

28P-pm323

イムノアッセイ法によるインクレチン類 (GLP-1、GIP) の生体試料中定量法の妥当性確認

○井原 詠子¹, 岩藤 尚史¹, 腰山 知令¹, 曾根原 和彦¹, 酒井 治美¹, 清水 将年¹, 中山 智加男¹ (¹住化分析センター 医薬事業本部 バイオ技術センター)

【目的】GLP-1 (glucagon like peptide-1) と GIP (gastric inhibitory polypeptide) は、インスリン分泌を促進する代表的なインクレチンであり、血中では DPP-4 (dipeptidyl peptidase IV) によって活性型 GLP-1 (7-36 amide、7-37) から不活性型 GLP-1 (9-36 amide、9-37) に、活性型 GIP (1-42) から不活性型 GIP (3-42) にそれぞれ速やかに分解される。インクレチンの測定には、その安定性の確保や、高い選択性を持つアッセイが必要である。今回、活性型 GLP-1 への交差反応性を厳密に設定された抗体ペアから成る ECL (electro-chemiluminescent、MSD 社) イムノアッセイキットを用いて測定系を評価し、DPP-4 阻害剤による GLP-1 血漿中安定性も確認した。また、分解産物を含む総 GLP-1、総 GIP 測定系の評価も実施した。

【方法】Human Total Active GLP-1 Assay Kit (MSD 社) を使用し、活性型 GLP-1 測定の検出感度、定量限界、同時再現性を検討した。また、DPP-4 阻害剤をヒト血漿に添加し、37°C で 2 時間インキュベーションを行い血漿中安定性を確認した。総 GLP-1 測定系の評価を Human Total GLP-1 Assay Kit (MSD 社) にて、総 GIP 測定系の評価を Human GIP (Total) ELISA Kit (MILLIPORE 社) にて行い、それぞれヒト血漿中濃度の定量も合わせて実施した。

【結果・考察】DPP-4 阻害剤非存在下では、活性型 GLP-1 の血漿中半減期は約 20 分であり文献値と一致したが、DPP-4 阻害剤存在下では 2 時間安定であり、検体の安定性維持のための DPP-4 阻害剤の有用性が確認された。また、活性型 GLP-1、総 GLP-1、総 GIP について検体中濃度を測定可能な感度および再現性が得られた。以上の結果より、新規糖尿病薬の臨床研究や医薬品開発などにおいて、このインクレチン測定系が有用であると考えられる。