Studies on the Thyroid Hormone Synthesis and Peripheral Metabolism of ^{131}I -Labeled Thyroxine in the Goitrous Iodide-Treated Cockerels

Kazuko TAKAHASHI

The Second Department of Internal Medicine, Hokkaido University

School of Medicine, Sapporo, Japan

(Director : Professor Keimei Mashimo M.D.)

The previous report from our institute has shown that the long-term treatment of cockerel with iodide induced a goiter as well as a decrease in thyroxine- ^{131}I and $^{131}\text{MIT}/^{131}\text{DIT}$ ratio.

In order to elucidate the metabolism of stable iodine in the goitrous cockerels, the following experiments were made.

For this purpose, column chromatography using DOWEX, 1×2 , Cl^- form, 200–400 mesh was employed. This resin is able to absorb large doses of inorganic iodine and this column chromatography is more excellent in recovery of thyronine fraction and is more convenient in chemical analysis of stable iodine than paper chromatography.

The plasma thyronine level was also assayed by using this method.

1) After treatment of cockerels with iodine (1 mg/day) for 4 weeks, tracer ^{131}I was injected and thyroids were removed 24 hours later. Thyroid hydrolysate was fractionated by column chromatography and both ^{131}I and ^{127}I in the fraction were determined. Distribution of ^{127}I was compatible with that of ^{131}I , thyronine proportion decreased ($0.01 < p < 0.05$) and MIT/DIT ratio was low. ($p \leq 0.001$).

2) After treatment with a diet containing both ^{131}I and ^{127}I , decrease in MIT/DIT ratio ($0.01 \leq p \leq 0.05$) and thyronine proportion ($p \leq 0.001$) were demonstrated.

Specific activity of ^{131}I in the gland was identical with that in the diet after equilibrium study for 5 weeks.

3) In goitrous cockerels treated with iodine, total ^{131}I content increased to 7 times and thyronine ^{127}I to 3 times as much as controls. One week after discontinuance of a 4-week-iodine treatment, total ^{131}I content decreased depending on the decrease of DIT.

4) In iodide-treated cockerels, plasma thyronine- ^{127}I , half-life of ^{131}I -labeled thyronine and daily degradation of thyronine were not different from controls.

Decrease rate of thyronine synthesis (especially coupling process) and of hormone release as possible causes for the goiter in the iodide-treated cockerels were discussed.

(pp. 425~434)

ヨード甲状腺腫ニワトリにおける甲状腺内ヨード代謝と 末梢サイロキシン代謝に関する研究

北海道大学医学部第二内科 (指導: 真下啓明教授)

高 橋 和 子

(昭和42年4月10日受付)

I 緒 言

ヨードの大量投与が、時に甲状腺を腫大させる作用のあることが知られており、臨床的にヨード治療によっておきたヨード甲状腺腫^{1, 2, 3, 4, 5)}や、海藻の過剰摂取によっておきたと推定される甲状腺腫⁶⁾が報告されている。

動物では、このようなヨードの効果は種属によって異ると云われ⁷⁾ラットでは大量のヨードを投与しても甲状腺腫はおきない⁸⁾。この理由として、ラットではヨード投与により甲状腺内のホルモン合成が抑制されるが、長期投与により、抑制からの“escape”がおきるためと考えられている。^{8, 9, 10, 11)}

一方、Wheeler, Hoffmann, らは、ニワトリに大量のヨードを投与して甲状腺腫がおきたことを報告したが^{12, 13, 14)}、このようなヨード甲状腺腫動物におけるヨード代謝についての知見はほとんどない。

沢田は、ヨード投与により甲状腺腫のおきたニワトリで、¹³¹I 投与後クロマトグラフィにより甲状腺内放射性ヨードアミノ酸を分析し、¹³¹I-Monoiodotyrosine/¹³¹I-Diiodotyrosine (¹³¹MIT/¹³¹DIT) の低下、¹³¹I-thyronine (¹³¹T₃₊₄) 分画の減少が特徴的であることを報告した¹⁵⁾。この事実は、ヨード甲状腺腫ニワトリにおいて、甲状腺内に摂取された ¹³¹I の甲状腺ホルモンへの合成速度が遅延していることを示すものと考えられる。

しかし、甲状腺に実際に存在するヨード化合物の分布については、¹³¹I の結果を直ちにあてはめることができない場合がある。すなわち、¹³¹I 投与後甲状腺内の各ヨードアミノ酸分画の比放射能が等しくなるまでの時間は、動物により、また実験条件により異なる。また甲状腺内ヨード代謝については、“Last Come, First Served System”¹⁶⁾ “Randomization of Radioactive Iodine in Thyroglobulin”¹⁷⁾、“Fast Turnover Iodide pool の存在”¹⁸⁾等の現象のあることが報告されている。したがって、生体内のヨード代謝の実態を明らかにするためには stable ヨード (¹²⁷I) としての分析が必要である。

本研究では、ヨード甲状腺腫ニワトリにおける stable ヨード代謝を知る目的で、ヨード長期投与および中止後の甲状腺内ヨードアミノ酸をカラムクロマトグラフィで分析し、各分画内のヨード量を直接化学的に定量し、また間接的に ¹³¹I を用いた平衡実験から算出することにより、その比率および量を求めた。

また、このようなヨード甲状腺腫ニワトリにおける甲状腺ホルモン分泌の指標として、血中甲状腺ホルモン濃度、および ¹³¹I 標識サイロキシンの代謝速度について検討した。

II 対象および方法

I) 実験動物および飼料

雌または雄の White-Rock 種ニワトリの生後9週目、体重900-1500g. を用い、全実験期間を通じて 0.2 μg/g のヨードを含む飼料で飼育した。

実験 1. 甲状腺内放射性ヨードの分布

10日間上記飼料で飼育した後、10-20μc の carrier free ¹³¹I を腹腔内注射し24時間後に甲状腺を摘出し、

対照群とした。

ヨード負荷群としては、ヨードとして 1.0mg/day/bird のヨードカリ溶液を飲水中に混入して4週間飼育し、その後 100-200 μ C の ^{131}I をヨード1.0mgと共に腹腔内注射し24時間後に甲状腺を摘出した。

実験2. ^{131}I による平衡実験(甲状腺内 stable ヨードアミノ酸分画)

Van Middlesworth⁽¹⁹⁾, Pitt-Rivers⁽²⁰⁾ らの方法に準じ、上記飼料 100g/day/bird で飼育をつづけ(1日ヨード摂取量 20 μ g), 10日後から ^{131}I 10 μ C/ml の stock solution A を 1.0ml/day/bird の割合で経口的に与え、2週後翼静脈から採血し甲状腺を摘出して対照群とした。ひきつづき ^{127}I として 1.0mg/ml を含む同じ比放射能の stock solution B (ヨードカリ溶液) を 1.0ml/day/bird の割合で3週間投与し、同様に採血し甲状腺を摘出してヨード負荷群とした。

実験3. ヨード中止1週後の効果

ヨード負荷4週後ヨードを中止し、1週後に carrier free ^{131}I を腹腔内注射し4時間後甲状腺を摘出して、その放射性ヨードアミノ酸分画を求めた。

また、 ^{131}I による平衡実験では、stock solution B 3週間投与後、前述の stock solution A を1週間投与することによりヨード中止1週間群とした。

実験4. ^{131}I 標識サイロキシンの末梢代謝

^{131}I 標識サイロキシンの末梢代謝は次の4群。すなわち上記飼料で10日以上飼育した対照群、ヨード 1.0mg/day 4週間投与群、ヨード 10.0mg/day 4週間投与群、propyl-thiouracil 50mg/day 4週間投与群、L-thyroxine 50 μ g/day 4週間投与群について実験を行なった。

II) 分析方法

(1) 甲状腺のカラムクロマトグラフィ

摘出甲状腺は直ちに dry-ice box 中で凍結させ torsion balance で秤量した。Homogenate および水解の操作は、沢田と同一の方法で行った^{15, 21, 22, 23, 24)}。水解液は脱イオン水で全量 10. ml とし、その1/2量を DOWEX, 1 $\times$ 2, Cl⁻-type, 200-400mesh を用いたカラムクロマトグラフィ^{25, 26)}によりヨードアミノ酸に分けた。Pileggi らによると、acetate buffer pH3.0, acetic acid pH2.2, pH1.4, で夫々 MIT, DIT, T₃₊₄ が得られ²⁶⁾、Galton, Pitt-Rivers らによると、さらに 3N. NaBr を注ぐことにより resin から無機ヨードが分離されると報告している²⁷⁾。本実験では、column size 1.5 $\times$ 6.0cm, pH3.6 acetate buffer 60ml で MIT, pH2.2 acetic acid 50ml で DIT, pH1.4 acetic acid 50ml で T₃₊₄ を得た。 ^{131}I 標識 MIT, DIT, T₃₊₄ を夫々甲状腺水解液と共に37°C 2時間 incubate した後、カラムクロマトグラフィで得た各分画の放射能を測定しその回収率を求めたところ、MIT は 98.2%, DIT, は 96.9%, T₃₊₄ は 97.5% であった。Resin から無機ヨードを分離する点については、上記 3N. NaBr のみならず HCl を用いても分離することができなかった。したがって脱イオン水で resin をカラムから洗い出し均等な浮遊液としその放射能を測定した。また ^{127}I 5.0mg を ^{131}I と共にカラムに注いだとき、MIT, DIT, T₃₊₄ 中に放射能は検出されず、無機ヨードが他の分画にもれるようなことはなかった。

この方法で得た結果を、ペーパークロマトグラフィ(2N酢酸飽和n-ブタノールを solvent とした上昇法ペーパークロマトグラフィ)で得た結果と比較すると、図に示すような正相関をみとめたが、T₃₊₄ の値はペーパークロマトグラフィの約2倍の高い回収率を示した(Fig. 1)。

各 effluent の放射能を well-type scintillation counter で測定しその百分率を求めた。また stock solution AおよびBの比放射能から各ヨードアミノ酸分画の stable ヨード量を計算し、 μ g/gland として表わした。

一方、各 effluent (pH3.6, 2.2, 1.4) を実験グループ(対照群、ヨード負荷群、ヨード中止1週間群)毎にプールし、そのヨード量を Gross 法⁽²⁸⁾の変法⁽²⁹⁾により直接化学的に3-5回測定し平均値を求め μ g/gland として表わした。

甲状腺総ヨード量は、水解液の一定量を実験グループ毎にプールし同様に Gross 法の変法で測定した平

Fig.1 Correlation between column-chromatographic values for iodinated compounds of thyroid glands and paper-chromatographic values

Y : column-chromatographic values. (per cent of total ¹³¹I in thyroid hydrolysate)

X : paper-chromatographic values. (per cent of total ¹³¹I in thyroid hydrolysate)

均値を $\mu\text{g/gland}$ で表わした。

甲状腺内無機ヨード量は、総ヨード量と総有機ヨード量の差として算出した。

(2) PBI 値

PBI 測定は、翼静脈から採血し、血清1.0mlを用いて Grossmann & Grossmann 法に従った³⁰⁾。ヨード負荷群の場合は、Somogyi 試薬で沈澱させた蛋白部分を脱イオン水で9回洗滌した後、灰化および比色操作を行なった。

(3) 血中サイロニン濃度

血中サイロニン濃度測定は、Pileggi 法に準じた²⁵⁾。Column size 1.5×6.0cm のものを用い、resin

(DOWEX, 1×2, Cl⁻ type, 200–400 mesh) に pH1.4 acetic acid を加えてこれに注ぎ入れ, さらに pH1.4 acetic acid 50ml で洗った後, pH4.0 acetate buffer 150ml を用いて pH4.0 に調整した. 血清は 9.0ml 用い, pH2.6 acetate buffer で pH4.0 に調整してカラムに注いだ. 血清が吸着された後, pH4.0 acetate buffer 25ml で洗い, さらに pH3.6 acetic acid 50ml pH2.2 acetic acid 50ml) と続けて注ぎ入れ次の thyronine 分画 pH1.4 acetic acid 30ml はビーカーに受けた. 30ml 中の 10ml (血清3.0mlに相当する) を Zn(OH)₂ を含む (0.05N. NaOH 5.0ml+5.0% ZnSO₄ 1.0ml の沈澱) pyrex tube 2.0×10.0cm に入れ, 90°C の乾燥器内で乾固させた. この乾燥残渣中へ 1% KClO₃ を含む 2N. Na₂CO₃ 0.5ml と 4% r-globulin 0.5ml を加え残渣を細く砕いた後, 再び蒸発乾固させた. ついで, 570°C 1.5時間で灰化し, 灰中のヨード量を Grossmann & Grossmanh 法³⁰⁾ によるセリウム-アヒ酸反応を用いて比色した. Blank としては, sample を入れないカラムに pH4.0, 3.6, 2.2, と順に注いだ後 pH1.4 acetic acid を注ぎその effluent を用いた. Standard は, この blank 用 pH1.4 acetic acid で 1.25, 2.5, 5.0, 10.0 μg as ¹²⁷I/100ml の K I 溶液を作った. Blank および standard 4 点は, sample の場合と同じ試薬を同量加えて同時に灰化および比色を行った. 標準曲線より求めた値は, 血清3.0ml を用いて得た値なので, μg/100ml として算出した. なお standard 4 点での灰化比色後の回収率を ¹³¹I-thyroxine で求めたところ各点で同じで, 65.6%であった. pH1.4 の溶液中で 90°C に長時間おいたため thyronine の破壊とヨードの放散が起りそのために回収率が低下したものと考え. 測定に際し, blank および standard 4 点は, sample と全く同様に試薬を加え, 90°C で乾燥させた, また同時に灰化比色を行った. standard の回収率も 65.6%であるので, 得られた値は回収率補正を行わなかった.

また ¹²⁷I として 40mg/100ml のヨードカリ溶液で溶解した control serum (Hiland) 3.0ml を用いてサイロニン濃度を測定したところ, この程度の無機ヨード量は完全に除去されることを確認した.

(4) ヨード負荷時の血中総ヨード濃度

平衡実験で比放射能より算出すると共に, そのプール血清を Gross 法の変法により化学的に測定した,

(5) ¹³¹I 標識サイロキシンの末梢代謝

Sterling らの方法^{31), 32)} ¹³¹I に準じ標識 L-サイロキシン (Abott) を生理食塩水で 50 μc/ml に稀釈しその 1.0ml を翼静脈に注射し, 7, 24, 48, 72, 時間後に他側翼静脈から採血した. 全血 1.0ml の放射能を well-type scintillation counter で測定し, 半対数グラフ上で ¹³¹I 標識 L-サイロキシンの半減期 (half-time, hr.) を求め, 代謝速度 (turnover rate, K, %hr) を求めた.

サイロキシン分布容積 thyroxine distribution space, (TDS) を計算するに当り, 予め hematocrit 値 36.4±1.5%(n=5) と, 全血に対する血清部分の放射能 75.5±1.8%(n=5) を求めておき, 全血から求めた値を補正することにより算出した. すなわち, 消失曲線より外挿した 0 時間における全血中の ¹³¹I 標識サイロキシン濃度を B₀(%dose/ml), 血清中のそれを C₀とすると,

$$TDS = \frac{1}{C_0} \times 100 \text{ (ml)}$$

$$C_0 = B_0 \times \frac{100}{63.6} \times \frac{100}{75.5}$$

これを体重 kg 当りに換算し (100ml/kg, body weight) として表わした.

I 日当りのサイロキシン崩壊量 thyroxine degradation, TD は, 次の式により計算した.

$$\begin{aligned} TD \text{ (ug/day/kg, body weight)} &= TDS(100\text{ml/kg, body weight}) \\ &\quad \times \text{thyroxine (ug/100ml)} \\ &\quad \times K(\%/hr) \\ &\quad \times 24 \end{aligned}$$

III 結 果

実験 1. 甲状腺放射性ヨード (¹³¹I) 代謝

Table 1 Effect of prolonged administration of iodide on the distribution of ^{131}I and ^{127}I in the iodinated compounds of thyroid glands of White-Rock cockerels. Thyroidal stable iodine content and relative proportion of iodinated compounds by chemical analysis and equilibrium study

group		No. of Animals	Total iodine	thyroidal iodine distribution					
				inorganic iodine	organic iodine	MIT	DIT	T ₃₊₄	M/D
	^{131}I	7		*7.7±2.9§	92.2±4.5	32.8±6.1	31.4±8.4	28.0±4.9	1.1±0.6
control cockerels	chemical analysis	**	120.4	2.0 ****(1.9)	118.4 (98.1)	41.7 (33.8)	39.4 (32.9)	38.4 (31.4)	1.06
	^{127}I equilibrium study	5 ***	79.0±3.5§	7.7±3.1 (8.7±3.4§)	66.4±21.3 (91.3±1.2)	26.2±5.7 (35.4±6.1)	24.8±7.4 (34.1±8.3)	17.9±6.0 (21.9±4.9)	1.17±0.52
	^{131}I	5		*8.3±1.7§	91.7±5.1	15.2±7.8	61.4±7.5	15.2±4.8	0.27±0.21
KI-treated cockerels	chemical analysis	**	822.0	62.7 (7.6)	759.3 (92.4)	104.5 (12.7)	529.5 (64.4)	125.3 (15.2)	0.26
	^{127}I equilibrium study	5 ***	736.8±407.4§	35.7±21.3 **** (4.7±0.6)§	688.8±251.4 (95.3±4.5)	499.6±18.2 (15.7±7.8)	466.9±210.9 (62.9±7.9)	122.3±41.6 (16.7±1.2)	0.19±0.03

§ standard deviation.

* per cent of total ^{131}I in thyroid hydrolysate, at 24 hours after the injection of radioiodide.

** μg per gland by chemical analysis. average of 5 cockeres/group.

*** μg per gland by equilibrium study. Cockerels fed on the control diet and the stock solution of ^{131}I and ^{127}I (1.0mg/day/bird) for 3 weeks following after 2 weeks of equilibrium study as well as control group.

**** per cent of total ^{127}I .

^{131}I 投与24時間後の甲状腺内ヨードアミノ酸分画については、ヨード投与群で $^{131}\text{MIT}/^{131}\text{DIT}$ の低下 ($0.01 < P < 0.05$) と $^{131}\text{T}_{3+4}$ 分画の減少 ($P < 0.001$) がみられた (Table 1).

実験 2. 甲状腺内 stable ヨード (^{127}I) アミノ酸分画

(1) ヨード負荷群における ^{127}I として化学的に測定した各ヨードアミノ酸分画については、MIT/DIT が有意に低下し ($0.01 < P < 0.05$) T_{3+4} 分画の甲状腺内総ヨード量に対する割合は有意に減少 ($P < 0.001$) していた. この stable ヨードアミノ酸分画の甲状腺内総ヨード量に対する百分率は、 ^{131}I 投与24時間後の放射性ヨードのそれと殆ど同一の値であった (Table 1).

(2) 甲状腺内 stable ヨード量としては、ヨード負荷群では、総ヨード量が対照の約 7 倍に増加していた. 甲状腺内 $^{127}\text{T}_{3+4}$ 量は、対照 ($38.4\mu\text{g/gland}$) の約 3 倍 ($125.3\mu\text{g/gland}$) に増加していた. (Table 1)

(3) 平衡実験で比放射能から算出した値 (Table 1) を直接化学的に測定した値と比較したところ、平衡実験 2 週目の対照群では、MIT, DIT, T_{3+4} 総ヨード量は、それぞれ実測値の 62.8%, 62.9%, 46.7%, 実測値の 65.6% であった. さらにひきつづき 3 週間ヨード負荷をつづけた平衡実験 5 週目のヨード負荷群では、MIT, DIT, T_{3+4} 総ヨード量共に実測値と一致した値が得られた (Table 1).

平衡実験を行ったニトリ甲状腺の組織像は、 ^{131}I を投与しないものとの間に相違が認められなかった.

実験 3. ヨード中止 1 週後の効果

ヨード中止 1 週後の stable ヨード量については、総ヨード量が $822\mu\text{g/gland}$ から $577\mu\text{g/gland}$ に減少し、かつその約 70% は DIT の減少によるものであった (Table 2, Fig. 2).

Table 2 Effect of 1-week withdrawal of iodide-feeding on the distribution of ^{131}I and ^{127}I in the iodinated compounds of thyroid glands of White-Rock cockerels

		time after inj. (hr.)	No. of animals	total iodine	inorganic iodine	organic iodine	MIT	DIT	T_{4+3}	M/D
^{131}I		4	5		*5.3 $\pm$ 1.4§	94.7 $\pm$ 2.1	22.3 $\pm$ 5.6	65.4 $\pm$ 6.0	7.0 $\pm$ 1.8	0.36 $\pm$ 0.29
^{127}I	chemical analysis.		5	**577.0	41.4 ****(7.1)	435.6 (92.9)	94.0 (16.3)	352.2 (61.5)	89.4 (15.1)	0.27
	equilibrium study.		5	***634.7 $\pm$ 165.2	33.0 $\pm$ 16.6	567.5 $\pm$ 190.2	82.2 $\pm$ 32.2	398.2 $\pm$ 84.3	87.2 $\pm$ 37.1	0.21 $\pm$ 0.07

§ standard deviation.

* per cent of total ^{131}I in thyrolysate, at 4 hours after the injection of radioiodide.** μg per gland. average of 5 cockerels/group.*** μg per gland.**** per cent of total ^{127}I in thyroid hydrolysate.

Fig. 2. Stable iodine content in the thyroid glands of control, KI-treated and 1 week withdrawal of iodide-feeding

実験 4. PBI 値, 血中サイロニン濃度およびサイロキシン一日崩壊量

(1) 対照群の ^{131}I 標識サイロキシン半減期は, $9.8 \pm 1.3\text{hr}$, であった. propyl-thiouracil 投与群では有意に大きく ($0.02 < P < 0.05$), L-throxine 投与群では有意に小さかった ($0.001 < P < 0.005$). ヨード負荷群は, 1.0mg/day 群, 10.0mg/day 群, が夫々 $9.9 \pm 1.4\text{hr}$, $8.8 \pm 2.6\text{hr}$, で, いずれも対照群と有意の差がなかった (Table 3).

(2) サイロキシン分布容積 (thyroxine distribution space. TDS) は, 対照群では 2.77 ± 0.14 (100ml/kg, b.w.) であった. ヨード 1.0mg/day 負荷群, 10.0mg/day 負荷群が夫々 3.09 ± 0.96 (100ml/kg, b.w., 2.81 ± 0.38 (100ml/kg, b.w.)) でいずれも対照に比べて有意の差がなかった (Table 3).

(3) PBI 値は, 対照群 $1.07 \pm 0.30 \mu\text{g}/100\text{ml}$ に対し, ヨード 1.0mg/day 負荷群は $1.83 \pm 0.37 \mu\text{g}/100\text{ml}$ と有意に高かった ($P < 0.005$) (Table 3).

Table 3. Turnover of ^{131}I -labeled thyroxine and plasma hormone level in White-Rock cockerels with 4-week-treatment of iodide, propyl-thiouracil (PTU) and L-thyroxine (T_4)

group	dose/day	No. of animals	half-life of ^{131}I -thyroxine (hr.)	thyroxine distribution space. (100ml/kg. b.w.)	PBI ($\mu\text{g}/100\text{ml.}$)	plasma thyroxine ($\mu\text{g}/100\text{ml}$)	thyroxine degradation ($\mu\text{g}/\text{day}/\text{kg. b.w.}$)
control	—	8	$9.8 \pm 1.3\%$	2.77 ± 1.39	1.07 ± 0.30	0.65 ± 0.23	3.08
iodide	1.0mg	5	9.9 ± 1.4	3.09 ± 0.96	1.83 ± 0.37	0.69 ± 0.20	3.63
iodide	10.0mg	5	8.8 ± 2.6	2.81 ± 0.38	—	—	—
PTU	50.0mg	4	14.5 ± 5.3	—	—	—	—
T_4	50.0 μg	4	7.2 ± 0.5	—	—	—	—

§ standard deviation.

なお、血中総ヨード濃度は、ヨード 1.0mg/day 負荷群について平衡実験で求めた値は、 $50.4 \pm 34.8 \mu\text{g}/100\text{ml}$ ($n=5$) であった。プール血清 ($n=5$) について直接化学的に Gross 法変法で測定したところ $50 \mu\text{g}/100\text{ml}$ であった。

(4) 血中サイロニン濃度は、ヨード負荷群では $0.69 \pm 0.20 \mu\text{g}/100\text{ml}$ で、対照群 $0.65 \pm 0.23 \mu\text{g}/100\text{ml}$ との間に有意差がなかった (Table 3)。

(5) サイロニン 1 日崩壊量 (TD) は、ヨード負荷群では $3.63 \mu\text{g}/\text{day}/\text{kg. b.w.}$ で、対照群 $3.08 \mu\text{g}/\text{day}/\text{kg. b.w.}$ との間に有意差がなかった (Table 3)。

IV 考 按

ヨードの甲状腺におよぼす効果については、Wheeler, Hoffmann らがヨード含量 $8 \mu\text{g}/\text{g}$ の飼料を10日間投与することによりニワトリおよびそのヒナに甲状腺腫を発生させたことを初めて報告した。

Rosenberg らは、 $0.14 \mu\text{g}/\text{g}$ および $1-2 \mu\text{g}/\text{g}$ のヨードを含む飼料でニワトリを飼育し、 ^{127}I および ^{131}I (注射後24時間) の甲状腺ヨードアミノ酸分画をペーパークロマトグラフィで分析した。 $2 \mu\text{g}/\text{g}$ 群では、 $0.14 \mu\text{g}/\text{g}$ 群に比較して MIT/DIT 比が小さく T_{3+4} 分画も小で甲状腺内 ^{127}I 量の増加していることを認めたが、甲状腺腫はなく、かえって $0.14 \mu\text{g}/\text{g}$ 群に甲状腺腫ができた。その組織像は hyperplastic であったと報告した^{17, 33, 34)}。

しかし沢田は、ヨード 1.0mg/day 4週間投与したニワトリで甲状腺腫の発生がみられその組織像は macro follicular で、対照群ではこのような変化はおきなかったと報告した。¹⁵⁾このことから、このような条件での甲状腺腫をヨード甲状腺腫と考えた。

本研究では、沢田と同種ニワトリを用い同じヨード負荷条件下で実験を行った。甲状腺内ヨードアミノ酸の分析および血中サイロニン濃度測定に当り、DOWEX. 1×2 , Cl⁻type, 200-400mesh を用いたカラムクロマトグラフィを採用したが、この方法は無機ヨードの除去が完全であり、各ヨードアミノ酸の回収率、特にペーパークロマトグラフィに比較してサイロニン分画の回収率がよかった点と、直接化学的に ^{127}I を測定できる点が本実験の目的に適っていると考える。さらにペーパークロマトグラフィに比し操作が簡単で短時間で結果がでることは、上述の2つの利点と併せて本法の秀れた点と考える。

甲状腺のカラムクロマトグラフィ分画の ^{127}I を化学的に測定した結果、ヨード長期負荷ニワトリでは対照に比べ MIT/DIT 比の低下と T_{3+4} 分画の総ヨードに対する百分率の減少をみとめた。この事実は、沢田の ^{131}I の分布について報告した結果と¹⁵⁾ 一致する。本実験においても ^{131}I の分布を測定した。 ^{131}I 投与24時間後の結果は、 ^{127}I の結果とほぼ等しい値を示した。このことから、甲状腺内の ^{127}I と、投与24時間後の ^{131}I とは同様の分布を示すと考えてよい。また ^{131}I による平衡実験で5週目 (ヨード負荷3週間目) において、投与した stock solution の比放射能から算出した甲状腺内 ^{127}I 量と化学的に測定した値は殆ど完全に

一致した。このことから、5週目において甲状腺内ヨードの比放射能と stock solution のそれとは等しい、すなわち、平衡状態に達していたと考えられる。

この際、ヨード負荷群については、平衡にするために使用する ^{131}I 量は負荷第1日目 $150\mu\text{C/day/bird}$ であるが、甲状腺摂取率0.1%とし、biological half-life を考慮に入れずに計算した第3週目の ^{131}I 蓄積量は $53\mu\text{C}$ である。thyroglobulin 放出については、3000rad 以上が短期間に照射されることが必要である。⁽³⁵⁾ ⁽³⁶⁾ また、この平衡実験の結果は、平衡実験によらない実験の結果と差がなかったので、 ^{131}I による照射が甲状腺内ヨード量、ホルモン合成に影響を与えないと考える。

以上の諸点から、ヨードを長期間投与し甲状腺腫のできたニワトリにおいては、 ^{127}I としても ^{131}I と同様 MIT/DIT 比の低下と T_{3+4} 分画の減少を示すことが確認され、この事実は「甲状腺ホルモン合成過程での DIT から thyronine への縮合障害」を支持するものである。

最近の知見によれば iodotyrosine から thyronine への縮合過程に関する機序はまだ完全には明らかにされていないが、free tyrosine⁽³⁷⁾ 2,6, diiodobenzoquinone または 4-hydroxy-3,5, diiodophenylpyruvic acid⁽³⁸⁾ が酸化過程のもとに作られ、さらに thyroxine に合成されると云われている。^(40,41) またこの反応は、還元剤、methimazol, catalase⁽⁴⁰⁾ あるいは silk fibroin⁽⁴²⁾ により抑制されると云われている。または先天性甲状腺機能低下症の中には、間接的証明により縮合障害の存在する症例がこれまでに数例報告され^{(43)~(48)}、かかる障害の機転として、甲状腺ヨード蛋白の異常、coupling enzyme system の欠乏ないし欠如が想定されている⁽⁴⁰⁾。

ヨード中止後1週目の甲状腺 stable ヨードは減少しており、その約70%は DIT の減少によるものであったが、沢田は、ヨード中止後のヨード代謝を ^{131}I 注射4時間後について検討し中止後3週目に $^{131}\text{MIT}/^{131}\text{DIT}$ が正常化し、 $^{131}\text{T}_{3+4}$ は9週目に正常化し同時に甲状腺腫が縮小したことを報告した⁽¹⁵⁾。これらの事実から、ヨード中止後ヨード効果からの回復に先立ち甲状腺から主として DIT の減少することによって、甲状腺内総ヨード量の減少がおこるものと考えられ、また MIT/DIT の回復は DIT の減少によるものと予測される。

ヨード負荷群では、甲状腺内総ヨード量は約7倍に増加しサイロニンヨード量は約3倍に増加していた。このことは、甲状腺ホルモン貯蔵量はむしろ増加していることを示すものと考えられる。一方血中において、サイロニン濃度は対照と有意差がなかった。このことは、ヨード負荷により生物学的に活性なホルモンの血中濃度は変わらないことを示すものである。PBI が増加していた点については、一般にヨード投与時のヒトでも同様の現象がみられるが、その理由として、沈澱物の9回の洗滌によっても無機ヨード除去は不十分であったためか、または血中にサイロニン以外の有機ヨード化合物が増加していたためと考えられるが、その本態は不明である。

従来、ヒトでは ^{131}I 標識サイロキシンの崩壊速度は甲状腺ホルモンの末梢代謝の指標と考えられている。^(31, 49) ニワトリでは ^{131}I 標識サイロキシンの半減期は短かったが、これはサイロキシン結合グロブリンを欠いているためと思われる。^(50, 51) 半減期が PTU (propyl-thiouracil) 投与で延長し、 T_4 (L-thyroxine) 投与で短縮したことからニワトリでも ^{131}I 標識サイロキシンの崩壊速度は末梢代謝の指標となり得ると考えてよい。ヨード甲状腺腫ニワトリで半減期 ($T_{1/2}$) サイロキシン分布容積 (TDS), 血中サイロニン濃度はいずれも対照に比べ差がなかったことは、ヨード負荷により単位時間当りの血中甲状腺ホルモン崩壊量、すなわち甲状腺からの分泌量が変らないことを示すものと考えられる。ヨード甲状腺腫ニワトリでは、前述の如く甲状腺内サイロニン量は対照より増加しており、一方甲状腺からのホルモン分泌速度は不変であることがわかったが、もしサイロニンの甲状腺内貯蔵量に対する放出の比率が対照と変らなかったならば、血中サイロニン濃度は上昇するはずである。甲状腺内に貯蔵されているサイロニンは、thyroglobulin と結合しており、これが protease, peptidase により加水分解され遊離の形となり脱ヨード反応を受けることなく血中に分泌されると云われている。⁽⁴⁰⁾ したがってヨード甲状腺腫ニワトリでは、縮合障害と共に thyroglobulin の水解能が障害されていると推定される。

これまでにホルモン分泌障害についての報告は、先天性甲状腺腫の一部⁵¹⁾ コンゴ地方のヨード欠乏性甲状腺腫⁵²⁾があるが、ヨードがホルモン分泌、すなわち thyroglobulin 水解能におよぼす影響については、甲状腺機能亢進症のヨード治療時⁵³⁾、ラットにヨードを長期間投与したとき^{54, 55, 56)} thyroglobulin 水解能が低下したと云う報告がある。ヨード甲状腺腫ニワトリにおける水解能に関しては、今後の検討を要するものとする。

V 要 約

沢田は、ニワトリに大量ヨードを長期間投与したところ甲状腺腫が生じ、その甲状腺ヨードアミノ酸については $^{131}\text{MIT}/^{131}\text{DIT}$ の低下と $^{131}\text{T}_{3+4}$ 分画の減少を報告した。

本研究は、ヨード甲状腺腫ニワトリにおける甲状腺内 stable ヨード代謝および末梢サイロキシン代謝を知る目的で行い、次の結果を得、縮合障害のあることを確認した。

(1) ヨード 1.0mg/day 4週間投与したニワトリに、 ^{131}I を carrier ヨード 1.0mg と共に注射し24時間後の甲状腺水解液を DOWEX, 1×2 , Cl⁻form, 200-400mesh を用いたカラムクロマトグラフィで分析し、各ヨードアミノ酸分画のヨードを ^{131}I および ^{127}I として測定した。その結果、 ^{127}I の分布は ^{131}I 注射後24時間の分布と等しく、 $^{131}\text{MIT}/^{131}\text{DIT}$ の低下と $^{131}\text{T}_{3+4}$ 分画の減少を確認した。

(2) ^{131}I と ^{127}I を用いた平衡実験 (ヨード負荷3週間) でも、MIT/DIT の低下と T_{3+4} 分画の減少を認めた。また甲状腺の比放射能は、平衡実験5週間で、stock solution のそれとほぼ同値であった。

(3) 甲状腺総ヨード量 (^{127}I) は、対照の約7倍に増加しており、甲状腺内サイロニン量は約3倍に増加していた。ヨード中止1週目では甲状腺内総ヨード量は減少しており、その約70%は DIT の減少によるものであった。

(4) ヨード負荷ニワトリでは、血中サイロニン濃度、 ^{131}I 標識サイロキシンの半減期、24時間崩壊量はいずれも対照と差がなかった。

文 献

- 1) PALEY, K.R., E.S. SOBEL and R.S. YALOW : J. Clin. Endocrinol. & Metab., 18 : 79, (1958).
- 2) PARIS, J., W.M. McCONAHEY, W.M. TAUXE, L.B. WOOLNER and R.C. BANN : J. Clin. Endocrinol. & Metab., 20 : 57, (1960).
- 3) RUBINSTEIN, H.M. and L. OLINER : New Engl. J. Med., 256 : 47, (1957).
- 4) FREY, H. : Acta Endocrinologica, 47 : 105, (1964).
- 5) TAGUCHI, J. and T.G. SKILMAN : Am. J. Med. Sc., 239 : 417, (1961).
- 6) SUZUKI, H., T. HIGUCHI, K. SAWA, S. OHTAKI and Y. HORIUCHI : Acta Endocrinologica, 50 : 161, (1965).
- 7) PITT-RIVERS, R. : Ann. N.Y. Acad. Sci., 86 : 362, (1960).
- 8) WOLF, J., I.L. CHAIKOFF, R.C. GOLDBERG and J.R. MEIER : Endocrinology, 45 : 504, (1949).
- 9) WOLFF, J. and I.L. CHAIKOFF : Endocrinology, 43 : 174, (1948).
- 10) GALTON, V.A. and R. PITT-RIVERS : Endocrinology, 64 : 835, (1959).
- 11) BRAVERMAN, L.E. and S.H. INGBAR : J. Clin. Invest., 42 : 1216, (1963).
- 12) WHEELER, R.S. and E. HOFFMANN : Endocrinology, 45 : 205, (1949).
- 13) WHEELER, R.S. and E. HOFFMANN : Endocrinology, 43 : 430, (1948).
- 14) WHEELER, R.S. and E. HOFFMANN : Proc. Soc. Biol. Med., 72 : 250, (1949).
- 15) 沢田満男 : 日内分泌誌 (印刷中).
- 16) SCHNEIDER, P.B. : Endocrinology, 74 : 973, (1964).
- 17) ROSENBERG, L.L., M. GOLDMAN, G. LA ROCHE and M.K. DIMICK : Endocrinology, 74 : 212, (1964).
- 18) BECKERS, C., B. DE CROMBRUGGHE and M. DE VISSCHER : J. Clin. Endocrinol. & Metab., 24 : 327, (1964).
- 19) VAN MIDDLESWORTH, L. : Endocrinology, 58 : 235, (1956).
- 20) PITT-RIVERS, R. and J.E. RALL : Endocrinology, 68 : 309, (1961).
- 21) 鈴木光雄 : 内分泌と代謝, 1 : 40, (1958).
- 22) 鈴木光雄 : 日本臨床, 20 : 645, (1962).

- 23) SUZUKI, M. : *Folia Endocrinologica Japonica*, 3 : 291, (1958).
- 24) ROCHE, J., S. LISSITZKY and R. MICHEL : *Methods of Biochemical Analysis*, (1954), 243, Intersci, Publ. New York.
- 25) PILEGGI, V.I., N.D. LEE, O.J. GOLUB and R.J. HENRY : *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 21 : 1272, (1961).
- 26) PILEGGI, V.I., H.A. SEGAL and O.J. GOLUB : *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 24 : 273, (1964).
- 27) GALTON, V.A. and R. PITT-RIVERS : *Biochem. J.*, 72 : 310, (1959).
- 28) GROSS, W.C., L.K. WOOD and J.S. McHARGUE : *Anal. Chem.*, 20 : 900, (1948).
- 29) 越山勝夫 : 内科宝函, 9 : 381, (昭37).
- 30) GROSSMANN, A. and G.F. GROSSMANN : *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 15 : 354, (1955).
- 31) STERLING, K., R.B. CHODOS : *J. Clin. Invest.*, 35 : 806, (1956).
- 32) STERLING, K., J.C. LASHOF and E.B. MAN : *J. Clin. Invest.*, 33 : 1031, (1954).
- 33) ROSENBERG, L.L., M.K. DIMICK and G. LA ROCHE : *Endocrinology*, 72 : 749, (1963).
- 34) ROSENBERG, L.L., G. LA ROCHE and M.K. DIMICK : *Endocrinology*, 72 : 759, (1963).
- 35) TONG, W., A. TAUROG and I.L. CHAIKOFF : *J. Biol. Chem.*, 195 : 407, (1952).
- 36) ROBBINS, J., J.E. RALL, D.V. BECKER and R.W. RAWSON : *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 12 : 586, (1952).
- 37) JOHNSON, T.B. and L.B. TEWKESBURY : *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 28 : 73, (1942).
- 38) LJNNGREN, J.G. : *Acta Chem.Scandinav.*, 17 : 567, (1963).
- 39) MELTZER, R.L. and R.J. STANABACK : *J. Organ. Chem.*, 26 : 1977, (1961).
- 40) DE GROOT, L.J. : *New Engl. J. Med.*, 272 : 355, (1965).
- 41) STANBURY, J.B. : *Rec. Progress in Hormone Reseach*, XIX, (1963), 559, Academic Press New York and London.
- 42) STANBURY, J.B., G. RICCABONA and M.A. JANSSEN : *Lancet*, 1 : 97, (1963).
- 43) STANBURY, J.B., K. OHELA and R. PITT-RIVERS : *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 15 : 54, (1955).
- 44) MOISIER, H.D., R.M. BLIZZARD and L. WILKINS : *Pediatrics*, 21 : 248, (1958).
- 45) WERNER, S.C., R.J. BLOCK, R.H. MANDL, A.B. and A.A.H. KASSENAAR : *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 17 : 817, (1957).
- 46) STANBURY, J.B. and G. RICCABONA : *Lancet*, 1 : 917, (1963).
- 47) MORRIS, J.H. : *Arch. Int. Med.*, 114 : 417, (1964).
- 48) KLEVIT, H.D., W.R. EBERLEIN and A.M. BONGIOVANNI : *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 25 : 585, (1965).
- 49) INGBAR, S.H. : *Clinical Endocrinology I* edited by E.B. ASTWOOD, (1960), 91, GRUNE & STRATTON, New York.
- 50) TATA, J.R. and C.J. SHELLABARGER : *Biochem. J.*, 72 : 608, (1959).
- 51) SHELLABARGER, C.J. and J.R. TATA : *Endocrinology*, 68 : 1056, (1961).
- 52) PITTMAN, S.C. and J.A. PITTMAN : *Am. J. Med.*, 40 : 49, (1966).
- 53) BECKERS, C. and M. DE VISSCHER : *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 22 : 711, (1962).
- 54) DE ROBERTIS, E. and W.W. NOWINSKI : *J. Clin. Endocrinol. & Metab.*, 6 : 235, (1946).
- 55) DE ROBERTIS, E. : *Anat. Rec.*, 80 : 219, (1941).
- 56) DZIEMIAN, A.J. : *J. Cell & Comp. Physiol.*, 21 : 339, (1943).