ホルモンの作用機構

——蛋白合成に対する作用を中心として——

群馬大学内 分泌 宇井 信 生^{*}
研究所物理化学部

1. はじめに

高等動物の代謝調節物質としてのホルモンの重要性が認識されたのはずいぶん古いことである。脳下垂体、副腎あるいは甲状腺などの臓器を摘出すると、動物に激しい変化が起こり、死に至る場合もまれでない。ところが手術を行なった動物でも、臓器の抽出液あるいはそこでつくられる特定の物質を注射することによって、正常の状態に戻すことができる。この種の実験から、動物の代謝の調節に必須なホルモンが次々に発見され、それぞれのホルモンの生体におよぼす影響がくわしくしらべられるようになった。現在病気の治療をはじめとする種々の応用面でも、ホルモンが大きくとりあげられていることはよく知られた通りである。

ホルモンの物質としての性状やホルモンを投与することによって示される現象に関してはこれまでにかなりの知識が蓄積されたのに反して、ホルモンが細胞内で直接的に働き、どのような代謝過程にどのような仕組みで影響を与えるのかという直接の作用機構の問題については驚くほど乏しい知識しか得られていない。これまでに知られているいろいろなホルモン——その中にはステロイドホルモンもあれば蛋白ホルモンもあり、その他種々のホルモンが存在する——にいったい共通した作用機構が存在するか否かも分っていない。極端ないい方をすれば、ごく最近に至るまで、作用機構についてのまともな攻略はなされなかったといってもよいほどである。

ところがこのような不幸な状況は最近急速に改善されつつある。ホルモンの示す調節機構そのものに関心をもつ研究者の数は急激に増加し、重要な実験事実が

加速度的に集積され始めた。ホルモンの研究も従来の現象論的な研究段階からようやく新しい時代にふみ入ったといってもよさそうである。

その大きな契機となったのは、細菌についての調節現象^{1,2)}の分子生物学的研究の最近の進歩であろう。単細胞生物における代謝調節は主として特定の酵素の合成の抑制 (repression)、誘導 (induction) ならびに酵素活性の阻害を通して行なわれ、代謝の最終産物あるいは外来性の物質が調節の信号として働くことが分り、その機構の大筋が明らかになった。このことはホルモンの作用機構の研究にも大きな刺激を与えずにはおかなかった。ホルモンは分化が進んだ高等動物において、細胞から細胞へと運ばれるメッセージの担い手とも考えられるわけであるが、細菌の場合の誘導物質 (inducer) や代謝産物と同じような機構で調節に関与するのであろうか。

これまでの研究結果はホルモンの示す調節作用が細菌における調節とかなり共通した面があることを示している。しかしその反面、単細胞生物との間に重要な差のあることもかなりはっきり示されている。

現在結論めいたことをいえる段階には達していないが、ホルモンの作用機構についての最近の研究動向を蛋白合成に対する作用に重点をおいて概観し、その問題点を考察してみよう。

2. ホルモンの作用機構についての一般的な考え方

細胞の代謝は酵素の直接的あるいは間接的な関与なしには考えられないであろう。酵素の働きを支配する因子としては、次の三つがあげられる。

- 1) 酵素の活性の変化
- 2) 酵素の基質、補酵素などの供給の変化
- 3) 酵素の絶対量 (生合成と分解)

ホルモンが直接の相互作用で酵素活性を変化させる可能性は、最も簡単なホルモンの作用機構として以前から多くの人の注目を集めた。試験管内で各種のホル

Mechanism of hormone action with special emphasis on the hormonal control of protein synthesis ;

※ Nobuo UI: Department of Physical Biochemistry, Institute of Endocrinology, Gunma University, Maebashi.

第1図 グルタミン酸脱水素酵素の種々のステロイドホルモンによる阻害³⁾

モンを酵素と混ぜ、酵素活性の変化をしらべる試みが数多く行なわれた。しかしこれまでのところ直接作用に肯定的な結果は得られていない。酵素活性がホルモンの存在で全く変化しないか、たとえ変化があっても生体内では考えられない高い濃度のホルモンを必要とし、しかも見られる変化は酵素活性の一方的阻害の場合が多い。

このような否定的な研究結果の中で、Tomkins^{3~5)}らがウシの肝臓のグルタミン酸脱水素酵素について行なった研究は注目すべき内容を含んでいる。この酵素は種々のステロイドホルモンの存在下で活性の阻害を受ける(第1図)が、このとき酵素蛋白のコンフォーメ

ーションの変化が伴うことが見出された。この酵素は分子量が約100万で、希釈などにより4個のサブユニットに分裂する傾向をもつが、ステロイドホルモンはサブユニットの構造に変化を与え、会合体の形成を阻害する作用をもつ。さらに、グルタミン酸脱水素酵素としての活性の阻害と同時に、第2図に見られるようにアラニン脱水素酵素活性が増してくることが明らかになった。したがってこの場合ホルモンは酵素の活性を量的にも質的にも支配していることになる。

ステロイドホルモンが生体内で実際にこのように働いているとは考えにくい。最も強い活性を示す合成女性ホルモンのジェチルスチルベストロールの場合でも、 $10^{-5} \sim 10^{-6} \text{ M}$ の濃度が必要で、生体内で考えられるホルモンの濃度に比べるときわめて大きいからである。同じような現象が甲状腺ホルモンであるチロキシンの⁶⁾についても見られているが、事情は全く同じである。ではこれらの事実は全く意味のないものであろうか。ホルモンと酵素との直接相互作用は存在しないとしても、²⁾ここに見られるような典型的な allosteric interaction は、現在はまだ仮定の域を出ないホルモンのリセプター(receptor)とホルモンとの間の結合の形式を暗示するものとして、きわめて興味深く思われる。

酵素活性に影響をおよぼす因子として、前駆体の活性化、なんらかの原因でマスクされた状態にある酵素の活性化の問題も考慮しなければなるまいが、確からしい知見はない。アドレナリン、グルカゴン、ACTH(副腎皮質刺激ホルモン)などのホルモンは $3',5'$ cyclic AMP⁷⁾を通して作用する可能性を示す事実が得られ、 $3',5'$ AMP はフォスホリラーゼ b (不活性型) か

第2図 ジェチルスチルベストロールによるグルタミン酸脱水素酵素のアラニン脱水素活性の促進⁴⁾。
縦軸はアラニン脱水素活性を示す。

らフォスホリラーゼ a (活性型) への変換を促進するが、ここでホルモンが直接影響するのは cyclic AMP の生成の段階であるらしい。

第2の問題点である基質や補酵素の供給の問題もかなり検討されてきた。その最も有名な例としてインシュリンの膜透過性に対する作用があげられる。インシュリンは血糖を低下させ、グルコースからのグリコーゲン合成⁸⁾を促進する働きが知られているが、Levine⁹⁾一派の研究で、糖の細胞へのとりこみの段階に問題があることが示された。*in vitro* の実験でもとりこみに対するインシュリンの促進効果が認められる。この結果、ホルモンが一般的に細胞の膜透過性を変え、これによって代謝が影響されるという考え方が一時盛んに問題にされるようになった。しかしインシュリンでも糖の膜透過の促進と独立にアミノ酸のとりこみを促進したり、蛋白合成を高めることが知られている。細胞でどの段階が律速段階かということが問題であるが、膜透過の促進効果のみでホルモンの作用の全体を説明できないことは、その他の膜透過性に関係すると考えられるホルモンの例からも明らかである。

第3の問題点、すなわちホルモンが特定の酵素蛋白ないしは蛋白質一般の合成をコントロールするという事実は多くのホルモンで現在きわめて確実なものとなった。ホルモンの中には成長ホルモンのように成長に不可欠のホルモンも少なくないが、蛋白質の一般的な合成の促進ではなく、特定の蛋白質の合成が影響を受ける例も稀ではなく、ホルモンの働く過程での本質的直接的な関与が問題になってきたわけである。

3. ホルモンの作用と蛋白合成

ホルモンによって動物に引き起こされる変化の過程に蛋白合成が介在することが確からしい実例として、まず甲状腺ホルモンについての研究結果を述べよう。甲状腺ホルモンとはチロキシン (thyroxine)、トリヨードチロニン (3,5,3'-triiodothyronine, T_3 と略す) などで、ヨウ素を含んだ特殊なアミノ酸である。動物の基礎代謝を高め、成長促進にあずかることがその実質的な作用⁹⁾として知られている。

Tata⁹⁾らの研究によると、甲状腺を摘出して明らかに基礎代謝が低下したラットに体重100g 当り15~20 μ g の T_3 を1回注射したとき、やがて基礎代謝や肝臓のミトコンドリアの酸素消費が正常値に回復することが見られる。非生理的に高濃度のホルモンを投与した実験とは違って、P/O 比は一定で、酸化的磷酸化の

uncoupling の現象は見られない。このように甲状腺ホルモンの効果が生理的条件下で再現できるわけであるが、以前から知られているように、ホルモンの作用が見られるまでには注射した後約35時間という長時間を要する。

このような latent period の存在は他のホルモンでも決してめずらしいことではないが、この間になにが起こっているかを解析することが、より直接的なホルモン作用を知るために重要な問題になってくる。外から観測できるような変化が起こる前に、細胞内ではどんな準備が行なわれるのであろうか？

この latent period の間に甲状腺ホルモンとミトコンドリアの酵素とが直接作用する可能性は全く認められず、得られた結果はいずれもホルモン処理によるミトコンドリアの構成成分の量的な増加を示唆^{9,10)}している。そしてちょうどこれを裏書きして、甲状腺ホルモンの蛋白合成促進作用が実際に認められるに至った。^{11,12)} 甲状腺を摘出したラットに前と同じように T_3 を注射すると、肝臓のミトコンドリアおよびミクロゾームの蛋白へのアミノ酸のとりこみが、第1表のようにほぼ2倍に増加することが、*in vitro* の実験で見られる。

第1表 ^{14}C -ロイシンの肝臓ミトコンドリアおよびミクロゾーム蛋白へのとりこみに対する甲状腺ホルモンの効果

動 物	ミトコンドリア へのとりこみ	ミクロゾームへのとり こみ	
	($\mu\text{C } ^{14}\text{C}/\text{mg}$ 蛋白/時間)	($\mu\text{C } ^{14}\text{C}/\text{mg}$ 蛋白/10分)	($\mu\text{C } ^{14}\text{C}/\text{mg}$ RNA/10分)
正常ラット	50.5	712	2.86
甲状腺摘出 ラット	35.2	323	1.65
同上 + T_3 *	65.0	741	2.67

* 3,5,3'-トリヨードチロニン20~25 μg を注射して45時間後に殺した甲状腺摘出ラットでの値。

そしてその促進は基礎代謝に変化が起こるより以前に認められる。第3図はこの間の時間的な経過を模式的に書いたもので、酵素合成に見られた変化が、拡大され全体的な変化におよぶ様が理解されよう。蛋白合成に先立つ RNA 合成の問題は後に立戻ることとして、蛋白合成の阻害剤であるピュロマイシンや RNA 合成の阻害剤であるアクチノマイシンDなどによって基礎代謝、その他に対して見られた甲状腺ホルモンの効果¹⁴⁾が完全に消失することだけを指摘しておこう。この結果は新しく蛋白合成が起こることがホルモンの作用発現の必須の条件であることを示すと考えられるわけ

第3図 甲状腺摘出ラットに甲状腺ホルモンを注射した後における変化の時間的経過の模式図¹³⁾
 1: 速やかにラベルされる核 RNA. 2: 核の RNA ポリメラーゼ活性.
 3: アミノ酸のミトコンドリアおよびミクロゾーム蛋白へのとりこみ.
 4: ミトコンドリアのチトクロームオキシダーゼ活性. 5: ミクロゾームの NADPH-チトクローム c 還元酵素. 6: 基礎代謝. 7: 肝臓重量 6 を除きいずれも肝臓で得られた値を示す。

である。

甲状腺ホルモンが特定の酵素の合成に関与することがより確実に示されたのは、このホルモンの両生類の変態促進作用の場合である。甲状腺ホルモンが分泌されない状態では、成長は起こってもオタマジャクシのままにとどまり変態を起こさない。甲状腺ホルモンを与えると、変態が始まって、水生のオタマジャクシからカエルに変化するのに伴って、劇的な蛋白の新生が認められる。成人型のヘモグロビン、尿素サイクルの酵素がその例である。このことは carbamyl phosphate synthetase について *in vivo*¹⁵⁾ および組織切片を使った *in vitro*¹⁶⁾ の実験で確認されている。

酵素の誘導を起こすホルモンの例として副腎皮質のステロイドホルモンであるコーチゾンなどの研究もかなり以前から始められ、有名である。副腎を摘出したラットにコーチゾンを注射すると、トリプトファンピロラゼ¹⁸⁾、チシロン- α -ケトグルタル酸トランスアミナーゼなどのが性活 2~3 時間で急激に増加する。そしてこれが酵素蛋白の絶対量の増加であることが、抗体を使った実験などによって確かめられた。ピュロマイシン¹⁹⁾ およびアクチノマイシン D がこの誘導を阻止することはもちろんである。^{20~22)}

また性ステロイドホルモンが、いろいろの臓器で乳酸脱水素酵素のアイソザイムの構成に変化を与えることが知られているが、これもホルモンが特異蛋白質の合成にあずかる例である。²⁴⁾

特定の蛋白質の合成がホルモンの作用の出現に必須だとすると、蛋白合成のどの段階にホルモンが関係しているかが次の問題になってくる。あるいは 2 次的な間接的な効果を見ているに過ぎないのであろうか。ホルモンによる蛋白合成の促進が見られるのにはかなり時間がかかることが多く、甲状腺ホルモンではその生物学的半減期よりも長いのである。このような疑問にどうして答えたらよいのであろうか。

4. 遺伝子レベルでのホルモン作用

特定の蛋白質の合成の鍵をにぎるのは遺伝子のもつ情報を解読する段階だと考えられている。DNA に貯えられ遺伝情報を担った特定のメッセンジャー RNA (mRNA) が DNA 上で合成されることが、これに対応した蛋白質の合成が始まる必要条件であるならば、蛋白質の合成を調節するホルモンは mRNA の合成を調節すると考えることは一応最も自然な考え方である。

このようにホルモンが細胞核内でのいわゆる transcription の段階で働くことを最初に唱えたのは Karl-son²⁵⁾ である。昆虫の変態ホルモンであるエクディゾン (ecdysone) (化学的にはステロイドに属する) を幼虫に注射すると、15~20分で唾腺の巨大染色体の特定の位置に遺伝子の活動の場と考えられる“puff”が出現するのが認められる。この puff 形成はアクチノマイシンで抑えられるが、ピュロマイシンでは抑えられ

²⁶⁾ エクディゾンが遺伝子上で mRNA を合成する段階に効いているらしいことを示している。クロルリバエの幼虫についてエクディゾンの標的器官である表皮への³²Pのとりこみをしらべると、ホルモンによって RNA 全般へのとりこみ促進が見られるのはかなり時間が経ってからのことであるが、mRNA に富むと考えられる分画へのとりこみ促進はエクディゾン注射後1時間以内に認められる。さらにこの分画は変態によるクチクラ化(表皮の硬化現象)の key enzyme と考えられるドーパデカルボキシラーゼを合成させる能力をもつことが実際に *in vitro* の系で認められたのである。

したがって、エクディゾンはまず遺伝子を活性化して特定の mRNA の合成を促し、これによってドーパデカルボキシラーゼなどの酵素の合成が開始され、その結果表皮の硬化が起こって変態に導かれるという順序が、細かい点は別として一応示されたことになる。

もう少し深くこの問題に立入る前に他のホルモンについての結果を眺めてみよう。Williams-Ashman 一派は男性ホルモンのテストステロンについて調べている。去勢後2〜3日過ぎた雄ラットの前立腺からリボゾームを取り出し、これを使って無細胞系を組み立てて²⁸⁾アミノ酸の蛋白へのとりこみを調べた結果は次の通りである。去勢ラットのリボゾームを利用した場合は正常ラットのときに比べて著しくとりこみが低いが、去勢ラットにあらかじめテストステロンを注射しておく、正常と変りない高いとりこみを示す。この実験ではとりこみが加えたリボゾームの量にのみ依存するような実験条件が選ばれているので、テストステロン処理がリボゾームになんらかの変化を与えたことになる。

この系にウリジル酸とグアニル酸のコポリマー (poly UG)²⁸⁾、あるいはポリウリジル酸 (poly U)²⁹⁾を加え、¹⁴C-パリン、あるいは¹⁴C-フェニルアラニンのとりこみを測定すると、第4図に見られるように、男性ホルモンで処理した群ではあまり変化がなく僅かにとりこみの増加が認められていどであるが、去勢群では顕著なとりこみ促進が起こり、ホルモンによる処理を受けた群と変りない値になる。この事実はリボゾームについて mRNA のレベルがテストステロンの支配を受けているためと解釈することができる。

このことは核から抽出された RNA 分画を使っての実験からも示されている。³⁰⁾ あらかじめ mRNA を除いておいた大腸菌のリボゾームを用いた系を利用し

第4図 前立腺リボゾームによる¹⁴Cパリンのとりこみに対するテストステロン処理の影響²⁸⁾
横軸は加えたリボゾーム量で、縦軸は蛋白分画にとりこまれた放射能を示す。

第5図 前立腺の核 RNA による蛋白合成促進効果に対するテストステロン処理の影響³⁰⁾
大腸菌のリボゾーム系を用いて¹⁴C-パリンのとりこみを比較したもの。

て、アミノ酸の蛋白へのとりこみ促進能を比較してみると、テストステロン処理を受けたラットの核 RNA では去勢ラットに比し重量あたりほぼ2倍のとりこみを示す(第5図)。

さらに、前立腺のポリメラーゼ活性を測るとテストステロンの処理で上昇することも認められ、これは注射後1時間以内に見られるかなり速い応答である。肝臓、胸腺などの非標的器官ではこの変化がないので、特異的な反応らしい。

女性ホルモンでも、おもに阻害剤を使った実験から初期に RNA が合成されることがホルモン作用の発現

に必要であること^{32,33)}、かなり速やかに RNA ポリメラーゼの活性上昇が見られることが分っている³⁴⁾。

前にあげた甲状腺ホルモンの例でも、実は蛋白合成の促進効果が見られる以前、すなわちホルモンの注射後6時間ぐらいから核 RNA への¹⁴C-オロチン酸のとりこみの促進が認められ、15~18時間では3倍に達する³⁵⁾。この場合 RNA ポリメラーゼ活性の上昇はこれより少し遅れるようである³⁶⁾。

この他、成長ホルモン³⁷⁾、ACTH³⁸⁾、インシュリン³⁹⁾のような蛋白質ホルモンでもほぼ同様の事実が知られ、遺伝子レベルでのホルモンの作用はかなり一般的なものと思われる。

ホルモンが mRNA の合成を促し、これによって特定の蛋白質の合成を盛んにすることが事実ならば、ホルモンによって影響を受けるのは mRNA 全体ではなく、その特定のもののだけでなくはなるまい。これに肯定的な結果は Kidson らによって得られている。彼らはまず *in vivo* で⁴⁰⁾ ³H-オロチン酸でパルスラベルした後ラット肝臓から 4-aminosalicylate/phenol 法で速やかにラベルされる RNA 分画を抽出した(彼らはこれを mRNA と考えている)。この RNA 分画を向流分配法で分析すると、第6図に示されたチロキシンの例のように、ラベルされた RNA の分布は決して一様ではない上に、ホルモン投与後の時間によっても分布が著しく変化する。テストステロン、ハイドロコチゾン、インシュリンなどではそれぞれ独特の分布が見られる。用いられた RNA 分画が mRNA の

みから成るとは考えにくいし、疑問の点が少なくないが、これまで述べてきた考え方にはつごうのよいデータである。

mRNA の合成をホルモンが促すとした場合に、具体的にどんな機構が考えられるか現在のところ全く分っていない。RNA ポリメラーゼ活性の増加が初期に認められることも、新しく合成されたためか、活性化が起こったためかもよく分らない。高イオン強度の溶媒中でポリメラーゼ活性を測定すると常にホルモンによる促進効果が消失してしまうから、DNA の priming ability の問題かも知れない。

違ったホルモンを同時に与えるとポリメラーゼの活性の上昇に相加性が成り立つことは、それぞれのホルモンが独自の機構で活性を高めていることを意味するのであろう⁴¹⁾。

動物の細胞では、ヒストンが DNA の大部分と結合して、RNA の合成を抑制しているとされている。Bonner は、ホルモンがヒストンを DNA から外すことによって RNA 合成の redepression を起こすのだと考えている⁴²⁾。

5. 細胞質レベルでのホルモン作用の可能性

これまでに述べてきたような考え方で、ホルモンの作用の筋道はかなり明快になったように見える。しかし、よく考えてみるといろいろ疑問となる点も少なくない。事実、遺伝子レベルでの調節以外に細胞質レベルでの調節なども考慮に入れなければならないような

第6図 向流分配法でしらべた mRNA 分布に対する甲状腺ホルモン処理の影響⁴⁰⁾。³H-オロチン酸で20分間パルスラベルしたもの。——: コントロール,: チロキシンであらかじめ15分処理したもの,: チロキシン前処理1時間, - - - - -: 甲状腺の機能を抑えるチオウラシルで2時間前処理を行なったもの。

実験結果も得られている。このような事情について詳しく説明しよう。

細菌における酵素の誘導が、それまでに存在していなかった RNA の合成によって開始されることは理解しやすい。しかし動物細胞における蛋白合成をホルモンが調節するのは、多く常時多少とも合成が続いている蛋白質についての話である。したがって蛋白合成の過程で mRNA の合成が律速段階にある場合でなければ、mRNA の合成速度を問題にするわけにゆかない。細菌の mRNA の寿命は数分位といわれる^{43,44)}。動物細胞では mRNA が一般にかなり安定で、寿命が数時間におよぶといわれる。またホルモンの働く条件で細胞分裂はほとんど起こらない。このような場合に、mRNA の合成が律速段階になるとはかなり考えにくいのである。またホルモンを投与してから RNA 合成の促進が見られるまでの時間は一般的にあまり短くない。また *in vitro* の RNA 合成系にホルモンを直接加えたときの効果はほとんどすべての場合否定されている。これらのことも、mRNA 合成の直接関与を否定しないにしても、有利な材料ではない。

最も問題になるのは、ホルモンによって促進されるという核 RNA の内容である。速やかにラベルされる核 RNA は当然 mRNA を含むが、mRNA の促進のみを見ている保証はない。実際は他の種の RNA の合成も同時に促進されているのが事実のようである。

Kenney⁴⁵⁾らのハイドロコチゾンについての研究結果を例に示そう。副腎を摘出したラットに ³²P を注射し、20分後に肝臓を取り出して RNA をフェノール法で分画し、各分画への ³²P のとりこみをしらべると、あらかじめ *in vivo* でコチゾン処理を受けたものと受けないものとの間に大きな差が見られる。45℃で抽出される RNA はリボゾームの前駆体と考えられ、パルスラベルされた全 ³²P-RNA の45%をしめるが、ホルモン処理でとりこみ量が2〜3倍に増加する(第2表)。ラベルされた RNA の前駆体をもっと長時間(

2時間)あたえ、リボゾーム RNA を抽出して蔗糖密度勾配遠心法でしらべると、確かに18S, 28Sのリボゾーム RNA への変化が促進されているのが分る。

他方ドデシル硫酸ナトリウムの存在下で85℃でフェノールに抽出される RNA は塩基組成、沈降パターンから考えて mRNA を含むと考えると大過なさそうである。全 RNA の15%をしめるに過ぎないが、全 ³²P-RNA の50%に達し、ハイドロコチゾンによるとりこみの促進も顕著であるが(第2表)、そのていどはリボゾーム前駆体 RNA での変化を越えることはない。

転移 RNA についても、末端アデニル酸の terminal turnover⁴⁶⁾はホルモンの影響を受けないが、*de novo* 合成は2〜3倍の促進を受ける。これらの結果はいずれもホルモンによる RNA 前駆体のプールサイズの変化では説明できない。

このように mRNA を含むと考えられる RNA 分画に対するホルモンの初期効果とは別に、同時にしかも同じていどの促進効果が他の RNA 分画、特にリボゾーム前駆体 RNA にも見られることは決してめずらしくない。エストロゲン⁴⁸⁾、テストステロン⁴⁹⁾、成長ホルモン⁴⁹⁾でも見られ、すでに述べたエクディゾンの場合も mRNA の合成促進と同時にリボゾーム RNA の合成促進が明らかにされているのである²⁷⁾。

リボゾーム前駆体 RNA の合成が促進されることの意味は明らかでない。あるいは特定の蛋白の合成には特定のリボゾームが用意されることが必要なのかも知れない。あるいはまた現在眺めている促進効果はホルモンの作用として直接的なものでなく、もっと早い時期に特異的な mRNA の合成促進が起こっていたのが見のがされているのかも知れない。それはともかくとして、ホルモンによる調節が細胞質レベルにも存在するらしいことを示唆する事実がいくつか知られている⁵⁰⁾。

Garren⁵⁰⁾らはハイドロコチゾンによるトリプトファンピロラーゼ、チロシン- α -ケトグルタル酸トランスアミナーゼの誘導の実験で奇妙な事実を見出した。ホルモンを注射した後の酵素レベルは第7図のような経過で上昇、低下する。蛋白合成の阻害剤ピュロマイシンを注射すると誘導を抑制し、あるいはすでに高まっている酵素レベルを急激に低下させる。またアクチノマイシン D または5-フルオロウラシルをホルモンと一緒に投与して RNA 合成を抑えると誘導は当然起こらない。しかし誘導がすでに起ったホルモン投与後4時間以降に RNA 合成の阻害剤を与えたのでは酵素レベルを低下させるのではなく逆に増加させる(第7図参

第2表 核 RNA 分画への ³²P のとりこみに対するハイドロコチゾンの影響⁴⁷⁾

抽出条件	主な ³² P-RNA 成分	比 活 性 *	
		無処理	+ハイドロコチゾン
45℃	リボゾーム前駆体 RNA	2290	5650
85℃+SDS	DNA 様 RNA	6070	14500

※ c.p.m./mg RNA/c.p.m./ μ mole P_i

第7図 ハイドロコルチゾン注射後のトリプトファンピロラーゼ活性の変動とこれに対するアクチノマイシンDの効果⁵⁰⁾。
矢印はアクチノマイシン注射の時間をあらわし、点線はこれによって起こった変化を示す。

照)。Garren らはこの現象を mRNA の translation の段階で酵素の合成に対して抑制的に働く細胞質レプレッサー (cytoplasmic repressor) の存在を仮定することによって説明している。すなわち誘導酵素の合成に必要な mRNA は安定で十分な量存在するが、レプレッサーの存在で合成が阻害を受けていると考える。もしレプレッサーが不安定で、その合成に常に新しい mRNA を必要とするならば、アクチノマイシンの存在でレプレッサーによる阻害が外れたときに誘導酵素の合成が盛んになることが理解できる。このレプレッサー⁵¹⁾は蛋白質またはその反応生成物と推定されているが、使用した阻害剤が副反応を起こしていないことが証明されその存在が確認されれば、きわめて重要な意味をもつ結果である。

また ACTH の副腎におけるステロイド合成の促進作用⁵²⁾の検討から、代謝回転がきわめて早くかつステロイド合成を支配する特定な蛋白質が存在しその合成を ACTH が細胞質レベルで調節することを示唆する結果が得られている。

少し違った考え方として、リボゾームの側に原因を求める方向がある。Tata らは甲状腺ホルモンの作用によって新しく合成されたリボゾームが endoplasmic reticulum により強く結合していることを認め、これが蛋白合成の促進をもたらすと想像している。このような endoplasmic reticulum の重要性は Pitot らによっても指摘されている。また Korner は脳下垂体を摘出したラットと正常ラットとの肝臓のリボゾームの機能的な差を問題にしている。

6. ホルモンに対するレセプターの存在の可能性

ホルモンの作用機構をしらべるのに、もう一つのアプローチの仕方が考えられる。ホルモンの作用はきわめて特異的なものであるから、ホルモンによって影響を受ける組織の細胞はホルモンを他の物質から区別する能力をもたねばならない。したがってホルモンが細胞に入った直後の行動を追跡し、ホルモンと直接の相互作用を見出すことは、実験的な困難さや結果の解釈のあいまいさが残る問題を別にすれば、有効な研究手段に違いない。このような方向の研究から、ホルモンのレセプターらしい性格をもつ物質の存在が報告されている。

Noteboom, Gorski⁵⁶⁾ は幼弱ラットに生理的な量 (0.01 μ g) の 3 H-エストラジオール-17 β を注射し、子宮細胞内の分布をしらべた。ラベルされたホルモンの半分以上は 800g, 10分の遠心で沈殿するいわゆる nuclear-myo-fibrillar fraction に見出され、この結合はホルモンを *in vivo* で加えた場合のみに起こる。結合の特異性はさらに次の実験で確かめられた。ラベルされたエストラジオール-17 β を注射する2時間前に多量 (1 μ g) のラベルされていない種々のステロイドで処理をしておくと、第8図に見られるように子宮に有効なジェチルスチルベストロールのみがエストラジオール-17 β のラベルを低下させるのに有効である。この場合ホルモン作用を示さないテストステロン、コーチゾル、エストラジオール-17 α はコントロールと同じだけのラベルをこの分画にとどめている。酵素を働かせる実験からこの女性ホルモンと結合する物質は蛋白性のものと推定されている。ホルモンが標的器官の核に集まる事実は、アルドステロンについて、オートラジオグラフィ⁵⁷⁾の技術を使って示されている。

また Talwar らは子宮の上清分画からエストラジオールに対するレセプター様のものを取り出した。ゲル濾過で分けられ問題の成分を含むと考えられる分画は、

第8図 ラット子宮の nuclear-myo-fibrillar 分画の ^3H -エストロジオールとの結合。対照はラベルされたホルモン (0.01 μg) のみを注射したもので、他は各種のラベルされていないホルモン (1 μg) を2時間前に注射しておいたものについて測定した。ジエチルステルベストロールのみが ^3H -エストロジオールを除去する効果をもつことが示されている。

in vivo 以外 *in vitro* でもホルモンと結合する性質をもつ。きわめて興味あることには、去勢した動物から得られたものは *in vitro* で RNA ポリメラーゼ系に加えると酵素活性を阻害し、エストロジオール処理を受けた動物を原料としたときは阻害が見られない。また阻害を示す分画でもあらかじめエストロジオールとともにインキュベートしておく、その阻害作用が消失するという。もしこれが生理的意義のある現象ならば、レプレッサーの作用をもつレセプターを見出したことになるわけで今後の検討が望まれる。

ホルモンの結合部位としては、しばしば細胞膜が問題にされている。パソプレッシン⁵⁹⁾、インシュリン⁶⁰⁾など分子内に S-S 結合をもつホルモンは、S-S の交換反応で膜のレセプターに結合するという考え方が提出されているが、確実かどうか分らない。

ホルモンには蛋白合成とは無関係と考えられる作用も知られている。^{61, 62)} いろいろな種類のホルモン作用を一元的に説明する機構として、Hechter はホルモンが細胞膜に働いてその構造を変化させるといふ仮説を提唱している。膜構造の変化がいわば増巾され、細胞の要所に伝えられホルモンの作用を示すという考えである。現在実験的に当否を判定することが困難であるが、一つの考え方として興味がある。

7. おわりに

以上ホルモンの作用機構について蛋白合成、核酸合成の面に重点をおいて最近の進歩の概略を紹介した。ここ2~3年の急速な進展にもかかわらず、まだ本質的な理解にはほど遠く、あいまいであったり、矛盾した結果も少なくないのが現状である。

ホルモンの効果が見られるのはいくつかの例外を除いて生体に与えられたときに限られるか、あるいは *in vitro* の効果といってもとり出された組織そのまま組織切片について見られたに過ぎない。このようなためもあってホルモンの直接的な効果と2次的間接的な効果、さらには実験条件下での非特異的な作用が混り合って結果の解釈を困難にしていることは否めない。この種の研究にしばしば蛋白合成、核酸合成の阻害剤が用いられるが、その副次的な反応などについても今後慎重に検討されねばならない。実験的な困難さは大きい、特異的な蛋白合成のみが起こり得る系について解析を進めること、本質的なホルモン作用が見られる無細胞系を組み立てこれについて検討することなどは今後の重要な課題であろう。ともあれいろいろな方向、いろいろなレベルでの研究が推進され、ホルモンの本質的な作用機構ひいては細胞の調節機能の本質が近い将来に解明されることが望まれる。

本稿ではまったく触れなかったが、ホルモンの物質的な性状に関する研究はかなり進展している。低分子量のステロイドホルモンなどはいうまでもなく、ペプチドホルモン、蛋白ホルモンなどについてもその化学構造が明らかにされ、化学的合成が可能になったものも少なくない。ACTH に見られるように構造と活性との関係に関してもかなりのことが明らかになってきた。このような知識の集積は、ホルモンの直接的な作用部位が明らかになったときに偉力を発揮し、その作用機構の解明に貢献することが大きいに違いない。

文 献

- 1) F. Jacob, J. Monod: J. Mol. Biol., 3, 318 (1961).
- 2) J. Monod, J.-P. Changeux, F. Monod: J. Mol. Biol., 6, 306 (1963).
- 3) K. L. Yelding, G. M. Tomkins: Proc. U. S. Natl. Acad. Sci., 46, 1483 (1960).
- 4) G. M. Tomkins, K. L. Yelding, J. Curran: Proc. U. S. Natl. Acad. Sci., 47, 270 (1961).
- 5) G. M. Tomkins, K. L. Yelding, N. Talal, J. F. Curran: Cold Spring Harbor Symposia on Quant. Biol., 28, 461 (1963).
- 6) J. Wolff: J. Biol. Chem., 237, 230, 236 (1962).
- 7) E. W. Sutherland, T. W. Rall: Pharmacol. Rev., 12, 265 (1960).

- 8) R. Levine, M. Goldstein: *Rec. Prog. Hormone Research*, **11**, 343 (1955).
- 9) J. R. Tata, L. Ernster, O. Lindberg, E. Arrhenius, S. Pedersen, R. Hedman: *Biochem. J.*, **86**, 408 (1963).
- 10) R. Gustafson, J. R. Tata: *J. Ultrastruct. Research*, **9**, 396 (1963).
- 11) K. B. Freeman, D. B. Roodyn, J. R. Tata: *Biochim. Biophys. Acta*, **72**, 129 (1963).
- 12) D. B. Roodyn, K. B. Freeman, J. R. Tata: *Biochem. J.*, **94**, 628 (1965).
- 13) J. R. Tata: *Mechanisms of Hormone Action* (ed. P. Karlson) p. 173, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1965).
- 14) J. R. Tata: *Nature*, **197**, 1167 (1963).
- 15) R. L. Metzberg, M. Marshall, W. K. Paik, P. P. Cohen: *J. Biol. Chem.*, **236**, 162 (1961).
- 16) M. Tatibana, P. P. Cohen: *J. Biol. Chem.*, **239**, 2905 (1964); *Proc. U. S. Natl. Acad. Sci.*, **53**, 104 (1965).
- 17) W. E. Knox, U. H. Auerbach, E. C. Lin: *Physiol. Rev.*, **36**, 164 (1956).
- 18) P. Feigelson, O. Greengard: *Recent Progress in Hormone Research*, **18**, 491 (1962).
- 19) F. T. Kenney, R. H. Flora: *J. Biol. Chem.*, **236**, 2699 (1961).
- 20) P. Feigelson, O. Greengard: *J. Biol. Chem.*, **237**, 3714 (1962).
- 21) F. T. Kenney: *J. Biol. Chem.*, **237**, 1610, 3495 (1962).
- 22) R. T. Schimke, F. W. Sweeney, C. M. Berlin: *J. Biol. Chem.*, **240**, 322 (1965).
- 23) O. Greengard, G. Weber, M. Singhal: *Science*, **141**, 160 (1963).
- 24) T. L. Goodfriend, N. O. Kaplan: *J. Biol. Chem.*, **239**, 130 (1964).
- 25) P. Karlson: *Perspectives in Biological Medicine*, **6**, 203 (1963).
- 26) U. Clever: *Mechanisms of Hormone Action* (ed. P. Karlson) p. 142, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1965).
- 27) C. E. Sekeris: *ibid.*, p. 149.
- 28) S. Liao, H. G. Williams-Ashman: *Proc. U. S. Nat. Acad. Sci.*, **48**, 1956 (1962).
- 29) D. A. Silverman, S. Liao, H. G. Williams-Ashman: *Nature*, **199**, 808 (1963).
- 30) S. Liao: *J. Biol. Chem.*, **240**, 1236 (1965).
- 31) S. Liao, K. R. Leininger, D. Sagher, R. W. Barton: *Endocrinology*, **77**, 763 (1965).
- 32) H. Ui, G. C. Mueller: *Proc. U. S. Natl. Acad. Sci.*, **50**, 256 (1963).
- 33) J. A. Nicolette, J. Gorski: *Arch. Biochem. Biophys.*, **107**, 279 (1964).
- 34) J. Gorski: *J. Biol. Chem.*, **239**, 889 (1964).
- 35) J. R. Tata: *Biochim. Biophys. Acta*, **87**, 528 (1964).
- 36) C. C. Widnell, J. R. Tata: *Biochim. Biophys. Acta*, **72**, 506 (1963).
- 37) A. Korner: *Biochem. J.*, **92**, 449 (1964).
- 38) R. V. Farese, W. J. Reddy: *Biochim. Biophys. Acta*, **76**, 145 (1963).
- 39) I. G. Wool: *Biochim. Biophys. Acta*, **68**, 28 (1963); I. G. Wool, H. J. Munro: *Proc. U. S. Natl. Acad. Sci.*, **50**, 918 (1963).
- 40) C. Kidson, K. S. Kirby: *Nature*, **203**, 599 (1964).
- 41) C. C. Widnell, J. R. Tata: *Biochem. J.*, **98**, 621 (1966).
- 42) J. Bonner: *The Molecular Biology of Development*, p. 117, Clarendon Press, Oxford (1965).
- 43) S. Villa-Trevino, E. Farber, T. Staehelin, F. O. Wettstein, H. Noll: *J. Biol. Chem.*, **239**, 3827 (1964).
- 44) M. Revel, H. H. Hiatt: *Proc. U. S. Natl. Acad. Sci.*, **51**, 810 (1964).
- 45) D. L. Greenman, W. D. Wicks, F. T. Kenney: *J. Biol. Chem.*, **240**, 4420 (1965).
- 46) W. D. Wicks, D. L. Greenman, F. T. Kenney: *J. Biol. Chem.*, **240**, 4414 (1965).
- 47) F. T. Kenney, W. D. Wicks, O. L. Greenman: *J. Cell. & Comp. Physiol.*, **66**, 125 (1965).
- 48) J. Gorski, N. J. Nelson: *Arch. Biochem. Biophys.*, **110**, 284 (1965).
- 49) A. Korner: *J. Cell. & Comp. Physiol.*, **66**, 153 (1965).
- 50) L. D. Garren, R. R. Howell, G. M. Tomkins, R. M. Crocco: *Proc. U. S. Natl. Acad. Sci.*, **52**, 1121 (1964).
- 51) G. M. Tomkins, L. D. Garren, R. R. Howell, B. Peterkosky: *J. Cell. & Comp. Physiol.*, **66**, 137 (1965).
- 52) L. D. Garren, R. L. Ney, W. W. Davis: *Proc. U. S. Natl. Acad. Sci.*, **53**, 1443 (1965).
- 53) J. R. Tata, C. C. Widnell: *Biochem. J.*, **98**, 604 (1966).
- 54) H. C. Pitot, Y. S. Cho, C. Lamar, Jr., C. Peraino: *J. Cell. & Comp. Physiol.*, **66**, 163 (1965).
- 55) A. Korner, J. M. Gumbley: *Nature*, **209**, 505 (1966).
- 56) W. D. Noteboom, J. Gorski: *Arch. Biochem. Biophys.*, **111**, 559 (1965).
- 57) G. A. Porter, R. Bogoroch, I. S. Edelman: *Proc. U. S. Natl. Acad. Sci.*, **52**, 1326 (1964).
- 58) G. P. Talwar, S. J. Segal, A. Evans, O. W. Davidson: *Proc. U. S. Natl. Acad. Sci.*, **52**, 1059 (1964).
- 59) I. L. Schwartz, H. Rasmussen, J. Marc-Aurele, D. Christmer: *The Biochemical Aspects of Hormone Action* (ed. A. B. Einstein), p. 66, Little Brown (1964).
- 60) C. R. Park, H. E. Morgan, H. Kaji, M. Smith: *ibid.*, p. 18.
- 61) P. D. Ray, D. O. Foster, H. A. Lardy: *J. Biol. Chem.*, **239**, 3396 (1964).
- 62) W. Tong: *Endocrinology*, **76**, 163 (1965).
- 63) O. Hechter: *Mechanisms of Hormone Action* (ed. P. Karlson) p. 61, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1965).