

ット insulin 抗血清および牛 Albumin を加えて 4°C, 1 時間 tube を coating する。それに sample または基準 insulin および I^{131} -insulin を加えて 4°C で 16~24 時間 incubate し内容を吸引除去した後に coating する。Bound insulin の % を求める (A 法)。その結果基準曲線、再現性、繰返し測定ともほぼ満足すべき結果を得た。またこの tube を用いて insulin 抗体を含む sample についての測定法を検討した。この方法は前もって管壁の insulin 抗体 (モルモット) と血液中の insulin を反応させた後に内容物の吸引除去を行ない更に Buffer で洗い、sample 中の insulin 抗体を除き、その上に I^{131} -insulin を加えることにより血中の insulin を測定しようとするものである。(B 法)、この B 法では insulin 抗体を含まない血漿と同様なる値を示したが、A 法では低値を示した。更に詳細にわたりこの方法の検討を加えるつもりであるが抗体存在下の insulin の測定法として希望がもてそうである。次に Radioimmunoassay の自動化には遠心、濾過の必要のないこの方法 (A) に希望がもてる。更に insulin と人 HG の同時測定は I^{131} , I^{125} の選別に成功すれば二抗体法で良好なる結果がえられる。外因性カツオ insulin と哺乳動物の insulin の differential radioimmuno-assay に成功したので、カツオ insulin を犬に投与すると、xylitol, ブドウ糖 glucagon tolbutamide による insulin の分泌促進作用は完全に抑制されるが phentolamine の投与はこの抑制を解除したが Propranolol ではこの抑制解除はみられなかった。以上より外因性 insulin 投与による内因性 insulin 分泌の抑制は adrenalin の 2~receptor を介するものと結論される。

質問：入江 実 (東京大学 中尾内科) Solid Phase Radioimmunoassay は将来方法の簡便化にはなはだ便利であると思われる。とくに Tube 法はよいと思うが、アメリカにおいては 2, 3 の研究室で Tube におけるバラツキが多いといわれている。この点についての先生のご経験をお伺いしたい。

答：尾上久吾 確かにご指摘の通りに二抗体方法にくらべてバラツキが多いようでございますが、これの原因として試験管の適当な大きさといわれるものと Polystyrene と抗体の結合性に問題があるのではないかと思います。後書の問題については Polypropylene その他、国内の maker とも連絡をとって研究をしてみたいと思います。

質問：鎮田和夫 (虎の門病院内分泌科) insulin 治

療中の糖尿病患者ではインスリン抗体があるので radioimmunoassay による insulin の測定が困難であるが尾上先生はどのように測定しておられますか。

答：尾上久吾 insulin の抗体の存在する場合の insulin の測定には問題が多いわけでございますがこの solid phase ではまづモルモットの insullin 抗体をさきに管壁につけておくものでありますから sample 中の insulin の抗体は吸引あるいは buffer で洗いながら insulin 抗体と結合した抗体中の insulin と遊離のままである insulin と動物の insulin 抗体との間の結合性について定量的観点からは更にくわしく検討する必要があると思いますが、この solid phase では将来期待ができるのではないかと検討を進めている次第です。

追加：井村裕夫 (京都大学深瀬内科) インスリンの radioimmunoassay の臨床応用の 1 つとして、低血糖症の鑑別診断が挙げられる。演者らは Insulinoma の 2 例を経験したが、血漿インスリンの resting level は高値で、ブドウ糖、ラストノン、グルカゴンに対して極めて著明な反応が見られた。とくにラストノンに対する反応が最も著明であった。一分後腹膜腫瘍による低血糖症では、血漿インスリンは低値で、種々の分泌刺激に対してともほとんど反応が見られなかった。従って血漿インスリンの測定は低血糖症の鑑別に有力な方法であると考えられる。

*

3. ヒト成長ホルモン (HGH) の Radioimmunoassay

井村裕夫・加藤 譲 (京都大学深瀬内科)

成長ホルモンの radioimmunoassay の原理は他のホルモンの場合と同じであるが、抗原としてヒト成長ホルモン HGH を使用する必要がある。演者らは二抗体法による HGH の radioimmunoassay を実施している。すなわち、抗血清は HGH をモルモットに注射して作製し、 I^{131} -HGH は HGH(wilhelmi) を Hunter and Greenwood の方法によって標識して作製した。稀釈抗血清、 I^{131} -HGH、標準 HGH または血漿を混合して 3 日間 incubate し、ついで抗モルモット γ -グロブリン兎血清を加えて 1 日反応させ、抗体結合 HGH と遊離 HGH を遠心分離する。抗体結合 HGH を含む沈渣を洗滌した後、その放射能を測定する。この方法を用いると 0.1~10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の間で、HGH の対数と沈渣の放射能の間にほぼ直線関係が認められる。再現性は良好で、血

漿に加えた HGH の回収率もほぼ100%であった。また先端肥大症の患者血漿を順次稀釀して測定すると、標準 HGH と平行する反応曲線がえられた。以上の事実からこの方法は鋭敏で、信頼しうる方法であると考えられる。なお演者らは非特異的抑制反応を経験していない。

HGH の分泌は血糖値、運動、ストレスなど種々の因子によって影響されるので、早朝空腹安静状態で測定する必要がある。この状態での正常人血漿 HGH は $3.38 \pm 2.32 \text{ m}\mu\text{g}/\text{ml}$ (Mean \pm S.D.) で、大部分が $5 \text{ m}\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下であった。先端肥大症ではほとんどが $20 \text{ m}\mu\text{g}/\text{ml}$ を越えているので、resting level の測定のみで多くの場合診断が可能である。しかし正常人でも運動などの影響によって高値を取り、先端肥大症と鑑別を要する場合がある。このような場合ブドウ糖を負荷すると正常人では HGH は低下するが、先端肥大症ではほとんど変化が見られないで鑑別の参考になる。なお先端肥大症で下垂体凍結破壊術などの治療を行なうと、HGH は著明に低下し臨床症状も改善される。従って HGH の測定は治療効果の判定にも有用である。

下垂体機能低下症では HGH は低値の傾向にあるが、正常人との間に重なり合いがある、resting level の測定のみで診断はできない。下垂体機能に異常がない場合には、インスリン負荷 (0.1V/kg)、アルギニン負荷 (0.5g/kg) によって血漿 HGH は著明に増加するが、下垂体機能低下症ではほとんど反応が見られない。従ってこれらの負荷試験は下垂体性矮育症とその他の原因による矮育症、下垂体機能低下症と神経性食思不振症の鑑別に有用である。

質問：石井裕正（慶應大学三辺内科） ① Arginine や leucine などのアミノ酸による HGH の上昇の機序に関して、それが insulin を介するものかあるいは、アミノ酸の直接効果なのかその点についておききしたい。

② Spontaneous hypoglycemia の症例で HGH の上昇していた疾患は何であったかまたそれらの症例に Rastinon, leucine, glucose 等を負荷した場合の HGH の反応はいかがでしたか？ 最近われわれは insulinoma で Fasting HGH level は normal で、Rastinon leucine に対してもそれほど著明な反応を示さなかった症例を経験したのでお聞きしたい。

答：井村裕夫 (i) アルギニンなどのアミノ酸がいかなるメカニズムで HGH の分泌を促すが明らかでないが、インスリン分泌が起こらない若年性糖尿病でもアルギニンで HGH が増加するので、インスリンを介するものと

は考え難い。

(ii) 特発性低血糖症のうち HGH の resting level が高値であったのは、インスローマ 1 例、後腹膜腫瘍による低血糖 1 例であった。特発性低血糖症ではラストノンなどによる低血糖に対する HGH の反応は不良な症例が多かった。しかしこれらの例でもアミノ酸に対しては良好な HGH の反応が見られた。従って特発性低血糖症では、低血糖刺激に対する一種の慣れのような現象があり、低血糖に際して HGH の分泌が不良になるのではないかと考えられる。

*

4. 純毛性ゴナドトロピン (HCG) の Radioimmunoassay

東条伸平・望月真人（神戸大学産科婦人科）

純毛性ゴナドトロピン (HCG) の radioimmunoassay は最近長足の進歩をとげ、今日では下垂体ホルモンとの交叉反応を応用した LH の測定法にまで発展しつつある。

この方法ではラベルする HCG が可及的純粋なものであることが望ましいが現在諸家の報告している最高の specific activity は $15,000 \text{ Iu}/\text{mg}$ までである。

そこでわれわれはまづこのホルモンの精製法を検討し、CMC-クロマト、種々の Sephadex-G クロマトの組み合せにより、正常妊娠尿からは生物活性の多少異なるそれぞれ $12,000 \text{ Iu}/\text{mg}$ 、 $20,000 \text{ Iu}/\text{mg}$ の、また純毛性腫瘍患者尿からは $8,000 \text{ Iu}/\text{mg}$ specific activity をもつ HCG を抽出し、これに I^{131} をラベルし、主として二重抗体法による radioimmunoassay、(感度 $0.005 \text{ Iu}/\text{ml}$) を行ない、種々の条件下における HCG の生物活性と antigenicity との関係や体液、臓器中の HCG あるいは LH の動態を検討した。

HCG は biological specific activity をたかめるほど protein としての antigenicity は低下し、また加熱、6M-urea, 0.1MKOON, sialidase, α -chimotrypsin, streptokinase 等に対しては antigenicity の方がはるかにたかい抵抗性を示した。

Sephadex-G や DEAE-C クロマトでは crude HCG は生物学的には数個の分画に分けることができるが、radioimmunoassay からみた chromatogram は常に単峰性で蛋白量のピークにのみ一致し、この方法のみではキャッチできない、生物学的にのみ活性なゴナドトロピンが種々の条件的にのみ活性なゴナドトロピンが種々の条件下で存在しうることが推定したし、またこのホル