

供しうることを示している。さらにプログラムの改良、他種 RIA への応用の適切性の検討を続けている。

S-III-3. ステロイドホルモンの Radioimmunoassay

東京女子医科大学 内科

出村 博

ステロイドホルモンの radioimmunoassay (RIA) について以下の検討を加えた。

〔基礎的検討〕(1) Cortisol (F), Deoxycortisol (S) の抗体作製。F および S について、21-Succinate (21-Suc) および 3 (O-carboxymethyl) Oxime を合成した。それらを mixed anhydride 法によってヒト γ -globulin ($\text{h}\gamma\text{G}$) と縮合させてウサギに免疫して抗体を得た。これら抗体の特異性を調べたところ、抗 3-Oxime は抗 21-Suc に較べて必ずしも高くなかった。(2) F-21-Suc-TME- ^{131}I および T-3-O-TME- ^{131}I による血漿 F および T の RIA。F-21-Suc および Testosterone-3-Oxime (T-3-O) を mixed anhydride 法によって tyrosine methyl-ester (TME) と縮合させ、さらに chloramine T 法によって ^{131}I を標識し、これらを抗原として血漿 F および T の RIA を行なった。本法は抗原として ^3H を用いる方法に較べて簡便で安価である。(3) 血漿の抽出純化法。血漿 T や aldosterone (Ald) を column や paper chromatography なしに抽出純化する方法について検討した。本法は測定に要する時間と費用とを節減できる。次に LH-20 column を用いていくつかのホルモンを同時に分離精製して測定する方法を検討した。本法は estrogens の測定に有用である。

〔臨床的応用〕(1) F RIA による血漿 F の測定成績は蛍光比色法による血漿 11-OHCS 値と良く一致した。(2) S Metopirone 1.5 g を 9 AM に 1 回経口投与して血漿 S の反応を RIA によって調べることに、旧来の Metopirone 法よりも簡便に下垂体 ACTH の予備能を診断し得た。(3) T 正常者と各種内分泌疾患について対照時ならびに HCG や LH-RH 等を負荷した際の血漿 T 値を測定し、下垂体性腺系の病態生理を解明した。(4) P 正常者および各種内分泌疾患について、血中 progesterone (P) の動態を RIA によって測定した結果、血漿 P 値には明らかな ACTH 依存性のあることを認めた。(5) Ald 原発性アルドステロン症では高値を示

した。(6) その他のホルモン DHEA- SO_4 , DOC, E_1 , E_2 , E_3 の RIA による測定成績についても検討した。

S-III-4. ^{125}I 標識 Steroidhormone を用いた Testosterone および Cortisol の Radioimmunoassay

京都大学 第二内科

中検

第一 RI 研究所

吉見 輝也

遠藤 治郎

立花 清司

近年 ^3H 標識 Steroidhormone による Radioimmunoassay が報告されて Steroidhormone の微量測定が簡便化されたが、 β 線測定器のない施設でも測定出来るように ^{125}I 標識 Steroidhormone を作製し、これと ^3H 標識ホルモンによる測定法を比較検討した。

^{125}I 標識 Steroidhormone の作製: Testosterone の ^{125}I 標識はまず Testosterone-3 (O-carboxy methyl) Oxime-tyramide Conjugate を作り、この 5 μgr に約 1 mCi の Na^{125}I を Chloramine T で反応させ 85~99% の反応率で ^{125}I -Testosterone を製し、Chloroform で未反応の ^{125}I を除去した後 Sephad-x LH 20 column を用いて精製した。

^{125}I -Cortisol は Cortisol-21 Conjugate を用いて同様に作製した。

〔抗血清の作製〕Testosterone-3 oxime-BSA および Cortisol-21-BSA はそれぞれ Erlanger 法, mixed Anhydride 法により作り Complete freund adjuvant とともに 2 週毎 4~5 回家兎に注射して抗血清を得た。抗血清の特異性は Testosterone は dihydrotestosterone と 12.5%, Cortisol は 11 deoxycortisol と 32%, 21 deoxycortisol と 58% の交叉反応を認めたが他の血中 Steroid との間には測定値に影響する反応は認められなかった。またこれらの抗血清は非特異物質との結合も少なく、Testosterone では試料の Chromatography による精製操作も必要なく、Cortisol では methanol により CBG を不活化するだけで抽出操作とも省略することが出来た。

〔BF の分離〕分離法として Florisil, Dextrancoated charcoal 吸着法、および二抗体法を比較したが、 ^{125}I 標識 Steroidhormone は ^3H 標識物に比べ抗体との結合力が減少するため二抗体法あるいは稀釈した Dextrancoated charcoal 法により良好な Standard curve を得ることが出来た。

本法は ^3H 標識 Steroidhormone の代りに ^{125}I -標識物質を用いることにより well type γ 線カウンターによる Steroid hormone の測定が可能となり、結合力の強い特異的な抗血清が得られれば、Testosterone, Cortisol 以外の Steroidhormone の測定にも応用出来る方法である。

S-III-5. 人成長ホルモン微量定量法の臨床応用

岡山大学 第三内科

小川 紀雄

従来人成長ホルモン (HGH) 測定値について、安静空腹時検体の測定のみでは正常者と HGH 欠損患者とを区別するのは困難であるとされてきた。今回日常検査室で行ないうる HGH 微量定量法を確立し、同法を用いて安静空腹時検体の測定だけから HGH 欠損患者を発見しうることを明らかにしたので報告する。方法は plastic 製 disposable microtiter tray を用いた solid-phase radioimmunoassay によるもので、通常の assay 時より抗 HGH 血清の希釈倍率を高くし、incubation 時間を長くした。すなわち 8 万倍希釈の抗 HGH 家兎血清を室温で 24~48 時間 pre-coating し、incubation は室温で 48 時間または 37°C 3 時間後 4°C 45 時間とした。標準曲線作成時に求めた本法の最少検出量は HGH 25 pg/ml であった ($P < 0.05$)。また 317 検体を各々 duplicate で測定し、その測定値より求めた最少検出量は 28.4 pg/ml で ($P < 0.05$)、標準曲線より求めた最少検出量とほぼ同じで、logit-log paper に plot した標準曲線の直線部分の最少濃度と一致した。正常人安静空腹時プール血清を 10 本に分けて測定した結果は $1,515 \pm 126.4$ (Mean \pm SD) pg/ml で、変動係数は 8.3% であった。正常人男女ともに安静空腹時の検体の測定値は 2 抗体法によるものと本法によるものとの間に有意差はなかったが、21 例の HGH 欠損患者の検体については 2 抗体法による測定値に比較して本法による測定値は有意に ($P < 0.001$) 低く 484 ± 281.6 (Mean \pm SD) pg/ml であった。Mean $+2\text{SD}$ は $1,047.2$ pg/ml で、正常人 46 例中でこの値以下を示したものはわずか 6 例にすぎず本法を用いれば空腹安静時検体の測定のみで HGH 欠損患者のスクリーニングが可能であることが示唆された。また 36 例について 50 g 経口ブドウ糖負荷試験を行なった

が、その最低 HGH 値が subnanogram にまで低下したものはわずか 5 例にすぎず、このことから食事を摂って来院した患者についての一回採血検体を本法を用いて測定することにより、HGH 欠損症患者のスクリーニングが行ないうる可能性が示唆された。

S-III-6. TSH の radioimmunoassay に関する研究

大阪大学 中央臨床検査部

宮井 潔 小豆沢瑞夫 熊原 雄一

ヒト TSH の radioimmunoassay は 1967 年 Odell らによって開発されて以来、広く用いられているが、以下我々の行なった本法の基礎検討について述べる。

(1) 特異性: National Pituitary Agency (NPA) の標識用 TSH を ^{131}I または ^{125}I で標識し、NPA の抗 TSH を用いた radioimmunoassay (二抗体法)において、他の下垂体ホルモン (ACTH, HGH, LH, FSH, LVP, B-TSH) を添加したが、一定の範囲内ではほとんど影響がみられなかった。

(2) 血清希釈、回収率: TSH 高値の原発性甲状腺機能低下症患者血清の希釈曲線は、標準曲線とほぼ平行した。また血清に標準 TSH を添加した時の回収率は 75~100% であった。

(3) 再現性: 同一血清を測定した際の変動係数は、同一 assay 内で 6.5~9.0%, 異なる assay 間で 18.3~23.3% であった。

(4) 標準 TSH, 抗 TSH の比較: 同一標識 TSH (NPA) を用い、3 種の抗 TSH (NPA, Calbiochem 社, NIMR (MRC) で、2 種の標準 TSH (NIMR の Human Thyrotrophin Research Standard A (HTSH-R-STD-A) と 68/38 Standard) の力価を比較した。両標準物質での標準曲線はほぼ平行したが、その力価 (68/38 を R-STD-A であらわした場合) は、Calbiochem 社の抗体よりも MRC の抗体を用いた場合の方がやや高値となった。これは抗体の多様性によるものと考えられる。

(5) bioassay との比較: 原発性甲状腺機能低下症患者血清の TSH を radioimmunoassay (I) と McKenzie bioassay (B) で測定した所、両者はほぼ相関した。本患者に甲状腺ホルモンを投与して血中 TSH を下げた場合、あるいは thyrotropin releasing hormone を投