

Title	Radioimmunoassay法によるヒト尿由来Ribonuclease測定法の確立および血中Ribonucleaseの分別定量
Author(s)	黒川, 英司
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33550">https://hdl.handle.net/11094/33550</a>
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">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</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)	黒川英司
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 5934 号
学位授与の日付	昭和 58 年 3 月 17 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	<b>Radioimmunoassay 法によるヒト尿由来 Ribonuclease 測定法の確立および血中 Ribonuclease の分別定量</b>
論文審査委員	(主査) 教授 神前 五郎 (副査) 教授 藤井 節郎 教授 和田 博

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

最近、肺癌、白血病等の悪性疾患および腎不全患者において、血中の ribonuclease (RNase) 活性が上昇することが報告されている。血中には膵型 RNase と肝脾型 RNase の二種の RNase が存在するとされているが、従来の酵素化学的測定法では両者の完全な分別定量は不可能であり、従って血中に上昇する RNase の起源や上昇の機序など不明の点が多い。

本研究では、まずヒト尿中より精製された二種の RNase を用いて radioimmunoassay (RIA) 系を確立することによって、血中の RNase の分別定量を可能とした。そして、この RIA 系を用いて血中 RNase の由来を明らかにし、各種疾患患者の血中 RNase 値を免疫学的に測定して、その診断的意義を明らかにしようと試みた。

### 〔方法ならびに成績〕

#### 1) ヒト尿由来 RNase の radioimmunoassay 系の確立

ヒト尿中より精製された二種の RNase (RNase U<sub>L</sub>: 分子量 38,000, RNase U<sub>S</sub>: 分子量 13,000) の標識は、RNase U<sub>L</sub> はクロラミン T 法、RNase U<sub>S</sub> は Bolton & Hunter 法にて行なった。比活性はそれぞれ 72.5 μCi/μg, 37.1 μCi/μg であった。抗血清は家兎にて作成し、20,000 倍希釈のものを使用した。両 RIA 系は感度、精度、回収率、いずれも良好であった。

特異性の検討では RNase U<sub>L</sub> はヒト膵 RNase と 60% と強い交叉性を示し、RNase U<sub>S</sub> およびヒト肝 RNase とは 1% 以下の交叉性しか示さなかった。一方、RNase U<sub>S</sub> はヒト肝 RNase と 33% と強い交叉性を示し、RNase U<sub>L</sub> およびヒト膵 RNase とは交叉性を示さなかった。これらの結果よ

り、RNase U<sub>L</sub>が膵型RNaseであり、RNase U<sub>S</sub>が肝脾型RNaseであることが明らかとなった。またRNase U<sub>L</sub>、RNase U<sub>S</sub>ともヒト以外のRNase、DNaseおよび動物血清とは交叉性を示さなかった。

## 2) 血中RNaseの血中存在様式とその由来

ヒト正常血清を透析後、phosphocellulose columnにかけ、0—1 M NaCl gradientにて溶出し、各fractionについてpoly (C) およびyeast RNAを基質としたRNaseの酵素活性、ならびに免疫活性を測定し、比較検討した。

免疫学的膵型RNase、肝脾型RNaseは異なるピークとして溶出された。酵素活性と比較すると、膵型RNaseはpoly (C) 分解活性部と一致し、肝脾型RNaseはyeast RNAの最大分解活性部と一致した。しかし膵型RNaseのピークにはpoly (C) 分解活性のみでなくyeast RNA分解活性も認められた。また、いずれの免疫活性も存在しないが、yeast RNA分解活性を示す分画も存在した。これらの結果より、血中には二種以上のRNaseが存在し、その分別定量において、酵素化学的測定法では不十分であり、RIA系を用いた免疫学的測定法が有用であることが明らかとなった。

## 3) 各種疾患における血中RNase濃度

本RIA系による血中正常値はRNase U<sub>L</sub>が $354 \pm 105 \text{ ng/ml}$  ( $n=39$ ) であり、RNase U<sub>S</sub>が $15.9 \pm 5.7 \text{ ng/ml}$  ( $n=23$ ) であった。また各種疾患患者を含む血中の両RNase濃度の間には相関関係は認められなかった ( $n=133$ ,  $r=0.1241$ ,  $p>0.1$ )。

各種疾患患者の血中RNase U<sub>L</sub>濃度については、慢性腎不全で正常値の20倍以上の高値を示したのをはじめ、膵癌、肝癌、肝硬変で正常と比べ有意に高値を示した ( $p<0.01$ )。一方、血中RNase U<sub>S</sub>濃度は、慢性腎不全で正常値の8倍の高値を示し、膵癌でも高値を示した ( $p<0.01$ )。しかし種々の肝疾患では、その上昇は軽度であった。

[総括]

1. ヒト尿中より精製された二種のRNase (RNase U<sub>L</sub>, RNase U<sub>S</sub>) を用いて、ヒト血中RNase測定のためのradioimmunoassay系を確立した。ヒト血中RNase測定のためのradioimmunoassay系を確立した。
2. 免疫学的にRNase U<sub>L</sub>は膵型RNase、RNase U<sub>S</sub>は肝脾型RNaseと強い交叉性を示した。
3. ヒト血中には、免疫学的に異なる二種類以上のRNaseが存在した。このうち、膵型RNase、肝脾型RNaseを分別定量するためには、酵素学的測定法では不十分で、免疫学的測定法が必要であった。
4. 血中のRNase U<sub>L</sub>濃度、RNase U<sub>S</sub>濃度は、それぞれ独立して変動しており、両者の間に相関関係はなかった。正常値はRNase U<sub>L</sub>が $354 \pm 105 \text{ ng/ml}$ 、RNase U<sub>S</sub>が $15.9 \pm 5.7 \text{ ng/ml}$ であった。
5. 慢性腎不全患者において血中RNase U<sub>L</sub>濃度およびRNase U<sub>S</sub>濃度はいずれも有意に上昇しており、その代謝過程で腎が大きな役割を果していることが示唆された。
6. 血中RNase U<sub>L</sub>濃度は、膵疾患だけでなく肝疾患でも上昇した。一方RNase U<sub>S</sub>濃度は膵疾患で上昇がみられ、肝疾患での上昇は軽度であった。従って血中肝脾型RNaseの由来については肝以

外の臓器も検討する必要があると考えられた。

### 論文の審査結果の要旨

本研究でヒト尿より精製された2種のリボヌクレアーゼを用いてラジオイムノアッセイ系を確立した。そして、それら両リボヌクレアーゼの由来、及び血中における存在様式を明らかにし、従来、不完全であった血中におけるリボヌクレアーゼの分別定量を可能とした。本研究は血中のリボヌクレアーゼの起源、各種疾患におけるそれぞれの変動ならびにその機序を明らかにするために必要な方法を開発した価値ある研究と考えられる。