の阻止感度とし、これらの結果より原尿中の LH を、11 当りの HCG 相当量として表わした。なお、検体および標準 HCG の倍数希釈には、条件検討の結果、同様に濃縮した 2 倍濃縮小児尿溶液を希釈液として用いた。

Ⅳ 臨床実験

これまで生物学的測定法によって、尿中 LH の排泄は、排卵期に一致してピークを示すことが知られている。そこで、問診により正常月経周期を有する19才から34才の婦人10例について、早朝尿中 LH の免疫学的測定を連日試みるとともに基礎体温を記録させた。その結果、基礎体温が明らかな二相性変化を示した7例では、いずれも次回月経前 15~13 日目、すなわち排卵期に一致して、11 当り 80~320 IU HCG 相当量のピークの出現することを認めた。

Ⅴ 尿中 LH の免疫学的測定値と生物学的活性との比較

この様な方法で測定された尿中 LH の免疫学的測定値と、生物学的活性とを比較するため、正常月経周期を有する婦人について、月経周期の各時期に、48 時間尿を採取して、尿中 LH の免疫学的測定を実施し、併せて LH, FSH の生物学的活性を検討すると、免疫学的測定値は LH の生物学的活性とは略平行したが、FSH とは平行しなかった。

〔総括〕

I 抗 HCG 家兎血清中には、数種類の夾雑蛋白に対する抗体の産生もみられるが、吸収により HCG とのみ反応する吸収抗 HCG 血清を得ることができた。

II 吸収抗 HCG 血清に対して、LH は HCG と共通の抗原性を示し、LH の生物学的活性は、抗 HCG 血清により完全に中和された。

III 吸収抗 HCG 血清および HCG 感作羊血球を用いた血球凝集阻止反応による尿中 LH の免疫

学的測定法につき、測定条件を検討した。

IV 正常月経周期を有する婦人の早朝尿につき、LH の免疫学的測定を行ない、排卵期に一致して、11 当り 80~320 IU HCG 相当量のピークを認めた。

V 尿中の LH 免疫学的測定値は、LH の生物学的活性と略平行した。

以上のことより、このような LH の免疫学的測定法は、少なくとも臨床的には、下垂体性 LH の測定法として使用することができるものと考えられる。

論文の審査結果の要旨

黄体化ホルモン (LH) の尿中排泄量の測定は、従来 Bioassay 以外に方法がなかったが、LH と生物学的性質が類似する HCG の免疫学的測定法が開発されるにしたがって、HCG と LH の間に交叉反応が存在し、これを利用して、HCG 抗原—抗体系を用いて LH を免疫学的に測定しようとする試みがなされるようになった。しかし、このような LH 測定法の LH に対する特異性、測定条件や測定値と生物学的活性との関係等検討を要する幾多の問題点が残されている。

本研究は、これらの問題を解明せんとして、まず LH と HCG の間に交叉反応の存在することを証明し、ついで、HCG 抗原—抗体系を用いた羊赤血球凝集阻止反応による尿中 LH の測定条件を検討した。さらにこの方法を臨床応用して、尿中 LH の免疫学的測定値が LH の生物学的活性と平行関係にあることを証明しており、本法が LH の生物学的測定法にかわって臨床的に使用し得ることを明らかとしたところに本研究の意義を認める。