成長ホルモンとプロラクチンの 構造と活性

川内 浩司 Hiroshi KAWAUCHI
北里大学水産学部

成長ホルモンとプロラクチンは脳下垂体から分泌されるホルモンである。脳下垂体は大腦下部に存在する小さな内分泌器官であり（ヒトで約 0.5 グラム）、解剖学上、前葉、中葉、後葉の三部から成り立っている。前葉と中葉は一諸にして腺性下垂体 (adenohypophysis)、後葉は神経性下垂体 (neurohypophysis) とよばれる。両者は共通の茎で大腦の視床下部に連絡しているが、発生学上起源を異にする。すなわち、腺性下垂体は咽頭に由来し、ペプチドホルモンを分泌するのに対し、神経性下垂体は脳に由来し、視床下部の神経細胞で産生されたペプチドホルモンを貯蔵・放出する。

腺性下垂体から分泌されるホルモンとして、現在までに、成長ホルモン(GH)、プロラクチン(LTH)、副腎皮質刺激ホルモン(ACTH)、リボトロピン(LPH)、メラニン細胞刺激ホルモン(MSH)、甲状腺刺激ホルモン(TSH)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、黄体形成促進ホルモン(LH)などが知られており、構造も明らかになっている⁽¹⁾。

腺性下垂体のホルモンの分泌は、視床下部 (hypothalamus) から分泌されるペプチド性のホルモンによって制御されており、最近、いくつかの視床下部ホルモンの構造が決定されている⁽²⁾。また、腺性下垂体のホルモンは成長ホルモンを除けば、たとえば副腎皮質刺激ホルモンが、副腎皮質に作用してステロイド性の副腎皮質ホルモンの分泌を促進するというように、それぞれに特定の標的となる内分泌器官があり、相当する脳下垂体ホルモンによって作用を誘発された内分泌器官はそれら自体でホルモンを分泌し、これが直接生理作用に関与する。こ

図 1 腺性下垂体ホルモンと視床下部ホルモンの関係および標的器官との関係

のホルモン分泌の関係を図 1 にまとめた。これらの各段階のホルモン分泌は、それぞれフィードバック機構で制御されている。

一方、胎盤には内分泌器官としての作用もあることが 1905 年に明らかになり、その後、ラットで脳下垂体を摘出して正常な妊娠が維持できることから、胎盤ホルモンが妊娠の維持に重要な役割を果たすことがわかってきた。すなわち、生殖腺刺激ホルモンとして human chorionic gonadotropin がまず分離され、ついでプロラクチン、および成長促進活性を有する human chorionic somatomammotropin が分離された。このほか、脳下垂体ホルモンに相当するポリペプチドホルモンが分泌されることも知られている⁽³⁾。

成長ホルモン

1910 年ごろから、脳下垂体の役割を見いだすために、

脳下垂体を摘出した動物を用いて研究が行なわれ、Evans と Lang は、脳下垂体を摘出したラットにウシの脳下垂体前葉の食塩水抽出液を腹腔内注射すると、ラットが成熟することをみとめた。これが成長ホルモン研究の始まりである。

成長ホルモン (growth hormone; 以下 GH) はその名の示すとうり、これを与えることにより、体重および身長が増加が直ちに起こる。この体長の伸長作用は骨端軟骨の延長によるが、骨格の成熟に直接 GH が関係しているのではなく、このホルモンによって肝、腎などで生成されると想像されている sulfation factor (somatomedin) の作用によると考えられている。このほか、GH はタンパク質合成促進、脂質代謝、糖質代謝、電解質代謝などに広範囲に作用する。また、GH は 1944 年、Li によってはじめてウシから単離された⁽⁴⁾が、このウシの GH(BGH) は、ヒトに対しては成長促進作用を示さないことがくり返し示され、ウシとヒトとで化学的、免疫学的に異なっていることが予想されていた。そして、1956 年、ヒトの GH(HGH) が Li によって単離され⁽⁵⁾、BGH と構造の異なることがはっきりと示された。

プロラクチン

プロラクチン (prolactin, LTH) はハトの crop sac (嗉嚢) を刺激する脳下垂体の活性物質を意味するが、哺乳類のものはとくに乳腺刺激ホルモン (lactogenic hormone) とよばれる (ここでは、略号として LTH を用いた)。HGH は成長促進作用に加えて、本質的にプロラクチン活性を有することが明らかになり、また霊長類以外では成長ホルモンとプロラクチンは別個のホルモンとして分離されていたが、ヒトではプロラクチンが分離できないことから、一時、両者は同一分子ではないかと考えられたこともあった。しかし、Frisen らにより 1972 年、ヒトのプロラクチンが別個のホルモンとして分離された⁽⁶⁾。一方、ヒトの胎盤から分離された human chorionic somatomammotropin (HCS) は強いプロラクチン活性と、弱いながらも成長促進作用を有する。

プロラクチンは、哺乳動物の場合、乳腺の成長と発達、乳汁分泌を促進する機能を有するが、他の動物では多様な活性を発揮する。たとえば、ハトではプロラクチンは、先述の crop sac とよばれる食道から分化した器官において、幼鳥のために crop milk とよばれるミルク状の

物質を分泌させる。これは pigeon crop sac assay として、プロラクチン活性測定に広く利用されている。また、鳥の巣ごもり、渡りもプロラクチンの作用とされている。両棲類では、サンショウウオにプロラクチンを注射すると、陸棲から産卵の場を求め水棲に移行する。海水で飼育された硬骨魚では、脳下垂体摘出後、淡水に移すと血液中の塩濃度が著しく減少し、やがて死んでしまう。このことは、浸透圧調節にもプロラクチンが関与していることを示しており、この作用もプロラクチン活性の測定に用いられている。また、ある種の硬骨魚はプロラクチンによって皮膚腺から粘液を分泌することが知られ、これは discuss milk とよばれ、稚魚の栄養になる。

このように、プロラクチンの活性は多様であるが、いずれも生殖に関与するものである。

成長ホルモンとプロラクチンの測定法

血中の微量のホルモンの測定には免疫学的方法が、また比較的多量のホルモンの活性測定には生物学的測定法が用いられている。免疫学的方法は、¹³¹I または ¹²⁵I で標識したホルモンが、非標識ホルモンとホルモン抗体に対して競合的に抗原-抗体反応することに基づいた radio-immuno assay であるが、本稿で論ずる活性はすべて以下の生物検定法によるものに限ることにした。

Tibia test⁽⁷⁾: 成長促進活性は、生後 26~28 日の脳下垂体を摘出したラットの腹腔内へ成長ホルモンを注射し、脛軟骨幅を測定する。脳下垂体を摘出した若いラットに 1 日 1 回成長ホルモンを腹腔内注射し、体重、体長の増加をみる方法もある。

Pigeon crop sac assay⁽⁸⁾: 先述のようにハトの crop sac を用いる方法であるが、一般に次の 2 つの変法が用いられる。1 つは年齢一定の幼若ハトに腹腔内注射し、crop sac gland (嗉嚢腺) の重量を測定する方法であり、他の 1 つは local crop sac assay とよばれ、成熟ハトを用いて crop sac gland に直接注射してその重量を測定するもので、感度が高い。

そのほか、魚類の浸透圧調節作用を用いる方法⁽⁹⁾も開発され、魚類プロラクチンの分離精製がさかんになっている。

一次構造の比較

Li らは 1965 年、HGH の一次構造を報告したが、そ

の後, Li, Niall によりそれぞれ独立に2度の改正が行なわれ, 結局, 図2に示したように, 2個のS-S結合を53-165位, 182-189位の間に有する191個のアミノ酸

残基から成る一本鎖ポリペプチドであることが明らかになった⁽¹⁰⁾. ヒツジ成長ホルモン(SGH)についても, 1972年にLiらによって決定された⁽¹¹⁾. ウシ成長ホル

図2 HGH, HCS, o-LTH, SGH の一次構造の比較

4つのホルモンに共通なアミノ酸残基は実線, 成長促進作用を有する HGH, HCS, SGH に共通な残基は破線, プロラクチン作用を有する HGH, HCS, o-LTH に共通の残基は点線で囲ってある. ギャップを勘定した順位は()内に示し, 各ホルモン中での順位は残基の右下に示してある.

図 3 o-LTH と p-LTH のアミノ酸配列の比較

モン (BGH) の一次構造については Santome らによって報告されたが, Li らにより SGH の一次構造と比較しながら再検討され, 1974 年に, SGH の 191 残基中 21, 23, 25, 99, 130 位の 5 残基がそれぞれ Leu, Asn, Ala, Asp, Gly である点のみが異なっていることが示された⁽¹²⁾.

一方, プロラクチンは, いろいろな種から高度に精製されており, そのうち, 現在までにヒツジ⁽¹³⁾ とブタ⁽¹⁴⁾ のプロラクチン (それぞれ o-LTH, p-LTH) の一次構造が Li らによって解明されている (図 3). ヒトのプロラクチンの一次構造は Niall らによって研究されており, N 末端から 44 番目までが報告され, それによると,

o-LTH とよく類似している. LTH は 198 個のアミノ酸残基からなり, 3 個の S-S 結合を 4-11 位, 58-173 位, 190-198 位の間に有する一本鎖ポリペプチドである. 90 位と 149 位に 2 個の Trp 残基, 7 個の Tyr 残基を同位に有する点に特徴がある.

HCS の一次構造も Li らによって解明され⁽¹⁵⁾ (図 2), HGH と同様 191 個のアミノ酸残基からなり, 2 個の S-S 結合, Trp 残基, 8 個の Tyr 残基の位置のみならず, アミノ酸配列もよく類似している. また, HCS のプロラクチン活性は HGH のプロラクチン活性の 85% に相当し, 成長促進活性では 10~15% を有するといわれている. このように, 胎盤と脳下垂体というまったく異なっ

た器官で産生されるホルモンの一次構造と活性とが似ていることは、両活性の構造との関係を考えるうえで興味深い。

これら一次構造が解明された6種のホルモンのうち、ヒトのホルモン——HGH と HCS、およびヒツジのホルモン——SGH と o-LTH の全一次構造を比較して図2に示した。ヒツジのホルモンはそれぞれ1つの活性のみを有するのに対し、ヒトのホルモンは活性に強弱はあるが、いずれも両活性を有している。これらのアミノ酸を比較すると、HGH と HCS は191個のアミノ酸残基をうまく対応する位置にならべることができる。ただし、SGH をこれに対応させて最大の相同性を得るために、いくつかのギャップが置いてあり⁽¹⁶⁾、さらにLTHで類似性がまったく見つからないセグメントはギャップとして除外してあるため、o-LTH と p-LTH の全一次構造は別に図3に示してある。

4つのホルモんに共通の残基は全配列中 41 残基 (21%) にのぼる。(77)~(91) と (163)~(180) の2つのセグメントは、50%以上が共通のアミノ酸残基である。Trp (88)、S-S 結合 (54)-(168)、(185)-(194)はすべてのホルモんに存在しているが、LTHのアミノ末端部分のS-S 結合 4-11 位、Trp-149 は成長促進作用を有するホルモンには存在しない。

成長促進作用を有するホルモン——HGH、SGH、HCS に共通な残基は 70 個あり、アミノ末端部分、カルボキシ末端にわたり広く分布している。4つのホルモんに共通した残基の少ない部分、すなわち (93)~(137) はLTHには配列に類似性がなくギャップとして除いてあるが、この部分は成長促進活性を持つホルモンでは共通なアミノ酸残基が連続した部分を有し、成長促進活性に特徴的な部分と思える。

これに対し、プロラクチン活性を持つホルモんに共通なアミノ酸残基は8残基しかなく、それもアミノ末端側に散在している以外に特徴が見当たらない。ここで問題となる点は、LTH でかなりの部分がギャップとして除かれていることであるが、プロラクチン活性を持つHGH と HCS の全アミノ酸残基が含まれているから、プロラクチン活性に必要な残基はそのうちに含まれていなければならないと考えられる。しかし、残念ながら、この比較からプロラクチン活性に特徴あるセグメントを浮きぼりにすることはできていない。他方、ヒツジとブタの

LTH の配列の比較は、198 残基中 161 残基が相同となっているため、同じように特徴をとらえることができていない。

もう1つの特徴は、成長ホルモンにおいて(74)~(105)の32残基のうち、3分の2は疎水性のものがあることで、この部分は疎水領域を形成し、埋没状態にあることが予想される。これはLTHにおいてもほぼ同様の傾向を示す。

高次構造の比較

1. 分子量^(17,18)

HGH の分子量は浸透圧法 (pH 8.4) では 23,800、アミノ酸配列からは 21,800 と計算でき、単量体である。サルの成長ホルモンも単量体であるといわれている。一方、BGH と SGH の分子量は、浸透圧法によるとそれぞれ 41,100、40,000 と測定され、アミノ酸配列から計算される分子量の約2倍で、二量体として挙動する。ブタ、クジラの GH も二量体であるといわれている。HCS は Sephadex G-100 (pH 8.2) 上での挙動から、単量体であるとされた。o-LTH と p-LTH は、沈澱平衡法によりそれぞれ 22,400、23,300 とされ、アミノ酸配列からの分子量 22,900、22,500 と一致し、これらは単量体である。ただ一般に、成長ホルモン、プロラクチンはいずれも会合体を形成しやすい性質を有している。

2. 種特性⁽¹⁹⁾

先述のように、BGH は脳下垂体を摘出したラットに対して成長促進作用を有するが、ヒトとサルに対しては無効である。一方、HGH とサルの GH は他の動物に対して効果を示す。サカナの成長ホルモンはサカナに対しては有効であるが、ラットに対しては無効である。このように、他の動物へのホルモン作用の発現にはそのホルモンを産生する動物の種類が重要であり、一般に、高等な脊椎動物のホルモンは下等な脊椎動物に対しては有効である。

単量体であるか二量体であるかの違いは一次構造の変化による高次構造の変化の結果であり、その変化が種間の差としてあらわれ、しかも活性を失わない範囲にとどまると考えられる。

3. α -helix^(17,18)

これらのホルモンは、いずれも円偏光二色性において 223~221 nm と 209 nm に α -helix polypeptide に特

微的な2つの吸収極大を示す。これらの吸収から、BGH、SGH、HCSは約45%の、またHGH、o-LTH、p-LTHは約55%の α -helixを含むとされている。

4. チロシンおよびトリプトファン残基の状態

a) 円偏光二色性 (CD)^(17,18)

250nm~320nm までの CD 吸収は、一般に S-S 結合、Trp, Tyr の吸収領域である。吸収の位置および強度は、そのアミノ酸残基のおかれた環境に応じて変化するため定量的な議論はできないが、自由回転を禁止するような環境 (埋没状態) にあれば、吸収強度は増加するといわれている。したがって、コンフォメーションの差が微妙に反映するため、アミノ酸配列の類似性の高いこれらのホルモン間の比較には意義がある。

図 4-(a) には BGH と SGH の CD 吸収を示した。アミノ酸配列が 98% も等しいことから、この吸収スペクトルの類似性は容易に理解できる。HGH と HCS [図 4-(b)] は Trp, Tyr, S-S 結合が相同であるにもかかわらず、HGH の Trp は正の吸収を示し、HCS では負である。Tyr の吸収は HCS のほうがかなり強く、HGH

の Tyr よりもより埋没した状態にあると考えられる。o-LTH の CD は p-LTH よりも HGH により似ているが、いずれも Trp は正の吸収を示す。

2) アルカリ滴定

HGH と HCS のアルカリ領域での CD 吸収の変化 (図 5) では、HGH は pH 8~12.5 の全領域で isodichroic point (287 nm) を示す。一方、HCS は pH 8~11 までは isodichroic point (288 nm) を示すが、pH 11 を越えるとこの点からはずれ、急激なコンフォメーションの変化をひき起こしていることがわかる。これはまた Trp の蛍光の量子収率の変化にも現われる。HGH では pH 8 から pH の増加によってシグモイドカーブを描いて減少するのに対し、HCS では pH 11 から顕著に増大する。これは、Trp 残基近傍の環境の変化がより埋没状態になることを示していると考えられる。

各ホルモンの Tyr の pKa 値を比較してみると、HGH と HCS の pKa 値は同じであるが、HCS では 8 残基すべてが滴定されるのに対し、HGH は 6 残基のみであり、HCS が pH 11 以上で不可逆的変性を起こした結果と考

図 4 BGH と SGH (a) および HGH, HCS, o-LTH (b) の側鎖吸収領域での円偏光二色性 (pH 8.2)

図 5 HGH (a) および HCS (b) のアルカリ滴定による側鎖吸収領域の円偏光二色性の変化

えられる。

BGH と SGH はいずれも pK_a 11.3~11.4 と高い値を示し、強アルカリで不可逆的変性を起こすといわれている。o-LTH と o-LTH はいずれも pK_a 11.2 で、7 残基中 6 残基が滴定されるが、p-LTH が不可逆的変性を起こすのに対し、p-LTH は完全に可逆的である点で違っている。

化学修飾による各残基の役割の推定

1. S-S 結合⁽²⁰⁾

HGH の S-S 結合は、5M グアニジン塩酸中でジチオスレイトールで還元し、脱塩、50% 酢酸、0.1N AcOH、0.1M Tris·HCl (pH 8.2) という順で注意深く refolding を行なえば、100% 活性のある HGH にもどすことができる。筆者らはこの性質を利用して、チロシンをヨード化後、パラジウムで接触還元し、2Ci/mmol の比活性を持つ 3H -HGH の調製に成功している⁽²¹⁾。

一方、還元してカルバミドメチル化した HGH(RCAM·HGH)は両活性を示すが、カルボキシメチル化した HGH(RCOM·HGH) は活性を消失する。しかし、いずれも native なコンフォメーションを保持しており、この結果より、HGH では S-S 結合はコンフォメーションの維持に本質的に重要ではないと解され、活性における差は酵素に対する安定性の差であると説明された(図 6)。つまり、投与された RCOM·HGH は血中で酵素によって速やかに加水分解されて失活すると考えられている。

図 6 HGH (—), RCAM·HGH (---), RCOM·HGH と過ヨード酸化 HGH (- · -) のトリプトファンによる消化速度

表 1 HGH と HCS の各チロシン残基の修飾率の比較 (ニトロ化)

Tyr 番号	HGH	HCS
28	0	0
35	0.9	0.4
42	1.0	0.9
103	0.7	0.6
111	0	0.2
143	0.9	0
160	0	0
164	0.7	0.4
計	4.2	2.5

o-LTH や HCS は還元されたり、修飾されると場合合し、活性な単量体を得ることができない。したがって、S-S 結合はコンフォメーションにとって重要な役割を果たしていると考えられる。

2. チロシン残基⁽²²⁾

これらのホルモンのチロシン残基は、テトラニトロメタンを使って、0℃ という穏やかな条件でニトロ化されている。成績体はいずれも活性を示すが、各残基のニトロ化の度合を比較することによって、異なったホルモンの同位置の残基の状態を比較している。

BGH と SGH は、いずれも Tyr-142 と Tyr-159 が完全に修飾され、Tyr-43 と Tyr-110 が部分的に修飾された。これは、SGH と BGH のアミノ酸配列、CD がほぼ同じであることと矛盾しない。また、これらが対称性のよい二量体であることを示唆している。

HCS のチロシンは HGH とくらべて反応性が非常に小さく、CD の結果と合わせれば、HGH の Tyr よりもより埋没した状態にあることは確かであろう。とくに、Tyr-143 に顕著な差がみられ(表 1)、HGH のものはほぼ完全にニトロ化されるが、HCS のものはまったく反応せず、Tyr-143 近く的环境が HGH と HCS とでかなり違っていることを示している。

3. トリプトファン残基⁽²³⁾

HGH と HCS の Trp-86 は、50% 酢酸中、o-ニトロフェニルスルフェニルクロリドにより完全に修飾される。活性についてみると、HGH の成績体では両活性が維持されているのに対し、HCS では完全に消失している。いずれの成績体も、トリプシンに対して分解されにくいにもかかわらず HCS の活性が失われることは、修飾された Trp が HGH では native と同様、埋没状態にあるのに、HCS は native では埋没していた Trp が

露出したためと考えられる。o-LTH の Trp-90 は HGH、HCS の Trp-86 と相同な残基であるが、50% 酢酸中では Trp-149 とともに完全に修飾される。その結果、分子は二量体以上に集合し、活性を完全に消失する。0.1M 酢酸 (pH 4) では Trp-90 はまったく反応せず、Trp-149 が選択的に修飾される。HGH、HCS も、この条件では Trp-86 の修飾は起こらない。また、o-LTH では Trp-149 が選択的に修飾されるが、単量体で活性を保持している。したがって、成長ホルモンの Trp-86 とプロラクチンの Trp-90 とは前述の疎水性の高いセグメント中で埋没状態にあり、活性の消失はこの Trp 残基の修飾の結果ひき起こされたコンフォメーションの変化のため、この残基が活性に直接関与しているからではないといえる。LTH の Trp-149 は成長ホルモンには存在せず露出状態にあり、修飾されてもコンフォメーションは維持され、失活もしないと考えられる。

活 性 部 位

一般に、タンパク質ホルモンの活性の発現に必須な部分についての一つのモデルは、酵素においてすでに確立している active site からの類推であろう。これは、一次構造においてへだたった位置にあるアミノ酸残基が、三次構造において互いに接近し、空間的に作り出された“場”である。この概念で、成長ホルモンやプロラクチンの活性が説明できるならば、これらのホルモンのコンフォメーションが重要な役割を果たしていることになる。上述の化学修飾は元来、酵素の活性に関与するアミノ酸残基を見つけるために使われている手段である。すなわち、ある特定の残基が化学試薬で修飾された成績体が、コンフォメーションの変化を起こしていない場合——この判定はなかなか難しいが——活性を保持していれば、その残基は活性に直接関与していないと判断し、活性を消失すれば活性中心にある残基と同定するという方法で、そのままタンパク質ホルモンの活性とアミノ酸残基との関係を論ずるのに用いてきた。同様に、活性と直接関係ある特定のアミノ酸残基は現在までのところ発見されていないが、化学修飾されたホルモンの失活の際には必ずコンフォメーションの変化が伴うことは確かである。

これに対し、ホルモンでは active core という考え方が支配的である。これは、一次構造の、ある特定部位の連続したアミノ酸残基群が活性発現に必須であるという

考え方である。たとえば、脳下垂体前葉の副腎皮質刺激ホルモンは 39 個のアミノ酸残基からなり、そのアミノ末端から 19 残基だけで活性発現に充分であるというように、分子量の小さいペプチドホルモンから類推されていた⁽²⁴⁾。

すでに、かなり前から酵素による成長ホルモンの分解物が活性を維持していることが知られており、1972 年、Sonenberg ら⁽²⁵⁾ は BGH をトリプシンで限定分解し、94~131 位に相当するフラグメント (Sonenberg fragment) を分離し、成長促進作用を有することを示した。一次構造の比較の項で述べたように、この部分は LTH のギャップが最長で、成長ホルモンに共通したアミノ酸残基が多い部分 (93~137 位) にある。

Active core が、成長ホルモンやプロラクチンのように、分子量が 2 万以上のタンパク質ホルモンにも適用できるとすれば、active core 以外の部分はいかなる役割を果たすのであろうか。一つの説得力のある説明は、脳下垂体から分泌されたホルモンが血流に入り標的器官に達するまでに、酵素による加水分解から active core を保護するという考え方である。酵素に対する安定性が重要な因子であることは、前述の RCOM・HGH がコンフォメーションの変化を起こさないのに失活した原因と付合して理解できる。

それに対し、酵素による分解に積極的重要性があることを示す事実も見いだされている。プロインシュリンとインシュリンのように脳下垂体で産生されたホルモン自体は prehormone (前駆体) であり、これが酵素によって加水分解されて活性の高いホルモンになるという考え方である。Lewis ら⁽²⁶⁾ と Li ら⁽²⁷⁾ はそれぞれ独立に、HGH をヒトのプラスミンで部分分解し、Arg-Thr (134-135) と Lys-Gln (140-141) がトリプシン様の加水分解を受けて、hexapeptide が除去された成績体 PL・HGH₁ を得て、これが完全に活性を保持していることを示した (図 7)。さらに Li らは、S-S 結合を還元し、カルバミドメチル化して N 末端側 134 残基、PL(134) と、C 末端側 51 残基、PL(51) からなる 2 つのポリペプチドに分離し、PL(134) は HGH の 10~20% の活性を有することを示した。興味あることに、PL(51) も弱いながらも両活性を示すという (表 2)。

Lewis らは別に、135~145 のドデカペプチドが除去された PL・HGH₂ を分離している。これは、Arg-Thr

図 7 GHG のプラスミン消化の概念図

PL·GHG₁: ヘキサペプチド (135~140) が欠損した GHG
 PL·GHG₂: ドデカペプチド (135~146) が欠損した GHG
 PL(134), PL(51): PL·GHG₁ の S-S 結合を還元し、カルバミドメチル化して得たN末端およびC末端側のポリペプチド

表 2 GHG のプラスミンフラグメントの活性

		Rat tibia test		Pigeon crop sac test	
		投与量 (μ g)	幅 (μ m)	投与量 (μ g)	乾燥重量 (mg)
Li ら	生理食塩水	0	169	0	10.7
	HGH	20	220	2	23.7
		60	263	6	32.3
	PL·GHG ₁	20	237	5	29.4
		60	273		
	PL(134)	100	225	20	26.4
		300	261	60	29.6
Lewis ら	PL(51)	100	202	20	17.7
		300	226	60	20.8
		Rat tibia test (IU/mg)		Pigeon crop sac test (IU/mg)	
Lewis ら	HGH	1.4		1.4	
	PL·GHG ₁	1.8		7.9	
	PL·GHG ₂	6.9		14.5	

(134-135), Lys-Phe (145-146) がトリプシン様の加水分解を受けたあとに、Phe-146 がアミノペプチダーゼによって切断されたか、Phe-Asp (146-147) がキモトリプシン様の分解を受けたものと考えられる (図 7) が、重要なことは、この成績体は GHG の実に 4.9 倍の成長促進活性と、10 倍のプロラクチン活性を示したことである (表 2)。

このことから、確かに GHG 自体はプレホルモンであるといえるかもしれない。しかし、この事実をそのまま active core 以外の部分は保護作用をしているという結論に導くことには論理に飛躍がある。そのためには、PL·GHG₂ が GHG よりも酵素による分解を受けにくくなるということが証明されなければならないし、さらにその物質は一層安定な高次構造を持っていなければなら

ない。PL·GHG₁ および PL (134), PL (51) の CD を測定した筆者の未発表のデータによると、PL·GHG₁ は α -helix 含量および側鎖吸収領域で native GHG と重なり合う吸収を示し、221~223nm の吸収極大はわずかながら増大した。また、側鎖領域の吸収極大はわずかながら増大し、吸収の谷と山は一層明瞭になった。PL(134)は約 40% の α -helix 含量を示し、Trp-86 の符号は負となったが、いぜんとして強い吸収を維持しており、疎水性の環境に埋没していることを示唆していた。PL(51) は

中性緩衝液に難溶であり、 α -helix は観測されず、 β -sheet 構造をとっていると解される。PL·GHG₂ の CD に関するデータはないが、PL·GHG₁, PL (134) から類推すると、native コンフォメーションを大きくはずれていることはないであろう。したがって、プラスミン消化によって得られた結果がすぐ active core の存在証拠であるというのは早計と思われる。

プロラクチンについては、種々の酵素により部分分解したフラグメントの活性についての研究はいくつかみられるが、構造と活性を論ずるに足る成績は得られていない。

*

以上、成長ホルモンとプロラクチンについて構造と活性という面から論じてきたが、現在、ホルモンの活性は active core としてとらえる考え方が絶対的に優勢である。その点からみれば偏見に満ちているかもしれない。しかし、筆者の第一の素朴な疑問は、そうならばなぜ大きなタンパク質分子であるのか？ ということである。それに対しては、本文でも述べたように血流で標的器官に運ばれるまでの保護作用であるという見事な解答が返ってくる。しかし、この答は本質的に何も明らかにしていないように思える。標的器官に達したとき、保護作用のゆえにホルモンのコンフォメーションは維持され、正しく配列したアミノ酸残基の作り出す“場”が標的器官でリセプターと反応して、ホルモン活性を発現すると考えることはごく自然ではなからうか。

これはホルモン活性発現の機構研究の中で一つの重要な分野であり、リセプターの研究とともに発展するであろう。それと同時に、魚類、両棲類、爬虫類のこれらのホルモンの化学的研究が一層進展することが望まれる。

おわりに、本稿をまとめるにあたり、種々御指導いただきました金田尚志教授に深く感謝いたします。

文 献

- 1) C. H. Li : *Proc. Amer. Philosophical Soc.*, 116, 365 (1972).
- 2) 沢野真二 : “ポリペプチドホルモン”, 三浦義彰, 鎮目と夫編, 朝倉書店, 1973, p. 60.
- 3) B. N. Saxena : *Vitamines and Hormones*, 29, 96 (1971).
- 4) C. H. Li & H. M. Evans : *Science*, 99, 183 (1944).
- 5) C. H. Li & H. Papkoff : *Science*, 124, 1293 (1956).
- 6) P. Hwang, H. Guyada & H. Friesen : *J. Biol. Chem.*, 247, 1955 (1972).
- 7) H. Papkoff & C. H. Li : “Methods in Hormone Research, Vol. 2”, ed. by R. I. Dorfman, Academic Press, 1962, p. 671.
- 8) W. R. Lyons : *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 35, 645 (1937); C. S. Nicoll : *Endocrinology*, 80, 641 (1967).
- 9) W. C. Clark : *Gen. Comp. Endocrinol.*, 21, 498 (1973).
- 10) C. H. Li : “Advances in Human Growth Hormone Research”, ed. by S. Raiti, U. S. Government Printing Office, Washington, 1974, p. 321.
- 11) C. H. Li, D. Gordon & J. Knorr : *Arch. Biochem. Biophys.*, 156, 493 (1973).
- 12) L. Gráf & C. H. Li : *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 56, 168 (1974).
- 13) C. H. Li, J. S. Dixon, T. Lo, K. D. Schmidt & Y. A. Pankov : *Arch. Biochem. Biophys.*, 141, 705 (1970).
- 14) C. H. Li : *J. Int. Res. Commun.*, 1, 19 (1973).
- 15) C. H. Li, J. S. Dixon & D. Chung : *Arch. Biochem. Biophys.*, 155, 95 (1973).
- 16) T. A. Bewley, J. S. Dixon & C. H. Li : *Int. J. Peptide Protein Res.*, 4, 281 (1972).
- 17) T. A. Bewley, J. Brovetto-Cruz & C. H. Li : *Biochemistry*, 8, 4701 (1969).
- 18) T. A. Bewley & C. H. Li : *Biochemistry*, 11, 884, 927 (1972); *Arch. Biochem. Biophys.*, 144, 589 (1971); *Arch. Biochem. Biophys.*, 167, 80 (1975).
- 19) E. Knobel & R. O. Greep : *Proc. Prog. Hormone Res.*, 15, 1 (1959).
- 20) T. A. Bewley & C. H. Li : *Arch. Biochem. Biophys.*, 138, 338 (1970).
- 21) H. Kawauchi, T. A. Bewley, J. Ramachandan & C. H. Li : *Biochim. Biophys. Acta*, in press.
- 22) H. Kawauchi & C. H. Li : *Arch. Biochem. Biophys.*, 165, 255 (1974); C. B. Glaser, T. A. Bewley & C. H. Li : *Biochemistry*, 12, 3379 (1973).
- 23) T. A. Bewley, H. Kawauchi & C. H. Li : *Biochemistry*, 11, 4179 (1972); H. Kawauchi, T. A. Bewley & C. H. Li : *Biochemistry* 12, 2124 (1973).
- 24) C. H. Li : *Perspective in Biology and Medicine*, 11, 498 (1968).
- 25) N. Yamasaki, K. Kanagawa, M. Kikutani & M. Sonenberg : *J. Biol. Chem.*, 247, 3874 (1972).
- 26) R. N. P. Sigh, B. K. Seavey, V. P. Rice, T. T. Lindsey

& U. J. Lewis : *Endocrinology*, 94, 883 (1974).

27) C. H. Li & L. Gráf : *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 71, 1197 (1974).

定価改訂についてのお願い

日ごろは、「化学と生物」誌を御愛読くださいます。ありがとうございます。おかげ様にて51年5月には150号を迎えることになりました。

さて、本誌は諸物価が高騰する中で一年余り定価をすえおいて参りましたが、予想される郵便料金の値上げをはじめ諸経費の増大は著しく、現在の定価を維持していくことはきわめて困難な状況にたち至りました。はなはだ不本意ではございますが、第14巻1号より450円に改訂させていただきたく、お願い申し上げます。

今後とも、一層誌面の充実をはかる所存でございますので、なにとぞ引き続き御愛読を賜りますようお願い申し上げます。

財団法人 東京大学出版会