

9. 血中 Digoxin の Radioimmunoassay

東京大学 第2内科

久保田治代 開原 成允 飯尾 正宏

村尾 覚

第一ラジオアイソトープ研究所 黒崎 浩己
心臓血管研究所 太田 昭夫

Digitalis は血中濃度が低いため、それを化学的に定量することが困難であった。

1967年 Butler らは digoxin に対する抗体の产生に成功し、ついで1969年 Smith らによって radioimmunoassay による血中 digoxin 濃度測定法が確立された。

われわれはこれらの報告をもとにして血清中 digoxin の radioimmunoassay による測定を試み、測定法について若干の改良を加え、臨床的な routine 検査法として充分もちいうると確認しえたのでここに報告する。

方法はまず digoxin と牛血清アルブミンを coupling して人工抗原とし、ウサギを免疫して抗体を作製、できた抗血清を1万倍に希釈して用いた。標識抗原としては、³H-digoxin、New England Nuclear 社製、比放射能 9~12Ci/mM を希釈して用いた。

測定条件について種々の基礎的検討を加えた結果、測定操作を下記の通り標準化した。

被検血清 0.2ml と標準 digoxin 0.2ml に馬血清 0.2 ml 加えたものを用意し、buffer を加えた後 0.1ml 抗体を加え 5 分放置後 ³H-digoxin 0.1ml を加えてさらに室温 15 分反応させる。dextran coated charcoal 1.0ml 加え遠心分離後、上清をシンチレーター 15ml に溶解し、液体シンチレーションカウンターで測定した。総放射能に対する % bound を求め、標準曲線から検討中の濃度を求めた。

Pool plasma による測定値間の再現性の検討の結果、測定値の標準偏差は $1.14 \pm 0.04 \text{ ng/ml}$ であった。また本測定法による標準曲線の感度は 0.1 ng/ml であった。

以上の方法で測定した結果、digoxin 投与量と血中濃度の間に相関が見られ、中毒患者では異常な高値を示した。

以上の結果から radioimmunoassay による血中 digoxin 濃度測定は、特異性と感度が優れると共に、操作が簡便で時間を要しない点で、臨床的に充分用いうるとの結論をえた。

10. 血漿 steroid hormone の radioimmunoassay

京都大学 第2内科

吉見 輝也 河野 剛

〔研究目的〕 従来 radioimmunoassay は体液中の polypeptide の微量定量法として専ら用いられてきたが、本法を血漿中の微量の steroid hormone の定量に応用し、従来複雑かつ高価な方法によつてしか測定しえなかつた人血漿中の testosterone および aldosterone を定量し、これを各種疾患の病態生理の究明や臨床診断に役立たせる。

〔方法〕 testosterone については、testosterone-3-oxime と家兎 γ -globulin の結合物 1 mg に complete Freund's adjuvant を加えたものを 2 週間おきに 3 回家兎に皮注することによってえた抗 testosterone 血清と ³H-testosterone を用いて radioimmunoassay を行なった。800 倍希釈の抗血清を用いた場合の % bound から 100~1,000 pg の間の testosterone の良好な標準曲線がえられた。血漿採取量は男子と女子でそれぞれ 0.1ml および 1.0ml とし、hexane で前抽出後の hexaneether (8:2) 抽出物を、男子の場合はそのまま、女子の場合はさらに 0.5g の alumina column で hexane-ethanol (100:1.5) にて展開純化後、assay tube 中に乾固した。assay での bound と free の分離には floril 2mg を用いた。aldosterone については、aldosterone-3-oxime と牛血清 albumin との結合物に対する抗 aldosterone 家兎血清と ³H-aldosterone を用いて radioimmunoassay を行なった。8,000 倍希釈の抗血清を用いた場合の % bound から、10~100 pg の間の aldosterone の良好な標準曲線がえられた。血漿採取量は普通 2.0ml とし、これに 500 cpm の ³H-aldosterone を添加後 methylene dichloride で抽出し、これを silica gel column と Bush B₅ 系 paper chromatography で純化、回収率補正後 assay した。

〔成果〕 血漿 testosterone の正常値は男子(15例) $720 \pm 210 (\text{S.D.}) \text{ ng}/100\text{ml}$ 、女子(5例) $30 \pm 16 (\text{S.D.}) \text{ ng}/100\text{ml}$ であった。血漿 aldosterone は正常人(3例)早期臥位で $7 \sim 16 \text{ ng}/100\text{ml}$ で、原発性 aldosterone 症(3例)、idiopathic hyperaldosteronism(1例)、腎血管性高血圧症(1例)、Bartter 症候群(2例)などでは高値を、Addison 病(1例)では低値を示した。

〔結論〕 血漿の steroid hormone の微量測定に radioimmunoassay を応用する方法を開発した。本法では採

血量がごく少量で済み、測定が従来よりも簡便かつ鋭敏で、各種疾患の病態生理の究明や臨床診断に著しく貢献することがわかった。

11. Radioimmunoassay の Minicomputer

による自動化について

大阪医科大学 放射線科

垂水 泰敏 吾妻 康彦 新井 正典
福森 英雄 泉 昭太郎 赤木 弘昭

研究目的：

Radioimmunoassay の精度の向上と一般化のためには測定方法の自動化を行なう必要がある。その方法としては試料処理、計数、計数結果の処理のそれぞれの自動化が必要であるが、先ず計数結果の取扱いについて minicomputer による処理の研究を行ない、そのプログラムを開発した。

研究方法：

Radioimmunoassay としては insulin 等を用い minicomputer としては、Hitac 10 を使用した。従来の

Radioimmunoassay の方法による操作でえた計数を紙テープまたはタイプライターから minicomputer に入れ、直ちに試料中の濃度を印字する方法をとった。使用したプログラム言語はアセンブラーとフォートランの両者を試みた。

研究結果：

1) 標準曲線の近似式としては濃度を沈澱率の逆数の 2 次式として表現するのが最も適した。

2) プログラム言語としてはアセンブラーを用いる方が融通性があり便利であった。

3) 計算結果はグラフによる肉眼的な方法に比して精度が向上し、特に偶発的な誤りを除くことができた。

4) 従来の結果と同様に低濃度になるほど、誤差対真の値の比率は大となった。

考案：

minicomputer は計数結果の取扱いには充分使用でき、精度も向上するが、Radioimmunoassay 全体の自動化については更に試料の処理、計数等の装置に種々の問題があり全面的な改良を加えなければ行なえない。この点は今後の問題である。