

《ノート》

逆相 C₁₈ シリカカラムを用いた高感度のバソプレシン RIA キットの基礎的ならびに臨床的検討

Fundamental and Clinical Studies on Highly Sensitive RIA Kit for Vasopressin
in Human Plasma Using a Reversed-Phase C₁₈ Silica Column

山崎美智子* 松永 克美* 村山 正栄* 佐藤 俊郎*
鴨井 久司**

Michiko YAMAZAKI*, Katsumi MATSUNAGA*, Syoei MURAYAMA*,
Toshiro SATO* and Kyuzi KAMOI**

*RI Center, Nagaoka Red Cross Hospital

**Internal Medicine, Nagaoka Red Cross Hospital

I. はじめに

下垂体後葉より分泌される抗利尿ホルモン（バソプレシン，以下 AVP と略す）は水電解質調節ホルモンとして重要な役割を果たしている。しかし，AVP がきわめて不安定なポリペプチドで，血中濃度もきわめて微量なため安定した感度の良い測定方法の開発はその臨床的必要性が高いにもかかわらず，困難であった。最近，比較的簡便で 0.1 pg/ml という微量の AVP を測定できる精度の良い優れた AVP の RIA キットが開発された。

今回著者らはこのキットを試用する機会を得，その基礎的ならびに臨床的検討を行ったのでその成績を報告する。

II. 対象および方法

1. 測定原理

本キットは三菱油化株式会社で作られた非平衡法で二抗体法による AVP の RIA であり，抗体は合成 AVP と豚サイログロブリンの結合物を家兎に感作して得られたものである。標識抗原は ¹²⁵I-AVP (New England Nuclear, USA, 1,820 μCi/μg, carrier free) で，標準抗原はペプチド研究所の AVP である。B/F 分離は delayed addition で第二抗体と PEG で行う。血漿測定に際してはあらかじめ抽出精製操作が必要である。

2. 測定方法

抽出用と測定用キットから成り，使用法はおのの以下のとおりである。

1) 抽出用キットの方法

抽出操作法の概略を Table 1 に示した。AVP をシリカカラムで吸着し，メタノールで溶出する。

2) AVP-RIA キットの方法

RIA による測定法の概略を Table 1 に示した。

Key words: Vasopressin, Radioimmunoassay, Reversed-phase C₁₈ silica column.

* 長岡赤十字病院 RI センター

** 同 内科

受付：61 年 5 月 26 日

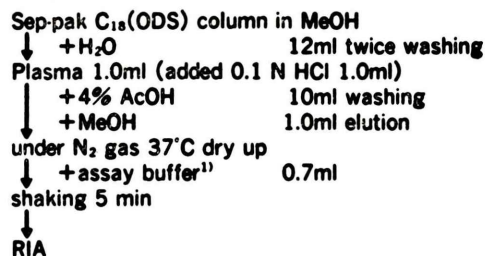
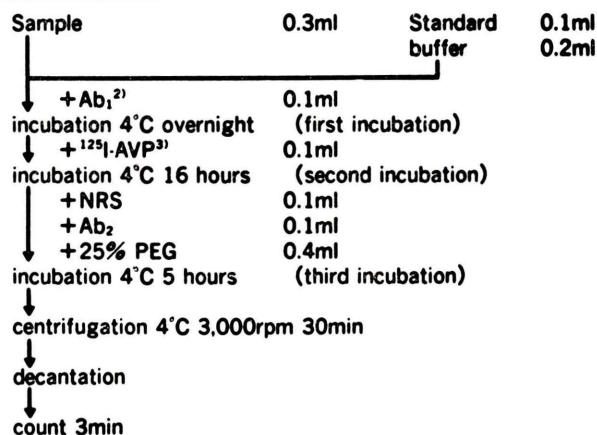
最終稿受付：61 年 10 月 20 日

別刷請求先：長岡市日赤町 2-6-1 (☎ 940)

長岡赤十字病院 RI センター

山崎美智子

Table 1 Procedure of AVP extraction and RIA

Extraction**Radioimmunoassay**1) assay buffer: 0.1 M P.B. (0.01% NaN₃) containing 0.1% BSA.2) Ab₁: anti-AVP rabbit serum (titer 1:100,000 final).3) ¹²⁵I-AVP: 2500 cpm/0.1ml.

血漿 AVP 濃度 (PAVP) は次の式で算出した。

$$\text{AVP (pg/ml)} = \frac{\text{AVP 検出量 pg/tube}}{\text{検体量 (1 ml)} \times \text{回収率}} \times \frac{0.75}{0.3}$$

回収率はコントロール血漿 0.5 ml と標準 AVP 溶液 2 pg/0.1 ml を 50 μl 加えて前述の方法で抽出、測定し、以下の式で計算した。

回収率 (%)

$$= 100 \times \frac{\text{添加した検出量} - \text{添加しない検出量}}{\text{AVP 添加量 (pg)}} \times \frac{0.375}{0.3}$$

3. 基礎的検討

アッセイの精度、再現性、希釈試験、回収率、第二抗体ならびに PEG 溶液添加後のインキュベーション時間、溶血、抗凝固剤および種々の血液成分の影響を検討した。

4. 臨床的検討

健常人 15 名 (男 13 名, 女 2 名: 年齢分布 42~70 歳, 平均 53.2±8.2 歳) と 27 名 (男 27 名: 年齢分布 20~42 歳, 平均 29.5±4.6 歳) の自由飲水時と 15 名 (男 13 名, 女 2 名: 年齢分布 42~70 歳, 平均 53.5±8.5 歳) の一夜水分制限下の早朝空腹時、安静臥床で採血した。

健常人で体位の影響をみるため健常男子 7 名では坐位および安静臥床 1 時間後に採血した。

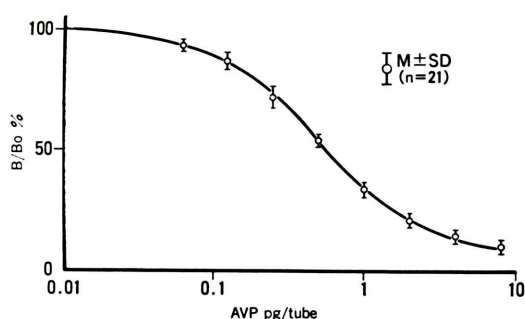


Fig. 1 Standard curve for AVP RIA.

健常男子 7 名 (年齢分布 20~36 歳, 平均 29.4 ± 6.8 歳) および種々の疾患患者で 5% の高張食塩水を 0.05 ml/分/kg 体重の速度で 2 時間点滴を行い, 点滴開始より 30 分間隔で経時的に採血した^{1,2)}。

健常男子 7 名 (年齢分布 25~36 歳, 平均 29.7 ± 3.7 歳) に水 20 ml/kg 体重を 30 分以内に経口的に負荷し, 臥位にて 30 分間隔で 2 時間まで経時的に採血した。

また, 多飲多尿患者と高および低ナトリウム血症患者の末処置時および種々の負荷時の PAVP 値を検討した。

さらに, AVP 産生腫瘍組織濃度も測定した。肺腫瘍組織を 0.1 N 塩酸 1.0 ml/mg 組織重量に入れてホモジナイズして得られた検体 1.0 ml を抽出し, 測定に供した。

採血は肘静脈より行い, EDTA 入採血管 (EDTA-2K あるいは -2Na, 1~2 mg/ml blood) に入れ, 直ちに 4°C に冷却し, 4 時間以内に低温分離して, 血漿を -20°C で保存した。

ナトリウム濃度 (Na) はイオン電極法 (ASTRA-4) で測定した。滲透圧 (OSM) は氷点降下法 (OSMOSTAT OM-6020, 京都第一科学) で測定したが, その変動係数は 0.43~0.65% であった。循環血液量の変化はヘマトクリット値 (Ht) の変化より概算した。

Table 2 Intra- and Interassay variations

A) Intraassay

Sample	No.	AVP pg/ml (M ± SD)	C.V. (%)
different extractions			
Plasma A	8	0.27 ± 0.04	17.6
Plasma B	8	0.67 ± 0.08	11.4
same extraction			
Plasma C	10	0.26 ± 0.02	5.9
Plasma D	10	2.01 ± 0.06	3.0

B) Interassay

Sample	No.	AVP pg/ml (M ± SD)	C.V. (%)
Plasma E by different extractions			
	6	0.81 ± 0.1	12.1
Plasma F by same extraction			
	6	0.34 ± 0.03	9.7

III. 結 果

1. 基礎的検討

1) 標準曲線の再現性

異なるロットの 8 種類の濃度の標準液 (0.063, 0.125, 0.25, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 pg/tube) を 21 回測定して得られた標準曲線を Fig. 1 に示した。最小測定濃度は, B/B₀ の 90% 値と定義すると 0.063 pg/tube であり, 50% 値は 0.5 pg/tube であった。また, 最大測定濃度は B/B₀ の 10% 値とすると 8.0 pg/tube であった。各濃度の変動係数は, 低濃度ほどその変動係数は小さく, 0.5 pg/tube 濃度では 4.8% であった。しかし, 4 pg/tube 濃度は 19.2% で, 8 pg/tube 濃度では 26.3% と高値であった。

2) 再現性

a) アッセイ内の再現性

低濃度と高濃度の AVP 血漿を, 同一抽出検体を用い, 同一ロットで同時に 10 回の測定を行った時の変動係数は Table 2 のごとく 3.0, 5.9% であった。しかし, 2 種類の AVP 血漿をそれぞれ 8

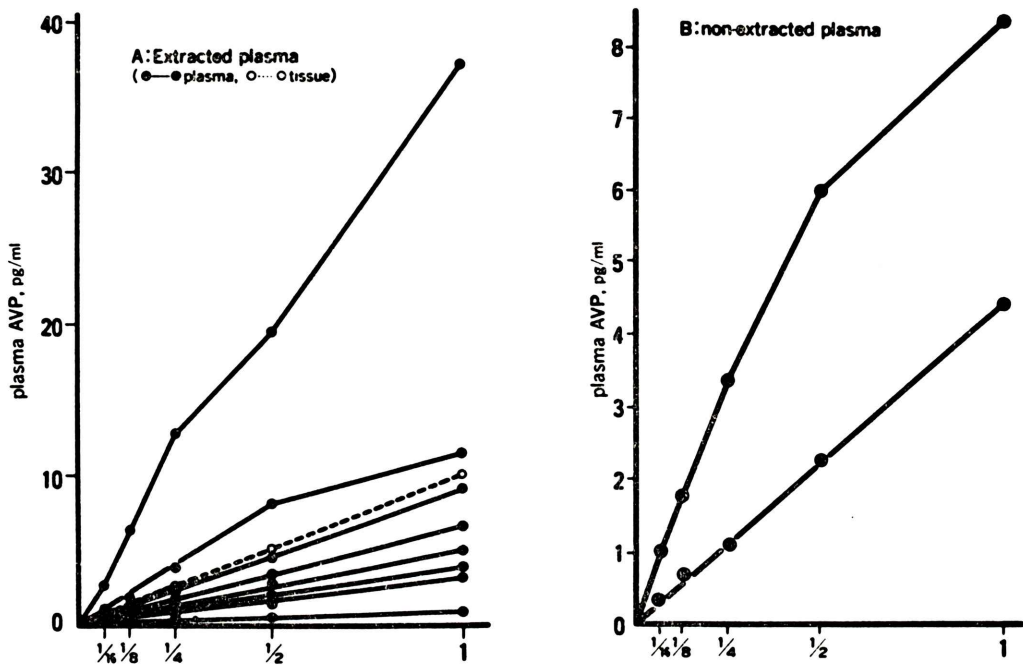


Fig. 2 Dilution test* (in extracted and non-extracted plasma).

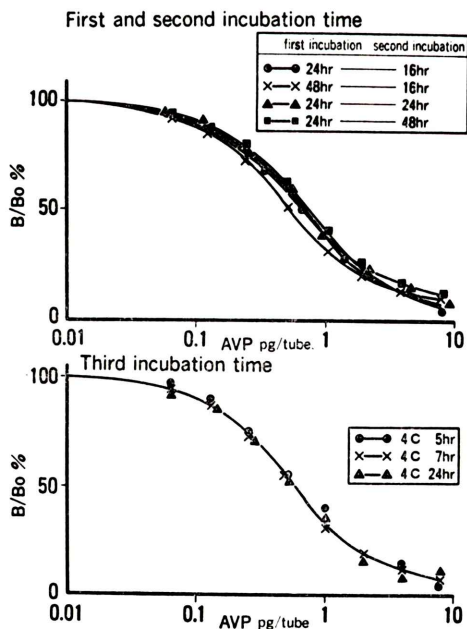


Fig. 3 Influence of incubation times.

回抽出，測定した時の変動係数は Table 2 のごとく 11.4, 17.6% であった。

b) アッセイ間の再現性

正常濃度の患者血漿を，日をおいて 6 回 (0, 8, 14, 21, 29, 41 日目) の抽出，測定を行った時の変動係数は Table 2 のごとく 12.1% を示した。しかし，同一抽出検体を，日をおいて 6 回 (0, 8, 14, 21, 29, 41 日目) 測定した時の変動係数は Table 2 のごとく 9.7% であった。

3) 希釈試験

高，中，低濃度の血漿を抽出した検体を緩衝液で 2, 4, 8, 16 倍に希釈して測定した結果，未希釈濃度が 10 pg/ml 以上の検体では原点を通る直線が得られなかったが，それ以下の未希釈濃度の検体では原点を通る直線が得られた (Fig. 2A)。AVP 産生腫瘍組織液も原点を通る直線が得られた (Fig. 2A)。高，中濃度の検体を未抽出のまま緩衝液で 2, 4, 8, 16 倍に希釈して測定した結果，

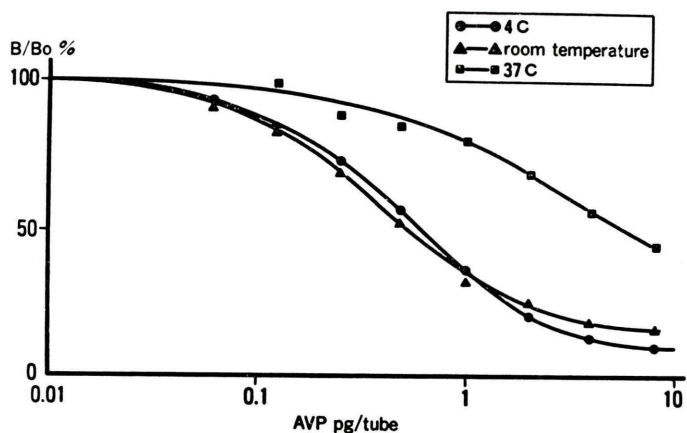


Fig. 4 Influence of incubation temperature.

Table 3 Recovery test

Added AVP (pg/tube)	Measured (pg/ml)	Recovery (%)
0	0.61	
1	0.96	92.1
2	1.24	82.9
4	1.89	90.1
mean		88.4±4.8

Interrecovery variations			
Assay No.	Recovery (%)	Assay No.	Recovery (%)
1	82.5	2	85.5
3	97.4	4	121.0
5	78.9	6	125.0
7	123.7	8	123.7
9	82.9	10	81.6
Mean±SD	100.2±20.5%		
C.V.	20%		

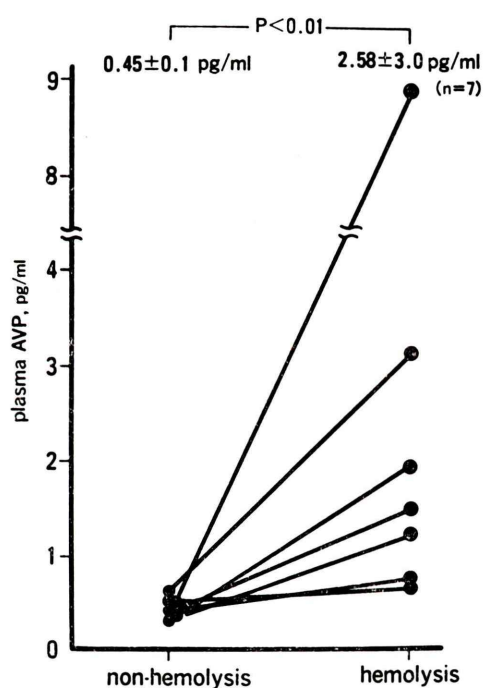


Fig. 5 Influence of hemolysis.

4) 回収率

未希釈濃度が 8 pg/ml では原点を通る直線は得られず、中濃度で原点を通る直線が得られた (Fig. 2B).

正常濃度の患者血漿の回収率は Table 3 に示したごとく 82.9~92.1% であった。また、日をおいて行った 10 回の回収率は 100% 以上を示すなど、変動係数は高値を示した。

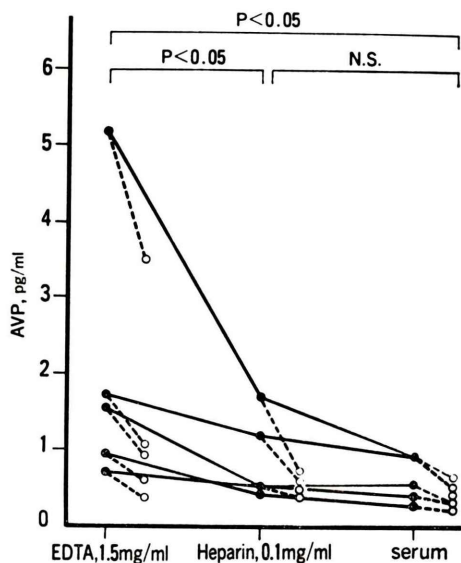


Fig. 6 Effects of anticoagulants on blood AVP before (●) and after (○) storing at -20°C for one month.

5) インキュベーション時間の検討

第二反応時間を16時間で、第一反応時間を24時間、48時間とした時と、第一反応時間を24時間で第二反応時間を24時間、48時間とした時の標準曲線を Fig. 3 に示した。いずれの反応時間でも有意の差異はみられず、第三反応時間も 5, 7, 24 時間ともに有意の差はみられなかった。

6) インキュベーション温度の検討

第一反応から第三反応までの温度は Fig. 4 に示したごとく 4°C より高くなるほど標準曲線は右に移動し測定感度の低下がみられた。

7) 溶血の影響

採血後、全血の半分を直ちに凍結して溶血させた血漿と、残る半分の非溶血血漿とを比較した。Fig. 5 に示したごとく、溶血時の PAVP 値はバラツキが顕著であった。

8) 抗凝固剤の影響

採血時の EDTA-2Na 剤とヘパリン添加の影響を検討した。Fig. 6 に示すごとく無添加血漿では両添加血漿に比べて、低値を示し、ヘパリン添加血漿でも EDTA 添加血漿に比べ低値を示した。

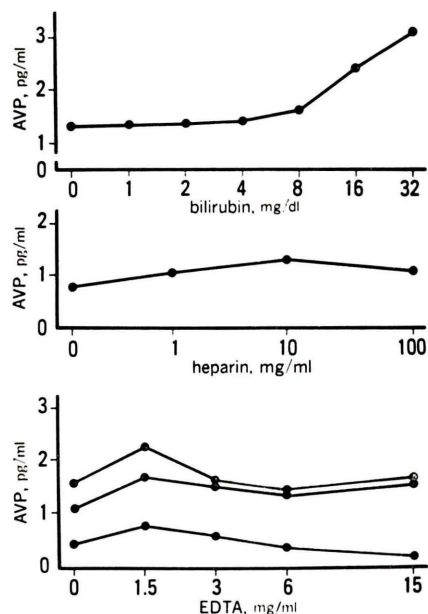


Fig. 7 Effects of various substances on plasma AVP in vitro.

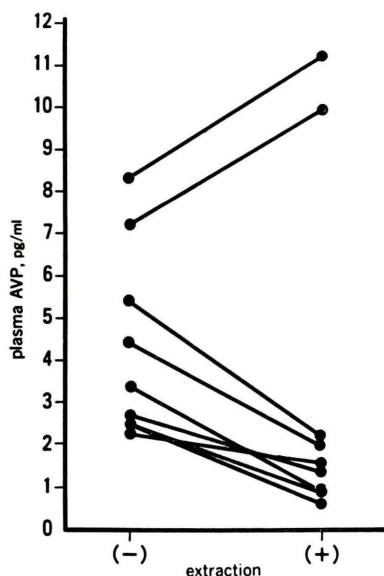


Fig. 8 Influence of extraction.

また、いずれの添加血漿でも 1 か月後で低下を認めた。

Table 4 Plasma AVP levels in fasting morning of healthy subjects

No	Sex	Age yr	PNa mEq/l	POSM mOsm/kg	PAVP pg/ml	UOSM mOsm/kg	
13	M	53.2	141.5	287.1	0.94	676	Ad. libitum
2	F	±	±	±	±	±	
		8.2	3.9	3.9	0.45	157	
		(42~70)	(138~146)	(280~297)	(0.4~1.7)	(434~874)	
27	M	29.5	139.5	287.4	1.73		Ad. libitum
		±	±	±	±		
		4.6	2.8	4.1	1.44		
		(20~42)	(136~149)	(278~295)	(0.32~6.87)		
13	M	53.5	141.4	287.0	1.0	704	Over night
2	F	±	±	±	±	±	water
		8.5	2.2	4.8	0.62	180	deprivation
		(42~70)	(137~145)	(280~297)	(0.41~2.71)	(403~1,040)	

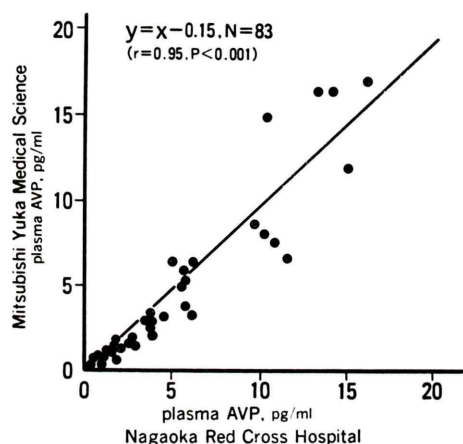


Fig. 9 Correlation of plasma AVP between Mitsubishi Yuka Medical Science and Nagaoka Red Cross Hospital.

9) 各種血液成分および抗凝固剤の in vitro で の AVP 測定値に対する影響

試薬を適当な溶媒に溶解後、試薬を含まない血漿（正常プール血漿）で希釈し、4~6 水準の試薬含有血漿を調整した。被検血漿に各種濃度の試薬血漿を加え、おのおの PAVP を測定した。Fig. 7 に示すごとく、ビリルビンは濃度が増加するに従い、PAVP 値は増加した。ヘパリンは常用濃度 (0.1 mg/ml) の 1,000 倍でも影響はみられなかった。EDTA-2Na は常用濃度の 3 倍以上では

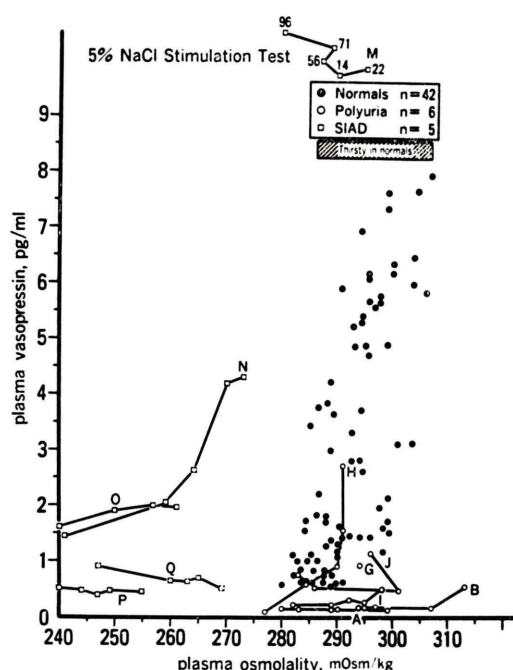
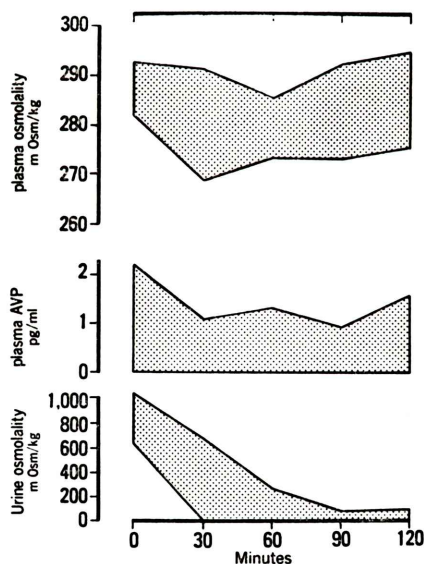


Fig. 10 Effects of plasma osmolality by infusion of 5% saline on plasma AVP in healthy subjects and various diseases.

低下傾向を示した。コレステロールは 189 mg/dl 含有の被検体に 100 mg/dl 以上の濃度を加えた場合シリカカラムを通過せず測定不能であった。

Table 5 Plasma AVP levels in patients with polydipsia or polyuria

No	Sex	Age yr	PNa mEq/l	POSM mOsm/kg	PAVP pg/ml	UOSM mOsm/kg	Urine volume l/day	Subjects	Treatment
A	M	35	136	279	0.15	150	9~10	Central D I	no treatment
B	F	43	176	379	0.15		1~2	Central D I	no treatment
								Hypopituitarism	hydrocortisone
C	M	62	139	300	0.28		4~5	Central D I	clofibrate
D	F	26	138	278	0.09	500	1~2	Central D I	clofibrate
									thiazide
E	F	11	141	281	0.13	826	1~2	Central D I	DDAVP
F	F	45	137	277	0.36	773	1~2	Central D I	DDAVP
G	M	40	145	294	1.01	336	4~5	Primary polydipsia	no treatment
								Alcoholic hepatitis	
H	F	20	142	277	0.1	267	3~5	Primary polydipsia	no treatment
								Hyperprolactinemia	
I	M	39	144	282	0.2	196	3.5~3.7	Primary polydipsia	no treatment
J	F	43	136	283	0.77	125	6~7	Primary polydipsia	no treatment
K	M	13	138	329	10.65	789	1.5~2.5	DM	no treatment
								(Plasma glucose 578 mg/dl)	Ketoacidosis

Fig. 11 Effects of water load on plasma AVP in healthy subjects. (mean \pm 2 SD, n=7)

10) 抽出の影響

Figure 8 に示すごとく同一検体で、中濃度の未抽出検体はいずれも抽出後の AVP 値より高値を

示し、高濃度の未抽出検体は抽出後の AVP 値より低下を示した。

11) 他施設における測定値との比較

同一検体を当院と三菱油化メディカルサイエンス研究所で同じキットを用いて測定した結果は Fig. 9 に示したごとく良好な正の相関が得られた。

2. 臨床的検討

1) 自由飲水下での早朝空腹時健常人の PAVP

PAVP 値は Table 4 のごとく 0.32 から 6.87 まではバラツキが認められた。20~40 歳代と 40~70 歳代の平均血漿 Na 濃度 (PNa), POSM, PAVP には有意差はみられず、20~70 歳代の PAVP は対数分布をし、その平均値は 1.02 pg/ml で、その範囲は 0.25~4.18 pg/ml であった。

2) 一夜水制限下での早朝空腹時健常人 PAVP 値

42 歳から 70 歳での一夜水制限下 PNa, POSM, UOSM, PAVP は Table 4 のごとく、ともに自由飲水下との間に有意差を認めなかった。

3) 体位による影響

健常人 7 名での坐位 Ht, POSM, PAVP は 41.8

Table 6 Plasma AVP levels in patients with hyponatremia

No	Sex	Age	PNa	POSM	PAVP	UNa	UOSM	Urine volume	Subjects	Treatment
	yr		mEq/l	mOsm/kg	pg/ml	mEq/day	mOsm/kg	l/day		
L	M	70	120	260	1.85	200	500	1~2	Lung cancer (small cell carcinoma)	no treatment
M	M	63	137	280	96.28	250	650	1~2	Lung cancer (small cell carcinoma)	water restriction
N	M	78	132	241	1.45	180	500	1.5~2	Pneumonia	antibiotics
O	M	67	112	233	7.4	200	500	1~2	Pyothorax	antibiotics
P	M	61	113	240	0.5	190	500	1.5~2	Lung cancer (small cell carcinoma)	anticancer agent
Q	M	58	121	247	0.9	250	550	1~2	Alcoholic hepatitis	no treatment
R	M	73	135	266	0.4	150	500	1~2	Lung tuberculosis	PAS INA IVH

±3.6%, 289.9±7.5 mOsm/kg, 2.15±1.2 pg/ml で、1 時間安静臥位後にはそれぞれ 38.9±4.2%, 287.6±3.9 mOsm/kg, 1.74±1.2 pg/ml と低下傾向を示し、Ht では有意の変化を認めた。Ht より概算した循環血液量の変化は約 7% であった。

4) 5% 高張食塩水負荷の影響

Figure 10 に個々の健常人での高張食塩水負荷による PAVP と POSM の変化を示した。負荷前および終了時の PAVP, POSM は 1.78±1.16 pg/ml, 288.0±3.7 mOsm/kg から 4.57±2.3 pg/ml, 300.7±4.4 mOsm/kg へと増加し、POSM と PAVP には正の相関関係 (r=0.9) が得られた。

5) 経口水負荷の影響

Figure 11 に示すごとく健常人の負荷前の PAVP は 1.0±0.6 pg/ml で、負荷 30~90 分後には血漿および尿浸透圧とともに最小となり、PAVP は 0.4±0.36 pg/ml であった。この時の分布での統計的处理 (2 SD) から血漿浸透圧の下限は 270 mOsm/kg, PAVP の上限は 1.0 pg/ml であった。2 時間後には尿浸透圧を除いて他は元のレベルに戻った。

6) 多飲多尿患者の PAVP 値

早朝空腹時の PAVP 値を Table 5 に示した。脱水試験で中枢性尿崩症と診断された 6 例中、未

治療患者 2 例および経口薬使用例の PAVP 値は低く、DDAVP 使用例の 1 例は低値、他は正常下限を示した。残りの 4 例では脱水試験で心因性多飲症が疑われたが、2 例の AVP 値は低く、他の AVP 値は正常を示した。糖尿病による多飲症例では高値を示した。その時の POSM と対比させた AVP 値も同様であった。さらに DDAVP 使用患者を除いた全例に前記の 5% 高張食塩水負荷を施行したところ Fig. 10 に示すごとく中枢性尿崩症例の PAVP 値は POSM が 300 mOsm/kg 以上でも全例が 0.3 pg/ml 以下であり、健常人より低値であった。心因性多飲症例では 1 例 (H) は部分的尿崩症が疑われたが、他は健常人と類似の反応を示し、分泌機能が保たれていると考えられた。

7) 低ナトリウム血症患者の PAVP 値

低ナトリウム血症の 6 例 (L~Q) は不適合抗利尿症候群で他 (R) は輸液過剰によるものであった。Table 6 に示すごとく健常人早朝空腹時 PAVP 値より高値を示したのは 2 例のみで、他の PAVP 値は正常であった。POSM と対比させた値で比較すると、4 例 (L~O) は健常人より高値であったが (I 群)、他の 3 例 (P~R) は高値を示さなかった (II 群)。これらの症例に 5% 高張食塩水負荷を行ったところ、Fig. 10 に示すごとく I 群の PAVP

値は M では POSM の増加に伴い低下し、N では POSM の増加に相関した反応を示したが、健常人領域より左に逸脱して、肺炎の改善後、健常人の範囲に復した。O は低滲透圧領域では基礎値が高いのみで全く無反応であったが、正常の滲透圧領域では反応を認めた。II 群の P, Q は全く反応を示さず低値であった。

IV. 考 察

本キットの RIA の標準曲線は異なるロットでも、標準濃度 0.063~8.0 pg/tube の範囲では良好な曲線が得られた。パラツキは低濃度領域では小さく良好であるが、8.0 pg/tube の濃度領域では大きく 4.0 pg/tube の領域までが好ましいと考えられた。抗 AVP 抗体の特異性は今回検討できなかったが、桜井ら³⁾によれば DDAVP との交差反応は 1.33% と低い。しかし、DDAVP 使用患者の 1 例は低く、1 例は正常値を示したことから、今後さらに検討する必要があると思われる。第一反応時間が 24 時間、第二反応時間が 16 時間、第三反応時間は 5 時間、そしてインキュベーション温度が 4°C で急峻な標準曲線が得られたことから、この条件で十分であるといえる。特に AVP が熱に不安定であることからインキュベーション温度を 4°C に保つことが重要である。また同一抽出検体の再現性は数%であり、さらに希釈試験でも原点を通る直線が得られたことから満足できるキットである。

しかし、問題はやはり抽出操作が必要なことである。抽出検体と非抽出検体では明らかに血中濃度の相違が認められ、さらに希釈試験で 8 pg/ml 濃度の非抽出検体では原点を通る直線が得られない。この相違は桜井ら³⁾の検討によれば非特異的免疫活性成分が存在するためと思われる。回収率は同一抽出検体を用いた時の変動係数が数%と良好であるのに対し、抽出操作時のアッセイ内およびアッセイ間の再現性の変動係数が 10% 以上と高値であることから、必ず測定の都度回収率を求める必要があり、さらに抽出操作の改良が望まれる。しかし、他施設間での再現性は良好であり、実用

に耐え得る。事実、本キットを使用して得られた臨床成績は高張食塩水負荷に対しては増加を、また水負荷に対しては抑制を示すことから、本キットによる AVP 値は AVP の生理的分泌動態を反映していると考えられる。また、健常人の早朝空腹時の AVP 値は多数の研究者⁴⁻⁹⁾の値と類似しており、特に Baylis ら¹⁰⁾による cytochemical bioassay 値と近似していることから、AVP の生物学的活性を測定していると思われる。

本キットによる健常人の早朝空腹時と水負荷後の AVP 値は桜井らの成績³⁾と良く一致している。ところが、種々の疾患では一点採血による AVP の単独値で健常人と分離することはできず、病的意義を見いだすことは不可能であった。このことは著者らを含め多数の研究者が⁴⁻⁹⁾指摘しており、他のパラメータと対比させて判断することが重要である。これまでの研究成績から AVP の分泌刺激法として、血漿滲透圧は 1~2% 以上、循環血液量は 7% 以上、血圧は 8~15% 以上の変動が必要である。健常人で一夜水制限でも PAVP 値に変化がないことは PAVP 値を変化させるには大量の循環血液量の変化が必要であることを裏づけている。したがって、血漿滲透圧と対比して判断するのが妥当である。血漿滲透圧と対比させた値で判断すると、多飲多尿症では 73% が健常人の値よりも低値となり、低ナトリウム血症では 58% が明らかに高値であった。しかし、これら低値の多飲多尿症でも、高張食塩水負荷による滲透圧刺激を加えると、2 例は明らかに健常人と類似の分泌反応が認められ、逆に低ナトリウム血症の 2 例は全く滲透圧刺激に反応を認めず、1 例は健常人と類似の反応を認めた。この事実は Zerbe, Robertson¹⁾ および大磯、著者ら²⁾の成績とも一致している。現在のところ、滲透圧刺激として、ナトリウム、マンニトール、尿素、グルコースなどが知られているが、Robertson, Zerbe ら¹¹⁾によるとナトリウム、マンニトールが最も有効な刺激物質で、尿素はごく軽度であり、グルコースは逆に抑制する。したがって、ナトリウム負荷による刺激方法が適切である。滲透圧は 1~2% 以上の変化で AVP 分泌に

影響を与えることから、血液の真の浸透圧値を得るには、血清より血漿¹²⁾が望ましい。また、変動係数が1%以上の浸透圧計で測定し得た値では、測定誤差が生じやすい。したがって、変動係数が1%以下の浸透圧計で測定することが重要であるが、やむをえない場合にはナトリウム濃度で代用するのが望ましい。水負荷および5%高張食塩水負荷の成績から、POSMが270 mOsm/kg以下では、PAVP値が1.0 pg/ml以上は異常高値、POSMが300 mOsm/kg以上では、PAVP値が0.3 pg/ml以下は明らかにAVP分泌不全として正常域より分離可能と思われる。

採血は必ず通常濃度のEDTA添加で行い、溶血を避け、直ちに4°Cに冷却し、数時間以内に冷却遠心分離して、得られた血漿を-20°C以下で凍結保存して、短期間内に測定するのが望ましい。これらはAVPが不安定であり、血小板に高濃度に付着するため¹³⁾といえる。また、安静臥床では坐位より若干低値を示した。これは体位により循環血液量が増加するため、桜井ら³⁾およびRobertsonら¹⁴⁾の指摘のごとく、安定した値を得るには少なくとも30分以上の安静臥床が必要である。さらに、ビリルビンあるいは高脂質は、このキットの測定値に干渉を及ぼすので、高ビリルビン血症および高脂質血症では留意が必要である。

本キットは抽出操作が必要で、そのために簡易、迅速、高精度の面からは改良すべき点があるが、得られた値はAVPの分泌能を十分反映しており、尿崩症、不適合抗利尿ホルモン分泌症候群など水電解質代謝異常をはじめ、種々の研究に十分役立ち、有用にして実用的なキットである。

V. 結 論

1. 本キットは高感度で、検体量が血漿1 ml以上あれば、濃縮操作を必要としない優れたものである。

2. 抽出操作を行う必要があり、操作はやや煩雑だが、十分実用に耐え得る。

3. 採血は常用濃度のEDTA添加で行い、溶血を避け、4°Cに冷却し、血漿を凍結保存するこ

とが必要である。

4. 血漿AVP値のみでは異常の有無を判断することは困難であり、必ず血漿浸透圧と対比して判断する必要がある。

5. 本キットで得られた値はAVPの分泌能を十分に反映しており、臨床ならびに研究に応用可能な測定キットである。

本キットを提供頂いた三菱油化株式会社ならびに種々の助言を頂いた名古屋大学第一内科大磯ユタカ氏および貴重な検体を提供頂いた各病院およびご協力頂いた当院各位に謝意を表します。

文 献

- 1) Zerbe RL, Robertson GL: A comparison of plasma vasopressin measurements with a standard indirect test in the differential diagnosis of polyuria. *N Engl J Med* **305**: 1539-1546, 1981
- 2) 大磯ユタカ, 岩崎泰正, 山内一征, 他: 血漿バソプレシンを指標とした5%高張食塩水投与方法による下垂体後葉機能検査法の検討. *日本内分泌学会雑誌* **62**: 608-618, 1986
- 3) 桜井兵一郎, 栗本文彦, 大野英人, 他: 逆相C₁₈シリカカラムを用いた高感度 Radioimmunoassay による血漿 8-arginine vasopressin の測定法. *日本内分泌学会雑誌* **61**: 724-736, 1985
- 4) Kamoi K, Hama H: Analysis of antidiuretic hormone levels in various clinical states of man by highly sensitive radioimmunoassay II. Application to plasma. *Acta Med et Biol* **25**: 109-118, 1977
- 5) Robertson GL, Mahr EA, Athar S, et al: The development and clinical application of a new radioimmunoassay for arginine vasopressin in human plasma. *J Clin Invest* **52**: 2340-2352, 1973
- 6) Kimura T, Matsui K, Ota K, et al: Radioimmunoassay of arginine vasopressin in human plasma and urine, a resin microcolumn method. *Tohoku J exp Med* **131**: 37-46, 1980
- 7) Simamoto K, Murase T, Yamaji T: A heterologous radioimmunoassay for arginine vasopressin. *J Lab Clin Med* **87**: 338-344, 1976
- 8) Shimizu K, Hoshino M: Application of vasopressin radioimmunoassay to clinical study: Role of vasopressin in hypo- and hypernatremia and some other disorders of water metabolism. *Contr Nephrol* **9**: 42-48, 1978
- 9) Thomas TH, Kee MR: The specificity of antigen for the radioimmunoassay of arginine vasopressin in human plasma and urine during water loading

- and dehydration. *Clin Sci and Mol Med* **51**: 525–536, 1976
- 10) Baylis PH, Pitchfork J: A cytochemical bioassay for arginine vasopressin: preliminary studies. *J Immunoassay* **1**: 399–411, 1980
- 11) Zerbe RL, Robertson GL: Osmoregulation of thirst and vasopressin in human subjects: effects of various solutes. *Am J Physiol* **244** (Endocr Metab 7): E607–E614, 1983
- 12) Redetzki HM, Hughes JR, Redetzki JE: Differences between serum and plasma osmolalities and their relationship to lactic acid values. *PSEBM* **139**: 315–318, 1972
- 13) Thibonnier M, Roberts JM: Characterization of human platelet vasopressin receptors. *J Clin Invest* **76**: 1857–1864, 1985
- 14) Robertson GL, Athar S: The interaction of blood osmolality and blood volume in regulating plasma vasopressin in man. *J Clin Endocr Metab* **42**: 613–620, 1976