

(15)

氏名(生年月日)	江 本 直 也
本 籍	
学 位 の 種 類	医学博士
学位授与の番号	乙第767号
学位授与の日付	昭和61年 6 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	Nb2細胞を用いたヒト成長ホルモンの生物活性に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 鎮目 和夫 (副査) 教授 平田 幸正, 教授 白坂 龍曠

論 文 内 容 の 要 旨

目的

Nb2 node rat lymphoma 細胞 (Nb2 細胞) は lactogenic ホルモンにより特異的に刺激されて増殖する。Nb2細胞の増殖を指標として、これらのホルモンの特異的で鋭敏な生物学的測定法が開発されている。本研究ではヒト成長ホルモン (hGH) によって Nb2細胞に惹起される DNA, RNA, 蛋白などの合成促進の時間の経過を明らかにし、これらを指標としても hGH の生物学的活性の測定が可能か否かについて検討した。さらに、この方法を用いて hGH の variants, あるいは酵素処理した種々の hGH の生物活性を測定するとともに、そのレセプター結合能との関係について検討を行なった。

方法

Nb2細胞は、10%ウシ胎児血清 (FCS) を含む Fischer 培地により 37°C, 5%CO₂-95%air の培養器内で浮遊状態で維持した。Nb2細胞は FCS の代わりに、10%馬血清を含む Fischer 培地に移すと、約24時間で静止状態となる。この時点で細胞を遠心で集め、1.0~2.0×10⁶個/ml の密度で細胞を浮遊させ、チューブに分注して実験に用いた。これに hGH (又はその誘導体) を加え、種々の異なった培養時間の後に、³H で標識した放射性前駆物質 (チミジン, ウリジン, ロイシン) 0.1μCi を加えた。1~2時間の孵置後、細胞を遠心し10%トリクロル酢酸で処置して酸不溶物質に取り込まれた放射性前駆物質を液体シンチレーションで測定した。

結果および考察

³H-ウリジンの取り込みを指標とした RNA 合成は

hGH で刺激され、2~3時間で頂値に達した。蛋白合成もまた hGH で刺激され、12時間で頂値に達した。一方、³H-チミジンの取り込みで測定した DNA 合成は、培養後 6 時間より検出され、頂値は18時間で認められた。RNA 合成, DNA 合成促進は、hGH の濃度に依存しており、10pg~1,000pg/ml の範囲で測定が可能であった。これらの指標を用いてヒト血清中 hGH の測定が可能であり、その値と RIA で測定した値の相関も良好であった。DNA 合成を指標として種々の hGH の variants やフラグメントの生物活性の測定を行なった。フラグメント F₁ (hGH 分子 N 末端1-134) と F₂ (hGH 分子 C 末端150-191) は、22K-hGH に比べ力価は1,000分の1かそれ以下で、フラグメント 34-46 と 1-15 には活性は認められなかった。ヒト下垂体に存在する 20,000-dalton の variant (20K) の力価は 22K-hGH の約 3 分の 1 の活性を示した。一方、subtilisin 処理された 2 本鎖 hGH である S₁ は 22K よりも数倍強い生物活性を示した。以上の hGH variants およびフラグメントの活性はクラトジェン受容体に対する親和性とよく相関した。

結語

Nb2細胞の DNA 合成あるいは RNA 合成を指標として、ヒト血清中 hGH の鋭敏な測定が可能であった。さらに本系は hGH 分子の構造と機能の関係の解明に有用であると考えられる。

論文審査の要旨

本論文は、ヒト成長ホルモン (hGH) によって Nb2細胞に惹起される DNA, RNA, 蛋白などの合成促進の時間的経過を明らかにし、これを利用すれば、ヒト血清中に微量に存在する hGH の測定が可能であり、また hGH 分子の構造と機能との関係の解明に有用であることを示したもので、学問上価値あるものと認める。

主論文公表誌

Nb2細胞を用いたヒト成長ホルモンの生物活性に関する研究

東京女子医科大学雑誌 第56巻 第4号
333~339頁 (昭和61年4月25日発行)

副論文公表誌

- 1) 経過中に脳内腫瘍を認め、治療により完全寛解した急性骨髄性白血病の1例
臨床血液 24 (2) 142~147 (1983)
- 2) 内分泌と代謝をめぐる CPC (160) テストステロン産生卵巣腫瘍の2例
医学のあゆみ 129 (7) 483~497 (1985)
- 3) Triiodothyronine binding immunoglobulin in a euthyroid man without apparent thyroid disease; its properties and effects on triiodothyronine metabolism. (明らかな甲状腺疾患を伴わない甲状腺機能正常男性患者にみられたトリヨードサイロニン結合免疫グロブリン: その性状とトリヨードサイロニン代謝に及ぼす影響)
Acta Endocrinol 108 498~503 (1985)
- 4) Thyroid-stimulating antibody bioassay using porcine thyroid cells cultured in follicles. (ブタ甲状腺濾胞培養を用いた甲状腺刺激抗体の測定)
J Clin Endocrinol Metab 61 (6) 1105~1111 (1985)
- 5) Identifdcation and initial characterization of transforming growth factor-like mitogen (s) in human anterior pituitary. (ヒト下垂体前葉のトランスフォーミング成長因子様物質の同定と、その性状の予備検定)
Biochem Biophys Res Commun 133 (3) 951~957 (1985)