

氏 名 (本籍)	あき 秋	ば 葉	ゆき 征	お 夫 (宮城県)
学位の種類	農	学	博	士
学位記番号	農	第	83	号
学位授与年月日	昭和48年 5月10日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当			
最終学歴	昭和41年3月 東北大学農学部卒業			
学位論文題目	GOITRINの抗甲状腺作用とその 作用機構に関する研究			

論文審査委員	(主 査)	教授 松本達郎	教授 木村修一
			教授 竹内三郎

# 論文内容要旨

自然界に生育する植物，特にアブラナ属の植物には，抗甲状腺物質が存在することが知られている。現在，蛋白質飼料として注目されている菜種は，アブラナ属の植物であり，抗甲状腺物質(1-5-Vinyl-2-oxazolidinethione (Goitrin) の含量が特に高いことが報告されている。Goitrin は植物中に配糖体である Progoitrin として存在し，この Progoitrin は非活性であるが，菜種中または動物消化管内に存在する酵素 Myrosinase の作用によって分解し，生理的に活性な Goitrin を生成することが知られている。しかし，鶏，豚，牛等の家畜に対する Goitrin の生理作用および抗甲状腺作用についての報告はほとんど見られない。

本研究においては，菜種種実より純粹に抽出単離した Goitrin を用い，ヒナにおける Goitrin の抗甲状腺作用を種々の条件下で検討し，その作用機構を甲状腺内における作用機構および甲状腺外における作用機構の両面より説明することを試みた。

## 1. Goitrin と芥子油の抗甲状腺作用の比較

菜種粕中の配糖体からは，Goitrin および芥子油が生成することが確認されている。そこで Goitrin と芥子油の抗甲状腺作用の比較を試みた。単冠白色レグホーン種雄初生ヒナを用い，基礎飼料（ヨウ素含量 0.67 ppm）に Goitrin または芥子油を 0.05% のレベルで添加して 14 日間給与した。Goitrin 0.05% の投与で甲状腺は対照区の約 3 倍に肥大したが，芥子油添加では甲状腺の肥大は認められなかった。甲状腺への  $^{131}\text{I}$  とり込みは，芥子油投与では著るしく低下し，Goitrin 投与では増加したが，Goitrin と芥子油を同時に投与したヒナでは，甲状腺  $^{131}\text{I}$  が増加し，芥子油の作用が Goitrin の甲状腺  $^{131}\text{I}$  とり込み促進作用によって打消された。従って，芥子油の抗甲状腺作用は弱く，菜種粕給与により起る鶏の甲状腺機能の減退は主に Goitrin の作用に因るものと判断された。

## 2. ヒナの甲状腺機能に対する Goitrin の作用

ヒナにおける Goitrin の抗甲状腺作用についての検索を行い，同時に合成抗甲状腺物質 (Propylthiouracil, PTU) との比較を試みた。

ヒナの甲状腺は，Goitrin 0.0125%~0.05% の投与により対照区の約 2~6 倍に肥大し，かつ投与量に比例して増加する傾向が認められた（表 1）。甲状腺  $^{131}\text{I}$  とり込みは Goitrin の投与により増加し，甲状腺ヨウ素量は Goitrin の投与により対照区の約 1.5~2.1 倍に増加した。

PTU の投与により甲状腺の肥大は見られたが、甲状腺<sup>131</sup>Iとり込みおよび甲状腺ヨウ素量は著るしく低下した。従って、甲状腺<sup>131</sup>Iとり込みおよび甲状腺ヨウ素量の増加については、Goitrin と PTU とではその作用が全く相反していた。

血漿 PBI は、PTU の投与により対照区の 10% 以下に低下し、Goitrin 0.0125~0.05% の投与で対照区の 50~60% に低下した (表 2)。Radiostereoaassay により血漿中の Thyroxine 濃度を測定したところ、対照区ヒナでは血漿 100 ml 当り 1.5  $\mu$ g の Thyroxine が存在したが、PTU の投与で対照区の約 10% に、Goitrin の投与で約 60% に低下した。従って、Goitrin および PTU はいずれも血中甲状腺ホルモンレベルを低下させることを確めた。

甲状腺内ヨウドアミノ酸分布を Paper chromatography により検索した結果、Goitrin および PTU の投与により MIT/DIT 比が上昇していることが解り、甲状腺内ホルモン合成が抑制されていることが示唆された (表 3)。PTU の投与では I<sup>-</sup> の割合が増加しており、PTU は I<sup>-</sup> の酸化過程を阻害するものと解せられるが、Goitrin の投与では I<sup>-</sup> の増加は認められなかった。甲状腺内の活性型ホルモンである Iodothyronines (T<sub>4</sub>+T<sub>3</sub>) の割合は、Goitrin および PTU の投与により対照区の約 1/2 に低下しており、Iodothyronines 合成能が低下していることを示した。

甲状腺内の Iodothyronines 量は対照区ヒナでは約 1  $\mu$ g 存在したが、PTU の投与で甲状腺内ホルモン量は対照区の約 1% に減少した。Goitrin 投与では対照区の約 70~80% に減少し、PTU の作用に比べると Goitrin の作用は著るしく弱かった。従って、Goitrin 投与ヒナでは、甲状腺内ホルモン量の低下に比べると、血中ホルモン量の低下が大きいことが明らかにされた。この事実により、Goitrin が甲状腺からのホルモン分泌機能に何らかの作用をおよぼしている事が示唆された。

その他、Goitrin の抗甲状腺作用はその投与期間およびヒナの日令により変化し、作用発現の速さも PTU とは異なる事を確めた。また、Goitrin の投与 (21 日間) を中止後も甲状腺の肥大は比較的長期間持続するが、血中甲状腺ホルモンレベルや甲状腺内ホルモン合成能等の甲状腺ホルモン代謝は、中止後 2 日以内という極めて短期間に正常に回復するのみではなく、Rebound 現象による甲状腺機能の一時的亢進が起ることが明らかにされた。

### 3. ヒナにおける Goitrin の抗甲状腺作用活性

ヒナにおける Goitrin の抗甲状腺作用活性を PTU を指標物質として、種々の Index について平行線検定法により測定算出した (表 4)。Goitrin の抗甲状腺作用活性は、甲状腺肥大作用

については PTU の約  $1/3$ ，血中甲状腺ホルモンレベル低下作用では PTU の  $1/10 \sim 1/15$ ，そして甲状腺内ホルモン合成抑制作用に関しては PTU の  $1/20 \sim 1/25$  であった。従って，Goitrin の抗甲状腺作用活性は PTU に比べると低い。また，その甲状腺ホルモン代謝に対する作用は，甲状腺肥大作用に比べると弱いものと判断された。

#### 4. 甲状腺内における Goitrin の作用機構

甲状腺内におけるホルモン合成に対する作用機構を直接的に解明するために，*in vitro* における甲状腺培養試験を行なった。ヒナより採取した甲状腺を KRP Buffer (pH 7.4) で培養した。Buffer への Goitrin の添加 ( $10^{-7} \sim 10^{-4}$  M) で甲状腺内 MIT/DIT 比の上昇，Iodothyronines の割合の減少等が認められ，前項での結果を *in vitro* 条件下で再確認し得た。Goitrin は甲状腺内において MIT のヨウ素化による DIT 合成および MIT，DIT の縮合による Iodothyronines の合成段階を抑制するものと考えられた。

次いで，甲状腺内における  $I^-$  の酸化過程に対する Goitrin の作用を， $KClO_4$  による  $I^-$  放出試験により検討した。PTU の投与により  $I^-$  放出率は増加し，Goitrin 投与ヒナでは  $I^-$  放出率は対照区よりも低下した。従って，PTU は  $I^-$  の酸化過程を強く阻害するが，Goitrin は  $I^-$  の酸化過程を全く抑制せず，むしろ促進する傾向にある事が明らかにされた。

$^{131}I$ -MIT を加えた KRP Buffer 中で甲状腺を培養し，Iodotyrosine (MIT) 脱ヨウ素活性に対する Goitrin の作用を検討した (表 5)。無処理甲状腺では添加 MIT の 28% が脱ヨウ素された。Buffer に 1.0 mM の Goitrin を添加すると脱ヨウ素化は減少し，また屠殺 2 時間前に Goitrin を投与したヒナにおいても MIT 脱ヨウ素化率の低下が認められた。従って，Goitrin は甲状腺内の Iodotyrosines 脱ヨウ素化を抑制し，甲状腺内  $I^-$  の Recycling を低下せしめる作用を有するものと考えられる。

前項での試験より，Goitrin が甲状腺からのホルモン分泌 (Thyroglobulin の水解および Iodothyronines の放出) に何らかの作用をおよぼすとの推論を得た。Thyroglobulin の水解活性 (表 6) は対照区ヒナでは 50% であったが，PTU 投与ヒナでは著るしく増進した。しかし，Goitrin 投与ヒナでは水解活性の増進は認められなかった。PTU は甲状腺ホルモンの分泌を亢進する TSH の作用を介して，Thyroglobulin 水解能を亢進せしめると推察される。一方，Goitrin 投与ヒナでも TSH の分泌は亢進していたが，水解能の増進は認められなかったので，Goitrin は TSH の Thyroglobulin 水解能促進作用を阻害するものと考えられる。また，*in vitro* における甲状腺からの Iodothyronines の放出は TSH の添加で著るしく亢進したが

(図1), TSH と同時に 0.05 mM の Goitrin を添加すると Iodothyronines 放出が低下し, 1 mM Goitrin の添加によって, TSH の作用は約  $1/2$  に減退した。従って, Goitrin は Thyroglobulin の水解活性を抑制するのみではなく, TSH の甲状腺ホルモン放出促進作用を阻害して, 甲状腺から血中へのホルモンの分泌を抑制する作用を有することを確めた。

## 5. 甲状腺外における Goitrin の作用機構

抗甲状腺物質は甲状腺内において作用するのみでなく, 甲状腺外においても甲状腺ホルモン代謝に影響することが知られている。

非吸収 Index として  $^{144}\text{Ce}$  を用いて, ヒナ消化管におけるヨウ素の吸収を検討した結果, 小腸の回腸部におけるヨウ素の吸収が活発であることを見出した。in vitro における腸管のヨウ素吸収および Loop technique のヨウ素吸収試験において, Goitrin はヒナ腸管回腸部からのヨウ素吸収を抑制した。

次いで, 末梢組織における Thyroxine の代謝に対する Goitrin の作用を, Radiothyroidectomy により甲状腺を破壊したヒナを用いて検討した (表7)。 $^{131}\text{I}$ -Thyroxine 投与後 24 時間のヒナ排泄物中の  $^{131}\text{I}$ -Iodide の割合は Goitrin および PTU の投与で低下し,  $^{131}\text{I}$ -Thyroxine の割合は増加した。また, Goitrin および PTU の投与により, 血中における  $^{131}\text{I}$ -Thyroxine の Turnover rate が低下し (表8), さらに, 肝臓, 筋肉における  $^{131}\text{I}$ -Thyroxine の脱ヨウ素化が減退した。従って Goitrin および PTU は肝臓や, 筋肉等の末梢組織において, Thyroxine の脱ヨウ素化を阻害して, Thyroxine の代謝を抑制するものと考えられる。

以上の実験結果に基づいて, Goitrin の作用機構を次の如く要約した (図2)。Goitrin は甲状腺内においては DIT 合成, Iodothyronines ( $\text{T}_3$  +  $\text{T}_4$ ) 合成を強く抑制するが,  $\text{I}^-$  の酸化過程を阻害せず, むしろ促進する。さらに, Goitrin は Iodotyrosines (MIT, DIT) の脱ヨウ素活性を阻害し, Thyroglobulin の加水分解および甲状腺からのホルモンの放出を抑制する。甲状腺外においては腸管におけるヨウ素吸収を抑制し, 肝臓, 筋肉等の末梢組織において, Thyroxine の脱ヨウ素化を阻害して, Thyroxine の代謝を抑制する。

現在までの抗甲状腺物質の研究では, 甲状腺内 Iodotyrosines の脱ヨウ素活性および甲状腺からのホルモンの分泌を抑制する作用は全く報告されていない。従って, ヒナの甲状腺ホルモン代謝に対する Goitrin の作用機構は, 他の抗甲状腺物質と異って特異的なものである。

表 1. 甲状腺重量, 甲状腺  $^{131}\text{I}$  とりこみ, および  
 甲状腺ヨウ素量に対する GOITRIN の作用

Treatment	Thyroid weight (mg/100g bw)	Thyroid $^{131}\text{I}$ uptake (% dose)	Thyroid iodine ( $\mu\text{g}$ )
Control	5.1	10.1	4.73
Goitrin 0.0125%	12.1	15.9	7.41
Goitrin 0.025%	17.0	18.4	8.86
Goitrin 0.05%	29.8	21.6	9.84
PTU 0.0125%	50.4	0.4	0.16

表 2. 血中甲状腺ホルモンレベルに対する  
 GOITRIN の作用

Treatment	Plasma % $\text{PB}^{131}\text{I}$	Plasma PBI ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )	Plasma thyroxine ( $\mu\text{g}/\text{dl}$ )
Control	70.0	0.72	1.49
Goitrin 0.0125%	50.0	0.38	-
Goitrin 0.025%	44.9	0.31	-
Goitrin 0.05%	41.2	0.30	0.88
PTU 0.0125%	4.6	0.05	0.20

表3. 甲状腺内ヨウダミノ酸分布に対する  
GOITRINの作用

Treatment	% of thyroid I		MIT/DIT ratio
	I <sup>-</sup>	Iodothyronines (T <sub>3</sub> +T <sub>4</sub> )	
Control	4.2	14.4	0.77
Goitrin 0.0125%	3.9	7.4	1.49
Goitrin 0.025%	4.9	5.8	1.66
Goitrin 0.05%	5.6	4.7	1.89
PTU 0.0125%	27.6	3.0	4.52

Abbreviations: DIT, diiodotyrosine; MIT, monoiodotyrosine; I<sup>-</sup>, iodide; T<sub>3</sub>, triiodothyronine; and T<sub>4</sub>, thyroxine

表4. ヒナにおけるGOITRINの抗甲状腺作用活性

Index	Relative <sup>a</sup> activity	95% Confidence limits
Thyroid weight	0.31	0.22-0.42
Plasma PBI	0.11	0.08-0.15
Plasma % PB <sup>131</sup> I	0.06	0.04-0.09
MIT/DIT ratio	0.05	0.03-0.06
Iodothyronines (μg)	0.04	

<sup>a</sup> Relative activities to PTU (1.00)

表5. Iodotyrosine脱ヨウ素活性に対する  
GOITRINの作用

Pretreatment	Addition	% of deiodinated <sup>131</sup> I-MIT
-	-	27.7
-	Goitrin 10mM	22.3
Goitrin <sup>a</sup> injection	-	22.9

<sup>a</sup> Goitrin (15 mg) was injected subcutaneously 2 hours before decapitation

表6. Thyroglobulin自己水解能に対する  
GOITRINの作用

Treatment	Autoproteolytic activity <sup>a</sup>	
	12 hr (incubation time)	24 hr
Control	47.6	53.8
Goitrin 0.05%	48.5	58.0
PTU 0.01%	78.4	77.8

<sup>a</sup> % of autohydrolyzed <sup>131</sup>I-thyroglobulin

表7. 排泄物中におけるThyroxineとIodideの  
割合に対するGOITRINの作用

Treatment	% of total <sup>131</sup> I in excreta	
	Iodide	Thyroxine
Control	70.1	25.2
Goitrin 0.05%	63.0	31.4
PTU 0.01%	59.9	33.9



表 8.  $^{131}\text{I}$ -Thyroxine の Turnover rate に  
 対する GOITRIN の作用

Treatment	Half-time (hr)	Turnover rate (%/hr)
Control	4.9	14.3
Goitrin 0.05%	5.3	13.2
PTU 0.01%	5.8	11.9

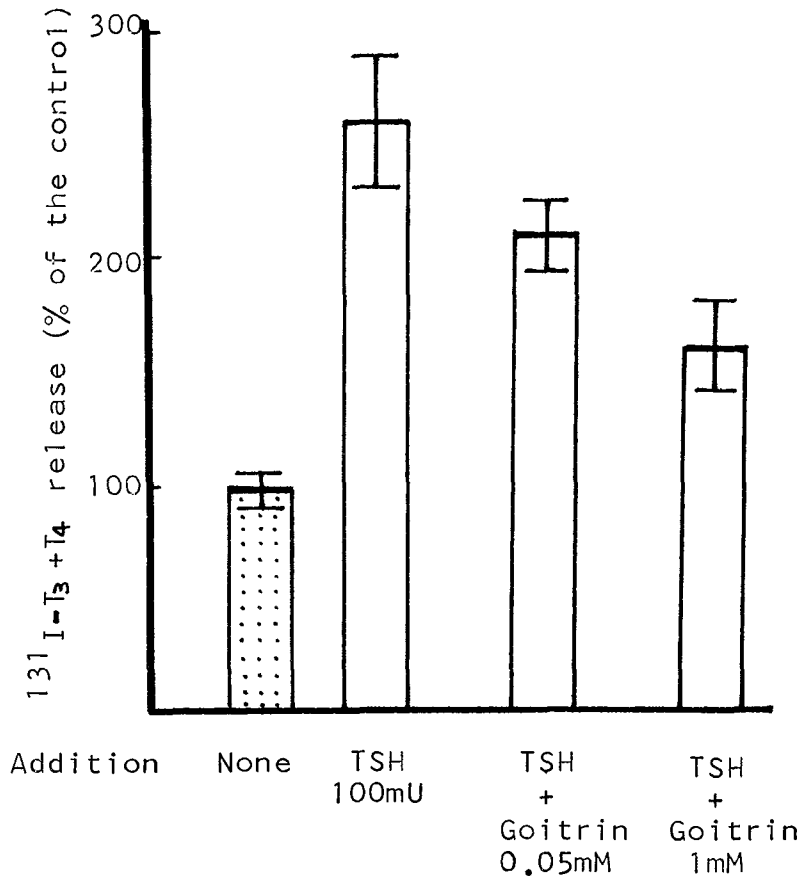


図 1. Iodothyronine の放出に対する GOITRIN の  
 作用

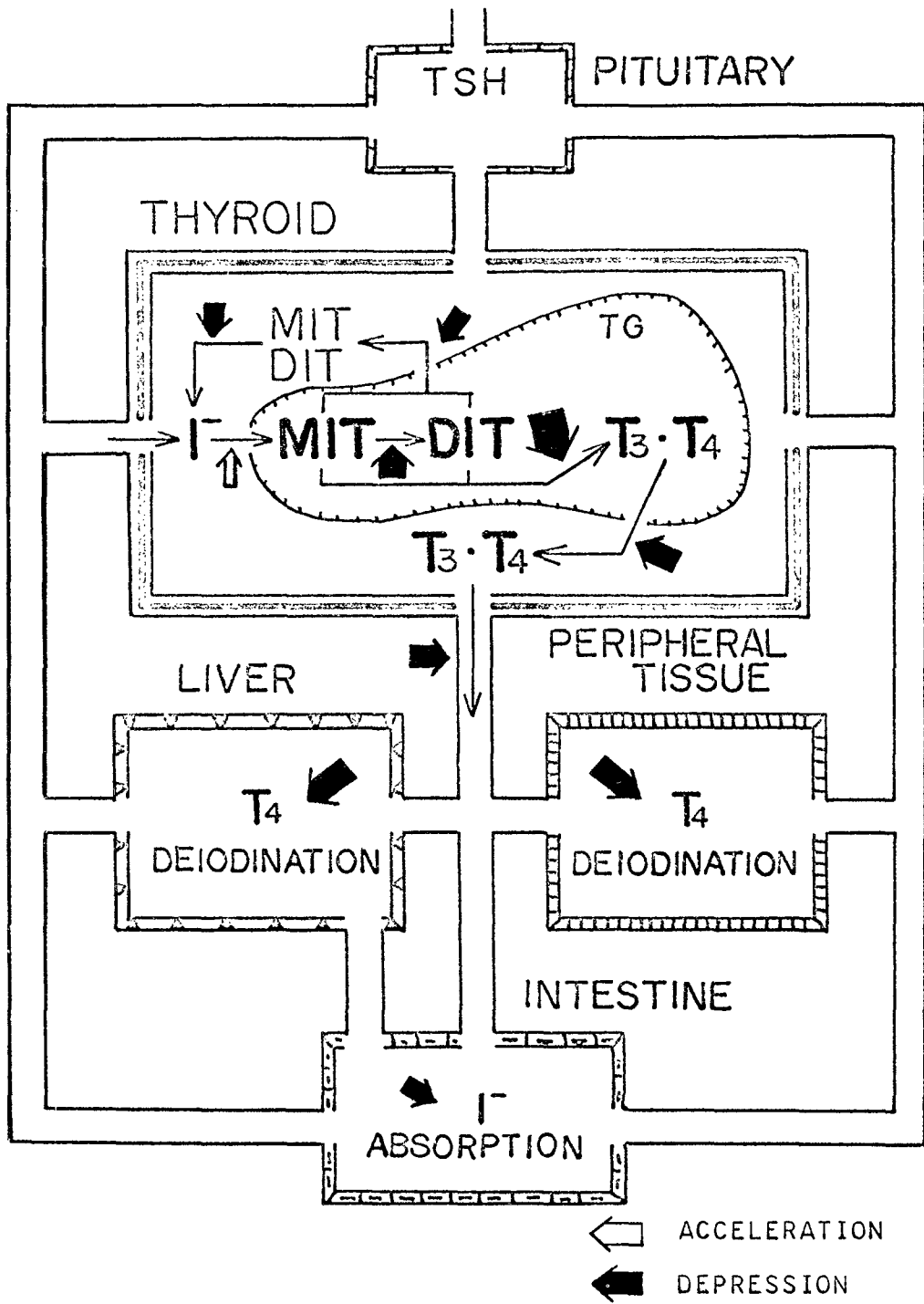


図2. ヒナの甲状腺ホルモン代謝に対するGOITRINの作用機構

## 審 査 結 果 の 要 旨

菜種に含まれている抗甲状腺物質(-)-5-Vinyl-2-oxazolidinethione (Goitrin)の家畜・家禽に対する生理作用並びにその作用機構に関しては、これまでにほとんど検討されていない。本研究は菜種より純粋に抽出単離した Goitrin を用いて、ヒナの増体量および飼料の利用性に対する影響、ヒナの甲状腺機能に対する作用等を種々の条件下で検討し、更に、その抗甲状腺作用活性の強さを合成抗甲状腺剤と比較すると共に、甲状腺内および甲状腺外における Goitrin の作用機構を *in vivo* 並びに *in vitro* の両面より追究したものである。

菜種粕をヒナに多給すると成長が抑制され、生産性が低下することが知られているが、その要因の一つとして、抗甲状腺物質の存在を指摘する報告が多い。著者は種々のレベルで Goitrin を飼料に添加してヒナを飼養した結果、菜種粕給与による生産性の低下は Goitrin 以外の他の要因によるものであることを明らかにした。Goitrin を投与したヒナでは、甲状腺重量が著るしく増加し、甲状腺  $^{131}\text{I}$  取込みの増加、甲状腺  $^{131}\text{I}$  放出率の低下および  $^{131}\text{I}$  の体外への排泄の減少などが認められ、合成抗甲状腺剤 Propylthiouracil (PTU), Methimazole, Methiocil などを投与した場合はヨウ素代謝の様相が著しく異なっていた。Goitrin の投与により、甲状腺内ではヨウ素量の増加、MIT の増加、 $\text{MIT}/\text{DIT}$  比の上昇、Iodothyronine 量の減少が認められたが、Goitrin の投与を中止すると、甲状腺内ホルモン合成能および血中ホルモンレベルは、投与中止後2日以内という極めて短期間に正常状態に回復するのみでなく、一時的に機能が著しく亢進する Rebound 現象が認められた。薬物の効力検定に用いられる平行線検定法を適用して、ヒナにおける Goitrin の抗甲状腺活性を判定した結果、甲状腺肥大作用は PTU の約  $\frac{1}{3}$ 、血中ホルモンレベルの低下作用は PTU の約  $\frac{1}{20} \sim \frac{1}{15}$ 、甲状腺内ホルモン合成抑制作用は PTU の約  $\frac{1}{20} \sim \frac{1}{25}$  であった。従って、Goitrin の抗甲状腺作用活性は PTU に比べるとかなり低い。また、その甲状腺ホルモン代謝に対する作用は甲状腺肥大作用に比べると弱いものと判断された。

ヒナの甲状腺を *in vitro* で培養し、培養液に Goitrin を添加してその作用機構を追究した結果、Goitrin は TSH の甲状腺内 Thyroglobulin 水解活性および Iodothyronine の放出促進作用を抑制するのみでなく、甲状腺に作用して甲状腺ホルモン分泌を抑制することを確認した。甲状腺外の生理作用としては、Goitrin は PTU と同様に肝臓、筋肉等の末梢組織における Thyroxine 代謝を抑制することを確認したが、また、Goitrin の特異作用として、腸管におけるヨウ素の吸収を抑制する作用を有することを認めた。

以上のように、本論文は Goitrin のヒナに対する生理作用を詳細に検討し、合成抗甲状腺剤とは異なるその特異な作用機構を初めて明らかにしたものであり、家畜栄養学の進歩に貢献するところが大きい。よって審査員一同は、著者に農学博士の学位を授与するに値するものであると認めた。