Osaka University Knowledge Archive

Title	メタネフリン，ノルメタネフリンのラジオイムノアッセイの開発と褐色細胞腫診断に関する研究
Author(s)	飯沼，一茂
Citation	大阪大学，1987，博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/35627
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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

【51】

氏名・(本籍)	飯沼一茂(いいぬまかずしげ)
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 7885 号
学位授与の日付	昭和62年10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	**メタネフリン，ノルメタネフリンのラジオイムノアッセイの開発と褐色細胞腫診断に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 熊原 雄一 (副査) 教授 和田 博　教授 宮井 潔

論文内容の要旨

［目　的］

メタネフリン，ノルメタネフリンはエピネフリン，ノルエピネフリンの第一代謝産物であり，その血中濃度や尿中排泄量を測ることは褐色細胞腫の診断上極めて重要である。しかしながら，従来のメタネフリン，ノルメタネフリンの測定法である比色法や高速液体クロマトグラフィ法は測定感度が低いことや，操作が繁雑であることから，同時に大量検体を測定することは非常に困難であり，臨床上広く応用されるに至っていない。そこで，今回，操作が簡便で大量検体を同時に測定可能なラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）を開発し，褐色細胞腫診断に関する有用性について検討を行った。

［方　法］

1）メタネフリン，ノルメタネフリンに対する特異抗体の作成

Grotaらの方法に従って牛血清アルブミンとメタネフリンまたはノルメタネフリンをマンニッヒ反応により結合させた。メタネフリンまたはノルメタネフリン量として100μｇを1回の免疫で雌家兎に静注し，1ケ月ごとに6回免疫した後，ＲＩＡに使用可能な抗体を得ることができた。

2）^{125}Ｉ－シネフリンと^{125}Ｉ－オクトパミンの調製

メタネフリン，ノルメタネフリンには直接^{125}Ｉ標識することが不可能であるため，側鎖が共通であり，^{125}Ｉ標識可能なシネフリンとオクトパミンを^{125}Ｉ標識し，それぞれのＲＩＡのトレーサとして用いた。また，^{125}Ｉ－シネフリンと^{125}Ｉ－オクトパミンのそれぞれの抗体に対する結合定数を求めた。

3）測定方法

血漿は100μｌを直接ＲＩＡに，一方，尿検体は塩酸酸性下で加水分解し，メタネフリン，ノルメタネ

フリンのフリー血漿を用いて希釈し，その100μlをＲＩＡを使用した。Ｂ／Ｆ分離は２抗体法により行った。

［成　　績］

１）抗体の特異性

メタネフリン抗体の特異性はシネフリンとノルエピネフリンとの交叉反応性が約３％であり，また，ノルメタネフリン抗体の特異性はノルエピネフリンとの交叉反応性は約９％で，そして，オクトパミンとは約４％であった。他の関連物質との交叉反応性はいずれも0.2%以下であった。

２）^{125}Ｉ－シネフリン，および，^{125}Ｉ－オクトパミンの結合定数

メタネフリン抗体に対するシネフリンの結合定数は1.93×10^{8}Ｌ／molであったが，^{125}Ｉ－シネフリンは1.32×10^{10}Ｌ／molと^{125}Ｉ標識することにより，約70倍高い結合定数を示した。同様に，^{125}Ｉ－オクトパミンも約90〜150倍高い結合定数を示した。これらの結合定数は，メタネフリンやノルメタネフリンと同等のものでＲＩＡに使用可能であった。

３）高速液体クロマトグラフィ（ＨＰＬＣ）法との比較

尿中メタネフリン排泄量と尿中ノルメタネフリン排泄量とＨＰＬＣ法と比較検討したところ，メタネフリンＲＩＡでは；$y=0.93x+24.4$，$r=0.91$（$n=55$），ノルメタネフリンＲＩＡでは，$y=0.95x-1.2$，$r=0.96$（$n=56$）と良好な相関関係を示した。

４）臨床成績

健常者24名の血漿メタネフリン値は62±14pg／mℓであり，血漿ノルメタネフリン値は100±40pg／mℓであった。一方，健常者22名の尿中メタネフリン排泄量は154±74μg／day，尿中ノルメタネフリン排泄量は217±109μg／dayであった。褐色細胞腫患者14例の血漿メタネフリン値は29〜683pg／mℓであり，64%が異常高値を示した。また，血漿ノルメタネフリン値は28〜7850pg／mℓと43%で異常高値が認められた。一方，尿中メタネフリン排泄量は606〜6630μg／dayと100%異常高値を示した。また，尿中ノルメタネフリン排泄量は296〜48000μg／dayと１例を除いて異常高値を示した。従って褐色細胞腫の診断には尿中メタネフリン，ノルメタネフリンの測定が有用であった。

［総　　括］

１）特異性の高いメタネフリン抗体とノルメタネフリン抗体を作成した。

２）^{125}Ｉ－シネフリン，^{125}Ｉ－オクトパミンをトレーサとして用いることにより，メタネフリンおよびノルメタネフリンＲＩＡの確立に成功した。

３）本測定系は褐色細胞腫の診断に有用であり，特に尿中メタネフリン，ノルメタネフリンの排泄量を測定することは有用であった。

４）本法は操作も簡便で大量検体を同時に測定することができ，褐色細胞腫のスクリーニング，診断面への応用により臨床上極めて有用な方法である。

論文の審査結果の要旨

本研究は特異性の高いメタネフリン抗体とノルメタネフリン抗体を作成し，さらに，^{125}Ｉ－シネフリン，^{125}Ｉ－オクトパミンをトレーサとして用いることにより，感度および特異性の高いメタネフリンとノルメタネフリンのＲＩＡの確立に成功した。本測定系は褐色細胞腫の診断に有用であり，操作も簡便で，大量検体を同時に測定することができ，褐色細胞腫のスクリーニング，診断面への応用により，臨床上極めて有用な方法であり，学位に値するものと評価できる。