

Title	血中腓エラスターゼ1のラジオイムノアッセイによる測定に関する基礎的ならびに臨床的研究
Author(s)	村田, 厚夫
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33451
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、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

氏名・(本籍)	村 田 厚 夫
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 5 9 2 5 号
学位授与の日付	昭 和 5 8 年 3 月 3 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	血中膵エラスターゼ 1 のラジオイムノアッセイによる測定に関する基礎的ならびに臨床的研究
論文審査委員	(主査) 教 授 神 前 五 郎 (副査) 教 授 熊 原 雄 一 教 授 田 川 邦 夫

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

ヒト膵にはエラスターゼ 1 (E1) およびエラスターゼ 2 (E2) の 2 種類のエラスターゼが存在する。エラスターゼはエラスチンを分解し得る唯一の蛋白分解酵素であり、膵エラスターゼは急性壊死性膵炎、急性出血性膵炎における血管壁の弾性線維の破壊に関与すると推測されている。血中のエラスターゼ活性は、血中に障害物質が存在するため従来の酵素学的測定法では測定は不可能である。

本研究は、血中膵エラスターゼ 1 測定のためのラジオイムノアッセイ系を確立するとともに、血中プロテアーゼ・インヒビターと膵エラスターゼ 1 の相互作用や、これら障害物質によるラジオイムノアッセイ系への影響を検討し、膵エラスターゼ 1 測定 of 臨床的意義を明らかにすることを目的とした。

〔方法ならびに成績〕

1) 血中膵エラスターゼ 1 測定のためのラジオイムノアッセイ系の確立

ヒト膵液から精製した活性型エラスターゼ 1 (E1) を用いて家兔を免疫して抗 E1 血清を作成した。

活性型 E1 は血中プロテアーゼ・インヒビターである α_2 -macroglobulin (α_2 M), α_1 -antitrypsin (α_1 AT) と結合するため、標識抗原として E1 の活性基をあらかじめ phenylmethanesulfonyl fluoride (PMSF) でブロックしたものをクロラミン T 法で標識して用いた。B/F 分離は二抗体法により行なった。

本ラジオイムノアッセイは E 2 と免疫交叉性を示さず、また他の膵酵素とも交叉性を示さなかった。

2) ラジオイムノアッセイによる血中膵エラスターゼ1の測定

ラジオイムノアッセイによる正常血清中のE1量は $1.79 \pm 0.62 \text{ ng/ml}$ であった。急性膵炎では $23.02 \pm 9.44 \text{ ng/ml}$ ($n=18$) と全例高値を示し、また発症後血清アミラーゼ活性が正常に復した時期においても高値を示した。膵癌では $13.75 \pm 11.54 \text{ ng/ml}$ ($n=12$) と高値を示すものが多かったが、膵癌末期症例では 0.05 ng/ml と低値を示した。

3) 膵エラスターゼ1の血中存在様式

活性型E1を標識し、正常血清と混合した後Sephadex G-200でゲル濾過を行った。放射活性は、 $\alpha_2\text{M}$ 溶出画分と $\alpha_1\text{AT}$ よりやや前の画分の2つのピークとして得られた。

一方内因性のimmunoreactive E1のピークは、正常血清、急性膵炎血清どちらも、 $\alpha_1\text{AT}$ と結合した画分のみ認められ、freeの位置のピークは認められなかった。 $\alpha_2\text{M}$ とも結合して存在しているはずであるが、本ラジオイムノアッセイでは、 $\alpha_2\text{M-E1 complex}$ は測定不能である。

プロエラスターゼ1を含む膵液と正常血清を混合してインキュベーションを行わずにゲル濾過を行なったところ、immunoreactive E1のピークは、 $\alpha_1\text{AT}$ と結合した画分と、freeの画分の2つに認められた。30分間室温でインキュベートした後ゲル濾過を行なうと、immunoreactive E1は、 $\alpha_1\text{AT}$ と結合した画分のみ認められた。

4) 血中プロテアーゼ・インヒビター量によるimmunoreactiveエラスターゼ1量の変化

肝疾患患者で臨床的に明らかな膵疾患を有さない症例17例を選び、血中膵E1量をラジオイムノアッセイで、 $\alpha_2\text{M}$ 量および $\alpha_1\text{AT}$ 量を免疫拡散法で測定した。immunoreactive E1量は、 $\alpha_2\text{M}$ 量と有意の負の相関 ($y = -28.2x + 425.3$, $r = -0.5046$, $p < 0.05$) を示したが、 $\alpha_1\text{AT}$ 量とは有意の相関を示さなかった ($r = -0.1076$, $p > 0.1$)。

種々の $\alpha_2\text{M}$ 量、 $\alpha_1\text{AT}$ 量を示す肝疾患患者血清に活性型E1を添加して、本ラジオイムノアッセイによる回収率を測定した。活性型E1の回収率は、 $\alpha_2\text{M}$ 量が減少するにつれて上昇する傾向を示した。活性型E1の回収率を従属変数、 $\alpha_2\text{M}$ 量、 $\alpha_1\text{AT}$ 量を独立変数とした重回帰分析では、重相関係数0.8529、F値14.68と有意の重相関 ($p < 0.01$) が認められた。

[総括]

1. PMSFで活性基をブロックしたE1を標識抗原として、血中膵E1測定のためのラジオイムノアッセイ系を確立した。
2. 血中immunoreactive E1の正常値は $1.79 \pm 0.62 \text{ ng/ml}$ で、急性膵炎患者ではその発症初期から高値を示し、診断に有用であった。膵癌患者では高値を示すものが多かったが、進行例では逆に低値を示した。
3. 膵E1は血中ではfreeの形では存在せず、活性型として存在していた。
4. 血中immunoreactive E1は、 $\alpha_2\text{M}$ 量、 $\alpha_1\text{AT}$ 量両者の影響を受け、特に $\alpha_2\text{M}$ 量とは有意の負の相関を示した。
5. ラジオイムノアッセイによる血中膵E1量の評価には、単に膵疾患の有無だけでなく、 $\alpha_2\text{M}$ や $\alpha_1\text{AT}$ 量に変化を及ぼす肝疾患や炎症、悪性腫瘍などの影響も考慮すべきことを明らかにした。

論文の審査結果の要旨

本論文は血中膵エラスターゼ1測定のためのラジオイムノアッセイ系を確立し、血中存在様式を検討して、膵エラスターゼ1がすべて血中のプロテアーゼ・インヒビターと結合していることを示したものである。膵エラスターゼ測定値に影響を与える因子を指摘し膵疾患診断における血中膵エラスターゼ1測定の有用性を明らかにしたものであり、直ちに臨床に応用しうる価値ある研究と考えられる。