

-47- Radioimmunoassay 法による血漿 dehydroepiandrosterone 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 hemihydrochloride 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 ( $^3\text{H}$ -DHEA) は  $0.25 \text{ mCi}/0.0034 \text{ mg}$  (RCC) を使用した。血漿  $50 \mu\text{l}$  に  $^3\text{H}$ -DHEA (約10000 cpm)  $100 \mu\text{l}$  を混じり, methanol  $1 \text{ ml}$  を加えて振盪, 速心除蛋白後上清  $200 \mu\text{l}$  を  $40^\circ\text{C}$  以下で減圧乾固した。これに抗体  $250 \mu\text{l}$  (約3000倍) を入れ  $4^\circ\text{C}$  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  $7.2 \times 10^{-6}$ , testosterone とは  $1.2 \times 10^{-7}$ ,  $17\alpha$ -OH-progesterone とは  $3.6 \times 10^{-7}$ , 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  $1 \text{ pg}$  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  $10 \text{ ng}$ /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, ウサギから極めて高品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  $\gamma$ -globulin と結合させ家兎に投与して作製した。  $1,2$ - $^3\text{H}$ -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 ]  $1,2$ - $^3\text{H}$ -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。 $^3\text{H}$ -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。 $^3\text{H}$ -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事が出来た。最小検出量は  $5 \text{ pg}$  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  $50 \text{ ng}$  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  $14.33 \pm 6.80 \text{ (ng}/\text{dl})$ , 低レニン性本態性高血圧症群  $5.95 \pm 3.80$ , 正レニン群  $12.68 \pm 5.82$ , 高レニン群  $15.31 \pm 5.40$ 。また正常人及び高血圧症に ACTH  $0.5 \text{ mg}$  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。