



Title	グリア特異蛋白（アストロプロテイン）の radioimmunoassay
Author(s)	森本, 一良
Citation	大阪大学, 1977, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/31757
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、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	森	本	一	良
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) 教 授	最上平太郎		
	(副査) 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、血清および脳腫瘍囊胞液中の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0.005Mリン酸緩衝液(pH 7.1)にて水溶性蛋白を抽出し、これを硫安塩析、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%硫安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特異性は螢光抗体法によって検定した。

2) RIA法の検討：精製Apの¹²⁵I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—1.0ml)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囊胞液についても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4Bのアフィニティー・カラムクロマトでは8M 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の純品を得た。このAp標品は、7.5%ディスク電気泳動で単一な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¹²⁵Iで標識したが、その標識収率は60%であり、えられた¹²⁵I標識Apの比放射能は35μCi/μg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25-1000ng/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25ng/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25-500ng/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25ng/ml以上のApが検出されたが、100ng/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、30-35ng/mlのわずかな上昇をしめた5例をのぞき、他はすべて25ng/ml以下であった。

一方、脳腫瘍囊胞液ではグリオーマ系腫瘍の6例すべてに500ng/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、100ng/mlを越える症例はなく、うち2例は25ng/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、¹²⁵I-Apと家兎抗Ap血清および山羊抗家兔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例の脳腫瘍囊胞液について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%)と囊胞液6例中6例に25-500ng/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ィン量を測定し、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ィ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 ng/ml のアストロプロティ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。

アストロプロティン（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。