

(92)

氏名(生年月日)	矢野喬史 ヤノ タカシ
本籍	
学位の種類	医学博士
学位授与の番号	乙第535号
学位授与の日付	昭和57年3月19日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	46—84 ヒトPTHフラグメントを用いる Homologous Radioimmunoassay
論文審査委員	(主査)教授 鎮目 和夫 (副査)教授 野本 照子, 教授 織畑 秀夫

## 論文内容の要旨

## 目的

副甲状腺ホルモン(PTH)は、カルシウムおよびビタミンD<sub>3</sub>誘導体とともにカルシウム(Ca)代謝を調節する重要なホルモンである。従つて血中PTHの測定は副甲状腺機能異常症はもとより、Ca代謝異常を呈する疾患の病態を知る上で不可欠のものとなりつつある。PTHのラジオイムノアッセイ(RIA)はBersonらによつて開発されてから多くの研究者に検討されてきたが、未だに完全なものとはなっていない。その理由としては、(1)ヒト由来の抗原の入手が困難であること、(2)血中PTHのheterogeneity、(3)標識用抗原の不均一性などがあげられる。そこで著者は免疫用抗原および標準品として合成ヒト46—84PTHを、また標識用抗原として合成45チロシン(Tyr)46—84PTHを用いたPTHのhomologous RIA系の確立を試みた。

## 方法および結果

1) 抗体(抗ヒト46—84PTHモルモット血清)の作製: 免疫用抗原はヒト46—84PTHにキャリアー蛋白を結合することなくモルモットに注射して作製した。そして各種ヒトPTHフラグメントおよび英国MRCより提供されたヒトおよびウシPTH(1—84)標準品との反応性をヒト46—84PTHに対する反応性を100%として50% displacementにおける交叉反応率として調べたところ、N末端フラグメントとはほとんど反応せず、またウシPTHとも3.6%の交叉性しか示さないことからヒトC末端に特異性の高い抗体であることを認めた。

2) 標識抗原(<sup>125</sup>I Tyr 46—84ヒトPTH): <sup>125</sup>I Tyr

46—84ヒトPTHはクロラミンT法により標識した。放射化学的収率はTyr基を持たない抗原では10%未満であるのに対し平均で60%以上と効率よく、また比放射能も250—300μCi/μgと極めて高かつた。またmaximum binding、感度、50% intercept値およびコントロール血清の測定値の再現性はどれも良好で、本標識抗原を用いることにより6—8週間と長期間安定な測定が可能であつた。

3) 測定法の信頼性: One stepでしかも2日間と従来の方法に比べて短時間で十分な感度が得られる操作法を開発した。三種類の濃度のプール血清を用いて測定間の再現性を調べたところ、C.V.は5.0—9.0%で、低濃度においても良好な結果が得られた。また原発性副甲状腺機能亢進症および慢性腎不全患者血清の希釈試験では原点を通る直線性が得られた。二種の血清に種々の濃度のPTHを添加した回収試験では添加した標準PTHの量が少ないところでやや低い回収率を示す傾向が認められたが、平均では95.3±9.8および94.9±10.1%とほぼ満足できる結果を得た。

4) 他の測定法との相関: ウシPTHを用いた測定キットPTH栄研(栄研化学K.K.製)とは相関係数 $r=0.89$ ( $N=85$ )、1—34ヒトPTHを用いたN末端測定法とは $r=0.752$ ( $N=73$ )と良好な相関関係が認められた。

5) 臨床成績: 正常者28例では $0.22 \pm 0.04 \text{ ngEq/ml}$ (Mean±S.D.)で全例が測定可能であつた。原発性副甲状腺機能亢進症38例では $2.15 \pm 4.15$ と高値( $p < 0.001$ )、

偽性副甲状腺機能低下症 6 例では  $0.40 \pm 0.10$  と軽度 ( $p < 0.01$ ) の上昇, また慢性腎不全患者 51 例では  $4.87 \pm 3.57$  と極めて高い値が得られた。一方特発性および術後性副甲状腺機能低下者 27 例では  $0.15 \pm 0.04$  とやや低い傾向が認められた ( $p < 0.01$ )。しかし原発性副甲状腺機能亢進症 38 例のうち 3 例は正常値上限とオーバーラップしていること, また副甲状腺機能低下者ではその測定値が

感度以下から 0.26 にまで分布しており基礎値だけでは正常者との区別は困難であり, これらは従来の heterologous な測定系と同様の結果であった。

#### 結語

本測定法はヒト PTH の C 末端側に特異的な homologous assay 系であり, しかも迅速で感度および精度の高い測定法として臨床的に有用であることが確認された。

## 論文審査の要旨

本研究は合成ヒト 46—84PTH を用い, 迅速でしかも感度の高い PTH のラジオイムノアッセイ法を確立したもので, 医学上価値ある論文と認める。

#### 主論文公表誌

46—84 ヒト PTH フラグメントを用いる Homologous Radioimmunoassay

医学と薬学 第 7 巻 第 1 号 165~175 頁  
(昭和 57 年 1 月 25 日発行)

#### 副論文公表誌

##### 1) 血中ホルモン—ACTH—

ホルモンと臨 22 17~23 (昭 49.11.)

##### 2) 諸種疾患における LH-RH 負荷試験.

ホルモンと臨 23 53~59 (昭 50.2.)

##### 3) 最近開発された Radioimmunoassay

—テストステロン—

最新医学 30 804~808 (昭 50.5.)

##### 4) 各種高血圧症における血漿レニン活性および血漿アルドステロン値.

ホルモンと臨 24 55~59 (昭 51.5.)