甲状腺刺激ホルモン (TSH) の抗原性にかんする研究

大阪大学医学部吉田内科 (指導: 吉田常雄教授)

隠 岐 和 之

STUDIES ON THE ANTIGENICITY OF THYROTROPIC HORMONE

Kazuyuki OKI

The First Department of Internal Medicine, Osaka University Medical School

(Director: Prof. Dr. Tsuneo Yoshida)

概要 甲状腺刺激ホルモン (TSH) は分子量 25,000 ~ 30,000 と称せられる蛋白体で、当然抗原性を有することが予想せられるが、その分離精製法、動物感作方法、抗体証明方法等の難点のため従来この方面の研究はTSHの抗原性を暗示するに止まっていた。著者は cellulose column により分離精製し、超遠心法ならびに濾紙電気泳動法により均一性を確認した豚ならびに人のTSHを抗原とし、adjuvantを用いて家兎を感作し、その血清中にTSH抗体が産生せられることを免疫学的方法 (赤血球凝集反応、赤血球凝集阻止反応およびゲル内沈降反応) ならびに生物学的方法 (中和実験) を用いて証明し、更に豚と人のTSH間に交叉免疫の成立することを同様の諸方法を用いて系統的に証明した。

緒 言

動物に甲状腺刺激ホルモン (TSH) を反復投与すると、その血清中にTSH抵抗性物質が生ずることは古くから知られており¹⁾、これを抗体産生によるものではないかと考えた研究者もあつたが²⁾³⁾、その実証はなかつた。近年になり新しい免疫学的手法の導入と蛋白質分離精製法の進歩に刺激され、成長ホルモンをはじめ二、三の蛋白質ホルモンの抗原性が明らかにせられ、中にはその免疫学的測定 (immunoassay) が試みられつゝあるものもある⁴⁾。当然TSHについても抗原性が再び問題視せられる様になり、その抗原性の臨床的応用、なかんずく人血中TSHの測定への応用も考慮せられる様になつた。しかし従来この方面の研究としては、TSH感作動物血清中にCruickshankら⁵⁾が沈降抗体の存在を、又 Fishmanら⁶⁾が bisdiazotized benidine 処理赤血球を

用い赤血球凝集抗体の存在を報告しているに止まり、TSHの抗原性を系統的かつ多面的に検討し、抗体のTSHに対する specificity を証明した報告はなかつた。著者は豚ならびに人のTSHの抗原性、更に兩種TSH間の交叉免疫の成立を種々の免疫学的ならびに生物学的方法を用い系統的に証明せんとした。

実験材料並びに方法

I. cellulose column による TSH の分離精製^{7)~9)}

豚TSHはプレチロン (シエーリング社粗豚TSH製剤、以下Pと略記) より、人TSHは人下垂体TSH含有アセトン分画より、carboxymethylcellulose (CM-C) ならびに diethylaminoethylcellulose (DEAE-C) による column chromatography を用い分離精製した。人下垂体は死後12時間以内に屍体より摘出、直ちにドライアイスで凍結、2日以内に凍結乾燥したものを-10°Cでdessicator中に保存した。アセトン分画法はBatesらの方法⁷⁾によつた。CM-Cならびに

本論文の要旨は第34回日本内分泌学会一般講演ならびに宿題、シンポジウム¹¹⁾の席上で発表した。

DEAE-C の chromatography の条件は下記の通りで、操作はすべて低温室（5℃）で行なった。

CM-C: solvent I. 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.0) and II. stepwise change to 1.0 M NaCl.

DEAE-C: solvent I. pH 9.5, ionic strength 0.005, sodium glycine buffer, II. linear gradient to pH 9.5, ionic strength 0.10, sodium glycine buffer and III. stepwise change to 0.20 M NaH_2PO_4 .

この様にして得た精製 TSH は超遠心法ならびに濾紙電気泳動法により均一なることを確認した¹²⁾。なお TSH-bioassay は McKenzie 法¹⁰⁾ならびに Bakke-小倉変法¹¹⁾を用いた。

II. 抗 TSH 血清の作成方法

(1) 材料

a) 動物: 成熟雌性白色家兎（体重 2500 g 前後）。

b) 抗原: (i) 豚 TSH-製剤 P ならびに精製豚 TSH (CM-C) による。(ii) 人 TSH-DEAE-C により精製したもの。

c) Ramon's adjuvant¹³⁾: 流動パラフィン 48 cc, ラノリン 16 g および生理的食塩水 24 cc を完全に homogenize した後高圧滅菌し、無菌的に保存した。

(2) 感作方法

抗原 2 mg 宛（人 TSH は 1.5 mg 宛）を約 2 cc の生理的食塩水に溶かし、等量の adjuvant と共に家兎の背部皮下に 1 週間々隔で 3 回注射し、更に 1 週間後 booster として抗原 1 mg を約 4 cc の生理的食塩水に溶かして静注し、その 7～10 日後に採血、後述の赤血球凝集反応を用いその血清の抗体価を測定した。抗体価 1,200 以上の場合抗体産生充分と見做し、その血清を種々の免疫学的ならびに生物学的実験に使用した。booster 後 6 週間またはそれ以上経過し、抗体価の低下した場合は、再度 booster を行ない抗体価の再上昇を得た。なお感作前家兎血清が偽性凝集素を含有しないことを確認した。

III. 抗体の証明方法

A. 赤血球凝集反応 (Boyden)¹⁴⁾

(1) 材料

a) 羊赤血球浮遊液: 採血後直ちに等量の alsever 保存液と混じり氷室に保存、採血後 4～14 日のものを使用した。用時、その約 8 cc を遠沈、上清廃棄、血球を生理的食塩水で 3 回洗滌した後、生理的食塩水に 10% の割合で浮遊せしめ、その 1.5 cc を別の遠心管に移し生理的食塩水を追加し 5 cc とした。

b) 20,000 倍稀釈タンニン酸溶液: タンニン酸を脱イオン水に溶かして 1% とし、氷室に保存。用時、その原液を pH 7.2 isotonic phosphate buffered saline (pH 7.2 IPBS) で 200 倍稀釈し、結局 20,000 倍液とした。

c) isotonic phosphate buffered saline: 生理的食塩水 1 容と 0.15 M phosphate buffer (pH 7.2 IPBS の場合は 0.15 M Na_2HPO_4 76.1 cc + 0.15 M KH_2PO_4 23.9 cc, pH 6.4 IPBS の場合は 0.15 M Na_2HPO_4 32.3 cc + 0.15 M KH_2PO_4 67.7 cc) 1 容を混じた。

d) 抗原液: 抗原 (TSH) を 3 mg / 5 cc の割合に pH 6.4 IPBS に溶解した。

e) 抗血清の非働化と吸収: 抗血清を 56℃ 30 分間非働化、次いで等量の羊赤血球（生理的食塩水で 3 回洗滌後の遠沈血球）を加えて振盪、約 1 時間室温放置後、遠沈により血清を分離し氷室に保存した。

f) 80 倍稀釈モルモット血清: 健常モルモット血清に非働化と吸収を施し氷室に保存。用時、生理的食塩水で 80 倍に稀釈した。

(2) TSH 被覆血球の作成

羊赤血球浮遊液 5 cc に 20,000 倍稀釈タンニン酸溶液 5 cc を加え、充分混和の上 37℃ 10 分間 incubate した後遠沈（2,000 回転 5 分間、以下同様）、上清廃棄、血球を pH 6.4 IPBS で 3 回洗滌、やはり pH 6.4 IPBS 5 cc に浮遊せしめ、それに抗原液 5 cc を加え、37℃ 15 分間 incubate（その間 5 分毎に振盪）した後遠沈、上清廃棄、血球を 80 倍稀釈モルモット血清で 3 回洗滌した後、80 倍稀釈モルモット血清により 3% 浮遊液とした。

(3) 赤血球凝集反応

一連の小試験管 (10×100mm) に抗血清を80倍稀釈モルモット血清で倍数稀釈して、おのおの0.5cc宛入れ(倍数稀釈には小試験管1本毎にホールピペットを更新し、稀釈の誤差を可及的に避けた)、その上にTSH被覆血球の3%浮遊液を1滴(約0.05cc)宛滴下、充分振盪した後室温で静置し、3時間後判定した。完全凝集を起こした最初の試験管(end point)の抗血清稀釈倍数を以てその抗体価としたが、更に精密な値を求める場合には抗血清の一層小刻みな段階稀釈を行なった(例えば×1200, ×1400, ×1600, ×1800……等)。

B. 赤血球凝集阻止反応

一連の小試験管に80倍稀釈モルモット血清で一定度稀釈した抗血清を入れ、それに抗原を倍数稀釈的に加え(この際も1本毎にホールピペットを更新)、抗血清の最終稀釈度を例えば抗体価1,600の場合は1,400倍とした(すなわち、赤血球凝集を起こすに足る最少量より僅か過剰の抗体を含有せしめた)。その上にTSH被覆血球の3%浮遊液を1滴宛滴下、充分振盪した後室温で静置し、3時間後判定した。

C. ゲル内沈降反応

Bowen 変法と Ouchterlony 法¹⁵⁾を併用した。

(1) Bowen 変法

一連の小試験管内に下記の如く下より順次抗血清寒天層、中間層、抗原液層の3層を作り、セロテープで密閉の上、37°Cの恒温器内に静置し、沈降帯の出現を観察した。

a) 抗血清寒天層: 46~48°Cの水浴上で2%寒天液と等量の抗血清(非働化のみ)を混じ、小試験管に分注し室温で凝固。

b) 中間層: 1%寒天液を2cc宛分注し、室温で凝固。

c) 抗原液層: 抗原の各種濃度生理的食塩水溶液を1cc宛入れた。

なお、3層共防腐の目的で0.01%マーゾニンを、中間層には沈降帯の観察を容易ならしめる目的で20μg/cc メチルオレンジを加えた。

(2) Ouchterlony 法

シャーレに1%寒天液(0.01%マーゾニン並びに20μg/cc メチルオレンジ含有)約6ccを入れ、室温で凝固せしめた上に第5図の如き配置で直径8mmの中空の円筒を立て、約25ccの1%寒天液を注加、室温凝固の後円筒を抜去した周囲のwellには各種抗原液を、中央のwellには抗血清(非働化のみ)を入れ、シャーレに蓋をしセロテープで気密にした後37°Cの恒温器内に静置し、沈降帯の出現を観察した。

D. 中和実験

in vivo では McKenzie 法¹⁰⁾, in vitro では Bakke-小倉変法¹¹⁾を用い、抗原液(TSH)に抗血清を一定の割合で加え、4°Cで1夜放置したものの上清を試料とし、対照(抗原液+非感作家兔血清)と比較した。

実験成績

I. 豚TSHの抗原性

A. 赤血球凝集反応

豚TSH被覆血球は抗豚TSH血清により凝集を起こし、上記豚TSH製剤P感作家兔血清は800~1,600、精製豚TSH感作家兔血清は2,000~20,000の抗体価を示した。なお、感作前家兔血清では凝集は起こらなかった。

B. 赤血球凝集阻止反応

上記の赤血球凝集反応は抗原(豚TSH)の添加により阻止せられ、豚TSH製剤PのDEAE-C各分画の凝集阻止力を比較した結果、生物学的TSH活性の最も大なる分画(B₁~B₂)で著明な凝集阻止を認めた(第1図)。また豚血清(非働化、吸収を行なったもの)も凝集を阻止した。

抗原と抗体の量的関係を見る目的で、抗血清を×200宛の差で稀釈し、それぞれに抗原(この場合豚TSH製剤P)を倍数稀釈して加え、得られたend points(完全凝集を起こした最初の試験管)の抗血清稀釈倍数と抗原量の関係を調べた結果、第2図に示す如き指数函数関係が得られた。

C. ゲル内沈降反応

精製豚TSH(豚TSH製剤PのCM-Cならび

第1図. 豚TSH製剤PのDEAE-C各分画の赤血球凝集阻止力の比較

第2図. 赤血球凝集阻止反応における抗原と抗体の量的関係

第1表. 豚TSH-抗豚TSH血清間のゲル内沈降反応

抗 原		抗 体	
豚TSH製剤P		抗精製豚TSH血清	抗豚TSH製剤P血清
豚TSH製剤P各分画	CM-C	A分画	0
		B分画(TSH含有)	1
	DEAE-C	A分画	0
		B分画(TSH含有)	1
		C分画	0

* 1~2: 沈降帯の数 0: 沈降帯出現せず

にDEAE-CのB分画)と抗豚TSH血清の間に1本の沈降帯の出現を認めた(第1表). 豚TSH製剤P-抗豚TSH製剤P血清間において抗原濃度30 μ g/ccの試験管で1本の鋭利な沈降帯を, 抗原濃度500 μ g/ccの試験管では抗原液層側に偏した更に1本の淡い沈降帯を認めた(第3図).

第2表. 抗豚TSH血清による豚TSHの生物学的活性の抑制

(a) McKenzie法

試料	動物数	豚TSH製剤P (m/Su)	含有量 (cc)	生食水 (cc)	測定値(%) (平均 $\pm$ 標準偏差)
(I) 生理的食塩水	6			0.3	104 $\pm$ 6
(II) 豚TSH製剤P	6	6		0.3	213 $\pm$ 49
(III) 非感作家兎血清	6		0.1	0.2	91 $\pm$ 17
(IV) 抗豚TSH血清	6		0.1	0.2	88 $\pm$ 32
(V) 豚TSH製剤P+非感作家兎血清	6	6	0.1	0.2	190 $\pm$ 43
(VI) 豚TSH製剤P+抗豚TSH血清	6	6	0.1	0.2	63 $\pm$ 20

(II) vs. (VI): $P < 0.01$

(V) vs. (VI): $P < 0.01$

(b) Bakke-小倉変法

試料	牛甲状腺切片数	豚TSH製剤P (m/Su)	含有量 (cc)	K.R.P. (cc)	測定値% (平均 $\pm$ 標準偏差)
(I) K.R.P.*	4			0.5	1.80 $\pm$ 0.20
(II) 豚TSH製剤P	4	5		0.5	2.96 $\pm$ 0.26
(III) 抗豚TSH血清	4		0.1	0.4	2.32 $\pm$ 0.18
(IV) 豚TSH製剤P+非感作家兎血清	4	5	0.1	0.4	3.60 $\pm$ 0.28
(V) 豚TSH製剤P+抗豚TSH血清	5	5	0.1	0.4	2.49 $\pm$ 0.27

(II) vs. (V): $P < 0.01$

(IV) vs. (V): $P < 0.01$

* K.R.P. = Krebs-Ringer phosphate buffer

D. 中和実験

(1) McKenzie法(第2表(a))

豚TSH製剤P+抗豚TSH血清群は対照群(豚TSH製剤P+非感作家兎血清)ならびに豚TSH製剤P単独群のいずれに比しても低値を示した. なお抗血清と非感作家兎血清はいずれも0.1ccではTSH活性を示さなかった.

(2) Bakke-小倉変法(第2表(b))

豚TSH製剤P+抗豚TSH血清群は対照群(豚TSH製剤P+非感作家兎血清)ならびに豚TSH製剤P単独群のいずれに比しても低値を示した. なお抗血清(0.1cc)はTSH活性を示さなかった.

II. 人TSHの抗原性

A. 赤血球凝集反応

人TSH被覆血球は人TSH感作家兎血清により凝集を起こした(抗体価は2,000前後). なお感作前の家兎血清は凝集を起こさなかった.

B. 赤血球凝集阻止反応

上記の赤血球凝集は抗原(人TSH)の添加に

第3表. 赤血球凝集反応における人-豚TSH間交叉反応

	抗血清*	抗豚TSH血清	抗人TSH血清	非感作家兎血清
羊赤血球				
豚TSH被覆血球	(++) ⁺	(++)	(-) ⁺	
人TSH被覆血球	(++)	(++)	(-)	

* 血清は何れも非働化 (56°C 30分) と羊赤血球による吸収を施し
80倍稀釈モルモット血清で10倍稀釈したものを使用した
+(++)は完全凝集. (-)は凝集なし

抗原豚 (TSH 製剤 P) の濃度は左より, ① 500 μg/cc, ② 60 μg/cc, ③ 30 μg/cc, ④ 15 μg/cc, ⑤ 7.5 μg/cc, ⑥ 3.8 μg/cc.

③では1本の沈降帯を認めるのみであるが, ①では抗原液層側に偏して更に1本の沈降帯を認める.

第3図. 豚TSH製剤P-抗豚TSH製剤P血清間のゲル内沈降反応

第4図. 粗人TSH (人下垂体アセトン分画物) の DEAE-C 各分画の赤血球凝集阻止力の比較

より阻止せられた. 人血清 (非働化と吸収を行なったもの) も阻止したが, 人血清アルブミンは阻止しなかった.

Ⅲ. 豚ならびに人のTSH間交叉免疫

A. 赤血球凝集反応

中央の well には抗精製豚 TSH 血清 (非働化のみ), 周囲の well には粗人 TSH (人下垂体アセトン分画物) の各種濃度溶液 (① 1 mg/cc, ② 0.5 mg/cc, ③ 250 μg/cc, ④ 125 μg/cc, ⑤ 62 μg/cc, ⑥ 31 μg/cc). ①~②では抗血清側に偏した不鮮明な沈降帯が見られ, ③~④で sharp な1本の線となり, ⑤~⑥と次第に抗原液側に接近するのが見られる.

第5図. 抗豚TSH血清-人TSH間のゲル内沈降反応

豚TSH被覆血球は抗人TSH血清により, 逆に人TSH被覆血球は抗豚TSH血清により凝集を起こした. 対照として用いた非感作家兎血清は豚ならびに人TSH被覆血球のいずれをも凝集させなかった (第3表).

B. 赤血球凝集阻止反応

人TSHは抗豚TSH血清による豚TSH被覆血球の凝集を阻止, すなわち人下垂体アセトン分画物の DEAE-C 分画中生物学的TSH活性の最も大なる分画 (B₁~B₂) が, 著明な凝集阻止を示した (第4図). 人血清 (非働化と吸収を行なったもの) も凝集を阻止したが, 人血清アルブミンでは阻止は見られなかった.

C. ゲル内沈降反応

抗精製豚TSH血清と粗人TSH (人下垂体アセトン分画物) の間に1本の沈降帯の出現を認め (第5図), また豚TSHによる沈降帯と confluent であることを観察した (第6図).

D. 中和実験

McKenzie 法で, 粗人 TSH+抗豚 TSH 血

中央の well には抗豚 TSH 血清 (非働化のみ), 周囲の well ①③⑤には豚 TSH, ②④⑥には粗人 TSH (人下垂体アセトン分画物) を入れる。濃度は①② 500µg/cc, ③④ 100µg/cc, ⑤⑥ 50 µg/cc. 兩種 TSH による沈降帯は互に confluent である。

第 6 図. 抗豚 TSH 血清のゲル内沈降反応

第 4 表. 抗豚 TSH 血清による人 TSH の生物学的活性の抑制

McKenzie 法

試料	動物数	豚 TSH 含有量 (µg)	人 TSH 含有量 (cc)	生食水 (cc)	測定値 (%) (平均±標準偏差)
(I) 豚 TSH 製剤 P	4	8	0.3	0.2	322 ± 57
(II) 粗人 TSH + 非感作家兔血清	4	3	0.1	0.2	381 ± 155
(III) 粗人 TSH + 抗豚 TSH 血清	4	3	0.1	0.2	104 ± 16

(II) vs. (III): $P < 0.01$

* 粗人 TSH: 人下垂体 TSH 含有アセトン分画物

清群は対照群 (粗人 TSH + 非感作家兔血清) に比し低値を示した (第 4 表)。

総括並びに考案

甲状腺刺激ホルモン (TSH) は分子量 25,000 ~ 30,000 と称せられる蛋白体で, 当然抗原性を有するものと予想されていたが, その分離精製法に難点があり, また adjuvant 使用以前の古典的感作方法では充分の抗体産生が得られないことや, 他方感度の高い抗体証明法がない等の理由により, 未だその TSH の抗原性を立証した研究を見ない。

TSH の精製純化の完成とその構造単位の設定は将来に期すべき問題であるが, 著者は現在の段階では最も優秀と考えられる Bates の方法^{7)~9)}により精製し, 超遠心法ならびに濾紙電気泳動法

により均一性を確認した豚ならびに人の TSH を抗原として使用した。

抗体の証明にはまず感度の最も優れた赤血球凝集反応を用い, 豚ならびに人 TSH 感作家兔血清が充分の赤血球凝集抗体を含有することを示し, また抗血清をそれに対応する抗原と preincubate せしめることにより赤血球凝集が阻止せられることを示した。豚 TSH 製剤の DEAE-C 分画中生物学的 TSH 活性の最も大なる分画 (B₁~B₂) が, 特に著明な凝集阻止を示したことは抗体の TSH に対する specificity を示唆するものである。赤血球凝集阻止反応を用い, 抗血清の稀釈倍数と抗原量の間に指数関数関係の成立を認めたが, この関係は抗原抗体反応の特徴の一つと見られる。

一方, 抗体の homogeneity を検討する目的でゲル内沈降反応を行なった結果, 精製豚 TSH-抗精製豚 TSH 血清間には 1 本の沈降帯の出現を認めるのみであつたが, 豚 TSH 製剤 P-抗豚 TSH 製剤血清間には 1 ないし 2 本の沈降帯の出現を見た。豚 TSH 製剤 P が luteinizing hormone (LH) をかなり含有しており, LH 自身抗体産生能を有すること, また豚 TSH 製剤 P の CM-C 又は DE-AEC による精製で LH 含量が著しく減少すること等を併せ考えると, 豚 TSH 製剤 P-抗豚 TSH 製剤 P 血清間の抗原過剰の試験管で見られたなお 1 本の淡い沈降帯は, LH-LH 抗体の反応に由来する可能性が大である。以上要するに, 精製豚 TSH を抗原とした場合, 二つ以上の抗体の産生は証明せられなかつた。

最近になり Werner ら¹⁷⁾は Ouchterlony 法と immunoelectrophoresis により, また Cline ら¹⁸⁾は赤血球凝集反応, 補体結合反応および Ouchterlony 法により, 牛 TSH 感作家兔血清中の TSH 抗体産生を検討し, 著者とはほぼ軌を一にする成績を報じている。

一方, 生物学的方法により中和抗体の存在を証明しようとしたのが中和実験であり, in vivo の McKenzie 法と in vitro の Bakke-小倉変法の両法で豚 TSH の生物学的活性が抗血清により抑

制せられるのを認めた。抗原抗体反応に關与する TSH (抗原性 TSH) と、生物学的測定法で捉えられる TSH (活性 TSH) の異同の問題についてはなお今後の検討を要するが、抗血清により TSH 活性が全く抑制せられたことから、抗原性 TSH が活性 TSH をその内に包含していることが思惟せられる。

同様の中和実験を最近 Werner ら¹⁶⁾は McKenzie 法とラット甲状腺細胞高測定法を用い、また Cline ら¹⁸⁾は Querido らの方法 (マウス甲状腺 I¹³¹ 摂取率を指標とする bioassay) を用いて行ない、いずれも牛 TSH 感作家兎血清中に中和抗体の存在することを証明している。

異種 TSH 間の交叉免疫性に関する系統的な研究はまだ見当らない。著者は種々の免疫学的方法 (赤血球凝集反応、赤血球凝集阻止反応及びゲル内沈降反応) を用い、人と豚の TSH の交叉免疫性を証明し、また中和実験で McKenzie 法を用い抗豚 TSH 血清が、人 TSH の生物学的活性を抑制することを明らかにした。最近 Werner ら¹⁷⁾ならびに McKenzie ら²⁰⁾は同じ McKenzie 法を用い抗牛 TSH 血清が人 TSH の生物学的活性を抑制するのを報告しており、人と牛の間にも交叉免疫が成立するもののようである。従つて交叉免疫が人と猿の間に限られた成長ホルモン¹⁹⁾に比し、TSH の抗原性の種特異性は低いものと考えられ、TSH の各種動物製剤成長ホルモンの場合と異なり、人に有効である事実と併せ考えると興味深い。なお McKenzie ら²⁰⁾は McKenzie 法を用い、抗牛 TSH 血清が粘液水腫患者血清の TSH 活性を抑制するが、甲状腺機能亢進症患者血清に見られる異常 TSH (いわゆる “thyroid activator”) の生物学的活性を抑制しないと報じていることは、“thyroid activator” における抗原構造の特殊性を示唆するものとして興味ぶかい。

以上、著者は豚ならびに人の TSH の抗原性と兩種 TSH 間の交叉免疫性を立証したが、抗体の specificity、抗原性 TSH と活性 TSH の異同等の問題が解決せられれば、それらを基礎とした人血中 TSH の免疫学的測定が可能となるものと考えられる。

結 論

(1) column chromatography により分離精製した豚ならびに人 TSH を用いて家兎を感作し、その血清中に TSH 抗体の存在することを赤血球凝集反応 (Boyden) ならびに赤血球凝集阻止反応を用いて示した。

(2) ゲル内沈降反応により豚 TSH 抗体の単一性を示唆する成績を得た。

(3) in vivo ならびに in vitro の bioassay により、抗豚 TSH 血清が豚 TSH の生物学的活性を中和することを認めた。

(4) 豚と人の TSH 間の交叉免疫性を赤血球凝集反応、赤血球凝集阻止反応およびゲル内沈降反応を用いて証明した。

(5) in vivo の bioassay により、抗豚 TSH 血清が人 TSH の生物学的活性を中和することを認めた。

以上要するに、豚ならびに人の TSH の抗原性とその兩種 TSH 間交叉免疫性を立証し得た。

文 献

- 1) Collip, J.B. & Anderson, E. M.: Lancet, 1: 76—8, 1934. —2) Werner, S.C.: Endocrinology, 22: 291—301, 1938. —3) Rowlands, I. W. & Young, F.G.: J. Physiol., 95: 410—9, 1939. —4) 吉田, 他: 綜合臨床, 印刷中. —5) Cruickshank, B. & Currie, A.R.: Immunology, 1: 13, 1958. —6) Fishman, J., McGarry, E.E. & Beck, J.C.: P.S.E.B.M., 102: 446—7, 1959. —7) Bates, R.W. & Condliffe, P.G.: Recent Progr. Hormone Research, 16: 309—52, 1960. —8) Condliffe, P.G. & Bates, R.W.: J. Biol. Chem., 223: 843—52, 1956. —9) Condliffe, P.G., Bates, R.W. & Fraps, R.M.: Biochim. et Biophys. Acta, 34: 430—9, 1959. —10) McKenzie, J.M.: Endocrinology, 63: 372—82, 1958. —11) 吉田, 熊原: 日本内分泌誌, 37: 340—8, 1961. —12) 岩坪, 他: 日本内分泌誌, 37: 104—5, 1961. —13) Ramon, G., Lemetayer, E. & Richou, R.: Rev. immunol., 1: 199, 1935. —14) Boyden, S.V.: J. Exper. Med., 93: 107—20, 1951. —15) 伝研編: 細菌学実習提要, 丸善, 1959, p. 253—4. —16) Werner, S.C., Otero-Ruiz, E. & Seegal, B. C.: Nature, 185: 472—3, 1960. —17) Werner, S.C., Seegal, B.C. & Osserman, E.F.: J. Clin. Invest., 40: 92—104, 1961. —18) Cline, M.J., Selenkow, H.A. & Brooke, M.S.: Endocrinology, 67: 273—6, 1960. —19) Read, C.H. & Bryan, G.T.: Recent Progr. Hormone Research, 16: 187—218, 1960. —20) McKenzie, J.M. & Fishman, J.: P.S.E.B.M. 105: 126—8, 1960.