

60. Radio immuno precipitation 法による Insulin 抗体測定法ならびに抗体結合能に関 する基礎的研究

神戸大学 第2内科

水野 信彦 岡田 究 馬場 茂明

〔目的〕 Insulin (以下 In と略す) 抗体測定には Radio-In を用いた種々の方法がある。私共は Skom らの, Radio immuno precipitation 法を用いた In 抗体測定法の基礎的検討を行った。特に, 他の測定法との比較と共に ^{125}I -In と In 抗体との結合状態, In 治療中にみられる In 抗体の動態に関する検索を目的とした。

〔方法〕 ① 2 抗体法の基礎的条件の検討, ② 本法と電気泳動法, カラム法, PEG 法との比較, ③ 結合状態の検討, : カラム法より得た ^{125}I -In 結合蛋白を免疫沈澱法, 電気泳動法, カラム法等で検討した。

〔成績〕 ① 基礎的条件を総合し, 臨床的に利用しうる抗体測定系を確立した。② 本法は, 他法と比較するといずれも良好な相関を認めたが, カラム法に比し低い結合率を示した。③ ^{125}I -In と正常人血清とは特異結合は見られなかった。一方 In 治療患者では γ -globulin に特異結合がみられたが, カラム法で一時結合した ^{125}I -In が, 抗人 IgG 血清の添加, もしくは電気的負荷により容易に解離する現象がみられ, 症例によりその解離 ^{125}I -In は全放射能の8%より24%の間にあった。

〔結語〕 私共の検討した Radio immuno precipitation 法による In 抗体測定法は, 特に特異性, 再現性が高く, 感度, 定量性にすぐれていた。しかし, In 抗体と ^{125}I -In の結合状態の検討で In 抗体と結合した ^{125}I -In が容易に解離する現象が認められた。この現象は, Iodination により In に何らかの構造上の変化を受けたためか, あるいは In 抗体の多様性により結合に差のある抗体の存在によるものなのか現在の所不明であるが, In 抗体の測定法や In 抗体の持つ臨床的解析について何らかの意義を持つ可能性が示唆される。

61. Radioimmunoassay による血漿 Oxytocin の測定

福島県立医科大学 第3内科

小川さつき 福地 総逸 三浦 正

中嶋 凱夫

放射性同位元素研究室

平 秀晴 斎藤 勝

抗体は, 合成 oxytocin 10mg と porcine γ -globulin 10mg とを蒸溜水にとき, carbodiimide sulfonate 150mg を加え, 25°C 4 時間 incubate 後 1 晩透析の上, 3 羽の家兎に 2 週毎に投与することにより作成した。 ^{125}I による標識は chloramine T 法で行い, Sephadex G-25 により純化した。測定は, 試料を 0.4ml の 0.1% lysozyme 含有 0.05 M 磷酸緩衝液 (pH 7.4) にとき, ^{125}I -oxytocin 0.1 ml (約 5,000 cpm と, 500 倍希釈抗体 0.1 ml を加え, 4°C 72 時間 incubate 後 dextran-coated charcoal で B と F とを分離することによった。本法の感度は 4pg, 本抗体は arginine-8-vasopressin, 及び lysine-8-vasopressin に対し oxytocin の 0.002% の交叉性を示した。angiotensin I 及び II, ACTH II に対しては有意の交叉性を示さなかった。抽出法の検討は血漿 5ml に一定量の ^{125}I -oxytocin を添加し, 以下の 3 つの方法で行った。(1) Florisil 吸着後 1% 酢酸含有アセトン抽出, (2) 酸性白土吸着後アセトン抽出, (3) アセトン-石油エーテル抽出である。いずれも抽出後減圧減量, 凍結乾固した。Florisil 及び酸性白土の吸着率はそれぞれ, $96.6 \pm 1.5\%$, $85.7 \pm 15.8\%$ であり, その後抽出によりそれぞれ $79.1 \pm 1.9\%$, $66.6 \pm 4.5\%$ を回収した。(3) の方法では, $78.7 \pm 5.8\%$ 回収した。いずれの方法に対しても減圧減量及び凍結乾固の際に回収率の低下は見られなかった。正常者ならびに授乳中産婦の血漿 oxytocin 含量を測定した結果を発表する予定である。本法は従来の生物学的方法に比較して, 簡単でかつ感度も高いので, 臨床的に充分応用出来るものと考えられる。