

-65- リアマット T₄ の基礎的検討

横須賀共済病院中央検査科

○中島公雄, 富田光春, 菅原重喜

横須賀クリニック

島田早苗

甲状腺ホルモンの一つである血中サイロキシンの測定には従来 CPBA 法がひろく用いられてきた。近年ラジオイムノアッセイ法が開発され, 我が国でも数社よりキット化されて市販される様になった。

今回私たちは第 1 ラジオアイソトープ研究所より発売されたリアマット-T₄ を検討する機会を得たのでその結果を報告する。

このキットは, Reaction Vial に ANS 約 600 μ g を含むバルビタール Buffer と T₄-¹²⁵I 溶液が分注されており, 測定する際 1 Step 簡便化されている。同時再現性は, 高濃度で $n=10$, $\bar{x}=15.51 \mu\text{g}/\text{dl}$, $\text{SD}=0.78 \mu\text{g}/\text{dl}$, $\text{CV}=5.07\%$, 中濃度では $n=10$, $\bar{x}=8.11 \mu\text{g}/\text{dl}$, $\text{SD}=0.55 \mu\text{g}/\text{dl}$, $\text{CV}=6.8\%$ とほぼ満足いく結果を得た。

ダイナボット社製の T₄-RIA との相関は $n=23$, 相関係数 $r=0.94$, 回帰直線 $y=0.78x+0.71$ となりよい相関が得られたが, 多少低値を示す傾向がみられた。さらに回収率, 稀釈試験, 反応条件等に検討を加え報告する。

-66- TRH-T ラジオイムノアッセイについて

名 古屋大学第一内科

○鰐部春松 山内一征 今井幸宏

満間照典 長坂顕雄 仁瓶礼之

Pyroglutamyl-Histidyl-Proline amide は TRH として汎く用いられているが, 烟中らによって, TRH の酒石酸塩 (TRH-T) が, 非常に純度の高い結晶として得られることが報告された。我々は TRH-T が, ラット及び人で, TRH と同等の TRH 放出促進作用を示し又, TRH 抗体に対し, TRH に匹敵する免疫反応性を示すことを認めた (日内誌印刷中)。TRH-T を用いた, TRH-T のラジオイムノアッセイ (TRH-T RIA) 法を試みた。

方法及び対象: TRH-T, bis-diazotized benzidine, 牛アルブミン (BSA) の結合物を Complete Freund Adjuvant と共に家兎に注射し, TRH-T 抗血清を作製した。¹²⁵I-TRH-T は Hunter Greenwood 法で作製し Sephadex G-10 で, 分画精製した。

結果: TRH 抗血清は, 抗原を注射した 5 羽中 1 羽の家兎で, 2 回目の booster で 1:60,000 の titer を示すものが得られた。この抗体は, TRH とは TRH-T と同程度の免疫反応性を示し, また 24 種の TRH analogue のうち Gaba-His-Pro-NH₂, pGlu-His (1,3-di-CM)-Pro-NH₂, (pGlu-His)₂-Piperazine, Pyr-His-Pro-OH 及び Pitressin との間に若干の免疫交叉性を示したが, 他の analogue 及び人下垂体前葉ホルモンと間には交叉性は示さなかった。Assay は, 0.01M PO₄ Buffer に 0.15M NaCl, 1.0% BSA, 0.1M EDTA を加えた Buffer 0.35 ml, 抗血清 (1:10,000) 0.05 ml, 検体或は標準液 0.1 ml 及び ¹²⁵I-TRH-T 0.1 ml を混和し 4℃ で 24 時間インキュベート後, ポリエチレングリコールで Bound と Free を分離した。この方法で TRH-T (TRH 量として) 25 ng から 2.5 pg/tube の範囲で良好な標準曲線が得られた。無 TRH 人血漿, 及びエタノール抽出物 0.05~0.1 ml の添加により, B/T % は 2~4 % 減少した。無 TRH 人尿 0.1 ml の添加では B/T % は全く変動を示さなかった。血中 immunoreactive TRH-T (IR-TRH-T) の測定には, ヘパリン採血し直ちに 4℃ で, 血漿分離, エタノールで抽出 65℃ で蒸発乾固し, assay に供した。¹²⁵I-TRH-T のエタノールによる抽出率は 92.7% であった。TRH-T 500 μ g 静脈内注射後の血中 IR-TRH-T は 2 分後で 7.6~36.7 ng/ml の最高値を示し, 半減期は正常者で 3~5 分, 甲状腺機能低下症では 18 分以上であった。TRH-T 投与後 120 分以内に投与量の 1.1~5.4% が尿中に排泄された。

結語: TRH-T を用いた TRH-T-RIA 法によって血中, 尿中の TRH-T 或は TRH の変動を的確に測定しうるものと考えられた。