

63 副甲状腺ホルモンのラジオイムノアッセイ キット¹の基礎的および臨床的検討

名大第一内科

○小長谷陽子, 内川厚司, 中川ひふみ,
富田明夫

社会保険中京病院内科
今川卓一郎

副甲状腺ホルモン(PTH)の radioimmunoassay は、PTH の heterogeneity の問題、測定感度の不十分なことなどから未だむづかしい測定法に属するものの一つとして考えられている。今回われわれは、最近栄研イムノケミカルで開発された PTH radioimmunoassay kit の基礎的検討を加えると共に、正常者および各種副甲状腺疾患における血中 PTH を測定して臨床的検討を行ったので報告する。

本キットは標準 PTH または検体を抗体と共に 2 日間 incubation の後、¹²⁵I-PTH を加え、さらに 2 日間 incubation を行い、B・F の分離は第 2 抗体添加後 30 分で実施するようになっている。

本キットによって作製した標準曲線は 0.1~20.0 ng/tube の間で良好な用量反応曲線が得られ、原発性副甲状腺機能亢進症または慢性腎不全患者の血清の稀釈曲線はこの標準曲線とよく平行した。また、intraassay reproducibility および interassay variation の検討では、何れも良好な成績が得られた。

本測定法によって測定した正常者の血清 PTH 濃度は 0.6 ng/ml 以下であり、原発性副甲状腺機能亢進症では慢性腎不全患者と同様、高値を示したが、化学型のものは骨型および結石型のものより低値であった。また偽性副甲状腺機能低下症や骨軟化症でも正常者より高値を示した。一方、特発性および術後性副甲状腺機能低下症では正常者より低値を示した。さらに原発性副甲状腺機能亢進症における Ca 負荷による PTH 分泌動態についても検討を加え、多くの症例で血清 PTH が抑制されないことを認めた。

以上、本キットは測定操作も比較的簡単であり、ヒト血清 PTH を測定するのに臨床上有用な方法であると考えられた。

64 合成ウシ N 末端(1-34)抗体を用いた PTH の Radioimmunoassay について

新大 医技短

○栢森 亮

新大 一内

山田幸男

血中 PTH には、大小種々の PTH 断片が認められており、更にヒト PTH の生物活性は N 末端の 29 個の Amino Acid に存在することが知られている。従って、血中 PTH の RIA は生物活性と免疫活性が平行するためにも、N 末端 PTH 抗血清を用いることが望ましい。しかし、実際には N 末端のみに反応する力価の高い、鋭敏な抗血清の作製は容易ではなかった。その理由として、① PTH の N 末端の入手が困難なこと。②抽出ヒト PTH やブタ PTH を動物に免疫した場合、C 端に対する抗体ができやすい、などが考えられる。今回、我々はヒト N 末端にアミノ酸が類似していると考えられている合成ウシ(1-34) PTH を用いて抗体作製を行い、PTH の RIA を試み、測定成績も合わせて報告する。

<方法> 抗体作製は、合成ウシ(1-34) PTH(Beckman 社)に BSA を glutaraldehyde(半井化学)で結合させ、この結合物を 4 日、24 時間、生食中で dialysis を行った後、これとほぼ等量の Complete Freund's Adjuvant(Iatron 社)を加えて emulsion を作り、家兎の大腿皮下に免疫した。この方法を 30~40 日間隔で 6 ヶ月間続けた。標識 PTH は合成ウシ(1-34) PTH を chloramine T 法により ¹²⁵I を用いて作製し、Queso G32C 精製した。assay は、varbital buffer(0.05M, PH8.6)、抗体および、標準 PTH 又は検体を加えて 4℃、4 日間インキュベート後、¹²⁵I-PTH を加え、更に 12 時間インキュベートした。B・F の分離には D-C 法を用いた。

<成績> PTH 抗血清の抗体価は約 2 万倍で、この抗血清を用いた標準曲線は、0.1 から 50 ng/ml までは、ほぼ直線となった。したがって、最少測定値は約 0.1 ng/ml と考えられた。この抗体は、T₃、合成ヒト AOT_H、合成ヒト OT 等のホルモンとは 10 ng/ml 以下の範囲では交差反応がなく、合成ウシ(1-34) PTH に対して高い特異性を有していることが示された。原発性上皮小体機能亢進症の血中 PTH 値は 0.27~0.49 ng/ml と高値であった。また、慢性腎不全のそれは、0.1~0.28 ng/ml で一般に正常者の血中 PTH に較べて高く、且つ透析前が高値、透析後は低値を示す傾向があった。