Osaka University Knowledge Archive

| | |
|---|---|
| Title | 酵素免疫測定法による血清遊離型トリヨードサイロニン測定法の開発と臨床検査への応用 |
| Author(s) | 畑, 直成 |
| Citation | 大阪大学, 1987, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/35300 |
| 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

【34】

| | |
|---|---|
| 氏名・(本籍) | 畑(はた)　直(なお)　成(しげ) |
| 学位の種類 | 医　学　博　士 |
| 学位記番号 | 第　7673　号 |
| 学位授与の日付 | 昭和62年3月26日 |
| 学位授与の要件 | 医学研究科内科系専攻<br>学位規則第5条第1項該当 |
| 学位論文題目 | **酵素免疫測定法による血清遊離型トリヨードサイロニン測定法の開発と臨床検査への応用** |
| 論文審査委員 | (主査)<br>教授　宮井　潔<br>(副査)<br>教授　熊原　雄一　　教授　薮内　百治 |

## 論文内容の要旨

［目　的］

甲状腺ホルモンの一つであるトリヨードサイロニン（$T_3$）は，血中ではその大部分が甲状腺ホルモン結合蛋白と結合し，ごく一部が遊離型$T_3$(Free $T_3$）となって活性を持つものと考えられている。Free $T_3$の測定法としては従来，平衡透析法等が知られていたが，操作が複雑で臨床検査として不向きであり，又最近登場してきたラジオイムノアッセイ法（ＲＩＡ）も，ラジオアイソトープ（ＲＩ）を使う上，アルブミンの影響を受けるのが大きな欠点である。そこで本研究では，ＲＩを使わず，しかもアルブミンの影響を受けないFree $T_3$の酵素免疫測定法（ＥＩＡ）を開発して臨床検査としての応用を行った。

［材料ならびに方法］

Galactosidase標識$T_3$(Gal－$T_3$)：$T_3$と$\beta$－D－galactosidaseをmaleimide法で結合させて作製した。$T_3$抗体：Carbodiimide法で結合させた$T_3$と牛血清アルブミンとの結合体で家兎を免疫して$T_3$抗体を得，これをマイクロビーズに固相化したものを用いた。標準Free $T_3$血清：血清からチャコール法で$T_3$を除き，標準$T_3$を添加して平衡透析法でcalibrateして作製した。測定操作：血清10$\mu$l，Gal－$T_3$50$\mu$l，ビーズ固相化$T_3$抗体500$\mu$lを混合し，室温16時間反応させた後，ビーズを2回洗浄し，基質としてo－nitrophenyl－$\beta$－D－galactopyranosideを加え37℃2時間反応させ，遠心し上澄液の吸光度を405nmで測光した。

［成績ならびに考察］

1.　サイロキシン結合グロブリン（ＴＢＧ）との結合：血清にGal－$T_3$(比較として$^{125}$Ｉ標識$T_3$）を加え反応させた後，ＴＢＧ抗体と第2抗体を加えて検討したところＴＢＧとの結合率は$^{125}$Ｉ標識$T_3$の

場合が15.4%であったのに対しGal－$T_3$との結合率は僅か0.2%で無視し得る程度であった。

2. アルブミンの影響：Gal－$T_3$(比較として$^{125}$I標識$T_3$，$^{125}$I標識$T_3$誘導体）とビーズ固相化$T_3$抗体を反応させた後，アルブミン（最終濃度：3.5～60g／l）を加え各種標識$T_3$と抗体との結合率に対する影響をみた。$^{125}$I標識$T_3$では8.0%，$^{125}$I標識$T_3$誘導体では8.0%と大きく変化したがGal－$T_3$の場合は僅か1.6%であった。以上の結果は本ＥＩＡではＴＢＧやアルブミンの影響を殆ど受けない事を示している。

3. 感度・再現性：測定可能領域は0.7－26ng／lで，測定内及び測定間変動係数はそれぞれ平均6.1%及び9.5%と良好であった。

4. ＲＩＡとの比較：アルブミンに異常がない血清検体58例についてＲＩＡと本ＥＩＡによる測定値を比較すると両者の間には良好な相関関係があった。（r＝0.88）

5. 各種臨床検体のFree $T_3$濃度：Free $T_3$の成人正常値は1.9～8.9ng／l，甲状腺機能亢進症は11.5～26ng／l以上と高く，甲状腺機能低下症は0.7～4.7ng／lと正常ないし低く，ＴＢＧ減少症はは4.2～6.6ng／l，ＴＢＧ増加症は2.4～7.9ng／lと正常範囲であった。

正常妊婦のFree $T_3$濃度を測定したところ，ＲＩＡでは妊娠の進行に伴い減少を示した（前期：3.4±0.3ng／l，中期：2.7±0.6ng／l，後期：2.3±0.4ng／l）のに対し平衡透析法（前期：3.0±0.6ng／l，中期：2.9±0.5ng／l，後期：2.9±0.6ng／l）と本ＥＩＡ（前期：5.4±0.5ng／l，中期：5.5±0.6ng／l，後期：5.2±0.8ng／l）では変動を示さなかった。これらの検体のアルブミン濃度を測定したところ，妊娠の進行に伴う減少が見られ，ＲＩＡによるFree $T_3$濃度との間に有意の相関が見られたのに対し，平衡透析法や本ＥＩＡで測定したFree $T_3$とは相関しなかった。このことから，妊娠中のFree $T_3$は本来不変と考えられ，ＲＩＡによるFree $T_3$値の減少はアルブミンの減少による見かけ上のものと思われる。

［総　括］

1. 酵素免疫測定法（ＥＩＡ）による血清中遊離型トリヨードサイロニン（Free $T_3$）測定法を開発した。

2. 本ＥＩＡはＲＩＡで問題となったアルブミンの影響をほとんど受けなかった。

3. 本ＥＩＡはラジオアイソトープを用いず，操作も簡単で，感度，再現性も良好であり臨床検査法として適していると考えられた。

4. 正常値1.9～8.9ng／lで甲状腺機能亢進症で高値，低下症でやや低値，ＴＢＧ増加または減少症では正常範囲であった。

5. ＲＩＡによる正常妊婦のFree $T_3$濃度は妊娠経過に伴い減少するとされていたが，それはアルブミンの減少に伴う見かけ上のもので，本ＥＩＡによりFree $T_3$濃度は前期，中期，後期とも差がないことが示された。

## 論文の審査結果の要旨

生物学的活性を有する遊離型トリヨードサイロニン（Free $T_3$）の測定は，臨床的に非常に重要であるにもかかわらず，従来の平衡透析法，ＲＩＡ法等は，繁雑あるいはアルブミンなどの甲状腺ホルモン結合蛋白の干渉を受けるという大きな欠点があったので，本研究では新たに酵素免疫測定法を開発した。本法は$\beta$－Ｄ－galactosidase標識酵素を用いているので，甲状腺ホルモン結合蛋白の干渉を受けず，再現性もよく，一般検査で施行できるなど，臨床検査として優れた方法であり，実際に甲状腺機能の鑑別が可能であった。又，従来ＲＩＡ法で報告されていた妊娠経過に伴うFree $T_3$の減少はアルブミン減少による見かけ上の現象で，実際には不変であるということが本法を用いて明かとなった。この様に本研究は臨床上有用な新しい臨床検査法を開発したものであり，学位論文として価値のあるものと認める。