

## 87 CCK特異抗体を用いたRIA系によるラットの小腸及び大脳のCCK様免疫活性の測定

大西秀一, 安達秀樹, 野口正人, 佐藤俊介,  
本田豊彦, 青木悦雄 (京都大学医学部 核医学科)  
鳥塚莞爾 (福井医大)

Cholecystokinin (CCK) は分子多様性に富むペプチドで消化管や脳に分布するが、その生理的意義は十分解明されていない。我々はCCK特異抗体 (OAL 656)、gastrin との交叉反応性をもつ抗体 (OAL 661) を用いたCCKのRIAを検討し、またラットの小腸・大脳のCCK免疫活性のheterogeneityを測定した。[方法] 標識CCKとして  $^{125}\text{I}$ -BH-CCK<sub>33</sub>、 $^{125}\text{I}$ -CCK<sub>8</sub> desulfate を調整した。RIAの特異性は、CCK<sub>39</sub>、CCK<sub>33</sub>、CCK<sub>8</sub>、CCK<sub>4</sub>、gastrin を用いて検討した。小腸・大脳のCCK様物質の抽出、分離はRehfeldらの方法で行った。[結果] OAL 656 はCCK<sub>39</sub>、CCK<sub>33</sub>、CCK<sub>8</sub> のみと、OAL 661 はCCK、gastrin のすべてに交叉性を示した。いずれのRIA系も大脳のCCKは一峰性を示した。小腸のCCKはOAL 656 で3峰性、OAL 661 で5峰性を示した。OAL 656 によって測定された大脳、小腸の免疫活性は、生物活性とよく相関した。[結論] OAL 656 を用いたRIA系はCCKを特異的に測定でき、小腸、大脳のCCK免疫活性はすべて生物活性を有した。

## 88 CCKの胃主細胞に対するラジオレセプター結合の基礎的検討

野口正人, 安達秀樹, 佐藤俊介, 本田豊彦,  
大西秀一, 青木悦雄, 鳥塚莞爾  
(京都大学医学部 核医学科)

胃酸及びペプシン分泌が低下する萎縮性胃炎患者の血清中に抗壁細胞抗体が存在する事が知られている。我々は抗胃主細胞抗体を検索する目的で、消化管に増殖作用を有する cholecystokinin (CCK) の主細胞に対するラジオ・リセプター結合の基礎的検討を行った。[方法]  $^{125}\text{I}$ -BH-CCK<sub>33</sub> を用い、percoll 密度勾配法で得たモルモット単離胃主細胞への結合を検討した。[結果] 標識CCKの主細胞への結合は温度依存性で、37℃、45分で平衡に達し、また可逆的であった。その結果はCCKに特異的で、豚膵房細胞のCCK受容体結合拮抗剤、dibutyl CGMPで結合抑制された。CCK<sub>8</sub> による標識CCK結合阻害曲線のHobstee解析から、主細胞のCCK受容体は一つの結合部位を有し、その親和定数は  $4 \times 10^{-10}$  Mであった。この特異的結合に精製上rr-Gは2.5μgまで影響しなかった。[結論] 胃主細胞のCCK受容体結合及びその性状を明らかにした。この系で抗胃主細胞抗体の検索を加える。

## 89 膵腺房細胞、細胞膜分画のCCK受容体

安達秀樹, 野口正人, 本田豊彦, 佐藤俊介,  
大西秀一, 青木悦雄 (京都大学医学部 核医学科)  
鳥塚莞爾 (福井医大)

昨年の本学会において我々は膵腺房細胞の細胞膜分画を用いてそのCCK受容体の特性を報告した。この細胞膜においてはCCK受容体は単一の結合部位を持ちその結合親和定数は細胞の二つの結合部位の内、低親和定数と一致した。今回我々は、細胞と同様に二つの結合部位を持つ細胞膜を調整しその性状を明らかにしたので報告する。[結果] 粗膜分画のCCK-8受容体結合のscatchard解析から、このCCK受容体には高及び低親和性の二つの結合部位が存在し、各々の親和定数は、膵腺房細胞を用いた場合の成績とよく一致した。この受容体結合はMg<sup>++</sup>イオン依存性であった。40~250nMの<sup>3</sup>Hカイオン及び2nM-1μMのGTPは段階的にCCKの受容体結合を抑制した。その抑制は共に高親和性結合部位の減少に起因した。[結論] 膵腺房細胞の細胞膜分画において腺房細胞と同様のCCK受容体を得た。これを用いて細胞内機構と受容体調節の関連が明らかになるものと考えられる。

## 90 新規 Hapten 抗原を用いる 11-Deoxycorticosterone の Radioimmunoassay

八戸昌秋, 田中東一, 原田浩子, 久保寺昭子  
(東理大薬 放射)

11-Deoxycorticosterone (DOC) の radioimmunoassay (RIA) に用いる抗血清の調製には、従来種々のhapten抗原が用いられている。しかし、得られた抗血清は、特に progesterone との交差反応性が大きく、特異性において十分とはいえない。そこで、 $\Delta^4-3\text{-keto}$  構造の4位に着目し、DOC-[C-4]-BSA複合体を免疫抗原に用いて特異的抗血清を調製し、DOC RIAの開発を企てた。

まずDOCを出発原料に用い、4-carboxyethylthio 体に導き、このBSA複合体を雄モルモットに免疫後、抗血清を得、親和性、感度、特異性について検討した。得られた抗血清は、DOCに充分な力価を有し、また高い親和性 ( $K_a=1.27 \times 10^9 \text{ M}^{-1}$ ) を示した。標識抗原に [ $^3\text{H}$ ]-DOC (比放射活性 42Ci/mmol) を用いた場合、測定範囲は20-1000pgと高感度を示した。また、近縁ステロイドとの交差反応性を検討した結果、抗血清はA環ならびに17位側鎖官能基の識別に優れ、在来の抗体に比しその特異性に改善が見られた。さらにアフィニティクロマトグラフィーにより交差抗体の除去を行い抗血清の精製を試み、その特異性を検討した。