



Title	Immunoabsorbent Latexを用いるインスリン抗体簡易 検定法の開発とその臨床的応用
Author(s)	吉川, 隆一
Citation	大阪大学, 1970, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/30294
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)	きつ 吉	かわ 川	りゅう 隆	いち 一
学位の種類	医	学	博	士
学位記番号	第	2124	号	
学位授与の日付	昭和45年9月25日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
学位論文題目	Immunoabsorbent Latex を用いるインスリン抗体簡易 検定法の開発とその臨床的応用			
論文審査委員	(主査) 教授 阿部 裕			
	(副査) 教授 北川 正保 教授 天野 恒久			

論文内容の要旨

〔目 的〕

インスリン治療中の糖尿病患者の血清にインスリン抗体が出現し、この抗体がインスリン抵抗性をきたす一因となることはよく知られている。従来インスリン抗体を測定する方法としては中和反応、結合反応、溶血反応、種々のアレルギー反応などが用いられているが、沈降反応はおこりにくいとされていた。これは抗原であるインスリンの結合価が1価であり、インスリン抗体の結合価が2価であるため、両者の結合反応が格子形成にいたらず沈降を示さないと説明されている。

本論文では高分子のPolyaminostyrene粒子にインスリンをジアゾ結合させることによりインスリンの多価抗原を作成し、これがインスリン抗体との間に容易に凝集反応を呈することを認め、この反応を用いて簡便なインスリン抗体検定法を開発すると共に、実際にインスリン治療中の糖尿病患者血清を用いて抗体価を測定しその臨床的応用を試みた。

〔方法ならびに成績〕

1) インスリン多価抗原 (Polyazostyrene insulin, 以下PAIと略す) の作成

Polyaminostyreneの均一な微粒子(約 0.5μ)の浮遊液に塩酸酸性下で亜硝酸ソーダを滴下してジアゾ化し、 300×9 遠沈後の上清を更に 13000×9 遠沈しPolyaminostyreneのジアゾニウム塩を沈澱させた。この沈澱物のほう酸浮遊液にインスリン溶液を添加し、 3°C , PH8.0~8.5の条件下で30時間反応させPAIを作成した。

2) PAIの結合インスリン量

PAI作成の際にPolyaminostyrene量を一定にし添加インスリン量を種々変化させて、PAIに結合したインスリン量をPAIのアミノ酸分析により測定した。インスリンとPolyaminostyreneの重量比を0.067

0.133, 0.146, 0.358 と変化させると、生成されたPAI中のインスリン量はそれぞれ31.1, 45.2, 46.5, 49.5mg/g PAIで、添加インスリン量をふやしてもPAI中のインスリン含量の増加には限度があった。

3) PAIの免疫学的活性

Radiochemical Center (Amersham) 製のインスリン測定用キットを用いてPAIの標準曲線を作成し結晶インスリンのそれと比較した。インスリン含量の最も多いPAI—No.4は結晶インスリンとほぼ等しい曲線を示し、又抗インスリンモルモット血清との間に明瞭な凝集反応を示した。

4) インスリン抗体価の測定

被検者としてインスリン治療中の糖尿病患者を選び、PAI凝集法によりインスリン抗体価を測定し、従来より行なわれている電気泳動法及びエタノール沈澱法による測定成績と比較した。PAI凝集反応の陽性例はすべて電気泳動法で25u/l (血清) 以上を示したが、エタノール沈澱法との関係は必ずしも明確ではなかった。なお対照としてインスリン投与歴のない高ガンマグロブリン血症患者の血清でPAI凝集反応をおこなったが、非特異的凝集は認められなかった。

〔考 按〕

インスリン治療中の糖尿病患者の血清にインスリン抗体が出現しこれがインスリン抵抗性及びアレルギーの原因となることから臨床上抗体を検定する必要性が生じるが、いまだ臨床的に簡便に測定できる方法がない。本論文ではPolyaminostyrene粒子に多分子のインスリンを化学結合させて安定な多価抗原である。インスリン抗体との間に凝集反応のおこることを認めた。PAIはインスリンのチロジンないしはヒスチジンとPolyaminostyreneとがジアゾ結合しているもので、単なる物理的結合と異なり多量のインスリンを粒子上に結合させておりしかも安定した多価抗原である。インスリン含量の最も多いPAI—No.4は結晶インスリンとほぼ同程度に抗体結合能が認められており、又インスリン抗体との間に明瞭な凝集反応がみられており、抗体検定に適当な多価抗原と考えられる。

PAI凝集反応による抗体価の成績と同一血清を用いた電気泳動法及びエタノール沈澱法の結果とを比較したが、電気泳動法で25u/l (血清) 以上の結合価を示す症例にPAI凝集反応が陽性であった。エタノール沈澱法では65%以上にPAI陽性例が多かったが、エタノール沈澱法は健常人及び高ガンマグロブリン血症患者で非特異的沈降が高く難点が多い。

〔総 括〕

Polyaminostyrene粒子にインスリンをジアゾ結合させて多価抗原を作りインスリン抗体との間に明瞭な凝集反応をおこすことを認め、この原理を応用して新しいインスリン抗体検定法を開発した。このPAI凝集法と同一血清を用いた従来の電気泳動法及びエタノール沈澱法によるインスリン抗体価測定成績を比較検討したが、電気泳動法よりも操作が簡単でエタノール沈澱法のような非特異的反応もなく、臨床的に充分応用できると考えられる。

論文の審査結果の要旨

インスリン治療中の糖尿病患者の血中高頻度に出現するインスリン抗体はインスリン抵抗性ならびにアレルギーの原因となることが知られており、臨床上抗体検定を必要とする機会が多いが、未だ簡便に利用できる臨床的検定法は報告されていない。

そこで著者はPolyaminostyreneの微細な粒子にインスリンをジアゾ結合させて安定な多価抗原を作成し、凝集反応を利用した新しいインスリン抗体検定法を開発した。本法は簡易かつ迅速に実施できしかも特異性が高く、インスリン抗体の検定法として臨床的に繁用できる点で有意義であり、糖尿病のインスリン療法を発展させる上に寄与する所が大きいものと考えられる。