

266. Glucagon の radioimmunoassay の 基礎的検討

名古屋大学 第1内科

板津 武晴 伊藤 光泰 鈴木 進
仁瓶 礼之 富田 明夫

従来、グルカゴンの RIA は抗体作製の困難性、グルカゴンの radioiodination の不安定性等のため、広く普及するに至っていない。そこで我々は異なった方法で作製した2種類のグルカゴン抗血清及びラクトペルオキシダーゼ法による標識グルカゴンを用い、グルカゴンの RIA の基礎的検討をしたので報告する。

〔方法〕①グルカゴン抗血清：提供された牛豚膵グルカゴン (Lily 社) を polyvinylpyrrolidone と結合させたもの並びに carbodi imide で BSA と結合させたものを抗原として家兎に1~1.5ヶ月ごとに感作し、最終 booster10~20日後に採血した。

②グルカゴン標識：Lily 製グルカゴンをラクトペルオキシダーゼ法にて ^{125}I , (^{131}I) を標識し、Sephadex G-25のカラムにて精製した。③測定方法：Unger らの方法に準じて、標準グルカゴンあるいはサンプル0.1ml, 適当に希釈した抗グルカゴン血清0.1ml, トラジロール1000単位を加え、0.2Mグルカゴン緩衝液0.6ml, ^{125}I グルカゴン (15~30pg) 0.1ml と共に reaction mixture とし、3~4日間インキュベートした。Bound form と Free form の分離は、デキストラン炭末法で行った。

〔結果〕①初回免疫より3~4ヶ月後の抗体価は、PVP 法では final 10000~20000 倍 (4/4 匁), carbodiimide 法では 40000~80000 倍 (3/4 匹) であった。後者の抗血清による Standard curve は、比較的良好であった。②Sephadex G-25のカラム (1×25cm) を用い0.2M グルシン緩衝液 (pH 8.7) で溶出し精製した標識グルカゴンは、2つの peak を示し、第一の peak が抗体との結合も比較的良好な ^{125}I グルカゴンと考えられた。0.01M リン酸緩衝液 (pH 7.5) で溶出した ^{125}I グルカゴンでもほぼ満足できると考えられた。比放射能は200~250 $\mu\text{Ci}/\mu\text{g}$ であった。〔結語〕自家作製した抗体及びラクトペルオキシダーゼ法による標識を用いてグルカゴンの RIA について基礎的検討を行った。この方法によるグルカゴンの測定が可能と考えられた。

267. 各種肝疾患における膵グルカゴンの血 中動態

横須賀共済病院 内科

金山 正明 小泉 精策 坂本 竜
検査科

中島 公雄

〔目的〕Unger らをはじめとして、糖尿病患者では、アルギニン負荷の際の膵グルカゴン反応が過剰反応を示すとの報告が相次いでみられ、膵ラ氏島の α 細胞機能亢進と糖尿病の病態が密接な関連性を有することが論じられている。一方、肝疾患においては、耐糖能異常が高頻度に見られ、インスリンの過剰分泌がみられることが知られているが、肝疾患時膵の α 細胞機能については極めて知見に乏しい。今回、我々は、各種肝疾患患者に対してアルギニン負荷の際の膵グルカゴン分泌動態を観察したので報告する。

〔方法〕診断の決定した、急性肝炎、慢性肝炎、肝硬変など肝疾患患者38名について、早朝空腹時に10%アルギニン液300ml を30分間で点滴静注し、その際の免疫グルカゴン (IRG) を経時的に測定し正常対照と比較した。IRG の測定は膵グルカゴンに特異的な抗血清30Kを用いる Radioimmunoassay により行った。

〔成績および結論〕空腹時における血中 IRG 正常対照の $61.1 \pm 11.6 \text{ pg/ml}$ に比して肝硬変群では $120.8 \pm 19.8 \text{ pg/ml}$ と有意の高値を示したが、他の肝疾患群では有意の差異はみられなかった。アルギニン負荷後の反応は、肝硬変群ではいずれも著明な高反応がみられ、各時間とも対照に比して有意の高測であった。慢性肝炎、急性肝炎例においても対照に比して高反応を示すものが多く、肝疾患ではアルギニン負荷時の IRG 反応が過剰反応を示し肝硬変患者で特に著明であることが確認された。このような IRG 過剰反応の機序としては細胞からの分泌とともに肝における不活性化遅延を考慮する必要があるので、肝疾患時の外因性グルカゴンの血中消失速度について現在検討中である。