The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	抗グルシトールリジンモノクローナル抗体を用いた血清糖化蛋白ラジオイムノアッセイ法の開発とその臨床応用に関する研究
Author(s)	山本, 佳弘
Citation	大阪大学, 1989, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/36076
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。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

【45】

氏名・(本籍)	山本佳弘（やまもとよしひろ）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 8615 号
学位授与の日付	平成元年3月24日
学位授与の要件	医学研究科内科系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**抗グルシトールリジンモノクローナル抗体を用いた血清糖化蛋白ラジオイムノアッセイ法の開発とその臨床応用に関する研究**
論文審査委員	(主査) 教授 荻原 俊男 (副査) 教授 垂井清一郎　教授 宮井 潔

論文内容の要旨

〔目　的〕

糖尿病患者の血糖コントロール状態を評価する方法として，Glycated serum protein（GSP），Glycated serum albumin（GSA）が注目されている。GSP，GSAは採血時点より2～3週間前までの短期の血糖コントロール状態を表現し，臨床的にきわめて重要である。しかし，これまでGSP，GSAの測定に用いられてきた方法は精度や煩雑さに問題があり，広く臨床に応用するにはきわめて不便であった。本研究は，このGSP測定のためのラジオイムノアッセイ（RIA）法を開発し，その臨床応用を行った。

〔対象と方法〕

1. GSPのRIA法

①Glucitollysine 抗体（^{125}I－M－10抗体）

RIAに用いた抗体は，ウシの還元型糖化LDLを用いてmouseを免疫して得たglucitollysineに対するモノクローナル抗体で，^{125}Iでラベルしたものを RIAに用いた。

②蛋白吸着ビーズ

アッセイ時に一定量の蛋白を吸着させ，測定手順を簡単化させるため，蛋白吸着剤であるCoomassie－Brilliant－BlueをPolystyrene ビーズに吸着させたものを用いた。このビーズ1個当りの蛋白吸着量は2.98±0.15 μg であり，再現性はきわめて良好であった。

③標準糖化ヒト血清アルブミン

標準物質としては還元型糖化ヒト血清アルブミン（Glc_{RED}－HSA）を用いた。この標準糖化ヒトア

ルブミン1モルはglucitollysine 8モルと等価であった。

④血清糖化蛋白（GSP）のRIA

RIAは，ビーズへの血清蛋白の吸着，蛋白の還元および ^{125}I－M－10抗体との反応の3段階から成っている。血清または標準ヒトアルブミン（Glc_{RED}-HSA）とビーズを1時間incubationし，$NaBH_4$により還元した後（30分），^{125}I－M－10抗体と2時間反応させ，ビーズに結合した放射活性をγ-counterで測定した。

2. GSPのRIA法の臨床的評価

22名の健常者，当科外来通院中の59名の糖尿病患者および12名の入院糖尿病患者を対象として，今回開発したRIA法の臨床的評価を行なった。外来患者についてはFPG，GSP，HbAlc を同時に採血し，入院患者については，毎週，FPG，GSP，HbAlc および血糖日内変動を測定した。GSPの検体は，早朝空腹時に採血し，血清を測定まで－20℃で保存した。

〔結　果〕

Glc_{RED}-HSAを標準物質としてRIAを行い，良好な標準曲線を得た。M－10抗体はglucose，lysine，LDL，BSAとは反応せず，glucitollysine を特異的に認識した。また，蛋白濃度の影響を血清蛋白3.5～7.0 mg／dl で調べたところ，全く影響を受けなかった。同時再現性は4.8～6.5％，日差再現性は1.6～6.0％であり，添加回収試験における回収率は98～104％であった。糖尿病患者のOGTT時の血清を用いた検討では，GSPは血糖の影響を受けなかった。

外来通院患者におけるGSPは，1.97±1.23 nmole／mg prot（mean±SD）と健常者の0.47±0.21 nmole／mg protに比し，有意に高値であった。また，IDDM群のGSPは，3.03±1.05 nmole／mg protであり，NIDDM群の1.51±1.00 nmole／mg protに比し有意に高値であった。これらの患者におけるGSPは，同日のFPGとは $r=0.40$（$P<0.01$）の相関しか示さなかったが，同日のHbAlcとは $r=0.85$（$P<0.001$）ときわめて良好な相関を示した。

入院患者12名におけるFPG，一日平均血糖値（MPG）は，入院後4週の間にそれぞれ39％，47％の改善を示した。この間のHbAlc の低下は入院時の値の13％に過ぎなかったが，GSPは43％と著明な低下を示した。GSPと同日，1週前，2週前，3週前，4週前のMPGとの相関を調べたところ，それぞれ $r=0.66$，$r=0.62$，$r=0.60$，$r=0.59$，$r=0.46$ の相関を示し，時間と共に相関係数は漸減した。

〔総　括〕

1. ビーズを用いたGSPのRIA法を開発した。本法のglucitollysineに対する特異性，および測定再現性はきわめて良好であった。
2. 糖尿病患者におけるGSPは，健常者に比し有意に高値を示し，IDDM群におけるGSPは，NIDDM群に比し有意に高値を示した。
3. GSPはHbAlcと $r=0.85$（$P<0.001$）の良好な相関を示した。
4. 入院患者において，4週間の治療により，FPG，一日平均血糖値は39％，47％低下した。この間にHbAlcは13％の低下を示したのみであったが，GSPは43％の著明な低下を示した。

5. ＧＳＰと同日，１週前，２週前，３週前，４週前の一日平均血糖値との相関を調べたところ，それぞれ $r=0.66$，$r=0.62$，$r=0.60$，$r=0.59$，$r=0.46$ の相関を示し，時間と共に相関係数は漸減した。

6. 以上の結果より，ＧＳＰ測定が糖尿病患者の血糖コントロール状態の評価に有用であり，今回開発したＲＩＡ法が臨床的に有用であることが判明した。

論文の審査結果の要旨

糖尿病患者の血糖コントロール状態の指標としてHbAlcが広く測定されているが，このHbAlcより短期のコントロール状態を表す指標として，Glycated serum protein（ＧＳＰ）が注目されている。しかし，これまでのＧＳＰの測定法には種々の欠点があった。本研究は，このＧＳＰを再現性よく測定するため，抗グルシトールリジンモノクローナル抗体を用いたラジオイムノアッセイ法を開発したものである。さらに，本法を用いて臨床におけるＧＳＰ測定の有用性について検討を行い，ＧＳＰが過去２～３週間の平均的血糖コントロール状態を反映することを臨床的に実証した。これらの成果は，糖尿病の実地臨床において大変重要であり，学位に値するものである。