The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Congenital hypothyroidism caused by a mutation in the Na+/I- symporter
Author(s)	藤原, 裕和
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43220
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【93】

氏　　名	藤原裕和（ふじわらひろかず）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　16647　号
学位授与年月日	平成14年1月31日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Congenital hypothyroidism caused by a mutation in the Na^+/I^- symporter （先天性ヨード濃縮障害におけるヨード輸送蛋白遺伝子の解析）
論文審査委員	（主査） 教　授　網野　信行 （副査） 教　授　長田　重一　　教　授　荻原　俊男

論文内容の要旨

先天性ヨード濃縮障害はクレチン症（先天性甲状腺機能低下症）を来す甲状腺ホルモン合成障害の一つである。血中から甲状腺濾胞細胞内へのヨードイオンの輸送は、甲状腺濾胞細胞の細胞膜に存在する膜蛋白であるヨード輸送蛋白 Na^+/I^- symporter（NIS）が担っており、先天性ヨード濃縮障害はNIS蛋白の異常が病因の一つと考えられていた。今回われわれは、*NIS* 遺伝子の cDNA がラットおよびヒトにおいてクローニングされたのを受けて、ヨード濃縮能障害の症例において *NIS* 遺伝子を解析した。

【方法ならびに結果】

症例は近親婚の両親を持ち、新生児マススクリーニング検査で TSH 高値を示したが、生後1ケ月には母乳栄養で一過性に甲状腺機能が正常化したものの、生後3ケ月に典型的な甲状腺機能低下症状を呈し、精査の結果、ヨード濃縮能障害と診断された。11才時に甲状腺腫が出現したため甲状腺葉切除を受けた。

切除された甲状腺組織から抽出した mRNA から逆転写で cDNA を合成し、NIS cDNA の蛋白コード領域の塩基配列を PCR-直接塩基配列決定法で確認した。その結果、一塩基置換をホモに認め、膜貫通領域にスレオニン（Thr）からプロリン（Pro）への一アミノ酸の変異（T354P）が明らかとなった。健康な両親および妹2人では T354P 変異は正常とのヘテロであった。

NIS 蛋白をヒト培養細胞に発現させたところ、ヨードの細胞内取り込みは正常 NIS 蛋白では認められたが、変異 NIS 蛋白ではほとんど認められなかった。

【結論】

今回われわれは、先天性ヨード濃縮障害の原因の一つを遺伝子レベルで明らかにすることができた。T354P 変異は、変異 NIS 蛋白のヨード輸送能を低下させることで、患者のヨード濃縮障害を引き起こしていた。

Thr354が存在する領域は、NIS 蛋白の属する Sodium/solute symporter family でバクテリアから哺乳類まで保存されている。このことから Thr354は蛋白活性に関与する重要な領域にあると考えられ、T354P 変異は、変異 NIS 蛋白のヨード輸送に関与する活性中心の機能低下を招いた可能性が考えられる。

また、膜貫通領域の安定性を維持する α-helices 構造は、プロリンによって途切れることが知られている。したがって T354P 変異は変異 NIS 蛋白のコンフォメーションに大きな変化をもたらし、ヨード輸送能の低下を招いた可能性も考えられる。

論文審査の結果の要旨

先天性ヨード濃縮障害は先天性甲状腺機能低下症をきたす甲状腺ホルモン合成障害の一つである。血中から甲状腺濾胞細胞内へのヨードイオンの輸送は、甲状腺濾胞細胞の細胞膜に存在するヨード輸送蛋白 Na^+/I^- symporter (NIS) が担っており、先天性ヨード濃縮障害は NIS 蛋白の異常が病因の一つと考えられていた。

本研究は、ラットの NIS 遺伝子の cDNA がクローニングされたのを受けて、ヨード濃縮能障害の症例の病因を遺伝子レベルで解析している。

症例は、近親婚の両親を持ったヨード濃縮能障害の女性で、11才時に甲状腺腫の出現で甲状腺葉切除を受けた。切除された甲状腺組織から mRNA を抽出、逆転写で cDNA を合成後、NIS cDNA の蛋白コード領域の塩基配列を PCR-直接塩基配列決定法で確認した。その結果、一塩基置換をホモに認め、スレオニン (Thr) からプロリン (Pro) への一アミノ酸の変異 (T354P) を明らかにした。健康な両親および妹 2 人では T354P 変異は正常とのヘテロであった。NIS 蛋白をヒト培養細胞に発現させたところ、ヨードの細胞内取り込みは正常 NIS 蛋白では認めたが、変異 NIS 蛋白ではほとんど認めなかった。

以上より、T354P 変異が、変異 NIS 蛋白のヨード輸送能を低下させることで、患者のヨード濃縮障害を引き起こしていたことが証明され、先天性ヨード濃縮障害の原因の一つを遺伝子レベルで世界で初めて明らかにした。

次に、末梢血からゲノム DNA を抽出後、PCR と制限酵素を用いて T354P 変異の有無を迅速にスクリーニングする方法を確立した。これによると、健常人52名の104クロモゾームには、T354P 変異を認めなかったが、ヨード濃縮障害の他の 2 家系でも T354P 変異を認め、この変異がヨード濃縮障害の主な病因であることを明らかにした。

Thr354が存在する領域は、NIS 蛋白の属する Sodium/solute symporter family で種を越えて保存されている。このことから Thr354は蛋白活性に関与する重要な領域にあると考えられ、T354P 変異は、変異 NIS 蛋白のヨード輸送に関与する活性中心の機能低下を招いた可能性が示唆された。また、膜貫通領域の安定性を維持する α-helices 構造は、プロリンによって途切れることが知られており、T354P 変異は変異 NIS 蛋白のコンフォメーションに大きな変化をもたらした結果、ヨード輸送能の低下を招いた可能性も指摘された。

以上、本研究は、一つの疾患の原因を遺伝子レベルで明らかにした貴重な研究であり、学位の授与に値するものと考える。