

氏名 野津 薫
のづ かおる
 学位の種類 薬学博士
 学位記番号 論薬博第166号
 学位授与の日付 昭和51年11月24日
 学位授与の要件 学位規則第5条第2項該当
 学位論文題目 男性ホルモンのラット前立腺における作用機序に関する研究

論文調査委員 (主査) 教授 富田謙吉 教授 高木博司 教授 山科郁男

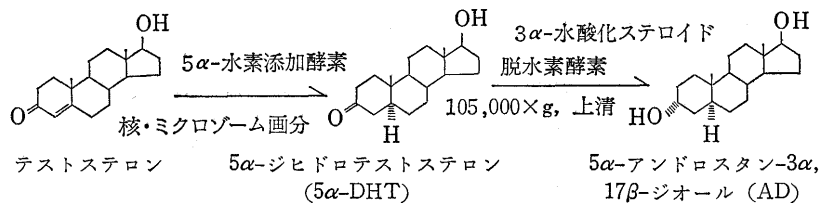
論文内容の要旨

男性ホルモンは主に精巣においてコレステロールから生成され、テストステロンとして血中に分泌される。その血中濃度は思春期を境にして急激な上昇を示し、前立腺、精のう腺などの付属性腺および副睾丸などの生殖器に作用し、その発育および機能維持に重要な役割を果している。しかし、その作用機序はいまだ不明な部分が多い。最近、高比放射能の標識ステロイドを用いた生理濃度でのトレーサー実験によりステロイドホルモンは標的器官の細胞内に取り込まれ、さらに核内の遺伝子に直接作用すると考えられるようになった。しかも、ペプチドホルモンやカテコールアミンのように細胞内メッセンジャーとしてのc-AMPの介在を必要とせず、標的器官の細胞内に特異的に存在するステロイド結合蛋白(レセプター)が関与しているという、いわゆる“レセプター説”が提案されてきている。

著者は男性ホルモンの作用機序を解明することを目的として、男性ホルモンの代表的な標的臓器であるラット前立腺を用いて、テストステロンの代謝と男性ホルモン・レセプターの性質と役割とを調べ、細胞内に取り込まれたテストステロンが核内の遺伝子に作用し、遺伝情報を発現する過程を明らかにしたいと考えた。

1. テストステロンの代謝

テストステロンはラット前立腺では主に5 α -還元体である5 α -ジヒドロテストステロン(5 α -DHT)および5 α -アンドロスタン-3 α ,17 β -ジオール(AD)に代謝された。



2. テストステロン代謝酵素の細胞内分布

テストステロンを 5 α -DHT に変換する 5 α -水素添加酵素は核およびミクロゾーム画分に強い活性がみられた。一方、5 α -DHT を AD に変換する 3 α -水酸化ステロイド脱水素酵素は可溶性画分(105,000 \times g, 上清)に局在した。5 α -水素添加酵素の分布をさらに詳しく調べたところ、ミクロゾーム画分では粗面および滑面の両画分に活性がみられた。成熟ラットと老令ラットを比較すると、老令ラットでは両画分の活性とも低下していた。核では核外膜と推定される成分に最も高い活性が存在した。核および小胞体に存在する 5 α -水素添加酵素は基質特異性, Km 値, 至適 pH, 至適温度, 補酵素要求性など酵素化学的に類似した性質を示した。

3. 5 α -DHT の核への取り込みとレセプター

テストステロンを可溶性画分の存在下で細胞核とインキュベートすると、核には 5 α -DHT が特異的に取り込まれており、テストステロンおよび AD の取り込みは僅かであった。このことは 5 α -DHT が核で作用する真の男性ホルモンであることを示唆しており、核外膜に存在する 5 α -水素添加酵素が 5 α -DHT の核への取り込みに重要な役割を果していると考えられる。同時に、5 α -DHT の核への取り込みには可溶性成分の存在が不可欠であることが明らかになった。可溶性成分には 5 α -DHT に特に強い親和性を示す 9S と 5S の沈降係数を持つレセプターが存在したが、9S レセプターのみが 5 α -DHT の核内への輸送に関与していることが判った。5S レセプターは 9S レセプターのサブユニットの可能性であり、もし生理的に相互の変換があるとするなら、5 α -DHT の核への取り込みを調節する機構として興味もたれる。5 α -DHT はレセプターと複合体を形成して核へ運ばれるが、その途中で 3 α -水酸化ステロイド脱水素酵素の作用を受けると 5 α -DHT は容易に AD 変換され、レセプターから解離し、核へ到達しないことが観察された。このことは 5 α -DHT の不活性化と関係があると思われる。

4. 5 α -DHT の 9S レセプター

5 α -DHT が細胞質の 9S レセプターと結合して核に取り込まれる過程においてレセプターがいかなる役割を果すかを具体的に調べるため、9S レセプターを 125 I で標識して 3 H-5 α -DHT と複合体を形成させた。この複合体は単離された核とインキュベートすると、核内に 5S の沈降係数を示す 125 I-レセプター \sim 3 H-5 α -DHT 複合体として取り込まれていることが明らかになった。この事実はステロイドが核に取り込まれる際に、レセプターとの複合体として取り込まれる可能性を示唆している。

5. 複合体と遺伝子との相互作用

核内に取り込まれた複合体はその大部分がクロマチンに結合しており、クロマチン成分ではヒストンには全く結合せず、非ヒストン蛋白質(酸性蛋白質)および DNA にのみ結合した。したがって、組織特異性を有するクロマチン酸性蛋白質に複合体の結合する部位、すなわちアクセプター部位が存在することは 5 α -DHT \sim レセプター複合体が標的臓器に特有な遺伝情報の発現を調節していることを示唆しており興味ある事実である。

以上の結果から、5 α -水素添加酵素によりテストステロンから変換された 5 α -DHT は男性ホルモン依存性臓器における活性型の男性ホルモンであると考えうる。5 α -DHT に強い親和性を示す細胞質 9S レセプターは 5 α -DHT の核内への輸送とクロマチンへの結合の二つの機能を担っていることが明らかになった。一方、現在用いられている抗男性ホルモン剤の作用機序を調べると、5 α -水素添加酵素の阻害作用を示す

ものと 5α -DHT とレセプターとの複合体形成を阻害するものとの二つのタイプに分類された。この事実からもテストステロンから 5α -DHT への変換を司る 5α -水素添加酵素と 5α -DHT を核へ運び遺伝情報の発現に参与する細胞質レセプターは、ともに男性ホルモンの作用機序において重要な役割を担っていると思われる。

論文審査の結果の要旨

今日多くのホルモンの作用は標的器官の cAMP 量の増強を介して発現されることが知られているが、男性ホルモンの作用機序については環状ヌクレオチドの関与は認められず不明の点が多い。著者はこの点を解明するために代表的男性ホルモン依存性臓器であるラット前立腺における 1) testosterone の代謝と 2) 男性ホルモンの細胞内結合蛋白質の性質と役割を検討して次の結果を得た。(1) 睾丸より血中に分泌される testosterone はラット前立腺では、まず 4^{α} - 5α -hydrogenase により dihydrotestosterone に、ついで 3α -hydroxysteroid dehydrogenase により androstanediol に還元された。前酵素は前立腺の核（特に核外膜）及び小胞体の二つの異なる細胞画分に存在していたが、至適 pH (7.0) 及び基質特異性、親和性は極めて類似していた。この点肝小胞体の同種酵素は K_m が約100倍も高く明らかに異っていた。またこの酵素は NADPH の 4-pro-S-プロトンの特異的に転移することも明らかにされた。また、 3α -hydroxysteroid dehydrogenase は細胞の可溶性画分に局在していた。(2) Testosterone が標的器官で dihydrotestosterone に還元されてから選択的に核にとりこまれ、これが DNA, RNA 合成及び細胞増殖を促進するとすれば、核へのホルモン取込み機構が問題となる。ラット前立腺可溶性画分には 9S と 5S と 2 種の男性ホルモン結合蛋白質が存在することが分った。

両者とも dihydrotestosterone に対して最も親和性が高く、ついで androstanediol で testosterone に対しては親和性が最も低かった。 $[^3H]$ 標識ホルモンを用いた実験で dihydrotestosterone が最もよく核にとりこまれ、またこの取込みには 9S 結合蛋白の存在が必要で 5S 蛋白は殆んど関与していなかった。また dihydrotestosterone-9S 結合蛋白質複合体は NADPH 存在下 3α -hydroxysteroid dehydrogenase により androstanediol を生成して 9S から遊離する。従って、この酵素は dihydrotestosterone-9S 結合蛋白を減少させてホルモンの核への取込みを調節する役割をもつものと考えられる。また $[^{131}I]$ -9S 結合蛋白- $[^3H]$ dihydrotestosterone 複合体を核に取こませた後に、核の $[^{131}I]$ -結合蛋白を分離すると 5S の沈降係数を示した。従って核のホルモン結合蛋白は可溶性画分由来のものであることが判明したが 9S→5S への変化の意義は不明である。また核にとりこまれた結合蛋白は大部分がクロマチンに結合しており、クロマチン内では非ヒストン蛋白と DNA とに結合していることが判明した。

以上の結果は男性ホルモンの標的器官における作用機序の解明に寄与することが多大である。

よって、本論文は薬学博士の学位論文として価値あるものと認める。