Effect of Long Term Administration of Synthetic Thyrotropin-Releasing Hormone (TRH) on Pituitary-Thyroid Function in Rats

Hidetaro MORI

The Second Department of Internal Medicine, Kobe University School of Medicine, Kobe, Japan

A number of recent neuroendocrinological studies have revealed that the releasing factor (RF) plays an essential role in the regulation of pituitary tropic hormone secretion. Folkers and his colleague have synthesized a preparation called pyro-glutamyl-histidyl-proline amide which has distinct TRH activity both in vivo and in vitro. The effect on the pituitary-thyroid function in rats receiving long term administration (from 7–35 days) using 10 or 100 $\mu\text{g}/100\text{ g B.W.}$ of TRH synthesized after Gillessen et al. was observed.

The following results were obtained:

(1) The TRH-treated rats showed no changes in weight, food and water intake compared with saline treated rats.

(2) Pituitary-function in rats receiving long term administration of TRH: Resting levels of TSH in the TRH-treated rats were slightly elevated. Pituitary weight and pituitary TSH contents were decreased in rats treated with synthetic TRH for 15–22 days ($p < 0.005$).

In rats treated with long termsynthetic TRH, 50 and 100 ng of TRH induced prominent increases of plasma TSH at 10–30 minutes, and plasma TSH levels at 60 minutes were higher than at 0 minute. These findings indicate that plasma TSH response to 50 and 100 ng of TRH in TRH-treated rats was delayed and sustained.

Studies were performed on the pituitary responsiveness to TRH in T_4 pretreated rats. In rats pretreated with 3 μg of T_4 , 50 and 25 ng of TRH showed no increase of plasma TSH at 10 minutes. These results show that T_4 induced more prominent inhibition on TRH action in rats treated with TRH than in saline treated rats.

(See pp. 1067 ~1076)

合成 Thyrotropin Releasing Hormone (TRH) 連続投与の下垂体 TSH 分泌動態に及ぼす 効果にかんする実験的研究

神戸大学医学部第2内科 (主任: 馬場 茂明教授)

森 穎 太 郎

(昭和48年9月2日受付)

Gillessen らの方法で合成した TRH (pyro-glutamyl-histidyl-proline amide) を $10\mu\text{g}$ 及び $100\mu\text{g}/100\text{g}$, 体重を毎日1回ラットに最低7日から最高35日間連続腹腔内投与し, 間脳下垂体系におよぼす影響を観察することにより TRH 連続投与の効果についての基礎的検討を試みた. この合成 TRH 連続投与群は対照とした生食水連続投与群に比して, 血漿 TSH resting level のやや上昇傾向を認め, 下垂体重量及び下垂体内 TSH 量の減少, 少量の合成 TRH に対する血漿 TSH の反応時間の遅延, かつ, 持続性の傾向, thyroxine による TRH 作用の易抑制性などが観察された.

I. 緒 言

1947年 Green, Harris¹⁾ が中枢神経系による下垂体前葉分泌の調節機序として視床下部起源の液性因子を想定し, その後, Saffran, Schally ら²⁾ は, この液性因子を Releasing Factor (RF) と名づけた. 下垂体 TSH 分泌の調節に働く液性因子は, TRF (Thyrotropin Releasing Factor) と呼ばれその抽出分離への努力が続けられてきた. 1969年までの数年間にわたる諸家の研究³⁾⁴⁾⁵⁾ は, TRF が glutamine, histidine, proline の3つのアミノ酸よりなる tripeptide である事を証明し, 1969年8月, Folkers⁶⁾, Guillemin⁷⁾ らによつて合成された tripeptide, すなわち, pyro-glutamyl-histidyl-proline amide (pyro-Glu-His-Pro NH_2) に強力な TRF 作用のある事が判明した⁸⁾.

以来, この合成 TRF の生物作用にかんする研究^{9)~16)} は種々報告されてきたが, 合成 TRH 連続投与による下垂体 TSH 分泌動態に及ぼす影響についての報告は未だない.

著者は Gillessen らの方法¹⁷⁾ によつて合成された TRH をラットに毎日腹腔内投与することによつて, 間脳下垂体系に及ぼす影響を観察することにより TRH 連続投与の効果についての基礎的検討を試みいくつかの知見を得たので報告する.

II. 実験方法並びに実験対象

1. 実験動物

体重 $110\sim 120\text{g}$ の Swiss-Webster 系雄ラット及び体重 $10\sim 11\text{g}$ の D.D. 系雌マウスをオリエンタル固型飼料 MF にて, 温度, 湿度, 光, 音などを出来るだけ一定条件下で飼育したものを使用した.

2. TRF 連続投与法

ラットに合成 TRH あるいは, 対照として生食水を毎日1回腹腔内投与し, 最終投与24時間後に, ペントバルビタール麻酔下 ($4.5\text{mg}/100\text{g}$, 体重) に頸静脈より合成 TRH を投与し, その後, 10, 30, 60分後と経時的に他側頸静脈より採血した. また, TRH 投与4時間前に T_4 処置し, 合成 TRH を頸静脈投与

し、投与前、投与後10, 30, 60分に採血し、遠沈後血漿を分離し直ちに凍結保存し TSH 検定に供した。又、合成 TRH あるいは、生食水を長期連続腹腔内投与したラットを無麻酔下に、断頭屠殺し、下垂体後葉を取り除いた後、下垂体前葉を取り出し、3匹一群とし生理食塩水にて homogenize し、遠沈後の上清を稀釈して TSH 検定に供した。

又、上述した方法で取り出した下垂体前葉の重量を直ちに torsion balance を用い湿潤重量を測定し対照群と比較した。

3. TSH 検定法

TRH の検定は McKenzie 変法¹⁶⁾によつた。すなわち、D.D. 系雌マウス (体重14~16g) に Na^{131}I 10 μCi を腹腔内注射し、4及び24時間後に、L-thyroxine-Na 10 μg を皮下投与し、 ^{131}I 投与72時間に実験に供した。この前処置したマウスを軽いエーテル麻酔下に、眼静脈叢より 0.1ml 採血し、又、その後、尾静脈より TRH 連続投与法の項で得られた検体を 0.4ml 静注し、静注2時間後、再び軽いエーテル麻酔下に、反対側眼静脈叢より 0.1ml 採血し、各々の blood radioactivity を well-type-scintillation counter で測定し、検体投与後の blood radioactivity を、検体投与前の blood radioactivity に対する百分率で示した。最低測定可能値は、0.1mUSP、精度指数は0.359であつた。一検体当り6~8匹のマウスを使用した。

4. 合成 TRH 標品の検定

著者らの使用した TRH は Gillesen ら¹⁷⁾の方法に準じて合成されたもので、pyroglutamyl-histidyl-proline amide の酢酸塩である。この標品の生物作用並びに特異性にかんする検討結果は、既に一部報告¹³⁾ 14)したが、その単回投与の効果を以下の点について改めて検討した。

i) 合成 TRH 単回投与による血中 TSH の変動

ラットをペントバルビタールで麻酔し頸静脈内に合成 TRH 100ng/100g. 体重投与し、前、5, 15, 30, 60分後に、他側頸静脈より採血し、TSH 検定に供した。血漿 TSH の変動を血中 ^{131}I radioactivity より

Fig. 1. Time course of plasma TSH response after single injection of synthetic TRH (100ng/100g B.W.) in rats

みると、血漿 TSH は、5 分ですでに頂値に達し、15 分においても 5 分とほぼ同じレベルにあり、以後漸次下降した (Fig. 1)。

ii) 合成 TRH の用量反応相関

ラットに 100g 体重あたり合成 TRH 1, 5, 10 μ g 投与すると、夫々の群で投与10分後の血漿 TSH 活性は上昇した。この TSH 上昇は、生食水投与群に比べ何れも推計学上有意の上昇を示した。また、Table 1 に示すごとく投与量と TSH 上昇との間に用量反応関係が成立した。

iii) TRH 作用に対する Thyroxine の抑制作用。

予め4時間前に、ラットに T₄ の 1, 5, 10 μ g を皮下投与した後、合成 TRH を単回頸静脈内投与した。結果は Table 2 に示すように、この合成 TRH 300ng 投与は、5 μ g 以上の T₄ により TRH 作用の抑制を受けた。すなわち、T₄ は合成 TRH の作用を抑制するが、この抑制効果には、予め投与する T₄ 量と合成 TRH の投与量との間に容量依存的結果がみられた。

iv) この他、Saffron¹⁹⁾ に準じて検定した in vitro のラット下垂体短時間 incubation においても、合成 TRH の TSH 放出効果が存在する事をみた¹⁴⁾。更に、この合成 TRH に牛 TSH, ラット TSH を賦活化しない事、並びに、TSH 様作用のない事を確認した。

Table 1. Effect of synthetic TRH on plasma TSH of rat

Treatment	Blood radioactivity (% of initial)*	p
Saline	67.0 $\pm$ 8.2	—
Synth. TRH 1.0 μ g	206.0 $\pm$ 16.7	<0.005
Synth. TRH 5.0 μ g	230.2 $\pm$ 22.8	<0.005
Synth. TRH 10.0 μ g	324.0 $\pm$ 17.1	<0.005

* mean $\pm$ S.E.

Table 2. TRH induced TSH response in T₄* pretreated rats

Treatment	Blood radioactivity (% of initial)**	P
No T ₄ +Synth. TRH 0.3 μ g	301.7 $\pm$ 12.4	—
1.0 μ g T ₄ +Synth. TRH 0.3 μ g	301.6 $\pm$ 41.6	N. S.
5.0 μ g T ₄ +Synth. TRH 0.3 μ g	211.2 $\pm$ 18.6	<0.025
10.0 μ g T ₄ +Synth. TRH 0.3 μ g	119.0 $\pm$ 6.9	<0.005

* Rats were pretreated with T₄ 4 hrs. before experiment.

** mean $\pm$ S.E.

上述のような作用特性をもつ合成 TRH を使用して、ラットに長期投与を行なった。

5. 実験成績の推計学的処理

In vivo, in vitro で放出された TSH の検定には、一群6～8匹のマウスを使用した。処置ラット群の群間差の有意差検定は Student "t" test によった。

III. 実験成績

1. 合成 TRH 連続投与によるラットの体重、水及び食物摂取量の変動

合成 TRH 100 μ g/100g 体重あるいは、10 μ g/100g 体重を34日間毎日腹腔内連続投与し、各ラットについて毎日一定時間に体重測定した所、生食水連続投与対照群に比較して有意の差は得られなかつた。また、1

Fig. 2. Changes of body weight, food and water intake in the rats received long term administration of synthetic TRH (10 or 100 μ g/100g B.W.)

Fig. 3. Changes of plasma TSH level 24hrs. after final injection of long term administration of synthetic TRH (100 μ g/100g B.W.) in rats

日の水、食物摂取量を毎日計測して比較したが、これもまた有意の差は得られなかった。

すなわち、合成 TRH 連続投与はラットの体重、水及び食物摂取量に対して影響を及ぼさないといえる (Fig. 2)。

2. 合成 TRH 連続投与後の血漿 TSH Level の変動

一定の条件下で飼育したラットに、一定期間毎日1回合成 TRH 100 μ g/100g、体重を、対照として生食水 0.2ml/100g、体重腹腔内注射し、最終投与24時間後に、ペントバルビタール麻酔下に頸静脈より採血して TSH 活性を測定した。血漿 TSH の resting level は、対照群と比較して TRH 連続投与群の方がやや高い傾向にあったが有意ではなかった。特に、連続投与日数15, 22, 25日のラットにおいては、対照群に比し、血中 TSH 高値を示したが、これも推計学上有意でなかった。また投与日数による差も明らかでなかった (Fig. 3)。

3. 合成 TRH 連続投与後の下垂体重量、下垂体内 TSH 量

15日間毎日合成 TRH 100 μ g/100g、体重を腹腔内投与したラット (17頭、平均体重 245 $\pm$ 6.6g)、及び毎日生食水 0.2ml/100g 体重、を投与したラット (12頭、平均体重 239 $\pm$ 5.6g) の下垂体前葉の重量を測定した。TRH 連続投与群では、平均下垂体重量 6.5 $\pm$ 0.3mg、体重 100g 当りでは、2.6 $\pm$ 0.1mg であり、生食水連続投与群では、下垂体重量 7.0 $\pm$ 0.3mg、体重 100g 当りでは 2.9 $\pm$ 0.1mg であった。すなわち、合成 TRH 連続大量投与によつて下垂体重量の減少が $P < 0.05$ の有意差をもつて証明された。

また、下垂体内 TSH 含量を測定した所、15日間連続合成 TRH 投与群の平均下垂体重量は、体重 100g、当り 2.6 $\pm$ 0mg で、mg 当りの TSH 含量は、4.2 $\pm$ 0.7mUSP、生食連続投与群の下垂体重量は、100g 当り 2.9 $\pm$ 0.1mg で、mg 当りの TSH 含量は、17.3 $\pm$ 0.1mUSP で両群間には有意の差が認められた。すなわち、合成 TRH 連続投与により下垂体 TSH 含量も減少する事を示した (Table 3)。

Table 3. Changes of pituitary weights and TSH contents after long term administration of synthetic TRH in rats

Treatment	No. of rats	Pituitary weight mg/100g B.W.	P	Pituitary TSH contents		P
				Blood radioactivity (% of initial)**	mU.S.P./mg	
Saline for 15 days	17	2.9 $\pm$ 0.1	—	231.3 $\pm$ 20.3	17.3 $\pm$ 0.1	—
TRH* for 15 days	12	2.6 $\pm$ 0.1	0.05	102.3 $\pm$ 18.2	4.2 $\pm$ 0.7	<0.005

* Synthetic TRH 100 μ g/100g B.W.

** mean $\pm$ S.E.

4. 合成 TRH 長期投与ラットにおける TRH-TSH 反応

合成 TRH あるいは生食水22日間連続投与したラットに、TRH 最終投与24時間に合成 TRH 25 あるいは、100ng/100g、体重を頸静脈より投与し、投与前、投与後10, 30, 60分に反対側頸静脈より採血し、直ちに血漿分離し凍結した後 TSH 検定に供した。血漿 TSH の変動をみた所、生食水連続投与群では、10分で頂値に達し、60分で前値に復するに反して、TRH 連続投与群では、頂値は10分と30分の間にあり、かつ、60分でもなお前値に比し高い値をとつた。従つて TRH 連続投与群は、少量の合成 TRH に対して遅延反応を示し、かつ持続した TRH の増量を示す傾向を認めた。

5. 合成 TRH 長期投与ラットにおける TRH 効果に対する T_4 の影響

TRH の効果は thyroxine によつて抑制される事が明らかとなつたが、合成 TRH 長期投与ラットにおける T_4 の TRH 作用抑制を観察する目的で、TRH 22日間連続投与ラットに、予め T_4 3 μ g/100g 体重を実験4時間前に皮下投与し、TRH 効果について検討した。すなわち、ペントバルビタールで麻酔したラットに合成 TRH 50, 25, 5ng/100g、体重、頸静脈より投与し、投与前及び投与後10分の血漿 TSH の変動を

Fig. 4. Plasma TSH response on definite dose of synthetic TRH in the rats
received long term administration of synthetic TRH ($100\mu\text{g}/100\text{g B.W.}$)

Fig. 5. Effects of T_4 on the response to various dose of synthetic TRH in the rats received
long term administration of synthetic TRH ($100\mu\text{g}/100\text{gB.W.}$)

みると、図に示すごとく (Fig. 5), TRH 50ng 投与では, TSH の増量は, 生食水群 $235.0 \pm 12.1\%$, TRH 連続投与群 $158.3 \pm 18.2\%$ ($P < 0.05$), また, TRH 25ng 投与では, 生食水群 $192.8 \pm 27.0\%$, TRH 連続投与群 $91.0 \pm 6.6\%$ ($P < 0.05$) で有意差を認めた. すなわち, TRH 連続投与群は, 生食水連続投与群に比べて T_4 の抑制を受けやすいことが判明した. なお, TRH 5ng 投与では, 両群共に TRH 作用が T_4 により抑制された.

IV. 考 按

1. 合成 TRF について

著者が使用した TRH 標品は, 既に報告したように¹³⁾¹⁴⁾, pyro-Glu-His-Pro (NH_2) の構造をもち, in vivo, in vitro における基礎的検討の結果から TSH 放出作用をもち, かつ, その作用が特異的なものであることは明らかである. 著者が使用した TRH の投与量は, 従来の報告⁶⁾¹⁵⁾¹⁶⁾³¹⁾に比べ大きい, これは比較的大量の TRH を連続投与した場合の内分泌代謝面への影響を知ろうとする著者の意図に基づくものである. このような投与量, 投与形式によつて, 血漿 TSH level, 下垂体重量, 下垂体内 TSH 量, 血漿 TSH の TRH に対する反応性, T_4 と TRH 作用の関連性, ラットの体重, 水及び食物摂取量の変動について観察し, 間脳下垂体, 甲状腺系に及ぼす TRH 効果の解明を意図した.

2. 合成 TRH 連続投与による下垂体機能への影響

i) 血漿 TSH の resting level

TSH 分泌に日内変動を認めるという報告²⁰⁾を別として, 下垂体 TSH 分泌の調節機構については, 視床下部由来の TRH による促進と末梢血中甲状腺ホルモンによる抑制とによつて, 主として調節されていると考えられている. 著者の実験において, 連続 TRH 投与したラットの安静時血漿 TSH は, 対照群と比較して高い傾向にあるが有意の上昇ではない. この安静時 TSH レベルの軽度上昇の機序は必ずしも明らかではない. TRH 単回投与の場合, 血漿 TSH の増加は, 5~10分を頂値として60分でもとに復する事が著者及びその他の研究者⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾²¹⁾によつても報告されている. 従つて, 著者の実験では最終投与24時間後に採血しているので, 連日投与の効果をも, 単に1回投与の繰返しと見なせば, 24時間後の TRH 効果は少いと考えられる. しかしながら, 連日投与を単なる1回投与の繰返しと見なさず, 連日投与に個々の効果—たとえば蓄積効果を想定するならば血中 Resting TSH レベバの軽度の上昇を理解することが可能となる. しかし, この点について断定しうるには至らず, かつ現在他からの同様の検討報告も見られない. 今後, さらに TRH 投与量, 投与期間を変えて観察を加え結論に達するべきであろうと思われる.

ii) 下垂体重量と下垂体内 TSH 量

Andersen²²⁾ は, ラットの生殖腺切除術を行ない, 下垂体重量の増加をみると報告し, また, Andersen²³⁾ 及び Baylon²⁴⁾ は, estrus 期には, 下垂体重量の増加, diestrus 期には, 下垂体重量の減少があると報告している. 一方, 加齢による下垂体重量の相対的減少については, Andersen²³⁾, Hatani²⁵⁾ が報告している.

著者は, ラットに大量の合成 TRH を毎日投与することによつて下垂体重量の減少する事をみた. Sinha²⁶⁾, Meites²⁷⁾, 田中²⁸⁾ らは, TRH が, TSH 放出のみならず, TRH 生合成にも働きかける可能性を報告している. 一方, Redding²⁹⁾ や Bowers³⁰⁾ は, TRH 効果を下垂体内 TSH 量の減少率で推定することを試みたが, この事からも理解されるように, TRH 投与は結果として下垂体 TSH 量を減少させる可能性が示唆される. 著者は, ラットに大量の TRH を毎日投与することにより下垂体重量の減少のほか下垂体内 TSH 量の著名な減少をも観察した.

Bowers³⁰⁾ は, 少量の porcine TRH をマウスに単回投与すると投与2時間後の TSH 含量は減少しているが, 大量投与では TSH 含量に変化がないと報告している. Redding²⁹⁾ は, マウスに純化 TRH を単回投与し, 5分後に断頭屠殺し下垂体前葉の TSH 含量を測定し, TRH 4ng は顕著な TSH 含量の減少を起したが, 2~4時間後には投与前の含有量に復元したと報告している.

ここには, TRH の作用が単に TSH 放出のみに働くか, あるいは, TSH 生合成にも働くかの問題が存

在し、かつ、単回投与と連続投与の投与形式による差が存在するものと考えられる。著者の連続投与実験では、下垂体内 TSH 量は有意の減少を示したので、TRH が TSH 生合成に働くとしても TSH 放出が生合成を上廻つたものと理解出来る。

Bowers³¹⁾ は、ラットにおいて下垂体移植術を行ない、その後、合成 TRH $3\mu\text{g}$ 連続腹腔内投与して、下垂体での TSH 合成は、TSH 放出に遅れるという事を報告している。田中²⁸⁾は、下垂体の TSH 分泌能に及ぼす添加物質の影響に関する研究で、TRH 添加は早期に TSH 放出を促進し、その後、下垂体内の TSH が増量すると報告している。すなわち、TSH 合成は放出に遅れて始まるということである。伊藤ら³²⁾は、ラットを寒冷暴露する事により下垂体内 TSH が減少することをみている。このように、外因性ないしは、内因性 TRH に対し比較的早い時期には TSH 放出が著明であり、次の phase で TSH 生合成が行なわれる可能性が指摘されるが、何れにしても、著者の大量 TRH 連続投与の条件では、下垂体内 TSH 量は著明に減少する事は明らかである。

iii) TRH 連続投与ラットにおける合成 TRH 投与に対する血漿 TSH の変動

Bowers³³⁾ は、高純化 porcine TRH をクレチン症例に単回投与し、bioassay, radioimmunoassay にて血漿 TSH の変動をみた。すなわち、porcine TRH $300\mu\text{g}$ 投与により 3～6 分で頂値に達し、45 分まで徐々に下降し 120 分で前値に復した。

佐古田ら³⁴⁾によると、ラットに bovine TRH (Fraction D) $100\mu\text{g}$ 単回投与した場合の血漿 TSH の変動は、6 分で頂値に達し、以後漸次下降するという。同様の事を、Bowers⁹⁾, Hershmann¹¹⁾, Fleisher¹⁰⁾, Hall¹²⁾, 大槻³⁵⁾らが合成 TRH を用いて報告しているが、著者の使用した合成 TRH においても、Fig. 1. に示す如く、ラットに合成 TRH 100ng 単回投与により血漿 TSH は、5 分ですでに頂値を示し、以後漸次下降し 60 分で前値に復した。この様に、TRH-TSH 反応には時間的に反応相関がある。然るに、TRH 連続投与中のラットに任意の 1 日を選んで少量の TRH 投与した場合には、血漿 TSH の頂値は 10 分と 30 分の間にあり、かつ、60 分でもなお高い値をとつた。すなわち、少量の合成 TRH に対して遅延、かつ、持続した TSH 増量反応を呈する傾向があるといえる。大槻³⁵⁾は、下垂体障害症例、甲状腺機能低下症、原発性甲状腺機能低下症において少数例であるが、TRH に対する TSH 反応の頂値が遅れ、かつ、60 分でもなお高値が続く、いわば、遅延反応ともいふべき TSH 分泌形式が存在するといっている。更に、原発性甲状腺機能低下症では、TRH 投与前に、既に、TSH の resting level の高値を指摘している。すなわち、頂値到達時間が遅れ、かつ、前値復元時間が遅れるという点で、ヒト原発性甲状腺機能低下症と TRH 連続投与ラットの反応パターンとは類似している。しかし、resting level の TSH 値において、両者は明らかに異つており、TRH 連続投与ラットは、投与前値 TSH が低い。このような TRH 連続投与ラットで、頂値到達時間が遅れる機序については、前述のように、TRH 連続投与ラットの下垂体 TSH 量が少い事実に関連する可能性が推測される。一般に、内分泌腺組織内のホルモン含有量が少い条件下では、そのホルモン分泌刺激に対するホルモン放出反応が遅れる事実が従来より指摘されてきたが、ここにも同様の機序が存在するものと考えられる。

iv) TRH 効果に対する T_4 の影響

TRH の効果は thyroxine によって抑制される⁹⁾¹⁰⁾²⁰⁾³¹⁾³⁶⁻⁴⁰⁾。すなわち、Bowers⁹⁾ は、pig の視床下部より抽出した純化 TRH $2.7\mu\text{g}$ をラットに投与した時、予め、2 時間前に T_4 $0.9\mu\text{g}$ を投与することによつて TRH 効果は一部抑制され、 T_4 $2.7\mu\text{g}$ で完全に抑制されたと報告している。Vale³⁶⁾ は、抽出 TRH 8U 投与の時、 T_4 $2.5\mu\text{g}$ で完全にその作用を抑制する、また、 T_4 $10\mu\text{g}$ の時は、TRH 22.95U まで抑制するが、 53.37U では T_4 による抑制は認められないと報告し、下垂体レベルでの TRH と T_4 との間の dose dependent な negative interaction のあることを指摘している。Bowers³¹⁾ らは、マウスで T_3 25ng 投与は合成 TRH 18ng の作用を抑制すると報告している。また、佐古田⁴¹⁾、福田⁴²⁾は、ラットにおいて牛純化 TRH (Fraction D) $50\mu\text{g}$ 投与では、 T_4 $3\mu\text{g}$ により下垂体からの TSH 分泌が抑制されるが、 $100\mu\text{g}$ 投与では、 T_4 $5\mu\text{g}$ 以上により抑制されたと報告している。また、佐古田¹³⁾ は、合成 TRH $1\mu\text{g}$ 投与は、 T_4

3 μ g により抑制を受け、TRH 10 μ g 投与では T₄ 3 μ g で TSH 分泌は抑制されず T₄ 10 μ g で初めて抑制されたと報告している。著者が今回の実験を始めるにあたって、合成 TRH と T₄ の相関を調べた所、300 ng の TRH は T₄ 5 μ g 以上で抑制されるという結果が得られた。さて、このように一定の T₄ 前処置では完全に一定量の TRH の TSH 放出作用が抑制されるが、逆に TRH 投与量を次第に増加すると、一定量の T₄ による抑制効果を突破して TSH 放出を起す。

すなわち、ここに、T₄ の variable set point ともいうべき下垂体レベルでの T₄ と TRH の negative interaction があり、それが TSH 分泌を決定するといえる。

さて、著者は合成 TRH 大量連続投与ラットにおける T₄-TRH の関連性を調べるため、連続投与ラットに4時間前に T₄ 3 μ g 皮下注射し、合成 TRH 50, 25, 5ng 投与した所、50, 25ng 投与では、生食水連続投与群と比較して T₄ の抑制を受け易いという結果がでた。また、5ng 投与では両群共に TRH 作用が抑制されていた。このことは、外因性 TRH の増加のため、下垂体が最大限の TSH 放出刺激を受けているので、更に外因的に投与した TRH には反応しにくく、そのため、生食水投与群に比べて、T₄ により抑制され易いのか、あるいは、下垂体内 TSH 量減少のためか、興味ある事実である。今後、更に検討を要する問題であると考えられる。

T₄ と TRH の関係を福田⁴³⁾は、甲状腺切除ラットにおいてみている。すなわち、甲剝群では、TRH 効果は認められず、甲剝後、T₄ 5 μ g 及び 10 μ g を3日間投与した群、すなわち、血中甲状腺ホルモンレベルが正常よりもやや高いと考えられる群では、TRH 効果は良好である。更に大量の T₄ を投与した群(甲剝 + T₄ 5 μ g あるいは 10 μ g 7日間連続投与)では、再び、TRH 効果は抑制され、TRH の効果は血中甲状腺ホルモンレベルと微妙な関係にあると報告している。著者の TRH 連続投与ラットでは、最終注射後24時間では血清 PBI がやや高い傾向にあるが⁴³⁾、連続投与ラットにおける内因性甲状腺ホルモンの下垂体への影響は必ずしも明らかでない。TRH の作用は、血中甲状腺ホルモンレベルだけでなく、先に述べたように下垂体内 TSH 含有量によつて修飾されると思われる。すなわち将来、TRH が治療応用された場合、内因性甲状腺ホルモン増量による TRH 作用抑制を除くためには、至適な TRH の投与量、投与間隔を設定することが治療目的を達するために必要である事を示している。

V. 結 論

合成 TRH をラットに最短7日、最長34日間連続投与し、主として下垂体-甲状腺系機能に及ぼす影響を検討し、以下の結果を得た。

- 1) ラットの体重及び水分摂取には影響を及ぼさなかつた。
- 2) 血漿 TSH の resting level の上昇傾向が認められたが、推計学的には有意でなかつた。
- 3) 下垂体重量、下垂体内 TSH 量の減少を認めた。
- 4) 連続投与ラットで TRH 最終注射後24時間に投与された合成 TRH に対して、血漿 TSH の反応時間の遅延並びに持続する傾向が認められた。
- 5) 予め投与された thyroxine により、TRH 作用は抑制され易く、血中 T₄ 濃度、TRH、下垂体内 TSH 量との間に相互関係があることを想定した。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜つた馬場茂明教授に深甚なる謝意を表します。また、直接の御助言、御教示を頂いた佐古田雅弘講師に厚く御礼申しあげます。また、御協力いただいた研究室の諸兄に感謝致します。TRH の合成、その他に関して多大の御協力をいただいた大五栄養渡辺博士に感謝致します。

なお、本論文の要旨は、第44回日本内分泌学会総会(昭和46年4月、東京)において発表した。

文 献

- 1) Green, J.D. and G.W. Harris : J. Endocr. 5 : 136 (1947).
- 2) Saffran, M., A.V. Schally and B.G. Benfey : Endocrinology, 57 : 439 (1955).
- 3) Schally, A.V., T.W. Redding, C.Y. Bowers,

- and J.F. Barrett : *J. Biol. Chem.* 244 : 4077 (1969). 4) Burgus, R., Stillwell, R.N. McCloskey, J.A., Ward, D.N., Sakiz, E., and R. Guillemin : *The physiologist*, 9 : 149 (1966). 5) Tsuji, S., M. Sakoda, and M. Asami : In "Integrative mechanism of neuroendocrine system" (Itoh, S. ed.) Hokkaido Univ. Med. Lib. Ser. pp. 63, Sapporo (1968). 6) Bøler, J., F. Enzmann, K. Folkers, C.Y. Bowers and A.V. Schally : *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 37 : 705 (1969). 7) Burgus, R., Dunn, T.F., Desiderio, D., and Guillemin, R. : *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 269 : 1870 (1969).
- 8) Folkers, K., Enzmann, F., Bøler, J., Bowers, C.Y. and Schally, A.V. : *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 37 : 123 (1969). 9) Bowers, C.Y., Schally, A.V., Schalch, D.S., Gual, C., Kastin, A.J., and Folkers, K. : *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 39 : 352 (1970). 10) Fleischer, N., Burgus, R., Vale, W., Dunn, T. and Guillemin, R. : *J. Clin. Endocri.* 31 : 109 (1970). 11) Hershman, J.M., and Pittman, J.A. : *J. Clin. Endocri.* 31 : 457 (1970). 12) Hall, R., Amos, J., Garry, R. and Buxton, R.L. : *Brit. Med. J.* 2 : 274 (1970). 13) 佐古田雅弘, 大槻 真, 日下孝明, 森頼太郎, 嶺山隆司 : *日内分泌誌*, 46 : 826 (1970). 14) 佐古田雅弘, 福田恒夫, 玉岡昌則, 深津泰良, 大久保理夫 : *日内分泌誌*, 46 : 821 (1970). 15) Kendell, J.W., L.H. Rees. and R. Kramer. : *Endocrinology*, 88 : 1503 (1971). 16) Baugh, C.M., C.J. Krumdieck, J.M. Hershman, and J.A. Pittman, JR : *Endocrinology*, 87 : 1015 (1970). 17) Gillessen, D., A.M. Felix, W. Largier, and R.O. Studer : *Helv. Chem. Acta.* 53 : 63 (1970). 18) Mckenzie, J.M. : *Endocrinology*, 63 : 372 (1958). 19) Saffran, M. and A.V. Scnally : *Canad. J. Biochem. Physio.* 33 : 408 (1955). 20) Retiene, K., Zimmermann, Z., Schindler. W.J., Neuenschwander, J., and Lipscomb, H.S. : *Acta Endocrinology*, 57 : 615 (1968). 21) 大槻 真, 佐古田雅弘, 弘重尚久, 金尾啓介, 八木秋子, 本田 稔 : *ホルモンと臨床*, 19 : 473 (1971). 22) D.H. Andersen and H.S. Kennedy. : *J. Physiol.* 79 : 1 (1933). 23) D.H. Andersen. : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 30 : 657 (1933). 24) A.D. Litonjua. and B.V. Baylon. : *Acta Medica Philippiana*, Vol. 1. 204 (1965). 25) Hatani. S : *J. Exp. Zool.* : 18 : 1 (1915). 26) Sinha, D.K. and J. Meites. : *Endocrinology*, 78 : 1002 (1966). 27) Guillemin, R., and J. Meites. : In "Hypophysiotropic Hormones of the Hypothalamus" : Assay and Chemistry Williams and WilkinsCo. Baltimore pp. 58 1970. 28) Tanaka, I. : *Folia Endocrinologica Japonica*, : 46 : 230 (1970). 29) Redding, T.W. and A.V. Schally : *Endocrinology*, 81 : 918 (1967). 30) Bowers, C.Y., A.V. Schally, G. A. Reynolus. and W.D. Hawley : *Endocrinology*, 81 : 741 (1967). 31) C.Y. Bowers, A.V. Schally, F. Enzmann, J. Boler, and K. Folkers : *Endocrinology*, 86 : 1143 (1970). 32) Ito, S. : *Federation Proceedings*, 25 : 1187 (1966). 33) Bowers, C.Y., A.V. Schally, W.D. Hawley, C. Gual, and A. Parlow : *J. Clin. Endocri.* 28 : 978 (1968). 34) 辻 昇三, 佐古田雅弘, 池村幸男 : *最新医学*, 24 : 628 (1969). 35) 大槻 真 : *日内分泌誌*, 47, 301 (1971). 36) Vale, W., R. Burgus, and R. Guillemin : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 131 : 420 (1969). 37) Vale, W., R. Burgus, and R. Guillemin : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 125 : 210 (1967). 38) Snyder, P.J. and R.D. Utiger : *J. Clin. Invest.* 51 : 2077 (1972). 39) R.L.W. Averill. : *Endocrinology*, 85 : 67 (1969). 40) Vale, W., R. Bugus, and R. Guillemin : *Neuroendocrinology*, 3 : 34 (1968). 41) 辻 昇三, 佐古田雅弘, 福田恒夫, 深津泰良 : *最新医学*, 24 : 1695 (1969). 42) 福田恒夫 : *日内分泌誌*, 46 : 1169 (1971). 43) 森頼太郎 : 発表予定.