

氏名	高 浜 茂 博		
学位の種類	薬 学 博 士		
学位授与番号	博 甲 第 837 号		
学位授与の日付	平成2年 3 月 28 日		
学位授与の要件	自然科学研究科生体調節科学専攻 (学位規則第5条第1項該当)		
学位論文題目	ポリクローナル抗体を活用した超微量物質の発見及び定量に関する研究		
論文審査委員	教授 山本 格	教授 田坂賢二	教授 蒔田政見
	教授 丹羽皓二	教授 三浦嘉也	

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

生理活性物質の生体内動態を解明するため、ポリクローナル抗体を活用した超微量物質の単離、同定及び定量に関する基礎研究を行った。

超微量物質の単離、同定には低分子化合物に対するアフィニティークロマトグラフィーの有効性に関し、また定量には主としてヘテロガスなラジオイムノアッセイ法及び酵素免疫測定法による高感度化に関し詳細に検討した。

さらに生理活性物質に対し特異性の高い抗体と幅広いスペクトルを有する抗体とを目的に応じて使い分け、超微量スケールでの研究に適用することに意義を見出した。その結果、活性型ビタミンD<sub>3</sub>代謝物についてはそれらの共通構造を認識する抗体を調製することにより、高感度同時定量法を確立するとともにラット胆汁中より新代謝物を発見、同定に成功した。

またプロスタグランジン誘導体や抗潰瘍剤については、特異性の高い抗体を駆使することにより高感度定量法の確立に成功した。

本論文で示した方法及び考え方は、超微量で活性を発現する生理活性物質の研究に普遍的に適用可能であると考えられる。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

生体に存在する微量生理活性物質及びその代謝物の単離、同定、定量は生体マトリックス由来の多様な成分の影響を受けるため極めて難しい。高浜君は、目的とする生体超微量低分子物質に対するポリクローナル抗体を活用したアフィニティークロマトグラフィーの

有効性を検討した。即ち、生理活性物質の単離、定量には特異性の高い抗体を、また生理活性物質及び化学構造の類似した代謝物を扱う場合には、それらの共通構造を認識する抗体を調製し、利用することを考えた。その結果、1) 機器分析や免疫測定法による高感度定量を阻害する因子をほぼ完全に排除することができ、アッセイをより正確なものとすることが出来た。2) 大過剰の抗体を用いることにより、構造解析が可能な量にまで超微量物質を濃縮、精製できること、さらには、3) 緩和な条件下極めて効率よく超微量物質を単離することが出来たため、今まで不可能であった物質の定量を可能にしたのみならず、新規物質の発見にもつながった。

実施例のうち2, 3を挙げれば、活性型ビタミンD<sub>3</sub>代謝産物については、それらの共通構造を認識する抗体を用いたアフィニティークロマトとテヘロガスなラジオイムノアッセイを併用することにより、高感度同時定量法を開発することが出来た。そして、1 $\alpha$ , 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, 25-OH-D<sub>3</sub>, 24(R)25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>のみならず、これまで全く定量出来なかった動物及びヒトにおける血清中1 $\alpha$ , 25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-26, 23-lactone及び1 $\alpha$ , 24(R)25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>の測定をも可能にした。

PGE<sub>1</sub>誘導体については、ハプテンになり得ない互変異性体をPGB<sub>1</sub>型タイプに変換しハプテンの安定化をはかった。そして特異性の高い抗体を調製し、HPLC分画法とラジオイムノアッセイとを組み合わせ高感度測定を可能にした。本法により、PGE<sub>1</sub>誘導体の主薬効である血小板凝集抑制作用と血漿中薬物濃度との間に相関性があることを見いだした。

以上、本論文中で示された方法及び着想は超微量で活性を有する生理活性物質の研究に普遍的に適用可能であり、すでに薬の開発とそのメカニズムの研究に応用されて、高い評価を受けている。予備審査の結果、これらの研究は学位論文に値するものと判定した。高浜君は修士課程を含め、すでに約18年の研究歴があることに加え、研究内容が一貫して薬物代謝に関わる領域であることにより、薬学博士が妥当であると判断した。