

59

Somatomedin A の Radioimmunoassay
東京女子医 内科
○高野加寿恵, 肥塚直美, 鎮目和夫,
栄研イムノケミカル研究所
石橋嘉一郎

Somatomedin (以下 Som と略す) は成長促進因子の一つである。Som A は chick cartilage への ^{35}S の取り込みを促進する物質として定義され、この方法が Som A の生物学的測定法として使用されて来た。我々はさきにヒト胎盤細胞膜を用いる Radioreceptor assay (RRA) を開発した。今回は Radioimmunoassay (RIA) の開発を行ったので報告する。

〔方法〕抗原はスウェーデン KABI 社より提供を受けた crude な Som A を使用した。免疫動物は New-Zealand white rabbit 4 匹を使用した。Som A の ovalbumin complex を作成し、Freund の imcomplete adjuvant を加え、Vaitukaitis 等の方法に準じて免疫を行った。Som A のヨード化はクロミン T 法による。抗体の検定は 0.075 M Veronal Buffer PH 8.6 (1% HSA を含む) を用い、4℃で 3 日間インキュベートし、B・F の分離はポリエチレングリコール (PEG) を使用し、抗体に結合した ^{125}I -Som A を γ カウンターで測定した。

〔結果〕各免疫後に耳静脈より採血して抗体価を検定したところ、第 3 回目免疫後から detect 可能な抗体が検出され第 5 回免疫後には 12000 倍希釈で全放射能の 38% が結合する抗体を得た。生物学的力価 78 U/mg をもつ cold Som A にて検討すると、10-250 ng/ml の間で dose dependent の displacement curve が得られ 40 ng/ml で 50% の displacement を得た。他ホルモンの影響としては Nerve growth factor が 2.5 $\mu\text{g/ml}$ で 50%, Fibroblast growth factor が 2.5 $\mu\text{g/ml}$ で 15% の displacement を示したが、Epidermal growth factor, Som B, hGH, insulin, proinsulin はこの assay 系に影響はみられなかった。次に血中の Som A について検討した。Som A は血中では結合蛋白と結びついているのでその結合を阻止する物質として 8-anilino-1-naphthalene-sulfonic acid (ANS) を加えたところ、ANS は Som A と結合蛋白の結合を阻害し、約 80% が遊離の Som A となり、しかも抗体との結合は阻害しなかった。そこで buffer に ANS (960 $\mu\text{g/ml}$) を加えて検討したところ、血清は 0.25-10 $\mu\text{g/ml}$ の間で dose-response カーブを描き、しかも cold Som A のそれと平行であった。Intra-及び inter-assay variation はそれぞれ 4.8%, 5.8% であった。血清に cold Som A を加えて回収率実験を行ってほぼ 100% の回収率を得た。

以上 rabbit に Som A に対する抗体作成に成功し、RIA の基礎的検討を試みた。他の成長因子 Som C, IGF-I, IGF-II, NSILP などの cross reaction については現在検討中である。又、種族特異性の問題、種々病態時における RIA による Som A 値についても合わせて報告する。

60

二抗体法による血中 Prolactin Radio-immunoassay に関する基礎的臨床的検討

埼玉県立がんセンター 放
○玉井 恒子, 渡辺 義也
中島 哲夫, 角 文明, 砂倉 瑞良
聖マリアンナ医大 三内
佐々木康人, 染谷 一彦
同 医大 放部
核医学 高橋 孝子, 浅葉 文子, 榊 徳市
群大 放
永井 輝夫

目的: Prolactin の Radioimmunoassay が可能になって以来、Prolactin 分泌異常疾患が注目されてきた。当病院では、Prolactin kit “第一” (第一アイソトープ社) を使用して特に乳癌、脳腫瘍等の患者の Prolactin の測定をルーチンの検査として行なってきた。今回我々は、二抗体法の Prolactin kit (ダイナボット社) を同時に 2 施設において使用する機会を得たので、基礎的検討を試み、2 キット間の比較検討とともに、臨床的有用性について報告する。

方法結果: 試薬の調整は説明書に従い、assay は、 ^4C 法、ファーストインキュベーション 4 日、第 2 抗体注入後セカンドインキュベーション 1 日で行なった。B/F 分離は 3000r.p.m 30 分間、デカント法で測定した。標準曲線の再現性、Bo/T%, 回収率、希釈試験、測定内および測定間誤差等に関する検討を行なった。Bo/T% は 46.5%~57%, 回収率テストは 86.3%~89.1% 希釈テストでは期待値より低値を示したが、ほぼ直線性が得られた。コントロール血清による測定内、および測定間誤差は、低、中、高、3 レベルで行ない、良い成績を示した。又 Prolactin “第一” kit との相関は良好であったが、本キットの方が低値を示す傾向が見られた。

結論: 本法による血中プロラクチンの測定は、安定性、精度もよく、Prolactin のルーチン測定に有用と思われる。しかし Prolactin “第一” kit に比較して低値を示すため、正常値 (“第一” kit では 30 mg/ml 以下) の検討が必要と思われる。又、TRH 負荷試験が頻繁に行なわれる為、160 mg/ml 以上の値を示す検体が 20% 程度あり希釈法による再検が必要となる場合も多く、この点に関しての検討も必要と思われた。