

ペプシノゲン I・リアビーズとペプシノゲン II・ リアビーズの基礎的検討

佐々木 幸, 高橋 堅治, 今野 純夫
 櫻田 弘之*

はじめに

ペプシノゲンは胃液中の酸性蛋白分解酵素であるペプシンの不活性型前駆体であり, N 末端部の 44 個のアミノ酸が塩酸の作用により脱離してペプシンとなる。

1970 年, Samloff らは寒天電気泳動法を用いてペプシノゲンを Group I ペプシノゲン (以下 PG I と略す) と Group II ペプシノゲン (以下 PG II と略す) とに分類した¹⁾。

最近, PG I 値および PG I 値/PG II 値比が胃癌の背景因子である胃粘膜の萎縮と関連することから, その診断学的有用性が検討されている²⁾。

今回我々は IRMA 法を用いたダイナボット社製のペプシノゲン I・リアビーズとペプシノゲン II・リアビーズを使用する機会を得たので, その基礎的検討成績を中心に報告する。

方法及び対象

測定方法の概要を図 1 に示す。本キットは B/F 分離には固相法 (ビーズ) を用いており, 検体中の PG I と PG I 抗体ビーズおよび ¹²⁵I 標識ヒト PG I 抗体を反応させると PG I 抗体ビーズ・PG I・¹²⁵I 標識ヒト PG I 抗体のサンドイッチ型結合物を形成する。反応後, ビーズの放射能を γ -カウンターにて測定し, そのカウントから標準曲線を作成して検体中の PG I 濃度を読みとる。PG II の測定も同様にして行う。なお, 本院消化器科において健常正常例とされた 124 例を対象例とした。

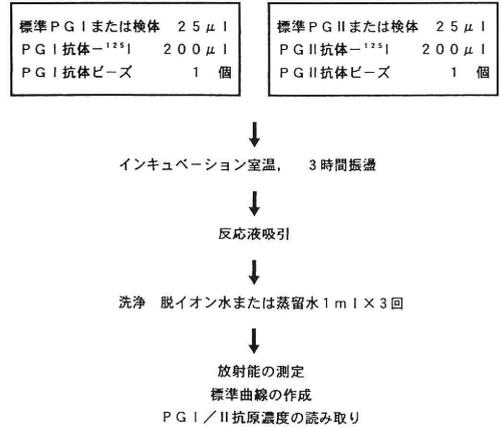


図 1. 使用法概略

結 果

1) インキュベーションの条件

4°C, 25°C, 37°C における標準液の結合率を 30 分から 4 時間まで 30 分きざみで求めたところ, PGI, PGII とも, 2 時間 30 分でほぼプラトーとなった。又, 各標準液の結合率の差は 25°C で最も大きく, 実際の測定に際してはカウント時の誤差が減少するものと思われる。

血清でも同様の結果が得られたため, 安全性を考慮して測定は室温 3 時間とした (図 2)。

2) 標準曲線

本キットにより標準液を 15 回測定した結果, PG I は 2~160 ng/ml, PG II は 2~100 ng/ml の範囲で良好な曲線が得られた (図 3)。

3) 測定内再現性

PG I・PG II を低, 中, 高濃度に含む血清を 10 回ずつ測定した結果, C.V. は PG I が 1.9~2.6%,

仙台市立病院中央臨床検査室

* 同 消化器科

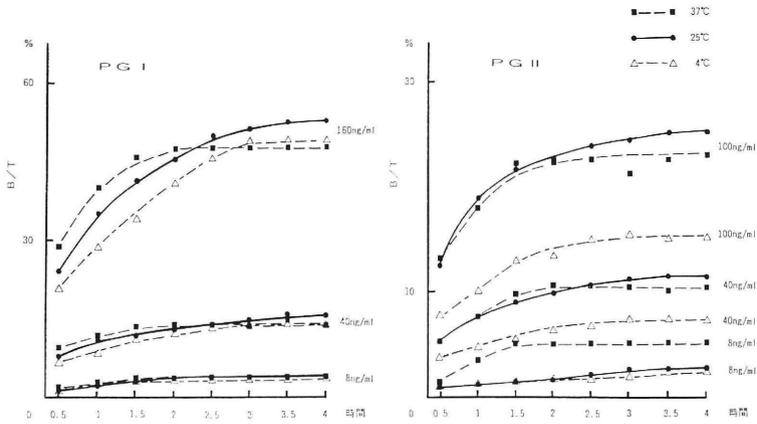


図2. インキュベーション温度による結合率の変化

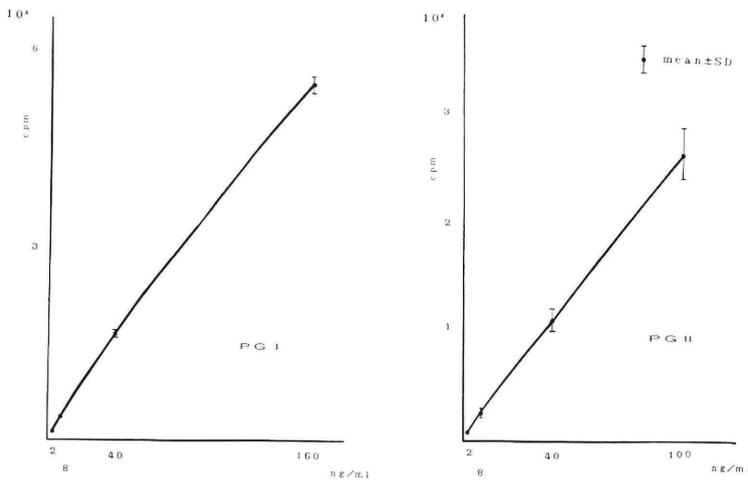


図3. 標準曲線

PGII は 2.2~3.8% であった (表1)。

4) 測定間再現性

PG I, PG II を低, 中, 高濃度を含む血清を 5 回ずつ測定した結果, C.V. は PG I が 1.9~5.0%, PGII は 2.2~5.0% となった (表2)。

5) 希釈試験

PGI, PGII を低, 中, 高濃度を含む血清を 0 ng/ml の標準液及び生理的食塩水で 32 倍まで倍々希釈し, それぞれ測定した結果, 希釈曲線は原点に収束する直線となった (図4)。

6) 添加回収試験

PG I, PG II を低, 中, 高濃度を含む血清に PG I は 40 および 160 ng/ml, PG II は 40 および 100 ng/ml の標準液を 4:1 の比で添加し, 回収率を求めた。PG I は平均 102.2%, PG II は平均 97.5% であった (表3)。

7) 最小検出感度

PG I, PG II を 2 ng/ml 含む標準液を 0 ng/ml の標準液にて倍々希釈したものを測定し, 標準曲線を描いた。0 ng/ml の標準液を 10 回測定して得られた cpm の平均+2SD に相当するペプシノゲ

表1. 測定内再現性

| PG I | | | | PG II | | | |
|----------|------|------|-------|----------|------|------|------|
| Tube No | A | B | C | Tube No | D | E | F |
| 1 | 13.4 | 36.5 | 114.3 | 1 | 10.1 | 18.3 | 52.5 |
| 2 | 13.3 | 38.2 | 121.1 | 2 | 10.9 | 18.6 | 55.8 |
| 3 | 13.4 | 38.7 | 122.1 | 3 | 10.8 | 18.3 | 53.1 |
| 4 | 13.1 | 38.9 | 126.5 | 4 | 10.6 | 18.4 | 53.9 |
| 5 | 13.5 | 38.4 | 124.0 | 5 | 11.3 | 18.1 | 57.6 |
| 6 | 13.2 | 39.0 | 122.5 | 6 | 10.8 | 19.3 | 55.5 |
| 7 | 13.1 | 37.7 | 121.4 | 7 | 10.9 | 18.2 | 60.3 |
| 8 | 13.5 | 37.7 | 122.5 | 8 | 10.8 | 18.2 | 56.0 |
| 9 | 13.8 | 38.0 | 119.4 | 9 | 10.3 | 19.0 | 55.8 |
| 10 | 14.2 | 38.8 | 125.4 | 10 | 11.1 | 17.9 | 55.7 |
| Mean | 13.5 | 38.2 | 121.9 | Mean | 10.8 | 18.4 | 55.6 |
| SD | 0.3 | 0.7 | 3.2 | SD | 0.3 | 0.4 | 2.1 |
| C.V. (%) | 2.4 | 1.9 | 2.6 | C.V. (%) | 3.1 | 2.2 | 3.8 |

単位: ng/ml

表2. 測定間再現性

| PG I | | | | PG II | | | |
|---------|------|------|-------|---------|------|------|------|
| Tube No | G | H | I | Tube No | J | K | L |
| 1 | 13.4 | 37.9 | 110.7 | 1 | 11.1 | 17.3 | 41.8 |
| 2 | 12.3 | 36.7 | 109.7 | 2 | 12.6 | 17.6 | 42.6 |
| 3 | 12.4 | 35.4 | 107.1 | 3 | 11.8 | 17.9 | 43.1 |
| 4 | 12.1 | 34.6 | 105.4 | 4 | 11.0 | 17.8 | 38.5 |
| 5 | 12.0 | 32.7 | 106.2 | 5 | 11.8 | 16.5 | 39.5 |
| Mean | 12.4 | 35.5 | 107.8 | Mean | 11.7 | 17.4 | 41.1 |
| SD | 0.5 | 1.8 | 2.0 | SD | 0.6 | 0.5 | 1.8 |
| CV % | 4.0 | 5.0 | 1.9 | CV % | 5.0 | 2.9 | 4.4 |

単位: ng/ml

ン濃度を求めると、PG I, PG IIとも0.1 ng/mlとなった。実際の測定にあたり誤差を考慮して、測定値の2倍の0.2 ng/mlとした(図5)。

8) 凍結融解の影響

-60°Cに保存しておいた血清を1週ごとに5回測定した結果、差はみられなかった(図6)。

9) 食事の影響

健常者2名の食前、食後30分、60分、90分、120分の測定ではPG Iが食後僅かに上昇したが、他に差はみられなかった(図7)。

10) 加齢による影響

健常者124例のPG I, PG II及びPG I/PG II比を年齢層別箱ヒゲ図で検討したところPG Iはほとんど変化がみられなかったが、PG IIは50歳代まで漸次増加傾向が認められ60代以降で低下した。その結果、PG I/PG II比は加齢とともに漸減する傾向が認められた³⁾(図8)。

考 察

血清PG I及びPG II値はそれぞれの産生細胞

表3. 添加回収試験

| PG I | | | | |
|------|--------------|--------------|--------------|----------|
| 血清 | 添加量 ng/ml | 測定値 ng/ml | 回収量 ng/ml | 回収率 % |
| M | 0.0 | 14.7 | — | — |
| | 8.0 | 22.3 | 7.6 | 95.0 |
| | 32.0 | 47.7 | 33.0 | 103.1 |
| N | 0.0 | 37.6 | — | — |
| | 8.0 | 46.1 | 8.5 | 106.3 |
| | 32.0 | 70.1 | 32.5 | 101.6 |
| O | 0.0 | 97.0 | — | — |
| | 8.0 | 105.8 | 8.8 | 110.0 |
| | 32.0 | 128.1 | 31.1 | 97.2 |
| 平均 | | | | 102.2% |

| PG II | | | | |
|-------|--------------|--------------|--------------|----------|
| 血清 | 添加量 ng/ml | 測定値 ng/ml | 回収量 ng/ml | 回収率 % |
| P | 0.0 | 7.4 | — | — |
| | 8.0 | 15.6 | 8.2 | 102.3 |
| | 20.0 | 26.2 | 18.8 | 94.0 |
| Q | 0.0 | 14.6 | — | — |
| | 8.0 | 22.1 | 7.5 | 93.8 |
| | 20.0 | 33.0 | 18.4 | 92.0 |
| R | 0.0 | 32.6 | — | — |
| | 8.0 | 40.5 | 7.9 | 98.8 |
| | 20.0 | 53.4 | 20.8 | 104.0 |
| 平均 | | | | 97.5% |

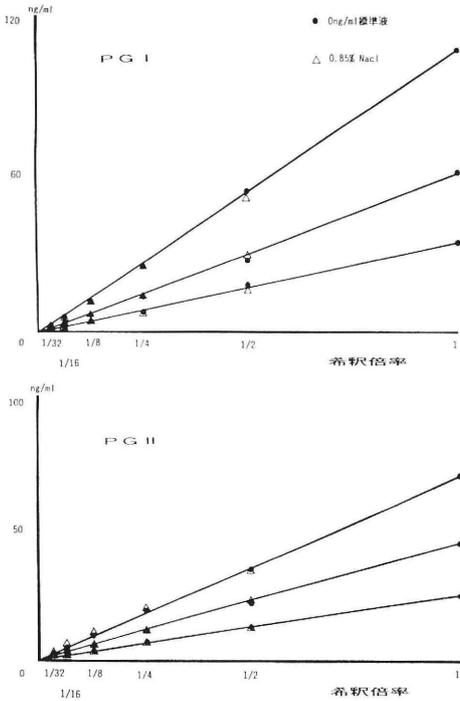


図4. 希釈試験

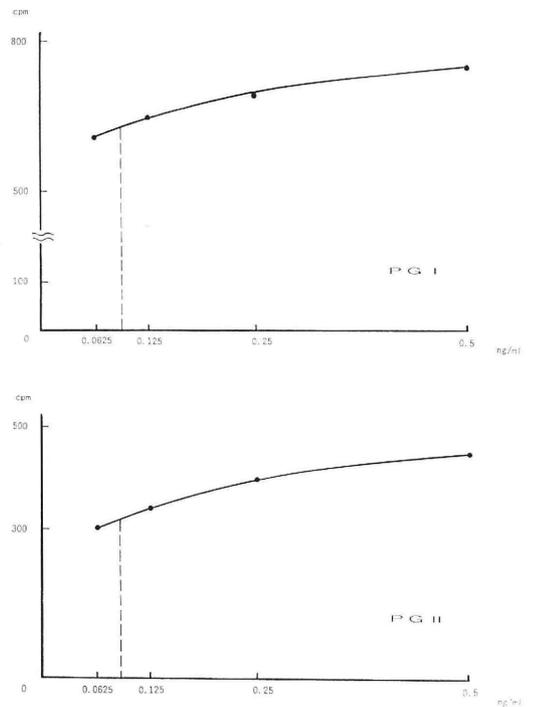


図5. 最小検出感度

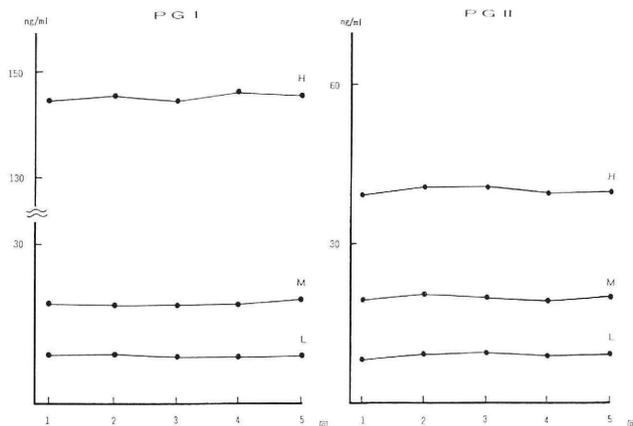


図6. 凍結融解

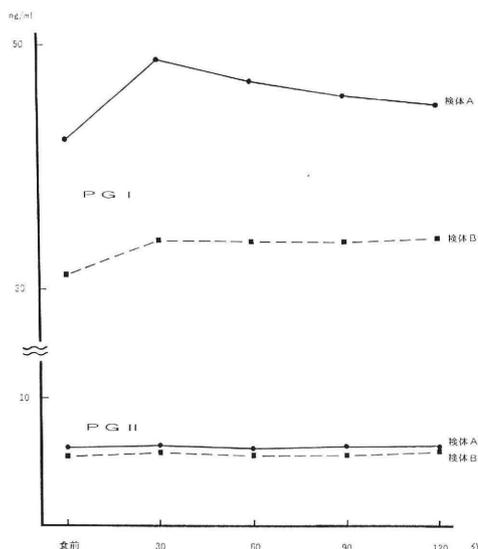


図7. 食事によるPG値の変化

数を表すため、慢性萎縮性胃炎、胃癌及び消化性潰瘍等の診断の指標として注目されている。

本キットはPG IとPG IIの測定条件が同じであるため、同時に測定を進めることができる。又、少量の検体で簡便に測定できるため、多数検体の測定が可能である。

PG Iは2~160 ng/ml、PG IIは2~100 ng/mlの範囲で良好な標準曲線が得られ、最小検出感度はともに0.2 ng/mlであった。

測定内再現性はPG Iが1.9~2.6%、PG IIは2.2~3.8%、測定間再現性はPG Iが1.9~5.0%、PG IIが2.9~5.0%であった。添加回収試験はPG Iが平均102.2%、PG IIが平均97.5%と良好であった。希釈試験は0 ng/mlの標準液、生理的食塩水、いずれも原点に収束する直線が得られた。凍結融解試験は5回繰り返したが、測定値にはほとんど影響はみられなかった。

食事負荷では、食後わずかにPG Iが上昇したのみであった。

健常者のPG I、PG II及びPG I/PG II比を年代別に箱ヒゲ図で検討したところ、PG Iは変化がみられなかったが、PG IIは50代まで漸次増加した。その結果、PG I/PG II比は加齢とともに低下した。

以上の結果より、各年代ごとに正常値を設定する必要があると思われる。

まとめ

- 1) 本キットは血清PG I及びPG IIを簡便に測定できる。
- 2) 標準液の範囲内で良好な標準曲線が得られ、最小検出感度は0.2 ng/mlであった。
- 3) 再現性試験、添加回収試験共に満足できる成績が得られた。
- 4) 希釈は0 ng/mlの標準液、生理的食塩水にて希釈することが可能である。

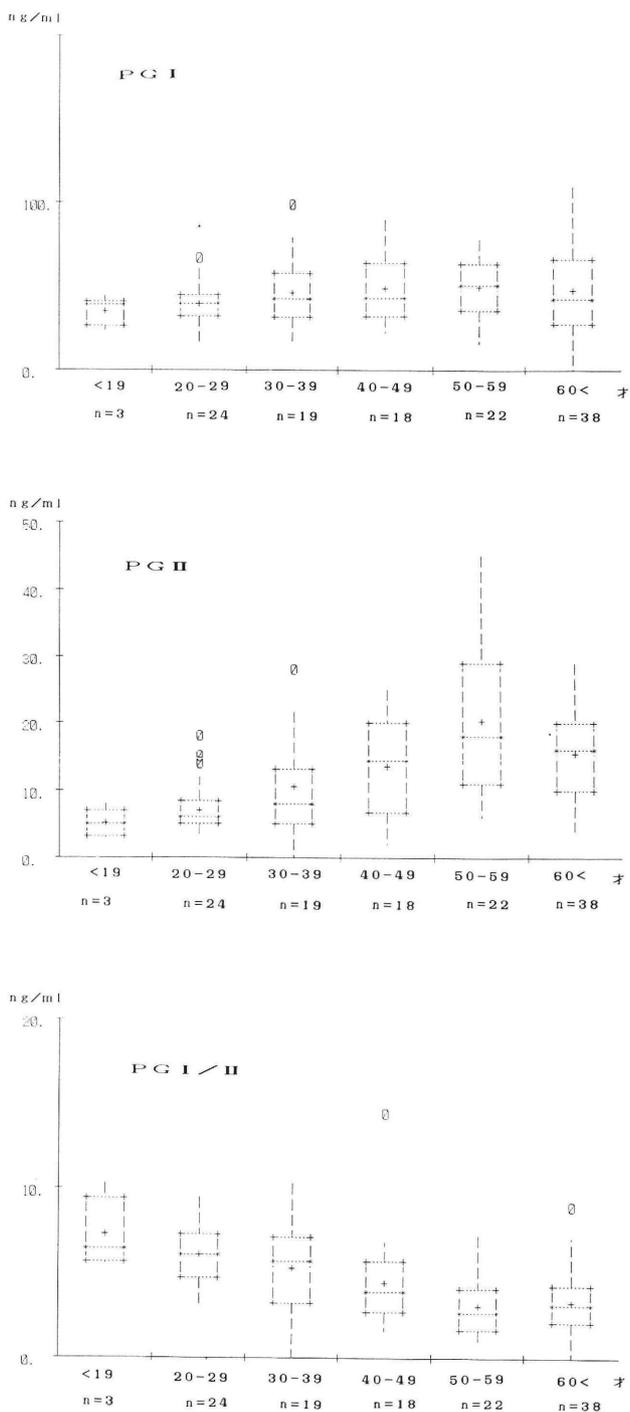


図8. 加齢に伴うPG値の変化

5) PG II 値が加齢とともに増加するため、各年代層における Cut off 値が必要である。

文 献

- 1) Samloff, I.M.: Slow moving protease and the seven pepsinogens. — Electrophoretic demonstration of the existence of eight proteolytic fractions in human gastric mucosa *Gastroenterology*, **57**, 659-669, 1969.
- 2) Samloff, I.M. et al.: Relationships among serum pepsinogen I, serum pepsinogen II, and gastric mucosal histology. A study in relatives of patients with pernicious anemia. *Gastroenterology* **83**, 204-209, 1982.
- 3) 岡 博 他: ペプシノゲン RIA キットの臨床応用 *臨床成人病* **19**, 531-537, 1989.