

6. Radioimmunoassay の特徴

上述のように radioimmunoassay にはなお今後に残された問題点があるが、鋭敏で操作が簡単で、一般に特異性の点でもすぐれている。従って血中ホルモンの動態を連続的に追求したり、血中ホルモンの存在形成を研究するのに適している。また生物学的活性と免疫学的活性の解離を利用し、生物学的活性のみを有するホルモンを投与して内因性ホルモンへの影響を観察するという特殊な利用法もある。

以上ペプチドホルモンの radioimmunoassay の現況、問題点、特徴について述べた。

*

2. Steroid hormone の radioimmunoassay

井林 博

(九州大学 第3内科)

関原忠彦 村上 匡 大沢伸昭

(東京大学 第3内科)

血中 steroid hormone 濃度は副腎 androgen の dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA sulfate) の 3×10^{-6} moles/L, cortisol の 3×10^{-7} moles/L, progesterone, testosterone のそれぞれ 1×10^{-9} moles/L, estradiol, aldosterone のそれぞれ 3×10^{-10} moles/L, と、下垂体前葉 peptide hormone 同様に極めて微量である。血中その他生体試料中の steroid hormone 超微量定量法として Murphy (1968) は(1) 彼女自身の開発した Competitive protein-binding analysis 法 (1963) と (2) 漸く近年北米において開発された Radioimmunoassay 法 (Abraham 1969, Nugent ら 1970) を Radiosteroassay method と命名している。ステロイドホルモンの radioimmunoassay (RIA) の歴史は1957年 Erlanger, Lieberman らによる steroid hormone と牛血清アルブミン (BSA) 結合体の作製と、これを抗原として兎に steroid hapten に対する抗血清の作成という報告に始まる。Abraham (1969) はこの知見に論拠して最少検出量 10 picogram という驚異的な高感度の estradiol の RIA 法を完成し、引続き Nugent ら (1970) は aldosterone, testosterone などの RIA 法を開発した。

われわれは人副腎 androgen である DHEA sulfate のガスクロマト定量法を考案し既に発表した¹⁾が、今回 DHEA hapten に対する兎抗血清の作成に成功し、血清 0.01ml (ガスクロ法の 1/200 量) の少量試料で血中 DHEA sulfate の微量定量が可能な RIA 法を開発し

たのでその概略と、同じく Dr. Nugent より分与された aldosterone 抗血清を用いる血中 aldosterone の RIA 法の基礎検討とその臨床応用面の追試成績を紹介する。

われわれの作成した DHEA-17-oxime-BSA 誘導体は mixed auhydride 法を採用し、C17位の Ketone 基と BSA を結合せしめて 4^3 -3 β -OH 基に対する抗体を作成した。先づ DHEA を O-carboxymethyl-hydroxylamine により DHEA-17-O-carboxymethyl-oxime とし、次いで isobutylchlorocarbonate により酸無水物とした後 BSA と作用せしめて DHEA-17-oxime-BSA を作成した。次いで DHEA-17-oxime-BSA は Thorncroft らの方法に準拠して complete Freund adjuvant と共に emulsion として家兎を免疫し約3カ月で DHEA の RIA に available な抗血清をえた。抗血清は BSA で吸収後、rivanol 処理を行なって RIA assay 系に適用した。

DHEA の標準曲線は 6000 倍稀釈抗血清で 0~300pg 間に良好な検出曲線を示し、DHEA 以外に 5-androstene-3 β , 17 β -diol (4^3 -A-diol) と pregnenolone とのみ有意の交叉反応を示し、これら 4^3 -3 β -OH steroids の RIA にも適用可能であることを示唆する。本抗血清を用いる血中 DHEA sulfate 微量定量法は再現性即ち accuracy (精度), precision (精度) 共に良好で、臨床的に極めて有用な方法であることを確認した。次に Dr. Nugent より分与された aldosterone-3-oxime-BSA を抗原とする抗血清に関する基礎検討成績からその特異性と再現性が秀れており、10000 倍稀釈抗血清を用いて Conn 症候群 6 例を含む 2~3 疾患における臨床応用面の検討成績を報告する。生体試料中 steroid hormone 微量定量法は Murphy のいわゆる radiostereassay が今後変方法論的方向と考えられるが、Competitive protein-binding analysis 法と共に RIA に関しても臨床の実用化の立場からは更にその測定法の簡便性、迅速性の検討が今後に残された課題と考えられる。

*

3. α -Fetoprotein の radioimmunoassay に よる肝癌の診断について

西 信三 平井秀松

(北海道大学 第1生化学教室)

α -Fetoprotein は肝細胞癌患者の血中に特異的に出現しこのタンパクを血中に検出することは極めて重要な診断的意義を有する。その検出および定量には通常はオク