

34

Somatostatin の radioimmunoassay

名古屋大学第一内科

○伊藤光泰, 満間照典, 富田明夫

目的: somatostatin は生体内に広く分布する事が諸家により報告され, その役割を調べる為 R I A 法の開発を試みた。又, 組織内の somatostatin の測定には抽出操作が必要となるが, 血清, ラット脳組織等により somatostatin の不活性化が起こる事も報告されており, その測定には各種の問題点がある。そこで我々は抽出操作等 R I A 法の基礎的な検討を行なった。

方法: 抗体作製は glutaraldehyde を用いて somatostatin - H S G conjugate を作製, 家兎に免疫した。radioiodination は Tyr¹-somatostatin を lactoperoxidase を用い ¹²⁵I で標識し C M C にて精製した。B・F 分離には polyethylene glycol 法を用いた。ラット臓器内の immunoreactive (I R) somatostatin の抽出には 2 N 酢酸-メタノール, アセトン, メタノール, エタノールについて検討した。結果: 標準曲線は 0.15 ~ 5 ng/ml の間で直線性を示した。ラット臓器 0.2 g に合成 somatostatin 0.5 ~ 5 ng を添加し, 酢酸-メタノール 2 ~ 7 ml で抽出すると 4 ~ 5 ml で 90% 以上の回収率が得られたが, 他の 3 種類の抽出法では回収率が低かった。抽出した I R - somatostatin は視床下部, 大脳等各組織の稀釈曲線とよく平行した。抽出物を sephadex G-25 によるゲル濾過を行なうと, 主なる peak は合成 somatostatin の elution pattern とよく一致した。within assay は変異係数 8.4 ~ 14.8% であった。この R I A 法により, ウレタン麻酔下のラット視床下部に 1.3 ± 2 ng (M ± S D) 等ラット各組織に I R - somatostatin が検出された。

総括: 酢酸-メタノールを用い組織内 I R - somatostatin を抽出し, 我々の開発した R I A 法により測定し, 良好な成績を得た。

35

CCK-PZ の Radioimmunoassay の開発

東京慈恵会医科大学 第一内科

○月江英一, 西川 弘, 石原扶美武
柴田耕司, 亀田治男

〔目的〕 最近種々の消化管ホルモンの R I A が確立され, R I A は消化器疾患の病態究明に大きな役割を果している。CCK-PZ の R I A については 2 ~ 3 の報告はあるが, 未だ R I A は確立したとは言い難い。今回我々は京大矢島教授の合成による高純度〔27-Tyr〕CCK-PZ を用い, R I A 系の開発を試みたのでここに報告する。

〔方法〕 抗体の作成: 合成〔27-Tyr〕CCK-PZ を Mc Guigan らの方法により BSA と conjugate し, J. Vaitukaitis らの方法によりウサギに免疫した。標識抗原の作成: 合成〔27-Tyr〕CCK-PZ を CT 法で標識し, Sephadex G-50 により分離し, ¹²⁵I-〔27-Tyr〕CCK-PZ を得た。R I A 法: 標準品として合成〔27-Tyr〕CCK-PZ を使用し, B-F 分離は二抗体法によった。抗体の希釈曲線の作成, 抗体の特異性の検討では, 第一反応, 第二反応とも 4℃, 24 時間で行なった。標準曲線の作成にあたっては二抗体法の変法である Hales-Randle 法によった。

〔結果〕 抗体の希釈曲線: 抗血清を 100 倍, 1000 倍, 1 万倍, 10 万倍, 100 万倍希釈して希釈曲線を作成したところ, 各々 B o % で 82.5%, 77%, 58%, 29%, 12% であった。抗体の特異性の検討: 1 万倍希釈の抗血清を使用して, ガストリン, セクレチン, グルカゴンで各々 10 pg/ml から 100 μg/ml までの濃度で, 交叉反応を検討した結果, 全く交叉反応は認めず特異性の高い抗血清であった。標準曲線の作成: 二抗体法の変法である Hales-Randle 法により 8 万倍希釈の抗血清を使用して, 標準曲線を作成した結果, 図に示したように最少検出濃度として 200 pg/ml まで充分測定可能であった。なお, 人血清中の CCK-PZ の測定については現在検討中である。

