



Title	Characteristics of Experimental Autoimmune Hypophysitis in Rats : Major Antigens are Growth Hormone, Thyrotropin, and Luteinizing Hormone in this Model
Author(s)	渡邊, 潔
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43214
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

氏名	渡邊潔
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第16450号
学位授与年月日	平成13年6月5日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Characteristics of Experimental Autoimmune Hypophysitis in Rats: Major Antigens are Growth Hormone, Thyrotropin, and Luteinizing Hormone in this Model. (ラットにおける実験的自己免疫性下垂体炎の特徴: 主要抗原は成長ホルモン、甲状腺刺激ホルモンおよび黄体形成ホルモンである)
論文審査委員	(主査) 教授 網野 信行
	(副査) 教授 松澤 佑次 教授 萩原 俊男

論文内容の要旨

【目的】

自己免疫性下垂体炎は Goudie らにより1962年に初めて報告された疾患であり、その多くが妊娠末期あるいは出産後早期に発症することから、出産後自己免疫性内分泌症候群の一つと考えられている。本症の血清学的診断法は未だ確立されておらず、診断は主として下垂体の組織診断あるいはMRIなどの画像診断に頼っている。血清学的な診断法が確立されていない要因の一つとして、実験的自己免疫性下垂体炎(EAH)の研究が極めて少ないことが挙げられる。そこで、我々は、雌ラットを用いて EAH を作製し、本モデルにおける病原因子を調べた。

【方法】

雌 Lewis ラットを 8 週齢より用いた。同種下垂体ホモジネートと *Mycobacterium tuberculosis* H37RA を追加補充したフロント完全アジュバント(CFA)との乳化液を足蹠皮下に 7 日間隔で 2 回免疫した。対照群の動物には、リン酸緩衝生理食塩液と CFA との乳化液のみを同様に投与した。免疫後経時的に採血を行って血清を得た。最終免疫 2 週間後あるいは 4 週間後に剖検を行い、内分泌臓器（下垂体、甲状腺、副腎、脾臓、卵巣）を摘出し、中性ホルマリン溶液で固定後、パラフィン包埋した。得られた内分泌臓器および血清を用いて以下の検査を行った。すなわち、1) 内分泌臓器の Hematoxylin-eosin 染色による組織学的検査、2) ラット下垂体抽出抗原（可溶性分画および不溶性分画）に対する血清抗体測定のための酵素免疫学的測定法(ELISA)、3) ラット下垂体抽出抗原に対する Western blotting、4) ラット下垂体前葉ホルモン（成長ホルモン(GH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、黄体形成ホルモン(LH)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、プロラクチン(PRL)、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)）に対する血清抗体測定のための ELISA を行った。

【成績】

- 1) 下垂体免疫群でのみ、最終免疫 2 週間後では 1/6 例に、最終免疫 4 週間後では 4/6 例に軽度・散在性ながら下垂体前葉にのみ単核細胞の浸潤が認められた。また、対照群も含め、いずれの動物にも甲状腺、副腎、脾臓および卵巣には、単核細胞の浸潤はみられなかった。
- 2) 下垂体免疫群では対照群に比べ、下垂体可溶性分画および不溶性分画に対する血清抗体 ELISA の吸光度は有意に高く、それらの値は経時的に上昇した。
- 3) 最終免疫 4 週間後の血清を用いた Western blotting では、下垂体免疫群および対照群の動物とも、下垂体可溶

性分画および不溶性分画に対する染色バンドが何本か検出されたが、下垂体免疫群の動物でのみ、6/6例全例に下垂体可溶性分画および不溶性分画ともに21.5kDa付近のタンパクに対する染色バンドが検出された。この21.5kDa付近のタンパクがラットGHであることを、抗ラットGH血清を用いて確認するとともに、血清をラットGHで吸収することにより、21.5kDa付近のタンパクに反応する抗体が著しく吸収されることを確認した。

4) 下垂体免疫群では対照群に比べ、GH、TSHおよびLHに対する血清抗体ELISAの吸光度が有意に高かった。なお、FSH、PRLおよびACTHに対する血清抗体ELISAの吸光度は、下垂体免疫群と対照群との間に有意差はなかった。

【総括】

雌Lewisラットを同種下垂体で免疫してEAHを作製し、その特徴を調べた。下垂体で免疫することにより、軽度・散在性ながら下垂体前葉特異的に単核細胞の浸潤が認められた。次に、下垂体抽出抗原（可溶性分画および不溶性分画）に対する血清抗体を、ELISAとWestern blottingで調べた。下垂体免疫群では対照群に比べ、下垂体可溶性分画および不溶性分画に対する血清抗体ELISAの吸光度は有意に高く、それらの値は経時に上昇した。Western blottingでは、下垂体免疫群のみ下垂体可溶性分画および不溶性分画ともに21.5kDa付近のタンパクに対する血清抗体が検出され、この21.5kDa付近のタンパクがラットGHであることを確認した。引き続き、ラット下垂体前葉ホルモン（GH、TSH、LH、FSH、PRL、ACTH）に対する血清抗体をELISAで調べたところ、下垂体免疫群でGH、TSHおよびLHに対する抗体が検出された。

以上のことから、ラットEAHには下垂体由来の種々の抗原が関与していること、およびその中でもGH、TSHおよびLHが主要抗原であることが示唆された。また、ヒトの自己免疫性下垂体炎の診断に、これらホルモン（GH、TSH、LH）に対する抗体を測定することが有用な手段となり得る可能性も示唆された。

論文審査の結果の要旨

自己免疫性下垂体炎の血清学的診断法は未だ確立されておらず、診断は主として下垂体の組織診断あるいはMRIなどの画像診断に頼っている。血清学的な診断法が確立されていない要因の一つとして、実験的自己免疫性下垂体炎の研究が極めて少ないことが挙げられる。本研究は、ラットを用いて実験的自己免疫性下垂体炎を作製し、その特徴を検討したものである。

雌Lewisラットを同種下垂体ホモジネートとComplete Freund's adjuvantとの乳化液で免疫した後、内分泌系臓器の組織検査を行うと共に、下垂体抽出抗原および下垂体前葉ホルモンに対する血清抗体を酵素免疫測定法とWestern blottingにより調べた。その結果、同種下垂体免疫により、軽度・散在性ながら下垂体前葉に単核細胞の浸潤が認められた。また、下垂体抽出抗原を用いたWestern blottingで21.5kDa付近のタンパクに対する抗体が検出され、このタンパクがラット成長ホルモンであることを確認すると共に、酵素免疫測定法により下垂体前葉ホルモンである成長ホルモン、甲状腺刺激ホルモンおよび黄体形成ホルモンに対する自己抗体の産生を明らかにした。

これらの知見は、ヒトの自己免疫性下垂体炎の診断に、成長ホルモン、甲状腺刺激ホルモンおよび黄体形成ホルモンに対する血清抗体を測定することが、有用な手段となり得る可能性を示唆しており、学位授与に値するものと考えられる。