

氏名(本籍)	き た おか ひろ ふみ 貴 田 岡 博 史
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	医 第 1 4 6 1 号
学位授与年月日	昭和 5 8 年 2 月 2 3 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 5 0 年 3 月 東北大学医学部医学科卒業
学位論文題目	犬腎尿細管における甲状腺ホルモンの代謝

(主 査)

論文審査委員 教授 吉 永 馨 教授 石 森 章

教授 折 笠 精 一

論文内容要旨

目 的

甲状腺ホルモンの腎における代謝は、腎からの尿中への排泄と、腎組織での deiodination (脱ヨード) による代謝が考えられる。

今回、犬の 3, 5, 3'-triiodothyronine (T_3) の腎クリアランス (CT_3) を測定し、更に stop-flow 法による実験を行ない、 T_3 の腎尿細管における分泌および再吸収の動態を検討し、また篩法により精製した腎組織を用いて、甲状腺ホルモンの deiodination による代謝について検討した。

実 験 方 法

1) 犬における CT_3 の測定

導尿しやすいように前処置を施した雌犬を、metabolic cage で飼育し、1日の尿量の測定、採血および採尿を定時に行なった。血清 T_3 、% free T_3 および尿中 T_3 濃度を測定し、次式により CT_3 を算出した。

$$CT_3(\text{ml}/\text{min}) = \frac{\text{Urinary } T_3 (\text{ng}/24 \text{ h})}{\text{Serum free } T_3 (\text{ng}/\text{ml}) \times 1,440}$$

また、同時に creatinine clearance (Ccr) も測定した。

2) Stop-flow 法による T_3 の腎尿細管における再吸収および分泌の検討

麻酔犬に15% mannitol, PSP および creatinine または inulin を点滴静注して浸透圧利尿をつけ、また T_3 は側管から one shot で静注した。左尿管にネラトンカテーテルを挿入し、control period の採尿した後、10分間カテーテルをクランプして尿の流れを止めた。カテーテル開放後、腎盂、集合管、遠位尿細管および近位尿細管の順に流出してくる尿を、約 1 ml ずつ連続 20 本の tube に採尿した。更に数分後、recovery period の採尿を行なった。

3) 単離犬腎尿細管における T_4 から T_3 および rT_3 への deiodination の検討

麻酔犬を脱血した後、直ちに開腹し、腎を取り出して水冷し、冷生理的食塩水で灌流して、血液を洗い流した。次いで腎皮質および髄質をハサミで細切してホモジネートし、800 xg で 20 分間遠心して、上清を腎皮質ホモジネートとした。また、残りの細切した腎皮質および髄質は、Waring Blender で 5 分間ホモジネートした後、5 種類のメッシュの金属篩を通した、腎皮質および髄質尿細管は 325 メッシュ、糸球体は 200 メッシュの金属篩から採取された。以上の操作はすべて、4℃で行なわれた。得られたそれぞれの腎組織(蛋白量各 60 μg)に、5 mM dithiothreitol

(DTT) および $2 \mu\text{g}$ の非放射性 T_4 を加え、 37°C で60分間 incubate した。incubation 終了後直ちに、99.5% の ethanol を加えて反応を停止し、 4°C で一晩放置することにより、反応液中の iodothyronine を抽出した。

4) 測定方法

血清および分割尿中の T_3 濃度、また抽出液中の T_3 および rT_3 濃度は radioimmunoassay で、血清の free T_3 は平衡透析法で測定した。尿 pH は pH メーターで、PSP, creatinine, inulin および腎組織中の蛋白量は、それぞれ比色法で測定した。統計学的分析は unpaired Student's t-test により行なった。

T_3 の stop-flow のパターンの評価は、近位尿細管で分泌される PSP と遠位尿細管で分泌される H^+ (pH) の変化を指標とし、分割尿中の T_3 濃度の変化と比較することにより行なった。

結 果

1) 4匹の雌犬で測定した C_{T_3} は $51.9 \pm 12.3 \text{ ml/min}$ (Mean \pm S.D.) で、同時に測定した Ccr の $23.8 \pm 4.7 \text{ ml/min}$ より有意 ($p < 0.001$) に高値で、 T_3 は糸球体から濾過される他に、腎尿細管から分泌されていることが推測された。

2) stop-flow 法は浸透圧利尿をつけて行なうため、尿中 T_3 は稀釈され、 T_3 を負荷しない場合には尿中 T_3 濃度は測定感度 (2 pg/tube) 以下となり、stop-flow のパターンは得られなかった。 T_3 を負荷した場には、尿中 T_3 濃度は control period に比べて、近位尿細管部位で低値をとり再吸収されていることが、遠位尿細管から集合管で高値をとり分泌されていることが推測された。

3) 篩法で単離した腎組織における甲状腺ホルモンの deiodination の検討では、 T_4 から T_3 への deiodination の活性は腎髄質尿細管で最も低く、糸球体、腎皮質ホモジネート および腎皮質尿細管の順に高く、 T_4 からの rT_3 の産生量も、腎皮質尿細管で多かった。 T_4 から T_3 および rT_3 への conversion は、酸素反応の性質を示し、incubation 時間や蛋白量に影響され、熱に不安定であり、至適 pH および至適温度の存在がみとめられた。また、 T_4 から T_3 および rT_3 の産生量はそれぞれ pH 6.5 および 9.5 で最大であり、このことにより、腎組織には 5- および 5'- deiodinase の 2 つの enzymatic system が存在し、 T_4 の tyrosyl および phenolic ring の deiodination にそれぞれ、関与していることが示唆された。

審査結果の要旨

貴田岡 博 史

腎は甲状腺ホルモンを代謝、排泄する臓器として重要なものであるが、その詳細については殆んど知られていなかった。そこで貴田岡は、イヌを用いて詳しい研究を行った。

T_3 クリアランス (C_{T_3}) を測定したところ、 51.9 ml/min の値を得た。同時に測定したクレアチニンクリアランス (C_{Cr}) は 23.8 ml/min であったから、 T_3 は糸球体から濾過されるほかに、尿細管からも分泌されていることが分かった。

Stop-flow 法で T_3 の分泌動態を調べたところ、 T_3 は近位尿細管で再吸収を受け、遠位尿細管から集合管にかけて分泌されることが分った。

皮質部尿細管および髄質部尿細管を別々に篩法で集め、 T_4 の代謝 (脱ヨード) を調べたところ T_4 から T_3 への代謝は髄質尿細管で低く、皮質尿細管で高く、糸球体はその中間の値を示した。

T_4 から reverse T_3 (rT_3) への代謝もほぼ同様のパターンを示した。これらの代謝は酵素反応の特性を示し、至適 pH は 6.5 と 9.5 とにあった。このことから、5-deiodinase と 5'-deiodinase は別な酵素であると結論できた。

この論文は、腎における甲状腺ホルモンの代謝、および排泄の状況を明確にしたものであって甲状腺ホルモンの研究に一つの進歩をもたらしたものと言える。本研究は、臓器におけるホルモン代謝追求のモデルとなり得るものである。この成果は充分学位に相当するものと思われる。