

17-OHP 抗体の特異性と新生児 濾紙血液17-OHP 値

高杉 信男、福士 勝、荒井 修、水嶋 好清、
前田 博之、青木 襄 (札幌市衛生研究所)
藤枝 憲二、松浦 信夫 (北大医学部小児科)

研究目的

ラジオイムノアッセイ (RIA) やエンザイムイムノアッセイ (EIA) により測定される血中 17 α -hydroxy progesterone (17-OHP) 値は、使用する抗体の特異性の影響を受けるため正常値も抗体により異なるものと考えられる。そこで、先天性副腎皮質過形成のマス・スクリーニングに使用できる6種類の抗17-OHP抗血清を用いて、EIAにより新生児濾紙血液17-OHP値の測定を行い、抗体の特異性による17-OHP値の変化を比較検討した。

研究方法

- 1) 対象は正常新生児160例とし、各抗血清によりEIAで得られた17-OHPのヒストグラムと相関を検討した。
- 2) 17-OHP抗血清として、抗原が17-OHP-3-Carboxymethyloxyme-BSAで得られた4種類 (A-2, MTD, TZ, TY) と17-OHP-7 α -Carboxymethylthioether-BSAで得られた2種類 (RSL, MIL) を用いた。それぞれの抗血清の希釈はA-2を10万倍、MEDを2万倍、TZを15万倍、TYを25万倍、RSLを25万倍、MILを2万倍として使用した。
- 3) 濾紙血液から0.05 MPBSにより17-OHPを溶出させて直接EIAを行う方法 (直接法) とエーテル抽出を行った後にEIAを行う方法 (抽出法) での17-OHP値の変化についても検討した。
- 4) 17-OHPの測定は標識酵素としてペルオキシダーゼが、B-F分離の第2抗体固相化ビーズを用いるEIAで行った。

研究結果および考察

- 1) 各抗血清の交叉反応を表1に示した。
- 2) 6種類のすべての抗血清で17-OHP値が1~100 ng/mlまで測定可能であった (図1)。
- 3) 各抗血清間の直接法での相関 (表2)。

各抗血清とも $r=0.8$ 以上の良好な相関が認められたが、抗血清RSLは他の抗血清と比較して $r=0.772\sim 0.781$ とやや低く、本抗血清は交叉反応が他の抗血清と異なっていると考えられた。

- 4) 6種類の17-OHP抗血清による直接法での新生児17-OHP値の分布

抗血清A-2、MED、TZ、TY、RSL、MILの新生児160例での平均値 \pm 標準偏差はそれぞれ 8.7 ± 3.50 、 6.7 ± 2.20 、 10.8 ± 4.46 、 42.8 ± 23.79 、 2.6 ± 1.78 、 8.7 ± 2.93 ng/mlと同一の

抗原を用いて作製した抗体でも特異性に大きな違いが認められた(図2)。これより、スクリーニング時のカットオフ値は使用する抗血清により異なり、その設定には十分な検討が必要と考えられる。

5) 抗血清 A-2 および RSL により直接法と抽出法での 17-OHP 値の比較

抗血清 A-2 の直接法と抽出法の新生児濾紙血液 17-OHP 値の平均値±標準偏差はそれぞれ 8.7 ± 3.50 、 $1.08 \pm 0.59 \text{ ng/ml}$ 、抗血清 RSL のそれは 2.6 ± 1.78 、 $0.38 \pm 0.29 \text{ ng/ml}$ といずれも抽出法で 1/10 以下の値であった(図3)。しかし、直接法と抽出法との相関は A-2 で $r = 0.785$ 、RSL で 0.624 と良好な相関が認められたことから、特異性の高い抗体を使用すれば簡便

表1 抗17-OHP抗体の交叉反応

Steroids	Anti serum	A-2	MED	TZ	TY	RSL	MIL
	immunogen	17-OHP-3CMO BSA	17-OHP-3CMO BSA	17-OHP-3CMO BSA	17-OHP-3CMO BSA	17-OHP-7 α CETE BSA	17-OHP-7 α CETE BSA
17 α -Hydroxyprogesterone		100	100	100	100	100	100
17 α -Hydroxypregnenolone		1.2	3.0	6.3	—	0.6	—
Progesterone		0.3	20.0	4.9	—	0.2	1.5
Pregnenolone		<0.15	0.2	0.2	—	<0.01	0.3
Dehydroepiandrosterone		<0.05	—	<0.04	—	<0.01	<0.01
Androstenedione		<0.01	—	<0.04	—	<0.01	<0.01
Testosterone		<0.15	<0.01	<0.04	—	<0.01	<0.01
Cortisol		<0.15	<0.02	<0.04	—	<0.01	<0.01
11-Deoxycortisol		<0.15	<0.02	0.9	—	1.48	—

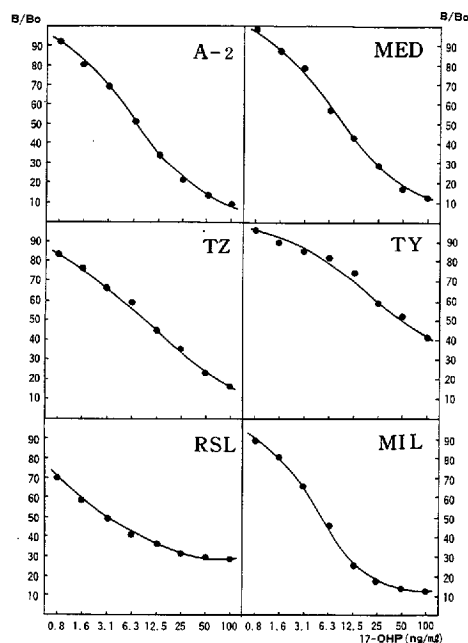


図1 6種の17-OHP抗体の標準曲線

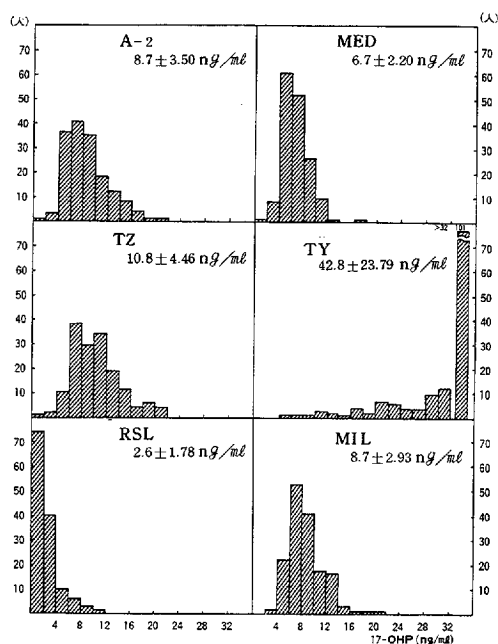


図2 6種の抗17-OHP抗体による直接法での新生児17-OHP値の分布

表2 6種の抗17-OHP抗体の
直接法での相関

	A-2	MED	TZ	TY	RSL	MIL
A-2	1.000	0.926	0.911	0.913	0.781	0.919
MED		1.000	0.926	0.877	0.772	0.907
TZ			1.000	0.852	0.751	0.891
TY				1.000	0.782	0.900
RSL					1.000	0.813
MIL						1.000

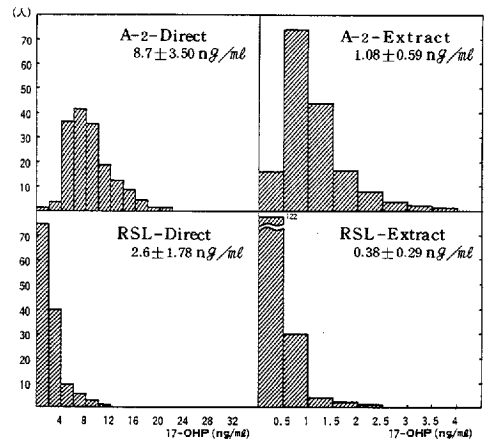


図3 A-2とRSL抗17-OHP抗体の直接法と抽出法の新生児17-OHP値の分布

な直接法でマス・スクリーニングができるものと考えられる。

結 論

CAHのマス・スクリーニングでは使用する17-OHP抗体により測定値が異なることから、全国的な精度管理や統計を行うには同一ロットの抗体を用いるべきである。さらに同一ロットの抗体を用いることによりカットオフ値の設定も容易となり、より精度の高いスクリーニングが可能となる。



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



研究目的

ラジオイムノアッセイ(RIA)やエンザイムイムノアッセイ(EIA)により測定される血中 17-
— hydroxyprogesterone(17-OHP)値は、使用する抗体の特異性の影響を受けるため正常
値も抗体により異なるものと考えられる。そこで、先天性副腎皮質過形成のマス・スクリ
ーニングに使用できる 6 種類の抗 17-OHP 抗血清を用いて、EIA により新生児濾紙血液
17-OHP 値の測定を行い、抗体の特異性による 17-OHP 値の変化を比較検討した。