

56. 血漿 Cortisol 測定用 Radioimmunoassay Kit について

第一ラジオアイソトープ研究所

立花 清司 中沢 信彦 小川 弘
京都大学 第二内科 吉見 輝也
同 中央検査 遠藤 治郎

我々は昨年の核医学会総会において、 ^{125}I -cortisol を用いた cortisol の RIA の基礎的検討の結果を発表したが、その後更に検討を進め、従来使用されてきた ^3H -cortisol を用いた CPBA に比較して、はるかに簡便で精度の良い kit が可能となったので紹介する。

B, F の分離には, florisil, dextran coated charcoal, 二抗体法, resin strip, polyethylene glycol (PEG) を検討したが, 二抗体法, resin strip 法, PEG 法で良い結果が得られた。

血漿からの cortisol の抽出 (CBG の不活化) には, dichloromethane による抽出, alcohol による抽出, alcohol による CBG の不活化を検討したが, いずれの場合にも測定値はよく一致した。また, 二抗体法, resin strip 法, PEG 法による測定値も互いによく一致した。

結局, 我々は CBG 不活化用 alcohol と PEG を用いた kit を作製して良い成績を得た。本 kit によると抽出・クロマト操作は必要なく, 40分間の incubation 時間を含め約100分間で100tubeの測定が可能であり, 操作も簡単なのでルーチンの測定に充分使用可能である。

本 kit により $1.25 \sim 80 \mu\text{g}/\text{dl}$ の cortisol 濃度が測定可能であるが, $3.68 \sim 22.6 \mu\text{g}/\text{dl}$ の cortisol を含む9種類の血漿を用い, 10.4, 25.6, $50 \mu\text{g}/\text{dl}$ の cortisol の回収率は, それぞれ 103, 103, 100%であった。また本 kit は精度も良好であり, ^3H -cortisol を用いた CPBA 法による測定値との相関は, 30の sample について, 相関係数 $r = 0.93$, 回帰直線 $y = 1.02x + 1.27$ ($\mu\text{g}/\text{dl}$) と良好であった。

57. Immunologic purificationを用いた人血漿 aldosterone の radioimmunoassay

京都大学 第2内科 河野 剛 吉見 輝也
京都大学 中央検査 遠藤 治郎

chromatographyを用いない人血漿aldosterone(ald)の radioimmunoassay (RIA) 法の1つとして, NIH 抗 ald 血清 #088の濃い液による血漿 ald の吸着純化法を検討した。albumin を0.5%, γ -globulin を0.1%に含む borate buffer (BB) にて抗血清の500倍液 (S1) を作り, S1 0.1ml を8ml の上記 BB で希釈し, これに protein-coated charcoal 2ml を加えて4時間室温放置後遠沈して, 上清すなわち純化50,000倍抗血清 (S2) を得, これを他の steroid との分離に用い, S2 をさらに希釈して作った750,000倍抗血清 (S3) を RIA 用に用いた。一般に $1 \sim 2 \text{ ml}$ の人血漿をとり, これに $1,000 \text{ cpm}$ の ^3H -ald を加えて MeCl_2 で抽出, 脱水乾燥後 0.5 ml の S2 を加え, 室温で2時間 incubate 後等量の硫酸を加えて遠沈し, 上清を除去後沈澱を 0.2 ml の BB に再溶解し, 0.3 ml の dextran-coated charcoal を加え, 4°C 5分間 incubate 後遠沈し, 上清をとった。これには S2 に結合した ald が含まれ, これを 4 ml の MeCl_2 で抽出し, その 1 ml を回収率測定用に, 他の 1 ml ずつを RIA に供した。各標準 ald と血漿からの試料に $2,000 \text{ cpm}$ の ^3H -ald を含む S3 0.3 ml を加え, 4°C で一晩 incubate 後, 氷冷硫酸 0.3 ml を加え, 遠沈して bound と free を分離した。

本法では 0 pg に対応する %bound は約60%で, これを100%と仮定した際の各標準 ald 量に対応する %bound を logit-log paper 上に plot すると, $5 \sim 500 \text{ pg}$ の間で直線となり, これを標準曲線として試料中の ald を算出した。本法での ^3H -ald の回収率は約50%で, 水 2 ml の water blank は 2 pg 以下で, 数個の血漿試料とこれに ald 10 pg ずつを加えた試料の測定値の差はほぼ 10 pg に近く, また数個の血漿試料を2分して本法と従来の chromatography 使用 RIA 法の両方で測定した値はほぼ類似した。本法による正常男子の午前9時臥位の値は $4.5 \sim 11.1 \text{ ng}/100 \text{ ml}$ で, 原発性 aldosterone 症, Bartter 症候群では高値が認められた。本法は1種類の抗血清を用いて chromatography を用いずにやれる実用的で優れた RIA 法と考えられる。