

甲状腺機能亢進症

基礎と臨床

3983

甲状腺機能亢進症

基礎と臨床

信州大学教授・
順応医学研究施設臨床部門

山田 隆司

東京大学・内科学

尾形 悦郎

東京大学・内科学

長滝 重信

京都府立医科大学講師・内科学

越智 幸男

京都大学教授・中央放射線部

鳥塚 莞爾

大阪大学教授・中央臨床検査部

熊原 雄一

大阪大学助教授・中央臨床検査部

宮井 潔

共 編



医歯薬出版株式会社



無 検 印
承 認

甲状腺機能亢進症 基礎と臨床

定価 5,500 円 (〒170 円)

昭和 48 年 4 月 10 日 第 1 版第 1 刷発行

編 者

山 田 隆 司
尾 形 悦 郎
長 滝 重 信
越 智 幸 男
鳥 塚 莞 爾
熊 原 雄 一
宮 井 一 潔

発行者

今 田 喬 士

印刷者

永井佐波太郎

発行所 医 歯 薬 出 版 株 式 会 社

郵便番号 113 東京都文京区本駒込 1-7-10 振替東京 13816

東京本郷局私書箱第 8 号 電話 東京 (03) 944-3131 (大代)

乱丁，落丁の際はお取替えいたします。

印刷・三報社印刷／製本・明光社

© Takashi Yamada, et al., 1973.

書籍コード：3047-1355-0323

執筆者

<主 題>

小豆沢瑞夫	大阪大学・中央臨床検査部
稲田 満夫	天理よろづ相談所病院・内分泌科
伊藤 國彦	伊藤病院
木村 哲	東京大学・内科学
熊原 雄一	大阪大学教授・中央臨床検査部
宮井 潔	大阪大学助教授・中央臨床検査部
森 徹	京都大学・中央放射線部
長滝 重信	東京大学・内科学
女屋 敏正	信州大学講師・順応医学研究施設臨床部門
降旗 力男	信州大学教授・外科学
越智 幸男	京都府立医科大学講師・内科学
佐藤 誠也	信州大学・順応医学研究施設臨床部門
紫芝 良昌	虎の門病院・内分泌科
戸川 潔	茨城県立中央病院・内科
鳥塚 莞爾	京都大学教授・中央放射線部
山田 隆司	信州大学教授・順応医学研究施設臨床部門
山下亀次郎	東京大学・内科学

<追加発言>

満間 照典	名古屋大学・内科学
仁瓶 禮之	名古屋大学・内科学
大江 勝	神戸大学・内科学
尾形 悦郎	東京大学・内科学
小倉 一	神戸大学助教授・内科学

<討論のまとめ>

鎮目 和夫	東京女子医科大学教授・内科学
鈴木 秀郎	東京大学講師・内科学

(A B C順)

本書は、1972年8月17～20日に行なわれた<河口湖カンファランス＝甲状腺機能亢進症の基礎と臨床>の全記録に加筆したものである。

はじめに—第3回河口湖カンファレンスの開催にあたって

日本の甲状腺学はほぼ世界的水準に近づき、日本で研究され、日本の学会で発表されたいくつかの研究はすぐれたオリジナルとして、海外の一流雑誌に掲載されるまでになった。世界の研究を息を切らして追いかけ、見習うことに忙しかった昔の日本甲状腺学を知る人にとって、この進歩はまことに驚くべきものである。しかし、欧米の学問を完全に追い抜くためには、いっそうの努力が必要であり、このために、より以上に情報やアイディアを交換し、研究上・臨床上の問題を緊密な協力のもとに解決する必要があると思われる。こうした気運をつくる第一歩として“Laurention Hormone Conference”的なカンファレンスをもつ必要があると考え、わたくしたち世話人は第3回河口湖カンファレンスを計画した。

本年は“甲状腺機能亢進症の基礎と臨床”というテーマについて発表や討論が行なわれたが、各演者は形式ばらない方法で、現在までの流れと、自分はどうか考えているかを約1時間にわたって発表した。またこれに対する討論も会場で約1時間、微に入り細にわたって行なわれたが、その後も討論は続き、食事の間にもビールを飲みながらの懇親会の間にも行なわれる熱心さであった。いいかえれば、3日間、朝9時から夜の12時まで、参加者は学問に酔い、討論を続けたいといってもさしつかえないと思う。またこの討論を通じ、人間的な連なりのできたことは他の学会では得られない大きな収穫であったと思う。カンファレンスを終るにあたって、すべての方々が“大変楽しい集りであった”と話していましたが、この言葉を聞いて、わたくしたち世話人一同、たとえようなない喜びを感じるとともに、まずは初めの目的が達せられたものと、安心したしだいである。明年、明後年さらにいっそうカンファレンスが発展することを希望しながら、今回の記録を出版するしだいである。

昭和48年3月

山田隆司

目次

はじめに／山田隆司

執筆者一覧

主題 1 TSH の作用機序——とくに cyclic AMP 系を中心として——

.....山下亀次郎 1

TSH と甲状腺 adeny cyclase-cyclic AMP 系 (1) cyclic AMP-dependent protein kinase (7) TSH および cyclic AMP のヨード代謝に及ぼす影響 (9) TSH および cyclic AMP の中間代謝に及ぼす影響 (10) 文 献 (13)

追加発言 TSH の作用機序——TSH の *in vivo* 作用と甲状腺 pyridine nucleotides——

.....尾形悦郎 20

主題 2 甲状腺刺激物質およびその作用機序.....

.....女屋敏正 佐藤誠也 山田隆司 31

甲状腺刺激物質 (31) 甲状腺刺激物質の作用機序 (37) 文 献 (47)

討論のまとめ.....山田隆司 49

主題 3 LATS の免疫学的考察.....越智幸男 51

LATS と TSH の甲状腺刺激時間の差異 (51) 血中 LATS と TSH の活性 (52)

LATS 活性症状との関係 (52) 血清 LATS の分離と bioassay 反応曲線 (53)

LATS の免疫学的性質 (54) LATS の抗原の探索 (55) TSH とその抗体の結合

による LATS 反応 (56) LATS-IgG 分画から甲状腺刺激物質の解離 (57) LATS

の甲状腺刺激作用 (58) LATS と TSH の甲状腺への作用の差異 (58) 血清中の

LATS と TSH の分離法 (59) Lugol 液が奏効した LATS 強陽性のバセドウ病の 1

症例 (61) 甲状腺機能亢進症に対する多量無機ヨードの作用機序に関する研究 (62)

下垂体に異状甲状腺刺激物質を検出した甲状腺機能亢進症の 1 剖検例 (63) まとめ

(64) 文 献 (65)

主題 4 バセドウ病の病因論.....紫芝良昌 67

LATS 自体の性質についての検討 (68) LATS とバセドウ病の関係についての臨床

的検討 (71) バセドウ病の患者血中にある LATS 以外の甲状腺刺激物質 (73)

バセドウ病の病因と細胞免疫 (75) 文 献 (77)

追加発言 3 世代にわたり継代発症をみたバセドウ病の 1 症例について

.....小倉 一 大江 勝 79

討論のまとめ.....鈴木秀郎 83

主題 5 バセドウ病における甲状腺機能検査

-宮井 潔 小豆沢瑞夫 熊原雄一 85
 一般甲状腺機能検査 (86) “Euthyroid exophthalmos” の甲状腺機能検査と予後
 (97) 文 献 (104)

主題 6 バセドウ病の薬物療法と放射線療法森 徹 鳥塚莞爾 109

- 一般的薬物療法 (109) 特殊な薬物療法 (111) 抗甲状腺剤療法 (113) 放射線療法
 (116) 文 献 (128)

- 討論のまとめ.....熊原雄一 131

主題 7 甲状腺機能亢進症の外科的治療降旗力男 133

- 甲状腺機能亢進症 (toxic diffuse goiter) (133) 中毒性腺腫 (toxic adenoma) (141)
 文 献 (143)

主題 8 バセドウ病の外科的治療.....伊藤國彦 145

- 甲状腺機能亢進症の甲状腺腫の形状 (145) 著者の病院におけるバセドウ病の外科的
 治療の推移 (148) バセドウ病の外科的治療の適応 (150) バセドウ病の手術成績
 (156) バセドウ病の外科的治療の意義と考察 (159) 文 献 (162)

- 討論のまとめ.....鎮目 和夫 163

主題 9 甲状腺機能亢進症の基礎と臨床 —ヨードの甲状腺

- 機能抑制作用—長滝重信 165

- ラットの甲状腺ヨード代謝に及ぼすヨードの影響 (167) 正常人の甲状腺ヨード代謝
 に及ぼすヨードの影響 (174) 甲状腺機能亢進症患者に及ぼすヨードの影響 (175)
 文 献 (182)

主題 10 Triiodothyronine (T_3) の諸問題稲田満夫 185

- 血中 T_3 濃度測定法ならびに正常人および各種甲状腺疾患患者の血中 T_3 濃度 (186)
 血中 T_3 濃度がもっともよくその臨床症状を反映する症例 (189) T_3 の末梢代謝 (195)
 T_4 より T_3 への extrathyroidal conversion (199) 文 献 (204)

- 追加発言 T_3 -toxicosis満間照典 仁瓶禮之 208

- 討論のまとめ.....鳥塚莞爾 214

主題 11 総合討論 話題提供 日本における甲状腺機能亢進症の

- 薬物療法と寛解.....木村 哲 尾形悦郎 戸川 潔 217

- 寛解率の比較 (217) 甲状腺機能亢進症の病態の推移と T_3 抑制試験 (219) 日本に
 おける甲状腺機能亢進症の病態の推移 (221) 累積寛解率および累積抑制率 (225)
 文 献 (227)

- 討論のまとめ.....山田 隆司 228

- 索 引..... 229

主題 1

TSH の作用機序

——とくに cyclic AMP 系を中心として——

山下亀次郎

東京大学医学部第1内科学教室

はじめに

甲状腺刺激ホルモン (TSH) は下垂体から分泌されて血中に微量に存在し、甲状腺の機能を調節しているものと考えられている。しかし TSH の甲状腺に対する作用は複雑であり、ヨード代謝の他にも糖質・脂質・蛋白質代謝などの中間代謝にも作用することが認められている。

TSH に対する甲状腺の諸反応には動物種による差異も認められ、また同じ動物種においても *in vivo* あるいは *in vitro* での実験条件の違い (たとえば medium 中の glucose の有無など) により異なる結果が得られており、TSH の生理的作用およびその作用機序を解明する場合に注意を要する。また甲状腺に作用を有する物質には TSH の他にも prostaglandin, long-acting thyroid stimulator (LATS), acetylcholine, NaF など多くの物質が知られており¹⁾、TSH の作用と比較検討することは作用機序の解明に有益であると思われる。

Sutherland 一派により提唱されたホルモンの second messenger である adenylyl cyclase-cyclic AMP 系²⁾ は多くの組織中に認められており、種々の動物の甲状腺においてもその存在が確かめられ、現在まで多くの研究がすすめられてきている。また甲状腺における cyclic AMP およびその誘導体の作用についても多くの知見が得られている。本稿においては主として TSH の adenylyl cyclase-cyclic AMP 系に対する作用、cyclic AMP あるいは dibutyryl cyclic AMP (DB cyclic AMP) の甲状腺の各種代謝に及ぼす影響および甲状腺の guanosine 3',5'-monophosphate (cyclic GMP) などについて述べる。

1. TSH と 甲状腺 adenylyl cyclase-cyclic AMP 系

Sutherland 一派により発見された adenylyl cyclase-cyclic AMP 系²⁾ は種々のホルモンの second messenger として認められてきている。一般に second messenger としてはつぎの criteria が提唱さ

2 TSH の作用機序

れている。(1) target 組織から調整した adenylyl cyclase 活性がホルモンによって制御されること。(2) intact な組織にホルモンを作用させた時、cyclic AMP の組織中レベルの変動がホルモン効果の出現にさきんじて起こること。(3) ホルモンの効果が methylxanthine (phosphodiesterase の阻害剤) の併用により増強されること。(4) cyclic AMP またはその誘導体を投与するとホルモンと同様の効果が認められること。

したがって本稿において甲状腺でこれらの点についても検討してみる。

Pastan および Katzen はウシ甲状腺ホモジェネートを用いて、incubation 30'秒後にすでに TSH が cyclic AMP を増加させることを認めた³⁾。同様の結果はイヌ甲状腺ホモジェネートでも得られ⁴⁾、*in vivo* でも TSH を注射して3分後に甲状腺をホモジェネートにした場合に adenylyl cyclase 活性の上昇を認めている⁴⁾。またイヌ⁴⁾ およびウシ⁵⁾ 甲状腺スライスを用いた実験でも TSH による cyclic AMP 含量の増加を認めている。他の peptide hormone (ACTH, LH, FSH, GH, human chorionic gonadotropin, prolactin) には、甲状腺ではそれらの作用が認められない^{4,5)}。epinephrine はウシ甲状腺スライスでわずかに cyclic AMP 含量を増加させている⁵⁾。TSH の作用は甲状腺以外では脂肪組織で lipolysis の促進が認められているが⁶⁾、他の組織(睾丸、副腎など)では作用は認められていない⁴⁾。甲状腺においては prostaglandin E_1 ⁷⁾ および long-acting thyroid stimulator (LATS)^{8,9)} も adenylyl cyclase 活性を高め、cyclic AMP 含量を増加させる。NaF, acetylcholine, menadiol などは甲状腺スライスで glucose oxidation を高めるが、cyclic AMP 含量は増加させない⁷⁾。NaF は種々の組織で adenylyl cyclase 活性を上昇させ¹⁰⁻¹³⁾、甲状腺ホモジェネートでも adenylyl cyclase 活性を促進させるが⁴⁾、甲状腺スライスを用いた実験では NaF は cyclic AMP 含量を増加させない⁷⁾。現在その理由は明らかではない。NaF は甲状腺スライスで glucose-1-C および glucose-6-C の oxidation を促進させ^{14,15)}、iodide organification^{16,17)}、iodothyronine synthesis¹⁷⁾ および phospholipids への ^{32}P の転入¹⁸⁾ を高めるが、TSH と異なり cyclic AMP 含量には影響を与えないので、その作用機序は TSH と異なると思われる。

細胞内の cyclic AMP は phosphodiesterase によりすみやかに分解されるので、多くの実験でこの酵素の inhibitor である methylxanthine (theophylline, caffeine など) が用いられる。TSH はこの phosphodiesterase 活性には影響を及ぼさない⁴⁾。

adenylyl cyclase 活性は肝細胞の plasma membrane¹⁹⁾ やハトの赤血球膜²⁰⁾ などに存在することが認められていたが、われわれはウシ甲状腺組織から plasma membrane を分離して²¹⁾、全ホモジェネートに比較して adenylyl cyclase 活性の高い specific activity を得た(表1)。同時に Na^+ , K^+ -activated ATPase および 5'-nucleotidase 活性の上昇を認めた。また mitochondria に存在する cytochrome C oxidase 活性は認められず、ミクロゾームにあると思われる DPNH-cytochrome C reductase 活性をやや認めたが、電顕的にも細胞の他の成分の contamination は非常に少ない²¹⁾。plasma membrane の分離にはまず甲状腺組織から小さな切片を作り、loose-fitting Dounce homogenizer によりホモジェナイズした後、低速の遠沈(1850×g)で nuclear pellet を作り、その後 sucrose gradient を用いて plasma

表 1 ウシ甲状腺の全ホモジネートおよび plasma membrane における adenylyl cyclase, Na^+ , K^+ -dependent ATPase, 5'-Nucleotidase 活性

	Adenylyl Cyclase (millimicromoles/10min/mg protein)	Na^+ - K^+ -dependent ATPase (micromoles/hr/mg protein)	5'-Nucleotidase (micromoles/15min/mg protein)
Whole Homogenate	Control	0.012	0.83
	TSH(10 mU)	0.025	0.39
	$\text{NaF}(10^{-2}\text{M})$	0.134	
Plasma Membranes	Control	0.248	8.71
	TSH(10 mU)	1.185	5.61
	$\text{NaF}(10^{-2}\text{M})$	5.143	

The results are the average of two preparations.

membrane を分離する²¹⁾。Wolff と Jones²²⁾ も他の方法によりウシ甲状腺より plasma membrane を分離したが、TSH に対する反応、plasma membrane の yield などの点で前者の nuclear pellet を用いる方法がすぐれている。plasma membrane の分離の最初の段階でホモジネートを作るが、tight homogenizer を使用すると TSH に対する反応性が非常に低下する。このことから甲状腺濾胞細胞の plasma membrane に存在する TSH の receptor は非常に壊れやすいか、または膜から離れやすいものと思われる。肝細胞から分離した plasma membrane に ^{125}I -glucagon が結合し²³⁾、 ^{125}I -insulin が脂肪細胞および肝細胞の plasma membrane に結合すること²⁴⁾ および LH が卵巣に結合することなどが認められている²⁵⁾。ホルモンの target 細胞に対するこれらの結合が、target 細胞に作用を発現させる第 1 段階と考えられている。甲状腺においては Pastan らは甲状腺スライスを TSH と incubate してからよく洗浄して遊離の TSH を除去した場合でも、TSH による glucose oxidation の促進作用が認められ、さらにこの TSH の作用は TSH 抗体により抑制されることを認めている²⁶⁾。この実験から TSH は甲状腺の plasma membrane にまず結合してその作用を現わすことが間接的に証明されている。しかし現在まで肝細胞その他で認められているような直接的な方法では、TSH の甲状腺 plasma membrane への結合は認められていない [Macchia は IV International Congress of Endocrinology (1972年 6月 Washington D.C.) において TSH の甲状腺 plasma membrane への結合について触れ、label した TSH の甲状腺 plasma membrane への結合を直接的な方法で認めたと述べた.]。

また、甲状腺スライスを phospholipase C で処理した場合、TSH による glucose-1-C oxidation の促進作用が抑制されることが認められている²⁷⁾。イヌ甲状腺スライスを phospholipase C と incubate すると TSH による cyclic AMP 含量の増加が抑えられるので、TSH に対する plasma membrane の反応性が失われるものと考えられる²⁸⁾。これは TSH が plasma membrane に結合できなくなったためか、または結合してもつぎの段階で adenylyl cyclase を活性化できないものと思われる。われわれはその後、ウシ甲状腺の plasma membrane を 1~2 units/ml の phospholipase A で処理すると、TSH による adenylyl cyclase 活性の促進作用は部分的に低下するが、phosphatidylcholine あるいは

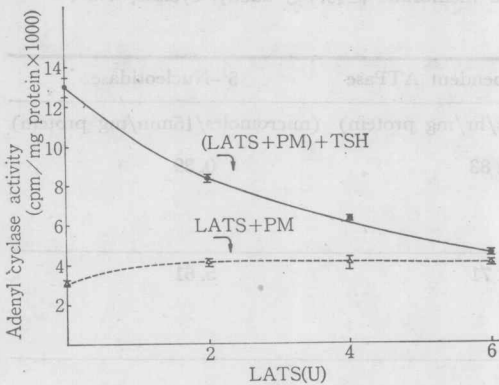


図1 ウシ甲状腺 plasma membrane における TSH の adenyl cyclase 活性促進に及ぼす LATS の抑制作用 (Yamashita and Field, 1972)³⁶⁾. plasma membrane と LATS を 0°C 30 分間 incubate した後, TSH (10mU) を加え adenyl cyclase 活性を測定した。

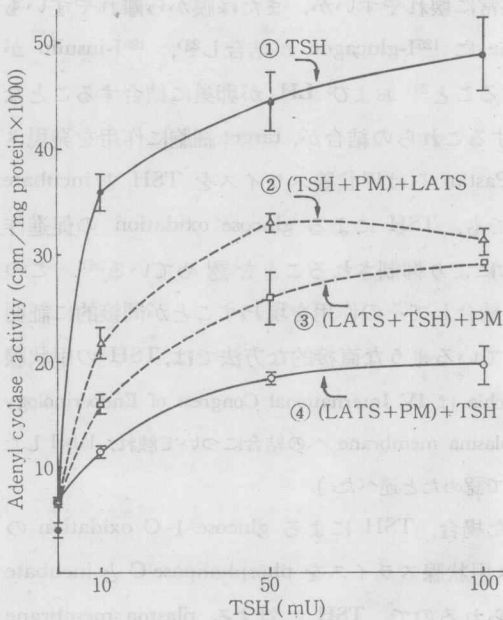


図2 ウシ甲状腺 plasma membrane における TSH の dose response curve とそれに及ぼす LATS の抑制作用 (Yamashita and Field, 1972)³⁶⁾

plasma membrane をまず incubate し, その後 LATS を加えて adenyl cyclase 活性をみると比較的弱い抑制が認められた (曲線②), また LATS と TSH を同時に plasma membrane に加えるとそ

phosphatidylserine の添加によりかなり回復することを認めた²⁹⁾.

しかし 10 units/ml の phospholipase A 処理により, TSH に対する反応性が完全に抑制された状態では phospholipid の添加による TSH の反応性の回復は認められなかった. したがって, TSH による adenyl cyclase 活性の促進には, phospholipid が重要な役割を果たしていると思われる. また肝細胞膜における glucagon の結合および adenyl cyclase 活性の促進³⁰⁾, ネコ心筋の adenyl cyclase 活性の glucagon, histamine, norepinephrine に対する反応性がある phospholipid により, 特異的に回復することが報告されている³¹⁻³³⁾. NaF に対する adenyl cyclase の反応性は phospholipase A によってもほとんど影響を受けず, NaF の adenyl cyclase 活性化の機序は TSH とまったく異なると思われる²⁹⁾.

また Burke らは TSH の adenyl cyclase 活性の促進は prostaglandin を介するものと考えている^{34,35)}.

long-acting thyroid stimulator は甲状腺スライスで cyclic AMP 含量を増加させ⁹⁾, ホモジェネートでも adenyl cyclase 活性を上昇させる⁸⁾. われわれはウシ甲状腺 plasma membrane を用いて LATS は adenyl cyclase 活性をたかだか 2 倍に増加させることを認めた³⁶⁾. また plasma membrane を LATS と incubate した後に TSH を加えると, TSH による adenyl cyclase 活性の促進が抑制されることを認めた (図1)³⁶⁾. しかも TSH と LATS の plasma membrane に加える順序により, 抑制の程度が異なる (図2). すなわち LATS と plasma membrane を 0°C で 30 分間 incubate し, その後 TSH を加えて 37°C 10 分間の adenyl cyclase 活性を測定してもっとも強い抑制が認められた (曲線④). TSH と

の中間の抑制がみられた(曲線③)。これらを Lineweaver-Burke plot により分析すると non-competitive inhibition である。したがって LATS の plasma membrane における作用点は TSH の receptor site と異なるものと思われる。また normal human γ -globulin には adenylyl cyclase の活性化および TSH の促進作用に対する抑制は認められない。

β -adrenergic blocking agent である propranolol は甲状腺スライスで TSH の glucose oxidation および colloid droplet 形成に対する促進作用を抑制し^{37,38)}、甲状腺ホモジェネートでは TSH の adenylyl cyclase 活性に対する促進作用を抑制する³⁹⁾。また甲状腺スライスでも propranolol は TSH による cyclic AMP 含量の増加を抑制するが²⁸⁾、同時に dibutyryl cyclic AMP (DB cyclic AMP) の glucose oxidation や colloid droplet 形成に対する促進作用も抑制する^{37,38)}。したがって propranolol は甲状腺においていくつかの過程に作用するものと思われる。Onaya らはイヌ甲状腺を用いて chlorpromazine (CPZ) が glucose oxidation と colloid droplet 形成に対する TSH, LATS, DB cyclic AMP および prostaglandin E_1 の作用を抑制することを示し^{37,40,41)}、Wolff と Jones は CPZ が甲状腺膜の adenylyl cyclase 活性に対する TSH の作用を抑制することを認めている⁴²⁾。われわれも CPZ がイヌ甲状腺スライスレベルで cyclic AMP 含量に対する TSH の促進作用を抑制することを認めた²⁸⁾。propranolol と CPZ は adenylyl cyclase-cyclic AMP 系に対して同じような抑制作用が認められるが、他の点では異なる作用が認められている。すなわち propranolol は ^{32}P の phospholipid への転入を促進し、TSH の作用には影響を与えない。一方 CPZ は単独では ^{32}P の phospholipid への転入にはほとんど影響なく、TSH の作用を抑制することが認められている³⁷⁾。これはまた cyclic AMP 含量と phospholipid の代謝とは直接の関係がないことを示す事実といえる。Wolff らは甲状腺機能抑制作用を持つ lithium が TSH の adenylyl cyclase 活性の促進作用を抑制することを認めている⁴³⁾。

medium 中の電解質濃度の変化により、ホルモンの分泌などの変化を起こすことが知られている。たとえば K^+ の濃度を高めると副腎⁴⁴⁾、下垂体組織⁴⁵⁾からのホルモン分泌が促進され、 Ca^{++} は LH⁴⁵⁾ prolactin⁴⁶⁾、TSH⁴⁷⁾などの分泌に必要とされている。また甲状腺スライスにおいても高 K^+ 中では ^{32}P の phospholipid への転入、glucose oxidation などの促進されることが認められている^{48,49)}。しかし高 K^+ は cyclic AMP 含量には影響を及ぼさず、glucose oxidation の増加は plasma membrane の透過性の変化によるものと考えられる⁴⁹⁾。また高 K^+ の影響は medium 中の NaCl を choline chloride で置き変えた時にも得られ、低 Na^+ でも同じ作用を示している。medium 中の Ca^{++} の存在は甲状腺重量⁵⁰⁾、glucose oxidation⁵¹⁾に対する TSH の作用を出現させるのに必要であり、また thyroglobulin への ^{131}I の転入にも必要であると思われる⁵²⁾。また Ca^{++} を除くと glucose oxidation に対する DB cyclic AMP の作用も抑制される⁵¹⁾。しかし colloid droplet 形成には影響はない。一方 cyclic AMP 含量に対してもほとんど影響はなく、細胞内で cyclic AMP が作用する過程で Ca^{++} を必要とする場合とそうでない場合があると思われる⁴⁹⁾。

甲状腺の cold nodule における adenylyl cyclase-cyclic AMP 系について調べてみると(表 2)⁵³⁾、cold nodule の adenylyl cyclase 活性は正常組織より高く、TSH にもよく反応した。またスライス

表 2 正常甲状腺組織と cold adenoma の TSH に対する反応性の比較

Parameter	TSH concentration	Difference in responsiveness to TSH* (adenoma-normal)		P values
		mU/ml	% increase over basal	
Adenyl cyclase activity	1		145 ± 45	<0.02
Cyclic AMP concentration	3		198 ± 150	NS
Adenine- ³ H incorporation into ³ H-labeled cyclic AMP	3		690 ± 315	NS
¹⁴ CO ₂ production	50		16.4 ± 9.8	NS
³² P incorporation into phospho- lipids	50		84.8 ± 33.2	<0.05

* Calculated as: $\left[\frac{\text{TSH-basal (adenoma)}}{\text{basal (adenoma)}} - \frac{\text{TSH basal (normal)}}{\text{basal (normal)}} \right] \times 100$:

mean differences ± SE are shown; P values based on paired t test.

(DeRubertis, Yamashita, et al. 1972)⁵³⁾

における cyclic AMP 含量および ³H-adenine の cyclic AMP への転入も TSH により促進されている。したがって cold nodule の plasma membrane にも TSH に対する receptor およびそれに反応する adenyl cyclase-cyclic AMP 系が存在すると思われる。しかし *in vitro* においても cold nodule における odide trapping の低下が認められている^{54,55)}。したがって cold nodule におけるヨード代謝の異常は、cyclic AMP の形成以後の step に存在するものと思われる。Schorr と Ney は ラットの副腎の carcinoma では adenyl cyclase 活性が ACTH ばかりでなく、他のホルモン (TSH など) で促進されることを認めているが⁵⁶⁾、甲状腺の medullary carcinoma では、TSH に対する反応性も認められていない⁵³⁾。adenyl cyclase 活性は種々の組織において、その細胞の plasma membrane に存在することが認められているが、細胞の他の component にも存在するかどうかは現在不明である。Butcher と Serif は甲状腺組織において 9000 × g 沈渣に高い adenyl cyclase 活性を認めているが⁵⁷⁾、plasma membrane やその他の成分の混合物であり、adenyl cyclase の分布についてはこの実験からは明らかでない。

TSH は甲状腺の plasma membrane に働くことを述べたが、細胞内の他の component にも直接作用があるかどうかは重要な問題である。Greenspan らは fluorescein で標識した TSH 抗体を用いて TSH が甲状腺細胞核に存在することを認めている⁵⁸⁾。しかし TSH の作用が plasma membrane に対してのみであるのか、細胞内にもあるのかなお不明である。

acetylcholine, NaF など TSH 以外にも甲状腺機能に作用する物質が知られているが¹⁾、これらは甲状腺の cyclic AMP 含量を変化させない⁷⁾。われわれは他の cyclic nucleotide である cyclic GMP 含量について調べた⁵⁹⁾。イヌ甲状腺の cyclic GMP 含量は通常 10~30 pmoles/g wet tissue で cyclic AMP の 1/10 以下であった。TSH は cyclic GMP 含量に影響しないが、acetylcholine (5.5×10^{-7} M ~ 5.5×10^{-5} M) および NaF (10^{-2} M) は cyclic GMP 含量を増加させた。両者ともに incubation 1 分後にすでに cyclic GMP 含量を増加させ、20 分間の incubation で 5~10 倍に増加させた (図 3)。

atropine が glucose oxidation に対する acetylcholine の作用を抑制することが報告されているが⁶⁰⁾, acetylcholine の cyclic GMP 含量に対する作用も抑制した。また他の組織(肝・脳)およびラットの灌流した心臓でも acetylcholine が cyclic GMP 含量を増加させることが認められており^{59,61,62)}, acetylcholine の甲状腺に対する作用は特異的なものではない。adenylyl cyclase が plasma membrane に付着した状態で作用を発揮するのに対し, guanylyl cyclase は細胞の可溶性分画に存在することが認められており⁶³⁾, その生理的役割は cyclic AMP と異なるものと考えられる。thyroparathyroidectomy により cyclic AMP および cyclic GMP の尿中排泄が減少するが, hypophysectomy と adrenalectomy は cyclic GMP の排泄のみを減少させることが報告されている^{64,65)}。最近 cyclic AMP ばかりでなく, cyclic GMP が下垂体からの growth hormone 分泌に重要な役割を果たしていることが報告されており⁶⁶⁾, 甲状腺においても cyclic GMP は ³H-leucine の蛋白への取り込みを増加させ, 甲状腺の蛋白量と重量を増加させる⁶⁷⁾。また monobutyl cyclic GMP は iodide trapping を抑制するという⁶⁸⁾。甲状腺において cyclic AMP と cyclic GMP の作用の差異も報告されており, cyclic GMP は glucose-1-C oxidation⁶⁹⁾, glucose-6-C oxidation⁷⁰⁾, ³²P の phospholipids への取り込み⁶⁹⁾に影響を与えず, また単離された甲状腺細胞の follicle 様構造の aggregation を起こさないといわれる⁷¹⁾。このように cyclic AMP と cyclic GMP はそのコントロールされる機構が異なるばかりでなく, これらの cyclic nucleotide の働きも異なっており, なお解明されるべき問題は多い。

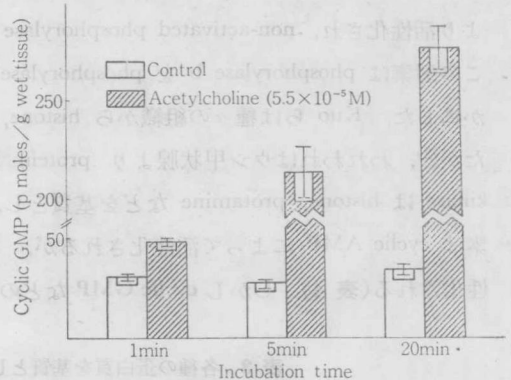


図3 イヌ甲状腺 slice における cyclic GMP 含量に及ぼす acetylcholine の影響

2. Cyclic AMP-dependent protein kinase

TSH は甲状腺組織内の cyclic AMP 含量を増加させるが, 細胞内で cyclic AMP がどのような機序で働いているかがつぎの問題となる。外から与えられた cyclic AMP あるいはその誘導体(たとえば DB cyclic AMP)が甲状腺の諸機能にどのような作用を有するかは後述するが, ここでは cyclic AMP が細胞内で一般的に直接どのような機序で作用するかを述べる。なお DB cyclic AMP は細胞内で phosphodiesterase の作用を受けにくく, cyclic AMP の作用を調べるために合成されたものである。しかし同じ濃度の cyclic AMP と DB cyclic AMP の作用が異なる場合があり, 作用を比較する時には注意が必要であろう。

Walsh らはウサギ骨格筋より cyclic AMP 依存性 protein kinase を見出し, その作用機序を調べ

た⁷²⁾。この protein kinase (現在, phosphorylase b kinase kinase と呼ばれている) が cyclic AMP により活性化され, non-activated phosphorylase b kinase を activated phosphorylase b kinase にする。この酵素は phosphorylase b を phosphorylase a に変えて, これが glycogen に作用することを明らかにした。Kuo らは種々の組織から histone, protamine などを磷酸化する protein kinase を分離したが⁷³⁾、われわれはウシ甲状腺より protein kinase を分離してその性質を調べた⁷⁴⁾。この protein kinase は histone, protamine などを基質とし, albumin, casein には作用が弱い(表 3)。またこの酵素は cyclic AMP によって活性化されるが, cyclic IMP などの他の cyclic nucleotide によっても活性化される(表 4)。しかし cyclic GMP などの場合には高濃度を要する。最近ブタ甲状腺から DEAE

表 3 各種の蛋白質を基質とした時のウシ甲状腺 protein kinase 活性

Substrate	Amount (μ g)	Protein kinase activity (pmoles P incorporated/mg protein)		% Stimulation by cyclic AMP
		-cyclic AMP	cyclic AMP 5×10^{-6} M	
None	—	6	9	50
	40	6	8	33
Bovine serum albumin	100	7	9	28
	600	7	11	56
Casein	40	8	11	38
	100	10	14	40
	600	11	18	63
Protamine	40	50	95	90
	100	64	99	53
	600	75	117	57
Histones	20	32	66	106
	40	47	110	135
	100	65	173	167
	600	91	191	111

(Yamashita and Field, 1972)⁷⁴⁾

表 4 ウシ甲状腺 protein kinase 活性に及ぼす各種 cyclic nucleotide の影響

Cyclic nucleotide concn.	Protein kinase activity (pmoles P incorporated/mg protein)			
	5×10^{-7} M	5×10^{-6} M	5×10^{-5} M	5×10^{-4} M
Cyclic AMP	177	179	175	82
Cyclic IMP	102	215	174	170
Cyclic GMP	55	138	215	166
Cyclic UMP	57	78	156	190
Cyclic CMP	51	76	156	164
Dibutylryl Cyclic AMP	50	77	146	167

Protein kinase activity in absence of any cyclic nucleotide was 47 pmoles P incorporated/mg protein

(Yamashita and Field, 1972)⁷⁴⁾

cellulose chromatography を用いて protein kinase 活性を持つ3つの fraction が得られており、このうち1つの fraction で、cyclic AMP により protein kinase の活性上昇が認められている⁷⁵⁾。しかしこの protein kinase の甲状腺における真の基質はまだ明らかではない。

protein kinase は catalytic subunit と regulatory subunit から成り立っていると考えられており、cyclic AMP は regulatory subunit と結合して catalytic subunit を活性化すると考えられている⁷⁶⁾。



(inactive complex) (active form of the enzyme) (cyclic AMP binding subunit)

C は catalytic subunit, R は regulatory subunit を示す。

3. TSH および cyclic AMP のヨード代謝に及ぼす影響

TSH を投与するとはじめに甲状腺ホルモンの分泌促進と、iodotyrosine の脱ヨードによって生じた無機ヨードの甲状腺からの分泌促進が認められ、ついで甲状腺での iodide trapping, iodide organification, iodothyronine 合成, colloid endocytosis などの過程が促進され、甲状腺ホルモンの合成ならびに分泌が促進される⁷⁷⁾。ここではこれらの過程における cyclic AMP または DB cyclic AMP の作用について TSH と比較しながら述べる。

ラット、モルモットなどに TSH を投与すると数分以内に甲状腺の血流量を増加させ⁷⁸⁾、ヒヨコでは2時間後に認められる⁷⁹⁾。しかしイヌではこの現象は認められていない⁸⁰⁾。イヌの頸動脈に DB cyclic AMP を注入すると、ただちに甲状腺の血流量の増加をみるが⁸¹⁾、これは甲状腺に対する直接作用というよりも β -adrenergic vascular receptor に対する作用と思われる。

TSH は、はじめに甲状腺の iodide trapping を抑制しつつ促進させる⁸²⁾。TSH のこの作用は単離したウシ甲状腺細胞を用いて DB cyclic AMP により再現される⁸³⁾。cyclic AMP, ATP および AMP にはその作用は認められない。cyclic AMP にその作用が認められないのは細胞内に入って作用する cyclic AMP の濃度が低いためと思われる。イヌ甲状腺スライスを用いた実験でも DB cyclic AMP は TSH と同様に T : M 比を低下させる¹⁷⁾。また TSH のヨード摂取促進作用に際しては ouabain sensitive Na^+ , K^+ -dependent ATPase 活性の増加を伴い、この酵素がヨード摂取に間接的に作用するという考えもある⁸⁴⁾。

in vivo でラットに DB cyclic AMP, cyclic AMP あるいは theophylline を投与すると iodide organification が促進される⁸⁵⁾。*in vitro* でもブタ⁸⁶⁾、イヌ^{16, 17)} の甲状腺スライス、ウシ⁸³⁾、ヒツジ¹⁶⁾ の単離細胞において DB cyclic AMP は TSH と同様に iodide organification を促進させる。また caffeine の存在下で cyclic AMP も iodide organification を促進させる¹⁶⁾。これらの事実から TSH の iodide organification 促進は cyclic AMP を介するものと考えられる。

in vivo でラットに TSH を注射すると、 $\text{DIT-}^{131}\text{I} : \text{MIT-}^{131}\text{I}$ 比および iodothyronine への radio-

iodine の取り込みを増加させ、これは cyclic AMP, 他の adenine nucleotide および theophylline で再現される⁸⁵⁾。マウスでも theophylline は DIT : MIT 比および iodothyronine の合成に対する TSH の作用を促進させる⁸⁷⁾。in vitro でも単離したウシ甲状腺細胞を用いて DB cyclic AMP により同様の作用が認められ⁸³⁾、イヌ甲状腺スライスにおいて DB cyclic AMP は thyroxine の合成を促進させることが報告されている¹⁷⁾。TSH による iodide organification および iodothyronine 合成の促進に H_2O_2 形成が重要であると思われるが、DB cyclic AMP は TSH と同様に H_2O_2 の形成を促進するといわれる⁸⁸⁾。

イヌ甲状腺スライスを用いて DB cyclic AMP および cyclic AMP は TSH と同様に colloid droplet 形成を促進させる^{16, 89)}。他の adenine nucleotide, caffeine あるいは butyrate ではこの現象は認められていない。ヒツジ甲状腺スライスでも DB cyclic AMP により colloid droplet 形成が促進されている⁹⁰⁾。

in vivo でマウスに TSH を与えると、甲状腺からの radioiodine の放出が促進されるが、同様の現象が cyclic AMP, DB cyclic AMP あるいは theophylline により認められている^{91, 92)}。また頸動脈に DB cyclic AMP を注入すると甲状腺からのホルモン分泌が高まり、cyclic AMP および 5'-AMP には作用がないという⁸¹⁾。in vitro でもラットの甲状腺⁹³⁾ およびイヌ甲状腺スライス⁸⁸⁾ を用いて、DB cyclic AMP が iodide と iodothyronine の分泌を高めることが認められている。

4. TSH および cyclic AMP の中間代謝に及ぼす影響

1. 糖質代謝に及ぼす影響

TSH は種々の動物の甲状腺スライスおよび単離された甲状腺細胞で glucose uptake を増加させる^{94, 95)}。insulin によっても glucose uptake が促進されることが甲状腺スライスで認められている⁹⁴⁾。TSH は甲状腺スライスにおいて xylose および 1-arabinose の transport を促進させ、cyclic AMP によっても再現されるという⁹⁶⁾。

仔ウシ、イヌなど種々の動物の甲状腺スライスにおいて TSH は早期に glucose-1-C oxidation を促進させる^{94, 97)}。glucose-1-C に比べて glucose-6-C の oxidation の促進は非常に弱い。一方ウシ甲状腺スライスにおいては低濃度の TSH (≤ 1 mU/ml) は glucose oxidation を抑制する⁹⁸⁾。

イヌ甲状腺スライスにおける TSH による glucose-1-C oxidation の促進は DB cyclic AMP によっても同じように起こるが¹⁸⁾、他の adenine nucleotide にはこの作用はない。cyclic AMP 自身には glucose-1-C oxidation を促進する作用はないという報告もあるが、caffeine (1 mM) の存在下で cyclic AMP (3~7 mM) は glucose-1-C oxidation を高めたという¹⁶⁾。しかし高濃度の TSH (10 mU/ml 以上) に相当する効果は DB cyclic AMP または cyclic AMP では得られていない⁹⁸⁾。その理由は明らかでは