



Title	血小板結合抗体（IgG）の簡易迅速測定法
Author(s)	高橋, 顯
Citation	大阪大学, 1982, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33537
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">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed >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)	^{たか} 高	^{はし} 橋	^{あきら} 顯
学 位 の 種 類	医	学	博 士
学 位 記 番 号	第	5 8 5 9	号
学位授与の日付	昭 和 57 年 12 月 21 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	血小板結合抗体 (IgG) の簡易迅速測定法		
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 神 前 五 郎		
	(副査) 教 授 木 谷 照 夫 教 授 宮 井 潔		

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

最近、特発性血小板減少性紫斑病（以下、ITP と略記）の診断ならびに病状の判定に血小板結合抗体 (platelet associated IgG……以下 PAIgG と略記) の測定が有用であるとされ、その方法が種々考案された。しかし、それらのものは非常に鋭敏で特異性があるが、放射性アイソトープを用いたり、測定に日数を要したり、手技的に繁雑であったりして臨床的な検査法としては、必ずしも適当ではなかった。今回、ヒト IgG の Fc region に特異的に結合する staphylococcal protein A を付着させた、グルタルアルデヒド処理ヒツジ赤血球（以下、SpA-SRBC と略記）と検体としての血小板を反応させ、その結合する割合をみる事により、簡単な操作によって迅速に PAIgG を半定量する方法を確立した。

〔方 法〕

(I) SpA-SRBC を利用した PAIgG 半定量法： ①検体としての血小板浮遊液は、血小板の損傷と自然凝集をさけ、高濃度の血小板検体を得る為に、40% Bovine Serum Albumin (40% BSA) cushionを用いた遠沈と、ゲル濾過法を用いて調製した。すなわち、終濃度 0.2% EDTA-Na にて約 5 ml 採血。170×g, 10分間遠沈にて、platelet rich plasma を得た。これを、ポリエチレン試管内で 40% BSA 1 ml 上に静置し、800×g, 20分間遠心操作にて、境界面に浮遊している高濃度血小板を得、これを Sepharose 2B カラムにて、約 2 ml のゲル濾過血小板浮遊液を得、 1×10^7 cells/ml に調製し検体とした。②Glutaraldehyde 処理ヒツジ赤血球（以下 GA-SRBC と略記）と SpA-SRBC は Stålenheim の方法により作製し、 4×10^8 cells/ml に調製した。③測定方法：検体として調製し

た血小板浮遊液 (1×10^7 cells/ml) 0.1 ml と SpA-SRBC (4×10^8 cells /ml) 0.05 ml とを、室温にてポリエチレン小試験管内で軽く振盪しながら 1 時間反応させ、これを Ficoll-paque $\text{\textcircled{R}}$ 0.5 ml 上に静かに重層し、 $400 \times g$, 40 分間遠沈した。これによって、SpA-SRBC と、血小板の付着した SpA-SRBC を沈澱させ、上澄 0.15 ml とこれに接する Ficoll-paque 0.05 ml を正確に、0.05 ml ずつ 4 回、計 0.2 ml を採取し、上澄に残存している血小板数を算定した。また、コントロールとして SpA-SRBC の代りに GA-SRBC を用いて、同様の操作をおこなった。この GA-SRBC を用いたときの血小板数を (A) とし、SpA-SRBC のときの血小板数を (B) として、血小板が SpA-SRBC に付着した割合を $(1 - \frac{B}{A}) \times 100 (\%)$ として表わし、これを結合率として示した。

(II) Luiken の方法に従って、Fab, anti-Fab assay にて PAIgG を定量した。

[成 績]

1. Fab, anti-Fab assay による PAIgG 定量：正常人 17 例において、血小板 10^9 個あたり 759 ± 317 ng であり、ITP 21 例では、 $6,509 \pm 6,721$ ng と有意に高値であった ($P < 0.01$)。血小板減少のある脾機能亢進症の 2 例では、正常域にあった。

2. SpA-SRBC を利用した PAIgG 半定量：正常人 40 例で結合率は、 $10.9 \pm 4.4 \%$ であり、ITP 15 例では、 $26.5 \pm 10.0 \%$ と有意に高値であり ($P < 0.01$)、ITP 症例の血小板数と、結合率は負の相関を示した ($r = -0.7299$, $p < 0.01$)。

3. 上述の 2 つの方法による測定を、ITP 7 症例、13 検体において同時に行ない比較したところ、両測定値間に正の相関があった ($r = 0.8301$, $P < 0.01$)。

[総 括]

今回考案した、SpA-SRBC を利用した PAIgG 半定量法による測定値 (結合率) は、ITP 症例において高値を示した。また ITP 症例では、末梢血小板数と結合率は負の相関がみられた。また、Fab, anti-Fab assay にて測定した PAIgG の定量値とも相関を示した。さらにこの方法は、少量の採血ですみ、放射性同位元素を用いることなく、また特殊な手技を用いず簡単に、全経過 5 ～ 6 時間で測定結果が出る為、臨床的な検査法として有用であると思われる。

論文の審査結果の要旨

ITP 症例においては、血小板結合 IgG (PAIgG) 量が特異的に高値である。その測定には、いくつかの方法があり、特異的ではあるが、複雑で、いずれも臨床検査には不適當であった。本論文は、staphylococcal protein A 被覆ヒツジ赤血球 (SpA-SRBC) を利用して PAIgG を簡易に迅速に半定量する方法を考案したものである。すなわち SpA-SRBC に検体としての血小板を反応させ、SpA-SRBC に付着した血小板と付着しない血小板とを Ficoll-paque 層を通して遠沈することによって分離し、前者の割合を算出して結合率として表した。この方法では、少量 (5 ml) の採血ですみ 5 ～ 6 時間で結果が出、特殊な手技を用いず、臨床的な検査として有用であることを実証した。価値ある論文であると認める。