Correlation of ACTH and MSH in man

K. ABE

1st Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, University of Tokyo, Tokyo.

A radioimmunoassay for α -MSH has been developed and this hormone has been identified in human pituitaries and the tumors of patients with the ectopic ACTH syndrome. However, α -MSH accounted for only a small percentage of the total melanocyte stimulating activity of these tissues as determined by the MSH bioassay using the in vitro frog skin system. β -MSH radioimmunoassay has also been developed and utilized in conjunction with the MSH bioassay. It was found that most of the biologic MSH activity of the plasma and tissues could be accounted for by β -MSH. These data indicate that the main pigmentary hormone in man is β -MSH.

Plasma β -MSH was found to be 20–110 pg/ml in normal subjects. Metyrapone increased and dexamethasone decreased plasma β -MSH levels. In 10 cases of untreated Addison's disease, plasma β -MSH levels were greatly elevated, ranging 266–1480 pg/ml with a mean of 797 pg/ml. In contrast, plasma β -MSH values in 10 well controlled Addisonian patients were all within normal range. Plasma β -MSH was moderately elevated in 3 out of 4 patients with congenital adrenal hyperplasia (120–190 pg/ml). During treatment with glucocorticoids, plasma β -MSH was found to be low normal. In 9 patients with hypopituitarism, plasma β -MSH was low, ranging from a negligible level to 46 pg/ml with a mean of 26 pg/ml. In 11 patients with untreated Cushing's syndrome due to pituitary ACTH excess (Cushing's disease), plasma β -MSH was moderately elevated. In 9 patients who had developed pituitary tumors and hyperpigmentation following adrenalectomy for Cushing's disease, plasma β -MSH levels were extremely high, with a mean value of 4335 pg/ml. However, 12 patients who did not develop pituitary tumors after adrenalectomy had a mean value of 365 pg/ml. In 10 patients with Cushing's syndrome due to ectopic ACTH, plasma β -MSH was elevated, ranging 83–650 pg/ml with a mean of 341 pg/ml. In patients with Cushing's syndrome due to adrenal tumor, plasma β -MSH was subnormal. Plasma β -MSH was measured in 8 patients undergone hysterectomy. In all cases plasma β -MSH was found to rise during surgery.

These data indicate that β -MSH was found to be elevated in the plasma of those cases whose plasma ACTH was known to be elevated and that plasma β -MSH was low when plasma ACTH was known to be low. In order to confirm these observations, plasma β -MSH and ACTH were measured in the same samples. For ACTH determinations Lipscomb and Nelson's bioassay method was employed. There existed a significant positive correlation between the levels of plasma β -MSH and ACTH. In the same extract of tumors from 15 patients with the ectopic ACTH syndrome, a high degree of positive correlation was also found between the concentrations of β -MSH and ACTH. These

data suggest that the biosynthesis of β -MSH is closely related to that of ACTH.

These high correlations of β -MSH and ACTH are not the problem of the assay itself, because ACTH and many of its fragments did not cross-react in this radioimmunoassay system in any significant degree and the plasma samples from a normal subject who had received a large amount of pure ACTH did not show any significant increase in the plasma β -MSH levels.

It can be concluded that the regulation of β -MSH is controlled by the same mechanism by which ACTH is regulated and the synthesis of β -MSH is closely linked to that of ACTH.

(These data were published in J. Clin. Endocr., 27: 46, 1967; J. Clin. Invest., 46: 1609, 1967; and J. Clin. Invest., 48: 1580, 1969.) (See pp. 856~862)

下垂体

1. ACTH と MSH

東大第一内科

阿 部

薫

下垂体ホルモンである ACTH と MSH は互いにその構造が以ており、ために ACTH は弱いながら MSH 作用があり、また MSH にはわずかではあるが ACTH 作用がある。そのため従来広く用いられていた生物学的測定法ではこの両者を完全に分離測定することは困難であつた。清水らは Addison 病、Cushing 病で両側の副腎摘除をうけた症例などについて検討を加え、これらの患者血中には ACTH 以外に MSH 作用を有する物質が増加していることを証明しているが、(J. Clin. Endocr., 25: 984, 1965) しかしこれが何であるかは明らかにされていない。

私はアメリカ Vanderbilt 大学に5年間滞在中、Liddle 教授の下で、 α -MSH と β -MSH の radioimmunoassay を確立し、これに ACTH と MSH の生物学的測定を加えることにより、ACTH と MSH の相互関係につき検討したので、ここで得られた成績につき述べてみたい。

I. ACTH と MSH の構造

MSH には α -MSH と β -MSH の2種類がある。図1に示したように、ACTH は39ケのアミノ酸が直線的につながつたもので、 α -MSH はこの ACTH の1から13の部分と全く同じアミノ酸構成を有しているが、ただ1の位置にアセチル基、13の位置にアミノ基がついている。ヒトの β -MSH は22ケのアミノ酸が直線的につながつたものであるが、ACTH の4-10の部分の7ケのアミノ酸配列は β -MSH の11-17の部分と全く同じアミノ酸構成を有している。このように構造上共通の部分のあることが、ACTH に MSH 作用があり、また MSH に ACTH 作用のある理由と考えられており、またこれがこの両者を分離、測定するうえでの困難をもたらしている。

Fig. 1. Structures of ACTH and MSH.

II. α -MSH の radioimmunoassay

ヒト下垂体について得られた α -MSH の radioimmunoassay の成績を表1に示した。total MSH activity は、鎮目らの方法により測定した。表1からも明らかなように、ヒトの下垂体では α -MSH は total MSH activity のわずか1～3%を占めるにすぎない。さらに Addison 病、副腎摘除をうけた Cushing 病 (Nelson 症候群) の患者などで、高度の色素沈着を呈した症例において血中 α -MSH を測定しても、これは検出されず、このような成績から α -MSH はヒトにおいて MSH としてあまり重要な作用を持たないと考えられる。

表1 ヒト下垂体における α -MSH

	Concentration of α -MSH (ng/mg)	Total MSH activity (ng/mg)	α -MSH (%)
Pituitary 1	1.1	42	3
Pituitary 2	0.7	62	1
Pituitary 3	0.7	42	2
Pituitary 4	0.4	33	1

Total MSH activity は合成 α -MSH を MSH の生物学的測定の standard として用いこの ng により示した,

交叉反応を示さず, ただブタの合成 ACTH および精製されたヒト ACTH のみが反応を示した。しかし β -MSH と同じ程度の反応を示すには重量にして約3000倍の ACTH が必要であり, かかる大量の ACTH がヒトの血中に存在するとは考えられず, ACTH がこの radioimmunoassay を妨害する可能性はありえない。さらに多くの検体について ACTH の生物学的測定を併用し, かかる可能性のないことをたしかめた。

さらに測定しているものが β -MSH である証拠を固めるために, 各検体について dose response を求め, これがいかに standard である合成ヒト β -MSH で得られた曲線と平行であるかを検討した。この結果を図4に示したが, ヒト下垂体, 異所性 ACTH 産生腫瘍, 色素沈着を示す患者および正常人血液について

III. β -MSH の radioimmunoassay

次いで β -MSH の radioimmunoassay を確立したが, “Bound” と “Free” の分離には paper chromatoelectrophoresis を用い, この実例を図2に示した。

この方法は 1 pg の β -MSH が検出可能であつた。

Radioimmunoassay においては sensitivity とともに specificity が重要である。これを検討するために α -MSH, ACTH および ACTH の各種 fragments を用い, この β -MSH radioimmunoassay 系における交叉反応を検討した。図3からも明らかのように, α -MSH, 各種の ACTH fragments はなんら有意の交

Fig. 2. Chromatoelectrophoretic mobility of β_h -MSH- ^{131}I . The location of labeled hormone at the completion of chromatoelectrophoresis is represented on the abscissa. The quantity of radioactivity is represented on the ordinate. The first scan shows that, with normal guinea pig serum, β_h -MSH- ^{131}I was “free” (F) and remained at the origin. The second scan shows that, when incubated with the antiserum, most of the β_h -MSH- ^{131}I was “bound” (B) and migrated with the globulin fraction. The third and fourth scans show that the addition of progressively greater quantities of unlabeled β_h -MSH (0.05ng, 0.2ng) to the mixture resulted in progressively greater displacement of radioactivity from the “bound” peak to the “free” peak and a decrease in B/F ratio.

dose response curve を求めてみると、いずれも standard の β -MSH と平行の dose response を示した。以上のような所見から、この radioimmunoassay により測定されているものは β -MSH であると結論された。

Fig. 5 には正常人および各種疾患患者で測定した血中 β -MSH 中の成績を示した。正常値は $20 \sim 110 \mu\text{g/ml}$ であった。未治療の Addison 病では高値を示し ($266 \sim 1480 \mu\text{g/ml}$, 平均 $797 \mu\text{g/ml}$), glucocorticoids 治療で正常範囲に低下している。

未治療の congenital adrenal hyperplasia の患者 4 例中 3 例では高値を示したが ($120 \sim 190 \text{ pg/ml}$), これも glucocorticoids 治療により低下している。下垂体機能低下症ではいずれも低い値を示した (平均 26 pg/ml)。かかる成績はこのような疾患における血中 β -MSH の変化が、血中 ACTH と全く同じ傾向を持つことを示している。

Cushing 症候群は下垂体の ACTH 過剰による Cushing 病と、異所性 ACTH 産生腫瘍によるもの、および副腎腫瘍によるものとの 3 つに大きく分けられる。Fig. 6 にかかる疾患における血中 β -MSH の結果を示したが、下垂体の ACTH 過剰および異所性 ACTH 産生腫瘍の患者では ACTH のように血中 β -MSH はいずれも高く、副腎腫瘍の患者では一般に ACTH は分泌が抑制されて低値を示すが、血中 β -MSH も同じく低値を示した。

下垂体性 Cushing 症候群 (Cushing 病) の患者で副腎摘除を受けたあとに、時に下垂体腫瘍、高度の色素沈着を呈することがある。かかる場合には血中 ACTH は異常な高値を呈することが知られているが、このような症例で β -MSH を測定してみると Fig. 7 に示したように、やはり非常に高い値を示し、ことに下垂体腫瘍を呈した例では高値を示した。 ($4335 \mu\text{g/ml}$)。しかし同じ副腎摘除をうけた症例でも、下垂体腫瘍を呈しなかつた例では、 β -MSH の値はさほど高くなかつた (平均 365 pg/ml)。

血中 ACTH は外科的手術のような stress により上昇することが知られている。血中 β -MSH, 血中 17-OHCS を子宮摘除をうけた 8 例につき、その手術前と、手術開始 1 時間後に測定すると、Fig. 8 に示した

Fig. 3. Tests for cross-reactivity of MSH and ACTH analogues with the β -MSH antiserum. The quantity of each polypeptide is noted on the abscissa.

Fig. 4. Radioimmunoassay of β -MSH in human pituitary glands, in tumors from patients with the ectopic ACTH syndrome, in plasma from hyperpigmented patients, and in plasma of normal subjects.

Fig. 5. Plasma β -MSH in normal subjects and patients with Addison's disease, congenital adrenal hyperplasia, or hypopituitarism. The horizontal lines represent the means of various groups.

Fig. 7. Plasma β -MSH in Cushing's disease (postadrenalectomy). For comparison, the data for untreated Cushing's disease in Fig. 6 are reproduced here. Δ =patients who had previously undergone pituitary irradiation.

ように、全例に β -MSH および血中 17-OHCS の上昇が認められた。なお手術前に正常値より高い β -MSH の値を呈した 2 例は、いずれも高い 17-OHCS の値を有していた。

血中 ACTH は cortisol 生合成の阻害剤である metyrapone 投与により上昇し、dexamethasone 投与により低下する。0.75g の metyrapone を 4 時間おきに 1 日投与、また 1 mg の dexamethasone を 6 時間おきに 1 日投与して、その前後で血中 β -MSH を測定した。Fig. 9 に示したように血中 β -MSH は metyrapone により上昇し、dexamethasone により抑制された。

以上のような血中 β -MSH の測定成績をみても

Fig. 6. Plasma β -MSH in untreated Cushing's syndrome due to pituitary ACTH excess, ectopic ACTH-MSH syndrome, and adrenal tumor.

Fig. 8. Plasma β -MSH in response to surgical stress. Blood was drawn for plasma β -MSH and 17-OHCS assays 1 hr before surgery and 1 hr after the laparotomy incision.

Fig. 9. Left: Plasma β -MSH in normal subjects before and after treatment with metyrapone. Blood was drawn at 6 a.m. just before the first dose of metyrapone (0.75 g every 4 hr) and again at 6 a.m. on the following day. Right: Plasma β -MSH in normal subjects before and after treatment with dexamethasone. Blood was drawn at 6 a.m. before the first dose of dexamethasone (1 mg every 6 hr) and again at 6 a.m. on the following day.

表2 Addison 病, Nelson 症候群, 異所性 ACTH 産生腫瘍患者の血中および異所性 ACTH 産生腫瘍中の β -MSH と生物学的 MSH 活性

(血 液)				(腫 瘍)		
Disease	Patient	Immunologic β -MSH	Biologic MSH activity*	Patient	Immunologic β -MSH	Biologic MSH activity*
		ng/ml	ng/ml		ng/g	ng/g
Addison's disease	J. F.	0.5	0.5	C. O.	25	34
	G. S.	0.8	0.9	I. P.	30	34
	J. R.	1.1	0.6	D. H.	258	210
Nelson's syndrome	A. W.	0.7	0.6	J. N.	126	90
	E. K.	3.7	1.7	J. S.	14	18
	H. R.	3.9	4.3	L. G.	6	18
	E. B.	2.7	5.0	V. B.	102	402
	M. J.	5.2	3.8	D. S.	1600	1860
	G. K.	6.0	2.0	C. W.	25	96
	B. H.	1.1	0.7	J. G.	108	216
				F. T.	3	3
Ectopic ACTH syndrome	M. J.	5.1	3.4			
	J. L.	0.9	0.3			

*Biologic MSH activity expressed as nanograms of synthetic β -MSH.

と, 血中 ACTH が高い値を示す条件下では血中 β -MSH も高い値を示し, 血中 ACTH が低い値を示す場合には, 血中 β -MSH も低い値を示している. すなわち ACTH と β -MSH は全く同じ機序により分泌されていることがわかった.

ここで血中 β -MSH の値を生物学的測定で得られた biologic MSH activity と比較すると, 表2に示したように, 各種疾患患者の血中生物学的 MSH 活性は, ほとんどが β -MSH により説明され, さらに異所性 ACTH 産生腫瘍中の MSH 活性もほぼ β -MSH によると結論された. このような所見と, 前に述べた α -MSH の成績とを考へ併せてみると, ヒトにおける主な MSH は β -MSH であるといえる.

ヒトにおける主な MSH が β -MSH であるなら, 血中 β -MSH の値と, 色素沈着の程度との関連は非常に興味ある問題である. そこで下垂体-副腎系疾患患者における色素沈着, すなわち "addisonian hyper-

Fig. 10. Correlation of clinical hyperpigmentation with the concentration of β -MSH in the plasma. Fig. 11. Correlation of plasma β -MSH and ACTH in Addison's disease, Cushing's disease (postadrenalectomy) and the ectopic ACTH-MSH syndrome. Highly purified human ACTH was used as a standard in the ACTH bioassay.

pigmentation”の程度と血中 β -MSH の値とを比してみた。血中 β -MSH の値を全く知らない専門家が、色素沈着の程度を1+から4+に分類し、これと血中 β -MSH の値とを対比したものをFig. 10に示した。これから明らかに、色素沈着の程度と血中 β -MSH の値との間に深い相関が認められ、血中 β -MSH の上昇が色素沈着の原因であることを示している。

IV β -MSH と ACTH

同一検体について血中 β -MSH と ACTH とを測定した。ACTH の測定には Lipscomb & Nelson の生物学的方法を用いた。Fig. 11に示したように、血中 β -MSH と ACTH の値は深い相関を示した。 $(r=7.0, p<0.001)$ 。すなわち血中 ACTH が上昇するような条件の下では、血中 β -MSH も上昇し、一般的に血中 ACTH の値が高ければ高いほど、血中 β -MSH も高い値を示した。

さらに15例の異所性 ACTH 産生腫瘍について β -MSH を測定してみると、全例に β -MSH が証明され、Fig. 12に示すように、腫瘍中の ACTH 含有量が多いほど β -MSH の含有量も高く、この両者は高度の相関を示した $(r=0.91, p<0.001)$ 。このようにさまざまな組織より発生する腫瘍が、ACTH を産生すれば必ず β -MSH も産生するということは、ACTH と β -MSH がその分泌のみならず、その生合成の過程においても深い相関のあることを示唆するものである。なおかかる異所性 ACTH 産生腫瘍を有する患者を Liddle らは the ectopic ACTH syndrome と名づけ、これが広く受け入れられているが、われわれはかかる症候群をむしろ the ectopic ACTH-MSH syndrome とよぶべきであると主張しており、Liddle らはこの名称をすでに使いはじめている。

このように ACTH と β -MSH は、その分泌、生合成の過程において深い相関のあることは明らかであるが、しかしこの β -MSH の radioimmunoassay が ACTH の代謝産物と交叉反応を示すために、ACTH が高いような場合に β -MSH も高い値を示すのではないかという疑問がおこる。すでに ACTH およびいろいろな ACTH の fragments はこの β -MSH の radioimmunoassay 系において、有意の交叉反応のないことを明らかにしたが、さらに正常人に高度

Fig. 12. Correlation of β -MSH and ACTH in tumors from patients with the ectopic ACTH-MSH syndrome. ACTH and β -MSH are plotted in picograms per milligram of wet tissue. Highly purified human ACTH was used as a standard in the ACTH bioassay.

Fig. 13. ACTH infusion study. 1mg of highly purified human ACTH was injected intravenously into a normal subject at time 0. Blood was drawn from the opposite arm at the times indicated on the abscissa. The concentrations of β -MSH and ACTH found in the subject's plasma at various time intervals are plotted on the ordinate (log scale). A sample of the injected ACTH was used as a standard for the ACTH bioassay.

に精製されたヒト ACTH 1mg を静注して、経時的に採血し、血中 β -MSH と ACTH を測定した。この結果を Fig. 13 に示したが、ACTH は非常に高い値より次第に低下して来るか、この間血中 β -MSH は常に正常範囲に止まっていた。このような成績から、測定された β -MSH は ACTH の代謝産物ではないといふことができる。

以上まとめてみると、ヒトにおける主な MSH は β -MSH であり、その分泌機序は ACTH と同じような機序により支配されており、その生合成は ACTH の生合成の機序と非常に密接な関連を有している。

かかる相関がいかなる意味を有しているかは非常に興味ある問題である。ACTH の分泌、合成の機序に MSH が重要な役割をはたしているという可能性も考えられるし、また Proinsulin から insulin が出来るように、ACTH と MSH がはじめは長い 1 本の polypeptide で、これが切れて、ACTH と MSH に分かれるという可能性も考えられる。しかしこのような問題については今日まだ明らかでなく、かかる方面の検討を続けてこそ、常に古くて新しい疑問である“ヒトにおける MSH の生理的意義”という問題を明らかにすることができるものと考えられる。

(なおここに発表した成績はすべて J. Clin. Endocr., 27: 46, 1967, J. Clin. Invest., 46: 1609, 1967, J. Clin. Invest., 48: 1580, 1969, に発表したものである)

追 加

後葉ホルモンとカテコールアミン

阪大第 3 内科

矢 野 三 郎
小 谷 覚

最近、後葉ホルモンとカテコールアミンとの相関が注目されている。本稿では著者らが数年来、実験を行なってきたカテコールアミンの末梢作用におよぼす後葉ホルモンの影響について述べることにしたい。まず第一にカテコールアミンの平滑筋作用におよぼす後葉ホルモンの影響について検討した結果、家兎大動脈片を使用する *in vitro* の実験において、Oxytocin およびその誘導体は Norepinephrine の収縮作用を阻害することが認められた。これに反して Lys-Vasopressin (LVP) はほとんど阻害作用を示さなかつた。ついで β -受容体刺激作用と考えられている Epinephrine のモルモット気管片弛緩作用におよぼす Oxytocin の影響を検討した結果、家兎大動脈片と同様の阻害効果が認められた。しかも上述の如き Oxytocin の阻害作用はカテコールアミンに対して特異的であつて、Angiotensin, Histamine, Acetylcholine の作用に対しては全く影響がなかつた。

以上の実験の結果、Oxytocin はカテコールアミンの平滑筋に対する作用を α -受容体刺激作用も β -受容体刺激作用もともに阻害するということが *in vitro* で明らかにされた。

第 2 に各種条件下のラットにおいて血漿中 FFA 値におよぼす後葉ホルモンの影響からカテコールアミンとの関係について検討を加えた。正常ラットに LVP (IU) を投与すると 30 分後血漿中 FFA 値は明らかに減少した。しかし Oxytocin 投与では影響が認められなかつた。24 時間絶食ラットでは LVP による FFA 値の低下がさらに著明であつた。この場合には Oxytocin 投与でも軽度の低下作用が認められた。つぎに 24 時間脱水ラットについて検討した結果、この場合 LVP の FFA 低下作用は全く認められなかつた。すなわち、内因性の Vasopressin が分泌されている条件下では LVP 投与の影響が認め難いと考えられる結果を得た。なお、このような条件下でも Insulin を投与すると明らかに FFA の低下作用が認められた。以上のような LVP の血漿中 FFA 低下作用の機序として平滑筋におけると同様、カテコールアミン作用阻害が考えられるので、Adrenergic blocking agents 前処置のラットにおける LVP の効果について検討を加