

60. Radioimmunoassay による血漿デソキシコルチコステロン (DOC) 含量の測定

東北大学 第二内科

福地 総逸 中嶋 凱夫 竹内 孝彦
西里 弘二

われわれは少量の血漿中の DOC 含量を radioimmunoassay により簡単に測定することに成功したので発表する。

抗体は DOC oxime と porcine γ globulin との conjugate を complete Freund's adjuvant と共にウサギに2週毎に投与して作製した。血漿 1~3 ml に約 10,000cpm の $1,2^3\text{H}$ -DOC を加え、ジクロロメタン 20 ml で抽出、これをシリカゲル・カラムによって純化した。すなわちジクロロメタン 5 ml で不純物を除いてのち、10%メタノールジクロロメタンでステロイドを溶出した。その後、paper chromatography (Cyclohexane : dioxane : methanol : water 10 : 2 : 10 : 1) により20時間展開して DOC を他のステロイドから分離した。DOC 分画を切りとり 5 ml のメタノールに溶出、1 ml ずつ2本は直ちに counting vial にとり回収率の補正に、他の 1 ml ずつ2本は小試験管にとり radioimmunoassay を行った。radioimmunoassay は 5,000 倍稀釈抗血清 0.25ml を加え、16時間 4°C に incubate 後、硫酸アンモニウム法によって B と F を分離した。

本抗体は他のステロイドとある程度の交叉反応性を示したが、paper chromatography により、これらのステロイドを完全に分離出来た。回収率は 70~80%、盲検値は $0 \pm 0.3\text{ng/dl}$ 、interassay variability は 12.0% 以内、intraassay variability は 7.0% 以内、正常値 $1.4 \sim 12.6$ (5.4 ± 4.8) ng/dl、本態性高血圧症 $0.5 \sim 26.0$ ng/dl、原発性アルドステロン症で $7.8 \sim 30.5\text{ng/dl}$ 、クッシング症候群 $7.3 \sim 41.5\text{ng/dl}$ 、シーハン症候群 $0 \sim 11.7\text{ng/dl}$ 、 17α -hydroxylase 欠乏症 $113 \sim 176\text{ng/dl}$ 、糖質代謝コルチコイド投与中の患者では $0 \sim 2.2\text{ng/dl}$ であった。

本法は簡単に各種疾患の鑑別に有用であることを明らかにした。

61. Radiometric method による微量カテコラミン定量について

第1報 血中カテコラミン定量への基礎的検討

名古屋大学 第2内科

吉田 守宏 山本 楯 大久保 満
杉浦 允彦 柿沢 紀男 宮城島善和
森 一成 水谷 浩也 鈴木与志和
小川 宏一 山崎 昇

1973年 J.T.Coyle らにより発表された、Radiometric method による脳内カテコラミンの微量定量法は、1968年の Engelman による Double-isotope derivative method よりも、その所要時間の面で一段と定量しやすくなったと思われる。今回は J.T.Coyle の方法を追試さらに本法の血中カテコラミン定量への応用につき検討したので報告する。

本法は ^3H -S-Adenosyl-Methionine をメチル基の donor として Catechol-O-Methyl-Transferase (COMT) により ^3H -Normetanephrine に変え、これをさらに ^3H -Vanillin に NaIO_4 によって酸化し、この Counting から standard curve を用いてもとのカテコラミン量を求めるものである。mixing には TAIYO の mix-tower を ^3H -Vanillin の Counting には Aloka 100を用いた。また COMT は $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ fraction まで purify したものをを用いた。 HClO_4 を Blank として Norepinephrine 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 2.0, 4.0, 6.0ng をとり各サンプルに対する cpm を測定すると、 185 ± 14 (Mean $\pm$ SD), 319 ± 39 , 461 ± 15 , 690 ± 91 , 1393 ± 240 , 3486 ± 845 , 8972 ± 989 , 9616 ± 339 となり、かなりよい直線性を示した。

この方法では Norepinephrine と Epinephrine とを区別できない難点があるが、サンプル量が $300\mu\text{cl}$ という微量ですむこと、double-isotope-derivative method よりかなり短時間でできないということ、かなりよい直線性を有することなどは、 $0.2 \sim 0.5\mu\text{g/L}$ という単位で含まれるという血中カテコラミン定量への可能性を示唆するものと考えられる。