

63 副甲状腺ホルモンのラジオイムノアッセイ
キット^{栄研}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、①PTH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日、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50ng/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ACTH、合成ヒトCT等のホルモンとは10ng/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0.27-0.49ng/mlと高値であった。また、慢性腎不全のそれは、0.1-0.28ng/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。