186 人甲状腺培養細胞の産生する細胞増殖因子の性質について

内村英正，久保田憲，福江 暘，佐々木憲夫
高久史磨（東京大学第三内科）

人甲状腺細胞の培養液中に甲状腺細胞の増殖を促進する物質が分泌されることが明らかとなり，この物質の性質について検討を加えた。〔方法〕バセドウ病甲状腺を既報のごとく酵素処理して得られた細胞を無血清のHamF-12培養液中で培養を開始する。2日ごとに液交換を行い培養を続けConditioned mediumを集めて大量の水で透析後限界沪過により蛋白を濃縮し実験に供した。成長促進活性の測定は①FRTL-5細胞②正常ラット肝細胞（hepaplate）による〔^{3}H〕thymidine の細胞内取込みによった。EGF（マウス肝膜分画を使用）とIGF（人胎盤を使用）の測定にRRAを用いた。更にSDS-PAGE により蛋白分析を行った。
〔成績〕この物質は①FRTL-5細胞及び正常ラット肝細胞の〔^{3}H〕thymidine の取込みを促進した。②RRAによりEGF活性はみとめずIGF活性をみとめた。
③SDS-PAGEで分子量15～20Kに主要バンドをみとめた。〔考案〕既報のごとくこの物質は人甲状腺細胞の〔^{3}H〕thymidine取込みを促進するがEGFではなく分子量からはIGF以外の成長促進作用物質である可能性が示唆された。

187 ヒト甲状腺髄様癌培養細胞系（TT）における多種ホルモン産生について

鈴木 昌文[1]，山口 建[1]，阿部 薫[1]，嶋岡 勝太郎[2]，
（国立がんセンター内分泌部[1]，㈶放射線影響研究所[2]）

ヒト甲状腺髄様癌は多種のホルモンを産生することが多い。今回，ヒト甲状腺髄様癌由来培養細胞であるTT細胞について，^{32}P標識化DNAをprobe としたmRNAの検出法により，各種ホルモンの mRNA レベルを検討したので報告する。検討したホルモンはcalcitonin (CT)，calcitonin gene-related peptide (CGRP)，somatostatin (SS) 及び gastrin-releasing peptide (GRP) である。まずTT細胞中のこれら4種のホルモン濃度を radioimmunoassay により測定し，TT細胞が4種のホルモンを同時に産生していることを明らかにした。次にこれらのホルモンのmRNAの構造に相補的なDNAを合成し，その5′端を〔γ-^{32}P〕ATP を用いて標識しprobe とした。TT細胞から抽出した poly(A)$^+$ RNA についてのNorthern blot hybridization により，ホルモンの成熟mRNAと考えられる約1.0 kbの CT mRNA，約1.1kb のCGRP mRNA，約0.9kb のSS mRNA 及び約0.9 kbのGRP mRNAが同時に検出された。この結果から甲状腺髄様癌由来培養細胞株，TT 細胞における多種ホルモン産生は，それぞれのホルモンの成熟mRNAの増加を伴っていることが明らかとなった。

188 甲状腺ホルモンの代謝産物としてのブタノール非抽出ヨード（BNEI）の生成

久保田 憲[1]，内村 英正[1]，高久 史磨[1]，S.H.Ingbar[2]
（東京大学第三内科[1]，ハーバード大学[2]）

甲状腺ホルモンの代謝過程でヨード蛋白であるBNEIが生成されることを，in vivo系で明らかにし，ヨードの位置（α，β）による違いについても検討することを目的とした。$KClO_4$を投与したラットにI-125-α-T_4とI-131-β-T_4の混合物を静注し，72時間後にと殺して，血清及び肝と腎のホモジェネートを酸性ブタノールで抽出し，残ったBNEIの放射活性を求めた。また，Paper Chromatography（PC）による分析も行なった。BNEI（%Dose/ℓ or kg tissue）は，血清でI-125が15.8，I-131が3.4，両者の比が4.7，肝で各17.8，11.9，1.5腎で63.7，6.9，9.2であった。PCではBNEIは起点に留まり，T_4，T_3，I^-と区別された。BNEIをpronase で処理してからPCで分析すると，T_4，T_3，I^-以外にα-ring に由来する（I-125）DITとMIT のピークを認めた。以上よりBNEIはβ-ringよりα-ring由来のものが相対的に多く認められ，特に腎でその傾向が顕著であること，α-ring 由来のBNEIの中にIodotyrosineの形のものが含まれることが判り，in vitroのデータと合わせ考えて，生体内においてether link cleavageを含む甲状腺ホルモンの酸化的脱ヨードの存在することが示唆された。

Presented by Medical*Online