

5. Gastrin の Radioimmunoassay に関する検討

○福地 稔

(兵庫医科大・RIセンター)

松岡 徹 木戸 亮 永井 清保

(同・2内)

稻本 一夫

(同・放)

熊原 雄一

(阪大・中央臨床検査部)

Gastrin RIA kit (ダイナボット社製) の基礎検討をおこない、その成績について報告した。本法の標準曲線は片対数グラフにて 50~400 pg/ml の範囲で直線性を示し、Gastrin 高濃度血清の希釈曲線とも良好な平行性が認められた。本法の測定感度は 12.5 pg/ml との成績であった。incubation time について検討したところ、Gastrin 濃度 0 に対する %F/T は 4°C, 10 時間の incubation では 47.8% であったが、24・48・72 時間と延長するにつれて低下することを認めた。しかしこれら 3 者には大差なく、incubation time は 24 時間が適当であるとの結論であった。標準曲線補正用の蛋白の影響をみると、馬血清・家兔血清・牛アルブミンにつき検討したが、kit 在中の gastrin free serum を用いた際、最もよい標準曲線がえられた。Gastrin 濃度既知血清に Gastrin を添加した際の回収率は平均 102.8 ± 8.1% と良好な成績が得られた。2 種の異なった血清を用いて再現性を検討すると、同一 assay 内の C.V. はそれぞれ 3.9, 5.1%, 平均 4.5% あり、assay 間の C.V. はそれぞれ 10.5, 16.3%, 平均 13.4% との成績であった。本法の特異性につき検討したところ、tetragastrin, pentagastrin では 10² pg/ml の添加で軽度の交叉性を示し、CCK-PZ では 10⁴ μU/ml 以上の添加で明らかな交叉性が認められた。一方 secretin では 10⁹ μU/ml まで添加しても何ら影響はみられなかった。本法により測定した健常人空腹時血中 Gastrin 値は 72~117 (平均 94 ± 16) pg/ml、慢性萎縮性胃炎では 89

~285 (平均 158 ± 63) pg/ml、胃潰瘍では 70~143 (平均 96 ± 24) pg/ml、十二指腸潰瘍では 97~141 (平均 119 ± 13) pg/ml、胃切除後では 59~94 (平均 75 ± 12) pg/ml であった。

6. Gastrin の Radioimmunoassay Kit の検討

○井村 寿男 石川 演美 安達 秀樹
森 徹 浜田 哲 鳥塚 菁爾
(京大・放)

ラジオイムノアッセイ法による血清ガストリン値の測定のために現在 CIS よりキットが市販されているが、今回ダイナボットより同様のキットが開発され試用する機会を得たので、その基礎的検討を行った。

標準曲線は比較的バラツキが少なく、Bo/B とガストリン濃度の関係は、ほぼ直線を示し、抗体結合能力は平均 61% であった。4 ± 2°C・24 時間のインキュベーション条件と、37°C・1.5 時間 + 4°C・0.5 時間の条件の間で、標準曲線に大きな差は認められなかった。

アッセイ内の再現性は相対誤差 11.1 ± 6.1% で、アッセイ間の再現性は 19.8 ± 8.5% でほぼ良好であった。25, 50, 100, 200, 400 pg/ml での回収試験では、平均回収率は 26.7~121.5% で低濃度ではやや不良であった。

ヒヨレチストキニンパンクレオザイミン (ブーツ) とテトラガストリンによる交叉試験では、通常の測定範囲では抑制は認められなかった。

800 pg/ml 以上の高濃度血清に於ける希釈試験では、標準曲線、希釈曲線は良好な平行関係を示した。

同一血清を C.I.S キットで測定した値を y 軸、ダイナボットキットでの値を x 軸にとり両者の測定値での相関をみると、 $y = -36.2 + 0.88x$, $r = 0.908$ で、良好な相関を有し、また本キットでの測定値は全体に C.I.S キットよりも高値を示した。

以上標準曲線、同一アッセイ内、アッセイ間での再現性・交叉試験・回収試験・希釈試験で良好な結果が得られ、臨床・研究面に利用しうるものと思われる。

7. ガストリンリーキットの基礎的並びに臨床的検討(抄録)

○笠木 寛治 蔵田駿一郎 風間 善雄
稻田 満夫
(天理よろず相談所病院・内分泌内科)
三宅 建夫
(同・消化器内科)

ダイナボット社のガストリン測定用キットを用い、基礎的臨床的検討を行った。方法はまず検体又は標準ガストリン溶液、ガストリン-125、抗ガストリン家兎血清を 37°C, 1.5 時間又は 4°C, 24 時間 incubation する。B と F の分離には、Chiarcoal dextran 液を用いた。標準曲線は 400 pg/ml まで良好な感度が得られた。希釈テストで希釈血清の B/T(%) は標準曲線のそれとほぼ平行した。4°C にて、incubation 時間による影響を見たが、24 時間にてすでに平衡に達していた。又 37°C 1.5 時間 incubation で抗体と isotope の添加順序を変えて標準曲線を作成したが、原法通り isotope、抗体の順序の方が広範囲に測定可能であり、より実用的と考えられた。次に 4°C, 24 時間と 37°C, 1.5 時間の incubation 法で、それぞれ血清と血漿中のガストリン濃度を比較検討したが、4°C, 24 時間法での血清が最も高く測定され、recovery test での mean recovery は 102.5% と良好であったのに比し、4°C, 24 時間法での血漿及び 37°C, 1.5 時間法での血清又は血漿は mean recovery 90% 以下であった。次に日差変動は 2 回の測定値に有意差なく [0.8 < P { | 0.173 | } < 0.9] 4 重測定も CV(%)、6% 以内で再現性は良好であった。50grO-GTT にて glucose 採取後ガストリン値の変動が見られたので、採血は早朝空腹時が適当と考えられた。早朝

空腹時、血清で 4°C, 24 時間 incubation 法による健常者の平均は 97 ± 26(SD) pg/ml で、糖尿病、胃十二指腸潰瘍、胃癌、慢性腎不全で高値のものが見られた。

8. Radioassay によるビタミン B₁₂ 値測定ならびに各種疾患における B₁₂ 値について

○中島 言子
(京大・中放)
○刈米 重夫 森下 玲兒 三木 昌宏
脇坂 行一
(同・1 内)

phadebas B₁₂ Kit によるビタミン B₁₂ 値について検討した。セファデックス・内因子複合体と結合した B₁₂ の洗浄による溶出は認められない。各 Kit による B₁₂ 標準曲線を比べると、形および傾斜はほぼ一致するが低濃度域では多少のバラツキを認めた。この主な原因はセファデックス・内因子複合体の B₁₂ 結合能に多少の差があるためと考えた。標準曲線の平均値を logit 変換すると、B₁₂ 濃度 25 pg/ml より 1600 pg/ml までは完全な直線を示した。したがってこの範囲内では標準曲線はこの方式で表現して血清 B₁₂ 値測定を行う方が妥当と考えられた。血清試料では medium 中に血清蛋白があり、その存在がセファデックス・内因子複合体と B₁₂ との結合を妨害する可能性について検討した。血清 B₁₂ 抽出液にあらかじめ過量のアルブミン被覆炭末を加え B₁₂ を完全に除去し、その上澄を標準 B₁₂ 系列に加えたものと加えないものを比較した。結果、両者は全く一致した。標準曲線作製にあたっては、B₁₂ 濃度は log スケールに目盛るため、血清 B₁₂ 値は高いほどその正確度は低下する。そこで実際の測定にあたり血清 B₁₂ 値が特に低い場合以外は血清抽出液 1 ml の代りに、0.5 ml を用いる方がよいと考えられる。Lact. Leichmannii による微生物法と本法と本法との血清 B₁₂ 値の関係は有意の正の相関を示した。私達の正常 35 例の本法による血清 B₁₂