

61. グルカゴンの radioimmunoassay

京都大学 第2内科

桜井 英雄 葛谷 英嗣 深瀬 政市

神戸大学 第3内科

井村 裕夫

＜目的＞

グルカゴンの分泌動態は不明な点が多く、その解明のためには、特異的、高感度の測定法の確立が前提である。グルカゴンの radioimmunoassay は、① 血中濃度が低いこと。② avidity の高い抗血清が得にくいこと。③ 血中に腸管由来の交叉反応物質 (GLI) が存在すること。などのために極めて困難であった。われわれは、非常に鋭敏なグルカゴンの radioimmunoassay を確立したので報告する。

＜方法、成果＞

抗グルカゴン血清は、家兎およびモルモットに、カルボジイミドによって豚グルカゴンと家兎(モルモット)アルブミンを結合させたものを抗原とし、一部の群には、Heding らの方法に準じ、グルカゴンポリマーを抗原として作製した。モルモットの1匹で得た抗血清は、50,000倍まで希釈可能であったが、感度は5pgで、一方1羽の家兎より得た抗血清は2,000倍希釈で2pgの感度を有していたので、以後この抗血清を使用した。グルカゴンの標識は、Hunter らの方法で行ない、比放射能500~800 μ c/ μ gのものを得た。B、Fの分離はタルクおよび dextran coated charcoal について検討したが、タルク50mgで濾紙電気泳動法に近似した値が得られた。タルク法は簡便で、しかも測定毎にdamageを補正する利点がある。われわれの抗血清は腸管由来のGLIとも交叉反応を示すので、イヌ膝静脈から採血して測定に供した。9例のイヌの腹腔動脈へ生理食塩水を1.234ml/minの速度で注入しながらの上脘十二指腸静脈のグルカゴンは420~1260pg/ml、平均640.3pg/mlであった。同動脈から5~10%Glucose 1分間注入すると、ほとんどの例でグルカゴンの低下を認めた。5%アルギニン10分間の動脈内投与では20~30秒にピークを有する急速なグルカゴン分泌が認められた。なおスルホニル尿素のグルカゴン分泌抑制作用が言われているが、これについても検討中である。

＜結論＞

本測定法は、感度、精度ともに優れ、グルカゴンの分泌動態の解明に有用である。

62. ガストリンの radioimmunoassay

東京大学 第2内科

加藤 喜久 本木 達也 上井 一男

野村喜重郎 佐々木康人 右田 徹

原田 尚 亀田 治男 村尾 覚

ガストリンの radioimmunoassay は1967年 Mc Guigan により始められて以来、改良を重ねられて臨床的に応用されるに至っている。われわれも2抗体法によりガストリンの radioimmunoassay を試み、種々の検討を行なったので報告する。

〔抗血清〕

第1抗体は Wilson Laboratory (U. S. A.) より入手したモルモット抗ブタガストリン血清を使用し、第2抗体は生化学工業の家兎抗モルモット Ig G 血清を使用した。

〔標識〕

第一ラジオアイソトープ研究所の協力により、Hunter and Greenwood 法により SHG 1 (I. C. I. イギリス) に 125 I を標識し、Sephadex G10およびC50カラムで精製した。得られた 125 I-SHG の比放射能は350~500 μ Ci/ μ g であった。

〔反応系〕

諸条件の基礎的検討を行ない、次の如き反応系を設定した。即ち 125 I-SHG 0.1ml (4,000 cpm), 検体血清 0.1ml, 第1抗体抗血清 0.1ml, 0.3% ウシ血清アルブミン加 0.01M phosphate buffer-0.15M NaCl (PH7.4, 0.01M EDTA 2Na 含有) 0.1ml を混じ、4°C 24時間インキュベート後、正常モルモット血清(100倍) 0.1ml と家兎抗モルモット Ig G 血清 0.2ml を加えて更に4°C 24時間インキュベートし、総放射能(T)を測定、次いで遠沈(3,500rpm, 4°C, 20分)して沈澱を氷冷PBSで洗い、再遠沈して沈澱の放射能(B)を測定してB%を求めた。反応に関係する諸要素は上記PBSで希釈した。

〔標準曲線〕

上記反応系で検体血清の代りに種々濃度の未標識 SHG 1 を加えてB%を測定したが、半対数グラフ上10~500pgで直線状、それ以下では再現性あるS字状曲線を呈した。

〔検討〕 以上の反応系により、抗血清希釈度、インキュベート時間等の諸条件と曲線の関係、測定の再現性などの点につき検討し、更に諸疾患の血清を測定して臨床的検討を行なった。