

42. TRH Radioimmunoassay

名古屋大学 第一内科

満間 照典 広岡 良文 仁瓶 禮之

血中及び尿中の TRH 測定法としての TRH Radioimmunoassay (RIA) を開発しその臨床的応用の有用性について報告して来た。Bassiri 等は標識 TRH は非常に不安定で各測定前に再精製して使用する必要があると報告している。今回我々はこの点につき検討を加えると共に、本法の臨床的有用性についても検討を加えた。

TRH の標識は Greenwood Hunter 法に準じ ^{125}I を TRH に標識した。さらに標識 TRH の精製は Sephadex G-10 カラムを用い、0.15M NaCl を含む 0.05MPO₄ buffer (PH7.5) で溶出して行った。eluate の r -spectrogram は3つの peak が得られ、諸検討より Fraction I は damage 蛋白部分、Fraction III は ^{125}I であり、Fraction II が TRH- ^{125}I である事が認められた。Fraction II をさらに比放射能の上昇部(a)、頂部(b)、下降部(c)に分け各部の抗体との immunoreactivity の差を検討した結果 b 部に最も高い immunoreactivity を認め次いで c、a であった。Bassiri 等は c 部に最も高い immuno-reactivity を認めたと報告しており、我々の結果とは差を認めたがこれは用いたカラムの条件の差によるものと思われる。又 Bassiri 等上述の如く TRH- ^{125}I は不安定であると報告しているが、我々は TRH- ^{125}I を1回の使用量に分け -20°C に保存し、その安定性を検討した結果、約1ヶ月間は安定である事を認めた。然し凍結、溶解を数回くりかえすと TRH- ^{125}I の immunoreactivity は消失する事を認め、上述の如き方法で保存する必要がある事を認めた。

TRH RIA で測定した血中 TRH 値正常者で感度以下より 1.6ng/ml、甲状腺機能亢進症及び三次性甲状腺機能低下症では感度以下、原発性甲状腺機能低下症では 2.0~8.0ng/ml であった。又原発性甲状腺機能低下症に T_4 を投与すると血中 TRH は低下する事が認められた。

以上 TRH RIA は TRH の生理学的病態生理学的意義を知る上に有用な手段である等が示唆された。

43. ACTH キットの検討

名古屋大学 第一内科

鈴木 進 満間 照典 仁瓶 禮之
富田 明夫

先に我々は、自家製の抗体を用いた ACTH-Radioimmunoassay について検討を行ってきた。今回我々は、英国 RCC の ACTH キットについて基礎的・臨床的検討を行った。本法は 2-8 ml 血漿よりガラス粒で ACTH を抽出後、抗人 ACTH 抗体と共に、16-18 時間 1st incubation を行い、その後 I^{125} -ACTH を加えて incubate し、Dextran coated charcoal に Free Form を吸着し、その比放射能より ACTH を測定する方法である。基礎的検討は、抽出・抗体の特異性、Incubation time 感度、及び分離の方法等について行った。抽出操作は、ガラス粒への吸着及びアセトンによる溶出の二段階から成り、 I^{125} -ACTH のガラス粒への吸着率は混和後10-40分の間で約55%と一定であった。アセトンによる溶出率は混和後5-30分の間で一定であり、上述の時間内では抽出率は約40%と極めて安定した値を示した。しかし抽出率は使用血漿量により明らかな変動を示し、抽出には、一定量の血漿を使用する必要がある事を認めた。本抗体は、TSH, HCG, GH, FSH と交叉性を示さず、ACTH に特異的抗体である事を認めた。2nd incubation に於ける incubation time を検討し、8時間で Bound% は55%に達し以後24時間までにはほぼ同値を示した。Bound, Freeの分離に於いて、Dextran Coated Charcoal 添加直後より30分まで、Bound% はほぼ一定値を示した。標準曲線は 20-400pg/tube にはほぼ直線性を示し、最低感度は 20pg/tube であった。回収率は80-90%と比較的良好な値を示し、Intraassay の variation は 120 ± 14 (SE) pg/ml ($n=10$) と満足すべき結果が得られた。本法により測定した正常者の午前6時に於ける血漿 ACTH 値は 20-100pg/ml に分布し、正常者では SU-4885 に対して明らかな増加を示した。以上本法は、著者等の方法と同様、ACTH に特異的であり、鋭敏な感度を有し、臨床 ACTH 測定に有用な方法と考えられた。