技術報告

ガストリンリアⅡキットの基礎的検討†

金森勇雄, 矢橋俊丈, 松尾定雄, 吉田 宏, 樋口ちづ子, 柳瀬みき子, 川瀬明子,

服部由美子, 市川秀男, 木村得次, 中野 哲*, 綿引 元*, 武田 功*

大垣市民病院特殊放射線センター *同病院消化器科

503 大垣市南瀬町4-86

1983年5月27日 受理

Key Words: serum gastrin, radioimmunoassay

1. はじめに

消化管機能の解明は消化管ホルモンの発見と化学構造の決定により急速に進歩しつつあるが、ガストリンのラジオイムノアッセイ (RIA) の方法は1970年の Berson and Yalow¹⁾ の報告以来であり、その生体内動態を直接測定することが可能となり、胃液分泌の生理、胃腸疾患の病態生理の研究がなされ、消化器病学の研究は基礎的にも臨床的にも飛躍的に進歩をとげてきている。

われわれも数年前よりRIAにて血中ガストリンを測定し臨床に供応してきたが、今回ダイナボット社よりB/F分離にポリエチレングリコール (PEG) 法を用いたRIAによる血中ガストリン量測定用キットが開発されたことから、このガストリンリアキットについて若干の基礎的検討を行ったので報告する。

2. 対象および方法

対象は大垣市民病院消化器科を受診した患者および当院職員の早朝空腹時血清である。

測定方法はFig. 1に示すとおり、被検血清またはガストリン標準液 (0.1ml) に¹²⁵I ガストリン 0.1ml を添加し、続いてガストリン抗体を 0.1ml 添加したの

Fig. 1 Assay procedure of gastrin.

ちインキュベーション (37°C, 90分) する。B/F分離のためPEG液を1ml加え混和したのち遠心分離し、上清を棄却し試験管の放射能を測定する。

検討は標準曲線の再現性、インキュベーションの条件、同時および日差再現性、回収率、希釈試験、本法とガストリンリアキット (ダイナボット社) との相関および正常域について行った。

Fig. 2 Standard curve.

† Fundamental Studies of RIA Kit for Serum Gastrin. Isao KANAMORI, Toshitake YABASHI, Sadao MATSUO, Hiroshi YOSHIDA, Chizuko HIGUCHI, Mikiko YANASE, Akiko KAWASE, Yumiko HATTORI, Hideo ICHIKAWA, Tokuji KIMURA, *Satoshi NAKANO, *Hajime WATAHIKI and *Isao TAKEDA: Dept. of Radionuclear Medicine, *Dept. of Gastroenterology, Ohgaki Municipal Hospital, 4-86, Minaminokawa-machi, Ohgaki-shi 503.

3. 結 果

3.1 標準曲線の再現性

9回測定におけるガストリン各濃度での $B/B_0\%$ は $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ で、25pg/ml で $93.0 \pm 1.9\%$ 、800pg/ml の濃度で $26.0 \pm 1.7\%$ であり、十分に良好な勾配が認められ、安定した成績が得られた。また、各測定濃度における変動係数(C.V.)は2.0~6.5%の間にあった (Fig. 2)。

3.2 インキュベーション温度

各設定温度 (4, 25, 37, 45°C) が $B/T\%$ に及ぼす影響は、400pg/ml, 800pg/ml の高濃度域ではあまり変化を示さないが、低濃度域で4~37°Cの間では緩やかに $B/T\%$ は上昇傾向にあり、以後45°Cまでの間でプラト状態が認められた (Fig. 3)。

Fig. 3 Incubation temperature.

3.3 インキュベーション時間

各設定時間 (30, 60, 90, 180, 240分) が $B/T\%$ に及ぼす影響は、400pg/ml, 800pg/ml の高濃度域ではあまり変化を示さないが、低濃度域では30~90分の間で急激なる上昇を示し、以後240分までの間では緩やかな上昇が認められた (Fig. 4)。

3.4 再現性

同時再現性の C.V. はサンプル血清 A, B, C おお

Fig. 4 Incubation time.

Table 1 Reproducibility

Intraassay variance			
Tube No.	Gastrin (pg/ml)		
	Sample A	Sample B	Sample C
1.	95.2	161.0	575.2
2.	103.9	194.2	580.0
3.	106.8	204.7	535.0
4.	110.4	165.4	575.2
5.	112.2	172.5	554.4
6.	98.1	175.4	571.8
7.	105.4	175.8	584.8
8.	95.9	167.0	586.9
9.	109.7	185.8	571.8
10.	106.6	183.2	
Mean	104.4	179.1	570.6
S. D.	6.1	12.9	16.3
C. V. (%)	5.8	7.2	2.9

Interassay variance			
Assay day	Gastrin (pg/ml)		
	Sample D	Sample E	Sample F
1.	94.9	214.5	697.7
2.	93.5	190.6	723.3
3.	89.2	211.7	783.5
4.	94.7	216.7	733.7
5.	89.7	212.5	710.2
Mean	92.4	209.2	729.7
S. D.	2.8	10.6	33.0
C. V. (%)	3.0	5.1	4.5

の5.8%, 7.2%, 2.9%であった。また、日時とキットを変えての日差再現性はサンプル血清 D, E, F でおのおの3.0%, 5.1%, 4.5%であった。同時、日差再現性ともに非常に良好なる値が得られた (Table 1)。

3.5 回収率

サンプル血清 A, B, C の回収率はおのおの86.1~104.6%, 109.7~120.6%, 103.7~114.3%の間にあり、平均値は93.8%, 114.2%, 106.1%と、満足すべき回収率であった (Table 2)。

3.6 希釈

患者血清を生理食塩水で、2, 4, 8, 16倍と希釈した。ほぼ原点に収束する直線性を示す良好な希釈効果

Table 2 Recovery test

Added (pg/ml)	Sample A			Sample B			Sample C		
	Calculated (pg/ml)	Assay result (pg/ml)	Recovery (%)	Calculated (pg/ml)	Assay result (pg/ml)	Recovery (%)	Calculated (pg/ml)	Assay result (pg/ml)	Recovery (%)
25.0	60.5	52.1	86.1	168.6	203.0	120.6	304.5	348.1	114.3
50.0	63.0	58.6	93.0	171.1	190.7	111.5	307.0	322.9	105.2
100.0	68.0	60.5	89.0	176.1	193.1	109.7	312.0	327.9	105.1
200.0	78.0	67.7	86.8	186.1	210.5	113.1	322.0	335.6	104.2
400.0	98.0	101.1	103.2	206.1	238.8	115.9	342.0	354.6	103.7
800.0	138.0	144.4	104.6	246.1	281.3	114.3	352.0	397.4	104.0

(Mean=93.8%)

(Mean=114.2%)

(Mean=106.1%)

$$\text{Recovery (\%)} = \frac{\text{Assay result}}{\text{Calculated}} \times 100$$

が認められた。

3・7 本法とガストリンリアキット(ダイナボット)との相関

両キット間の相関係数は $r=0.86$ ($p<0.01$, $n=51$), 回帰直線 $y=0.97x+30.6$ で推計学的に有意な正の相関が認められ, 本法はガストリンリアキット(ダイナボット社)に比しわずかながら高値を示す傾向が認められた (Fig. 5)。

Fig. 5 Correlation between 2 methods.

Fig. 6 Normal subjects ($n=60$).

3・8 正常域

当院職員60名の早朝空腹時での血中ガストリン濃度は $48.2 \sim 207.4 \text{ pg/ml}$ の間に分布し, $\text{mean} \pm \text{S.D.}$ は $109.4 \pm 38.2 \text{ pg/ml}$ であった (Fig. 6)。

4. 考 察

ガストリンは1905年, Edkinsによって胃酸分泌機構における体液性物質にして胃幽門洞粘膜に存在することが指摘され, ガストリンのアミノ酸残基の12番目のチロジンに硫酸基が結合したものがガストリンII, 結合していないものがガストリンIとされ, 生理的作用には差異がないとされている²⁾。

血中ガストリン濃度は pg/ml 単位の量であることからRIAで初めて測定が可能となり, 胃液分泌の生理, 胃疾患の病態生理の研究, Zollinger-Ellison 症候群の診断法などに利用されてきている^{1)~2)}。

血中ガストリン測定用リアキットはCISリアキットとダイナボットリアキットが主なものであるが, ガストリンは異性体があることから使用するガストリン抗体の親和性がそれぞれ異なり, ガストリン測定値の評価には多くの問題が残されている³⁾。本キットの特異性をみると交叉率⁴⁾はガストリンIは10.0%, ガストリンIIは80%, ビッグガストリンIは71%であり, ガストリン抗体の親和性は直接測定系に影響を与えている。

また, RIAキットはBとFの分離法のいかんによって測定値を異にすることがあるが, ガストリンリアキットはチャコールデキストラン法であり, ガストリンリアIIキットはPEGによりB/F分離を行うことから, 測定値にわずかであるが差が現れていると考えられた。

RIAの基礎的検討の基本となる標準曲線の再現性のC.V.は従来のガストリンリアキットでは3.7~10.9%⁹⁾, 8.7~15.2%⁹⁾であり, 低濃度はバラツキが大きいとされている。本法(ガストリンリアⅡキット)のC.V.は2.0~6.5%の間にあり, 従来法とは反対に高濃度はバラツキが大きい傾向にあった。また, 最小測定感度は従来法は12.5pg/ml³⁾であるが, 本法では標準曲線を描くことが可能な最低濃度25pg/mlとするのが適当ではないかと考える。

インキュベーション時間で, 従来法ではインキュベーション設定時間の变化は測定値に有意に影響は与えないが, 本法ではガストリン低濃度域で設定時間の延長に従ってB/T%がわずかながら上昇することにより, 設定時間はある程度厳密に設定する必要があると考える。しかし, 従来法はインキュベーションに24時間^{9), 7)}必要なのに比し本法は90分で測定が可能であり, インキュベーション条件が大幅に改善されている。

また, インキュベーション温度も37°Cでプラトー状態に入ることから, インキュベーション条件設定は測定術者の作業条件を考え合わせて作られたキットであると考え。

従来法での同時再現性は3.9~5.1%⁷⁾, 日差再現性は10.5~16.3%⁷⁾と報告されているが, 本法での同時再現性は2.9~7.2%, 日差再現性は3.0~5.1%であり, 従来法に比しかなり優れていると考える。しかし, 血清の凍結融解によって測定値が20~40%程度低下するといわれており⁹⁾, サンプル血清の凍結融解は繰り返さないことが望ましい。また, 回収率は従来法で90.7~115.9%⁷⁾と報告されている。今回われわれの検討でもほぼ同様な成績であった。

高濃度ガストリン血清を測定するのに必要な希釈操作は従来法²⁾と同様で本法も良好なる直線性が得られている。

ついで従来法と本法との相関に $r=0.86$ ($p<0.01$, $n=51$)で有意な相関を示すが, ガストリン高濃度域で本法は従来法に比しやや高値を呈する傾向が認められ, この点でも本法は測定値のいわゆる頭打ちを改善した優れたキットであると考え。

一方, 正常域はガストリンの分泌機構に関与する因子がきわめて複雑であるので, 血中ガストリン値の正常値の範囲を決めることは困難なことではあるが, 従来法では40~140pg/ml²⁾であり, 青年層は老年層より高い傾向を示し⁹⁾, 日内変動は昼食前が最も低く, 夕食後が最も高く, 3倍強の変動を示すと報告⁹⁾されて

いる。本法によるわれわれの検討では早朝空腹時血清のみの測定であるが, 48.2~207.4pg/mlの幅広い間に分布している。しかし, 他の報告者^{2), 5), 7)}の血中ガストリン値とほぼ同様な傾向により, 加えて変動幅の大きいこと⁹⁾を考慮に入れ, 今回の測定値を正常にしてもよいと考えている。

5. ま と め

今回われわれは, ガストリンリアⅡキット(ダイナボット社)について測定上に関する基礎的検討を行い, つぎの結論を得た。

(1) 標準曲線の再現性: 各測定濃度における変動係数は2.0~6.5%の間にあった。

(2) インキュベーション条件: 37°C, 90分で良好な測定値が得られた。

(3) 再現性および回収率: 再現性のC.V.は同時再現性で2.9~7.2%, 日差再現性は3.0~5.1%であった。回収率は86.1~120.6%の間にあった。

(4) 希釈試験: 原点に収束する良好なる直線性を示した。

(5) 本法と従来法との相関: 相関係数は $r=0.86$ ($p<0.01$, $n=51$)で推計学的に有意なる正の相関を示した。

(6) 正常域: 早朝空腹時の血中ガストリン値は48.2~207.4pg/mlの間に分布し, mean±S.D.は109.4±38.2pg/mlであった。

以上のように, 本法は従来法に比し測定の操作性も優れ, 再現性も良好であることから日常検査に使用しても良好なる測定結果が得られると考える。

文 献

- 1) Yalow, P.S. and Berson, S.A.: *Gastroenterology*, **58**, 1 (1970)
- 2) 松尾 裕: 日本臨床, **34**, 2349~56 (1976)
- 3) 松尾 裕, 石井喜代子: ホと臨, **22**, 1087~90 (1974)
- 4) Gastrin RIA kit-II: 使用説明書, (株)ダイナボットラジオアイソトープ研究所 (1982)
- 5) 船橋修之, 他: *Radioisotopes*, **24**, 567~69 (1975)
- 6) 笠木寛治, 他: 核医学, **12**, 415~21 (1975)
- 7) 松岡 徹, 他: *Radioisotopes*, **24**, 19~24 (1975)
- 8) 樋口ちづ子, 他: 核医学技術, **2**, (3), 5~11 (1982)