

る, などである。

本シンポジウムでは, これらの問題点とその対策について実例を呈示し, さらに最近開発した RIA (成長ホル

モン放出因子, 心房性ナトリウム利尿ホルモンなど) の有用性と今後の展望について述べる。

2. リセプターアッセイの基礎と応用

東京女子医大・内分泌センター内科

對馬 敏夫, 佐藤 雄二, 江本 直也

ラジオリセプターアッセイ (RRA) は, ラジオイムノアッセイ (RIA) と同様に competitive radioassay の一つである。RIA との根本的な相違は, RRA が受容体への結合というより, 生理的な反応を用いている点である。ペプチド性ホルモンの RRA で用いられる受容体の形としては単離細胞, 細胞膜を含む粗膜分画, 純化膜分画あるいは可溶化受容体等があり, 目的に応じて使い分けられる。標識ホルモンは生物学的活性を失っていないことが必要である。RRA によって各種ホルモンの測定が可能であるが, 受容体の親和性は抗体のそれに比して弱いために, 感度の点で RIA に劣る。また, 特異性の上でも RIA より劣ることが多い。しかし, これが逆に利点となる場合が存在する。例えば, インスリンの RRA によって他のインスリン様物質を測定することが可能であり, また, GH の RRA によって RIA では不可能である GH 様物質を測定することができる。このように未知物質の発見やその測定に有用であり, さらにホルモン

の結合阻害を指標とすることにより, あるいは免疫沈降法によってホルモン受容体に対する自己抗体の検出法として優れている。ホルモンその他の生理活性物質の生物活性の検定, ホルモン構造と機能との関係についての研究手段としても有用である。ホルモンの血中濃度の測定系としては RRA は不利な点が多い。しかし, 受容体の down regulation を利用した modulation assay では RIA と同様の感度を得ることが可能であり, IM-9 細胞を用いる hGH の測定が行われている。この測定法で得られた値と RIA での値に差のある場合が存在し, 構造異常をもつホルモンの存在が示唆される。臨床的には, RRA の技術は患者自身の受容体の解析に用いられる。これによって受容体の異常を確認することができる。また, 悪性腫瘍組織におけるホルモンあるいは成長因子の受容体の有無が, 腫瘍の悪性度の判定あるいは治療方針の選択に用いられることもある。以上, RRA の基礎的事項およびその応用技術につき述べる。

3. ラジオリセプターアッセイによるリセプター抗体の測定

京大・核医学科 小西 淳二, 笠木 寛治, 飯田 泰啓

ラジオアッセイの臨床応用により, これまで原因不明であった幾つかの疾患にリセプター抗体が関与していることが明らかにされてきた。その代表的なものは重症筋無力症, インスリン抵抗性糖尿病 (B 型), パセドウ病などである。これらのうち, パセドウ病にみられる TSH リセプター抗体の測定は, リセプターアッセイのキット化により急速に普及しつつある。そこで, この方法による TSH 結合阻害抗体 (TSH-binding inhibitor immuno-

globulin, TBII) 測定の問題点を, 他のラジオアッセイによる抗体測定と対比して検討するとともに, リセプター抗体測定の臨床的意義を評価した。

リセプターアッセイによる TBII 測定の問題点について。①感度: 未治療パセドウ病での検出率は 90% 前後に上昇してきたが, なお感度は十分といえない。アッセイ条件の改良によって感度の向上が得られた。②リセプター抗体の生物活性を反映しない。培養甲状腺細胞を用

いる高感度の甲状腺刺激抗体のアッセイを開発し、TBIIの生物活性を検討した。未治療バセドウ病におけるTBIIは一般に甲状腺刺激作用を示す。これに対し、特異性粘液性腫患者の約20%に検出されるTBIIは、甲状腺刺激活性のないブロッキング抗体であることが明らかにされた。バセドウ病の治療後にもブロッキング抗体が検出されることがあり、TBIIには多様なリセプター抗体が含まれている。③ホルモン結合部以外への抗体は検出されない。このような抗体の存在が免疫沈降法で認められた。

④このほか、TSH結合抗体の存在により偽陰性となる点がある点に注意を要する。

TBIIおよび生物活性によるTSHリセプター抗体の測定は、境界例のバセドウ病、眼症状のみを呈するeuthyroid Graves病、リセプター抗体による原発性甲状腺機能低下症などの診断に有用である。また、新生児甲状腺機能異常の予知、バセドウ病の治療経過、予後の指標としてのこれら抗体の意義について述べる。

4. Radioimmunoassay と Nonisotopic Immunoassay の比較

阪大・臨床検査診断学 遠藤 雄一, 畑 直成, 宮井 潔

優れた測定法としての条件には、感度、特異性、精度などがあるが、これらの条件のすべてを満たす方法は現在のところなく、常に新しい方法が求められているのが現状である。ラジオイムノアッセイ(RIA)は抗原・抗体反応を利用した高感度で特異性の高い方法として臨床検査ははじめ各分野に広く用いられているが、最近、エンザイムイムノアッセイ(EIA)やフルオロイムノアッセイ(FIA)など、RIを用いないイムノアッセイ(non RIA)が開発され普及してきた。しかし、いずれの方法が絶対的に優れているというわけではない。一般的に、RIAに比べnon RIAが優れた点としては、RI使用のための特別な施設・設備を必要としないこと、廃棄の問題がないこと、標識物の使用期間が比較的長いこと、B/F分離の不要なホモジニアス法が可能なこと、自動化が容易であることなどであろう。このような特徴を生かして、多数検体を扱うマスキングにEIAが応用されている¹⁾。臨床上最も重要な測定感度について考えてみると、それを左右する因子としては、抗体の親和性、標識の種類とその検出法、標識抗原(抗体)の比活性あるい

は測定システムなどがあげられる。ある種の酵素や化学発光物質では¹²⁵Iよりも高い標識としての能力をもっており、RIAを越える感度の測定系も作られている。しかし、non RIAの標識法は煩雑なものが多く、標識により抗原(抗体)の特性が大きく変化し、測定感度を低下させる場合がある。さらに、血清のもつ高いバックグラウンドや抗原・抗体反応の非特異的阻害が感度低下の一因になっている場合もある。これらnon RIAにおける種種の問題点については、その解決の努力が続けられている。その一つの例として、われわれは抗体を等電点の差によってclonotype抗体に分画し、その中の適当な抗体を用いることにより、EIAやFIAの感度を上昇させることができた^{2,3)}。

以上述べたように、RIAとnon RIAはそれぞれに特徴をもっており、対象・目的に応じて使用すべきものと考えられる。¹⁾ Miyai, K. et al. *Ped. Res.* **18**: 1289, 1984 ²⁾ Endo, Y. et al. *Anal. Biochem.* **143**: 249, 1984 ³⁾ Endo, Y. et al. *Anal. Biochem.* **144**: 41, 1985.