

一般演題 D₄ C-ペプチド測定法

248. C-ペプチドのラジオイムノアッセイに関する基礎的検討

第一ラジオアイソトープ研究所

牧 健太郎 中沢 信彦 小川 弘
池田 脩

膵機能検査の1つとして、最近報告されたプロインスリン-C-ペプチドラジオイムノアッセイのキット化を目的とし、その基礎的検討を行った。

抗血清は合成ヒトプロインスリン連結ペプチドを家兎に免疫して作成し、¹²⁵I-C-ペプチドはチロシン化連結ペプチドをHunter & Greenwoodの変法により¹²⁵Iで標識した。

アッセイ系は主に2抗体法で行ったが、B・Fの分離法についてはポリエチレングリコール法についても検討した。

抗血清は最終希釈、10,000倍で使用可能な抗血清が得られ、他のペプチドホルモンに対するcross reactionはほとんど認められなかった。

B・Fの分離法についてはポリエチレングリコール法より、2抗体法の方がDose responseが良く、2抗体法では4°C、48時間の1st. インキュベーションが最も適していた。

回収率は98.4~107.3%で良い結果が得られた。また内因性C-ペプチドとの相関も良く、100~300μlの血清を用いても測定可能と思われた。

血清測定値のアッセイ内、およびアッセイ間のバラツキは少なかった。4°Cで保存したキットを用い、コントロール血清を7週間にわたり測定したが、測定値にはほとんど変化は認められなかった。

ブドウ糖負荷時における血中のC-ペプチドとインスリンとを測定したところ、正常者において、平行性がみられた。

以上の結果より、本法は血中のC-ペプチドの測定に十分使用できるものと思われる。

249. ヒトCペプチド測定キットの基礎的ならびに臨床的研究

神戸大学 第3内科

井上 喜通 清野 裕 井村 裕夫

県立塚口病院 内科

森寺邦三郎 井上敬四郎

研究検査部

中田 成己

従来より極めて測定困難であるとされていたヒトCペプチド(CPR)のRIAキットが第一ラジオアイソトープ研究所により開発されたので、このキットについての基礎的、臨床的検討を加えた。CPRのRIAは2抗体法によって行った。

標準曲線各点での変動係数は0.19~2.83、平均1.62±0.27(%)と小さく、得られた標準曲線は、精度、感度とも極めて良好であった。またヒトインスリンとの交叉反応は全く見られなかった。既知濃度のCPRを含む低・中・高濃度の血清3種にCPRを添加し、得られた回収率はそれぞれ92.3±4.8%、128.1±12.4%、114.7±7.2%と概ね良好であった。

同一キット内でのバラツキは変動係数4.2%以下でありキット間でのCPR値の相関係数は0.9666と極めてよい相関を示していた。また第2抗体量を指示書による量と、その2倍量を添加した際のCPR値を比較するとその相関係数0.9927と極めて良好な相関関係を示し、キットに指示された第2抗体の添加量で充分であると考えられる。従ってこのCPRキットは臨床的に使用可能であると思われる。

正常人と糖尿病患者のCPR値をこのキットを用いて検討した。正常人の空腹時CPR値は3.2±0.4ng/mlであり、軽症・中等症・重症糖尿病患者では、それぞれ3.1±0.25、3.4±0.3、2.9±0.7ng/mlであったが、インスリン治療者では1.7±0.4ng/mlと低値であった。50g・OGTT後のCPRは正常人で60分後に9.8±1.3ng/mlの頂値が認められたが未治療糖尿病患者では、いずれの群も糖負荷後90分で軽症7.6±0.9、中等症6.2±0.9、重症4.0±0.9ng/mlの頂値を示し、糖尿病が重症になるにつれて低下した。

また糖負荷後のIRIの頂値とCPRの頂値も各群にお

いてよく相関していた。インスリン治療者では CPR の反応が良好であるものと不良であるものがあり、インスリン治療時の膵内分泌機能の指標ならびに予後の判定にあたり CPR の測定は有意義であろう。

250. ヒト C-peptide 測定の臨床的意義

北里大学 内科

矢島 義忠 渡辺 斌 栗林 忠信

北里大学 放射線部

斉藤 馨 山口 泉 石井 勝己

橋本 省三

C-peptide は膵ラ氏島 B 細胞よりインスリンと同時に等モル分泌されると考えられ、またインスリン抗体と交叉反応を示すことがない。一方通常の IRI 測定法では内因性あるいは外因性インスリンの分別測定が不可能であるためインスリン治療中の患者についてはその内因性インスリン分泌の動態を把握することが不可能であるが、C-peptide の測定による B 細胞内分泌機能の推定によりこの点に関する検討が可能となったと考えられる。

①糖尿病患者の空腹時及び朝食後 2 時間の血中 CPR を測定しその臨床的意義について若干の検討を行った。CPR は第一 R I 研究所製キットを用いて測定した。標準曲線、回収試験、希釈試験について良好な結果が得られ、Assay 内、Assay 間の再現性も良好であった。糖尿病患者の朝食後 2 時間の血清 CPR 値は食事療法群 (18 例) では $4.92 \pm 1.43 \text{ ng/ml}$ 、SU 剤投与群 (15 例) では $4.35 \pm 1.01 \text{ ng/ml}$ 、BG 剤投与群 (4 例) では $5.45 \pm 1.79 \text{ ng/ml}$ であった。インスリン治療群では若年発症型の Control 不良群 (13 例) では空腹時 0.98 ± 0.55 、朝食後 2 時間 1.58 ± 0.36 と低値を示したのに対し、Control 状態の安定した群 (16 例) では空腹時 3.13 ± 1.38 、朝食後 2 時間後 6.33 ± 2.62 であった。インスリン療法の適応決定、投与量決定に有力な情報が得られた。

②ヒト尿中 CPR 測定について検討を行った。良好な標準曲線が得られ、原尿の希釈試験では 30 倍以上では尿中物質によると思われる阻害の影響が認められず安定した測定値が得られた。30~40 倍希釈尿への C-peptide $0.39 \sim 12.5 \text{ ng}$ の添加時の回収率は $95.5 \sim 115.3\%$ 、Assay 内再現性は 30 倍尿で 10.3% 、40 倍尿では 3.5% であった。健常者 24 時間の尿中 CPR 排泄量は $71 \sim 108 \mu\text{g/日}$ であった。糖尿病例についても検討した。

251. C-peptide の Radioimmunoassay に関する検討

兵庫医科大学 R I センター診療部

南本 正篤 尾上 公一 仲座 良造

兵頭 加代 立花 敬三 福地 稔

第 2 内科

木戸 亮 松岡 徹 永井 清保

〔目的〕Insulin の Radioimmunoassay (RIA) は最も早く確立され、今日広く臨床に応用されている。ところが Insulin 測定の必要性が比較的高い Insulin 治療患者においては、投与中の Insulin やそれによる抗体の干渉など問題があり正確に膵 β 細胞からの Insulin 分泌能を知ることが困難であった。最近 C-peptide の RIA が確立され、注目を集めている。C-peptide は膵 Langerhans 島の分泌顆粒に Insulin と等モル存在し、刺激に対し Insulin と共に血中に放出され、Insulin と免疫学的に交叉性を持たないことから血中 CPR を測定することから膵 β 細胞の Insulin 分泌能を知ることが可能と考えられている。我々は C-Peptide の RIA につき測定法の基礎的検討を行うと共に臨床応用の意義と問題点につき検討を行ったのでその成績につき報告する。

〔方法〕C-Peptide RIA kit (第一ラジオアイソトープ研究所製)を用い、測定法の基礎的検討を行うと共に各種 Insulin および glucagon との交叉性や Insulin 抗体による干渉などの検討を行った。さらに臨床応用の成績については健常人および各種治療をうけている糖尿病患者に OGTT を施行し IRI, CPR を測定比較し、測定値判定の基準を検討した。

〔成績〕C-Peptide RIA Kit は測定法として十分満足できるものであり、糖尿病患者の CPR を測定することにより Insulin 治療の有無にかかわらず膵 β 細胞の Insulin 分泌能を知ることが可能であり、特に糖尿病患者の治療法の選択や決定に CPR 測定が有用との成績をえた。