

154. ヒト膵グルカゴンの Radioimmunoassay

神戸大学 第三内科

井村 裕夫 後藤 康生 清野 裕

京都大学 第二内科

倉八 博之 桜井 英雄

我々は従来より非常に困難とされていたグルカゴンの radioimmunoassay を確立し前回の総会で報告した。このたび膵グルカゴンに特異的に反応する抗血清を入手したので、ヒト膵グルカゴンの radioimmunoassay について基礎的検討を加え、また若干の臨床応用を試みたので報告する。

測定操作は、図に示す如くである。入手した抗血清は 30 k (unger) で、膵全摘患者血漿とは、全く反応を示さず、また酸アルコール法にて、抽出した腸管由来の交叉物質 (GLI) とは、ほとんど交叉反応を示さなかった。この抗血清を用い、標準曲線はほぼ満足するものが得られた。

Radioimmunoassay of pancreatic glucagon.
 0.2 M glycine buffer (containing 0.25% BSA) 0.2
¹²⁵I glucagon 0.05 Sample or standard 0.1
 Antibody 0.05 Trasytol 0.1 (1000 u)
 ↓
 Incubation at 4°C for 120 hrs
 ↓
 10% human plasma 2 ml talc 50 mg
 ↓ 10 Minutes Standing
 Shaking for 10 sec
 ↓ 10 Minutes Standing
 Centrifugation at 2800 rpm
 Decantation

血中膵グルカゴンは、極めて非活性化されやすいため採血にはヘパリン加注射器を用い採取した血液は、直ちにトラジロールを全血 1 cc あたり 1000 u 加え冷却したスピッツに入れ冷凍遠沈にて血漿分離を行なった。

健常男子の空腹時膵グルカゴン値は平均 106.3 ± 34.1 pg/ml で 30 g-l-Arginine を 45 分間点滴静注すると 5 ~ 10 分及び 45 分にピークを示す 2 相性の分泌パターンを示した。一方我々のところで得られた抗血清 (GLI 交叉反応を示す) で同じ方法を用いて測定したところ正常人空腹時グルカゴン値は 520 ~ 1600 pg/ml であった。従って両者の差は GLI に相当するものと考えられる。この抗血清を用いて Arginine 負荷時の値に関しては現在詳細に検討中である。

以上抗血清 30 k を用いる radioimmunoassay は、膵グルカゴンに特異的に測定することのできる方法であ

り、膵グルカゴン分泌動態の研究に資することができる。また GLI と交叉する抗血清を併せて用いることにより、GLI 分泌動態の追求も可能である。

155. ACTH Radioimmunoassay kit の使用経験

京都府立医科大学 第二内科

吉村 学 八谷 孝 塩見 勝彦

宮崎 忠芳 越智 幸男

ACTH の測定は Bioassay 及び Radioimmunoassay でなされているが、特殊な技能を要し一般的ではなかったが、最近英国の Radiochemical Centre で Kit 化し科研化学 KK を介して一般に使用することが出来るようになった為、その使用経験並びにその Kit を用いた変法を検討したので報告する。Radiochemical Centre による血清 5 ml (2—8 ml) を特殊抽出粒子を含む試験管に加えて静置後遠心し、その上清をすて残りの抽出用粒子を蒸留水及び塩酸で洗い、その抽出粒子より 50% Acetone 液で ACTH を抽出し、その Acetone 液を 55°C Water bath, 又は凍結乾燥器で乾燥せしめた。乾燥粉末に指定の buffer を加え、これより一般の immunoassay と同様に抽出済みの buffer 混和サンプル 0.1 ml を取り抗 ACTH 抗体 0.1 ml を加えて 2—4°C で 16—20 時間保生した。保生後 ¹²⁵I- α^{1-24} ACTH を 0.1 ml 加えて再び 6—8 時間保生し、最後に charcoal 溶液で bound と free を分離しカウントした。又変法として血清を抽出せずに直接 buffer と混和し、これに抽出法同様抗 ACTH 抗体を加えて 16—20 時間保生し、保生後 ¹²⁵I- α^{1-24} ACTH を、次で 6—8 時間の保生後 charcoal で B と F を分離した。これら二つの方法を比較すると感度は抽出法の方が直接法よりも良好であった。各種疾患において Insulin 負荷 (0.1 U/kg) を行なった時の ACTH 値の動きをみると血糖の降下において ACTH の上昇をみとめた。共に測定した成長ホルモンの動きと同様の反応曲線をえた。これらの成績のもとに各種疾患患者の負荷前、負荷後 60 分値との ACTH 値を比較し 60 分値が高値を示すことを認めた。

以上の成績より ACTH Radioimmunoassay Kit (Radiochemical Centre) は抽出法および直接法において使用出来るものと考え報告する。