

## (19)

氏名(生年月日)	サクラ イ ヒヨウ イチ ロウ 桜 井 兵 一 郎
籍	
学位の種類	医学博士
学位授与の番号	乙第945号
学位授与の日付	昭和63年 5 月20日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当(博士の学位論文提出者)
学位論文題目	<b>A simple and highly sensitive radioimmunoassay for 8-arginine vasopressin in human plasma using a reversed-phase C<sub>18</sub> silica column</b> (逆相 C <sub>18</sub> シリカカラムを用いる簡易, 高感度ラジオイムノアッセイによるヒト血漿8-アルギニンバソプレシンの測定法)
論文審査委員	(主査) 教授 鎮目 和夫 (副査) 教授 降矢 熒, 教授 小山 生子

## 論文内容の要旨

## 目的

8-arginine vasopressin (AVP, ADH: 抗利尿ホルモンの) radioimmunoassay (RIA) を開発し, 本法の臨床応用評価を確立する。

## 方法

1) 研究方法 必要な抗血清を作製し, その基礎評価を行ったうえで RIA を確立する。測定材料の前処理条件の検討および諸条件下採取検体を用い本 RIA の臨床応用評価を行う。

2) 実験方法 血漿の前処理法; 血漿中 AVP を塩酸性下 SEP-PAK C<sub>18</sub> ミニカラム, メタノールを用いて抽出し, 溶出残渣溶液を RIA に供する。RIA: 抗体および標識抗原を添加後 4℃ で各一夜反応させる。

3) 対象および方法 正常値; 健康成人(以下同様) 65例, 体位変化, 水負荷および高張食塩水負荷試験; 各 6 例, ニコチン負荷試験; 3 例, 下垂体性尿崩症 (DI); 16例, 抗利尿ホルモン分泌異常症候群 (SIADH); 2 例。

4) 実験材料 抗 AVP 抗体; 家兎に免疫し作製, その他; 市販品

## 結果

1) 抗体の特異性 AVP に特異的に反応し, LVP およびその他類似ペプチドにはほとんど反応しなかった。

2) AVP の測定 血漿 AVP の抽出; AVP は SEP-PAK C<sub>18</sub> カラム-メタノールで抽出され, 一方 Sephadex G-25 カラム分画実験からも AVP 様免疫活性物質は除去されることがわかった。高感度化; <sup>125</sup>I-AVP の遅延添加により約 6 倍の感度上昇を得た。検量線; 0.05~8.0pg/tube, 回収率; 87.1±8.8%, 精度; 7.85~14.4%, 8.24~13.8% (アッセイ内, 間) であった。希釈試験; 1~1/32 で良好な平行関係が得られた。保存安定性; 凍結 1 カ月間は安定であった。

3) 臨床応用 正常値; 0.30~4.20pg/ml であった。体位変化; 立, 坐, 臥位の順に低下した。水負荷試験; 立, 臥位とも負荷後 30, 60, 90 分で低下した。高張食塩水負荷試験; 負荷前の平均約 1.6 倍に上昇した。ニコチン負荷試験; 負荷前の 6~200 倍に上昇した。血漿 AVP 値と浸透圧;  $Y=0.116X-31.7$  の関係が得られた。尿崩症; 全例 0.30pg/ml 以下 (血漿 0.5 ml), 2ml 使用の場合 1 例で 0.31pg/ml, 12 例で 0.03~0.21, 3 例で 0.03 未満であった。

SIADH; 7.1, 13.4pg/ml であった。

## 考察

作製した抗体は類似ペプチドとの交叉率が低いことから AVP 分子全体構造を認識するものと推測された。AVP 様免疫活性物質質量 (3.24pg/ml) は Robertson らのそれ (アセトン抽出法, 3.14) と一致することから, 直接 RIA での非特異妨害物質 (3.43) は完全除

去しうるものと考えられた。また本RIAはアセトン抽出法にも適用しうると考えられた。健康人値はlog分布し0.3~4.20pg/ml (mean±2SD)を正常値ときめた。体位の影響を受けるため一定採血条件が必要であった。本法はDI患者のAVPを正常値と区別して測定しうるため、煩雑な水制限試験なしで診断に応用可

能と思われる。

#### 結論

確立した測定系は高感度で、尿崩症等の臨床診断に応用可能で有用な血漿AVPの測定法であると考えられる。

## 論文審査の要旨

本論文は、arginine vasopressin (AVP)の高感度のradioimmunoassay法を開発し、それにより健康成人血中AVP値の測定が可能であり、尿崩症等の診断上極めて有用であることを示したもので、臨床医学上価値あるものと認める。

#### 主論文公表誌

A simple and highly sensitive radioimmunoassay for 8-arginine vasopressin in human plasma using a reversed-phase C<sub>18</sub> silica column (逆相C<sub>18</sub>シリカカラムを用いた簡易、高感度ラジオイムノアッセイによるヒト血漿8-アルギニンバソプレシンの測定法)

東京女子医科大学雑誌 第56巻 第5号  
394~403頁 (昭和61年5月25日発行)

#### 副論文公表誌

- 1) Effect of metoclopramide on plasma vasopressin in man (ヒトにおける血漿バソプレシンにおよぼすメトクロプラミドの影響)  
Clin Endocrinol 21 (2) 117~121 (1984)

- 2) 血漿バソプレシンを指標とした5%高張食塩水投与による下垂体後葉機能検査法の検討  
日内分泌会誌 62 (5) 608~618 (1986)
- 3) Immunoreactive  $\alpha$ -human atrial natriuretic polypeptide in human plasma (ヒト血漿中の免疫活性 $\alpha$ -ヒト心房性ナトリウム利尿ポリペプチド)  
Peptides 7 (1) 141~145 (1986)
- 4) Postural suppression of plasma atrial natriuretic polypeptide concentrations in man (ヒトにおける血漿心房性ナトリウム利尿ポリペプチド濃度の体位による抑制)  
Clin Endocrinol 26 (2) 173~178 (1987)
- 5) ヒトおよびラットの血漿カテコールアミンの測定値に変動を与える因子について  
日薬理誌 83 (1) 17~31 (1984)