

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って、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. 純毛性ゴナドトロパン (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  $\text{I}^{131}$  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,  $\alpha$ -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

モンの生物活性部分と免疫活性(antigenicity)部分とが必ずしも共通の場をもつものでないことも想像できた。

しかしながら HCG radioimmunoassay の感度がたかいところから微量測定には最適であり、胎児血中の量やその臓器内分布を知る上に有利で、われわれは無脳兒の HCG 灌流によって臓器内分布をしらべ、特に性腺や腎臓に多いことを知った。また絨毛性腫瘍の診断時、ルチンに用いられている妊娠反応陰性例の検討には本法は極めて重要であるし、また下垂体性 LH との交叉性から、非妊娠の血中、尿中 LH の動態を検討する上にもはなはだすぐれた方法であり、たとえば正常月経周期の排卵期における LH のピークはこの方法で明瞭に認識できるし、種々の内分泌疾患、あるいはフィードバック試験時の LH の動態を追求することも可能である。

協同研究者：都倉康正・永沢富一・足高善彦

質問：三浦清巒（長崎大学産婦人科）① radioimmunoassay に何 iu/mg まで実用可能でしょうか。

② 抗血清に用いる尿タンパクの抽出法。

③ chorio の follow up の際に chorio より HCG と Horn 抽出した HCG で i.u. が異なるか。

答：東条伸平 radioimmunoassay に用いる HCG の purity は最低 7~8000IU/mg 程度の specific activity をもつものがよいと思います。antiserum の purification よりも HCG の purification の方が procedure としては容易と思います。antiserum の処理には小児尿と男子の serum を直接用いています。また tumor の HCG の分子量は 10,000 から 100,000 位の範囲に分布していますから、1 つの antigen のみを用いて、choriom の患者の体液中の HCG をすべてキャッチすることはできません。

\*

### 特別発言 1

#### 「FSH と LH Radioimmunoassay」

出村 博（東北大学 鳥飼内科）

血漿 FSH および LH の radioimmunoassay で特異性の高い測定を確立するためには、沃度化および標準物質には高度に純化されたものを用いること、抗体については FSH と LH あるいは HCG 相互の交叉反応を予め吸収除去することが大切である。沃度化後の純化には Sephadex G-100 カラムを用いるが、radiation damage の少い、安定度の良い分割をとることが必要である。われわれは Bound と Free の分離には paperchromatoelectrophoresis を用いてきたが、最近 dextran coated ch-

arcoal 法も実測に用いられることを明らかにした。精製された下垂体あるいは尿資料については radioimmunoassay と bioassay の測定成績は良く一致した。われわれの血漿 FSH および LH の成人男子における正常値はそれぞれ 17 および 14m1V2nd-IRP-HMG で他の報告とほぼ一致した。思春期前的小児でも、成人の半分以上の値を示した。下垂体機能低下者や先天性副腎過形成の患者では低値、閉経婦人や Klinefelter 症候群、ときに末端肥大症や Cushing 症候群の患者でも高値がえられた。正常者では insulin 静注 (0..1V/kg) 後 60 分から 90 分後に血漿 LH は前値の 2~3 倍に増加したが、汎下垂体機能低下者では無反応であった。Premarin (20~40mg) 静注によっては正常者の血漿 LH 値は 30 分後に一時低下し 120~180 分後に前値よりも上昇した。正常婦人の月経周期では、FSH と LH の peak は共に基礎体温の上昇に先立って出現した。

質問：望月真人（神戸大学産婦人科）① 月経周期中間でみられる LH 放出 peak に一致して FSH 放出 peak もみられるという事実をどのように理解するべきでしょうか？

2) Dr. Roosen が報告します。pituitary glycotropic hormone はその生物活性は異なっていても免疫活性基はそれぞれ同じものを所有しているという成績について先生のお考えをおたずねします。

答：出村 博 確かに bioassay では FSH の peak は月経周期の前半に出現するとの報告が多いが、radioimmunoassay では大部分の報告が FSH の peak は LH と一致して出現しています。後の問題については検討したことがないのでお答えできません。ただ FSH を特異的に測定しているか否かについて、第 1 に沃度化や標準物質には非常に高度精製された FSH (LH のものの混入は 0.5p 以下) のものを用いており、抗体は予め吸収によって LH と反応する部分を除いていること、FSH と LH の測定値の間に discrepancy のあることなどから FSH を特異的に測定していると思います。

\*

### 特別発言 2

#### glucagon の radioimmunoassay

島 健二（大阪大学 西川内科）

Glucagon Radioimmunoassay 法の問題点として、

1) Immunoassay 使用に充分なる高 titer の Glucagon 抗体がえがたいこと。