



Title	ラット下垂体前葉の生物活性および免疫活性ACTHの性状におよぼす副腎摘出の効果
Author(s)	伊藤, 芳晴
Citation	大阪大学, 1981, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/33073">https://hdl.handle.net/11094/33073</a>
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">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> >大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏 名・(本籍)	伊 藤 芳 晴
学 位 の 種 類	医 学 博 士
学 位 記 番 号	第 5 4 8 8 号
学位授与の日付	昭 和 56 年 12 月 25 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	ラット下垂体前葉の生物活性および免疫活性 ACTH の性状におよぼす副腎摘出の効果
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 垂井清一郎
	(副査) 教 授 熊原 雄一 教 授 松本 圭史

## 論 文 内 容 の 要 旨

### 〔目 的〕

ラット下垂体前葉では ACTH は、数種の分子量の異なる形態で存在することが知られている。しかもこのうち分子量 31,000 のいわゆる大分子 ACTH は、ACTH/ $\beta$ -LPH の共通前駆体として蛋白分解酵素の作用を受けて、ACTH、 $\alpha$  及び  $\beta$ -MSH のほかエンドルフィン、エンケファリンなどの生物活性ペプチドの生成に関与していることが明らかにされた。

副腎摘出はフィードバック機構を介して下垂体 ACTH の生成・分泌に強い影響をおよぼすことが知られている。そこでゲルろ過法ならびに ACTH の免疫学的及び生物学的測定法を用いて、ラット下垂体前葉 ACTH 含量ならびに ACTH の下垂体内での存在形態におよぼす副腎摘出の効果を経時的に検討した。

また、Dexamethasone 投与による変化をも併せて検討した。

### 〔方 法〕

#### 1) 試料の作成・抽出ならびにゲルろ過

副腎摘出は Wistar 系雄ラットをバルビタール麻酔下に背側より行ない、術後は生理食塩水を投与した。Dexamethasone は  $400\mu\text{g}/100\text{g B.W.}$  を腹腔内投与した。正常対照、副腎摘出後 1, 3, 7, 14, 21 日及び Dexamethasone 投与 8 hr, 3 日に断頭、下垂体前葉を摘出、すみやかに 0.1N 酢酸中で 20 分煮沸した。homogenize したのち遠沈、上清の免疫活性 ACTH (RIA-ACTH) 及び生物活性 ACTH (BIO-ACTH) を測定した。蛋白量は Lowry の方法に従って測定した。ゲルろ過には 2~5 ケの下垂体を homogenize して上清を Bio Gel P-10 カラム (1.0×90cm) に添加、0.1N 酢酸で溶出し 3

mlずつ分画採取した。各分画につきRIA- ACTH及びBIO- ACTHを測定した。

## 2) ACTHの免疫学的測定法 (RIA)

ACTHの抗血清は $\alpha p^{1-39}$  ACTHを家兔に皮下注して得られたもので、1—24 ACTH, 11—24 ACTHに良好な反応性を示した。標識ACTH及び標準ACTHには $\alpha p^{1-39}$  ACTHを使用し、タルクを用いた一抗体法により測定した。検出限界は0.6—20 ng /mlであった。

## 3) ACTHの生物検定法 (BA)

ラット副腎遊離細胞を用い、標準ACTH又は検体溶液とincubationし産生されたcorticosteroneをcompetitive protein binding assayにて測定した。測定限界は14—600 pg /mlであった。

### 〔成績〕

#### 1) 副腎摘出後の下垂体ACTH含量の変化

対照ラット下垂体ではRIA-ACTH:  $6.4 \pm 0.2$  ng / $\mu$ g protein, BIO-ACTH:  $1.5 \pm 0.2$  ng / $\mu$ g proteinであった。両活性共に副腎摘出後1日で減少しその後再び増加した。この際BIO-ACTHの増加は7日目よりみられ21日目で対照の490%となった。一方、RIA-ACTHは14日より有意に増加したが、21日目で対照の250%にとどまった。

#### 2) 下垂体前葉のゲルろ過像

正常ラット下垂体のBio Gel P-10によるろ過像は、RIAで3つのピーク (順に1, 2, 3) が得られBAではピーク2, 3にのみ活性が認められた。ピーク3は $\alpha p^{1-39}$  ACTHと一致した。なおカラムでのRIA-ACTHの回収率は75—110%, BIO-ACTHのそれは30—60%であった。

#### 3) 副腎摘出後の下垂体前葉のゲルろ過像

RIA-ACTHは1, 3日目でピークは不明瞭となり7日目よりそれぞれのピークが再現した。とりわけ、ピーク2, 3が著明となった。一方BIO-ACTHは副腎摘出14, 21日目でピーク2が著増した。ピーク1には対照同様、生物活性はほとんど認められなかった。

#### 4) Dexamethasone投与の効果

Dexamethasone投与後8時間でわずかに下垂体前葉のRIA-ACTH, BIO-ACTHは減少した。しかしゲルろ過像では両活性共に対照に比し大きな変化は認められなかった。

### 〔総括〕

1) 下垂体ACTH含量は、副腎摘出後一過性に減少したのち再び増加した。この際、BIO-ACTHは21日目に対照の490%に増加したのに対しRIA-ACTHは250%にとどまった。副腎摘出により、より生物活性の大なるACTHの生成が促がされた可能性が推察された。

2) 前葉中にはゲルろ過により3つのRIA-ACTH (分子量の大なる順にピーク1, 2, 3) が認められBIO-ACTHはピーク2, 3にのみ認められた。

3) 副腎摘出後各時期の前葉抽出物のゲルろ過像では生物活性ACTHの分布に特に著しい変化を認めた。従って下垂体副腎皮質系のフィードバック機構を動揺させる副腎摘出という操作がACTHの生成・代謝に変化をきたし、その結果生物活性の発現機構に著しい影響をおよぼすことを証明した。

- 4) Dexamethasone投与はACTHのtotal含量を投与後8時間でわずかに減少させたが、ゲルろ過像には有意な変化をもたらさなかった。

### 論文の審査結果の要旨

本論文は下垂体前葉ACTHの存在様式についての研究である。とくにACTHについて、免疫活性ならびに生物活性の両面より検討し、副腎摘出の効果を観察した点が特徴である。すなわち、副腎摘出により下垂体ACTH含量に著しい変動があり、この際免疫活性と生物活性の動きに差があることを明らかにした。ついでゲルろ過法を用いて、副腎摘出後の溶出像を調べ両活性ACTHのmolecular sizeの分布に相違のあることを示した。このことより副腎摘出によりACTHの量的な変動のみならず、質的にも異なった形で存在する可能性を明らかにし、下垂体におけるACTHの生合成やprocessingを考える上で、示唆に富む研究であり、学位に値する論文と判断する。