



Title	家族性異常アルブミン性高サイロキシン血症におけるアルブミン・サイロキシン結合の研究
Author(s)	藪, 由紀子
Citation	大阪大学, 1987, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/35439">https://hdl.handle.net/11094/35439</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>〉</a> 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)	藪	由紀子
学位の種類	医	学博士
学位記番号	第	7542号
学位授与の日付	昭和62年2月13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	家族性異常アルブミン性高サイロキシン血症におけるアルブミン ・サイロキシン結合の研究	
論文審査委員	(主査) 教授 宮井 潔	
	(副査) 教授 熊原 雄一	教授 藤田 尚男

### 論文内容の要旨

#### 〔目的〕

家族性異常アルブミン性高サイロキシン血症 (Familial Dysalbuminemic Hyperthyroxinemia : FDH) は、サイロキシン ( $T_4$ ) 結合能に異常を持つ新しいアルブミン (ALB) バリエントによりもたらされた高 $T_4$ 血症である。免疫学的には正常 (N-) ALBと差を認めず、 $T_4$ に対する親和恒数が約10倍増大しているALBバリエントで、その結果患者の血中 $T_4$ 濃度は正常の2~3倍を示すことが知られている。このバリエントアルブミンの $T_4$ 結合能増大の本態を明らかにするために、FDHおよびN-ALBの $T_4$ 結合の状態を等電点電気泳動 (IEF) により解析した。

#### 〔対象と方法〕

15人のFDH患者及び10人の健常人血清よりPorathのカラムでALBを精製した。精製したALBの荷電及び分子量の差は、ポリアクリルアミドゲル電気泳動 (PAGE, SDS(-)及びSDS(+)) により確認した。ALBと $T_4$ の結合は、あらかじめ $^{125}I-T_4$ を結合させたALBをIEFで分画し、得られたラジオオートグラフィ上の放射性 $T_4$ 結合バンドで検討した。一部の実験では、遊離型 $T_4$ 測定キットに用いられている標識 $T_4$ 誘導體 ( $^{125}I-T_4$  substrate) を用いた。内因性 $T_4$ はチャコールにより取り除き、還元剤の影響を見る際には、0.1, 1, 5 mM dithiothreitol (DTT) で処理したALBを用いた。

#### 〔結果〕

##### A. 蛋白の性状

1) SDS(→)PAGEでは、ALBはmonomerとそれに続くdimerとに分離したが、FDH-とN-

ALBの間に荷電の差は全く認められなかった。又、SDS(+)PAGEでは、牛血清ALBの位置に両ALBとも1本のバンドとして泳動された。

2) IEFの蛋白染色では、pH4.65~5.75の間にわずかに荷電の異なる多数のALBバンドを認めたが、FDH-及びN-ALBの間に一貫した差は得られなかった。

#### B. $T_4$ 及び $T_4$ suberateとの結合

1)  $^{125}\text{I}-T_4$ 添加ALBをIEF後、そのラジオオートグラフィにみられる放射性 $T_4$ 結合バンドの等電点(pI)は、FDH-及びN-ALBの間で差を認めなかった。ところが、放射性 $T_4$ 結合バンド(pIの高い方より $B_1\sim B_4$ と名付ける)間の結合の割合は両者で大きな差を示した。すなわち、FDH-ALBでの $T_4$ 結合バンドは主としてpIの低い( $B_2$ ),  $B_3$ ,  $B_4$ であるのに対し、N-ALBではpIの高い $B_1$ ,  $B_2$ , ( $B_3$ )であった。

2) 内因性 $T_4$ を取り除いたALBで検討すると、FDH-ALBでは全例において $B_3$ が最も強い $T_4$ 結合バンドとして認められ、N-ALBでは、 $B_3$ ,  $B_4$ が明らかになった。

3) 外因性に $T_4$ を添加したALBを用い、 $^{125}\text{I}-T_4$ の結合阻害の程度からALBの $T_4$ 結合部位の飽和度を検討すると、FDH-ALBではまず $B_3$ が、次いで $B_4$ が飽和され減弱し、それに伴い $B_1$ の出現を認め、最終的には $B_2$ のみ残った。N-ALBでは $B_1$ , 次いで $B_2$ が減弱したが、 $B_3$ ,  $B_4$ については結合が少ない為に検討することは不可能であった。

4) DTTで処理したALBを用いて $T_4$ 結合の状態を検討すると、FDH-ALBでは0.1, 1mMの低濃度のDTTにより $B_3$ ,  $B_4$ が減弱消失し、同時に $B_1$ を認めた。これに対し、N-ALBの $B_1$ ,  $B_2$ は低濃度のDTTには影響されなかった。

5)  $^{125}\text{I}-T_4$  suberateを結合させたALBについてその結合バンドを検討すると、FDH-ALBでは $B_4$ に強い結合バンドが出現し、さらに酸性側にも小さな結合バンド( $B_5$ )が認められた。一方、N-ALBでは大部分のトレーサーは結合せず、 $B_4$ ,  $B_5$ に小さな結合バンドを認めたのみであった。

#### [総括]

$T_4$ に対する親和恒数が正常の約10倍増大している新しいバリエーションアルブミン(FDH-ALB)の性質について、正常アルブミン(N-ALB)と比較して以下の結果を得た。

1) PAGEでは、両ALBに荷電、分子量の差を認めなかった。

2)  $^{125}\text{I}-T_4$ 添加ALBをIEFで分画しラジオオートグラフィで検討すると、4つの $T_4$ 結合バンド( $B_1\sim B_4$ )のうち、FDH-ALBでは( $B_2$ ),  $B_3$ ,  $B_4$ 、N-ALBでは $B_1$ ,  $B_2$ , ( $B_3$ )が主なバンドであった。

3) 内因性 $T_4$ を取り除いた場合、及び外因性 $T_4$ を添加した実験の結果から、 $B_3$ ,  $B_4$ は $T_4$ に対する親和性の強いcomponentと考えられ、 $B_2$ は最も結合部位の多いcomponentと考えられた。

4)  $^{125}\text{I}-T_4$  suberateの結合は、FDH-ALBの $B_4$ で、著明に増大していた。この結果は、 $^{125}\text{I}-T_4$  suberateを用いた測定法でFDH患者血清中の遊離型 $T_4$ を測定した際に、異常な(偽)高値を示す現象を説明し得るものと考えられた。

5) 還元剤処理によりFDH-ALBのB<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>におけるT<sub>4</sub>結合が減弱した。結論として, FDH-ALBのT<sub>4</sub>結合の増大は, T<sub>4</sub>に対する親和性の強いALB component (B<sub>3</sub>, B<sub>4</sub>) が量的に増加していることによると考えられ, この結合には, S-S結合が関与していることが示唆された。

### 論文の審査結果の要旨

本研究は, 家族性異常アルブミン性高サイロキシン(T<sub>4</sub>)血症患者のアルブミンの性質を明らかにしたものである。本症患者及び正常人血清からアルブミンを精製し, 電気泳動及びラジオオートグラフィ, 免疫拡散法で純度を確認後, 種々の方法でその性質を比較した。まず, ポリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)では, 荷電の差を認めず, 又, SDS-PAGEでは分子量に差を認めなかった。又, 等電点電気泳動(IEF)の蛋白泳動パターンにも差を認めなかった。アルブミンに<sup>125</sup>I-T<sub>4</sub>を結合させIEF分画後のラジオオートグラフィでは, 患者及び正常アルブミンとも基本的には4つのT<sub>4</sub>結合バンドを認め, それらの等電点は両アルブミンで一致した。しかし, <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub>の各バンド間の結合割合は著明な差を認め, 正常では比較的pIの高い分画に, 患者では, pIの低い分画に主として結合した。内因性T<sub>4</sub>の除去, および外因性T<sub>4</sub>の添加実験から, 患者アルブミンではT<sub>4</sub>に対して比較的high affinity, low capacityのアルブミン成分が多くなっていることが明らかになった。又, 還元剤を用いた実験から, これらの結合にはS-S結合が関与していると考えられた。さらに, <sup>125</sup>I-T<sub>4</sub>誘導體(T<sub>4</sub>-suberate)もこの分画に大きく結合することから, この標識T<sub>4</sub>誘導體を用いたRIAで測定した遊離型T<sub>4</sub>が, 患者血清で異常(偽)高値を示す機序も明らかになった。

以上のように, 本研究はT<sub>4</sub>結合が異常に増大している新しいアルブミンバリエーションの性質を明らかにしたもので学位論文として価値あるものと認める。