

-47- Radioimmunoassay 法による血漿 dehydroepi-androsterone の測定法およびその臨床経験

福島医大 第3内科

○春山和見, 中嶋凱夫, 福地総逸
同, RI 研究室

齋藤 勝

〔実験方法〕抗体はまず carboxymethoxylamine hemi-hydrochloride 法により DHEA-3-oxime を作製し, これとブタ血清グロブリンを chlorocarbonate 法により結合させて, ウサギに3週間毎に注射して作製した。標識抗原 (^3H -DHEA) は $0.25 \text{ mCi}/0.0034 \text{ mg}$ (RCC) を使用した。血漿 $50 \mu\text{L}$ に ^3H -DHEA (約10000 cpm) $100 \mu\text{L}$ を混じ, methanol 1 mL を加えて振盪, 遠心除蛋白後上清 $200 \mu\text{L}$ を 40°C 以下で減圧乾固した。これに抗体 $250 \mu\text{L}$ (約3000倍) を入れ 4°C で12時間 incubate した。遊離分画と結合分画の分離には飽和硫酸を使用した。〔結果〕本抗体の特異性は DHEA との反応性を100とした場合, cortisol との交叉反応性は 7.2×10^{-6} , testosterone とは 1.2×10^{-7} , 17α -OH-progesterone とは 3.6×10^{-7} , DHEA-sulfate とは0で極めて特異性が高かった。本法による回収率は90%以上, water blank 値は $0 \pm 0.07 \text{ pg}$, 測定感度は 1 pg 以下であった。intraassay variability は $2.9 \pm 2.12\%$, interassay variability は $3.6 \pm 4.11\%$, accuracy $0.7 \pm 0.43\%$ 。正常者19例の測定値は $0.18 \pm 0.10 \mu\text{g}/\text{dL}$ (男性11例は $0.21 \pm 0.14 \mu\text{g}/\text{dL}$, 女性8例は $0.17 \pm 0.22 \mu\text{g}/\text{dL}$)。本態性高血圧症の中で低レニン群では $0.13 \pm 0.08 \mu\text{g}/\text{dL}$ ($0.15 < P < 0.20$) の低値, 正常および高レニン群では $0.28 \pm 0.15 \mu\text{g}/\text{dL}$ ($0.1 < P < 0.15$) とやや高値を示した。15例に ACTH-Z を筋注射した後6時間目には $0.21 \pm 0.12 \mu\text{g}/\text{dL}$ から $0.29 \pm 0.18 \mu\text{g}/\text{dL}$ ($P > 0.01$) と上昇, この中3例に metopirone を投与したところ $0.19 \pm 0.13 \mu\text{g}/\text{dL}$ から $0.24 \pm 0.16 \mu\text{g}/\text{dL}$ ($P > 0.01$) と上昇した。dexamethasone 投与後の値は $0.21 \pm 0.15 \mu\text{g}/\text{dL}$ から $0.16 \pm 0.08 \mu\text{g}/\text{dL}$ と低下した ($P > 0.01$)。4例に対し angiotensin II を $10 \text{ ng}/\text{分}$ の速度で点滴静注したところ $0.21 \pm 0.14 \mu\text{g}/\text{dL}$ から $0.25 \pm 0.19 \mu\text{g}/\text{dL}$ とやや上昇した。原発性アルドステロン症の2例では $0.19 \pm 0.07 \mu\text{g}/\text{dL}$ とほぼ正常, クッシング症候群の1例では $0.02 \mu\text{g}/\text{dL}$ と極めて低い値を示した。〔結論〕最近高血圧症において DHEA の意義が注目され, その測定法の開発が盛んに行なわれる様になった。我々は, ウサギから極めて良質の抗体を作成することに成功し, これを利用して各種高血圧症の P-DHEA を測定した。その結果, DHEA は ACTH のみでなくレニン-アンギオテンシン系とも関連を有すると思われる結果がえられた。

-48- Radioimmunoassay (RIA) による血漿 18-hydroxy-11-deoxycorticosterone (18-OH-DOC) 測定法の開発とその臨床応用

福島医大 第3内科

中嶋凱夫, 春山和見, 福地総逸
同, RI 研究室

齋藤 勝

RIA による血漿 18-OH-DOC の測定法の開発を試み, 本態性高血圧症について, その血中含量を検討した。

〔方法〕抗血清はまず, 18-OH-DOC の 3-oxime を作成し, ブタ γ -globulin と結合させ家兎に投与し作製した。 $1,2$ - ^3H -18-OH-DOC (比放射能 $35 \sim 51 \text{ Ci}/\text{mM}$) は3週間毎 paper chromatography (cyclohexane 10: ethanol 2: dioxan 10: water 1) にて純化して使用した。

18-OH-DOC は3週間毎に純化し ethanol に溶解して使用した。血漿 18-OH-DOC の抽出には, 血漿 $2 \sim 3 \text{ mL}$ より dichloromethane にて抽出, 洗滌, 乾固後, 純水を用いる LH 20 column chromatography ($55 \times 1 \text{ cm}$) にて分離, 精製し, RIA を行った。RIA は1000倍稀釈抗血清を用い, B/F 分離には飽和硫酸を使用した。〔成績〕 $1,2$ - ^3H -18-OH-DOC は ethanol 溶液で比較的安定であったが, methanol 溶液では不安定であった。 ^3H -18-OH-DOC 3週間 ethanol 溶液に保存すると10~15%の不純物が生成された。そこで標準 18-OH-DOC としては $1 \mu\text{g}$ ずつ分注乾固し使用時 ethanol に溶解し使用した。 ^3H -18-OH-DOC 2500 dpm 及び1000倍稀釈抗血清を用いて, $0 \sim 200 \text{ pg}$ の間で良好な標準曲線をうることが出来た。最小検出量は 5 pg であった。本抗血清の交叉反応率は 18-OH-DOC との結合率を100%とした場合 DOC 0.035, Comp F, B, S, DHEA, Aldosterone < 0.014 , progesterone 0.373, pregnenolone 0.150, testosterone 1.38% であった。

18-OH-DOC は LH-20 column 上 $100 \sim 112 \text{ mL}$ の分画に溶出された。本法の回収率は $46.4 \pm 7.5\%$ ($n=40$)。water blank $0.85 \pm 0.20 \text{ ng}/\text{dL}$ ($n=4$)。accuracy および precision は charcoal 処理血漿に標準 18-OH-DOC を $20 \text{ pg} \sim 1000 \text{ pg}$ の各濃度添加して測定した所, 平均測定誤差 $15.4 \pm 12.3\%$ ($n=20$) であり, また Comp F, B, S を各 50 ng を各 tube に加えて測定しても測定誤差には変化なかった。intraassay, interassay 変動は, それぞれ $14.5 \pm 4.2\%$ ($n=4$), $18.4 \pm 8.5\%$ ($n=4$)。血漿 18-OH-DOC 含量の測定値は正常人 $14.33 \pm 6.80 \text{ (ng/dL)}$, 低レニン性本態性高血圧症群 5.95 ± 3.80 , 正レニン群 12.68 ± 5.82 , 高レニン群 15.31 ± 5.40 。また正常人及び高血圧症に ACTH 0.5 mg 投与2時間後にはいづれも上昇した。レニン放出刺激及び angiotensin infusion でも上昇を認めた。〔考按ならびに結論〕われわれは特異性の高い抗 18-OH-DOC 血清を作製し, RIA により血中含量を測定することに成功した。血漿 18-OH-DOC 含量は ACTH のみでなくレニン-アンギオテンシン系にも支配されていることを明らかにした。