

305 cholyglycine, sulfolithocholyglycine の radioimmunoassay

ダイナボット RI 研究所 研究開発部

根岸春夫, 柳川佳信, 池田 勲, 若荷昭男,
高木 淳, 倉田邦夫

胆汁酸は肝細胞でコレステロールより生合成され、閉鎖的な腸肝循環をいとなんでおり、血中には微量しか存在しないため、その測定は肝胆道疾患の診断に有用な情報を与えるにもかかわらず日常検査を行うには困難であった。

1973年 Simmonds らにより抱合コール酸の RIA が開発されて以来、胆汁酸の RIA による測定が注目を集めている。今回米国 Abbott 社より、コール酸のグリシン抱合体である cholyglycine (CG), およびリコール酸の硫酸グリシン抱合体である sulfolithocholyglycine (SLCG) の RIA 法が開発された。この測定法は ^{125}I 標識抗原を使用した胆汁酸の RIA としては最初のものである。

測定は両キットとも競合反応を利用し反応時間は 1 時間と短かく、B・F 分離には PEG 法を用いている。必要検体量は 25 μl と非常に少量でよく、結果を得るに要する時間は数時間で済む。抗体の特異性は抗 CG 家兎血清では CG を 100% とすると cholytaurine 16.5%, cholic acid 7.8%, glycochenodeoxycholic acid 14.5% の交叉性を示し、他の胆汁酸成分との交叉性はわずかであった。また抗 SLCG 家兎血清は SLCG を 100% とすると sulfolithocholytaurine 71%, sulfolithocholic acid 4.3% の交叉性を示し、他の胆汁酸成分との交叉性は 1% 以下であった。標識抗原はステロイド環そのものには ^{125}I を標識できないので、CG では tyrosine を、SLCG では histamine を側鎖に導入し、そこに ^{125}I を標識している。CG RIA kit において最小検出濃度は約 5 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、ロット内再現性は C.V.% で 1.4~7.1%、ロット間再現性は 7.0~12.8%、回収率は 104~114.8% と良好な結果を示した。また SLCG において最小検出濃度約 1.7 $\mu\text{g}/\text{dl}$ 、ロット内再現性は C.V.% で 4.7~7.2%、ロット間再現性は 8.1~10.0%、回収率は 96.3~108.6% と良好な結果を示した。

臨床応用としては肝疾患のスクリーニング、乳児肝炎と先天性胆道閉鎖症の鑑別診断、各種肝胆道疾患の経過観察などに有用と考えられ、今後の臨床応用が期待される。

306 HA 抗体の RIA による測定およびその臨床的検討

ダイナボット RI 研究所 研究開発部

島村芳之, 若荷昭男, 高木 淳, 倉田邦夫

A 型肝炎の研究は 1967 年 Krugman の MS-1 型肝炎感染実験が端緒になって、1973 年 NIH の Purcell らは電子顕微鏡下ではじめて A 型肝炎ウイルスを見出した。その後 Hilleman らにより最初にウイルスの分離精製がなされ、つづいて米国アボット社 Overby らも A 型肝炎ウイルスの分離精製ならびにその量産化に成功し、HA 抗体の RIA による測定を可能にした。

測定は HA 抗原をコートしたビーズと ^{125}I -HA 抗体を使用する競合阻害反応を利用した固相法で行う。すなわち被検血清あるいは血漿 10 μl 、 ^{125}I -標識 HA 抗体 200 μl および HA 抗原をコートしたビーズ 1 個を 45°C 4 時間あるいは室温 18~24 時間反応させ、反応終了後ビーズを洗浄し放射能を測定することにより行う。結果の判定は陰性コントロールと陽性コントロールの cpm の和を 2 で割って、その cpm をカットオフ値として行うか、陰性コントロールから検体の cpm を差し引き、その値を陰性コントロールから陽性コントロールのカウントを差し引いた値で除して百分率 (% Inhibition) で表わして行う。

本キットのロット間における再現性を 20 検体からなるパネル血漿を使用し、% Inhibition 値を求め検討した結果は陽性検体においては CV% で 10% 以下と良好であった。

特異性は臨床研の真弓らが、精製 HA 抗原を使って検討した結果によると、優れていることが確認されている。難治性肝炎班会議による流行地域の疫学調査結果から、本キットの判定基準は % Inhibition の値で示して、70% 以上を陽性に、30% 以下を陰性に、31%~69% を疑陽性にするのが妥当と判断された。

急性 A 型肝炎は HA ウイルスを含む糞便を介した経口感染をし、2~6 週の潜伏期の後に発症する。血中 HA 抗体は発症後すみやかに検出されはじめ、初期には免疫グロブリンの IgM が上昇し、つづいて IgG が上昇する。抗体価は約 4 週後に最高値に達し、その後長期間血中に持続する。HA 抗体は高齢者ではすでにかんりの頻度で陽性例が認められているので、HA 抗体の血中での存在が、A 型肝炎の証明とはならず、HA 抗体の有意の上昇が診断の指標となる。また発症後比較的初期にあらわれる IgM 抗体のみを測定することにより、A 型肝炎の診断に役立てようという試みもなされている。また海外渡航者における A 型肝炎の発症が時折問題になっており、その予防に γ -グロブリンの有効性が認められているが、血中 HA 抗体の測定は、 γ -グロブリンによる予防の必要性の判定に有用な情報を与えることが示唆されている。