ラジオイムノアッセイ法 (VI)

測定値の解釈†

岡田義昭, 中嶋典子, 熊原雄一*

鳥取大学 医学部, 米子市西町;

*大阪大学 医学部, 大阪市福島区堂島浜通

1. はじめに

ラジオイムノアッセイ (RIA) が普及しだして以来すでに12年を過ぎ、ペプチッドホルモンだけでなくアミン系、ステロイド系のホルモン、さらにはホルモン以外の物質にも応用され、微量物質の検出と測定には欠かせない方法になってきた。RIA 法そのものの検討については、もはや時代遅れの感がないでもないが、RIA 測定値を正しく解釈するためには RIA にともなうさまざまな問題点を理解しておく必要があるので、ヒト成長ホルモン (GH) を中心として若干の考察を加えてみたいと思う。測定値の解釈には、1) 測定法側と2) 測定される検体側および3) 検体を得た生体の条件など3つの因子を考慮しなければならないが、ここでは前2者について述べることにして、生体側の生理的あるいは病的条件および採血の条件などについては別の機会にゆずりたいと思う。

2. 測定法について

2.1 標準ホルモン

RIA において同一抗体、同一標識ホルモンを使用しても免疫学的活性の異なる標準ホルモンを使用すれば、得られる検体のホルモン濃度に差がでてくるのは当然である。いま仮りにAというホルモンがあって、抗体を作成するのに必要な抗原としてのホルモンにA', A'' が不純物として混在しているときには、抗体は抗(A+A'+A'') ができるはずである。標識ホルモンおよび標準ホルモンにAを使用すれば、標準曲線から読みとった検体のホルモン濃度はAの濃度として表わされるが、もし標準ホルモンにA+A'を用いると、検体もこのA+A'に相当するホルモン濃度が得られ、不純物をも測定していることになり、実際のホルモンA濃

度よりも高い値が得られる。たとえばGHを例にとってみると、Raben GH (#21) を抗原として得た抗GH血清を用い、標準GHとしてはRaben GH (#23) および Wilhelmi GH (HS 1147)、標識GHとして¹²⁵I-Wilhelmi GHを用いた反応系において、両者の標準曲線は図1のようになる。検体を測定する場合B%からの読みとりは、Raben GH による標準曲線では Wilhelmi GH のそれよりも高い値となって表わされる。この図からは Wilhelmi GH と Raben GH の免疫学的活性は 1:0.567¹⁾ の比率であったが、同

図1 Raben GH と Wilhelmi GH による標準曲線の比較

† Radioimmunoassay (VI) Evaluation of Measured Value, Yoshiaki OKADA, Noriko NAKASHIMA: Tottori University Med. School: Yonago; and Yuichi KUMAHARA: Central Lab. for Clin. Invest., Osaka University Med. School, Osaka.

じ Wilhelmi GH においてもその免疫学的活性は17~100%の開きがある²⁾といわれるので、RIA にさいして標準ホルモンに何が使用され、その活性が同じであるかどうかをつねに念頭におかなければならない。ただしキット使用による RIA では、こうした標準ホルモンの活性が十分に配慮されているので、とくに問題にする必要はない。

2.2 標識ホルモンの変性物質

RIA において決して無視できないのは標識ホルモンの変性である。標識ホルモンの変性については、1) ホルモンを標識するときに行える preparation damage, 2) 放射能によるホルモンの変性, 3) deamination による damage, 4) incubation 中に生じる damage などがある。測定値の解釈には測定操作時の変性物質を無視できないので、ここにその一部を取りあげる。

2.2.1 測定に使用するまでの変性物質

ホルモンの標識時に使用するクロラミンTが影響するといわれ³⁾、クロラミンTとの接触時間が長いほど、変性物質は増加する。標識後、遊離のアイソトープと標識ホルモンを分離するには、Sephadex によるゲルろ過、セルロースカラムへの吸着、starch gel 電気泳動による分離などの方法がある。詳細については主題からはずれるので省略するが、一般的には Sephadex G100 を用いたゲルろ過によって、より純な標識ホルモンを得る方法がとられている。ホルモンを標識後ただちに測定に供することは少なく、ある時間保存したのち使用することが多い。図2は Sephadex で分離された ^{125}I -GH を2週間以後さらに Sephadex G100 (1 cm × 20 cm)、ベロナール緩衝液でゲルろ過したときの各流出液の放射能活性を表わした一例で、大体つねに3画分にわかれる。第1画分はアルブミンと結合した ^{125}I -GH、重合した ^{125}I -GH その他で、第2画分が比較的純な ^{125}I -GH、第3画分は ^{125}I である。これ

図2 標識2週間以後の ^{125}I -GH の Sephadex G-100 による精製

図3 Sephadex G-100のゲルろ過によって得られた各画分の ^{125}I -GHを用いた標準曲線。I, IIは第1, 2画分, IIIは ^{125}I である。

ら画分の免疫学的活性を標準曲線で比較すると、第1画分は第2画分に比べ63%の活性しかなく、またろ過前の ^{125}I -GH は第2画分に比べ78%の活性しかみとめられない。いいかえれば、標識後時間が経過すると標準曲線は感度、精度ともに低下する傾向にある(図3)。もちろんこうした標識ホルモンによる標準曲線で検体を測定すれば、測定値に再現性がないことはいうまでもない。インシュリン、GH-RIAのキットにおいて有効期限がある理由の1つはこのためである。

2.2.2 incubation damage

検体測定においてとくに問題になるのはincubation 中に生じる変性物質である。これは incubation 中検体の血清タンパクと接触して生じるもので、たとえば図4に示すように、DEAE-paper によるクロマト電気泳動で陽極側に21.9%の放射能活性が移動するような ^{125}I -GH では、これに血清が添加されると27.7%に増加した。このような DEAE-paper に吸着されない変性物質は、添加する血清によって異なるが、血清非添加に比べ6.7±2.4%増加した。この条件で求める変性物質は ^{125}I および変性 ^{125}I -GH を含む。クロマト電気泳動法、タルク法、チャコール法その他 RIA における free の標識ホルモンを bound から分離する方法においては、吸着性を失った変性物質の検出は可能であるが、2抗体法のように bound を分離する手技ではどうであろうか。incubation 中に生じる変

図4 血清添加による incubation damage の影響

性物質は、分子量の大きいものは遠沈後 bound のほうに移行する可能性があるが、血清を加えたときと加えないときの特異的沈殿物（抗体がはいらないときの沈殿物をいう）に差がないので、多くは上澄みに残される。変性物質が免疫学的に活性をもたなければ、抗原抗体反応に関与しない放射能活性であり、本来ならば bound % の計算時において、変性物質の放射能活性は total count から除外しなければならない。また免疫学的に活性をもっているかどうかをチェックするには高濃度抗体を用いて標識ホルモンを可能な限り bound として沈殿させ、上澄みに残る変性物質を検出しなければならない。著者の経験によると、測定に供する程度の抗体濃度では抗体の存在に関係なく、血清添加時上澄みに残る変性物質が増加した。2抗体法において上澄みに残る変性物質が、標準曲線用の反応液と検体測定法の反応液において同程度に認められるならば、bound の計算が相対的なものであるため問題はない。しかし実際は上にのべたように、血清が最終反応液量で1/10添加されると、上澄みに残る変性物質は非添加群より $7.56 \pm 2.03\%$ ($N=10$) 大となる。図5は標準曲線の0点に相当する反応液と、汎下垂体機能低下症患者血清を1:1, 1:2, 1:4に希釈して測定した反応液のB, F, 変性物質を調べたも

図5 血清添加による上澄みの変性 ^{125}I -GH に対する影響—2抗体法— 使用血清は汎下垂体機能症患者血清で、クロマト電気泳動法では、GH 濃度は測定感度以下。

のである。この血清はクロマト電気泳動法でGH検出不能の結果を得たものだが、2抗体法における測定では0点より低いB%となってGH濃度を読みとることができる。この血清に関していえば、上澄みのFと思われるcount内に1, 2, 4倍希釈においてそれぞれ 25.3 ± 2.52 , 19.3 ± 1.80 , $14.2 \pm 2.72\%$ ($N=5$) の変性物質が検出され、4倍希釈血清の測定においてはじめて標準曲線用反応液の変性物質 ($14.1 \pm 2.46\%$) と差が認められなくなった。しかし上澄みに残る変性物質が、血清添加後の第2抗体不足からくる ^{125}I -GH-第1抗体結合産物かもしれない。そこで上澄みの一定量に第2抗体を加え incubation 後沈殿物の放射能を調べたが、血清非添加、血清1, 2, 4倍希釈添加において、それぞれ 2.6 ± 0.8 , 3.2 ± 1.1 , 3.5 ± 1.3 , $2.7 \pm 0.52\%$ でほとんど差がなく、最初の total count からすれば無視できる%であった。したがってRIAにおける変性物質をできるだけ除去するためには、incubation 反応液に占める血清タンパク量を、測定感度の許すかぎり最少限にしなければならない。incubation中に生じる変性物質を考慮すれば、GH測定においては、血清を最終液量で40倍以上に希釈する必要がある。もちろん2抗体法における検体測定時の非特

異的 bound 低下は、上澄みの変性物質だけで説明しうるものではない。

2.3 反応液中のタンパクが標準曲線に及ぼす影響

2.3.1 ヒト血清

その中に GH が含まれないと思われる血清で、しかもクロマト電気泳動によって GH 検出不能の結果を得た血清を標準曲線用の incubation 混合液に添加すると、血清を含まない標準曲線との間に解離を生じる。2 抗体法においてこの現象がみられる(図 6)。理想的には両曲線が一致しなければならないし、また一致する条件で検体の測定値を求めないと、検体のホルモン濃度がつねに実際よりも高くなったり、低くなったりする。血清をあらかじめ 4 倍に希釈して標準曲線に添加するとほぼ一致することがわかる。しかし、汎下垂体機能低下症患者血清でたとえクロマト電気泳動法によって測定感度以下という結果を得たとしても、2 抗体法において標準曲線の 0 点よりも低い B% をとるのは前述した変性物質の因子以外にその血清中に GH が含まれているためではないかという疑問がわく。つまり血清を 2, 4 倍に希釈すると標準曲線に近づくのは、血清中の GH が 2, 4 倍に希釈されたためではないかと。こうした疑問を解決するには、得られた GH 濃度が倍数希釈どおりに希釈された値として求まるかどうかを確かめるほかない。血清添加標準曲線の 0 点はとりまなおさずその血清の GH 濃度を測定している条件であり、1 : 1, 1 : 2, 1 : 4 の 0 点における B% で GH 濃度を読みとると、

図 6 汎下垂体機能低下症患者血清の標準曲線に及ぼす影響

	検体 A	検体 B
1 : 1	2.0 ng/ml	0.9 ng/ml
1 : 2	1.5 "	0.7 "
1 : 4	0.8 "	0 "

となつて、決して倍数希釈どおり希釈されない。これは非特異的に B% が低下したためで、内因性 GH 濃度を表わすものでないことを間接的に証明している。

したがって検体の測定にあたって、標準曲線はヒト血清の添加されたほうを使用しなければならないことになる。インシュリンの測定においてもよく経験することであるが検体測定用反応液の B% が標準曲線の 0 点より高い値となりホルモン濃度が負の値をとることがある。事実、血清によってはそれを標準曲線用反応液に添加すると、非添加標準曲線よりも高く解離する。この現象については Barr⁹⁾が、かれらの用いた抗体でみるかぎり血清中の euglobulin が関与すると述べている。血清を遠沈して上澄みを使用するか、血清を非動化することによって除去できるが、実際上は不便であるため、かれらは 2 抗体法における第 2 反応のときヒト血清を検体測定用反応液と同量標準曲線用反応液に添加して、この解離を除くようすすめている。しかし著者の経験では、第 2 反応にヒト血清を加えても buffer だけの標準曲線と変わらないこともあり、添加する血清によって差があるので、たんに遠沈時のタンパク濃度をヒト血清で補正するだけでは解離現象が消失しない結論を得ている(図 7)。

2.3.2 動物タンパク

以上のような解離を、標準曲線用反応液に何かべつのタンパクを添加して、除去することができれば、標準曲線に汎下垂体機能低下症の血清を添加する必要がなくなることはいうまでもない。しかしウシアルブミンをヒト血清相当量添加してもほとんど影響なく、一時 NBC 粗アルブミンが汎下垂体機能低下症患者血清に代わりうるものとして好成績を得たが、ヒト血清と等濃度に溶解しにくく安定しないので、現在では標準曲線にウマ血清を添加することになっている(図 8)。ウマ血清を第 1 反応、第 2 反応、遠沈直前に添加したときの標準曲線を比較すると、第 2 反応以後では buffer だけの標準曲線と差がないので、最初から添加するほうがヒト血清を加えた標準曲線により近くなる。

2.3.3 Buffer に加えるタンパクについて

RIA において反応液中の微量タンパクが試験管壁へ吸着されるのを防ぐために、ふつう buffer 中にタンパクを加え、よくウシアルブミンが利用される。しか

図7 Buffer中にウマ血清をヒト血清測定時と同じ条件で添加したときの標準曲線に及ぼす影響

図8 ウマ血清を標準曲線用反応液に添加する時間が標準曲線に及ぼす影響

図9 Buffer中のウシアルブミンおよびヒト血清添加が標準曲線に及ぼす影響

しウシアルブミン (Armour 社—Conn の第五画分) ですら, batch によって標準曲線が著明に変化することがあり, とくに血清添加非添加による標準曲線の解離が0点において bound に17%の差ができることがある(図9)。このような標準曲線では検体測定はほとんど負の値をとり GH 濃度をよみとることはできない。RIA に関してすべての条件を統一することが必要なことは, buffer 1つを取りあげても理解できる。

2.4 抗体の特異性について

単一物質の抗原を動物に感作して得た抗体が, 異種物質の抗原と交叉反応することは, 抗体のもつ免疫学的特異性という一般的な概念とやや矛盾するようであるが, この抗体に反応する異種の抗原も実は感作に用いた抗原と分子構造上類似した部分があることは多くの事実によって証明されている。

たとえば, ヒト成長ホルモン, ヒト胎盤性ラクトゲン, ヒトのプロラクチンはアミノ酸配列が似ており, ヒト成長ホルモンとヒト胎盤性ラクトゲンの抗体はヒトおよびサルの胎盤性ラクトゲンに交叉反応し, またサルの胎盤性ラクトゲンはヒトの胎盤性ラクトゲンよりもヒト成長ホルモンに近いといわれる。しかしヒトプロラクチンの RIA はこれらのホルモンの影響をあまり受けなかったと Friesen ら⁶⁾はのべている。脾臓のグルカゴンに対する抗体は腸管のグルカゴン様物質と, 抗ガストリン抗体は cholecystokinin-pancreozymin とそれぞれ交叉反応することはよく引用される事実であり, またプロゲステロンの RIA では, 使用された抗プロゲステロン血清が 17-hydroxyprogesterone, 11-deoxycortisol (compound S) と90%の交叉反応を示す⁷⁾。また L-triiodothyronine の RIA においても D-triiodothyronine, L-thyroxine がそれぞれ 5, 1000倍の order で反応に関与している(図10)⁸⁾。

このようにある物質Aの RIA で, 抗A血清が他の

図10 L-triiodothyronine の radioimmunoassay における D-T₃, L-T₄ の影響
S₁: ヒト血清の希釈曲線

物質Bと交叉反応を示すときには、RIAで測定される値はAとBを含むことになる。また抗A血清とBが反応する平衡定数が低値で⁹⁾、生体内のB濃度が生理的限界を越え、かなり高濃度にならなければこのRIAで検出されない場合はべつとして、できるだけAと特異的に反応する抗血清を使用することがのぞましい。

またホルモンAのRIAにおいて、抗原として用いるホルモンにごく微量のホルモンBが混在すると、抗(A+B)血清がえられる。しかも標準および標識ホルモンにもBが混在するときには、incubation時に大量のBを添加し、あらかじめ抗B血清を抗原抗体結合物として吸収しておき、ホルモンAのRIAにBが関与しないよう前処置をする必要がある。TSHのRIAにおいて、抗TSH血清には抗LH抗体が含まれている可能性があり、incubationのときLHと交叉反応するヒト胎盤性ゴナドトロピン(HCG)を比較的大量(10~100 u.)加えるのはその一例である¹⁰⁾。

抗体作成の手技的な点からすれば、感作に使用する抗原が純粋単一のものである必要はないし、またそのほうが抗体はできやすい場合もある。しかし得られた抗体が測定しようとする物質と特異的に反応し、できれば他に交叉反応を示す物質がないことが望ましい。したがって抗体との結合に対しどんな物質が標識ホルモンと競合するかをあらかじめ測定法の検討項目に加える必要があり、またRIAによって得られる値が競合するすべての値であることはいまさら強調するまでもない。

2.5 BとFの分離法による測定値の違い

B、Fの分離法については本誌10月号に詳細な報告があるのでここでは省略するが、同一検体のホルモン濃度が測定法によって著明に変化すると報告は見当らない。成長ホルモンに関しては低濃度検体を除いてクロマト電気泳動法と2抗体法による測定値はよく相関し⁴⁾、ACTH、インシュリンなどにおけるクロマト電気泳動法とタルク法においてもほぼ等しい値が得られている²⁶⁾。この点B、F分離法の違いによる測定値の解釈については大きな問題はないと思われるが、RIAの反応液からFを分離する方法とBを分離する方法では多少差がでる可能性がある。この点なお検討する余地が残されているように思われる。

3. 内因性ホルモンについて

これまで測定法の側から測定値の解釈について述べてきたが、つぎに生体内ホルモンの免疫化学的研究に

RIAがいかに貢献してきたかについて触れてみたいと思う。

3.1 ホルモンの異質性

一般に同一標準ホルモンによる標準曲線は使用する抗血清によって傾斜が異なるといわれている。Berson and Yalow¹¹⁾は、成長ホルモン、インシュリン、ACTHに関するかぎり抗体の種類をかえても、それによって得られた検体のホルモン濃度に大きな不一致は認められなかったが、副甲状腺ホルモンでは抗体によって違った値が得られたという。抗体と標識ホルモンの反応系に非標識ホルモンを添加すると、B/F値が低下するのがRIAの原理であるが、この非標識ホルモンによるB/Fの低下をinhibition、抑制反応と呼んでいる。かれらは3種類の抗体(272, 273, C329)——これをいま仮りに抗体I, II, IIIと呼ぶことにする——のうち、抗体I, IIと¹²⁵I-ブタ副甲状腺ホルモンの反応系で標準ヒト副甲状腺ホルモンと副甲状腺機能亢進症患者血清は同じような抑制効果(B/Fの低下)を認めたが、抗体IIIを用いるとその血清は同標準ホルモンに比べて著しく抑制効果がわるかったという。つまり抗体IIIでは血清中の副甲状腺ホルモンが標識ホルモンとよく競合しなかったのである。また一方副甲状腺機能亢進症を外科的に治療し、血中副甲状腺ホルモン濃度の低下を抗体Iで測定すると、長時間高値が持続したのに対し、抗体IIおよびIIIによる測定では急激な減衰曲線を示したという。血中だけでなく副甲状腺内のホルモンにも免疫学的に均一でないものが存在することを示した。

さらにSteinerら¹²⁾の報告によれば、膵臓のβ細胞におけるインシュリン生合成の過程で、β細胞からインシュリンとして分泌される先駆物質proinsulinが存在し、これが分子量約9000であり、その生物学的活性はふつうのインシュリンの5%以下、免疫学的活性は40~60%であるという。一方Rothら¹³⁾はヒトにおいて糖負荷1~2時間後あるいは長時間絶食後に、分子量8000~9000くらいの“big insulin”が血中に循環すると報告、さらにShermanら¹⁴⁾はこれが膵臓におけるproinsulinと同じものかあるいはproinsulinの中間代謝産物ではないかと追加報告している。免疫学的活性だけでなく分子量の異なるホルモンが存在することはイヌの膵臓から抽出したグルカゴンにおいても認められている¹⁵⁾。ふつうのグルカゴンに比べ分子量は約2倍、免疫学的に活性はあっても生物学的にはほとんど不活性な、いわゆる“large glucagon”がそれ

である。このようなホルモンの異質性は成長ホルモン¹⁶⁾、ガストリン¹⁷⁾においても報告され、最近ACTH産生腫瘍クッシング症候群、ネルソン症候群、正常人、そのほかの血清からアルブミン相当の分子量をもつACTHがRIAによって確認されている¹⁸⁾。

免疫学的活性を異にするホルモンが末梢血管に循環するかぎり、RIAによって求められたホルモン濃度は、2・4「抗体の特異性」の項でのべたように、測定に使用した抗体と反応する“immunoreactive hormone”を標準ホルモンのもつ免疫学的活性と比較しているにすぎない。したがって臨床的にこれを応用する場合でも、種々の患者から得た検体の immunoreactive hormone 濃度を、できるだけ統一した条件下で測定し、その値を相対的なものとして解釈する必要がある。

3・2 ホルモンの生物学的、免疫学的活性の差について

末端肥大症あるいはインシュリノーマにおける血中成長ホルモンあるいはインシュリンのRIAによる測定値は一般に高い。甲状腺、副腎皮質、性腺などが原発的に障害されると、negative feedback 機構によって、下垂体前葉からTSH、ACTHあるいはゴナドトロピンの分泌が亢進することは、RIAによっても確かめられている。しかしホルモンの生物学的測定法は一般に感度が低く、高濃度検体以外は血中濃度を測定することはできない。したがってある疾患の血中ホルモンに生物学的活性がないか、あるいは生物学的活性をもったホルモンが過剰に分泌されているかは、間接的な証明として他の所見に頼ることが多い。たとえばLaronら¹⁹⁾の報告した侏儒症は、臨床的に成長ホルモン分泌障害による下垂体性こびと症でありながら、RIAによる成長ホルモン測定値は非常に高く、免疫学的には活性をもつが生物学的には活性のない異常成長ホルモン分泌による侏儒症とされている。成長ホルモンに対する末梢組織の不反応性を否定するために外因性成長ホルモン投与による代謝的反応を確かめているが、血中成長ホルモンの生物学的活性がないことを直接証明したわけではない。ACTHではこうした生物学的活性と免疫学的活性の解離が井村ら²⁰⁾の実験によって見事に説明されている。すなわち表1に示すように、天然ACTHの生物学的活性とRIAで求めた値を100とすれば、N末端の1から24までのアミノ酸を合成したACTHは生物学的活性はほとんど変わらないが、RIAで得た免疫学的活性はかれらが使用した抗体でみるかぎり著明に低下している。また逆にアミノ

表1 天然および合成ACTHの生物学的活性と免疫学的活性との異同

	生物活性 (%)	RIA 値	
		抗体No. 92 (%)	抗体No. 28 (%)
as ¹⁻³⁹ ACTH	100	100	100
as ¹⁻²⁴ ACTH	109	0.25	10
as ¹⁻¹⁹ ACTH	44	0	0
as ²²⁻²⁹ ACTH	0	620	230

酸22番から39番までを合成したACTHは生物学的活性はまったくなく、同じ抗体による免疫学的活性は天然ACTHの数倍にも及んでいる。こうした1つのfragmentがヒトの末梢血管を循環しているかどうかはいまのところ不明であるが、ACTHのN末端、中央部およびC末端に特異的に反応する抗体を得ることができれば、その存在が証明されるであろう。

宮井ら²¹⁾によると、下垂体抽出液のTSHをMcKenzie法による生物学的測定法と2抗体法によるRIAで測定し、その生物学的活性(B)と免疫学的活性(I)を比較したところ、両者はよく相関したが絶対値のB/Iは 4.6 ± 1.4 S.D.であり原発性甲状腺機能低下症の患者血清では 5.6 ± 2.3 S.D.であったという。またHershmanら²²⁾は同じ方法で検討し下垂体TSHのB/Iは0.7~2.8で宮井らの成績よりも低い。一方Odellら²³⁾はTSHの生物学的活性と免疫学的活性はかれらが測定した検体でみるかぎり両者よく一致したというが、用いた生物学的測定法がchick TSH bioassayであり、宮井、Hershmanらとは比較できない。谷沢ら²⁴⁾によれば、HCGにおいても、B、Iはよく相関しながら、そのB/Iは尿中HCGで8.4、血中では2.13とBのほうが高かったという。おそらく他のペプチドホルモンすべてに共通することであるが、ホルモンの分子構造上BとIの部位が異なっている可能性がよく、測定される検体や測定時に使用する標準ホルモンのいずれかあるいは両者にBとIの解離があるものと考えられる。RIA測定値が絶対値としても同時に生物学的活性を表わすことが理想であるならば、RIAに使用する標準ホルモンのB/Iが1でなければならない。

4. RIAの特異性について

RIAが使用する抗体に反応する物質の免疫学的活性を標準物質のそれと比較しているに過ぎないとはいえ、特殊な場合を除いて大部分のホルモンは生物学的活性とよく平行しており、まして血中ホルモンの簡単

な生物学的測定法がないかぎり、血中ホルモンの測定はRIAに頼らねばならない。ではRIAによって求めた測定値が果して内因性ホルモンをよく反映しているかどうかを決めるにはどんな条件が必要であろうか。

1) あるホルモンの血中濃度が明らかに高いと思われる疾患において、RIAによる測定値が正常人よりも高い結果がでるかどうかが。

2) その疾患の治療において、ホルモン分泌が亢進している臓器その他を外科的に摘出したとき、血中ホルモン濃度の急激な低下がRIAによって証明されるかどうか。あるいはfeedback機構によって血中ホルモンが分泌亢進しているとき、代償療法後ホルモンの分泌低下がRIAによって明らかにされるかどうか。

3) あるホルモン分泌が低下していると思われる疾患において、RIAによる測定値が低いかどうか。

4) あるホルモンの分泌刺激試験において、健常人ではホルモン濃度の上昇反応が見られるのに、そのホルモン分泌臓器の器質的障害時では無反応性がRIAによって証明されるかどうか。

5) ホルモン分泌が正常な臓器を何かべつの目的で摘出したとき、血中にそのホルモンがRIAで検出されないかどうか。

6) 動物のあるホルモンがRIAに使用する抗体と交叉反応を示すときはべつとして、ヒト以外の動物で

はRIAによってそのホルモンが検出されないかどうか。

7) 種々の高濃度検体の希釈曲線が特殊な場合を除いて標準曲線とよく平行するかどうかが。

これらは成長ホルモンRIAの特異性としてGlickら²⁹⁾が提唱している条件を一部修正したものである。成長ホルモンRIAに関しては、図11~14に示したとおり、1), 2), 4), 7)の条件をみたしている。下垂体機能低下症患者の血中成長ホルモン濃度と健常人のそれとは、現在のRIAをもってしては区別がつかない。これは他のペプチッドホルモンについても同じことが言えると思う。したがってホルモン濃度が低いと思われる疾患において、RIAによりホルモン分泌障害を証明する方法としてホルモン分泌刺激試験を1つの条件に加えた、3)がその条件である。

図11 空腹安静時の血中GH値

図12 末端肥大症患者の手術(cryosurgery)後における血中GHの減衰

図13 下垂体機能低下症患者のGH分泌障害—インシュリン低血糖に対するGH上昇反応の欠損—

RIA が信頼できる測定法であるためには、RIA の感度、精度、再現性、回収率などのほかに特異性についても十分満足させるものでなければならないし、そうした基礎的検討を経たのち、はじめて RIA による測定値が意味あるものとして解釈されるのである。

文 献

- 1) 熊原雄一, 岡田義昭: 臨床病理, **19**, 322(1971)
- 2) Yalow, R.S. and Berson, S.A.: Proc. of 1st Intern. Symp. on Growth Hormone, p. 60 (1968)
- 3) Berson, S.A. and Yalow, R.S.: *ibid.*, p. 47 (1968)
- 4) 岡田義昭: 総合臨床, **19**, 1126 (1970)
- 5) Burr, I. M., Grant, D.B., Sizonenko, P.C., Kaplan, S.L. and Grumbach, M.M.: *J. Clin. Endocrinol.*, **29**, 948 (1969)
- 6) Friesen, H., Shome, B., Belanger, C., Hwang, P. and Guyda, H.: Second Intern. Symp. on GH. (abstract) p. 9, (1971)
- 7) Abraham, G.E., Swerdloff, R., Tulchinsky, D. and Odell, W.D.: *J. Clin. Endocrinol.*, **32**, 619 (1971)
- 8) Gharib, H., Mayberry, W.E. and Ryan, R.J.: *J. Clin. Endocrinol.*, **31**, 709 (1970)
- 9) Potts, J.T., Jr., Sherwood, L.M., O'Riordan,

- J.L.H., and Aurbach, G.D.: *Adv. in Int. Med.*, **18**, 183 (1967)
- 10) 福地稔, 井上雅, 橋本琢磨: 最新医学, **26**, 1079 (1971)
- 11) Berson, S.A. and Yalow, R.S.: *J. Clin. Endocrinol.*, **28**, 1037 (1968)
- 12) Steiner, D.F., Clark, J.L., Nolan, C., Rubenstein, A.H., Margoliash, E., Aten, E. and Oyer, P.E.: *Rec. Prog. Hor. Res.*, **26**, 207 (1970)
- 13) Roth, J., Gorden, P., and Pastan, I.: *Proc. Nat. Ac. Sci.*, **61**, 138 (1968)
- 14) Sherman, B.M., Gorden, P., Roth, J. and Freychet, P.: *J. Clin. Invest.*, **50**, 849(1971)
- 15) Rigopoulou, D., Valverde, I., Marco, J., Falloona, G., and Unger, R.H.: *J. Bio. Chem.*, **245**, 496 (1970)
- 16) Bala, R.M., Ferguson, K.A. and Beck, J.C.: *Endocrinol.*, **87**, 506 (1970)
- 17) Yalow, R.S. and Berson, S.A.: *Gastroenterol.*, **58**, 609 (1970)
- 18) Yalow, R.S. and Berson, S.A.: (私信)
- 19) Laron, Z., Pertzalan, A. and Mannheimer, S.: *Israel J. Med. Sci.*, **2**, 152 (1966)
- 20) Imura, H., Sparks, L.L., Grodsky, G.M. and Forsham, P.H.: *J. Clin. Endocrinol.*, **25**, 1361 (1965)
- 21) Miyai, K., Fukuchi, M. and Kumahara, Y.: *J. Clin. Endocrinol.*, **29**, 1438 (1969)
- 22) Hershman, J.M., and Pittman, J.A., Jr.: *Ann. Int. Med.*, **74**, 481 (1971)
- 23) Odell, W.D., Vanslager, L. and Bates, R.: Radioisotopes in Medicine: *In Vitro Studies*, edited by Gowitz, F. A., Murphy, B.E.P., Oak Ridge, U.S. Atomic Energy Commission, p.185 (1968)
- 24) 谷沢修, 松尾健, 三井磐, 深田信之, 三宅侃: ホと臨, **17**, 656 (1969)
- 25) Glick, S.M., Roth, J., Yalow, R.S. and Berson, S.A.: *Rec. Prog. Hor. Res.*, **21**, 241 (1965)
- 26) Rosselin, G., Assan, R., Yalow, R.S. and Berson, S.A.: *Nature*, **212**, 355 (1966)