

Title	大分子ACTHに関する研究
Author(s)	川上, 房男
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32027
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏名・(本籍)	川 上 勇 夫
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 4 1 8 2 号
学位授与の日付	昭 和 53 年 3 月 18 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	大分子 ACTH に関する研究
論文審査委員	(主査) 教 授 西 川 光 夫
	(副査) 教 授 熊 原 雄 一 教 授 倉 知 敬 一

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

proinsulinの発見は、hormoneがprecursorとして生合成され、分解酵素により分解されて従来のhormoneが生じる可能性を示唆した。

その後、種々のhormoneに大分子の形態を有するbig hormoneの存在が明らかにされている。今回、大分子ACTHに関する研究に際して、proinsulinが、insulin製剤より抽出された事実を考慮し、1950年代に、臨床的に使用されていた豚下垂体の酸・アセトン粗抽出物であるACTH製剤Cortrophine (Organon社)を素材として、その中に含まれる従来の1-39ACTH以外に、いわゆる大分子ACTHを分離し、その性状について検討を行った。

〔方法ならびに成績〕

Cortrophineを、0.1N酢酸溶液にて一晚透析後、Bio-Gel P-10カラムを用い、0.1N酢酸溶液(pH 2.6)を溶出液としてゲル濾過を行った。採取した各分画について、radioimmunoassayとbioassayを用いてACTHを測定した。1-39ACTHの溶出位置に一致して、非常に高いACTHの免疫および生物活性を有するpeakが出現し、Fraction Cと名付けた。それ以外にも、両活性を有する数個のpeakが出現し、その中で最も大きいと思われるpeakをFraction Aと名付けた。得られたFraction A、およびCのrechromatographyを行い、採取した各分画についてACTHの免疫活性を測定したところ、初回の溶出位置に一致して免疫活性を有するpeakを再現し得た。rechromatography後に得られたFraction A、Cと抗体との反応性を検討する目的で、Fraction A、Cを倍数希釈し、標準ACTHと比較したところ、Fraction Cは、標準ACTHと全く同一の反応性を示した。またFraction Aの反

応性も、標準ACTHに類似していた。

Fraction A, Cについて免疫活性と生物活性を比較したところ、Fraction Aの生物活性は、免疫活性の1%以下であったが、明らかに生物活性を有することを認めた。Fraction Cでは、両活性は等しい値を示した。以上の結果より、Fraction Cは、Cortrophine中に含まれる1-39ACTHと思われる。下垂体摘除ラットに、Fraction A 200 μ g/0.5ml, Fraction C 100 μ g/0.5mlを静注、皮下注と異なった投与方法を行ったところ、静注投与では、両者とも血中corticosteroneの増加が認められたが、皮下注投与では、Fraction Cにcorticosteroneの増加反応が見られたが、Fraction Aには、増加反応が認められなかった。

Fraction Aの性状を、さらに明らかにするため、Amberlite CG-50カラムを用いて精製を行った。9 M酢酸にて溶出される分画を採取し、その分画をSDSポリアクリルアミドゲルを用いて電気泳動を行ったところ、単一のbandが認められ、そのbandに一致してACTH免疫活性のpeakが見られた。また、その際に種々の分子量既知の蛋白を同時に泳動し、それらと泳動距離を対比することより、Fraction Aの分子量は、約16,000と推定された。Amberlite CG-50カラム泳動後に得られたFraction Aの等電点分画法により、Fraction Aの等電点は、pH 9.5前後であることが明らかになった。

Fraction Aを、trypsinによって処理したところ、ゲル濾過の泳動像では、形状的に小さくなり、1-39ACTHと同じ位置に溶出された。trypsin処理後のFraction Aについて、抗体との反応性を検索したところ、標準ACTHと大きな差は見られなかった。

[総括]

ACTH製剤Cortrophine中に、従来の1-39ACTH以外にも分子量の大きいACTH様の物質が存在する。in vivoにおいて、大分子ACTHの副腎刺激作用は、投与方法により差を生じ、皮下注投与では、ほとんど活性を認めず、静注投与では、明らかに活性を認めた。この事実、highly purified ACTH (HP-ACTH) が作られて、ACTHの第3国際標準単位がWHOにより定められたが、HP-ACTHは、皮下注、静注でも同じ力価であるのに、crude ACTHは、静注では皮下注の3倍の力価を示し、その理由が不明であったが、その一因を明らかにし得た。

大分子ACTHの分子量は、約16,000であったが、Nelson症候群のACTH産生腫瘍細胞の電顕による観察から、ACTH産生細胞の膜系polysomeを構成しているribosomeより約15,500の分子量を有する蛋白が分泌されている可能性が示唆され、両者の分子量はよく一致している。

trypsin処理による大分子ACTHは、形状的、免疫学的反応性において、1-39ACTHに類似しているが、いずれにしても、大分子ACTHは、ACTH様の免疫、および生物活性を有するが、これ自体が、1-39ACTHのprohormoneであるか否かについては、今後の検討を待つて結論を下す必要がある。

論文の審査結果の要旨

本研究は、ACTHの抗血清を独自に作製し、ACTHの免疫学的測定法を確立した。そのassay系を用いて、ACTHとして臨床的に使用されていた豚下垂体の粗抽出製剤であるCortrophineに着目し、その中に、従来の1-39ACTH以外に、bigACTHが存在することを始めて明らかにした。それらのbigACTH中で、最も大分子と思われるACTHを部分精製し、その性状について生物活性、免疫活性、分子量、等電点など明らかにした。そしてHP-ACTHのための第3国際標準単位制定に際し、力価の判定に混乱を生じたが、その原因の1つには、crude ACTH製剤中にbig ACTHが混在しているためであることが、本研究により明らかにされた。