

D. 測定法 III (invitroイムノアッセイ)

-41- T-3 ラジオイムノアッセイにおけるポリエチレングリコールによる B₂ P 分離法の有用性について

神戸市立中央市民病院 臨床病理科

○ 大城徳成, 森本義人, 水田 亘

同 内 科

森 徹, 高山英世

従来 トリヨードサイロニン (T-3) のラジオイムノアッセイの B₂ P 分離には 2 抗体法やデキストラン炭末 (DCC) が広く用いられて来たが、前者では長時間を要し非経済的であり、後者では DCC 混和後の時間および温度管理に厳密を要し、また遠心後の上清除去時に沈殿物が流出しやすいなどの問題がある。

今回我々はポリエチレングリコール (PEG) を用いる T-3 リアキット II (ダイナポット社) の提供をうけ、基礎的ならびに臨床的検討を行なったその有用性を認めた。基礎的検討として、先づ全測定の間便化を意図し、短時間

室温インキュベート法の是非について検討した。

25 度 2 時間のインキュベイトにより従来の 4 度 24 時間法と変らぬ結合がみられ、37 度でのより以上の改善はみられなかった。PEG 添加量過剰までの時間については、0 分、30 分、および 60 分で検討したが、いずれの標準曲線も良好な一致を示し、DCC 法に比して安定性が高かった。

さらに選沈時の温度について 4、15、25 および 37 度の比較を行なったが、4 度では PEG のバックアップが悪く上清分離時に沈殿物の流出傾向がみられ結合率も低かった。しかし他の温度ではほぼ良好な成績が得られた。

添加 PEG 量については規定量の 1/2 および 2 倍の添加でも標準

曲線に本質的な差異がみられず、この面でも DCC 法に優れた。本法と DCC 法の標準曲線の比較では PEG 法で測定ブランクが低く、より低レベルの T-3 測定に有用と考えられ、

0.25 ng/ml の T-3 濃度が測定可能であった。また同一試料多重測定における再現性も 9% 前後を示し、ほぼ満足出来るものであった。

PEG 法と DCC 法の測定値の間には相関係数 0.94、回帰直線 $Y=1.08X+0.07$ となり、高 T-3 域で DCC 法が大となる傾向がみられたが、概して両者間に良好な一致をみとめた。

臨床的検討成績としては、健康正常人 25 例の測定成績は 1.05 から 1.90 ng/ml の間に分布し、平均 1.48 ± 0.25 (s.d.) ng/ml で、正常範囲は 1.00 ないし 2.00 ng/ml であった。バセドウ病未治療例は 3.15 ng/ml 以上を示し、原発性甲状腺機能低下症は 0.5 ng/ml 以下の低値例が多かったが、1.20 ng/ml と正常範囲を示すものもあった。その他の各種甲状腺疾患患者および TBG 異常症でも他の検査成績や臨床所見とよく一致した成績が得られた。

以上から PEG 法は測定手技上その簡便性、安定性において DCC 法に優れ、室温 2 時間のインキュベートで充分であり、優れたルチン検査法であると結論した。

-42- Angiotensin I の RIA を用いる血漿レニン濃度および血漿レニン基質濃度測定法の検討

東京女子医大 内

○ 野村 馨, 出村 博, 兼子洋子,
小田桐恵美, 出村 黎子, 鎮目和夫

[目的] 現在血中レニン測定法としては、血漿中のレニン (R) とレニン基質 (S) とを *in vitro* で反応させ、生成させたアンギオテンシン I (Ang I) を RIA によって測定した結果を血漿レニン活性として用いている。しかし血漿レニン濃度 (PRC) および血漿レニン基質濃度 (PRS) そのものを正確に測定することにより病態をより正確に把握できる。そこで我々は PRC および PRS 測定法についての基礎的検討を行なった。[方法および成績] (1) PRS 測定は検体に内因性 S をすべて Ang I に転換させるのに十分量の R を加えることにより得られる。そこでこの測定に使用する R について検討した。

まず Haas らの方法により、100g のヒト剖検腎より、ラット bioassay で約 0.2 mg Ang I/ml 相当の粗 R 溶液を得た。この粗 R 溶液を正常ヒト血漿 0.5 ml と 37°C で incubate したところ添加量が 0 ~ 1.0 ml 迄は生成 Ang I は増大したが、2.0 ml ではやや減少した。incubation 時間について検討したところ、14 時間までは Ang I 生成の漸増がみられた。次に市販のブタレニンに S として Cohn 分画 IV-4 (後述) を加えて 2 時間 incubate すると、生成 Ang I はブタレニン 0 ~ 1.0 単位の間では増加し、2.0 単位ではやや減少した。(2) PRC 測定は内因性 S を除去した検体に一定量の S を加えて、生成された Ang I を RIA にて測定し得られる。我々は添加 S として、まずヒト α_2 グロブリンを含有する Cohn 分画 IV-4 100 mg, 50 mg のみを 37°C で incubate したところ R を加えなくても Ang I が生成された。しかし 1 mg では 14 時間 incubate しても Ang I は生成されず、R を加えると始めて Ang I が生成された。そこで抽出ヒト R の一定量に Cohn 分画 0.1 ~ 1.0 mg を加えると用量比例を示す Ang I の生成がみられた。次に Haas らの方法によってヒトブール血漿から S を粗抽出し、単独に incubate したところ Ang I の生成がみられたが、一定量の R を加えることによりさらに有意の Ang I 生成の増加がみられた。現在、両側腎抽出したヒンジ血漿を添加 S として用いる PRC 測定法についても検討中である。

以上の基礎的検討より、粗抽出ヒト腎 R および市販のブタ R は PRS 測定に、Cohn 分画 IV-4 およびヒトブール血漿は PRC 測定に利用し得ると考えられた。