

-65- リアマット T<sub>4</sub> 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ソンの測定には従来 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-T<sub>4</sub>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 1 本約 600 μg を含むバルビタール Buffer と T<sub>4</sub>-<sup>125</sup>I 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,  $\bar{x} = 15.51 \mu\text{g}/\text{dl}$ , SD = 0.78 μg/dl, CV = 5.07%, 中濃度では n = 10,  $\bar{x} = 8.11 \mu\text{g}/\text{dl}$ , SD = 0.55 μg/dl, CV = 6.8% とほぼ満足いく結果を得た。

ダイナボット社製の T<sub>4</sub>-RIA との相関は n = 23, 相関係数 r = 0.94, 回帰直線 y = 0.78 x + 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 として広く用いられているが、畑中らによって、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。<sup>125</sup>I-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-NH<sub>2</sub>, pGlu-His (1,3-di-CM)-Pro-NH<sub>2</sub>, (pGlu-His)<sub>2</sub>-Piperazine, Pyr-His-Pro-OH 及び Pitressin との間若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 PO<sub>4</sub> Buffer 10.15M 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 <sup>125</sup>I-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。<sup>125</sup>I-TRH-T のエタノールによる抽出率は 92.7% であった。TRH-T 500 μg 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。