

58. 抽出操作を要しない人血漿 11-Deoxycortisol の radioimmunoassay

神戸大学 第3内科

阪本 登 坪井 誠吉 徳宮 俊信
松倉 茂 井村 裕夫

〔目的〕視床下部一下垂体一副腎皮質系の機能検査法として欠くことの出来ないメトピロン試験の指標の1つである血漿 11-Deoxycortisol (S) の測定は極めて重要であるが、測定法が煩雑で一般化していない。今回メトピロン投与後血漿について ethanol precipitated method を用いて測定法を簡略化したので報告する。

〔方法および結果〕radioimmunoassay に用いた抗血清 (S-3-oyime-BSA を抗原として家兎に免疫して得た) の特異性は極めて高く DOC に6.3%交叉する以外他の主要なステロイドについては全て1%以下であった。測定はメトピロン投与後血漿 10 μ l にエタノール 50 μ l, 抗血清 (1:5,000), ³H-S (2,000 dpm) を加え, 標準曲線系列には Steroid free plasma 10 μ l を添加し同様の処置をし2時間室温でインキュベーションした。抗体結合, 非結合分画の分離には飽和硫酸を用いた。正常人メトピロン投与後血漿についてセファデックス LH-20 カラムクロマトグラフィーによる純化操作を加えたもの, および本法により直接測定した値はそれぞれ11.5 \pm 2.4, 11.0 \pm 4.7 μ g/dl で有意差はなかった。ただし午前8時の基礎値について両測定法による実測値はそれぞれ0.07 \pm 0.03, 0.27 \pm 0.08 μ g/dl で明らかに本法で高値になり, 本法による基礎値の測定は無理であった。臨床的に rapid ACTH test で副腎皮質が正常に反応するにもかかわらず, メトピロン投与後血漿 S 値が 5 μ g/dl 以下の場合, 間脳一下垂体系の異常を疑って精査をすすめている。

〔結語〕エタノール添加血漿を直接 radioimmunoassay により血漿 S を測定する方法は多数の検体を短時間に簡単に処理することが可能で有用な方法と考えられた。

59. ACTH Radioimmunoassay を利用した CRF 活性 in vitro 測定法の検討

岡山大学 中央検査部

橋本 浩三

第3内科

細木 秀美 高原 二郎 大藤 真

我々はラット下垂体 incubation を行い, medium 中に放出された ACTH を radioimmunoassay により測定することによる, CRF 活性測定法を検討した。方法は下垂体前葉 1/2 片を用い, Krebs Ringer bicarbonate buffer (glucose および BSA を含む) 中で45分ずつ2回の preincubation を行い, 次いで前後2回, 30分ずつの incubation を行い, 後半の incubation に検体及び視床下部抽出物 (NIAMDD 提供) を加えて検討した。前後の incubation medium 中に放出された ACTH を測定し, それぞれの増加率を算出し, 対照の増加率に対する検体の増加率を CRF 様活性とした。ACTH の radioimmunoassay において標識 ACTH は合成 1-24 ACTH を用い, Hunter-Greenwood の方法で作成し, Quso G-32 を用いて精製したものを使用した。抗体はブタ ACTH を用い家兎を免疫して作成したが, 最終希釈が, 2,000 倍で最も適した標準曲線が得られた。Bound と Free の分離にはデキストラン炭末を用いたが, Norit A の濃度は 0.75~1.0g/dl が適していた。標準品には合成 α h¹⁻³⁹ ACTH を用いたが, これによる標準曲線とラット下垂体の incubation medium の希釈曲線とは良好な並行性を示した。この測定系において arginine-vasopressin, lysine-vasopressin やラットの LH, prolactin, GH などは意味ある干渉を示さなかった。検体は2重測定を行ったが, ACTH測定値の再現性はプール A で174.0 \pm 5.0 pg/tube (平均 \pm 標準偏差), CV=2.9% (n=10), プール B で60.8 \pm 8.5pg/tube, CV=14.0% (n=10) と比較的良好であった。

以上の方法により CRF 活性を測定した結果, 視床下部抽出物とその CRF 活性測定値との間に log dose response の関係が認められた。また, arginine-vasopressin, lysine-vasopressin, norepinephrine 等に CRF 様活性を証明できたが, TRH, LH-RH, prostaglandin E₁ 等には活性を認め得なかった。