

一般演題 XII ラジオイムノアッセイ (112~117)

112. 酵素分解法を用いた人成長ホルモン (HGH) の radioimmunoassay に関する検討

岡山大学 第3内科

○小川 紀雄 高原 二郎 大藤 真

radioimmunoassay における B と F の分離法は多種あるが, Mitchell らにより開発された蛋白分解酵素によりを破壊する特異な方法につき検討した.

〔原理〕蛋白分解酵素 ficin, papain を用いて遊離の人成長ホルモン (HGH) を分解し, 抗体-HGH 結合物をトリクロル酢酸で沈澱させて B と F を分離する.

〔方法〕9.5%馬血清加 barbitol buffer で希釈した標準 HGH または10倍希釈した検体血清 0.5ml を試験管に入れ, 次いで ^{125}I -HGH 0.1ml を加えて混和し更に10万倍希釈した抗 HGH 血清 0.1ml を加え充分混和する. 23~25°C で15~24時間放置後全放射能活性をカウントし, 次いで ficin 液 (ficin 1mg/ml, reduced-L-glutathione 0.5mg/ml) を 0.5ml 加え 37°C で1時間 incubate し ficin で free の HGH を分解させる. 1時間後 ficin の作用を止めかつ抗体-HGH 結合物を沈澱さすために20%冷トリクロル酢酸 1ml を加え遠沈し上清を捨て試験管中をまるめた濾紙で拭き, 沈澱放射能活性をカウントする. B/F 比より標準曲線を作成し検体測定に利用する.

〔結果〕① 濾紙電気泳動法により本法は F のみでなく B も破壊を受けており, その程度は ficin 濃度に比例した. 良好な標準曲線をうるには ficin 1mg/ml 以上の濃度を必要とし, 濃度上昇に反比例して低くなる互に平行な標準曲線がえられた. ② 抗血清を入れない場合合理的には B%は 0 のはずであるが, 実際には蛋白濃度に依じてかなりのカウントがあり, この非特異的な沈澱は ficin の濃度を上げてても不変であり, 測定試験管中の蛋白量の調整が重要となる. ③ 末端肥大症患者血清の倍々希釈とその測定値とは直線関係となった. ④ 回収実験では HGH 高濃度の部分でやや高目に測定された. ⑤ 2抗体法測定値との関係は相関係数 0.85 でよい相関を示したが, この場合も高濃度部分で本法が高目の測定値となった. ただし高目に測定されるのは HGH 20m μ g/ml 以上の部分で臨床応用したる問題はない.

〔結語〕本法は測定時間が非常に短かくて済み, 2抗体法のように高価な第2抗体を大量に消費することがな

い. また現在最も普及している2抗体法との相関もよかった.

113. $^{75}\text{Selenomethionine}$ の抗体蛋白標識について

昭和大学医学部 放射線科教室

○時田 信彦 平林 晋一 氣賀 正己
石川 信之

〔目的〕Radioimmunoassay では, 抗体蛋白の標識について, その安定性や標識核種の結合などの点でしばしば問題となる. 一般に抗体蛋白の放射性同位元素による標識は, in vitro で行なわれ, その操作は, わづらわしいものである. ここで $^{75}\text{Selenomethionine}$ を利用して in vivo で抗体蛋白に取り込ませることによって Radioimmunoassay を簡略化することを目的とした.

〔材料および方法〕家兎, 3kg 雄のものを使用した. 抗原は1%の BSA で, これを 2ml と $^{75}\text{Selenomethionine}$ 10 μ Ci を隔日に9回から12回耳静脈より静注して抗血清を作り, Ring test によって抗体合成を確認する. 電気泳動により血清を各 component に分け, それぞれの cpm を求め, それぞれの蛋白重量より各 component 当りの Radioactivity を求めた.

次に抗体の precipitate を作成して, この cpm を求め, 蛋白重量より抗体に取り込まれた $^{75}\text{Selenomethionine}$ の activity を測定する.

〔結果〕 $^{75}\text{Selenomethionine}$ は γ -globulin 分画にある抗体蛋白に取り込まれる. しかし BSA による immunization の課程で, 非抗体蛋白に trace 程度に入る場合がある.

〔考按〕in vivo における抗体標識は動物の個体差により影響をうけることがある. しかし Radioimmunoassay において, 例えば peptide hormone 等の測定を行なう場合に, この方法はわづらわしい操作がなく, またこの場合標識核種が γ -emitter で半減期が長い等実際の利点がある.

114. ブドウ糖負荷試験と血中 Insulin の変動について

総合太田病院 内科 下田 新一
放射線科 滝沢 勝右 和多 慎

Radioimmunoassay により血中 Insulin の測定ができ

ようになって以来、血中 insulin 値より臨床的に糖尿病が論じられるようになってきた。最近われわれも radioimmunoassay 法を用い血中 insulin の測定が可能となり、ブドウ糖負荷時における血中 insulin の変動を、正常者、糖尿病患者について比較検討し、経口糖尿病剤投与により糖負荷時の血糖曲線の正常化過程における血中 insulin の変動につき 2～3 の知見をえたので報告する。本研究においては 50g のブドウ糖を経口的に投与し血糖は早期空腹時、ブドウ糖投与 30 分、60 分、90 分、120 分および 180 分後に測定し、血中 insulin は早期空腹時、ブドウ糖投与 30 分、60 分、120 分および 180 分後に測定した。正常者の早期空腹時血中 insulin 値は 10 例の平均値で $20 \pm 3 \mu\text{U/ml}$ で、経口的ブドウ糖負荷後 30 30 分で約 3 倍に増加し、120～180 分後にブドウ糖負荷前値に低下した。一方糖尿病患者の早期空腹時血中 insulin は $10 \mu\text{U/ml}$ 以下の低い値を示すものが多く、また $10 \sim 30 \mu\text{U/ml}$ 程度の血中 insulin 値を示す糖尿病患者でもブドウ糖負荷により血中 insulin の上昇がおそく 60～120 分後にその上昇が見られた。更にブドウ糖負荷 180 分後でも正常者と異なり、ブドウ糖負荷前値に低下するものが少なかった。比較的軽症の糖尿病を経口糖尿病剤で治療し血糖曲線の正常化と同時にブドウ糖負荷による血中 insulin の変動が正常化した 2 例を経験したので併せ報告する。また Tolibutamide 試験時の血糖の変化と血中 insulin の変動についても及言する。

115. 糖尿病における HGH-¹²⁵I および INSULIN

¹³¹I の血中消失曲線の解析

天理よろづ相談所病院内分泌内科

葛谷 英嗣 稲田 満夫 風間 善雄
高山 英世

〔目的〕 糖尿病における成長ホルモンおよびインスリンの代謝動態の関係を知る。

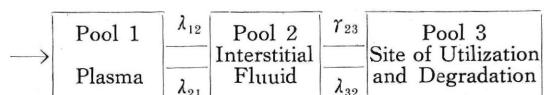
〔対象〕 正常 5 名（平均年齢 24 才）、若年発症糖尿病 6 名（同 26 才）、成人発症糖尿病 7 名（同 59 才）の 3 群。治療開始後のもの、高度肝腎機能障害を有するものは除外した。

〔方法〕 早期空腹時 INSULIN-¹³¹I $50 \mu\text{C}$ 、HGH-¹²⁵I $100 \mu\text{C}$ を single injection により同時静注し、他側肘静脈から、5、10、20、30 分以後 4 時間まで 20 分毎に採血した。血漿分離後 double antibody immunoprecipitation method により、immunoprecipitable HGH-¹²⁵I および INSULIN-¹³¹I 量を測定、血漿中の両 labeled ho-

rmone 濃度とした。

〔分析方法〕 各時間の両 labeled hormone (% dose/liter plasma) 濃度を片対数図表上に plot すると、その減衰曲線はいずれも 3 つの指数関数の和で表わされた。そこで図のごとく 3 compartment model を想定 Skinner らの方法により各 compartment 間の fractional turnover rates (λ_{ij}) を算出、以下の結果をえた。

〔結果〕 ① 対象とした群共通してインスリンの



$\lambda_{03} \rightarrow \lambda_{21}$ (0.157 ± 0.068) は成長ホルモンの λ_{21} (0.109 ± 0.019) に比し高くインスリンの分布は成長ホルモにくらべ急速である。② 対照に比し糖尿病患者ではインスリンの λ_{32} が高く特に若年群 (0.045 ± 0.006 v. s. 0.034 ± 0.04 in the controls, $0.01 < P < 0.025$) で顕著であった。すなわち糖尿病ではインスリンの utilization site への移行の亢進が見られた。一方逆に成長ホルモンは Pool 2 から plasma への recycling (λ_{21}) の増加が認められた (0.028 ± 0.014 (若年糖尿病群), 0.028 ± 0.010 (成人糖尿病群) V.S. 0.015 ± 0.006 in the controls, 各々 $0.001 < P < 0.01$, $0.025 < P < 0.05$)

〔結論〕 成長ホルモン、インスリンの代謝動態の関係を知る上で、3 compartment model は有用であると思われる。糖尿病では、インスリンの utilization rate, 成長ホルモンの plasma への recycling rate の亢進傾向が推測された。

116. ¹²⁵I 標識化インスリンによる血中インスリン濃度測定について

第 2 報 その精度について

大阪医科大学付属病院 放射線科

垂水 泰敏 吾像 康彦 太田 定雄
金崎 美樹 赤木 弘昭

第 1 報に引続き ¹²⁵I 標識化インスリンによる血中インスリン濃度測定、特にその精度につき追究した結果を報告する。

- ① ¹²⁵I 標識化インスリンが ¹³¹I 標識化インスリンに比し長半減期、radiation damage 等の点から一般臨床
- ② 検査法としては有利である。測定精度を向上させるためには種々の製品を試用した結果良質の標識化インスリンおよび抗体をうる事が最大の条件でガラス器具の