The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Serum autotaxin levels are associated with Graves' disease
Author(s)	野尻, 卓宏
Citation	大阪大学, 2019, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/72299
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

様式３

論　文　内　容　の　要　旨

氏　名　（野尻　卓宏）	
論文題名	Serum autotaxin levels are associated with Graves' disease （バセドウ病における血清中オートタキシン濃度についての検討）

論文内容の要旨

（諸言）

バセドウ病とは、甲状腺刺激ホルモン(TSH)受容体に対する自己抗体であるTRAbが甲状腺を刺激し、甲状腺ホルモンであるfree T3(fT3)やfree T4(fT4)が過剰分泌され、甲状腺機能亢進症が生じる自己免疫疾患である。バセドウ病で生じる症状には、頻脈や多汗症など交感神経の活性化により生じると判明している症状がある一方で、掻痒感のようにその発生機序が完全には明らかでない症状も存在する。バセドウ病の治療には甲状腺ホルモンの合成を抑制する抗甲状腺薬を主に用いるが、本薬剤での管理が難しく再発する場合には、放射性ヨードを用いるアイソトープ治療や甲状腺切除術が必要となる。このように、バセドウ病の病態には未だ不明な点が多く、その病態に関わる因子を解明することは、新たな治療法やバイオマーカーの開発のために重要であると考えられる。

Autotaxin(ATX)とは、lysophosphatidylcholine(LPC)を加水分解してlysophosphatidic acid(LPA)を産生する酵素であり、5つのアイソフォームを有し組織分布の違いからclassical ATX(ATXα, ATXβ, ATXγ)、novel ATX(ATXδ, ATXε)に分類される。これまでにATXは肝硬変、妊娠性高血圧症、種々の癌など様々な疾患との関連性が解明されており、近年では関節リウマチ、炎症性腸疾患、多発性硬化症など自己免疫疾患と関連し、特に原発性胆汁性胆管炎では掻痒感の原因物質の一種であることが明らかとなっている。以上のように、ATXの果たす役割とバセドウ病の症状には類似する点が存在するため、ATXとバセドウ病の病態の関連性について検討を実施した。

（材料と方法）

1 各甲状腺疾患における血清中ATX濃度の解析

対象：健常者58名、未治療のバセドウ病患者42名、抗甲状腺薬で治療中のバセドウ病患者17名、未治療の亜急性甲状腺炎患者18名、未治療の無痛性甲状腺炎患者9名、未治療のプランマー病患者6名、未治療の橋本病患者9名、治療中の橋本病患者12名、甲状腺全摘術を受けた甲状腺ホルモン薬未服用の患者7名について、検査後残血清を回収した。バセドウ病患者については38名の治療前後の残血清を回収し、そのうち34名はthiamazole、残り4名はpropylthiouracilを抗甲状腺薬として服用していた。

方法：総ATXおよび各ATXアイソフォームの血清中濃度を、東ソー株式会社の測定試薬および全自動エンザイムイムノアッセイ装置を用い測定した。

2 *in vitro*および*in vivo*条件下において甲状腺ホルモンがATX発現に及ぼす影響の解析

方法(*in vitro*)：3T3L1線維芽細胞から分化させた脂肪細胞にT3あるいはT4製剤を添加し、24時間後にRNAを抽出して逆転写させた後、リアルタイムPCRで対象遺伝子の定量を行った。

方法(*in vivo*)：10週齢のC57BL/6マウスにT3製剤の腹腔内投与を1日2回の頻度で10日間続け、6時間絶食後に血液検体を採取した。マウスATXはELISAを用い測定した。LPAおよびLPC濃度はLC-MS/MS法を用い測定した。

(結果)

1 各甲状腺疾患における血清中ATX濃度の解析

血清中ATX濃度は男性よりも女性で高値を示すことが知られているため、各甲状腺疾患における総ATXおよび各ATXアイソフォームの血清中濃度を、健常者を対照として男女別に比較検討した。

先ず甲状腺機能亢進症患者を検討した結果、男性では未治療のバセドウ病患者で総ATXおよびnovel ATXが有意に高値であり、女性では総ATXおよび各ATXアイソフォームが未治療および治療中のバセドウ病患者で有意に高値であった。しかしながら、亜急性甲状腺炎やプランマー病の患者では、血清中ATX濃度は男女ともに健常者と同程度であった。一方、被検者数は少ないが、無痛性甲状腺炎患者では男女ともに総ATX濃度が健常者よりも有意に高値であった。バセドウ病患者と亜急性甲状腺炎患者で比べると、男性では未治療のバセドウ病患者の方がnovel ATX濃度が有意に高値であり、女性では未治療のバセドウ病患者の方が総ATXおよび各ATXアイソフォームが有意に高値であった。また、classical ATX/novel ATX比を比べると、男性ではバセドウ病患者と健常者で同程度であったが、女性では治療中のバセドウ病患者で有意に高値であった。

次に甲状腺機能低下症患者を検討した結果、甲状腺全摘術を受け且つ甲状腺ホルモン製剤を服用していない女性患者や治療中の橋本病の女性患者において、総ATXおよび各ATXアイソフォームが有意に低値を示した。一方で被検者数は少ないものの、総ATX濃度は未治療の橋本病の女性患者で有意に高値を示した。

バセドウ病患者で抗甲状腺薬による治療前後での血清中ATX濃度の比較を行った結果、治療によって総ATXおよび各ATXアイソフォームは甲状腺ホルモンであるfT3、fT4濃度と共に有意に低下した。また、classical ATX/novel ATX比はバセドウ病の治療後に有意に増加することが確認された。

血清中ATX濃度と甲状腺ホルモン濃度との相関関係を検討した結果、未治療のバセドウ病患者において、女性では血清中ATX濃度がfT3、fT4と有意に相関したが、男性では有意な相関は認められなかった。治療中のバセドウ病患者では、血清中ATX濃度は男性でfT4、女性でfT3、fT4と有意な相関を認めた。これらの結果は血清中ATX濃度がバセドウ病の重症度と関連する可能性を示唆しており、実際に血清中ATX濃度と甲状腺ホルモン濃度について、治療前後の変化量を比べると男女ともに有意な相関を示した。TRAbに関しては、女性の未治療のバセドウ病患者のみ血清中ATX濃度と有意な相関を示した。

2 *in vitro*および*in vivo*条件下において甲状腺ホルモンがATX発現に及ぼす影響の解析

これまでの結果において、亜急性甲状腺炎患者では甲状腺ホルモンが高値にも関わらず、バセドウ病患者よりも血清中ATX濃度が有意に低いことを考慮すると、バセドウ病ではATXが甲状腺ホルモンでなくその病態の影響で増加する可能性がある。しかしながら、甲状腺全摘術を受け甲状腺ホルモン製剤を未服用の患者ではATXが健常者より有意に低いことを考えると、ATXが甲状腺ホルモンの制御を受けている可能性を完全には取り除くことは出来ない。そのため、我々は甲状腺ホルモンがATX発現に及ぼす影響を*in vitro*および*in vivo*条件下にて検討した。先ず、ATXは主に脂肪細胞で産生されるため、3T3L1脂肪細胞をT3やT4製剤で処理すると、既報の通りGAPDH発現量や脂肪蓄積量は増加したが、ATX発現量はむしろ減少する結果となった。次に、野生型のC57BL/6マウスにT3製剤を投与すると、fT3はバセドウ病の血中濃度よりも高値を示したが、ATXやLPAの血中濃度はどちらも変わらなかった。以上の結果から、バセドウ病で認めた血清中ATX濃度の増加は甲状腺ホルモンにより生じるのではなく、バセドウ病の病態により生じている可能性が示唆された。

(考察)

今回、バセドウ病における血清中ATX濃度を検討した結果、血清中ATX濃度はバセドウ病患者で有意に上昇するが抗甲状腺薬により有意に低下すること、血清中ATX濃度が甲状腺ホルモン濃度と相関することが明らかとなり、ATXとバセドウ病が関連性を有する可能性が示唆された。

バセドウ病では甲状腺ホルモンとATXが良好な相関を示すが、甲状腺ホルモン濃度はバセドウ病の病態を反映することから、ATXは甲状腺ホルモンにより直接的に調節されるのか、バセドウ病の病態の影響を受けて変動しているのか不明であった。この問題点を解決するため、バセドウ病以外の甲状腺機能亢進症の血清中ATX濃度を測定し、無痛性甲状腺炎を例外として、亜急性甲状腺炎やプランマー病では血清中ATX濃度が変化しないことが明らかとなった。さらに*in vitro*および*in vivo*条件下における実験では、甲状腺ホルモン自体はATX発現を増加させない結果が得られた。そのため甲状腺ホルモンがATXを増加させているのではなく、バセドウ病と無痛性甲状腺炎で観察される炎症症状がATXを増加させている可能性が示唆された。

甲状腺機能低下症と関連する疾患に関しては、甲状腺全摘術を受け甲状腺ホルモン製剤を未服用の患者では、健常者と比べ血清中ATX濃度が有意に低下しており、前述の炎症でATXが増加するという仮説と矛盾する結果が得られた。しかしながら、ATXは栄養不調が原因で術後には血中濃度が低下するとの報告があるため、甲状腺全摘後に得られたこの結果は甲状腺ホルモンが血中ATX濃度を調節する可能性を示唆しない可能性もある。いずれにしろ、バセドウ病では他の甲状腺疾患よりも長く甲状腺機能亢進状態が持続することから、甲状腺機能亢進症自体がATX濃度に影響を及ぼしている可能性も完全には否定できない。

またclassical ATX/novel ATX比は、抗甲状腺薬を服用中であるバセドウ病の女性患者で健常者より高いこと、バセドウ病の治療後に高くなることが明らかとなった。これまで濾胞性リンパ腫、肝硬変、急性冠症候群、メラノーマといった様々な疾患でclassical ATX/novel ATX比が調べられてきたが、比率が大きく変化する疾患は報告されてこなかった。classical ATXとnovel ATXは共に体内で広く発現されているが、発現する組織には違いがあることが報告されている。また、甲状腺で優位に発現するアイソフォームは不明であり、抗甲状腺薬が特定のATXアイソフォーム分泌を促すような効果を有している可能性もあり、その原因解明にはさらなる検討が必要と考えられた。

ATXにより産生されるLPAはG蛋白質共役型受容体を介し、抗体産生、細胞遊走、サイトカイン分泌を惹起し、免疫応答を活性化する作用を有することが知られている。甲状腺癌ではサイトカインによる炎症応答としてATXが分泌されるという報告を考慮すると、ATXはLPAを介して炎症を生じ、その炎症がATX分泌を促すといった様式で悪循環を形成し、バセドウ病における甲状腺炎を悪化させている可能性がある。バセドウ病の病態におけるATX/LPAの役割を解明することで、将来的にはATX抑制剤による治療やATX測定が診断上で有益となるかもしれない。また既にATXは肝硬変のバイオマーカーとして用いられているため、血中ATX濃度を用い診断を行う際は甲状腺の状態も考慮する必要があると考えられた。

(結論)

本研究ではバセドウ病における血清中ATX濃度を解析した結果、バセドウ病患者では甲状腺機能亢進症と関係しない機序を介し、血清中ATX濃度が上昇している可能性が示唆された。以上の結果から明らかとなったバセドウ病とATXの関連性について、今後は病態におけるATXの役割を解明することで、バセドウ病に対する新たな治療方法や診断方法の開発が期待されると考えられた。

様式７

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏　名　（　野尻　卓宏　）			
論文審査担当者		（職）	氏　名
	主 査	教授	木原　進士
	副 査	教授	三善　英知
	副 査	教授	渡邉　幹夫

論文審査の結果の要旨

バセドウ病は、自己抗体が甲状腺を刺激し甲状腺ホルモンを過剰分泌させる自己免疫性甲状腺疾患である。頻脈や多汗症など多くの症状は甲状腺機能亢進症による交感神経系の活性化で生じるが、掻痒感に悩まされる患者もおり、その発症機序は十分には解明されていない。また再発率の高さも患者の管理を難しくしており、バセドウ病の病因解明のために新たなバイオマーカーの開発が求められている。

Autotaxin(ATX)は、lysophosphatidylcholine (LPC)を加水分解してlysophosphatidic acid (LPA)を産生する酵素であり、近年では関節リウマチなど免疫疾患に対する関与が報告されている。バセドウ病における免疫応答の障害と、LPAの生物活性であるB細胞増殖や免疫グロブリン分泌の促進作用、樹状細胞の走化性の促進やT細胞のサイトカイン分泌促進作用を考慮すると、ATX/LPA axisがバセドウ病の発生や増悪に関与する可能性がある。

本研究において、バセドウ病患者では健常者と比べて総ATXおよびATXアイソフォームの濃度が有意に上昇しており、抗甲状腺薬の服用で血清中ATX濃度は有意に低下すること、血清中ATX濃度は甲状腺ホルモンと有意に相関することが明らかとなった。一方、甲状腺ホルモンを3T3L脂肪細胞やC57BL6マウスに与えてもATX濃度の変化は認められず、バセドウ病患者で認められた血清中ATX濃度の上昇は甲状腺機能亢進症とは直接的に関連しないと考えられた。従って、血清中ATX濃度の上昇はバセドウ病の病勢と関連することが示唆され、既報から掻痒感に関わる可能性もあり、ATX/LPA axisはバセドウ病の病態を解明する上で重要なメカニズムであると考えられた。

本研究の成果は、バセドウ病とATXの関連性を初めて報告した点にあり、ATX/LPA axisはバセドウ病の免疫障害の増悪や、今まで発症機序が不明であった掻痒感に関わる可能性が考えられた。これらの病態との関わりが詳細に解明されることで、バセドウ病の新たなバイオマーカーや治療法の開発に繋がると期待される。

以上により、本論文は博士（保健学）の学位授与に値するものと考える。