

氏名(本籍) まつ松 おか岡 とみ富 か男

学位の種類 医 学 博 士

学位記番号 医 博 第 5 2 8 号

学位授与年月日 昭 和 4 3 年 3 月 2 6 日

学位授与の要件 学位規則第5条第1項該当

研究科専門課程 東北大学大学院医学研究科  
(博士課程)外科学専攻

学位論文題目 Effects of Triiodothyronine and  
Hydrocortisone on the allyliso  
Propylacetamide-Induced Increase  
of  $\delta$ -Amino levulinate Synthetase  
in liver Mitochondria.  
(ラット肝ミトコンドリアの $\delta$ -ALA合成  
酵素の誘導に及ぼすホルモンの効果)

(主 査)

論文審査委員 教授 葛 西 森 夫 教授 菊 地 吾 郎

教授 吉 沢 善 作

## 論 文 内 容 要 旨

動物にアリルイソプロピルアセトアמיד (A I A) その他のバルビツール剤を与えるとポルフィリン症が起るが、このような動物では肝のミトコンドリアに局在する $\delta$ -アミノレブリン酸 ( $\delta$ -A L A) 合成酵素が著しく増加している。実際に人間でも、ポルフィリン症患者の肝で、同酵素が数倍高まっていることが1965年明らかになされた。さらに動物におけるこの $\delta$ -A L A合成酵素の誘導過程には、マイトマイシンCに対して感受性の異なる2つの過程が存在することも示されている。

他方、現在まだその作用機転は未だ充分解明されていないが、多数のIn Vitro、及びIn Vivoの実験で、種々のホルモンが広く蛋白質合成を調節している事例が知られている。

本論文は $\delta$ -A L A合成酵素の誘導機構及びホルモンの蛋白質合成に対する一般的な作用機転をさらに解明する目的で、ホルモンが $\delta$ -A L A合成酵素の特異な誘導過程に対してどのような作用を示すかを検討した研究の報告である。

24時間絶食にしたラットにA I Aを体重100g当り15mg量投与し、各々の時点で肝ミトコンドリアを調整し、そのミトコンドリアの示す $\delta$ -A L A合成酵素の活性を測定すると、A I A投与後約1時間の後に所謂マイトマイシン非感受性の第1相の誘導が始まり、3時間目に極大レベルに達し、その後10時間はその酵素レベルを維持する。一方本酵素はトリヨードチロニン (T<sub>3</sub>) 又はヒドロコチゾン (H C) の単独投与では全く誘導されないが、A I Aと同時にT<sub>3</sub>をラットに体重100g当り50 $\mu$ g与えると、誘導開始までの時間が短縮され、又誘導の速度も約2倍に促進される。このT<sub>3</sub>で促進された酵素レベルの上昇は比較的早く停止し、その後は急激にレベルが低下し、T<sub>3</sub>及びA I A投与後9時間目にはA I A単独投与の場合のレベルに一致するようになる。誘導初期のこのT<sub>3</sub>による促進は、マイトマイシンCでは阻害されないが、アクチノマイシンDによつて完全に阻止される。なおT<sub>3</sub>を予めA I A投与の1時間前に投与しておく、促進効果はより早く認められたが、逆に効果の消失も早められた。しかしT<sub>3</sub>をA I A投与より1時間かそれ以上遅れて与えると、T<sub>3</sub>による促進効果は弱い、或は全く認められない。このT<sub>3</sub>で認められた現象はH Cを用いても、本質的には同様であることが確かめられた。なおIn Vitroで与えられたホルモンは本酵素の活性になんら影響を与えない。以上の諸事実は、これらホルモンによる本酵素の誘導促進にはA I Aとホルモンが時間的に近接して与えられる必要があり、かつ促進効果の持続は比較的短いことを示唆しており、本酵素の誘導促進は、ホルモンが主として本酵素のm-RNAの合成を促進したための結果であると推察される。

次に、最初のA I A単独投与の3時間後に2回目のA I Aを与えると酵素レベルはさらに劇増するが、最初からA I Aとホルモンを併用したラットでは、3時間後に2回目のA I Aを単独に或はホルモンと併用してもほとんど酵素レベルの変化に影響を与えない。即ち充分な誘導が起っている場合には、それに続いて比較的短時間の不応期が出現することが推察された。又A I A

単独或は A I A とホルモンを同時に投与したラットに R N A 合成阻害剤のアクチノマイシン D を 3 時間目に途中で与えても、6 時間目の酵素レベルにはほとんど影響を与えないが、蛋白合成阻害剤のサイクロヘキシミドを途中で与えると酵素レベルは急激に低下した。このことは誘導されて増えた本酵素は非常に早く turn over していること、及び本酵素の m-R N A の寿命は約 3 時間位であることを示すものである。

次にマイトマイシン感受性の第 2 相の誘導に対するホルモンの効果を検討した。第 1 回目の A I A 投与後 12 時間目に第 2 回目の A I A を単独で投与したのでは第 2 相の誘導はほとんど起らないが、2 回目の A I A 投与の時に T<sub>3</sub> を同時に与えると誘導は著明に促進され、酵素レベルは 6 時間目に極大に達する。しかもこの時の T<sub>3</sub> の促進効果は、更にマイトマイシンを投与することによつて強く抑制された。即ちこのホルモンによつて促進された誘導はマイトマイシン感受性の第 2 相であり、ホルモンが第 2 相出現を誘発したものと言ひ得る。以上に述べた如く A I A による  $\delta$ -A L A 合成酵素の誘導は、T<sub>3</sub> と H C のいずれによつても促進されたが、現象的には H C の方が T<sub>3</sub> よりも早く極大レベルに達する点以外は、本質的に同様である。そこで T<sub>3</sub> と H C の作用機転が互に独立のものであるか否かを検討するため、副腎摘出ラットについて更に実験を行つた。副腎摘出ラットでも、constitutire な本酵素の量は正常ラットとほとんど変わらないが、A I A 投与による酵素レベルの上昇は副腎摘出ラットでは 2 倍に過ぎず、これに T<sub>3</sub> 或は H C を与えた場合の促進効果は H C の方が強かつた。副腎摘出ラットに A I A と T<sub>3</sub> 及び H C の 3 者を同時に与えた場合は、A I A と各ホルモンをそれぞれ投与した時に比べて促進効果は大で、正常ラットに A I A と T<sub>3</sub> を併用した時と同程度の効果が見られ、両ホルモンが互に独立の機転で作用していることを思わせた。

以上の実験結果より、 $\delta$ -A L A 合成酵素の誘導が著明に促進されるためには、A I A とホルモンが時間的に近接して与えられる必要があり、また充分な誘導が起きている場合にはそれに続いて比較的短時間の不応期が出現することが明らかにされた。また本酵素の誘導過程にはマイトマイシン感受性の過程の存在することがさらに確実となり、ホルモンが D N A の合成あるいは turn over の調節にも関与し得ることが示唆された。

## 審 査 結 果 の 要 旨

動物にアリルインプロピルアセトアミド (AIA) を投与するとボルフィリン症が起り、肝のミトコンドリアに局在する  $\delta$ -アミノレブリン酸 ( $\delta$ -ALA) 合成酵素が著しく増加する。またこの  $\delta$ -ALA 合成酵素の誘導過程には、DNA 合成阻害剤のマイトマイシン C に対して感受性の相異なる 2 つの過程が存在することが判つている。本研究は、この特異な  $\delta$ -ALA 合成酵素の誘導機構に対してホルモンがどのような効果を与えるかを解明する目的で行つたものである。実験動物にはラットを用い、24 時間絶食後に AIA を 15mg/100g 体重を投与し、各々の時間に殺して、肝のミトコンドリアを分離し、その  $\delta$ -ALA 合成酵素の活性を定量している。

本酵素はトリヨードサイロモン ( $T_3$ ) 又はヒドロコチゾン (Hc) を単独投与しても誘導は起らず、又 *In vitro* で AIA 投与ラットの肝ミトコンドリアにホルモンを加えても促進は全く起らないが、ホルモンを AIA と一緒に *In vivo* で投与すると、AIA 単独投与に比べて誘導までの lag が短縮され、誘導の速度も 2 倍に促進されることを認めている。

マイトマイシン非感受性の第一相についてのホルモンと AIA の投与の時期をずらした一連の実験、及び核タンパク合成阻害剤 (mitomycin C, Actinomycin D, Cycloheximide) を用いた実験結果より、本酵素の誘導促進には AIA とホルモンが時間的に近接して与えられる必要があり、又十分な誘導が起きた場合にはそれに続いて比較的短時間の不応期が出現すること、更に、ホルモン存在下で促進された酵素は非常に早く turn over すること、を明らかにしている。

またホルモンによる誘導促進効果はホルモンが主として本酵素の messenger-RNA の合成を促進したためで、m-RNA の寿命は約 3 時間と推察している。

次に、ラット体重 100g 当り 15mg 量の AIA を投与したのではマイトマイシン感受性の第 2 相の誘導は起らないが、AIA 量がこの程度でも、それにさらにホルモンを併用すると第 2 相の出現が誘発された。このことからホルモンが DNA の合成或は turn over の調節にも関与すると推察している。

Hc と  $T_3$  は本酵素の誘導に対しては本質的に同じ促進効果を示したが、副腎摘出ラットを用いた同様の実験からは、両ホルモンが互に独立の機構で作用していることを推定している。

以上の本研究の結果、実験的ボルフィリン症における  $\delta$ -ALA 合成酵素の誘導機構の詳細が明らかになり、更に蛋白合成に対するホルモンの作用機構にも示唆を与えたもので、

よつて学位を授与するに値する。