

氏 名	中 村 浩 淑
	なか むら ひろ とし
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	医 博 第 525 号
学位授与の日付	昭 和 54 年 3 月 23 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 内 科 系 専 攻
学位論文題目	甲状腺ホルモンの核受容体に関する研究

論文調査委員 (主 査) 教授 鳥塚莞爾 教授 翠川 修 教授 井村裕夫

論 文 内 容 の 要 旨

甲状腺ホルモンは、その標的組織の細胞核に存在する受容体に結合し遺伝情報の発現に関与することによって、ホルモン作用を発揮すると考えられているが、この核受容体の性状及びホルモン作用との関係については未解決の問題が少くない。以下次の二点を中心に甲状腺ホルモンの核受容体の研究を行った。

(1) 家兎肝核受容体の性状

これまでの核受容体の性状に関し報告されてきた研究は、殆んどがラット肝ないしはラット下垂体腫瘍由来の培養細胞を用いたものであり、ラット以外の高等動物における検討は皆無に近い。そこで家兎肝を用いて甲状腺ホルモン核受容体の性状を調べた。家兎肝より高稠蔗糖溶液超遠心法で核を単離し、pH 8.5 の 0.4 MKCl 溶液にて核受容体を抽出した。Scatchard plot より求めた核受容体の triiodo-L-thyronine ($L-T_3$) に対する親和定数は $1.5 \times 10^{10} M^{-1}$ 、最大結合能は肝湿重量 1 g 当り 0.12 pmole また抽出核蛋白 1 mg 当り 0.2 pmole であった。結合特異性は $L-T_3$ に対し最も高く、triiodo thyroacetic acid (Triac), $D-T_3$, L -thyroxine ($L-T_4$), $D-T_4$ のそれぞれの親和性は $L-T_3$ の 1/2, 1/4, 1/50 及び 1/170 であった。Triac の親和性は単離核についても、また標識 Triac を用いた displacement study の結果からも $L-T_3$ の 1/2 であることが確かめられた。核受容体の分子量はセファデックスゲル濾過上 4~4.5 万、沈降定数は蔗糖密度勾配超遠心法で 4 S よりやや小さな値を示した。陰イオン交換体クロマトグラフィー及び Scatchard 分析から結合部位は一種類であることが認められた。家兎肝 T_3 -核受容体の性状は、従来報告されているラット肝のそれに近い成績であったが、Triac の親和性は著明に異っていた。この原因として動物の種族差に基づく可能性が推測され、Triac の生物学的意義が動物により若干異なることも考えられた。

(2) 甲状腺ホルモン投与の核受容体に対する影響

核受容体の最大結合能及び親和定数がホルモンレベルにより変動するか否かを調べる為に次の実験を行った。先ず甲摘ラットに体重 100 g 当り 40 μg 及び 230 μg の T_3 を三日間投与し、核受容体の変化を見た。核受容体に内因性に結合している T_3 量を、in vivo に投与した標識 T_3 の放射能比活性法、及びラ

ジオイムノアッセイ法より算出し、これを補正した場合としない場合とで Scatchard plot を行った。内因性 T_3 量を補正しない場合、核受容体の親和定数 (K_a) は $40 \mu g T_3$ 投与群で有意に低下していたが、補正により各群間に有意差は見られなかった。補正後の最大結合能 (C_{max}) は、 $40 \mu g T_3$ 投与群では甲摘群の 2.5 倍に増加していた。内因性 T_3 量を補正することの妥当性は、あらかじめ一定量の T_3 を核受容体に結合させておいた時の *in vitro* の実験でも確かめられた。更に甲状腺ホルモン依存性酵素である肝ミトコンドリアの α -glycerophosphate dehydrogenase (α -GPD) 活性は、 C_{max} の増加と有意の正相関を示した。

次に甲摘ラットに体重 $100 g$ 当り $1250 \mu g$ の T_3 を一回静注し、核受容体の結合能の時間的変動を調べた。内因性 T_3 補正後の C_{max} は、静注一日後に前値の約 2.5 倍に増加し、その後約二日の半減期で減衰した。一方 α -GPD 活性はやや遅れた三日目に頂値を示したが、両者の時間的変動は極めて類似していた。 K_a は経過を通じ一定であった。

以上より核受容体の最大結合能は、高度の機能亢進症ラットでは有意に増加し、ホルモン効果と密接に関連していることが示された。従って核受容体の結合能の変動が、ホルモン作用の効果発現に影響を及ぼす因子の一つである可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

甲状腺ホルモンは核受容体に結合し遺伝情報の発現を介して作用すると考えられている。この受容体の性状を明らかにするため次の研究を行った。(1)家兎肝核受容体の性状 従来ラット以外の高等動物における検討は殆んど皆無である為、家兎肝を用いて T_3 -核受容体の性状を調べた。結合部位は一種類(親和定数: $1.5 \times 10^{10} M^{-1}$, 最大結合能: 0.12 pmol/g. 肝)で分子量は $4 \sim 4.5$ 万、沈降定数は約 $4 S$ であり、 $L-T_3$ に対し最も強い親和性を示した。Triac の親和性は $L-T_3$ の約 $\frac{1}{2}$ で動物への種差に基づく核受容体の性状の相違がうかがわれた。

(2) T_3 投与による核受容体の結合能の変動

ラットにおいて甲状腺機能状態と結合能の変動の関係を調べ、内因性 T_3 量に対する補正が極めて重要であり、 T_3 投与によって親和定数は変化しないが最大結合能は有意に増加する事を初めて見出した。この最大結合能の変化と α -GPD 活性との間には密接な関連が認められ、核受容体の最大結合能自身がホルモン作用効果を調節する一因子である可能性が示唆された。以上本研究は甲状腺ホルモンの作用機序の解明に貢献し、甲状腺疾患の病態の究明に寄与するところが多い。

従って、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。