

B. インビトロアッセイ

1401 Solid Phase Radioimmunoassay による血中 I R I 測定法の検討

与那原良夫, 石橋章彦, 佐藤仁政, 高原淑子, 佐々木由三, 山下昌次, 近藤 誠, (国立東二核医学セ)

われわれはプラスチックビーズ固定抗体を用いた固相法による血中 I R I 測定法の試用を機に検討を加えたので報告する。50 μ OGTT時に Insulin RIA KIT II で測定した血中 I R I 値をもとに検討を加えた。対象症例は、正常、糖尿病、膵癌、肝炎、肝硬変症、肝癌、胆石症、胆嚢炎である。25 $^{\circ}$ C下で反応時間を変化した際の標準曲線は、24および48時間の両者間に差はなかった。4, 25, 37 $^{\circ}$ Cで20時間インキュベートした際の標準曲線は、温度の上昇に伴って β /T $\%$ は低値を示した。オートビクターによる測定値への影響は、血清濃度の高低にかかわらず血清サンプルに続く1~3本の試験管に何等かの影響を示した。再現性、回収試験、希釈試験は何れも良好であった。EDTA-2Naおよびヘパリン使用による測定値への影響はほとんどなく、一方弗化ソーダは使用に耐えなかった。溶血血清の I R I 濃度は予測値をはるかに下廻った。糖尿病、膵癌、膵炎などの I R I 曲線は平低下を示したが、糖尿病でのピークは120分値にあった。なお糖尿病症例では治療により好転を示したのもでも Δ IRI/ Δ BS (30分)の低値が認められた。

1402 PEG沈降法及びセルロースアセテート膜電気泳動法による Insulin 抗体様物質の検索

野上修二, 鈴木謙三, 中敷領勝士, 石塚仁平, 茅沼 浩, 小笠原 幹, 近藤 隆, 福土政広(都立駒込病院, 放), 内川 澄(同, 内)

日常の血中 I R I 量測定においてPEG法でゼロ以下を示し、二抗体法で異常高値を示さない例を認め、その原因を非特異的結合率(NSB%)及びセルロースアセテート膜電気泳動法から検討した。

NSB%はインシュリンイムノアッセイキット(科研化学)のブランク測定法に従い求めた。又 125 I-Insulinを添加、一晚反応させた血清をセルロースアセテート膜に塗布、バルビタール緩衝液(pH 8.6, μ 0.06)中で約1時間、1mA/cmの定電流で泳動、蛋白染色を行った後、泳動膜を細分化、放射能を計測した。

PEG法でIRI \leq 0となった症例ではNSB%は35~79%と全例明らかな高値を示した(通常約7%)。又 125 I-Insulinの放射能ピークは γ -Globulinの位置に認められ、更に非放射性 Insulin の添加によりほとんどの放射能は対照血清と同様な位置に移行し、 γ -Globulinに相当する Insulin に特異的な結合物、おそらく Insulin 抗体を有することが示唆された。以上のことから、PEG法は二抗体法に比し Insulin 抗体様物質を有する患者血清の検出に優れ、測定値の正確な解釈が可能と考えられた。

1403 Insulin の Radioreceptor assay

浜津尚就, 数本栄三, 山崎武(滋賀医大、放部、放科) 小林 正, 繁田幸男(滋賀医大、三内)

BersonとYalowにより開発されたRadioimmuno assayは、血中 insulin 測定の基本的測定法であるが、この方法は免疫活性を測定しているもので、Proinsulinや異常 insulinを正常 insulinと識別することは困難であり、insulinomaや特殊な糖尿病病態での診断が充分ではない。

我々は、抗体に比べ特異性が高く生物学的活性をもつ insulin を測定できると考えられる、人胎盤細胞膜にある insulin receptor で、Radioreceptor assayの簡易化した方法を開発し特に Proinsulin並びに insulin B鎖の24, 25位がPheからAlaに、また24, 25位がPheからLeuに、26位がTyrからAlaにそれぞれ置換された異常 insulinをRIAとRRAで測定しその免疫活性と生物学的活性の違いを検討した。我々の簡易なRRA測定系でのProinsulin測定値は、Pork insulinに比べ約4%と、報告されている生物学的活性3%に近いデータを得、この系での家族性Proinsulin血症患者の測定に対応できるが、なお低濃度高感度 assay を検討中である。

異常 insulin の測定からB 24位は、免疫反応に関与した位置であることが示唆され、またB 25位のPheはreceptorへの結合に重要な役割を果しているなど、非常に興味ある結果が出たので報告する。

1404 C-ペプチドキット「第一」IIの基礎的検討 -縦来法との比較検討-

宇佐美政栄(岡山済生会総合病院、核)

今度、第一RI研究所より発売になるC-ペプチドキット「第一」の改良型である、C-ペプチドキット「第一」IIを使用する機会を得、基礎的検討、従来法及びC-ペプチドキット「シオノギ」との比較検討を行ない、若干の知見を得たので報告する。

本キットの主な改良点、1)使用血清量が0.2 mlから0.1 mlに半減、2)緩衝液の添加が省かれた、3)インキュベーション温度が4 $^{\circ}$ Cから室温になった、4)インキュベーション時間が4日から2日に短縮された、5)標準品として合成ヒトCPRを用い、各濃度毎に小分けされた等が主な改良点である。

標準曲線の再現性、インキュベーション時間と温度、再現性、希釈試験、回収率試験、温度変化を加味したキットの安定性、各キットとの相関関係等。

従来法と改良法の相関は、従来法がわずかに高い値を示したが $r=0.96$ とよく、シオノギキットとも $r=0.95$ と何れも正の相関が得られた。

以上、改良キットの操作は簡便かつ短時間に測定結果が得られ、使用する検体量も少なく、日常の臨床検査法としてより望ましいキットであるといえる。