

氏 名 (本籍)	はやし 林	くに 國	おき 興
学位の種類	農	学	博 士
学位記番号	農	第	153 号
学位授与年月日	昭和52年	3月	10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 蛋白質代謝に対する甲状腺ホルモンの作用機作に関する研究

論文審査委員 (主査)

教授 松本達郎 教授 水間 豊

教授 木村修一

助教授 堀口雅昭

論文内容要旨

甲状腺ホルモンの最も重要な生理作用は成長促進と基礎エネルギー代謝の維持および亢進である。成長現象は必然的に蛋白質の合成を伴い、基礎エネルギー代謝量もそれを律速する酵素活性、すなわち、酵素蛋白質量により左右されるので、甲状腺ホルモンが蛋白質代謝と密接な関係をもつことは明らかである。

甲状腺ホルモンの作用はその投与量によって異なることはよく知られているが、甲状腺ホルモンの生理作用に関する既往の知見は、作用発現に影響を及ぼすものとして、投与量以外にも幾つかの要因が存在することを示唆している。すなわち、甲状腺ホルモンと蛋白質代謝の関係は密接であり、蛋白質代謝は蛋白質摂取量と関係するので、蛋白質の摂取量は甲状腺ホルモンの作用発現に対して影響を及ぼすものと推察される。また、甲状腺ホルモンと成長の関係は密接であり、成長段階によって蛋白質代謝の様相は異なるので、成長段階も甲状腺ホルモンの作用発現に影響する一要因になりうるものと推察される。

本研究はこれら二つの要因と甲状腺ホルモンの生理作用との関係を明らかにして動物栄養学の基礎的知見をうることを目的とし、日令および摂取蛋白質レベルの異なるマウスにサイロキシン (thyroxine) あるいは抗甲状腺物質チオウラシル (thiouracil) を投与して血中甲状腺ホルモンレベルを変化させた場合の成長、肝臓核酸量、 ^{14}C -ロイシンの代謝、肝臓蛋白質の代謝回転などに対する影響を追究したものである。

1. 実験条件の設定

マウスの成長の様相を明らかにするために、離乳後より体重がプラトーに達するまでの5段階の時期について、増体量、窒素蓄積量、体成分等を調べ成長の状態を判定し (Fig. 1, 2, 3), この結果に基づいて供試マウスの日令を決定した。

血中甲状腺ホルモンレベルを上げるためにはL-サイロキシンナトリウム, $10 \mu\text{g}/100 \text{g B.W./day}$ を腹腔内に注射し、下げるためには2-チオウラシルを飼料に0.05%混合して給与し、それぞれ hyperthyroidism および hypothyroidism の状態を作り、投与量の妥当性を酸素消費量を測定することによって確認した。このとき、飼料摂取量に対するサイロキシンおよびチオウラシル投与の影響は認められなかったが、酸素消費量はサイロキシン投与によって21%増加し、チオウラシル投与によって24%減少した (Table 1)。

2. 成長段階および摂取蛋白質レベルの異なるマウスの成長に対する甲状腺ホルモンの影響

成長段階あるいは摂取蛋白質レベルの異なるマウスにL-サイロキシンナトリウムあるいは2-チオウラシルを投与して成長（体蛋白質蓄積あるいは増体量を指標とした）に対する影響を調べた結果、次のような知見が得られた。

[a] 成長初期（23～30日令）および成長中期（33～40日令）にはサイロキシン投与によって、また、成長後期（60～67日令）にはチオウラシル投与によってそれぞれ体蛋白質蓄積が促進された。一方、成長初期および成長中期にはチオウラシル投与によって、また、成長後期にはサイロキシン投与によってそれぞれ体蛋白質蓄積が阻害された（Table 2）。

[b] しかし、サイロキシンあるいはチオウラシル投与による成長促進効果は摂取蛋白質量が十分な場合についてのみ認められ、摂取蛋白質量が不十分な場合にはhyperthyroidismの状態でも、hypothyroidismの状態においても成長は阻害された（Fig. 4）。

3. 血中甲状腺ホルモン量

血中甲状腺ホルモン量はサイロキシン区で最高、チオウラシル区で最低の値を示し、摂取蛋白質レベルが低いほど高く、成長初期においては成長後期より高い値を示した（Fig. 5）

これは実験条件としてhyperthyroidismおよびhypothyroidismの状態になっていることを再確認すると同時に甲状腺ホルモンの代謝が蛋白質代謝と密接に関連していることを示すものである。

4. 肝臓核酸量

肝臓DNAおよびRNA量は成長段階にかかわらず、蛋白質摂取量が十分な場合にはサイロキシン、チオウラシルのいずれを投与したときにも増加し、肝臓における蛋白質合成が促進され、細胞数が増加していることが示された（Table 3）。

5. ^{14}C -ロイシンの代謝

L-[U- ^{14}C]ロイシンを投与したときの $^{14}\text{CO}_2$ の排出量はサイロキシンあるいはチオウラシル投与によって成長が促進される条件では低下し、成長が阻害される条件では増加した（Fig. 6）。

これはサイロキシンあるいはチオウラシルの成長に対する効果が蛋白質代謝の変化に基づくものであることを強く支持している。

6. 肝臓蛋白質の合成および分解

肝臓核酸量および ^{14}C -ロイシンの代謝を調べた結果より、甲状腺ホルモンが蛋白質代謝と密接な関係を有することが明らかにされたので、蛋白質代謝に対する甲状腺ホルモンの作用機構を再利用されにくい標識アミノ酸、 $\text{L-}[6-^{14}\text{C}]$ アルギニンを用いて動力学的に解析した。

その結果、成長初期にはサイロキシン投与によって肝臓蛋白質の合成速度が増加し、チオウラシル投与によって分解速度が増加すること、および成長後期にはサイロキシン投与によって合成速度と分解速度がいずれも減少し、チオウラシル投与によって合成速度と分解速度がともに著しく増加することを確かめた (Table 4)。

摂取蛋白質レベルと肝臓蛋白質の合成速度および分解速度の関係について本研究では直接検討しなかったが、蛋白質が不足すると合成速度は著しく減少し、蛋白質が充足されるにつれて合成速度が著しく増加し、分解速度はあまり変化せず、蛋白質の蓄積量は摂取蛋白質レベルが高いほど多く、低いほど少なくなることが明らかにされている。したがって、分解速度の早い状態の動物では摂取蛋白質レベルの低下に伴って蛋白質の蓄積量がさらに一層少なくなり、分解速度の遅い状態の動物では摂取蛋白質不足の影響は少なくなるものと考えられる。実際、hypothyroidismの状態のマウスでは摂取蛋白質レベルが低い場合に著しい成長阻害が認められ、摂取蛋白質レベルが低い場合の成長後期のマウスでは hyperthyroidism の状態にすると成長阻害の程度が軽くなった (Fig. 4)。

このことから、サイロキシンあるいはチオウラシル投与による成長促進効果および阻害効果は蛋白質の合成速度および分解速度の変化に基づくものであると考えられる。

7. アミノ酸の再利用率

肝臓蛋白質を $\text{L-}[6-^{14}\text{C}]$ アルギニンと $\text{L-}[3-^3\text{H}]$ アルギニンで同時に標識し、 ^{14}C と ^3H の消失速度の違いからアルギニンの再利用率を求めた。

アルギニンの再利用率はサイロキシンを投与した場合には成長段階にかかわらず低下し、チオウラシルを投与した場合には成長初期には低下し、成長後期には増加した (Table 5)。

このことによって、成長初期にサイロキシンを投与したとき蛋白質の分解速度はほとんど変わらないにもかかわらず摂取蛋白質レベルの低い条件では成長が阻害されたこと、および摂取蛋白質レベルの低い条件でのチオウラシルの体蛋白質蓄積阻害効果が成長後期には軽微であったことがよく説明される。

以上、本研究では成長段階あるいは摂取蛋白質レベルによって成長に対する甲状腺ホルモンの作用

が異なることを明らかにし、さらにこの現象を蛋白質代謝の面より追求して、これが主に蛋白質の合成速度および分解速度に対する作用に成長段階あるいは摂取蛋白質レベルによる差違があることに基づくものであることを明らかにした。また、肝臓核酸量、アミノ酸の蓄積、分解および再利用等に対する作用についてもいくつかの興味ある知見が得られ、甲状腺ホルモンが蛋白質代謝の色々な過程に関与していることが明らかにされた。

これらの結果は、摂取蛋白質量が十分な条件では、成長初期および中期の動物は hyperthyroidism の状態にすれば体蛋白質蓄積が促進され、逆に、成長後期の動物では hypothyroidism の状態にした方が体蛋白質蓄積が促進されることを示している。しかし、摂取蛋白質が不足する場合には、たとえ成長後期の動物であっても、hyperthyroidism の状態の方が hypothyroidism の状態よりも体蛋白質蓄積の阻害の程度が軽いことを示している。

Table 1 Effect of thyroxine and thiouracil on
O₂ consumption of mice.

Group	Body weight	O ₂ consumption (ml/hr/100g BW, at 0° C, 760mm Hg)
Control	23.4 ± 2.3 ¹⁾	352 ± 60 ^a (100) ²⁾
Thyroxine	21.2 ± 4.5	425 ± 175 ^{ab} (121)
Thiouracil	21.0 ± 2.4	269 ± 94 ^b (76)

- 1) mean ± SD. Means with different superscripts are significantly different from each other (P < 0.05).
- 2) Percentages of control group are shown in parenthesis.

Table 2 Effect of thyroxine and thiouracil on protein retention
at different growth stages.

Group	Protein retention (mg / 7 days)			Protein efficiency ¹⁾ (%)		
	23~30 days	33~40 days	60~67 days	23~30 days	33~40 days	60~67 days
Control	986	924	260	20.6(100) ²⁾	16.7(100)	4.4(100)
Thyroxine	1118	980	198	23.9(116)	17.9(107)	3.3(75)
Thiouracil	923	787	289	21.0(102)	13.6(81)	5.4(123)

- 1) Protein efficiency = (Protein retention / Protein intake) × 100
- 2) Percentages of protein retention to each C group are shown in parenthesis.

Table 3 Concerted effects of thyroid hormone and dietary protein on liver DNA and RNA content of mice at different growth stages.

Group	DNA (mg / liver)			RNA (mg / liver)		
	5P	15P	35P	5P	15P	35P
(25~33 days old)						
Control	3.2±0.4 ¹⁾	2.8±0.2 ^a	3.0±0.2 ^a	6.3±0.8	8.0±0.9	9.3±1.4 ^a
Thyroxine	2.8±0.3	3.9±0.3 ^b	4.7±0.5 ^b	6.5±0.9	9.5±1.7	12.6±1.0 ^b
Thiouracil	2.7	3.0±0.5 ^a	4.0±0.5 ^b	6.5	8.8±1.9	10.8±0.9 ^a
(60~68 days old)						
Control	4.6±0.1	4.4±0.4 ^a	4.4±0.2 ^a	7.3±1.2 ^a	7.5±0.5 ^a	9.3±0.6 ^a
Thyroxine	4.9±0.3	5.0±0.3 ^b	5.5±0.5 ^b	9.6±0.8 ^b	12.8±0.6 ^b	14.1±2.4 ^b
Thiouracil	4.6±0.4	4.5±0.3 ^a	5.0±0.6 ^{ab}	7.4±0.9 ^a	8.8±0.7 ^c	13.2±0.7 ^b

1) mean±SD. Means with different superscripts are significantly different from each other (P<0.05).

Table 4 Effect of thyroxine and thiouracil on half value periods($T_{1/2}$) for synthesis and catabolism of mice liver protein at different growth stages.

Group	$T_{1/2}$ for synthesis (days)		$T_{1/2}$ for catabolism (days)	
	25~33	60~68	25~33	60~68
	days old	days old	days old	days old
Control	4.0	4.2	5.8	4.5
Thyroxine	3.4	5.8	5.4	5.1
Thiouracil	3.6	2.8	4.5	2.7

Table 5 Effect of thyroxine and thiouracil on reutilization rate of arginine in the liver of mice at different growth stages.

Group	25~33 days old	60~68 days old
	(%)	(%)
Control	27	13
Thyroxine	12	-5
Thiouracil	19	41

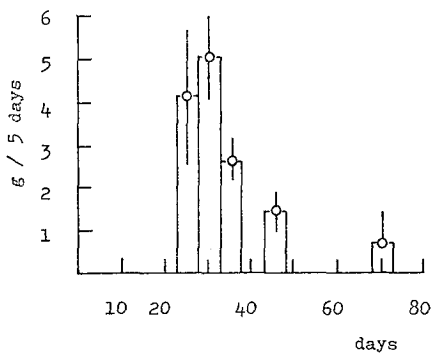


Fig. 1 Body weight gain of mice at different growth stages. Vertical bars represent standard deviation of the means.

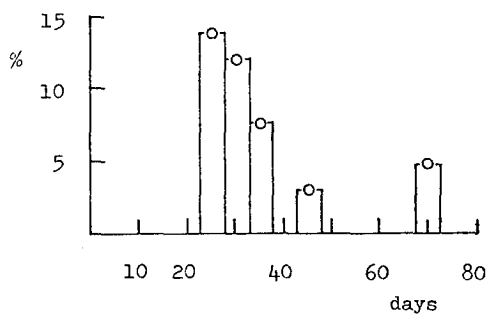


Fig. 2 Nitrogen retention of mice at different growth stages. Values represent the percentage of nitrogen consumed.

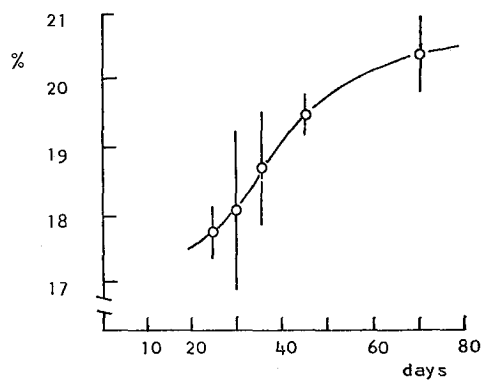


Fig. 3 Body protein concentrations of mice at different growth stages. Values represent the percentage of body weight. Vertical bars represent standard deviation of the means.

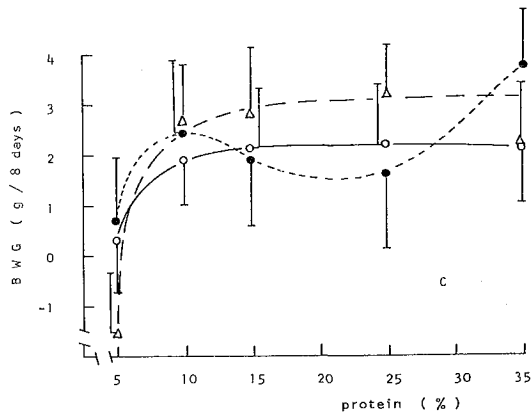
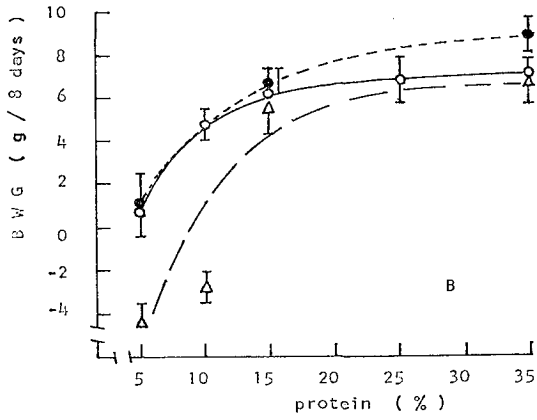
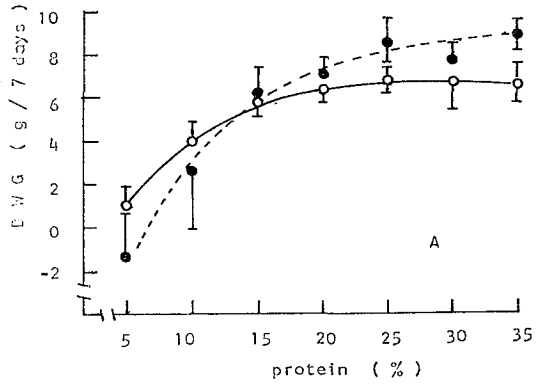


Fig. 4 Effect of thyroxine and thiouracil on body weight gain of 25~33 (A and B) and 60~68 (C) days old mice fed diets containing different level of protein.

○——○ : Control group
 ●- - - -● : Thyroxine group
 △- - -△ : Thiouracil group

Vertical bars represent standard deviation of the means.

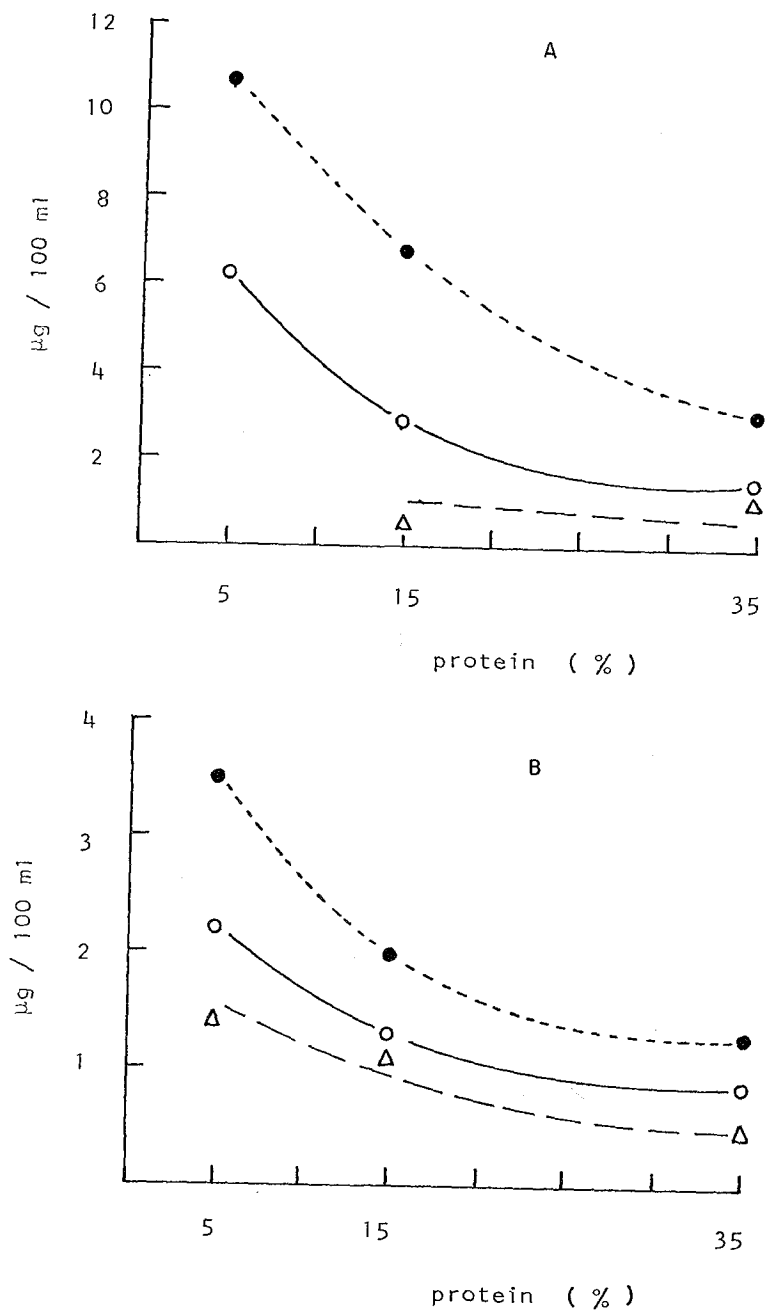


Fig. 5 Effect of dietary protein on plasma thyroid hormone concentration in 25~33 (A) and 60~68 (B) days old mice.

- : Control group
- : Thyroxine group
- △---△ : Thiouracil group

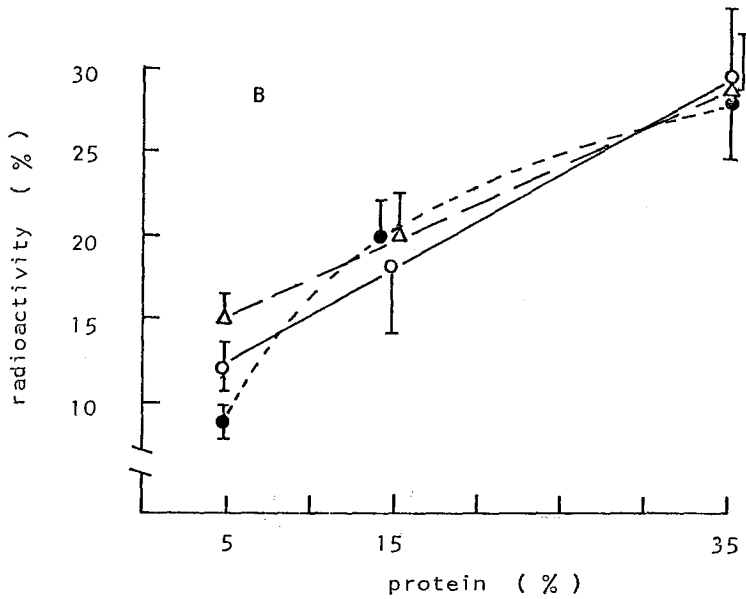
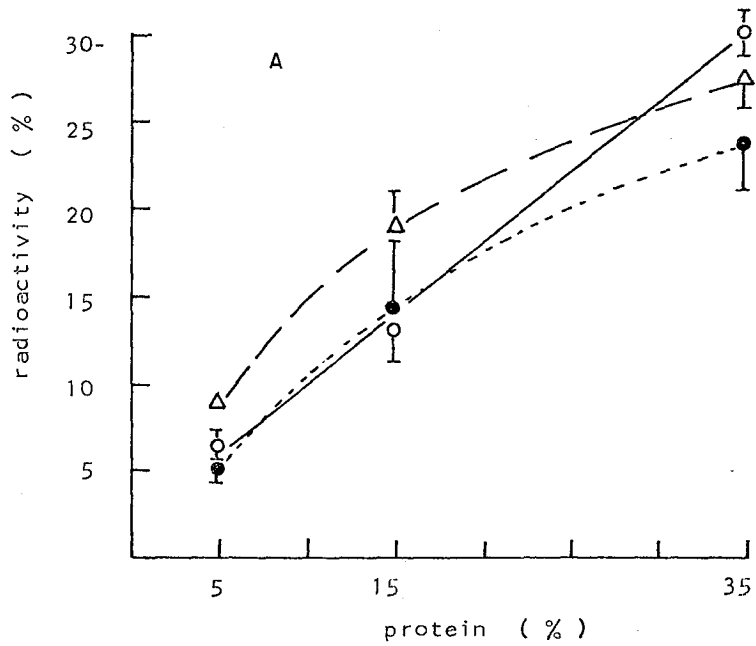


Fig. 6 Concerted effects of thyroid hormone and dietary protein on recovered radioactivity in expired air of 25~33 (A) and 60~68 (B) days old mice at 2 hours after injection of L-leucine-U- 14 C.

- : Control group
- : Thyroxine group
- △- - -△ : Thiouracil group

審査結果の要旨

正常な動物に対する甲状腺ホルモンの投与は、成長を促進する場合と逆に阻害する場合とがある。甲状腺ホルモンの最も基本的な作用は、物質代謝を促進させる作用とされているが、成長現象には必然的に体蛋白質の増加を伴うので、甲状腺ホルモンが蛋白質代謝と密接な関係をもっていることは明らかである。本研究は、動物の成長速度に大きく関与している動物の成長段階と蛋白質摂取量の二つの要因をとりあげ、この両者と甲状腺ホルモンの生理作用との関係を追究して、蛋白質代謝に対する甲状腺ホルモンの作用機作を考察したものである。

マウスの成長期を、初期（23～30日令）、中期（33～40日令）、後期（60～67日令）の3期に分け、試験飼料の蛋白質含量は5、10、15、25および35%の5段階を設けた。血中の甲状腺ホルモンレベルを上げるためには、L-サイロキシンナトリウムを腹腔内に注射し、下げるためには、2-チオウラシルを飼料に混じて給与し、サイロキシンおよびチオウラシルの投与によって生じた hyperthyroidism および hypothyroidism の状態は、酸素の消費量および血中の甲状腺ホルモン量の測定によって確認した。hyperthyroidism の状態は、成長初期および中期では体蛋白質の蓄積を促進したが、成長後期では阻害した。逆に、hypothyroidism の状態は、成長初期および中期では体蛋白質の蓄積を阻害し、成長後期では促進した。サイロキシンまたはチオウラシルの投与による成長促進効果は、蛋白質摂取量が充分な場合についてのみ認められ、飼料蛋白質含量が低い場合におこる成長阻害は、成長後期ではサイロキシン投与によって軽減されたが、チオウラシルの投与によって加重された。蛋白質摂取量が充分な場合には、肝臓の核酸量がマウスの成長段階にかかわらず増加し、また、サイロキシン、チオウラシルのいずれを投与した場合にも増加した。

L-[U- ^{14}C]ロイシンを投与した場合の $^{14}\text{CO}_2$ 排出量は、サイロキシンあるいはチオウラシルの投与によって、成長が促進される条件では低下し、成長が阻害される条件では増加した。再利用されにくい標識アミノ酸L-[6- ^{14}C]アルギニンを用いて、肝臓蛋白質の合成速度および分解速度に対するサイロキシンおよびチオウラシル投与の影響が、マウスの成長段階によって異なる様相を明らかにした。更に、肝臓蛋白質をL-[6- ^{14}C]アルギニンとL-[3- ^3H]アルギニンで同時に標識し、 ^{14}C と ^3H の消失速度の違いからアルギニンの再利用率を求め、サイロキシンあるいはチオウラシル投与の影響が成長段階によって異なることを確かめた。これら一連の知見に基づいて、成長段階と蛋白質摂取量の違いによって、成長に対する甲状腺ホルモン投与の影響が異なる機構を説明した。

本研究は甲状腺ホルモンの作用機作に関して幾多の新知見を加え、家畜栄養学の進展に寄与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充分な価値あるものと認めた。