

|              |   |
|--------------|---|
| Title        | グリア特異蛋白（アストロプロテイン）の<br>radioimmunoassay   |
| Author(s)    | 森本, 一良  |
| Citation     |   |
| Issue Date   |   |
| Text Version | none  |
| URL          | <a href="http://hdl.handle.net/11094/31757">http://hdl.handle.net/11094/31757</a> |
| DOI          |   |
| rights       |   |
| Note         |   |

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

|         |   |
|---------|---|
| 氏名・(本籍) | 森 <sup>もり</sup> 本 <sup>もと</sup> 一 <sup>かず</sup> 良 <sup>よし</sup> |
| 学位の種類   | 医学博士  |
| 学位記番号   | 第 3827 号  |
| 学位授与の日付 | 昭和 52 年 2 月 28 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  | グリア特異蛋白 (アストロプロテイン) の radioimmunoassay                          |
| 論文審査委員  | (主査)<br>教授 最上平太郎<br>(副査)<br>教授 神前 五郎 教授 北川 正保                   |

## 論文内容の要旨

### 〔目的〕

アストロプロテイン (Ap) は fibrillary astrocyte — astrocytoma cell 系の脳特異蛋白であつて、グリオーマなどのグリアの増生を伴う疾患の脳組織中に多量にふくまれている。本研究は Ap をグリオーマの免疫化学的診断に応用することを目的として、まず Ap を免疫吸着法によって精製し、これを tracer とする Ap の radioimmunoassay 法 (RIA) を開発し、ついで髄液、血清および脳腫瘍細胞液中の Ap 量を RIA によって微量定量して、その診断的価値を検討したものである。

### 〔方法〕

1) Ap の精製：グリオーマ組織より 0.005 M リン酸緩衝液 (pH 7.1) にて水溶性蛋白を抽出し、これを硫酸塩析、免疫吸着法および DEAE セファデックス A25 のカラムクロマトにて分画し、Ap の精製をおこなった。免疫吸着法に用いた抗 Ap 血清は、グリオーマ抽出液の 30% 硫酸分画にて山羊を免疫してえられた抗血清を正常血漿にて吸収したもので、その抗体活性の astrocyte 特異性は蛍光抗体法によって検定した。

2) RIA 法の検討：精製 Ap の <sup>125</sup>I による標識はクロラミン T 法によっておこない、家兔抗 Ap 血清および山羊抗兔 IgG 血清を用いた二抗体法の検討をおこなった。家兔抗 Ap 血清は Ap を Freund's adjuvant とともに家兔を免疫して作製し、山羊抗家兔 IgG 血清はダイナボット RI 研究所製のものを使用した。

3) Ap 定量の試料：脳腫瘍 60 例およびその他の疾患 25 例の計 85 例から腰椎穿刺によって採集した髄液 (0.5—1.0 ml) を -20℃ に凍結保存し、RIA による Ap 測定に用いた。また脳腫瘍 70 例、そ

の他の疾患15例の計85例より採集した血清と、脳腫瘍10例から手術時にえた腫瘍内嚢胞液についても Ap の定量をおこなった。

#### [成 績]

1) Ap は30%飽和硫酸にて塩析され、抗Ap 血清を BrCN にて結合させたセファロース 4 B のアフィニティー・カラムクロマトでは 8 M urea で溶出された。これに DEAE セファデックス A25 のカラムクロマトを追加することによって Ap の純品をえた。この Ap 標品は、7.5%ディスク電気泳動で単一の band をしめし、1%アガロースゲル内沈降反応ではこの分画に強い Ap 活性が確認された。

2) Astrocyte 特異蛋白として報告されているものには、Ap のほかに、Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) がある。抗 GFAP 血清 (コペンハーゲン大学、Bock 博士より提供をうけた) と抗 Ap 血清を用いて Ap と GFAP の異同をゲル内沈降反応、免疫電気泳動および蛍光抗体法にて検討したが、GFAP は Ap と同一の抗原物質であるという結果がえられた。

3) 精製 Ap を  $^{125}\text{I}$  で標識したが、その標識収率は60%であり、えられた  $^{125}\text{I}$  標識 Ap の比放射能は  $35\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$  であった。標準 Ap を用いて二抗体法の検討をおこなったが、この RIA システムの background は 1.5%以下であり、Ap の測定可能範囲は  $25\text{--}1000\text{ng}/\text{ml}$  であった。

4) 脳疾患以外の患者 (4例) では髄液中の Ap 量はつねに  $25\text{ ng}/\text{ml}$  以下であったのに対して、グリオーマ患者では17例中10例 (58.8%) に  $25\text{--}500\text{ ng}/\text{ml}$  (またはそれ以上) の Ap が検出された。グリオーマ以外の脳腫瘍では43例中10例 (23.3%) に、非腫瘍性頭蓋内疾患では21例中4例 (19%) に  $25\text{ng}/\text{ml}$  以上の Ap が検出されたが、 $100\text{ ng}/\text{ml}$  以上の Ap 値をしめす症例は1例もなかった。

血清85検体の Ap 値は、 $30\text{--}35\text{ ng}/\text{ml}$  のわずかな上昇をしめした5例をのぞき、他はすべて  $25\text{ng}/\text{ml}$  以下であった。

一方、脳腫瘍嚢胞液ではグリオーマ系腫瘍の6例すべてに  $500\text{ ng}/\text{ml}$  以上の高い Ap 値がえられたのに対して、非グリオーマ系腫瘍 (4例) では、 $100\text{ ng}/\text{ml}$  を越える症例はなく、うち2例は  $25\text{ng}/\text{ml}$  以下 (測定範囲以下) であった。

#### [総 括]

グリオーマ組織より Ap を抽出、分離し、 $^{125}\text{I}$ -Ap と家兎抗 Ap 血清および山羊抗家兎 IgG 血清を用いた Ap の RIA 法 (二抗体法) を開発した。

脳腫瘍およびその他の疾患計85例の髄液および血清と、10例の脳腫瘍嚢胞液について Ap の RIA をおこなった結果、グリオーマ患者の髄液17例中10例 (58.8%) と嚢胞液6例中6例に  $25\text{--}500\text{ ng}/\text{ml}$  (またはそれ以上) の Ap を検出した。

Ap の RIA はグリオーマをはじめグリアの増生をともなう脳疾患の診断に有用であると思われる。

### 論文の審査結果の要旨

本研究は、グリア特異蛋白であるアストロプロテインの radio-immunoassay 法を開発し、これを

用いて髄液，血液などに含まれるアストロプロテイン量を測定し，その臨床診断的価値を検討したものである。

その結果，脳疾患のない患者では，髄液，血液のいずれにおいてもアストロプロテインは検出されなかったが，グリオーマをはじめグリアの増生を伴う脳疾患では25～500  $\mu\text{g}/\text{ml}$  のアストロプロテインが髄液中に証明され，本法が脳疾患の臨床検査法として有用であることがしめされた。

アストロプロテイン（森，1970年）は阪大関係者によって発見された脳特異蛋白であり，しかもグリア特異性の明らかにされている唯一の抗原物質である。これを用いて脳疾患のまったく新しい免疫化学的診断法を開発した本研究を高く評価するものである。