

[展望]

視床下部のホルモン

熊谷 朗*

(昭和47年3月8日受付)

ホルモン調節系で最も複雑な機構を示す調節系は間脳下垂体を通して副腎皮質, 甲状腺, 性腺を刺激し, 最後のホルモン臓器より分泌されたホルモンが生体内のそれぞれの代謝調節に関与する系である。

この際間脳部より分泌し, 下垂体ホルモン分泌を刺激する作用物質(ホルモン)を一応視床下部ホルモン, あるいは下垂体ホルモン放出因子(releasing factor あるいは releasing hormone, RF, RH)とよばれている。

視床下部ホルモンは視床下部の神経細胞で生合成, 分泌され, 神経系と内分泌系の接点を取りつなぐ humoral factor で, かかる観点より neurohumors と称されてきたものである。

すなわち内外の種々の情報が神経系を通してこの部の神経細胞に刺激を与え, neurohumor の分泌をうながす反面, 末梢のホルモンによって negative feedback loop を形成している。すなわち視床下部ホルモンの生合成, 分泌の調節を規定するひとつのものは末梢ホルモンで, 甲状腺ホルモン, 副腎皮質ホルモン, 性腺ホルモンなどによって間脳下垂体が規定されるという negative feedback loop を形成しているといえる。ゆえに視床下部の神経分泌核はいわゆるホルモン調節系の中核といってもよい。

さて以上のような知見は生理学者 Harris¹⁾²⁾³⁾ などによりその概念が整理されたものであるが, その後 Guillemin⁴⁾ は視床下部ホルモン(releasing hormone)といえる必要な条件をつぎのように規定して, 物質としての視床下部ホルモンの研究が進められている。

すなわち視床下部ホルモンである条件としては

- 1) releasing hormone とは視床下部神経核, 正中隆起の組織中に存在する。
- 2) 下垂体門脈血中に存在する。
- 3) 前葉ホルモン分泌量と releasing hormone の投与量の間には一定の用量反応関係がある。

4) in vitro においても下垂体前葉ホルモンを分泌させる。

5) 視床下部を障害した動物でも有効である。

6) 下垂体摘除動物では効果を示さない。

7) 種々な内分泌環境の変化により, 視床下部での濃度が異なる。

8) releasing hormone の検定にあたっては最も特異性の高い方法が用いられねばならない。

9) 前葉ホルモンの末梢血中濃度を高める。

10) しかし前葉ホルモン効果を末梢で高めるようなものではない。

11) in vitro で前葉ホルモンを分泌させるが, 活性を阻害するものであってはならない。

12) releasing hormone の投与後一定時間内で下垂体の前葉ホルモンの含有量を低下させる。

現在種々の視床下部ホルモンの存在が認められているがそれを一表にすると表1のごとくである。最近では releasing factor という名ではなくその性質上 releasing hormone とよばれている。

以上のうちから構造決定に成功し, かつ合成品で天然物とまったく同一活性を示した thyrotropin releasing hormone (TRH) と luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) を中心としてその研究の過程を述べてみたい。

TRH

TRH は視床下部ホルモンとして構造決定, 合成の成功, さらに臨床応用にまでもたらされた最初のホルモンである。この種のホルモンの研究者である Guillemin 一派と Schally 一派がほとんど同時にこれをなしとげたもので, Schally 一派⁵⁾ はブタ視床下部 10 万個, および 16 万 500 個より出発し, 最終的にはそれぞれ 2.8 mg および 4.4 mg の結晶を得ることに成功している。この

* 千葉大学医学部内科学第2

AKIRA KUMAGAI: Releasing hormone.

Department of 2nd Internal Medicine, School of Medicine, Chiba University, Chiba.

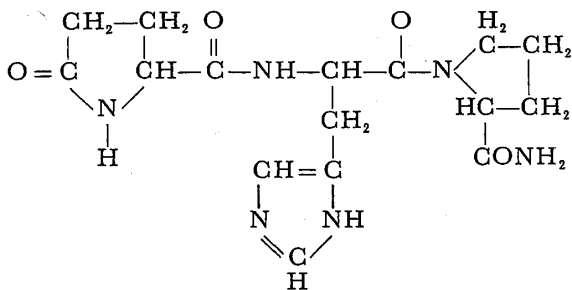
Received for publication, March 8, 1972.

表1. 視床下部ホルモンの命名法

現 行 名		新らしい名称	
hypothalamic factor	略 名	hypothalamic hormone	略 名
corticotropin-releasing factor	CRF	corticotropin releasing hormone	CRH
luteinizing hormone releasing factor	LRF	luteinizing hormone releasing hormone	LH-RH
follicle stimulating hormone releasing factor	FSH-RF	follicle-stimulating hormone-releasing hormone	FSH-RH
thyrotropin releasing factor	TRF	thyrotropin releasing hormone	TRH
growth hormone releasing factor	GRF	growth hormone-releasing hormone	GH-RH
prolactin inhibiting factor (mammals)	PIF	prolactin release inhibiting hormone	PRIH
melanocyte stimulating hormone (MSH) release inhibiting factor	MIF	MSH-release inhibiting hormone	MRIH
growth hormone inhibiting factor	GIF		

TRH は in vivo の assay system では 1 ng, in vitro では 10 pg で有効であり, これは最初の粗抽出液の比活性よりすると 57 万倍もの活性を有することになる。

つぎに構造決定の作業にうつるわけであるがまずグルタミン酸, ヒスチジン, プロリンが等モルの割合で含有されることがわかったので, これらの組み合わせによる 8 種の tripeptide を合成したがいずれも活性がなかった。そこで Folkers⁶⁾ らの合成陣とともに pyroglutamyl-histidyl-proline amide がきわめて強力な TRH 作用があり, かつ物理, 化学, 生物学的性質が天然の TRF とまったく等しいことをつきとめ, はじめて視床下部ホルモンをひとつの物としてつきとめることに成功したわけである。



合成 TRH の構造式

そこでこの合成 TRH 作用であるが, in vitro で TRH を添加した場合でも, in vivo で動物に注射した場合でも TSH の分泌が認められる。また TRH は下垂体より TSH の分泌を促進する作用以外に下垂体の TSH の生合成を促進する効果があるか否かが問題とな

る。この点に関し TRH によって TSH が放出される際下垂体内の TSH 量が増加する点, 電顕では蛋白合成促進像が認められる。あるいは標識アミノ酸の下垂体への取り込みが促進されているなどの点より合成高進すると考えられるが, かんじんの標識アミノ酸の TSH への取り込み促進が認められない点などよりまだこの問題は解決されていない。このような releasing hormone が合成高進作用するか否かについての議論は後述べてみたい。

さてつぎに TRH の生合成, 分泌調節に関しては余り統一的な見解はない。すなわち前視床下部の電気刺激によって下垂体門脈血中の TRH 活性は上昇するが triiodothyronine で前処置した動物ではなら影響を与えない。ところが thyroxin (T_4), triiodothyronine (T_3) の前処置によって下垂体レベルで TRH の TSH 分泌促進作用は抑制されることが認められている。この T_3 , T_4 による抑制は dose response で効果が認められるという事実があるので, 末梢血の甲状腺ホルモンレベルの negative feedback の作用点は下垂体レベルではないかという意見が多く, corticotropin releasing hormone (CRF) と ACTH などの関係 (この場合は血中 cortisol level の作用点は正中隆起の CRH 活性を支配している) といささか異なりがある。

この TRH による TSH release 作用の発現には actinomycin D., puromycin, cyclohexamide などでは無影響であるが, T_3 , T_4 の TRH 作用の抑制には影響を及ぼすことより, 甲状腺ホルモンの TRH 作用抑

制には蛋白合成がからんでいることが判明している。

それでは甲状腺ホルモンが視床下部の TRH にまったく影響が無いのかというと、これと異なった成績も認められる。すなわち甲状腺摘除 3~4 週間、また T₃ 投与を 16 日間つづけるといった長期実験では、視床下部の TRH 活性がそれぞれ negative feedback の原則通り、前者では上昇、後者では低下するという報告もある。すなわちこれがいずれも正しいとすると間脳下垂体甲状腺系の negative feedback の作用点は視床下部と下垂体と両方にあると考えられ、どちらがより生理的な作用であるかは今後の問題として残されるものであろうと思う。

さて TRH の合成品が大量入手できる現在 TRH を臨床的に応用しようとするところみはわが国でも広く行なわれている。まず TRH を下垂体機能検査に用いるという方法である。

下垂体機能正常者は TRH 500 μ g を筋注か静注すると約 30 分後を最高値とする末梢血 TSH 濃度の上昇が認められ、下垂体機能異常者はかかる反応が認められない。ゆえに甲状腺機能低下症が原発性（甲状腺自体に原因ある）か続発性（下垂体より TSH 分泌低下による）の鑑別診断にきわめて有用であるのは理論通りである。

さて TRH で特に興味をもたれるのは、このホルモンは tripeptide であり消化酵素にきわめて安定であるという特性より 10mg 1 回経口投与という大量を投与すると吸収され血中 TSH 濃度が 120 分で maximum になるようなきわめて long acting な効果が期待されることである。なお TRH の特異性に関して研究されたものをみると現在他の下垂体ホルモン分泌には影響が無く、TRH と LH-RH など同時に投与されても両者の下垂体への影響には特異性が認められるので同時検査が施行され得ることが認められている。

検査面では間脳下垂体甲状腺系の間脳部または下垂体機能の検査面にきわめて重要で、両者の区別をいかにすべきかの検討が今後なされるべきであろうと思われる。すなわち間脳部の神経分泌核の失調による下垂体の機能的不全と下垂体自体の器質的な病変との区別は TRH の下垂体よりの TSH 分泌の刺激効果の量的時間的パターンで決定さるべきものと思われる。つぎに TRH の治療面への応用は現在まだ行なわれておらないので今後またねばならない。

LH-RH, FSH-RF⁸⁾⁹⁾

下垂体前葉の gonadotropin に対する neuroendo-

crine mediator に関しては現在結論的なものが出されたホットなトピックスである。TRH の研究にしても 1956 年⁷⁾に、また LH-RH の存在についての研究にしても 1958 年に、渋谷⁸⁾らにより創造的研究発表がなされている。しかしその後この研究の成果が評価されなかったのは、時期が早期であったとはいえ、日本人としてきわめて残念である。

これらの研究を正当に評価してその研究を support した協同の研究陣が日本にあれば、現在の日本のような米国直輸入的な研究に終始するようなこともなかったろうと反省する一方、くやまれてならない。その後 1960 年 McCann¹⁰⁾ らは視床下部正中隆起の酸性粗エキス中にラット卵巣のアスכולビン酸量を減少させる物質として LH-RH の存在を推定した。この物質は熱安定性であるが pepsin により部分的に、trypsin により完全に失活されることが認められた。この方面の研究はその後日本人の手でずい分進められ、小林らは下垂体前葉細胞の single cell culture 法で、また五十嵐は McCann との協同研究で FSH を LH より分離して bioassay する方法でこの方面の研究は進歩した。その後 LH-RH と FSH-RH の純化精製の努力が各方面で研究されたが、金に物をいわす米国研究陣によってことが解決されることになる。純化、精製され結晶化された段階のあとはシステムの力と努力のみによるのである。

この研究は RH の研究者 Guillemin と Schally 陣によって完成されたが、後者の研究陣は大部分が日本人協同研究者で、有村、馬場、松尾らによって完成された。

LH-RH 抽出のために Schally¹¹⁾¹²⁾ らは 50 万個のブタ視床下部より出発し、Guillemin らは 200 万個のヒツジの視床下部を集めたといわれる。その後精製過程を十数回の過程をへて 200 万倍純化することに成功し、高純度の LH-RH 数 100 μ g~数 mg のものが得られた。

そこでもうひとつ LH-RH, FSH-RH は異なった物質であろうという常識よりそれぞれ LH-RH に関しては Parlou の卵巣アスכולビン酸減少法、または radio immunoassay で測定され、FSH-RH の測定には雄の去勢ネズミを testosterone propionate で前処理後、サンプルを頸動脈内に注射、30 分後に下垂体を取り、その FSH 含量を Steelman Pohley 法で測定する方法や in vitro で下垂体スライスに incubate しその medium 内にサンプルを加える検定法を用いている。

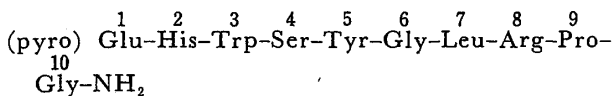
ところでこれらの assay 法を使って最大の活性ある高純度のものが得られたが、この構造決定のためと、合成品の検定に用いる段階において面白いエピソードがたえられている。たとえば数百 μ g, 数 mg の結晶は 3

表2. ブタ LH-RH の抽出と精製 (有村)⁸⁾

	乾燥重量 [] 内は活性発現量
ブタ視床下部 (165,000個)	2,500 g
1) 凍結, 粉末化, 脱脂	↓
2) 2 NAcOH 抽出	1,075 g
3) 氷酢酸抽出	↓
4) Sephadex G 25	380 g [LH-RH 125~500 μg FSH-RH 500~600 μg]
5) フェノール抽出	83 g [LH-RH 30~150 μg FSH-RH 100 μg]
6) CM-セルロースクロマト	948 mg
7) 再クロマト	277 mg [LH-RH 0.1 μg FSH-RH 0.5 μg]
8) FFE	94.8 mg
9) 向流分配	14.2 mg [LH-RH 2~25 ng FSH-RH 10~30 ng]
	(8.9 mg) (5.3 mg) → 生理, 臨床実験へ
10) Sephadex G 25	(3.6 mg)
11) 再クロマト	(2.3 mg)
12) zone 電気泳動	(830 μg) [LH-RH 0.25 ng FSH-RH 0.5 ng]
	↓ 構造証明に

重の金庫に入れられ, 3人のスタッフが別々にその鍵を持ち, 3人の合議の結果一致する場合においてのみ実験に供されたという。

LH-RH の抽出と精製法を表とすると表2のごとく最後の 830 μg が構造決定に用いられ, histidine 1, arginine 2, Serine 1, glutamic acid 1, proline 1, glycine 2, leucine 1, tyrosin 1, tryptophane 1 の9種のアミノ酸で, その後合成により



という decapeptide であることが種々の検討の結果判明し, これは同程度の天然の LH-RH, ならびに FSH-RH と等しく両者は同一物質であるとの結論に達した。すなわち現在 LH-RH=FSH-RH であり, これがそれぞれの下垂体の異なった target cell に作用することが認められたことはきわめてショッキングなことであった。構造決定は昨年4月, 1カ月おくれて合成品が完成され, 臨床実験の報告が9月に発表されるといったスピードで, すでにわが国においても臨床面に LH-RH を用いての下垂体 gonadotropin 分泌の機能検査に用いられはじめている。また一方これを用いて排卵誘発など治療面に応用されるのは時間がかからないだろう

と思う。LH や FSH の構造式がわからない以前にその releasing hormone の構造が決定されたのは皮肉なものである。

視床下部ホルモンと cyclic AMP

cyclic AMP は各種ホルモンの作用機序にさいして secondary messenger としての役割を演じていることは周知の事実であるが, 視床下部のホルモンの target が下垂体であるのでこのような事実があるか否かはきわめて興味深い。すでに1966年 Vernikos-Danellis は phosphodiesterase の抑制物質である caffeine をネズミに投与すると血清の corticosterone レベルの上昇, ACTH の下垂体含量が増加することなどより ACTH の分泌に cyclic AMP が関係あるのではないかと述べたが, その後 Fleischer らがラットの下垂体中に adenyl cyclase と phosphodiesterase の存在を証明し, theophyllin を下垂体とともに incubate すると cyclic AMP の濃度が上昇するのと並行して ACTH の release が増加すること, また直接細胞内に浸入可能な dibutyryl cyclic AMP を下垂体メジウム中に添加すると ACTH の放出効果が増大し, これに dexamethasone を加えることにより抑制されたという。また CRH が増

加する条件下として両側の副腎を摘出すると下垂体の cyclic AMP の濃度が増加したと述べ、CRH-cyclic AMP-ACTH release の関係があることを推定した。また視床下部抽出物が *in vitro* で下垂体の adenylyl cyclase 活性と cyclic AMP 濃度が急速に上昇することも認めた。一方 Steiner らは GH と TSH の放出と cyclic AMP との関係も、視床下部抽出液に aminophylline 添加によって cyclic AMP が上昇すると同時に GH と TSH の放出が行なわれるという一連の作用が認められている。

以上の事実よりみると視床下部ホルモンの下垂体ホルモン放出作用の機序として cyclic AMP が secondary messenger であろうことはまちがいないところであろう。

視床下部ホルモンの前葉ホルモンの合成促進作用

視床下部ホルモンは前葉ホルモンの releasing activity があることは明確であるが、下垂体ホルモンの synthetic activity があるか否かはひとつの問題点である。

CRH, TRH, GRH などを注射すると数分後には前葉ホルモンの release は起こり、その時期に一過性に下垂体内のホルモン濃度は低下するが再び正常、またはそれ以上となることが認められている。一方 *in vitro* で下垂体を incubate しその内に GRH を添加すると、多量の GH が medium 中に分泌するにもかかわらず下垂体中の GH 量に変化がない。同様なことが LH-RH にも認められている。このことは releasing hormone がふたつの作用を有していると結論することは早計であり、分泌された後二次的に生合成が亢進するとも考えられる。

また私どもが下垂体での ACTH の生合成にかんする実験、すなわち phenylalanine U- C^{14} を下垂体と incubate して ACTH 内に入る放射能でみる生合成能の成績では、incubate medium 中に視床下部より抽出された粗エキスを入ると生合成能は著明に上昇するが、比較的精製された CRH を添加するとその作用はまったく認められない点などより、視床下部ホルモン中には releasing hormone とは別に biosynthesis stimulating hormone が存在するのではなかろうかと推測している次第である。

むすび

視床下部ホルモンの最近の展望、特に新たに構造決定、合成された TRH と LH-RH を中心に述べた。また近い内につぎつぎと物としての視床下部ホルモンの実態が解明されるであろうが、いつまでも残される興味の中心は神経細胞が hormone を作るという二重の機能でこの間の制御機序の解明は新たな医学の進歩に直結する問題であり明日の臨床の問題でもある。

主要文献

- 1) Harris, G. W.: *Physiol Rev.*, 28, 139, 1948.
- 2) Harris, G. W.: *Neural control of the pituitary gland*, Edward Arnold LTD, London, 1955.
- 3) Harris, G. W.: *Hypophysiotropic hormones of the hypothalamus: Assay and Chemistry* (ed. by Meites, J.) p. 1, Williams and Wilkins, Baltimore, 1970.
- 4) Guillemin, R.: *Rec. Prog. Horm. Res.* 20, 89, 1964.
- 5) Schally, A. V., Redding, T. W., Bowers, C. Y. and Barrett, J. F.: *J. Biol. Chem.*, 244, 4077, 1969.
- 6) Folkers, K., Kuzmann, F., Bler, J., Bowers, C. Y. and Schally, A. V.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 37, 123, 1969.
- 7) Shibusawa, K., Saito, S., Nishi, K., Yamamoto, T., Abe, C. and Kawai, T.: *Endocrinol. Jap.*, 3, 116, 1956.
- 8) 有村 章, 松尾寿之: *代謝*, 8, 667, 1971.
- 9) 有村 章: 第4回神経内分泌シンポジウム, 大阪, 1971.
- 10) McCann, S. M., Taleisnik, S. and Friedman, H. M.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 104, 432, 1960.
- 11) Schally, A. V., Bowers, C. Y., White, W. F. and Cohen, A. I.: *Endocrinology*, 81, 77, 1967.
- 12) Schally, A. V., Arimura, A., Baba, Y., Nair, R. M. G., Matsuo, H., Redding, T. W. and Debeljuk, L.: *Biochem. Biophys. Commun.* 43, 393, 1971.