

Thyroid Hormone Action

Mitsuo SUZUKI

Department of Physiology, Institute of Endocrinology, Gunma University, Maebashi, Japan

The action of a hormone to the organism can be generally considered in two fashions: the mechanism of its action and its physiological action. The mechanism of the action should include a primary event caused by the hormone in the target cell, followed by a series of successive reactions. The physiological action is composed of functions of the target organ, which are maintained or stimulated by the hormone secreted or administered. In the strict sense, the mechanism of thyroid hormone action remains obscure though the physiological action implicates stimulations of their growths, maturations and basal metabolic rates, which indicate extensive changes in carbohydrate, lipid and protein metabolisms. The characteristic features of thyroid hormone action are as follows: first, the hormone affects almost all organs except brain, gonads and accessory reproductive organs, secondly, the hormone needs some length of time (the latent period) to exert the apparent action after its administration and thirdly, an optimal dose of the hormone is required to maintain the euthyroid state of the organism or to recover it to the normal level. Recently accumulated observations on the effects of minute amounts of thyroid hormone injected to hypothyroid animals were surveyed. Early and marked stimulations by the hormone administration are as follows: liver mitochondria respiration (State 4), synthesis of nuclear and cytoplasmic RNA (mainly r-RNA), RNA polymerase activity, synthesis of membrane phospholipid, incorporation of amino acid into protein by mitochondria and microsome and synthesis of respiratory enzymes which resulted in increased oxygen consumption.

In the connection with the first point, thyroid hormone may act on the target organs directly or indirectly because they affect each other (organ correlation). Among them, a reciprocal interrelationship (a feed back regulation) exists exceptionally between thyroid and adenohypophysis whose oxygen consumption was suppressed by thyroid hormone while stimulated after thyroidectomy. Since 1966, Tonoue and Yamamoto in this laboratory, have made a series of experiments to disclose the mechanism and found that thyroidectomy stimulated α -aminoisobutyric acid transport of rat adenohypophysis and 20 μ g T_4 per 100 g body weight injected to thyroidectomized rats suppressed the augmented amino acid transport capacity. A similar finding was also made of experiments on ^{14}C -alanine incorporation into the total protein of the adenohypophysis. Change in the ^{14}C -alanine incorporation in the thyroid states was distinctly observed in TSH rich granules. The levels of free amino acids in rat adenohypophysis did not change or decrease with a few exception, that is, isoleucine, leucine and proline after thyroidectomy. Adenohypophyses from normal, thyroidectomized and thyroidectomized-and T_4 injected rats were incubated

in KRB with ^3H -Phe and ^{14}C -Arg. Triton $\times 100$ (1%) extracts of the adenohypophyses were analysed with the use of disc electrophoresis. Thyroidectomy decreased markedly growth hormone and prolactin contents. While T_4 injection increased not only growth hormone and prolactin contents but also stimulated ^3H -Phe and ^{14}C -Arg incorporation rates into growth hormone and prolactin. The stimulations were clearly observable 12 hr after T_4 injection. Proteins separated between top of the gel and growth hormone area increased after thyroidectomy and T_4 injection stimulated accumulation of the proteins. After thyroidectomy, marked changes were observed in carbohydrates metabolism of adenohypophysis, that is, increased output of $^{14}\text{CO}_2$ from 1- ^{14}C -glucose, decreased formation of lactic acid from glucose and increased glucose consumption followed by increase of leucine incorporation into the total protein. While ^3H -uridine incorporation into adenohypophyseal RNA increased gradually, suggesting its rather sluggish response to thyroidectomy. In these investigations, we could show the dual responses of adenohypophysis to thyroid hormone, one is a functional part (TSH production) of the gland which is in the feedback relation with thyroid gland and another was adenohypophysis whose growth hormone and prolactin producing cells were stimulated by T_4 . The former function was revealed with the use of ^{14}C -Ala and the latter characteristic was showed when ^3H -Phe and ^{14}C -Arg were used. Discrepancy between the results obtained from employing various labelled amino acids might be due to difference in amino acid composition of proteins which were stimulated or suppressed after thyroidectomy and T_4 injection. Finally, a possible participation of growth hormone to thyroid hormone action was discussed from viewpoints of the organ correlation and the synergistic action by the both hormone to the target organs.

(See pp. 894~898)

シンポジウムⅡ 甲状腺研究の進歩

3. 甲状腺ホルモン作用

群馬大学内分泌研究所生理学

鈴木 光 雄

1 はじめに

一般にホルモン作用は二つの面から考えることが出来る。すなわち、ホルモン作用の機構と、その生理作用である。前者はホルモンが標的細胞においてひき起す第一次作用からはじまる一連の作用機序を含み、後者はホルモンによつて維持され、または促進される標的臓器の生理機能である。

甲状腺ホルモンについていうと、その作用機構は厳密には不明であり、その生理作用は基礎代謝の維持、および亢進作用である。この背後には、成長、成熟、分化、そして一定の代謝回転速度の維持、又は亢進という内容をもっていると思われる。しかし、これらの標的器官は相互に機能協同を行なっているの、直接又は間接に機能をはたしていることになる。したがって或る実験条件のもとにホルモン作用の機構をしらべらうとする際に、そこで見出された作用は、何らかの関係において、生理作用との関連をもたなければならない。ここで甲状腺ホルモンの生理作用の特徴をあげると次のようである。

1) 標的器管が多い。酸素消費についてみると、神経組織、性腺、生殖器などが甲状腺ホルモンに鈍感である¹⁾。2) 生理作用の発現までに一定の潜時がある。ラットに T_3 を注射した際、心搏数の上昇は18時間以後、BMR の上昇は30時間以後にみられる。3) ホルモンの投与量に、至適の量があり、それ以上になると、体重減少等の中毒作用があらわれる²⁾。以上の事実を基礎として実験的ホルモン作用を考える際に、以下のごとき諸点に注意する必要があると考える。i) 実験動物の甲状腺機能状態、ii) ホルモンの投与量と投与期間、iii) 甲状腺ホルモン活性物質 (T_4 , T_3 , 又はその口型等) 有機ヨウ素化合物 (ヨードチロニン等) を投与した際の作用の比較、iv) 生理作用の潜時との比較。以上を考慮することによつて、生理作用か否かを知ることが出来る。

II 肝に対する作用

正常ラット(A)、甲状腺摘除(甲摘)ラット(B)、および、甲状腺中毒ラット(C)(過剰の T_4 又は T_3 を注射したもの)の肝の電子顕微鏡写真をみると、以下のらうな所見がみとめられる。Aでは正常なミトコンドリア、よく発達し規則的に配列した粗面小胞体が特徴的である。これに反し、Bでは粗面小胞体の発達が悪く、配列も乱れており、ミトコンドリアはいかにも内容が充実していないかのように、外内膜ともわずかに波状を呈している。CではBに比して粗面小胞体は発達しているが、その配列はみだれており、ミトコンドリアは異常に膨化し、且外内膜が波状を呈している³⁾⁴⁾。このようなラット肝から、それぞれ Schneider & Hodgeboom⁵⁾ の方法によつてミトコンドリア画分を分離してみると、Cでは外膜の剝離、クリステ間の空洞化が顕著である。このことは、中毒量のホルモンを投与されたラット肝では形態的にも多くの異常が認められ、生化学的に見当される変化についても充分吟味が必要であることを示している。最近行なわれている甲状腺ホルモン作用の機構をしらべようとする実験は、Bのごときホルモンと欠乏状態のラットに、微量のホルモンを投与し、Aの正常状態への復帰過程を主として生化学的な方法によつて解明しようとするものが多い。いうなれば、粘液水腫患者に甲状腺ホルモンを投与して、治癒経過を観察するのと似ている。この際、先にのべたような効果発現までの潜時を考慮すると、その内の一連の反応経過と、それぞれ

の標的器官がはたす相補性は複雑であつて、その一つ一つを解きまぐして行く中に、ホルモン作用の本態が解明されるであろう。

1963年頃より最近にいたる甲状腺ホルモンの初期効果について述べると表1のようである。これらの知見

Table 1. Early Effects of Thyroid Hormone

Stimulated Activity in Rat Liver	Latent Period*
1) Mitochondrial respiration (State 4)	2min. to 3hrs. ⁵⁾
2) Nuclear RNA synthesis (mainly ribosomal)	2-3 hrs. ⁶⁾
3) Mg ²⁺ -activated RNA polymerase	10hrs. ⁶⁾
4) Microsomal phospholipids synthesis	15hrs. ⁷⁾
5) r-RNA content	20hrs. ⁶⁾
6) Protein biosynthesis	30hrs. ⁶⁾
7) Activity of respiratory enzyme	30hrs. ⁸⁾

*Time after the hormone administration.

は、甲摘ラットに微量のホルモンを注射して得られたものである。

最も短時間で作用する効果は、1) (Table 1) の作用であつて、5.2 μ g/100g 体重という少量の T₄ 注射が、甲摘ラット肝ミトコンドリアの呼吸 (State 4: 基質 ATP 共存時の酸素消費量) を高めるという作用である⁵⁾。この作用は不可避的にミトコンドリアという細胞内の機能単位を分離する操作を前提として観測されるものであるが、それ以下一連の甲状腺ホルモンが、エネルギー要求性の高い反応であることを考えると注目に値する²⁾。以下の活性上昇は、Tata らによつて得られた知見であるが、彼は、これらの反応の特徴はすべて細胞内顆粒成分に起る変化である点を強調している⁹⁾。すなわち、核内における主としてリボソーム RNA の合成と、細胞質内における粗面小胞体形成が高まりこれが単に情報 (m-)RNA 合成上昇のみならず、蛋白合成の上昇に寄与しているものである¹⁰⁾。以上は甲状腺ホルモンの肝に対する最近の主要な知見である。

III 下垂体前葉に対する甲状腺ホルモンの作用

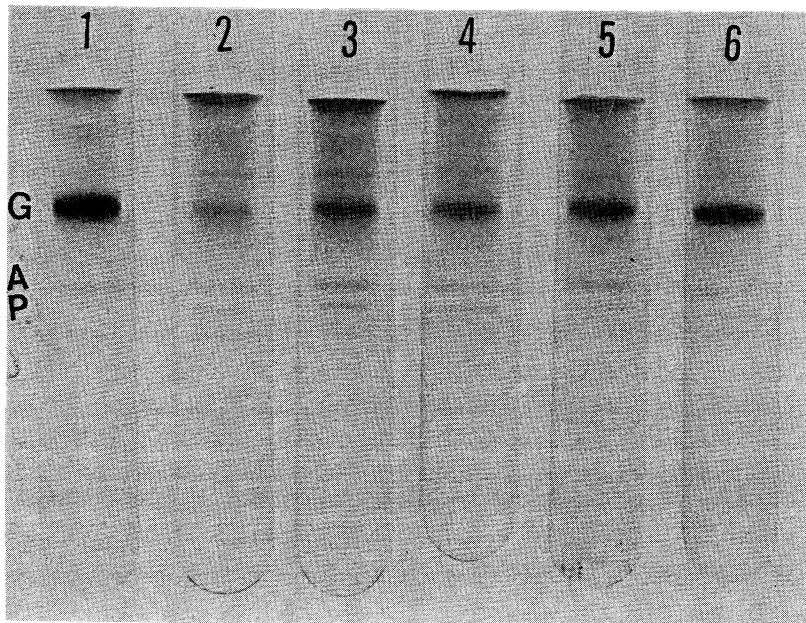
腺性下垂体の内分泌機能に対する作用の重要性はいうまでもないが、逆に甲状腺ホルモンは下垂体に対して大きな影響を与えている、この関係について、最近われわれの研究室で得られた知見を中心にのべる。甲状腺を摘除すると、多くの組織の酸素消費は減少するが¹⁾、下垂体のみは例外であつてかえつて著明に上昇し、甲状腺ホルモンの投与によつて減少する¹¹⁾。このことは腺性下垂体が最低6種類の機能を異にした細胞集団から成立するのにもかかわらず、この点に関してあたかも TSH 産生細胞と甲状腺とのフィードバック関係のみを示すように思われる。光学顕微鏡での観察によると、甲状腺摘除後の幼若ラット腺性下垂体に起る変化は、i) 塩基好性細胞 (TSH 産生細胞も含まれる) の増加 ii) 酸好性細胞 (成長ホルモン-GH-産生細胞を含む) の著明な減少、iii) 色素嫌性細胞の著明な増加であり、甲状腺ホルモン投与はこれらの変化を正常レベルにもどす¹²⁾。このような条件下で、まずウイスター系オスラット腺性下垂体へのアミノ酸の輸送能をみるために、 α -アミノイソ酪酸 (AIB) を用いて、in vitro での摂取をみると甲状腺摘除2週間で、15~20%上昇することが判つた。これに 20 μ g の T₄ (100g 体重) を注射すると、3時間後にすでに AIB 輸送能は低下し、12, 24時間後には正常レベルを下まわる¹³⁾。次にラット腺性下垂体を ¹⁴C アラニンを含む Krebs-Ringer 液中に孵置し、1時間後その蛋白部分に組み込まれた ¹⁴C の比活性 (蛋白 mg あたり) を測定すると、同じ様な結果が得られた。即ち ¹⁴C-アラニンの組み込み速度は甲状腺摘除2週間後に、約40%程度上昇する。T₄ 注射約3時間で、この上昇はほぼ正常レベルまで低下する¹⁴⁾。甲状腺摘除以外に、睪丸、副腎を摘除しても、同様効果がみとめられるが、T₄ 注射はこれらの処理による組み込

みの上昇を防止し得ない¹⁴⁾。同様な効果は、後に Lee ら¹⁵⁾ (イソロイニン, メチオニン, リジン, グリシン) 松崎¹⁶⁾ (ロイシン) によつてたしかめられた。ここで問題となるのは、甲状腺摘除によつて下垂体のアミノ酸プールの変化が起るかどうかという問題である。そこで塩基性アミノ酸以外、遊離アミノ酸を定量してみると、甲状腺摘除によつて、ロイシン, イソロイニン, プロリンがわずかに減少するが、その他のアミノ酸は酸不変か、増量することを知つた¹⁷⁾。

ところで、これらの結果はいずれも下垂体全蛋白質についての結果であるが、合成された蛋白質の質的な検討を行なうと以下のようなものである。渡植, 山本¹⁸⁾らは, Hymer & McShan¹⁹⁾ らの新法によつて (蔗糖の不連続密度勾配遠沈法) 下垂体の顆粒成分を分けると G3A (これは TSH 顆粒を含む) に最も大きな変化が見られた。Lee ら¹⁵⁾は細胞分画を行なつて、ミクロゾームの分画が最も著しい変化をしめし、上清画分がこれに次ぐことを報じている。今回われわれは、これらの変化をディスク電気泳動法によつて追求した。実験条件としては、ウイスター系オスラット (体重200g前後) を用い、甲状腺摘除2週間後、 T_4 20 μ g/100g 体重を注射した。腺性下垂体を 1% Triton $\times$ 100 溶液で抽出し、定法に従つて、電気泳動を行なつた。写真1に、アミドシュバルツ染色後のゲルを示す。1は正常、2は甲摘2週間後のもの、3は T_4 注射12時間後、

Plate 1. Disc electrophoresis of the pituitary extracts (1% Triton $\times$ 100) from rats.

Normal control (1), 2 weeks after thyroidectomy (2), thyroidectomized, 12 hrs. after T_4 injection (20 μ g T_4 /100g body weight) (3), thyroidectomized, T_4 injected (24hrs.) (4), thyroidectomized, T_4 injected (48 hrs.) (5), and thyroidectomized, T_4 injected (72 hrs.) (6). G : Growth hormone, A : Albumin, p : Prolactin.

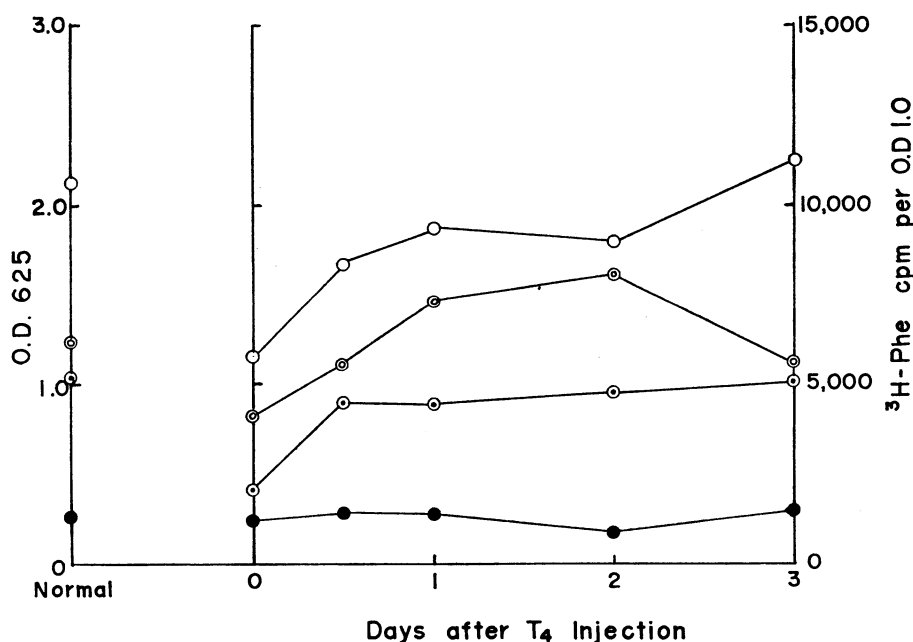


4は24時間、5は48時間、6は72時間後のものである。Gは成長ホルモン、Aは血液に由来するアルブミンであり、Pはプロラクチンが泳動されて来る部位である²⁰⁾。甲摘によつてGは著明に減少するが、 T_4 注射後12時間すでに増量し、次第に増加して行くのがよく判る。次いで、腺性下垂体における合成の速度を観察するために、甲摘、 T_4 注射処理を行なつた動物の腺性下垂体を、 3 H-Phe (フェニールアラニン) と 14 C-

Arg (アルギニン) を含む Krebs-Ringer 液に2時間孵置し、よく洗つた後、Triton 抽出液をディスク電気泳動によつて分離した。染色後のゲルのG、およびPの部分をも2 mmのスライスとし、625m μ 吸光度測定後、H₂O₂ で溶解、液体シンチレーション・カウンターで ³H, ¹⁴C を測定した。両アミノ酸のG、Pへの組込み速度は、甲摘後減少し、T₄ 注射によつて速やかにもとのレベルにもどる。³H-Phe についてみると、Gの吸光度でGの cpm を除すと(比活性)、やはり同様な傾向を示す、その結果を図1に示す。すなわ

Figure 1. Effect of Thyroxine Injection on the Pituitary Growth Dormone and Prolactin.

Ordinate shows days after T₄ injection, and abscissa shows optical density at 625m μ and ³H-cpm per O.D. 1.0 (³H-Phe specific activity). ○ : ○ O.D. of growth hormone, ● : ○ D. D. of prolactin, ⊙ : Specific activity of ³H-Phe ingrowth hormone, ⊙ : specific activity of ³H-Phe in prolactin.



ち、G、Pともに ³H-Phe の比活性は甲摘によつて低下し、T₄ 注後によつて速やかに回復する。Gについては少なくとも4時間の孵置の間、外液中にはほとんど出てこないことが知られているので²¹⁾、T₄ 注射によつて組込み速度も比活性も上昇していることは、合成の速度が著しく高まっていることを示すものであり、甲摘によるGの絶体量の減少と、T₄ 注射後のGの増量は、それぞれ分泌速度の増加と減少によるものではないことは明らかである。

以上われわれは、甲状腺ホルモン作用からみた場合、腺性下垂体はこのホルモンに対して二重の反応を示すことを明らかにし得たと考える。すなわち、その第一は甲状腺と negative feed back 関係にある一おそらく TSH 産生細胞、または TSH 産生機能の部分としての一腺性下垂体であり、第二は、GやP合成機能であつて、他の標的器管と同様にこのホルモンによつて、蛋白合成が促進されるのである。そしておそらくこの際の標的細胞は、GHおよび Prolactin 産生細胞であろうと思われる。特に興味をもたれるのはGやP合成の促進に対して、T₄ が他の臓器の蛋白合成速度の促進よりもはるかに速やかな反応を示すことであ

る。T₄ がGの合成を促進することは明らかであるが、分泌に対しては不明である。しかしGのラット肝細胞核のRNA合成の促進作用が、T₃ のそれより著しく速いこと⁸⁾を考えると、この両ホルモンの相加的又は相乗的作用の可能性が考えられ、内分泌腺内の相補的な作用の一例を示すものと思われる。内分泌腺内の機能協関は標的器管の広般を考慮すると、生物の全体機能の統一にとって重要な役割をもつことが示唆され、この点に関して今後の追求が待たれるのである。

文 献

- 1) BARKER, S.B. : The Thyroid Gland I : 199, Butterworths London (1964)
- 2) TATA, J.R. : Actions of Hormones on Molecular Processes : 58, John Wiley & Sons, Inc (1964)
- 3) 鈴木光雄, 渡 仲三, 小林靖夫 : 未発表.
- 4) PEACHEY, Z.D. and R.L. GRIEF : Endocrinology. 77 : 61, (1966)
- 5) HOCH, F.L. : Arch. Biochem. & Biophys., 124 : 238 (1968)
- 6) TATA, J.R. and C.C. WIDNELL : Biochem. J. 98 : 604 (1966)
- 7) TATA, J.R. : Nature, 213 : 566 (1967)
- 8) TATA J.R. : Biochem. J., 104 : 1 (1967)
- 9) TATA, J.R. : Wirkungsmechanismen der Hormone : 87, Springer-Verlag, Berlin (1967)
- 10) TATA, J.R. : Nature, 219 : 331 (1968)
- 11) LEVY, H.A. and S. ROBERTS : Am. J. Physiol. 189 : 86 (1957)
- 12) SCHOOLEY, R.A., S. FRIEDKIN and E.S. EVANS : Endocrinology, 79 : 1053 (1966)
- 13) TONOUE, T. and K. YAMAMOTO : Endocrinology, 81 : 101 (1967)
- 14) TONOUE, T. and K. YAMAMOTO : Endocrinology, 81 : 1029 (1967)
- 15) LEE, K.L., C.Y. BOWERS and O.N. MILLER : Endocrinology, 83 : 754 (1968)
- 16) MATSUZAKI, S. : 投稿中
- 17) MATSUZAKI, S. and YAMAMOTO, K. : J. Physiol. Soc. Jap. an., 30 : 757 (1968)
- 18) TONOUE, T. and YAMAMOTO, K. : Japan J. Physiol, 18 : 481 (1968)
- 19) HYMER, W.C. and W.H. McSHAN : J. Cell Biol., 17 : 67 (1963)
- 20) JONES, A.E., J.N. FISHER, U.J. LEWIS and W.P. VANDERLAAN, : Endocrinology, 76 : 578 (1965).
- 21) MACLEOD, R.M. and ABAD, A. : Endocrinology, 83 : 799 (1968)