

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くこと、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 5 pg で、一方 1 羽の家兎より得た抗血清は 2,000 倍希釈で 2 pg 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 $\mu\text{c}/\mu\text{g}$ 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 を補正し得る利点がある。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、イヌ脾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脾十二指腸静脈のグルカゴンは 420~1260 pg/ml、平均 640.3 pg/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 G 10 および C 50 カラムで精製した。得られた ^{125}I -SHG の比放射能は 350~500 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ 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 (3,500 rpm, 4°C, 20 分) して沈殿を氷冷 PBS で洗い、再遠沈して沈殿の放射能 (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 10~500 pg 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。