

7. Solid-phase Competitive Binding Radioassay による血中自家抗体の定量的測定

京都大学 中央放射線部

森 徹 鳥塚 莞爾

第2内科

池窪 勝治 竹田 洋祐 恒松徳五郎

われわれは solid-phase micro system による血中自家抗体の高感度測定法としての新しい competitive binding radioassay を開発したので報告する。

〔方法並びに結果〕 多くの蛋白性物質が plastic に親和性を有し、非特異的に強く粘着することを利し、内容 280 μ l の plastic cup を抗原性蛋白で pre coat し、吸引除去後更に 10% 家兎血清で coat する。この cup に 125 I 標識抗体含有 IgG を注入し一夜室温で incubate すると、IgG 中の特異抗体の結合により cup 壁への 125 I の付着がおこる。この結合は 0.05 乃至 10 μ g の範囲の非標識抗体含有 IgG の添加により用量反応的に抑制される。同様の競合は抗体含有血清の希釈系列によっても認められ、IgG と血清の反応には質的な差異はみられない。従って被検患者血清 (100 μ l 以下) によって生ずる 125 I-IgG 結合抑制度を非標識 IgG の用量反応曲線と比較することにより、特異抗体の微量定量が可能となった。この方法を先ず甲状腺 microme および Thyroglobulin に対する抗体検索に応用したが、従来の方法に比して約 100 倍の感度を有し、かつ非常に特異的であった。各種甲状腺疾患患者の成績では、橋本病および未治療のバセドウ病では全 73 例に上記いづれかの抗体が検出され、90% 以上の例が両抗体を共有した。 131 I 療法後のバセドウ病患者では全例に両抗体の一過性上昇が認められ、その治療前に対する上昇率は 10 乃至 15 倍 (平均) であった。原発性甲状腺機能低下症にも 75% の陽性率を認めたが、単純性甲状腺腫 9 例中にはわずか 1 例の低価陽性者がみられたのみであった。各種疾患 330 例の検討で 79 例に陽生を認めたが、その 70% が甲状腺、膠原病、自己免疫疾患、悪性腫瘍、腎および内分泌代謝異常と関連していた。

〔結語〕 新しい方法で血中抗体を測定し、本法が簡便、迅速、特異的かつ感度に優れることを示す。本法は血中抗体以外にも応用可能であり、また plastic に親和性を有しない物質についても応用を検討中であり、併せて報告する。

8. 洗剤中添加物 "Alcalase" に対する抗体の Radioimmunoassay 法による証明

虎の門病院内分泌研究室 斎藤十九子

米国ニューヨーク州 Bronx VA Hospital

Solomon A. Berson, Rosalyn S. Yalow

演者らは、*Bacillus subtilis* という細菌からえられた蛋白分解酵素 "Alcalase" を含む洗剤の製造工場従業員に、気管支喘息等のアレルギー性反応がしばしば起こる点より、これら工場従業員の血中に、洗剤添加物 "Alcalase" に対する抗体が存在するか否かを、先ず寒天平板を用いてのオクテルロー法、セルロースアセテート膜を用いての免疫電気泳動法によって検討したが証明できなかった。そこで更に鋭敏と思われる Radioimmunoassay 法によって検討を加えたところ、血中に抗体を証明することができたので、その結果を報告する。即ち Alcalase をモルモットに免疫しその抗体を作製し、一方 125 I を用いて標識後、Sephadex のカラムを通して標識 Alcalase の精製を行なった。サンプルとしては ① 製造工場従業員の血清、② コントロール人血清、③ 免疫モルモット血清、④ コントロールモルモット血清の群を、一定量の 125 I-Alcalase と共に incubate し、その Mixture を濾紙に塗抹し電気泳動を行なった。その結果、モルモット、人、共にコントロール例で標識 Alcalase は α_2 -globulin の位置に単一の radioactivity として検出されたのに対し、従業員 22 名中 19 名の血清と免疫されたモルモット血清においては、更に α_2 -globulin と γ -globulin の間にもう 1 つの radioactive な peak が検出された。また、後者を非標識 Alcalase と反応させて後、同様の操作を行なった場合には、 α_2 -globulin と γ -globulin の間に見られた peak は消失した。更はこれらの血清では、ウサギ抗モルモット γ -globulin 抗体およびウサギ抗ヒト γ -globulin 抗体によっても、抗体結合 125 I-Alcalase を沈澱させることができた。このようにして、洗剤製造工場従業員 22 名中の 19 名に、Alcalase に対する抗体が検出されたが、コントロール 40 例においては、抗体は認められなかった。