217. 血清および尿中オステオカルシンのheterogeneity

Heterogeneity of Serum and Urinary Osteocalcin

埼玉県立小児医療センター放射線部

○山本英明	荒井孝	松本智尋
(Hideaki Yamamoto)	(Takashi Arai)	(Tomohiro Matsumoto)
山口明	池井勝美	橋本宏
(Akira Yamaguchi)	(Katsumi Ikei)	(Hiroshi Hashimoto)

近年、オステオカルシン(以下O.C.)の特異抗体を用いた免疫学的測定法による定量化が可能になり、血清レベルにおけるO.C.濃度の測定が日常検査として普及されつつある。臨床検査としての血清O.C.測定は、ウシ由来の標準品を使用した二抗体法RIA(以下RIA)キットが相次いで開発され、その後合成ヒトBGPなどのモノクローナル抗体を用いたIRMA(以下IRMA)による測定キットなど、各種の測定法が開発された。今回われわれは、ゲル濾過法によって血清および尿中O.C.を分離し、市販の各種測定キットにおけるheterogeneityについて比較検討した。

【対象および方法】 対象は、腎疾患、内分泌疾患のない健常児および血液透析を施行している慢性腎不全患児の血清および尿とした。カラム泳動に際しては、健常児の血清を10倍濃縮、尿を20倍濃縮、また慢性腎不全患児の血清および尿をそれぞれ5倍濃縮したものを試料とした。

方法は、Sephadex G-100ゲルを充填した直径1.6cm、長さ110cmのカラムに濃縮試料3mLを泳動し、50mMの重炭酸アンモニウム溶液にて溶出した。fraction sizeは3.3mL/tubeである。溶出液は280nmにて吸光度を測定し、さらに約10倍に濃縮後、3種類のRIAキットおよびIRMAキットにてO.C.濃度を測定した。また一部検体については、Sephadex G-50カラムを用いて同様の分析を行った。なお、分子量の目安としては α_1 -ミクログロブリン(33,000)、 β_2 -ミクログロブリン(11,800)およびインスリン(5,900)を用いた。

【結果と考察】 Sephadex G-100カラムによる健常児血清の溶出パターンを比較すると、3種類のRIAキットは抗血清の特異性および標品の違いによって測定濃度に著明な差が認められたが、溶出パターンとしてはfraction No. 38~54に推定分子量が6,000~12,000の大きなピークと、それよりも高分子量側に低いピークとがそれぞれのキットにおいて観測された。一方、IRMAキットではfraction No. 38~54に推定分子量が6,000~12,000の大きなピークのみが観測された。慢性腎不全患児の血清O.C.溶出パターンの比較においては、RIA、IRMAキットとも健常児の血清O.C.溶出パターンと同様に推定分子量6,000~12,000の大きなピークが観測された。また、IRMAキットにおいても高分子量側に低いピークが観測された。さらに、3種類のRIAキットでは、fraction No. 60付近に極めて低分子量のピークが観測されたが、IRMAキットからは同様のピークは観測されなかった。

Sephadex G-100カラムによる健常児尿中O.C.溶出パターンを比較すると、3種類のRIAキットにおける主要なピークはfraction No. 38~54に推定分子量が6,000~12,000とfraction No. 60を中心とした低分子量の2種類のピークが観測された。一方、IRMAキットにおいては、fraction No. 38~54に極めて低いピークのみが観測された。同様に慢性腎不全患児の尿中O.C.溶出パターンを比較すると、RIA、IRMAのいずれのキットにおいても、慢性腎不全患児血清と類似したピークが観測された。このことは、IRMAキットは健常児の尿中O.C.溶出物では著明な免疫活性が認められなかったことから、健常児と慢性腎不全患児の尿中O.C.の存在様式の違いが示唆された。

Sephadex G-50カラムによる慢性腎不全患児尿中O.C.溶出パターンをIRMAキットにて測定をしたところ、fraction No. 36~56に推定分子量が6,000~12,000のピークとfraction No. 24~34に推定分子量約30,000の2種類の大きなピークが認められた。

【結論】 健常児および慢性腎不全患児の血清O.C.のSephadex G-100カラムによる溶出パターンの比較においては、RIA、IRMAのいずれのキットからも、推定分子量が6,000~12,000の大きなピークが観測され、異なる測定法による大きな差異は認められなかった。このことから、血清レベルでの測定においては、抗血清の抗原認識部位の差による影響は無視し得るものと思われた。

一方、O.C.の尿中における存在様式は健常児と慢性腎不全患児によっても異なり、さらに多くの代謝・分解産物が考えられるため、抗血清の抗原認識部位の差によって測定値に大きな誤差のことが推測された。