

A novel assay for triglycerides using glycerol dehydrogenase and a water-soluble formazan dye, WST-8

河野, 弥季

<https://hdl.handle.net/2324/2534382>

出版情報 : Kyushu University, 2019, 博士 (保健学), 課程博士

バージョン :

権利関係 : Public access to the fulltext file is restricted for unavoidable reason (2)

氏名	箕輪 弥季 (河野 弥季)		
論文名	A novel assay for triglycerides using glycerol dehydrogenase and a water-soluble formazan dye, WST-8 (グリセロール脱水素酵素と水溶性ホルマザン色素 WST-8 を用いた中性脂肪測定法の開発)		
論文調査委員	主査	九州大学	教授 水野 晋一
	副査	九州大学	教授 勝田 仁
	副査	九州大学	教授 有村 秀孝

論文審査の結果の要旨

血清中性脂肪値は冠動脈疾患のリスク因子であるが、近年では超低比重リポタンパク中性脂肪 (very low density lipoprotein triglyceride; VLDL-TG) やレムナント様リポタンパク粒子中性脂肪 (remnant-like lipoprotein triglyceride; RLP-TG) など、より細かい分画中の中性脂肪を測定する意義が高まってきている。これまでに多くの中性脂肪測定法が報告されているが、現在広く普及している方法は酵素法であり、glycerol-3-phosphate oxidase (GPO; EC 1.3.3.21)-peroxidase (POD; EC 1.11.1.7) 法が主流である。この測定法では高濃度までの測定が可能であるが、発色に関わるPODの基質特異性が低いことや反応に使用する酵素数が多いことから試料中の成分と非特異的反応を起こす可能性が高い。さらにVLDL-TGやRLP-TGなどは血清中脂肪と比較し低濃度であるため、従来のGPO-POD法では感度が十分でない場合があり、新たな測定法の開発が求められている。

本研究では、glycerol dehydrogenase (GDH; EC 1.1.1.6) および水溶性のホルマザン色素である2-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-3-(4-nitrophenyl)-5-(2,4-disulphophenyl)-2H-tetrazolium monosodium salt (WST-8) を導入することで、PODを使用しない簡便で精度の高い中性脂肪測定法の開発に成功している。新規測定法は、内因性グリセロール消去反応および本反応の2つの反応系から構成されており、本反応では、中性脂肪をLPLで加水分解しグリセロールと脂肪酸に変換し、生成したグリセロールに補酵素NAD⁺の存在下でジヒドロアセトンとNADHへ変換する。このNADHを1-methoxy PMS存在下にWST-8を還元反応させ、生成された黄色のホルマザンを測定することで、中性脂肪量の濃度を求めることができる。測定の検討においてヘモグロビンと遊離ビリルビンにより誤差が生じることが判明したが、通常の測定域では問題はなく、0.027 mmol/Lから6.4 mmol/Lまで良好な測定結果が得られ、最頻値である0.1 mmol/L以下を十分に評価可能であった。本研究で新規に開発された中性脂肪測定法は、感度・性能ともに優れた簡便な方法であり、他の中性脂肪測定法にも比肩しており、VLDL-TGやRLP-TGの測定も可能となる。さらに測定系はシンプルであり、未知の試料測定の際に非特異的反応を起こす可能性も低く、今後の臨床への応用が期待される。

論文審査においては研究の目的、方法、結果について論文審査委員により種々の質問あるいはコメントがあったが、それぞれの問いに対して適切な説明および回答がなされた。本論文はglycerol dehydrogenaseおよびWST-8による新規の中性脂肪測定法について詳細に検討した論文であり、今後の臨床応用が期待される。これらのことより、調査委員の合議の結果、本論文は博士(保健学)の学位に値すると認めた。