

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 のは感度がたかいた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、われわれは無脳児の 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、非妊婦の血中、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：三浦清替（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 7~8000 Iu/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 paper chromatoelectrophoresis を用いてきたが、最近 dextran coated ch-

arcoal 法も実際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 14 mIU/ml 2nd-IRP-HMG で他者の報告とはほぼ一致した。思春期前の小児でも、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 (0.1 V/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 (20~40 mg) 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 が報告しています。pituitary glycotropic hormone はその生物活性は異なっている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 では大部分の増が 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。

2) Glucagon が他の peptide hormone に比し蛋白分解酵素により分解され易いこと。

3) 豚 Glucagon 抗体と免疫学的に交叉反応するが、生物学的活性が豚 Glucagon のそれと異なる豚外性 Glucagon の存在、などがある。

私は Glucagon 抗体を Assan 等の方法に従い Glucagon を polyvinylpyrrolidone および incomplete Freund's adjuvant と混和し、モルモットを免疫することによりえた。その他 complete Freund's adjuvant, あるいはカリミヨウバンを添加する方法も試みたが、いずれかの方法が優れているとはいえない。測定法は二重抗体法によった。Hunter 等の方法により作製した標識 Glucagon, および新鮮血清添加結晶 Glucagon が凍結保存中に分解され、proteolytic enzyme inhibitor (prasyol) の添加によりこれを防止することより、血中 Glucagon 測定に際しては 1000u prasyol を添加し、新鮮血清を用いた。

本測定系においては最少 0.1 μ g の Glucagon が検出可能であり、また回収率は約90%とほぼ満足すべき成績であった。

本法を用いての空腹時正常人血清 Glucagon 濃度の平均は 0.44 μ g/ml であった。静脈内ブドウ糖負荷後 Glucagon 濃度は減少し、15分後最低値 (0.27 μ g/ml) に達した。一方 100g 経口のブドウ糖負荷試験においては Glucagon は上昇し、30分後に最高値 0.52 μ g/ml ($p < 0.05$) に達した。

*

特別発言 3

レニンアンギオテンシンの Radioimmunoassay

福地総逸 (東北大学 鳥飼内科)

レニンおよびアンギオテンシンの radioimmunoassay について検討した結果を発表する。

抗レニン血清はわれわれの方法によって純化したレニンを1週2回づつウサギに筋注して作製したが、その抗体価は radioimmunoassay に使用するのに不充分であった。この原因としては、純化したレニンの不安定性によると考えられる結果がえられた。

抗アンギオテンシン血清は valine⁵-アンギオテンシン II とブタ γ -globulin とを carbodiimide によって結合させたものをウサギに2週オキに筋注して作製した。

radioiodination は Hunter & Greenwood の方法によって行ない、Amberlite CG-400 column によって純化した、immunoassay は未知量の稀釈したアンギオテンシン 0.8ml, 0.1ml の ¹³¹I-アンギオテンシン 0.1ml, の抗血清を混和して2時間室温、次いで 5°C に2時間 incubate することによって行なった。その後 dextran-coated charcoal 1.0ml を加え、20分間振盪後遠心、沈渣の radioactivity を測定した。アンギオテンシン量は standard の示す radioactivity と比較することにより計算した。アンギオテンシンに対する抗体は2~3カ月で radioimmunoassay に使用可能のものを作製できた。¹³¹I-アンギオテンシンの specific activity は約 200mc/mg, damaged fraction は5%以下。本法の感度は、0.05mg, ラットによる bioassay の結果とはよく平行した。

本法は bioassay に比べて特異的、かつ感度が高く、今後大いに利用されると考えられる。

質問：島 健二 (大阪大学 西川内科) angiotensin を γ -globulin と conjugate する際 angiotensin の damage はどのようにであったか。

答：福地総逸 angiotensin とブタ γ -globulin との高分子化合物の純度、分子量の検討はまだ行っていない。しかし、angiotensin のみをウサギに投与した時には抗体を産生せず、ブタ γ -globulin との高分子化合物を投与すると十分な抗体を産生したので、angiotensin とブタ γ -globulin が充分に結合していることは間違いないと思われる。

*

特別発言 4

Immunoassay Kit を用いた インスリンの Radioimmunoassay

中川昌壮 (熊本大学 長島内科)
楠本 亨 (岡山大学 小坂内科)

英国原子力公社 (RCC) とダイナボット社 (DA) 発売の2種類の insulin radioimmunoassay kit を用い、血中 insulin 測定上の2~3の点について比較検討した。両キットにおいて、キット添付の指示書通りに行なった場合、感度 (0~100 μ u/ml の範囲で、1 μ u/ml 再現性、同一検体の測定値のバラツキ (100 μ u/ml の検体で10%以内)、回収率 (93%)、稀釈試験で両キット間に差を認め難い、抗体結合 insulin と遊離 insulin の分離法として、RCC は microfiltration, DA は遠心分離法を指示