

(1) ホルモンのイムノメトリックアッセイ

① ラジオメトリックアッセイ

出 村 博 (東京女子医科大学内科・RA 科)

イムノラジオメトリックアッセイ (IRMA) は、RIA とは異なり、抗原ではなく抗体にアイソトープを標識する非競合法である。最近の IRMA は、主に two-site (または、サンドイッチ) 法である。IRMA の感度は、Rodbard の理論式に示されたように、RIA に比べて、はるかに高く、2~3 の工夫によってさらに上昇させられる。IRMA では、epitope の異なる 2 種類の均一抗体を大量に必要とするが、モノクローナル抗体の実用化によって可能となった。IRMA の欠点として、抗原過剰の状態で結合阻害 (high dose hook effect; 地帯現象) が生ずることと、1 検体当たりに用いられるアイソトープの量が多いことや比較的大量の試料を必要とすることなどがあげられる。

IRMA は、今日広く高分子ホルモンの測定に用いられているが、epitope が単一であるハプテン抗原のステロイドや甲状腺ホルモンには用いられない。下垂体ホルモンでは、TSH, LH, FSH や ACTH について、IRMA が実用化され、RIA に

代わりつつある。このうち最も広く IRMA が用いられ、臨床的有用性が高いのは、血中 TSH の測定である。TSH IRMA の測定感度は、 $0.01 \mu\text{U}/\text{ml}$ で、RIA に比べて 100 倍以上高い。従来、下垂体 TSH の予備値を正確に捉えるためには、TSH 負荷試験が必要であったが、IRMA の普及は、甲状腺ホルモン測定の進歩と相まって、血中 TSH の基礎値のみの測定によっても、視床下部一下垂体-甲状腺系の障害部位や治療効果を的確に把握できるようになった。hLH の IRMA の場合は、hCG との識別がさらに明瞭となり、特に妊娠中のホルモンの動態を充明に知ることができるようになった。さらに ACTH や PTH の IRMA では、e 末端と N 末端に epitope を有する 2 つの抗体を用いることによって、生物活性に一致する測定値を得ること、プレホルモンの共通部分、代謝フラグメントや阻害因子の影響を受け難いことなどが利点である。レニンについても IRMA により、血中値の直接測定が可能となった。

② ノン・アイソトピックイムノアッセイ

伴 良 雄 井 上 健 飯 野 史 郎*

(昭和大学医学部第三内科, *同・藤が丘病院内分泌代謝科)

標識物質として、放射性物質の代わりに、酵素や化学物質などを用いる Immunoassay が普及しつつある。その最大の長所は汚染物質を用いずに、同等か、それ以上の測定感度が得られる点にある。

標識物質としては、酵素、蛍光物質、化学発光物質などが用いられ、一般的には順次高感度とな

る。現在では血中ホルモンのうち、ACTH を除けば、臨床的にはいずれも十分な測定感度を得ることが可能である。

測定原理としては Competitive binding assay (競合法) と固相化抗体に結合した抗原に、標識抗体を結合させるサンドイッチ法 (非競合法) があ

り、後者で、より高感度となる。

サンドイッチ法で、測定感度を上げるために、標識抗体の固相化抗体への非特異的吸着を少なくすること、標識抗体の精製の程度、抗体の結合能、標識抗体量、測定時間、測定温度、血清の干渉などが影響するが、一般に臨床応用されるためにはキット化される必要がある。本講演では臨床的応用が可能になった血中 TSH と GH 測定法などを中心に述べる。

血中 TSH 測定法としては Immunoradiometric assay (IRMA)、酵素法 (EIA)、時間分解蛍光法 (FIA)、化学発光法 (ICMA) などがあるが、その検出感度は IRMA で $0.1 \mu\text{IU}/\text{ml}$ 、EIA で $0.2\text{--}0.006 \mu\text{IU}/\text{ml}$ 、また後二者で $0.05 \mu\text{IU}/\text{ml}$ である。

いずれによっても、健常者から、甲状腺機能亢進症を分離することが可能である。

血中 GH 測定法としては RIA, IRMA, EIA などがあるが、その検出感度は RIA では $0.5\text{--}1 \text{ ng}/\text{ml}$ 、IRMA では $0.25 \text{ ng}/\text{ml}$ であるが、石川らの開発した EIA の感度は $1 \text{ pg}/\text{ml}$ で、また臨床応用される尿中 GH 測定法の感度は $0.1 \text{ pg}/\text{ml}$ である。尿中 GH 測定法はキット化されており、特に、尿中 GH 値の測定は ng/gCr 補正で下垂体性小人症では低値を示すことが明らかにされている。

さらに hCG を含めた腫瘍関連物質など多くの血中微量物質の測定が本法で、臨床応用されるに至っている。

(2) エストロゲンレセプターのイムノアッセイ

加 藤 順 三 (山梨医科大学産婦人科学教室)

エストロゲンレセプター (ER) の新しい測定法として、近年、ER に対するモノクローナル抗体を用いた酵素免疫学的測定法 (EIA 法) が開発され、すでに乳癌組織で用いられているが、われわれは、子宮 ER 測定への EIA 法の有用性について検討した。ヒト正常子宮内膜の細胞質 ER (ERc) および核 ER (ERn) の EIA 測定値を同一標本で同時に放射性標識リガンドの結合能を測定する方法の 1 つである LH-20 カラムを用いたゲル濾過法によって測定したバインディング値とを比較した結果、両測定法によるレセプター値 (濃度) は、ERc, ERn および ER 総値とよく相關することがわかった。

したがって、新たに導入された EIA 法はヒト

正常子宮内膜の定量的 ER 測定に適用できることが明らかになった。モノクローナル ER 抗体を用いた EIA 法は、従来のバインディング法に比べて、操作が簡便であり、ラジオアイソトープを使用しないなど利点を有しており、とくに臨床レベルでの ER 分析に有用であるものと考えられる。

また、子宮内膜の ER を、抗 ER 抗体を用いた免瘍組織化学的方法で検討したところ、ER は核に染色され、陽性率と ER 量とはほぼ相関した。少量の組織での定性的ないし半定量的検出法として有用であるものと考えられる。なお、プロゲステロン受容体のイムノアッセイについても言及したい。(本研究は文部省科研費 B61480348 によった)