

15. 甲状腺ホルモンによる抗利尿ホルモン(ADH)分泌及び
血清ナトリウム濃度の調節に関する研究 (No.8918)

田中 清 (静岡県立総合病院)

血漿浸透圧、Na濃度は抗利尿ホルモン(ADH)により厳格に調節されているが、ときに破綻を来すことがあり、ADH欠乏にて尿崩症を来し、ADHの過剰分泌の病態はSyndrome of Inappropriate Secretion of ADH (SIADH) と呼ばれ血清Na低値、血漿低浸透圧を呈する。SIADHには種々の原因があり甲状腺機能低下症でも起こるがその発生機序は不明であり、甲状腺ホルモンとADH、Naに関する研究は少ない。そこで本研究では甲状腺ホルモンの下垂体後葉における代謝、作用と、実験的甲状腺機能低下症におけるADH分泌動態について検討を行なった。

(1) 下垂体後葉における甲状腺ホルモン代謝：

サイロキシン(T₄)はProhormoneであり、5'-Deiodinase(5'-D)によりT₃に活性化されてはじめて作用を発揮する。5'-DにはType-I (T₄に対して低基質親和性、多数臓器に存在)、Type-II (T₄に対して高親和性、一部臓器にのみ存在)のIsozymeがある。従来甲状腺ホルモンの下垂体への作用の研究は前葉にのみ集中してきた。しかし筆者は5'-Dが下垂体後葉にも存在し、しかも下のように各LobeでIsozymeが異なることを見いだした。

	前葉	中葉	後葉
Euthyroidism	I > II	I	I
Hypothyroidism	II > I	I	II + I

このことは従来知られていない甲状腺ホルモンの下垂体後葉での役割を示唆するものと思われた。

(2) 実験的甲状腺機能低下症におけるADH分泌動態：

従来から甲状腺機能低下症における低Na血症については、ADH過剰分泌によるとする説、腎臓のGlomerular Filtration Rateや尿細管のNa/K ATPaseの変化によるという説など様々である。実際臨床的に甲状腺機能低下症患者でもADH上昇例、正常例と様々である。これはやはり患者毎の個体差によるため、甲状腺機能低下症における低Na血症の意義については、動物実験系の併用が必要と思われた。甲状腺機能低下症及びコントロールラットに(1)水、生理食塩水、高張食塩水負荷、(2)Polyethylene Glycol負荷による循環血液量の減少などの負荷をかけその前後のヘマトクリット、血清Na、血漿浸透圧、血漿ADHを測定しADH分泌のThresholdなどを両群で比較した。

14. 甲状腺ホルモンによる抗利尿ホルモン(ADH)分泌及び 血清ナトリウム濃度の調節に関する研究 (No.8918)

田中 清 (静岡県立総合病院)

1. 研究目的

血清ナトリウム(Na)濃度は種々のホルモンによって厳格に調節を受けており一定の範囲に維持されている。すなわちレニン-アルドステロン系はNa/K交換を介して、抗利尿ホルモン(ADH)は水代謝を介してNa濃度を調節している。これらNa調節ホルモンはまた他のホルモンや神経系により制御されているが、その破綻を来したとき血清Na濃度の異常を生ずる。ADHに関して言えば、ADHの欠乏によって尿崩症をきたし、ADH過剰分泌の病態はADH分泌不適合症候群(Syndrome of Inappropriate Secretion of ADH; SIADH)と呼ばれ、低Na血症を重要な症状とする。

一方甲状腺ホルモンはステロイドホルモンと並んで全身の代謝を調節する重要なホルモンであるが、電解質調節に関する研究は少ない。実際臨床的に甲状腺機能低下症患者の中に低Na血症を呈する例のあることは既に知られているものの、その詳細や成立機序は必ずしも明らかでなく、甲状腺ホルモンと下垂体後葉の関係については研究は極めて乏しい。

筆者は脳、神経内分泌臓器を中心に甲状腺ホルモンの代謝作用を研究してきたが、最近下垂体後葉における甲状腺ホルモンの意義を示唆する成績を得た。すなわち甲状腺ホルモンの下垂体後葉機能、ADH分泌調節における意義、甲状腺機能低下症におけるSIADHの発生機序等について再検討するのに好機と考え本研究を行った。

2. 研究方法

甲状腺ホルモン (Thyroxine; T_4 , 3,5,3'-L-Triiodothyronine; T_3 , 3,3',5'-L-Triiodothyronine, Reverse T_3 , RT_3)はSigma(St.Louis)及びHenning(Berlin)より

購入した。 $[^{125}\text{I}]$ Reverse T_3 はAmershamより購入し、使用直前にLH-20 ミニカラムにて精製し $^{125}\text{I}^-$ は約2%であった。

実験にはWistar系オスラットを生後6-7週にて購入し約3週間飼育の後実験に供した。甲状腺機能低下症は0.03% Methimazoleを3週間飲水として与えて作成した。血液の採取は断頭にて行ないtrunk bloodを予め冷却した試験管に採取した。血漿の採取にはEDTA 2Na 8mg入り試験管を用い、採取後直ちに混和した。検体は直ちに血清(血漿)分離し、 -20°C に保存し数日以内に測定に供し。

AVPの測定は三菱油化社製AVP RIA Kitを用いて行ない、キット添付資料の指示に従った。すなわち血漿から0.1N HClにてAVPを抽出したものを、SepPak C18カラムにかけ4% 酢酸にて洗浄の後Methanolにて溶出し、凍結乾燥後Bufferにて再溶解したものを試料とした。Assayは非平衡法で、検体試料または標準品に抗AVP抗体を加えて 4°C 24hoursインキュベート後、 $[^{125}\text{I}]$ AVPを添加、更に 4°C 20hoursインキュベートし、第2抗体、Polyethylene glycolを添加し4時間インキュベートした後B/F分離した。データ処理はアロカ社RIAプログラムにて行った。最小検出感度は0.063 pg/assay tubeであった。

血漿浸透圧は凝固点降下法、血清Naは炎光光度法によった。

甲状腺ホルモン代謝はLeonardの方法による5'-Deiodinaseの測定を主とした(1)。すなわち下垂体後葉を $100-150\mu\text{l/gland}$ のBuffer(100mM phosphate pH7.0, 10mM Dithiothreitol)にてホモゲナイズし2nM $[^{125}\text{I}]$ Reverse T_3 と 37°C 60minインキュベート、2% BSA及び10% TCAにて反応停止し、releaseされた $[^{125}\text{I}^-]$ をDowex-50ミニカラムにて分離した。Type-I 5'-Deiodinaseの特異的阻害剤である6-Propyl-2-Thiouracil (PTU)存在下の活性をType-II 5'-Deiodinaseの活性とした。

3. 研究結果

3.1 甲状腺機能低下症におけるAVP分泌及びNa調節

3.1.1 絶飲の影響

72時間絶飲の前後においてAVP、Na、浸透圧を比較した。絶飲期間中はHypothyroidラットには1.5% Methimazole (in 0.9% NaCl)、コントロールラットには0.9% NaClを、 $500\mu\text{l i.p.}$ 投与した(7.5mg Methimazole/Rat/Day)。図1に示すように絶飲前後で、Euthyroidラットにおいては血漿浸透圧は $280.3 \pm 7.8(\text{M} \pm \text{S.E.})$ から 301.8 ± 2.1 に、血清Naは 134.3 ± 1.8 から 155.3 ± 1.7 に、血漿AVPは 2.70 ± 1.19 から

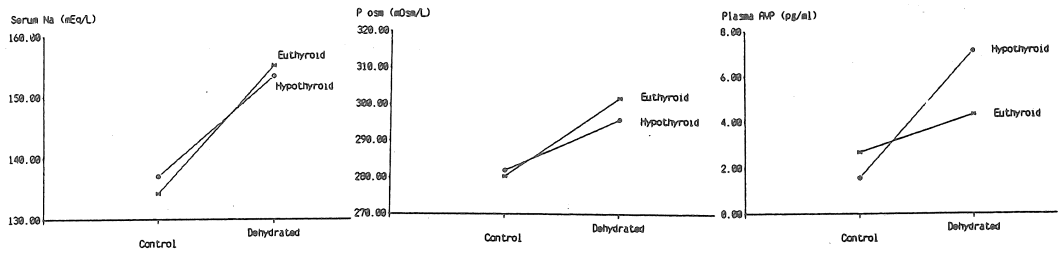


Figure 1. Serum Sodium, Plasma Osmolarity and Plasma AVP Levels Before and after 3 Days Dehydration in Euthyroid and Hypothyroid Rats

4.33 ± 0.32に上昇し、Hypothyroidラットでは血漿浸透圧は282.0 ± 3.1から295.8 ± 8.3に、血清Naは137.0 ± 2.8から153.5 ± 3.0に、血漿AVPは1.56 ± 0.27から7.14 ± 1.01に上昇し、Hypothyroid群でのAVPの上昇が顕著であった。

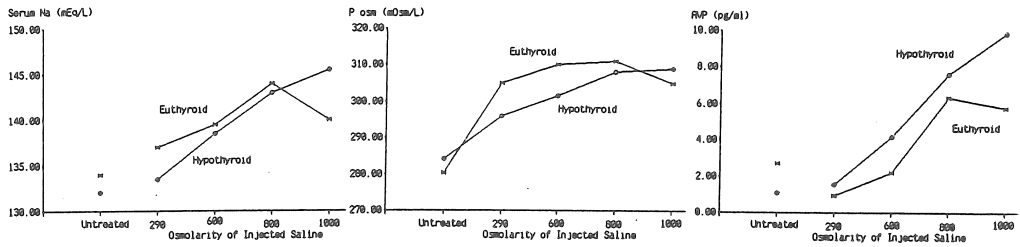


Figure 2. Serum Sodium, Plasma Osmolarity and Plasma AVP Levels after Intraperitoneal Injection of Saline(2ml/100g BW) with various Osmolarity

3.1.2 各種濃度食塩水投与の実験

各種浸透圧の食塩水(290,600,800,1000 mOsm/L)をラットに 2ml/100g BWの量で i.p.投与した。予備検討では15-30分でAVPのピークがみられたので、30分後に断頭した。図2のようにEuthyroid群では、血漿浸透圧は未処置群の280.3から311.0に、血清Naは134から144に、血漿AVPは2.70から6.36にそれぞれ上昇した。Hypothyroid群では血漿浸透圧は未処置群の284.0から309.0に、血清Naは132から145.5に、血漿AVPは1.10から9.85に上昇し、Hypothyroid群のAVP上昇がより著明であった。

3.1.3 Polyethylene glycol (PEG)投与による循環血液量減少の影響

Dunnの文献に準じて(2)、PEG 4000(200mg/ml in 0.9% NaCl)を2ml/100g BWの割合でi.p.投与し、経時的に断頭した。PEGは吸収されないのでi.p.投与にて細胞外液の腹腔内への移動をきたし、ために循環血液量の急激な低下を起こす。図3のようにEuthyroid群では、AVPは未処置群の0.84から2.51に、Hypothyroid群では1.50から10.23に上昇した。この間、HtはEuthyroid群で42から53へ、Hypothyroid群で41.5から51.5へ上昇した。次にPEG濃度を100,150,200 mg/mlとしすべて3時間後に断頭した(図4)。Euthyroid群では血漿AVPは0.145から8.694に、Hypothyroid群では2.31から10.89に増加した。

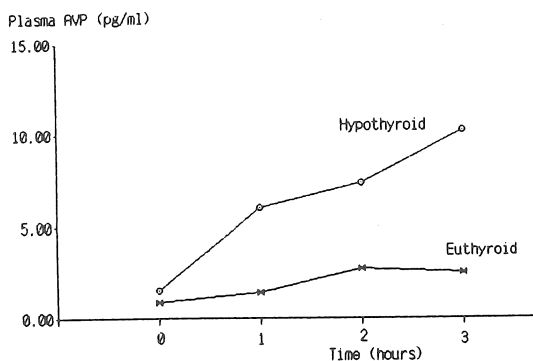


Figure 3. Effect of I.P. Injection of 20% PEG 4000(w/v) (w/v) on Plasma AVP Levels

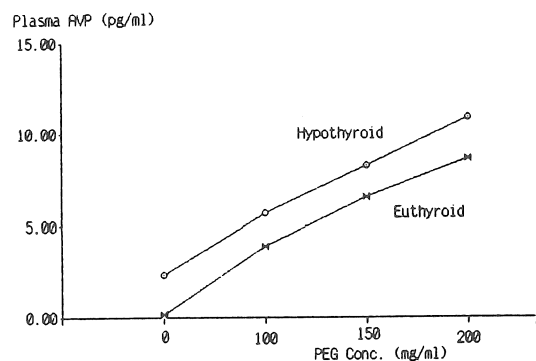


Figure 4. Effect of I.P. Injection of Various Concentration of PEG on Plasma AVP Levels

3.2 下垂体後葉における甲状腺ホルモンの代謝

3.2.1 下垂体後葉における代謝の基礎検討

ラットを断頭後下垂体を摘出し、氷冷時計皿上で前葉と中後葉（以下単にPosterior Pituitary）に分離した。Posterior Pituitaryを方法の項で述べたようにホモゲナイズし5'-Deiodinase活性を測った。図5に示すごとAnterior PituitaryではEuthyroidでTotal 5'-Deiodinase活性は 29.1 ± 7.2 fmol I- Release/mg protein/min、Type-II Isozymeは 5.1 ± 0.6 、HypothyroidでTotalの活性 37.8 ± 2.7 、Type-IIは 15.5 ± 1.6 であった。一方Posterior PituitaryにおいてはEuthyroidでTotalの活性は 25.4 ± 0.4 でType-II Isozymeは検出されなかった。HypothyroidではTotalの活性は 28.2 ± 3.1 でType-II Isozymeは 3.6 ± 0.7 であった。次に中後葉を更にNeural LobeとIntermediate Lobeに分けた。Diaphragmaを破った後下垂体はin situに残してStereomicroscope下で、注射針にて先ずNeural Lobeを摘出し、次いでIntermediate LobeをBufferを掛けつつ、Anterior Lobeから剥すようにし低速遠心しPelletの形で集めた。各々での5'-Deiodinase活性に対するInhibitor

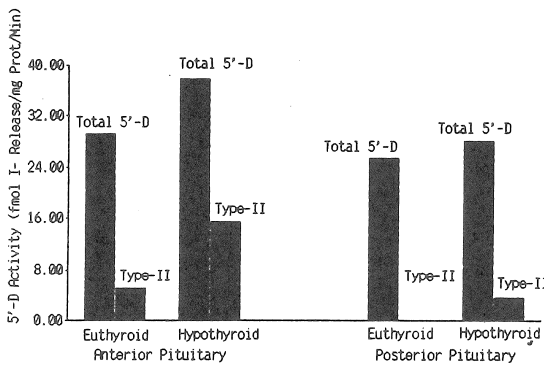


Figure 5. RT₃ 5'-Deiodinase in Rat Anterior and Posterior Pituitary

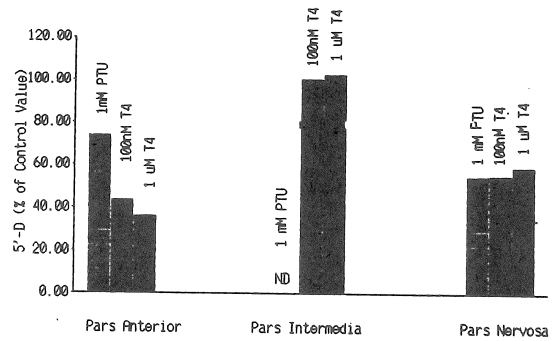


Figure 6. Effect of PTU and T₄ on RT₃ 5'-Deiodination in Three Lobes of Hypothyroid Rat Posterior Pituitary

の作用をみたのが図6で、Inhibitor非添加時の活性を100%として表示した。Anterior Lobeの酵素活性はPTU、 T_4 にて部分的に抑制されたが、Intermediate Lobeの活性はPTUにて完全に抑制され、 T_4 には影響されなかった。Neural Lobeの活性はPTU、 T_4 にて部分的に抑制された。表1に示すようにType-I IsozymeはPTUにて特異的に阻害されるが、 T_4 に対するAffinityは低いのでReverse T_3 の5'-Deiodinationは過剰の T_4 で阻害されない。これに対しType-II IsozymeはPTUに抑制されず、 T_4 に対するAffinityが高いので、Reverse T_3 の5'-Deiodinationは過剰の T_4 で阻害される。従って上記の結果は、各Lobeにおける5'-DeiodinaseのIsozymeの分布はAnterior LobeではI、II両方を含み、Intermediate LobeではIのみ、Neural LobeではEuthyroidでIのみ、HypothyroidでI、IIと考えられた(表2)。

TABLE I
A: metabolic pathway of thyroid hormones
B: comparison of two isozymes of 5'-D

	B	Type I	Type II
	Tissue distribution	Liver, kidney, and many other organs	Anterior pituitary brain, brown fat placenta, pineal pars nervosa
	Affinity for T_4	Low	High
	Inhibition by PTU	Yes	Minimal
	Activity in hypothyroidism	Decreased	Increased

	I	II
Anterior lobe		
Euthyroid	⊙	○
Hypothyroid	○	⊙
Posterior lobe		
Euthyroid	⊙	
Hypothyroid	⊙	○

Table 2. Isozyme Distribution in Three Lobes of Rat Pituitary

3.2.2 絶飲時における下垂体後葉5'-Deiodinaseの変動

下垂体後葉Type-II 5'-Deiodinase

のAVP分泌における意義を探るべく72

時間絶飲前後での活性を測定した。

表3のごとく、絶飲前後で著明な変動

は示さなかった。

Control	16.6 ± 2.3
Dehydrated	19.7 ± 1.9

Table3. Effect of 3 Days Dehydration on 5'-Deiodinase Activity in Neural Lobes of Rat Pituitary

4. 考察

血清Na濃度はきわめて厳格に調節されており、Renin-Angiotensin-Aldosterone系、抗利尿ホルモン(ADH,AVP)、Atrial Natriuretic Peptide等のホルモンにより行なわれる。一方甲状腺ホルモンは全身の代謝を調節する重要なホルモンであるが、電解質調節における意義についての研究は、糖脂質代謝に関する研究に比してはるかに少なく、Na濃度調節との関係についてはきわめて報告に乏しい。

しかし甲状腺機能低下症患者の一部に低Na血症がみられることは報告があり、その極限状態であるMyxedema Comaにおいては、低Na血症は重要な臨床症状のひとつであるが、その発生機序についてはいまだ定説をみない。低Na血症の発生機序として腎臓の側の問題を指摘するものは、近位遠位尿細管の機能障害、Cardiac Outputの低下と糸球体のPerfusionの低下等を挙げている(3)。

甲状腺機能低下症における低Na血症にAVPが関与しているかどうか、すなわちSIADH (Syndrome of Inappropriate Secretion of ADH) を来しているかどうかについても報告は一致していない(4)。SkowskyらはHypothyroidism患者20例中15例でSIADHを認めたと報告しているが、否定する報告もあり例えばKoideらはMyxedema Comaの患者でSIADHの関与が全く考えられないHyponatremiaを報告している(5)。

このような報告間の不一致のひとつの原因は、やはり臨床例では患者毎の個人

差が無視し得ないことも一因と思われたので、ラットを用いた実験系を組んだ。いまだ、HypothyroidismにおけるSIADHの問題について血漿AVPを特異性、感度のよいRIAで測った動物実験データの乏しいことから、本研究を志した。

実際の実験の詳細については、Dunnらの論文を参考とした(2)。まず72時間の絶飲前後で比較したところ、血漿浸透圧、血清Na上昇は同程度であるにもかかわらずHypothyroidism群にてより血漿AVPの増加が顕著であった。AVP分泌は浸透圧による調節(Osmoregulation)、循環血液量による調節(Baroregulation)を受けているが、前者を調べるものとして高張食塩水負荷を加えた。やはり負荷後の血漿浸透圧、血清Naには差がないにもかかわらず、Hypothyroidism群ではAVPはより大きな増加を示した。BaroregulationをみるものとしてPEG投与による急激な循環血液量の減少を利用した。両群間でのHtの変化は同程度すなわち循環血液量の変化は同程度と推察されるにもかかわらず、Hypothyroidism群ではAVPの変化はより顕著であった。いずれの実験においても基礎値に関してはHypothyroidism群において特に血漿AVPが高い訳ではなく、負荷後に明らかとなった。

さて以上の様にHypothyroidismにおいてAVPの過剰分泌あるいは過反応が示唆されたが、次ぎにその機序が問題となる。従来から甲状腺ホルモンの下垂体における意義についての研究はそのほとんどすべてが、TSHをはじめとする前葉ホルモンとの関係を論じたものであった。下垂体後葉との関係については皆無に近い。

甲状腺から分泌されるのは大半がサイロキシン(T_4)であるが、 T_4 はそのままではホルモン作用がほとんどなく、5'-Deiodinaseによって3,5,3'-L-Triiodothyronine (T_3)に代謝されてはじめて作用を発揮する。5'-DeiodinaseにはType-I、Type-IIというIsozymeが存在し、Type-Iは肝臓、腎臓をはじめ多くの臓器に存在するが、Type-IIは限られた臓器でしか報告がなく T_4 に対する高いAffinity、甲状腺機能低下時の活性上昇、血液由来 T_3 ではなく細胞内で本酵素にて T_4 から転換された T_3 が核受容体に結合することなどから、細胞内 T_3 濃度を維持しており、甲状腺ホルモンの局所での作用発現に重要と考えられている(6)。まだその意義が十分解明されたとは言えないが、これまでに報告のある臓器では、脳で明確な部位差、年齢別変化を示すこと、松果体では β -Adrenergicな調節を受けた日内リズムを有すること、下垂体前葉では視床下部性調節を受けていること、日内リズムを有すること、Brown Fatでは α -Adrenergicな調節を受け寒冷刺激で活性が増加するこ

となど、臓器毎に特有の調節機構、役割を示唆する報告がある。さて下垂体中後葉での甲状腺ホルモンの代謝については従来注目されていなかったが、実際には5'-Deiodinaseが存在し各LobeごとにIsozymeが異なっていた。特にNeural LobeにはType-II Isozymeが検出され、このことは従来注目されていない甲状腺ホルモンの後葉での役割を示唆するものと思われた。絶飲では酵素活性に変化はなく、現在のところまだAVP調節との明らかな関係は捉えられていない。

5. 今後の課題

今回の研究において甲状腺機能低下症におけるAVPの過剰分泌、過反応を示唆する成績を得たが、データのばらつきが大きかったためLacziらが臨床例で検討したように甲状腺機能低下症においてAVP分泌のThresholdに変化があるか否かについては今回結論を出せていない。今後例数を増やして検討予定である。

腎臓の側の反応性の問題についても考慮しないと甲状腺機能低下症におけるNa調節についての研究としては不十分であるが、幸いにして平成2年度についても継続して助成を頂戴したので、上記のような下垂体AVP分泌についての追加実験の他、今年度は腎臓についても重点を置いて検討を加え、更に筆者の発見した後葉のType-II Thyroxine 5'-Deiodinaseと結び付けて、次回の報告書で総合的な考察をしたいものと考えている。

今回のご助成に深謝します。

文献

1. Leonard J.L., Rosenberg I.N.: Iodothyronine 5'-deiodinase from rat kidney: substrate specificity and the 5'-deiodination of reverse triiodothyronine. *Endocrinology* 107:1376-1383, 1980

2. Dunn F.L., Brennan T.J., Nelson A.E., Robertson G.L.: The role of blood osmolarity and volume in regulating vasopressin secretion in the rat. *J. Clin. Invest.* 52:3212-3219, 1973

3.Tolis G.,Lerman S.: Organ sytem manifestations II, The pituitary, in Ingbar S.H.,Braverman L.E.(eds) The Thyroid 5th ed. pp1181-1187,1986 Lippincott (Philadelphia)

4.Skowsky W.R.,Kiruchi T.A.: The role of vasopressin in impaired water excretion of myxedema. Am. J. Med. 64:613, 1978

5.Koide Y.,Oda K.,Shimizu K.,Shimizu A.,Nabeshima I.,Kimura S.,Maruyama M.,Yamashita K.: Hyponatremia without inapprropriate secretion of vasopressin in a case of myxedema coma. Endocrinol. Japon. 29:363-368, 1982

6.Kaplan M.M.:The role of thyroid hormone deiodination in the regulation of hypothalamo-pituitary function. Neuroendocrinology 38:254-260, 1984

A Study on the Role of Thyroid Hormone in Regulating the Serum Sodium, Plasma Osmolarity and Plasma Vasopressin Levels

Kiyoshi Tanaka, M.D.

Division of Nuclear Medicine, Shizuoka General Hospital

Summary

Serum sodium levels are under strict control of hormones including renin-angiotensin system, atrial natriuretic peptide and vasopressin(AVP). Secretion of these hormones, in turn, are regulated by other hormones and neural tones.

Only a limited number of studies on the role of thyroid hormone in electrolyte regulation has been published, although hyponatremia is frequently encountered in patients with hypothyroidism especially myxedema coma.

To avoid individual variation in clinical study, rat study was performed.

First, euthyroid and hypothyroid rats were deprived of water for 3 days. Second, rats were injected with saline with various osmolarity. Third, they were injected with normal saline containing polyethylene glycol(PEG). Second and third series of experiment was done to study the osmoregulation and baroregulation of AVP secretion, respectively. In all these experiments, plasma AVP levels after manipulation were much higher in hypothyroid animals, although basal AVP levels, plasma osmolarity, serum sodium and hematocrit values were not significantly different from those of euthyroid controls. Thus increased sensitivity of AVP to stimulatory manipulation in hypothyroidism was suggested.

Then, to study the underlying mechanism for the above phenomenon, thyroid hormone metabolism in neural lobe of rat pituitary was studied. Contrary to previously prevailing view, posterior lobes actively metabolized thyroid hormone by 5'-deiodination, which is an activating pathway of thyroxine. Neural lobe contained type-II 5'-deiodinase, which has been found in limited number of tissue, including brain, anterior pituitary, pineal, brown fat, with very high affinity for thyroxine and postulated role of maintenance of intracellular active thyroid hormone. Thus thyroid hormone might have a previously unrecognized role in posterior pituitary physiology, although no definite evidence is available at present.

In order to clarify the overall role of thyroid hormone in sodium balance, experiments with kidney is now under way.