

(56)

氏名(生年月日)	ワカ 若	イ 井	カ 加	エ 恵
本 籍				
学位の種類	医学博士			
学位授与の番号	乙第808号			
学位授与の日付	昭和62年3月20日			
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当(博士の学位論文提出者)			
学位論文題目	培養ラット肝細胞におけるヒト成長ホルモン分解機構			
論文審査委員	(主査) 教授 鎮目 和夫			
	(副査) 教授 平田 幸正, 教授 梶田 昭			

### 論 文 内 容 の 要 旨

#### 目的

ホルモンにはその特異的な受容体が存在しホルモンの生物学的作用の発現の調節に、受容体レベルでの分解機構が存在することは多くのホルモンで報告されている。ラット肝には、ラクトゲンの受容体が存在するが、受容体に結合したラクトゲンのその後の代謝については不明な点が多い。またヒト成長ホルモン(hGH)はラットにおいてラクトゲンとしての作用を示す。本研究では受容体に結合した<sup>125</sup>I-hGHの分解機序を明らかにするため、ラット肝単層培養系を用いて検討した。

#### 方法

Wistar系雌ラットを麻酔下、コラゲナーゼ液にて灌流し、単離細胞とし、コラーゲン塗付のプラスチックディッシュに単層培養した。この培養細胞と<sup>125</sup>I-hGHを反応させ、肝細胞への特異的結合、<sup>125</sup>I-hGHの解離、および<sup>125</sup>I-hGHの分解を検討した。<sup>125</sup>I-hGHの分解の程度はウサギ肝細胞膜への結合能、トリクロロ酢酸による沈降度、セファデックス G-100カラムによるゲル濾過で判定した。

#### 結果および考察

1) <sup>125</sup>I-hGHと培養肝細胞の特異的結合は非妊娠ラットでは $4.4 \pm 1.0\%$ (平均 $\pm$ SD)、妊娠ラットでは $13.1 \pm 2.2\%$ と妊娠ラット肝の方が著明に高かった。hGHの受容体数と<sup>125</sup>I-hGHの分解は正の相関を示し、分解が受容体依存性の過程を経ることを示唆した。

2) 分解はインキュベーション時間および温度に依存した。

3) クロロキンやNH<sub>4</sub>Cl等のライソゾーム阻害剤は分解を抑制し、<sup>125</sup>I-hGHの結合を増加させた。

4) エネルギー利用阻害剤であるジニトロフェノールおよびNaN<sub>3</sub>もまた分解を抑制し、一方その作用はクロロキンの分解抑制作用を減少させ、エネルギー依存の過程がライソゾームでの分解に先立つことを示唆した。

5) 肝細胞に結合した<sup>125</sup>I-hGHは結合時間が長くなるにつれて解離しにくくなった。また結合時間が短かいほど分解産物のメドウムへの放出が多かった。クロロキン存在下では、解離も、分解産物の放出も抑制された。

6) 分解産物はゲル濾過および薄層クロマトグラフィで分析すると、最終的には、モノヨードチロシンおよび無機ヨードとなる。細胞内の放射活性を調べると、大部分は分解されていないhGHであった。

#### 結論

1) ラット肝細胞は温度およびエネルギー依存性に<sup>125</sup>I-hGHを分解する機構を有する。

2) 分解は<sup>125</sup>I-hGHと受容体との結合、細胞内へのエンドサイトーシス(内部化)を介し、ライソゾームでなされる。

3) 分解産物は直ちに細胞外へ放出され、受容体に結合したラクトゲンの解離は主として分解によるものと考えられる。

## 論文審査の要旨

本論文は、培養ラット肝細胞におけるヒト成長ホルモン分解機構を明らかにしたもので、学問上価値あるものと認める。

## 主論文公表誌

培養ラット肝細胞におけるヒト成長ホルモン分解機構

東京女子医科大学雑誌 第56巻 第12号  
1153～1162頁（昭和61年12月25日発行）

## 副論文公表誌

- 1) Basic peptide with insulin-like activity in human serum (ヒト血清より精製したインスリン様活性をもつ塩基性ペプチドについて)  
Endocrinol Jap 28 (2) 157～167 (1981)
- 2) Analysis of hepatic growth hormone binding sites of pregnant rabbit crosslinked to <sup>125</sup>I-labelled human growth hormone (<sup>125</sup>I-ヒト成長ホルモンとクロスリンクされた妊娠ウサギ肝受容体の分析)  
FEBS Lett 147 (1) 49～53 (1982)
- 3) Effects of phorbol esters on the release of growth hormone and prolactin from rat pituitary cells cultured in monolayer (ラット下垂体培養細胞よりの成長ホルモン及びプロラクチン分泌に及ぼすフォルボルエステルの効果)  
Acta Endocrinol 107 185～191 (1984)
- 4) Processing of human growth hormone by rat hepatocytes in monolayer culture (ラット肝単層培養系におけるヒト成長ホルモンの分解)  
Endocrinology 114 (5) 1475～1482 (1984)
- 5) Insulin-like growth factor-I and CPR levels in the umbilical cord blood of newborns from diabetic mothers (糖尿病の母親から産まれた新生児臍帯血中のIGF-I及びCPR値)  
東女医大誌 55 (10, 11) 971～978 (1985)