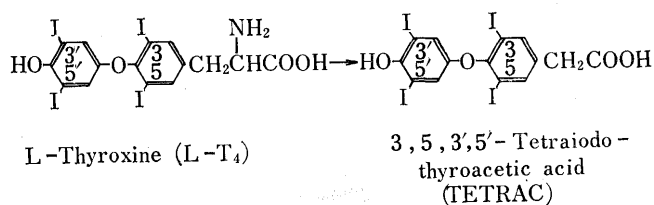


氏 名	坂 戸 信 夫 さか と のぶ お
学 位 の 種 類	薬 学 博 士
学 位 記 番 号	薬 博 第 78 号
学位授与の日付	昭 和 47 年 5 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 5 条 第 1 項 該 当
研 究 科・専 攻	薬 学 研 究 科 薬 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	3, 5, 3', 5' - テトラヨードチロ酢酸の生化学的研究
論文調査委員	(主 査) 教 授 富 田 謙 吉 教 授 山 科 郁 男 教 授 上 尾 庄 次 郎

論 文 内 容 の 要 旨

富田等は、甲状腺ホルモンの代謝過程を研究中、チロキシンが、ねずみの腎臓のミトコンドリアの酵素により、そのアラニン側鎖を分解されて 3, 5, 3', 5'-テトラヨードチロ酢酸 (TETRAC) を生成すること (Tomita, K. et al, J. Biol. Chem. **224**, 387 (1957), 及び生成した TETRAC が尚十分に甲状腺ホルモンの作用を有していることを見出した (図参照)。



さて、ホルモンの一次作用は、ホルモンの存在に直接依存するものと考えるならば、ホルモンと生体成分との何らかの直接反応があって然るべきである。このような観点からヨード化されたジフェニルエーテルという特異な化学構造をもつ甲状腺ホルモンと生体の重要な構成成分との反応の有無を探索中、富田等は、TETRAC に 0.05 M ピロリン酸 (PPi, pH 8.7) を作用させると瞬時に特異な呈色 (無色→緑色→淡黄色) を示すことを観察した (K. Tomita et al, Gunma Symposia on Endocrinology, **5**, 85 (1968))。そして得られた反応溶液は、もはや TETRAC のもつねずみの基礎代謝上昇作用は消失しているが体重を増加させる作用は保持していることが判った。

著者らは、この TETRAC-PPi 間の特異な化学反応を甲状腺ホルモンと生体成分との直接反応のモデルとして用い、まずこの反応機構の詳細な検討を行なった。その結果、(1) TETRAC は pH 8.7 の Tris-HCl, Glycine-NaOH, Carbonate などの溶液中では安定であり、TETRAC-PPi 反応は弱アルカリ性 pH によってのみおこるのではない。(2) PPi ばかりでなく Pi, ヌクレオチドなどとも同様の反応がみら

れた。(3) 本反応は、3',5'-ジヨードフェノール構造だけでは十分でなく、例えばチロキシンは PPi とは反応しない。また、トリヨードチロニン、3,5,3'-トリヨードチロ酢酸 (TRIAC) 等とも反応しなかった。(4) 反応成績体を薄層クロマト、ガスクロマト、濾紙電気泳動などの諸方法及び ^{131}I でラベルした TETRAC を用いたトレーサー実験で検討すると、1モルの TETRAC より (i) 1モルの I^- (ii) 0.2~0.25モルの 3,5-diiodo-4-hydroxy-phenylacetic acid (iii) 未同定有機ヨード化合物などの生成が確認された。しかるに TETRAC-O-phosphate ester, TRIAC, DIAC 等の生成は認められなかった。この反応の機構は複雑であるが少なくとも ESR スペクトルの解析では遊離基のシグナルが認められた (K. Tomita and N. Sakato, Fed. Proc., 27, 738 (1968), K. Tomita and N. Sakato, J. Biochem, 67, 421 (1970))。

以上のように、検討した多くの甲状腺ホルモン誘導体中、特に TETRAC が PPi やヌクレオチド等と「直接反応」を示す事実に関連して、次に著者は、前記富田らによるネズミ腎ミトコンドリア TETRAC 生成酵素についても、特にその基質特異性について検討を加えた。何となればこの酵素が甲状腺ホルモンの特異的か、チロニン、ジヨードチロニンなどの分解酵素と同一か否か、夫々が興味ある問題であるからである。その結果、ネズミ腎ミトコンドリアの粗抽出液及びその部分精製酵素は、チロキシンやトリヨードチロニンをはじめとするチロニン骨格に対してはよく作用するが、モノヨードチロニン、ジヨードチロニン及びチロニン等のアラニン側鎖に対しては全く作用しないか、極めて作用し難いことが判明した。

今日「ホルモンの核に対する作用」や第二のメッセンジャー「サイクリック AMP」説をはじめ、ホルモンの作用機作に関する研究は枚挙にいとまがない。しかしながら、ホルモンの作用、効果が発現する前段階にホルモンと生体成分との間で如何なる現象が起きているのであろうかという問題に関しては今日充分な研究がなされていない。

今回、TETRAC に関する研究より得られた諸事実は、多岐に亘る作用を有する甲状腺ホルモンの作用機作解明の一助となるものであろうかと考える。

論文審査の結果の要旨

甲状腺ホルモンの作用機作の解明の手段として、種々の方法がとられているが、本論文は、ホルモンの一次作用に関して、体内成分と特異反応の存在の可能性の面からその解明を試みたものである。

即ち、甲状腺ホルモン誘導体の一つである 3,5,3',5'-テトラヨードチロ酢酸 (TETRAC) がピロリン酸溶液中で、瞬時に変色分解することは、先に富田らにより発見されているが、坂戸は先づこの特異な反応の機構の研究を行った。その結果、(1) TETRAC はピロリン酸以外にも、オルトリン酸、砒酸、および ATP など一連のヌクレオチドとも同様の反応を行なう。(2) 構造については、TETRAC 以外では、N-アセチルチロキシンのみが、ピロリン酸等と反応し、単なるオルトジヨードフェノール構造のみでは不十分であることを確認した。

反応成績体の解明には、UV スペクトル、種々のクロマトグラフィーを併用して、(3) TETRAC の五分の一〜四分の一量のヨードと 3,5-ジヨード-4-ヒドロキシフェニル酢酸が出来ることを証明した。未知の重合体が副生するが、この検討は行っていない。

上記(2)および(3)に関連して、坂戸は種々のチロキシン誘導体、予想される反応成績体をも、多数合成し

ているが、その手法も極めて確実である。なお、ここに興味あることは、分解機構の解析に ^{131}I -ラベルの TETRAC を用いる時、坂戸は常法に従い、cold TETRAC と ^{131}I との交換反応でこの物質を作ったが、この 3',5'-のみがラベルされている筈にもかかわらず、デヨードフェニル酢酸に ^{131}I が含まれていたことである。坂戸は他の方法によっても ^{131}I -TETRAC を合成したが、結果は同じであった。これは、これまでの文献では、常法では、3',5'-のみがラベルされることになっており、標識チロキシン等を用いての代謝過程の研究の解析に警鐘を与えるものである。

さて、TETRAC とピロリン酸との反応に見られる緑色中間体の分離、同定は、極めて困難であったが、坂戸は ESR 測定により、FREE RADICAL の生成することは、確めている。

次に、チロキシン側鎖を分解して TETRAC にする酵素は、既に、ラット肝臓ミトコンドリアに存在が確証されているが、この酵素の精製、基質特異性の研究は十分に行われていない。坂戸は、部分精製を通じて、(1)この酵素は、チロジンやヨードチロジンには活性が低く、単なるアミノ酸酸化酵素とは考えられないことを確めた。

以上、TETRAC とピロリン酸反応の機構解明、チロキシン側鎖分解酵素の予備実験に関する実験の手法、解析の仕方、得たる新しい知見から見て、この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。