

氏 名	中 村 正 広 なか むら まさ ひろ
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	医 博 第 546 号
学位授与の日付	昭 和 55 年 3 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	医 学 研 究 科 生 理 系 専 攻
学位論文題目	Effects of Steroid Hormones on the Level of Corticotro- pin Messenger RNA Activity in Cultured Mouse- Pituitary-Tumor Cells (培養 マウス下垂体腫瘍細胞の cortisol コルチコトロピン メッセージャー RNA 活性レベルにおよぼすステロイドホルモンの効果)
論文調査委員	(主 査) 教 授 村 地 孝 教 授 井 村 裕 夫 教 授 沼 正 作

論 文 内 容 の 要 旨

コルチコトロピン (ACTH) は下垂体で産生され、副腎皮質に作用し、グルココルチコイド産生を促進する。一方、グルココルチコイドは ACTH 産生を抑制している。この現象はフィードバック調節の典型としてよく知られている。しかし、グルココルチコイドが直接、下垂体に作用するのか、それとも視床下部などを介して間接に作用するのか、又グルココルチコイドが合成、或は分泌のどの段階で、どのように作用しているのか、さらに仮にグルココルチコイドが合成に関与するとしても、転写、翻訳などいかなるレベルで作用しているのか、など多くの問題が不明のまま残されていた。これ等の問題を明らかにするため、著者は培養マウス下垂体腫瘍細胞株 (AtT-20) を用い、グルココルチコイドによる ACTHmRNA 活性の変化を検討した。その結果グルココルチコイドが少なくとも直接、下垂体 ACTH 産生細胞に作用して ACTHmRNA 活性を抑制していることを明らかにした。

細胞から定法通り抽出した RNA を [³⁵S]メチオニンをを用いて小麦胚芽の無細胞タンパク合成系で翻訳し、酸不溶性分画に回収される放射活性を全タンパク mRNA 活性とし、ACTH 抗体と特異的に反応して回収される放射活性を ACTHm RNA 活性とした。

実験として第1にデキサメサゾンの効果を検討した。培養液にデキサメサゾンを 0.1μg/ml で加え、4日間培養後細胞から RNA を抽出し全タンパク、および ACTHmRNA 活性を測定した。その結果、全タンパク mRNA 活性はデキサメサゾン添加の有無によって変化しなかったが、ACTHmRNA 活性はデキサメサゾン添加によって30~40%に減少することが明らかになった。この減少はデキサメサゾン添加量に依存してみられ、生理的濃度で最大30%に達した。第2に ACTHmRNA の翻訳産物を SDS ゲル電気泳動で解析した。翻訳産物はほぼ単一で、デキサメサゾン添加、無添加とで同一のバンドを示し、分子量約 33000 であった。この結果は、牛およびラット下垂体 ACTHmRNA の翻訳産物が分子量 3~4 万程度の大分子であるという中西らの報告とよく一致している。第3に種々のステロイドホルモンを 0.1μg/ml で添加した場合の ACTHmRNA 活性の減少の程度を測定した。代表的グルココルチコイドであるデキサメ

サゾン、コルチコステロン、コルチゾール添加で ACTHmRNA 活性は、それぞれ30%、46%、74%、に減少したが、非グルコルチコイドである、テストステロン、 17β -エストラジオール添加の場合、ACTH mRNA 活性はそれぞれ90%、93%で有意な減少がみられなかった。又上記の実験に用いたすべてのステロイドホルモンは細胞の増殖とバイアビリティにほとんど影響を与えなかった。これらのことは ACTH mRNA 活性の減少がグルコルチコイドの特異的作用に起因することを明確に示す。

中西らはラットを用いて同様な結果を報告しているので、これらのことを考え合わせると、in vivo において、グルコルチコイドは少なくとも直接、下垂体の ACTH 産生細胞に作用し、ACTHmRNA 活性を減少させることが結論づけられる。さらに ACTHmRNA 活性の減少の程度はラジオイムノアッセイ法により測定した培養液中の ACTH 量の減少の程度、および Watanabe らが報告した AtT-20 細胞のグルコルチコイドレセプターに対するステロイドホルモンの結合特異性と非常によく一致した。この結果はグルコルチコイドの作用が特異的レセプターを介して ACTH 遺伝子の転写段階で働いていることを強く示唆する。

論文審査の結果の要旨

著者はグルコルチコイドによるコルチコトロピン (ACTH) 産生調節の分子機構を明らかにするため、ACTH を産生する培養マウス下垂体腫瘍細胞株 (AtT-20) を用いグルコルチコイドによる ACTH メッセンジャー RNA (mRNA) 活性の変化を無細胞タンパク合成系で検索した。その結果、生理的濃度のデキサメサゾン添加によって ACTHmRNA 活性が約 1/3 に減少すること、及び種々のステロイドホルモンによる ACTHmRNA 活性減少の程度は本細胞が持つグルコルチコイド受容体の特異性と非常によく一致することを明らかにした。この結果はグルコルチコイドが直接下垂体 ACTH 産生細胞に作用し、グルコルチコイド受容体を介して ACTHmRNA 活性を抑制していることを示す。更にマウス ACTH mRNA の翻訳産物は分子量約 33,000 であり ACTH の約 7 倍の分子量を有することを明らかにした。以上の研究は培養細胞を用いてグルコルチコイドによる ACTHmRNA の調節を明らかにした最初の例であり、今後生化学、内分泌学の発展に寄与するところが極めて大きい。

よって、本論文は医学博士の学位論文として価値あるものと認める。