

《ノート》

IRMA 法によるペプシノーゲン I, II ペアキットの基礎的検討

Fundamental Evaluation of an IRMA Assay Kit for Pepsinogen I and II

木村 良子* 阿多まり子* 宮川 直子* 藤井 崇*
 棚田 修二* 飯尾 篤* 濱本 研*

Yoshiko KIMURA, Mariko ATA, Naoko MIYAGAWA, Takashi FUJII,
 Shuji TANADA, Atsushi IIO and Ken HAMAMOTO

Department of Radiology, Ehime University Medical School

I. はじめに

胃液中に分泌される蛋白消化酵素ペプシンの不活性前駆体ペプシノーゲンは、免疫学的にペプシノーゲン I および II (以下 PG-I, PG-II) に分類されることが知られており¹⁾, PG-I は胃底腺領域に, PG-II は, 胃底腺, 幽門腺, 十二指腸腺にも存在する. 胃液中に分泌された量の約 1% が血液にも出現するため, 血中 PG-I, PG-II レベルは胃液分泌能を反映するものと考えられ²⁾, PG 高値群は, 消化性潰瘍高危険群として血清学的スクリーニングに使用しうると考えられる³⁾. 従来は, ポリクローナル抗体による RIA または, ELISA 測定が, 個々の PG につき行われていたが⁴⁻⁶⁾, 今回新たにモノクローナル抗体による, PG-I, PG-II のペア測定キット (PG-I, PG-II RIA-BEADS, ダイナボット社) が開発され, 使用する機会を得たので, このキットの基礎的検討を加えた.

II. 対象と方法

1) PG-I, PG-II 測定キット: 測定キットは PG-I, PG-II それぞれにつき, モノクローナル抗体固相化ビーズ, ¹²⁵I 標識モノクローナル抗体, および標準液より構成され, one step IRMA 法にてアッセイが行われる. 測定概略を以下に示す.

① 1 テスト 25 μ l の試料または標準液と, 200 μ l の標識抗体および 1 個のビーズを反応チューブに入れ, 振盪しながら室温で 3 時間インキュベーションを行う.

② ビーズを蒸留水にて, 3 回洗浄する. 第 1 回目の洗浄は, ミキシング操作を加える.

③ ガンマウェルカウンターにて, 放射活性を測定し標準液より検量線を作成する.

④ 検量線より試料の濃度を求める.

2) 正常対象: 187 名の当院および関連施設の職員血清を正常対象者とした. 消化器症状を有するものは除外したが, その他の精査は施行しなかった. 対象者は男性 101 名, 女性 86 名, 年齢分布は 22~71 歳, 年齢中央値 33 歳であった.

III. 結果

1. 基礎的検討

① インキュベーション条件: インキュベーション時間の測定系への影響は, 1~6 時間の間で

Key words: IRMA, Pepsinogen.

* 愛媛大学医学部放射線科

受付: 元年 3 月 6 日

最終稿受付: 元年 5 月 31 日

別刷請求先: 愛媛県温泉郡重信町大字志津川

(☎ 791-02)

愛媛大学医学部放射線科

木村 良子

PG-I, PG-II ともにほとんどなかった (Fig. 1). インキュベーション温度も, PG-II では 4~45°C においてほとんど測定系への影響を認めなかった. しかし, PG-I においては, 45°C では著明な測定値の低下を認めた (Fig. 2). 以後の検討はキット使用書に従い, 室温 3 時間のインキュベーションで行った.

② 測定感度: 標準液を生理食塩水で希釈して希釈標準液を作成し, この測定値がそれ以下ではほぼ同じ値になってしまう点を, 最小測定感度と

して検討を行うと, PG-I では 0.2 ng/ml, PG-II では 0.8 ng/ml となった (Fig. 3).

③ 再現性: 三種類の異なる濃度の検体を用いて検討を加えたところ, 同時再現性は PG-I で CV 1.2~1.8%, PG-II で CV 0.8~2.2%, 日差再現性は PG-I で CV 3.3~5.3%, PG-II で CV 3.8~5.5% であった (Table 1).

④ 回収率: 回収率は PG-I では 95.8~112.9%, 平均 $104.5 \pm 5.2\%$, PG-II では 85.5~100.0%, 平均 $92.2 \pm 4.0\%$ であった (Table 2).

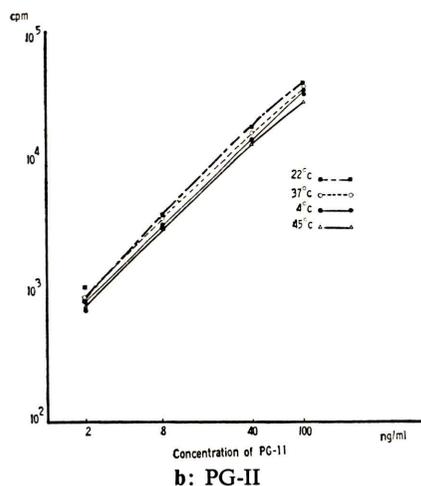
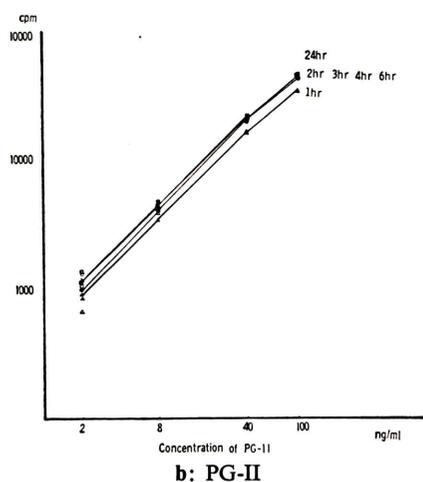
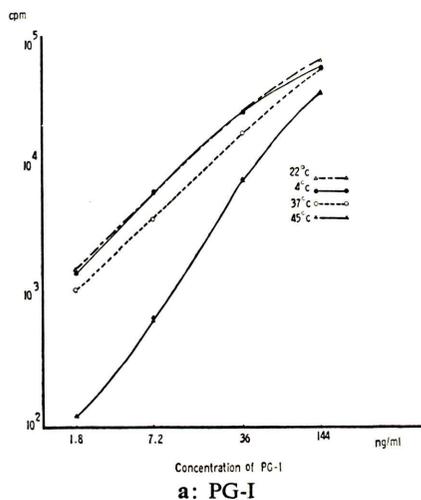
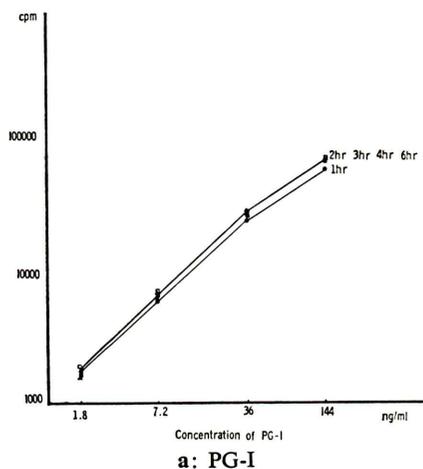


Fig. 1 Effects of incubation time on the assay system.

Fig. 2 Effects of incubation temperature on the assay system.

⑤ 希釈試験：血清サンプルを生理食塩水で希釈して行った希釈試験では、PG-I で高濃度の検体で直線上にのらない傾向が見られたが、おおむね原点を通る直線上にのり、ほぼ満足しうるものであった (Fig. 4).

2. 正常人における血中 PG-I, PG-II 値

正常人においては、PG-I は 19.1~115.2 ng/ml, PG-II は 2.7~46.6 ng/ml, PG-I/PG-II は 1.2~10.8 に分布し、おのおのの中央値は 49.6, 10.2,

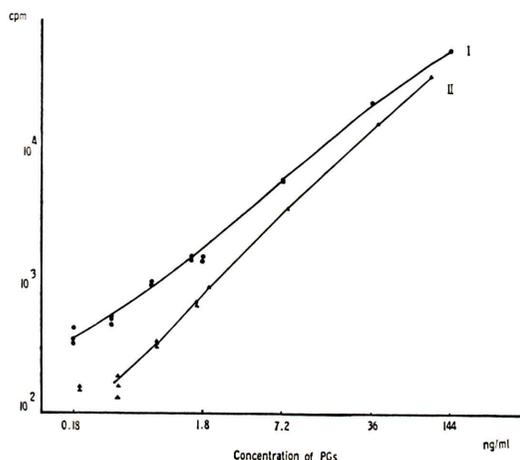


Fig. 3 Minimal sensitivities of the assay system. Standard solutions were diluted with saline. I: PG-I, II: PG-II.

4.6, 平均値は 55.6 ± 26.3 , 14.8 ± 11.5 , 4.8 ± 2.1 であった (Table 3). 正常人における PG-I, PG-II は 50歳までは、年齢とともに上昇する傾向があるが、50歳を超えると低下する傾向にあった。しかし、PG-II の上昇率がより大のため、PG-I/PG-II は年齢とともに低下した (Table 4).

1~2 か月の間に、2回検体の採られていたものが数例あったが、1例を除き、ほぼ同程度の測定結果が得られた。1例は、25歳女性で、初回、PG-I 39.7 ng/ml, PG-II 6.2 ng/ml であったものが、1か月後、それぞれ 131.5 ng/ml, 44.1 ng/ml となり、あとの再チェックで急性胃潰瘍であったことが確認された。

IV. 考 察

胃液分泌酵素ペプシンの前駆体 PG の血中レベルが、胃液の分泌能を反映することが示唆されているが、今回、分泌腺の胃壁内分布部位の異なる PG-I と、PG-II をペアで測定する RIA キットが開発されたので、その基礎的検討を加えた。

キット測定原理は、one step IRMA 法であり、3時間のインキュベーションと遠心操作を必要としない洗浄操作で作業は終了し、簡便であった。45°C のインキュベーションにより PG-I で測定の著明な低下を認めたが、通常温度域では、安

Table 1 Reproducibility of PG-I/PG-II RIABEAD

	Intra-assay			Inter-assay			
	Sample 1 n 7	2 7	3 7	Sample 1 n 7	2 10	3 7	
PG-I							
min	19.2	51.2	78.7	min	17.3	44.9	70.3
max	20.0	54.3	81.5	max	19.2	52.7	78.7
mean	19.8	53.1	80.4	mean	18.5	48.9	76.2
SD	0.3	0.9	1.0	SD	0.6	2.6	2.9
CV (%)	1.4	1.8	1.2	CV (%)	3.3	5.3	3.8
PG-II							
min	19.2	8.9	57.3	min	18.3	8.5	58.1
max	19.3	9.3	61.0	max	20.5	10.2	66.7
mean	19.2	9.1	59.0	mean	19.3	9.1	62.2
SD	0.2	0.1	1.3	SD	0.7	0.5	2.7
CV (%)	0.8	1.4	2.2	CV (%)	3.8	5.5	4.4

Table 2 Recovery test of PG-I/PG-II RIABEAD

Sample	PG-I			PG-II		
	added ng/ml	measured ng/ml	recovery %	added ng/ml	measured ng/ml	recovery %
1	0	25.0		0	4.7	
	3.6	28.0	97.9	4.0	8.2	94.3
	18.0	42.4	98.6	20.0	23.0	93.1
	72.0	108.0	111.3	50.0	49.0	89.6
2	0	8.7		0	9.8	
	3.6	13.5	109.8	4.0	13.7	99.3
	18.0	27.8	104.1	20.0	27.5	92.3
	72.0	89.2	110.5	50.0	54.7	91.5
3	0	36.9		0	29.7	
	3.6	38.8	95.8	4.0	32.2	95.5
	18.0	58.8	107.1	20.0	48.3	97.2
	72.0	112.8	103.6	50.0	73.6	92.3
4	0	33.4		0	11.1	
	3.6	37.3	100.8	4.0	15.1	100.0
	18.0	54.7	106.4	20.0	28.8	92.6
	72.0	109.7	104.1	50.0	54.6	89.4
5	0	23.6		0	4.3	
	3.6	28.3	104.0	4.0	8.2	98.8
	18.0	40.2	96.6	20.0	23.2	95.5
	72.0	102.4	107.1	50.0	47.4	87.3
6	0	6.1		0	1.9	
	3.6	9.8	101.0	4.0	5.5	93.2
	18.0	26.3	109.1	20.0	19.7	90.0
	72.0	88.2	112.9	50.0	44.5	85.5
			104.5±5.2			
				92.2±4.0		

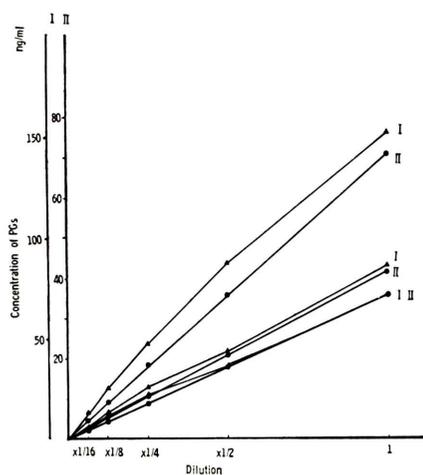


Fig. 4 Dilution test.
Serum samples or standard solutions were diluted with saline.
I: PG-I, II: PG-II.

定性にも問題ないと思われる。PG-I での高温での測定値の低下は、PG-I 自身の不安定性によるのか、抗体の親和性の低下によるのかは、検討しなかった。再現性、回収率等の信頼性は、おおむね満足しうるものであった。必要血清量も、各測定項目の2重測定で100 μ lと微量であった。

健常人において、PG-Iは50歳まで、PG-IIは60歳までは年齢とともに上昇する傾向にあり、この結果は、多施設共同研究で報告された結果と同じであった⁷⁾。血清PG-I、PG-IIは胃液分泌を反映するといわれており、胃液分泌の過剰状態が存在する胃炎、胃潰瘍の症例では、血清PG-I、PG-IIの上昇が見られると報告されている。上記30歳代から、50歳代にかけてのPG-I、PG-IIの上昇傾向は、この年代における胃炎、潰瘍等の疾患の増加を反映していると思われる。今回検討した対

Table 3 Serum pepsinogens in normal subjects

		PG-I (ng/ml)	PG-II (ng/ml)	PG-I/PG-II
Normal n=187	range	19.1-115.2	2.7-46.6	1.2-10.8
	median	49.6	10.2	4.6
Male n=101	range	19.1-109.8	3.3-45.5	1.6-10.8
	median	53.6	11.9	4.4
Female n=86	range	22.5-115.2	2.7-46.6	1.2-10.1
	median	43.8	8.1	4.9
Normal	mean	55.6±26.3	14.8±11.5	4.8±2.3

Table 4 Serum pepsinogen levels in normal subjects

Age	n	PG-I (ng/ml)	PG-II (ng/ml)	PG-I/PG-II
20-	71	48.4±19.4	10.1±7.9	5.9±1.9
30-	52	55.9±20.3	13.3±7.9	5.1±2.2
40-	27	62.1±27.9	19.7±12.8	4.0±2.0
50-	31	53.9±26.2	19.3±12.0	3.4±1.9
60-	5	58.5±14.4	15.4±7.5	4.5±2.0
Total	106	55.6±26.3	14.8±11.5	4.8±2.3

mean±SD *p<0.05, **p<0.01

象中、初回、正常域にあった PG-I, PG-II が、急性胃潰瘍発症とともに著明に上昇した症例があったことは印象的であり、PGs の測定が、胃潰瘍のモニターに応用できる可能性を示唆する所見であった。

Samloff らは、血清 PG-I, PG-II レベルと胃粘膜組織の対比を行い、胃炎の程度に応じて、PG-I と PG-II が異なって変動することを示し、PG-I/PG-II 比と PG-I のコンビネーションが胃粘膜の状態を良く反映すると報告している²⁾。PG-I, PG-II をペアで測定することにより、より詳細な胃粘膜の活動の情報を得ることが期待でき、PG-I, PG-II ペアキットは、有用と考えられる。

V. 結 語

PG-I, PG-II のペア IRMA キットは、操作性、安定性、信頼性ともに満足しうるものであった。正常人の PG-I, PG-II は、50~60 歳までは年齢とともに上昇する傾向にあった。しかし、PG-I/PG-II は年齢とともに低下した。

文 献

- 1) Samloff IM, Townes PL: Electrophoretic heterogeneity and relationships of pepsinogens in human urine, serum and gastric mucosa. *Gastroenterology* **58**: 462-469, 1970
- 2) Samloff IM, Varis K, Ihamaki T, et al: Relationships among serum pepsinogen I serum pepsinogen II, and gastric mucosal histology. A study in relatives of patients with pernicious anemia. *Gastroenterol* **83**: 204-209, 1982
- 3) Miki K, Ichinose M, Shimizu A, et al: Serum pepsinogen as a screening test of extensive chronic gastritis. *Gastroenterologia Japonica* **22**: 133-141, 1987
- 4) Axelsson CK, Nielsen MD, Kappelgaard AM: Solid-phase double-antibody radioimmunoassay of pepsinogen I in serum. *Clin Chim Acta* **121**: 309-319, 1982
- 5) Ichinose M, Miki K, Furuhashi C, et al: Radioimmunoassay of serum group I and group II pepsinogens in normal controls and patients with various disorders. *Clin Chim Acta* **126**: 183-191, 1982
- 6) Biemond I, Pals G, Giliams JP, et al: Progress in clinical and biological research. Kreuning J, Samloff IM, Ratter JI, eds, AR Liss, New York, 1985, pp. 55-65
- 7) 岡 博, 三木一正, 三好秋馬, 他: ペプシノーゲン RIA キットの臨床的検討. *臨床成人病*: 印刷中