

症と関連していることを報告した。CTLA-4遺伝子多型、IL-13遺伝子多型はバセドウ病の発症との関連を認められたが、眼症との関連は認められなかった。IFN- γ 遺伝子多型は抗甲状腺剤による治療感受性と関連がみられたが、眼症との関連は認められなかった。IL-4、IL-6、CD40、ICAM-1などの遺伝子多型はバセドウ病、バセドウ病眼症のいずれとも関連なかった。重症例での解析は途中である。

2) バセドウ病眼症の病態の解析

甲状腺と外眼筋との共通抗原として報告されているTSH受容体、Tg、1D、SDH、G2s、UACAなどの候補遺伝子の後眼窩組織における発現をリアルタイム定量PCR法にて検討し、TSH受容体、Tg遺伝子が後眼窩脂肪組織に発現していることを報告した。しかしその発現量は甲状腺の約1/100~1/1000と極微量であった。活動期の病巣でこれらの発現が増加し免疫反応の標的になっているのか、あるいは他の自己抗原が真の標的であるのか検討中である。

3) 悪性眼球突出症の診断・治療の手引きの作製

「甲状腺治療マニュアル」(2002)や「Modern Physician」(2003)に指針を示した。今後、多施設での共同研究の構築が必要と思われる。

D. 評 価

1) 達成度について

バセドウ病眼症は多因子遺伝をとると考えられており、今回の検索では到底網羅できない。今回の検索にてポーランド人、日本人の両方でTNF- α 遺伝子多型と眼症との関連を報告できた。治療法開発の立場からも興味ある所見とい

えよう。

眼症患者の手術時に得られた後眼窩組織における甲状腺自己抗原の発現の検討では、TSH受容体とサイログロブリン遺伝子について後眼窩脂肪組織での発現を認めた。しかしながらその発現量はごく微量であった。現在、病気の活動性と関連して発現が増強するのか、検討中である。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

私どもは、バセドウ病眼症患者の病態より候補遺伝子を選び出し、これらと患者のフェノタイプとの関連性を検討している。バセドウ病眼症に関するこのような研究報告は海外にも少なく、貴重なものといえる。患者の個々の遺伝因子と患者のフェノタイプとの関連が明らかになれば、患者に応じたテーラーメイド治療が可能になり、社会的にも有用である。

3) 今後の展望について

バセドウ病眼症の遺伝因子の解明と自己抗原の発現調節機構の解明は、今後のテーラーメイド医療や新しい治療法の開発につながる知見を得られるものと期待される。

4) 研究内容の効率性について

上述の研究結果を得ており、その成果を論文として発表しており、研究の効率性は高いと思われる。

E. 結 論

TNF- α 遺伝子のプロモーター領域の遺伝子多型が日本人およびポーランド人に共通して眼症と関連していることを報告した。CTLA-4遺

伝子多型、IL-13遺伝子多型はバセドウ病の発症との関連を認めたが、眼症との関連は認められなかった。IFN- γ 遺伝子多型は抗甲状腺剤による治療感受性と関連がみられたが、眼症との関連は認められなかった。

F. 研究発表

1) 国内

口頭発表	15件
原著論文による発表	2件
それ以外（レビュー等）の発表	16件

そのうち主なもの

論文発表

広松雄治ら：バセドウ病眼症患者の後眼窩組織におけるサイログロブリン遺伝子の発現。眼科紀要54: 196-199, 2003.

広松雄治：バセドウ病眼症の治療方針と治療の実際。Modern Physician 23: 1119-1123, 2003.

学会発表

広松雄治ら：CTLA-4遺伝子多型とバセドウ病眼症—ポーランド人と日本人における検討。（第107回日本眼科学会総会、2003年4月20日、福岡）

Ichimura M, et al: Interleukin-18 gene polymorphism and Graves'disease. 第11回国際分子甲状腺シンポジウム（2004年3月19-20日、那覇）

2) 海外

口頭発表	0件
原著論文による発表	10件
それ以外（レビュー等）の発表	3件

そのうち主なもの

論文発表

Hiromatsu Y, et al.: Interleukin-13 gene polymorphisms confer the susceptibility of Japanese populations to Graves' disease. J Clin Endocrinol Metab. 2004 Oct 13; [Epub ahead of print]

Bednarczuk T, Hiromatsu Y, et al.: Association of tumor necrosis factor and human leukocyte antigen DRB1 alleles with Graves' ophthalmopathy. Hum Immunol. 2004 Jun;65(6):632-9.

Fukutani T, Hiromatsu Y, et al.: A polymorphism of interferon-gamma gene associated with changes of anti-thyrotropin receptor antibodies induced by antithyroid drug treatment for Graves' disease in Japanese patients. Thyroid. 2004 Feb;14(2):93-7.

学会発表

なし

G. 知的所有権の出願・取得状況

1) 特許取得

なし

2) 実用新案登録

なし

3) その他

なし

ホルモン受容体機構異常に関する調査研究

バセドウ病眼症の発症メカニズムの解析と治療法の開発に関する研究

(1)バセドウ病眼症の遺伝因子の解析

- ①TNF- α 遺伝子のプロモーター領域の遺伝子多型が日本人およびポーランド人に共通して眼症との関連がみられた。
- ②CTLA-4 遺伝子多型、IL-13 遺伝子多型はバセドウ病の発症との関連を認めたが、眼症との関連は認められなかった。
- ③IFN- γ 遺伝子多型は抗甲状腺剤による治療感受性と関連がみられたが、眼症とは関連がみられなかった。

	Genotype at -1,031			$\chi^2=16.0$ $P<0.0001$
	TT	TC	CC	
TAO(ATA class \geq III)	45%	47%	8%	
GH(ATA class 0~II)	73%	27%	0%	

<難治性疾患克服研究事業>

バセドウ病眼症の発症メカニズムの解析と治療法の開発に関する研究

(1)バセドウ病眼症の遺伝因子の解析 方法

TNF- α 、IFN- γ 、IL-4、IL-6、IL-13、IL-18などのサイトカイン遺伝子多型やCTLA-4、CD40、ICAM-1などの免疫応答分子の遺伝子多型について、ポーランド人と日本人を対象にcase control studyを行った。

結果

- ①TNF- α 遺伝子のプロモーター領域の遺伝子多型が日本人およびポーランド人に共通して眼症との関連がみられた。
- ②CTLA-4遺伝子多型、IL-13遺伝子多型はバセドウ病の発症との関連を認めたが、眼症との関連は認められなかった。
- ③IFN- γ 遺伝子多型は抗甲状腺剤による治療感受性と関連がみられたが、眼症とは関連がみられなかった。

結論

TNF- α 遺伝子多型と眼症との関連が明らかとなった。今後のテーラーメイド治療や新しい治療法開発の見地からも興味ある所見といえよう。

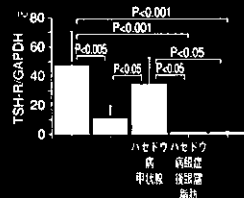
ホルモン受容体機構異常に関する調査研究

バセドウ病眼症の発症メカニズムの解析と治療法の開発に関する研究

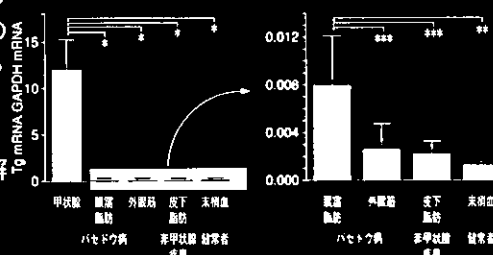
(2)バセドウ病眼症の病態の解析

- ①甲状腺・後眼窩組織との共通抗原の後眼窩組織での発現をリアルタイム定量PCR法にて検討した。
- ②TSH受容体、Tg遺伝子が後眼窩脂肪組織に発現。しかしその発現量は甲状腺の1/100~1/1000と微量であった。
- ③活動期の病巣での発現、発現増強のメカニズムの解析が今後の課題。

TSH受容体cDNAの定量RT-PCR



TgcDNAの定量RT-PCR



<難治性疾患克服研究事業>

(2)バセドウ病眼症の病態の解析

方法

甲状腺・後眼窩組織との共通抗原の後眼窩組織での発現をリアルタイム定量PCR法にて検討した。

結果

TSH受容体遺伝子、Tg遺伝子が後眼窩脂肪組織に発現。しかしその発現量は甲状腺の1/100~1/1000と微量であった。

考察

TSH受容体遺伝子、Tg遺伝子が後眼窩脂肪組織に微量ではあるが発現していたことから、甲状腺の自己免疫現象に伴い、後眼窩組織がその標的となる可能性が示唆された。今後、活動期の病巣での発現が亢進しているのか、亢進しているとすれば、どのようなメカニズムで増強するのか解析する必要がある。

TSH受容体抗体産生調節とバセドウ病治療法選択に関する研究

分担研究者 網野信行 医療法人 神甲会 隈病院

A. 研究目的

バセドウ病における甲状腺機能亢進症はTSH受容体抗体（TRAb）の刺激により発生し、我が国においては抗甲状腺剤による治療が主流である。しかし3～5年しても寛解しない難治性の症例が少なからず存在するが、初診時の検査で抗甲状腺剤の治療効果の予測をすることは現在不可能である。また治療経過中改善しつつある症例でも、再びTRAb値が上昇し病態の増悪がしばしばみられる。しかしどのような因子が関与して増悪するのか殆ど分かっていない。さらに抗甲状腺剤の投薬中止に関する良い指標も確立されていない。そこで今回、1）初診時における抗甲状腺剤治療効果の予測法を検討し、2）TRAb産生の増悪因子につき調べた。また3）投薬中止の指標を検索した。

B. 研究方法

抗甲状腺剤治療効果の予測法に関しては、初診時のTRAb値を5年間経過観察出来た180例のバセドウ患者において調べた。従来TRAb値は標識TSHの結合阻害百分率で表示されてきたが、この方法では80%以上の値は頭打ちとなり、定量的な値は得られていなかった。そこでヒトTSH受容体を用いた高感度法による定量的な測定値（IU/L）を用い、予後との関係を調べた。2）TRAb産生の増悪因子については、Th2優位の花粉尘との関係に注目し

た。バセドウ病におけるスギ花粉症の合併率をみるため、健常対象者766人、バセドウ病126人、無痛性甲状腺炎患者46人及び橋本病患者88人を対象に、スギ花粉症を有しているかどうかを調べた。TRAb産生の検索では、寛解ないし寛解に近いバセドウ病患者10例を対象に経時的に甲状腺機能検査及び各種自己抗体、さらにスギ特異的IgE抗体価の変動を検索した。対象10例中5例はスギ花粉症を合併している患者で（Aグループ）、残り5例はスギ花粉症のない患者（Bグループ）を選んだ。3）投薬中止の指標に関しては、一般医家でも使用できる簡便な方法を見いだすため、抗甲状腺剤隔日一錠の内服条件を設定し、少なくとも6ヶ月間FT4、TSH値が正常であった57例を対象に寛解、再発の要因を検索した。抗甲状腺剤投与中止後、はじめの6ヶ月は1～2ヶ月毎に、次の18ヶ月は3～4ヶ月毎に甲状腺機能の検査を実施した。

（倫理面への配慮）

いずれの検索も患者の了解のもとに実施した。

C. 研究結果及び考察

1）初診時TRAb値と抗甲状腺剤治療の予後：5年間経過観察出来たバセドウ病180例中53例（29.4%）は寛解し、127例（70.6%）は寛解しなかった。非寛解群の初診時のTRAb値は、寛解群に比し有意の高値を示した。TRAb

b値が50IU/L以上を示したものは32例あったが、うち28例(87.5%)は非解寛群であった。これらのことから初診時における定量的TRAb測定で50IU/L以上の症例は、5年間の抗甲状腺剤治療で解寛する可能性は低いく、アイソトープ治療または手術療法を選択するべきものと考えられた。

2) 花粉症によるTRAb産生増加: バセドウ病患者におけるスギ花粉症の合併率は42.9%で、健常人の32.6%に比し有意の高値であった。一方無痛性甲状腺炎では13.0%と有意に合併率が低かった。バセドウ病患者でスギ花粉症合併症例(Aグループ)では、花粉症症状出現とほぼ同時に末梢好酸球が増加し、症状出現後約3ヵ月後を頂値としてスギ花粉特異的IgEの一過性上昇が見られた。TRAb値の変動は、Aグループの5例中3例でスギ花粉発症後IgE上昇と類似して抗体価の上昇がみられた。抗TPO抗体はAグループで7・8月頃を頂値とする抗体価の一過性上昇がみられ、抗サイログロブリン抗体もTPO抗体同様に花粉症発症後抗体価は漸増し、8月から11月に頂値を示す有意な上昇が見られた。Bグループではこのような変化は見られなかった。スギ花粉症によるアレルギー性鼻炎では局所的なTh2免疫反応が全身に影響し、生体全体または頭頸部の免疫系がTh2優位になり抗体産生が高まったものと推測された。

3) 抗甲状腺剤投与中止の指標: 57例中46例(80.7%)は投薬中止後も2年間は解寛状態にあったが、残り11例(19.3%)は甲状腺機能亢進症の再発がみられた。抗甲状腺剤投与中止時の年齢、FT4、FT3、TSH値、甲状腺腫大度は両群間で有意差は見られなかったが、TRAb値は再発群で有意の高値を示した。特にTRAb値30%(高感度法50%または6IU/L)

以上を示した4例は全例再発した。即ち抗甲状腺剤隔日一錠の内服条件で少なくとも6ヶ月間FT4、TSH値が正常で、しかもTRAb値が30%(高感度法50%または6IU/L)以下を示すものの解寛率は86.7%であった。

D. 評 価

1) 達成度について

TSH受容体抗体(TRAb)に関し、その産生増悪機作とバセドウ病治療法選択の指標につき研究をすすめた。スギ花粉症後Th2免疫系の刺激により抗体産生が高まりバセドウ病が発症・増悪することが世界ではじめてあきらかにされた。また定量的測定法で初期の治療方針が決められることも判明した。さらに抗甲状腺剤投薬中止時期決定、すなわち解寛予測に簡単な臨床指標が明らかにされ、予想以上に研究の達成度は高く、少なくとも80%は超えているものと考えられた。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

学術的成果は上述のごとくで、とくに花粉症によるTRAb産生増加は、1型アレルギーにより自己免疫疾患が増悪発症することになり学術的にも国際的にも非常に大きな注目を集めている。また以上の研究はいずれも臨床に直結しており、国内外のバセドウ病の治療ガイドラインに今後取り入れられるものと思われる。このことから実際医療における社会的意義は極めて大きい。

3) 今後の展望について

初診時における定量的TRAb測定で、バセドウ病治療法の選択がかなり可能となったが、まだすべての症例で100%予測可能ではない。今後さらに別の指標も加え評価しより良い予測

法を確立してゆく必要がある。TRAb産生にTh2優位性が重要であることを明らかにしたので、この点に注目してバセドウ病の新しい治療法の開発が期待される。

4) 研究内容の効率性について

今回の研究は5年以上にわたる患者経過観察によって得られた貴重な成績であり、その成果は臨床の現場で効率よく患者治療に応用されるものと思われる。

E. 結 論

1) 初診時における定量的TRAb測定で50IU/L以上の症例は、5年間以内に抗甲状腺剤治療で寛解する可能性は低いく、アイソトープ治療または手術療法を選択するべきと考えられた。

2) スギ花粉症によりTh2免疫反応が高まりTRAb抗体産生が上昇しバセドウ病の発症・再発・増悪がみられる。

3) 抗甲状腺剤隔日一錠の内服条件で6ヶ月以上FT4, TSH値が正常でTRAb値が30% (高感度法50%または6IU/L) 以下のものは投薬中止が可能である。

F. 研究発表

1) 国内

原著論文による発表	5件
それ以外 (レビュー等) の発表	36件
そのうち主なもの	
論文発表	

長谷川友規子、高野徹、泉由紀子、多田尚人、巽圭太、日高洋、網野信行「花粉症後に発病、増悪および再発が見られたバセドウ病の1例」総合臨床 51:2076-2079、2002.

岡田美紀、青木和子、富永信子、田中公子、

福岡富子、日高洋、高野徹、網野信行「大阪地区における成人女性の季節性アレルギー性鼻炎、気管支喘息およびアトピー性皮膚炎の出現頻度について」臨床と研究 79:2182-2185、2002.

網野信行、高野徹、中田幸子「バセドウ病の診断と治療」Mebio 20:57-61、2003.

竹岡啓子、日高洋、花田浩之、野村朋子、泉由紀子、高野徹、金倉譲、岩谷良則、網野信行「第二世代TSHレセプター抗体 (TRAb) 測定試薬の評価—第二報—」医学と薬学 51:173-178、2004.

2) 海外

原著論文による発表	38件
それ以外 (レビュー等) の発表	2件
そのうち主なもの	
論文発表	

Izumi Y, Hidaka Y, Tada H, Takano T, Kashiwai T, Tatsumi K, Ichihara K, Amino N: Simple and practical parameters for differentiation between destruction-induced thyrotoxicosis and Graves' thyrotoxicosis. Clin Endocrinol 57: 51-58, 2002.

Kashiwai T, Hidaka Y, Takano T, Tatsumi K, Izumi Y, Shimaoka Y, Tada H, Takeoka K, Amino N: Practical treatment with minimum maintenance dose of anti-thyroid drugs for prediction of remission in Graves' disease. Endocr J 50: 45-49, 2003.

Tada H, Mizuta I, Takano T, Tatsumi K, Izumi Y, Hidaka Y, Amino N: Blocking-type anti-TSH receptor antibodies and relation to responsiveness to

antithyroid drug therapy and remission in Graves' disease. Clin Endocrinol 58: 403-408, 2003.

Hidaka Y, Kimura M, Izumi Y, Takano T, Tatsumi K, Amino N: Increased serum concentration of eosinophil-derived neurotoxin in patients with Graves' disease. Thyroid 13: 129-132, 2003.

Amino N, Hidaka Y, Takano T, Tatsumi K, Izumi Y, Nakata Y: Possible Induction of Graves' disease and painless thyroiditis by gonadotrophin-releasing hormone (GnRH) analogues. Thyroid 13: 815-818, 2003.

Amino N, Hidaka Y, Takano T, Izumi Y, Tatsumi K, Nakata Y: Association of seasonal allergic rhinitis is high in Graves' disease and

low in painless thyroiditis. Thyroid 13: 811-814, 2003.

Takeoka K, Hidaka Y, Hanada H, Nomura T, Tanaka S, Takano T, Amino N: Increase in serum levels of autoantibodies after attack of seasonal allergic rhinitis in patients with Graves' disease. Int Arch Allergy Immunol 132:268 - 274, 2003.

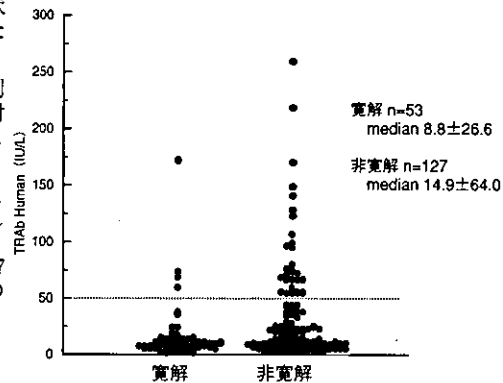
Amino N, Izumi Y, Hidaka Y, Takeoka K, Nakata Y, Tatsumi K, Nagata A, Takano T: No increase of blocking type anti-TSH receptor antibodies during pregnancy in patients with Graves' disease. J Clin Endocr Metab 88:5871 - 5874, 2003.

G. 知的所有権の出願・取得状況

なし

TSH受容体抗体産生調節とバセドウ病治療法選択に関する研究(1)

- 平成14年度-16年度にかけてTSH受容体抗体産生調節とバセドウ病治療法選択に関する研究をおこなった。
- バセドウ病初診時における定量的TRAb測定を導入することにより、その値が50IU/L以上であると5年間までの抗甲状腺剤治療では87.5%が寛解しなかった(図)。
- したがってこのような例では、抗甲状腺剤による治療は適切でなく、はじめから放射線療法または手術療法を選択すべきものと考えられた。
- 抗甲状腺剤隔日一錠の内服条件で少なくとも6ヶ月間FT4、TSH値が正常で、しかもTRAb値が30% (高感度法50%、6IU/L)以下を示すものの解寛率は86.7%であり、新しい抗甲状腺剤投与中止の条件が明らかにされた。
〈難治性疾患克服研究〉



解説1

バセドウ病における甲状腺機能亢進症はTSH受容体抗体(TRAb)の刺激により発生し、我が国においては抗甲状腺剤による治療が主流である。しかし3~5年しても寛解しない難治性の症例が少なからず存在するが、初診時の検査で抗甲状腺剤の治療効果の予測をすることは現在不可能である。特に従来のTRAb測定法では、その活性が高い時は頭打ちとなり、正確な定量的測定ができなかった。また抗甲状腺剤の投薬中止に関する良い指標も確立されていない。そこで今回、初診時における抗甲状腺剤治療効果の予測法を、定量的TRAb測定法を導入し、検索した。また投薬中止に関し一般医家でも使用出来る簡単な指標を検討した。

5年間経過観察出来たバセドウ病180例中53例(29.4%)は寛解し、127例(70.6%)は寛解しなかった(図)。非寛解群の初診時のTRAb値は、寛解群に比し有意の高値を示した。またTRAb値が50IU/L以上を示したものは32例あったが、うち28例(87.5%)は非寛解群であった。

これらのことから初診時における定量的TRAb測定で50IU/L以上の症例は、5年間の抗甲状腺剤治療で寛解する可能性は低いく、アイソトープ治療または手術療法を選択するべきものと考えられた。

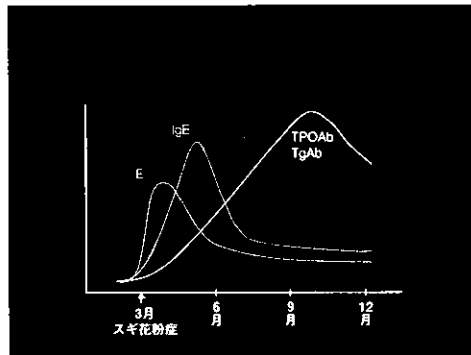
投薬中止指標の検索に関して、抗甲状腺剤隔日一錠の内服条件を新しく設定し、少なくとも6ヶ月間FT4、TSH値が正常であった57例を対象に寛解、再発の要因を検索した。抗甲状腺剤投与中止後、57例中46例(80.7%)で2年間は寛解状態にあり、しかも中止時のTRAb値が30%(高感度法50%、6IU/L)以下の例では寛解率86.7%であった。

以上のことから抗甲状腺剤隔日一錠の内服で、6ヶ月間FT4、TSH値が正常であり、しかもTRAb値が30%(高感度法50%または6IU/L)以下の例は投薬が中止出来ると考えられた。

TSH受容体抗体産生調節とバセドウ病治療法選択に関する研究(2)

- 治療中または解寛中のバセドウ病は、しばしば甲状腺機能の増悪または再発がみられる。これはTSH受容体抗体(TRAb)産生が高まることによるが、なぜ抗体産生が上昇するかほとんど分かっていなかった。
- 今回の研究でTh2優位の状態にある花粉症により、TRAb産生増加がみられることが明らかになった。
- バセドウ病では、花粉症症状出現とほぼ同時に末梢好酸球が増加し、さらに約3ヵ月後を頂値としてスギ花粉特異的IgEは一過性に上昇する(図)。TRAb値もIgE上昇と類似し上昇する。抗TPOおよびTg抗体は更に遅れて抗体価の一過性に上昇する。
- スギ花粉症では局所的なTh2免疫反応が影響し、生体全体または頭頸部の免疫系がTh2優位になり抗体産生が高まるものと推測された。

〈難治性疾患克服研究〉



解説2

バセドウ病で抗甲状腺剤治療により病態が改善しつつある症例でも、再びTRAb値が上昇し増悪がしばしばみられる。しかしどのような因子が関与して増悪するのか殆ど分かっていない。TRA b産生に関しては、抗体産生に直結するTh2免疫系が重要と考えられる。そこでTh2優位の花粉症との関係に注目した。

バセドウ病患者におけるスギ花粉症の合併率は42.9%で、健常人の32.6%に比し有意に高値であった。バセドウ病患者でスギ花粉症合併症例では、花粉症症状出現とほぼ同時に末梢好酸球が増加し、症状出現後約3ヵ月後を頂値としてスギ花粉特異的IgEの一過性上昇が見られる(図)。TRA bは、スギ花粉発症後IgE上昇と類似して抗体価の上昇がみられた。抗TPO抗体はおよび抗サイログロブリン抗体はTRA bより遅れて漸増し、8月から11月に頂値を示す一過性上昇が見られた。花粉症の合併のないバセドウ病ではこのような変化は見られなかった。

スギ花粉症によるアレルギー性鼻炎では局所的なTh2免疫反応が全身に影響し、生体全体または頭頸部の免疫系がTh2優位になりTRA b抗体産生が高まったものと推測された。

厚生労働学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

**TSH受容体抗体病の遺伝素因に関する研究：
疾患感受性遺伝子の同定および家族性バセドウ病全国疫学調査**

分担研究者 赤水尚史 京都大学医学部附属病院 探索医療センター 助教授

A. 研究目的

バセドウ病は、TSH受容体自己抗体によって複数の遺伝因子と環境因子によって引き起こされる臓器特異的自己免疫性疾患である。我々はこれまでに、多因子性疾患の一つであるバセドウ病の遺伝的素因について検討してきた。候補遺伝子アプローチとして、自己抗原であるTSH受容体遺伝子と免疫制御分子であるCTLA遺伝子を中心に検討し、マイクロサテライト多型マーカーによって有意な相関を得た。また、共同研究において、sib pairを用いたランダムスクリーニングによるポジショナルクローニングアプローチを行い、lod score 3以上の興味あるローカスを幾つか見出している。そこで、今回の研究においては、1) 候補遺伝子の一つであるTSH受容体遺伝子のSNPを用いて、Blockの存在と同病との関連の検討を行った。2) 全ゲノムスクリーニングで見出されたバセドウ病疾患感受性遺伝子存在領域である5q23-q33において、免疫関連遺伝子を中心として候補遺伝子をpick upし、SNPやマイクロサテライト多型マーカーによる関連解析を行った。

また、バセドウ病の遺伝的背景や環境的要因の関与を明らかにするために、同病の家族集積と臨床疫学について全国調査した。

B. 研究方法

TSH受容体遺伝子内の疾患感受性領域の絞り込みを行うために、この遺伝子内におけるSNPを用いてハプロタイプブロックの存在を検討した。TSH受容体遺伝子内に存在するSNPの中で、10~50Kbp間隔で12個のSNPを選び、関連解析を行った。有意な関連を認めた領域について、さらに10個のSNPを選んで連鎖不平衡(LD)解析を行った。LD係数が0.8以上の領域(block)内において、ハプロタイプが4~6種類の少数のハプロタイプ(共通ハプロタイプ)に主に分類し、ハプロタイプ解析を行った。

染色体5q23-33領域については、同領域約1cM毎に設定したMicrosatelliteMarkerでの解析とCytokine Cluster・免疫関連遺伝子のSNPを用いて関連解析を行った。

家族発症バセドウ病の全国的調査は厚生省特定疾患調査研究事業「特定疾患に関する疫学調査研究」班との共同で第一次調査と第二次調査を行い、岡山大学と順天堂大学の倫理委員会承認を受けた。家族性バセドウ病とは、「対象者本人がバセドウ病の診断基準を満たし、兄弟姉妹、実の親、実の子(第一度近親以内)の誰か1人以上にバセドウ病が発病している者」と定義した。全国2367施設の内科(内分泌代謝科、甲状腺科)、小児科、甲状腺専門病院に調査票を送付した。

C. 研究結果および考察

1) TSHR遺伝子内のSNPを用いて関連解析：

まず、TSHR遺伝子内に10～50Kbp間隔で分布する2個のSNPでの関連解析を行った。その結果、イントロン8に存在するJST140350で有意な関連を認めた。そこで、エクソン7から8付近に分布する10個のSNPを用いて連鎖不平衡解析を行3つのBlockに分割された。JST022302と連鎖不平衡にあるいくつかのSNPにおいてもGraves'との関連が認められた。Hashimotoではこの領域内において関連は認められなかった。さらに、JST022302と連鎖不平衡の強い8つのSNP (Block3) を用いてハプロタイプ解析を行ったところ、2つのみの高頻度ハプロタイプが検出され、Major Haplotype頻度はAITD、特にGraves'で有意な上昇が見られた。従ってTSHR遺伝子エクソン7-8領域はバセドウ病の疾患感受性領域と考えられた。今後は、この領域に存在するSNPを用いた機能解析を行う必要がある。また、HLAやCTLA-4などの他の疾患感受性遺伝子との相互作用の検討も必要である。

2) Ch5q21-33領域の解析：

約1cM毎に設定したMicrosatellite Markerでの解析：D5S2115以外にD5S2117、D5S2110付近にも比較的強い関連が認められ、疾患感受性領域の存在が示唆された。この領域におけるCytokine Cluster・免疫関連遺伝子のSNPを用いて関連解析では、IRF1、GM-CSFにおいてバセドウ病との関連があった。

3) 家族性バセドウ病の全国疫学調査：

第一次調査では、調査対象2367科のうち、1361科 (回収率57.5%) より回答があり、報告

患者数は902名であった。この成績に基づき、2000年1年間に家族性バセドウ病により全国の病院を受療した患者数は2850名 (95%信頼区間2000～3500名) と推計された。これによって、バセドウ病患者全体に占める家族性の割合は、約2.1-3.1%と推計された。また、平成11年度の日本における全人口と甲状腺中毒症患者数から、家族罹患の相対危険率は、約19-42倍と概算された (表1)。第二次調査は487例回収 (回収率55%) された (表2)。家族性バセドウ病の臨床所見、検査、治療、予後に関しては、非家族性を含めた全体のバセドウ病と比べて大きな相違はないと考えられた。家族性バセドウ病患者の中で、第一度近親に橋本病患者を有するものは約8%あった。また、橋本病以外の自己免疫・アレルギー性疾患を合併するものは10%あった。以上より、バセドウ病患者に家族集積が確認され、その発症に遺伝因子や環境因子、またはその両者の関与が示された。

D. 評価

1) 達成度について

TSH受容体遺伝子SNPに関する検討は、エクソン7-8領域まで絞り込むことができた。今後、機能解析を行う時点で達した。まだ達成できていない点は、5q23-33の中で疾患感受性遺伝子存在部位を未だ絞りきれていない。その理由として、良いマーカーを選択できていないか、この部位に存在する複数のサイトカインや他の免疫関連遺伝子が疾患に複雑に関与している可能性がある。

家族性バセドウ病の全国疫学調査は予定通り終了した。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

バセドウ病の遺伝因子解明は、疾患の発症機序解明、発症予防、治療薬副作用回避などにつながる。本研究は、我々を含めて複数の研究者によって精力的に研究がなされているが、人種差などによる相違があり、地域や人種を考慮した検討が必要である。その意味で本研究は、日本人固有の特長を明らかにし、さらには東アジア人全体に敷衍されうる可能性がある。TSHレセプター遺伝子多型の検討は、我々の検討が国内外において最も詳細であり、日本人における全ゲノムスクリーニングの報告は我々のみである。この報告で見出された領域は欧米での検討と異なっており、5q23-q33領域の詳細な検討の報告は国内外を問わずほとんどない。さらに、臨床像との連関を含めて我々が初めて報告した。家族性バセドウ病の全国疫学調査は同病の遺伝的素因を明らかにし、臨床における患者説明にも有用である。

3) 今後の展望について

今回の検討でバセドウ病の疾患感受性領域と考えられたTSHR遺伝子エクソン7-8領域については、同領域に存在するSNPを用いた機能解析を行い、疾患感受性遺伝子であることを証明することができる。また、HLAやCTLA-4などの他の疾患感受性遺伝子との相互作用の検討も行い、バセドウ病遺伝因子の全体像を明らかにすることが可能である。さらに、染色体5q23-33領域は、多数のサイトカイン遺伝子がクラスターを形成する部位であり、他の自己免疫疾患やアレルギー疾患の疾患感受性遺伝子座位として従来から興味をもたれてきた。同部位の多数のマーカーを用いた関連解析によって候補遺伝

子を絞り込み、機能解析に供することができれば、バセドウ病のみならず自己免疫性疾患全体の遺伝因子解明に寄与できると考えられる。

4) 研究内容の効率性について

研究にかけた労力や資金に応じた成果が出ていると考えられ、効率性は問題ないと思われる。

E. 結 論

TSH受容体遺伝子内のSNPにハプロタイプブロックを認め、エクソン7-8領域ブロック内のSNPおよびハプロタイプにおいてバセドウ病との有意な関連を認めた。従って、同領域におけるバセドウ病疾患感受性遺伝子の存在の可能性が示れた。

染色体5q23-33領域の新たなマイクロサテライト多型とバセドウ病との比較的強い関連が認められ、2つの遺伝子のSNPとも有意な関連が認められた。

家族性バセドウ病を対象に全国疫学調査より、バセドウ病患者に家族集積が確認され、その発症に遺伝因子や環境因子、またはその両者の関与が示された。

以上より、バセドウ病の遺伝素因の存在が確認され、具体的にはTSH受容体や5q23-33領域におけるバセドウ病疾患感受性遺伝子の存在が強く示唆された。

F. 研究発表

1) 国内

口頭発表	24件
原著論文による発表	1件
それ以外（レビュー等の発表）	14件
そのうち主なもの	

論文発表

- (1)服部喜之、赤水尚史。バキュロウイルス昆虫細胞発現系によって作製した分泌性可溶性TSHレセプターに関する定量的性状検討。ホルモンと臨床50(2):101-108, 2002.
 - (2)赤水尚史。バセドウ病の治療。ホルモンと臨床50(7):665-669, 2002.
 - (3)赤水尚史。バセドウ病の内科的治療の中止。医事新報4079:88-89, 2002.
 - (4)赤水尚史、平谷仁美。日本人自己免疫性甲状腺疾患に関する感受性遺伝子存在候補領域についての関連解析。ホルモンと臨床51:155-159, 2003.
 - (5)満間照典、紫芝良昌、内村英正、長坂顕雄、網野信行、赤須文人、赤水尚史、澤潔人、飯高誠、市川和夫、伊藤光泰、遠藤登代志、岡村健、岡本泰之、久保田憲、清水多恵子、高野徹、高松順太、竹田京子、多田尚人、坪井久美子、浜田昇、廣岡良文、深田修司、三橋知明、百溪尚子、吉田克己、吉村弘。甲状腺疾患ガイドライン：バセドウ病・甲状腺機能低下症・無痛性甲状腺炎慢性甲状腺炎（橋本病）亜急性甲状腺炎（日本甲状腺学会診断ガイドライン作成ワーキンググループ、執筆・連絡責任者網野信行）。ホルモンと臨床50:643-653, 2003.
 - (6)赤水尚史。TSH受容体抗体の認識部位。内分泌糖尿病科6:365-370, 2003.
 - (7)赤水尚史、西條美佐。Basedow。病の動物モデル作成-抗甲状腺刺。激ホルモン受容体抗体遺伝子発現法-。最新医学58(7) 1643-1648, 2003.
 - (8)赤水尚史。バセドウ病の病態と診断。Modern Physician23(7): 1044-1047, 2003.
 - (9)赤水尚史。自己免疫性甲状腺疾患のモデル動物。ホルモンと臨床51(10): 861-866, 2003.
 - (10)赤水尚史。モデル動物作成によるバセドウ病発症機序の解明。J Clin. Immunol. 26(6): 329-335, 2003.
 - (11)赤水尚史。実験的バセドウ病。内分泌・糖尿病科17(4): 405-409, 2003.
 - (12)赤水尚史、西條美佐。特集：分子甲状腺学の進歩2004。刺激型抗TSH受容体トランスジェニックマウスの作製と解析。ホルモンと臨床52(3): 243-248. 2004.
- 学会発表
- (1)旗谷雄二、赤水尚史、有安宏之、金本巨哲、西條美佐、森山賢治、高屋和彦、島津章、中尾一和。ACTH値が経過中に変動した視床下部性副腎皮質機能低下症の一例。第12回臨床内分泌代謝 Update. 大阪。2002年。
 - (2)赤水尚史、西條美佐、平谷仁美、中尾一和。バセドウ病の新規モデル動物作成及び同病感受性遺伝子の探索。第75回日本内分泌学会学術総会、2002年。大阪。
 - (3)西條美佐、赤水尚史、旗谷雄二、金本巨哲、森山賢治、大森勝之、生田宏一、飯田晴彦、松田洋一、本庶 佑、中尾一和。バセドウ病患者由来抗TSHレセプター抗体遺伝子トランスジェニックマウスにおける甲状腺機能亢進症の発症とその解析。第75回日本内分泌学会学術総会、2002年。大阪。
 - (4)平谷仁美、赤水尚史、池上賢、旗谷雄二、金本巨哲、西條美佐、森山賢治、Donald Bowden、白澤専二、笹月健彦、中尾一和。5q23-33領域における日本人自己免疫性甲状腺疾患感受性とバセドウ病臨床像に関する関連解析。第75回日本内分泌学会学術総会、2002年。大阪。
 - (5)森山賢治、田上哲也、赤水尚史、西條美佐、

- 金本巨哲、旗谷雄二、臼井健、島津章、中尾一和。内分泌攪乱化学物質が甲状腺ホルモン作用に及ぼす攪乱作用の評価法確率の試み。第75回日本内分泌学会学術総会、2002年。大阪。
- (6) 赤水尚史、中尾一和。自己免疫性甲状腺疾患の病因と病態。第2回日本医学会総会。4.4-6、2003。福岡。
- (7) Yu-Shu Li、赤水尚史、金本巨哲、旗谷雄二、西條美佐、平谷仁美、森山賢治、中尾一和。甲状腺特異的MHC Class II 発現Transgenic Miceの作製と機能解析。第76回日本内分泌学会学術総会。5.9-11、2003。
- (8) 西條美佐、赤水尚史。抗TSHレセプター抗体遺伝子導入マウス (TSAb-Tg mouse) の甲状腺機能亢進と自己抗体産生機構。第76回日本内分泌学会学術総会。5.9-11、2003。
- (9) 平谷仁美、池上賢、Donald Bowden、清水章、赤水尚史。SNPを用いたTSHレセプター遺伝子内の連鎖不平衡解析。第46回日本甲状腺学会学術集会。11.19-21、2003。名古屋。
- (10) 赤水尚史、中村好一、玉腰暁子、稲葉裕、網野信行、清野佳紀。家族性バセドウ病に関する全国疫学調査成績。第46回日本甲状腺学会学術集会。11.19-21、2003。名古屋。
- (11) 赤水尚史。TSHレセプター、同抗体およびその測定アッセイに関して。第5回日本内分泌学会近畿支部学術集会、大阪国際会議場、2004年。
- (12) 平谷仁美、Donald Bowden、清水章、赤水尚史。TSHレセプター遺伝子内SNPを用いた日本人自己免疫性甲状腺疾患のCase-Control解析および連鎖不平衡解析。第47回日本甲状腺学会、前橋テルサ、2004年。
- (13) 赤水尚史。甲状腺疾患に関わるSNP解析。第47回日本甲状腺学会、前橋テルサ、2004年。

2) 海外

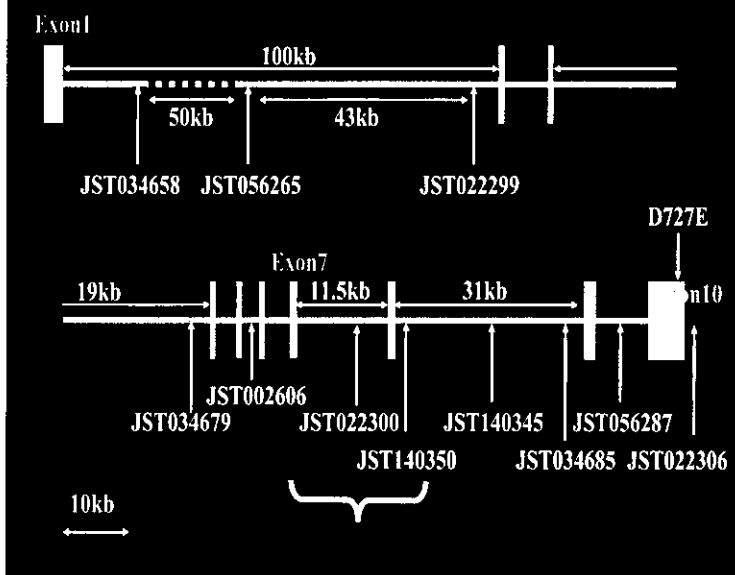
- | | |
|-----------------|-----|
| 口頭発表 | 12件 |
| 原著論文による発表 | 14件 |
| それ以外 (レビュー等の発表) | 2件 |
- そのうち主なもの
- 論文発表
- (1) Akamizu T, Ozaki S, Hiratani H, Uesugi H, Sobajima J, Hataya Y, Kanamoto N, Saijo M, Hattori Y, Moriyama K, Ohmori K, Nakao K. Drug-induced neutropenia associated with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): possible involvement of complement in granulocyte cytotoxicity. Clin Exp Immunol. 2002 Jan;127(1):92-8.
- (2) Sellitti DF, Doi SQ, Akamizu T, Koshiyama H. Comments on "Thyrotropin Receptor Expression in Cardiac Muscle Tissue". J Clin Endocrinol Metab, 87(2):946, 2002.
- (3) Moriyama K, Tagami T, Akamizu T, Usui T, Saijo M, Kanamoto N, Hataya Y, Shimatsu A, Kuzuya H, Nakao K. Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. J Clin Endocrinol Metab. 2002 Nov;87(11):5185-90.
- (4) Akamizu T, Hiratani H, Ikegami S, Rich SS, Bowden DW. Association study of autoimmune thyroid disease at 5q23-33 in Japanese patients. J HumGenet, 48:236-42, 2003
- (5) Saijo M, Akamizu T, Ikuta K, iida Y, Ohmori K, Matsubara K, Matsuda Y, Suzuki M, Matsuda F, Nakao K. Generation of a transgenic animal model of hyperthyroid graves' disease. Eur J Immunol, 33: 2531-2538, 2003.
- (6) Akamizu T. Monoclonal Antibodies to Throid Specific Autontigens. Autoimmunity 36 (6-7):

- 361-366, 2003.
- (7)Moriyama K, Okuda J, Saijo M, Hattori Y, Kanamoto N, Hataya Y, Matsuda F, Mori T, Nakao K and Akamizu T: Recombinant monoclonal thyrotropin-stimulation blocking antibody (TSBAb) established from peripheral lymphocytes of a hypothyroid patient with primary myxedema. J Endocrinol. Invest. 26: 1076-1080, 2003.
- (8)Li YS, Kanamoto N, Hataya Y, Moriyama K, Hiratani H, Nakao K, Akamizu T. Transgenic Mice Producing MHC Class II Molecules on Thyroid Cells Do Not Develop Apparent Autoimmune Thyroid Diseases. Endocrinology. 2004, 学会発表
- (1)Saijo M, Akamizu T, Ikuta K, Ohmori K, Iida Y, Matsubara K, Matsuda Y, Honjo T, Nakao K. Transgenic Mice Bearing Anti-TSH Receptor Autoantibody Genes Derived from a Graves' Patient. The 84th Annual Meeting of the Endocrine Society, (San Francisco, U.S.A.) 6.19-22, 2002
- (2)Akamizu T, Kangawa K. Central effects of Ghrelin and GHS. 2003 Hypopituitary Control and Complications Study Symposium and Investigators Meeting (Prague, Czech Republic) 3.11-15, 2003.
- (3)Saijo M, Akamizu T, Ikuta K, Ohmori K, Honjo T, Nakao K. Oral Administration of Lipopolysaccharides Induces hyperthyroidism in a Patients Derived Thyroid-Stimulating Anti-Thyrotropin Receptor Antibodies Transgenic Mouse. The 85th Annual Meeting of the Endocrine Society (Philadelphia, USA) 6.19-22, 2003.
- (4)Akamizu T, Saijo M: Transgenic Model of Graves' Disease. 7th Asia & Oceania Thyroid Association Congress 2003 (Raffles City Convention Center, Singapore), 2-4 December, 2003.
- (5)Li YS, Kanamoto N, Hataya Y, Moriyama K, Nakao K, Akamizu T. Preparation and Characterization of Transgenic Mice Expressing MHC Class II Molecules on Thyroid Cells. The 75th meeting of The American Thyroid Association, Palm Beach, Florida, #106 (p85), 2003.
- (6)Akamizu T. Transgenic models of Autoimmune thyroid disease. The 4th China-Japan-Korea Thyroid Conference. 2004. 5.23-26, Shanghai Worldfield Convention Hotel, Shanghai, China.

G. 知的所有権の出願・取得状況

なし

TSH受容体遺伝子とSNP



TSH受容体遺伝子全体の図および、関連解析に用いた12個のSNPの位置を示します。JST140350周辺（赤い括弧）についてはさらにSNPの密度を増やして計22個のSNPのタイピングを行いました。

TSH受容体遺伝子-exon7-8領域内 lock3におけるHaplotype解析

Haplotype ^b	AITD			GD			HT			
	Control freq	AITD freq	P value ^a	odds ratio (95% C. I.)	GD freq	P value ^a	odds ratio (95% C. I.)	HT freq	P value ^a	odds ratio (95% C. I.)
AATG(CT) _n (TT)AG	0.53	0.65	0.0058	1.56 (1.11-2.22)	0.67	0.0029	1.79 (1.21-2.61)	0.56	0.63	1.20 (0.75-1.86)
			Per mutation P value			Per mutation P value			Per mutation P value	
			0.00			0.0050			0.63	
all minor alleles										
GCAA(CT) _n (CA)GT	0.42	0.30	0.0020	0.56 (0.39-0.78)	0.26	0.00026	0.48 (0.32-0.69)	0.37	0.29	0.76 (0.48-1.21)
			Per mutation P value			Per mutation P value			Per mutation P value	
			0.0010			<0.0001			0.29	
other alleles	0.05	0.06	-		0.07	-		0.08	-	

^aPvalue based on χ^2 distribution

^bHaplotypes of 8SNPs in block3 : JST022302, JST022303, JST022304, rs12885526, JST140351, TT/CA, JST140350, JST140349

Bold pink indicates haplotype allele frequencies that are significantly increased. (Pvalue<0.05)

Permutation test results are available upon request. (Pvalue<0.05)

SNP間の連鎖不平衡解析から3つのBlockが見いだされました。このうちBlock 3の8個のSNPを用いたHaplotype解析で有意な関連が見いだされました。その結果をこのスライドに示します。このBlock3では二つの高頻度Haplotypeが認められました。major Haplotypeは、AITD（自己免疫性甲状腺疾患）、バセドウ病で有意に増加（P値は0.0058、0.0029）、minor Haplotypeは有意に減少（P値は0.0020、0.00026）していました。よってこのBlock内あるいは周囲にAITD、特にバセドウ病の疾患感受性領域があると考えられました。

（尚、HTは橋本病の略です）

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）
分担研究報告書

甲状腺ホルモン不応症の発症およびその病態に関する研究

分担研究者 中村浩淑 浜松医科大学 第二内科 教授

A. 研究目的

甲状腺ホルモン不応症は一般に甲状腺ホルモン受容体（TR）異常のため生じる疾患と考えられているが、発症機序や病態については未だ不明な点が多い。とくに最も中心的な病態である不適切TSH分泌状態（SITSH）の機序はまったく未解決である。これを明らかにするため、まずTRがT3依存性にTSH β 遺伝子の転写を抑制する機序につき研究を行った。またTRが甲状腺自体にも発現していることから、異常TRが甲状腺機能におよぼす可能性を、甲状腺特異的に異常TRを発現させたトランスジェニックマウスを作成して調べた。

B. 研究方法

1) T3/TRによるTSH β 遺伝子の転写抑制機構：

Pit1、GATA2を発現させたCV1細胞で、高感度にTSH β 遺伝子プロモーター活性を調べる系を確立した。ルシフェラーゼ遺伝子にはT3/TRにより転写抑制をうける領域が存在するため、レポーター遺伝子としてはヒトTSH β 遺伝子プロモーター（-128/+37）にCAT遺伝子を結合させたものを作成した。種々の変異TR、各種コファクター、変異ないし欠失TSH β 遺伝子プロモーターを使用し、ゲルシフト、GSTプルダウン、ChIPアッセイ等の手段を用いた。

2) 甲状腺特異的異常TR発現マウスの解析：

非常に強いドミナントネガティブ作用をもつ変異TR β F451Xと、相同変異TR α F397Xをそれぞれサイログロブリンプロモーターに組み込み、トランスジェニックマウスを作成した。得られたマウスの血中T3、T4、TSHを測定、甲状腺組織を病理組織学的に検討した。（倫理面への配慮）

研究課題2は浜松医科大学動物実験委員会の審査を経て実施された。

C. 研究結果及び考察

1) T3/TRによるTSH β 遺伝子の転写抑制機構：

①TRアイソフォームの中でTR β 2の転写抑制がもっとも強く、TSH産生下垂体細胞株T α T1ではTR β 2のみが検出されたことから、TR β 2がTSH制御における主体な受容体と考えられた。②TSH β 遺伝子のプロモーター領域を詳細に検討した結果、従来T3/TRによる負調節に重要とされていた領域は必要ではなく、pit 1、GATA2結合領域のみとしたコンストラクトで十分であること、GATA2結合領域に隣接する約30塩基配列になんらかの抑制機能が存在すること、この領域を除去したレポーター遺伝子ではGATA2のみで活性化されること等を明らかにした。③TRはそのDNA結合領域でGATA2のZnフィンガーと結合するが、両者の相互作用はT3に依存しないことが分かった。

④ChIPアッセイで、T3依存性にヒストンH3の脱アセチル化が起こることが示された。また阻害型TRAP220によりT3/TRの抑制能が失われた。以上の結果から、現在次のようなモデルを考えている。TSH β 遺伝子の活性化因子はGATA2であり、TR β 2はGATA2と相互作用し、なんらかの機序でGATA2の活性化機能を阻害する。T3が存在するとヒストンの脱アセチル化が起こり、クロマチン構造がコンパクトに織り込まれ、転写が抑制される。またTRAP220が転写抑制に重要な役割を担っていると推測される。TRAP220の役割、脱アセチル化に関する因子について検討を進めている。

2) 甲状腺特異的異常TR発現マウスの解析：

同一の異常を持つ変異TRを甲状腺に特異的に発現させたTR α F397X-、 β F451X-トランスジェニック (Tg) マウスを作成した。それぞれ1系統のF0からヘテロ接合体F1-Tgマウスを得ることが出来た。異常TR蛋白の発現は、導入遺伝子に組み込んだFLAG配列に対する抗体を用い、免疫組織染色とWestern blot解析で確認した。その後の検討結果で、両系統のマウスに本質的差異はなく、共通の所見として以下の結果を得た。①胎生期の発育障害、奇形はなく、致死的でもなかったが、授乳期から徐々に発育不良となり、体重測定可能な離乳期以降は明らかに低体重を示した。成育Tgマウスの血中T4、T3はともに同月齢のNon-Tgマウスより有意に低下、TSHは高値で、原発性甲状腺機能低下症を示した。②成熟Tgマウスの甲状腺はびまん性に軽度腫大し、組織所見は扁平化した濾胞上皮細胞で囲まれコロイドを充満した巨大濾胞が散在、一部の濾胞腔では乳頭状細胞増殖を示した。出生直後のF1-Tgマウスでは、濾胞形成の不十分な未熟な濾胞上皮細胞の集塊像を呈し

た。③免疫組織染色、Western blotで解析したサイログロブリン蛋白、TTF-1、Pax-8、TSH受容体などの発現量は いずれもNon-Tg同腹仔甲状腺と同等であった。④F1-Tgメスマウスの妊孕能は非常に低く、ホモ接合体F2-Tgマウスの作成は不可能であった。

以上より胎生14.5日から異常TRを甲状腺に強制発現させると、甲状腺形成が障害されることが明らかになった。病理所見から、異常TRは甲状腺内ホルモン合成過程を阻害するのではなく、甲状腺濾胞形成そのものを障害すると推測された。異常TRが発揮するサイレンシング作用が、甲状腺に重篤な障害をもたらすのであろう。甲状腺ホルモン不応症でも、異常TRが甲状腺機能に抑制的な影響を及ぼしている可能性がある。

D. 評 価

1) 達成度について

課題1については、活性化因子がGATA2で、TRはGATA2に干渉して転写抑制に働くこと、ここにTRAP220が関与することを明らかに出来、かなり満足のいく達成度である。課題2については、甲状腺におけるTRの機能について新たな知見を得ることが出来、これも達成度はかなり満足できる。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

学術的には2つの成果はともにこれまで未知の分野におけるあらたな知見であり、意義深い。国際的評価では、ヨーロッパ甲状腺学会でこれら成果は連続してTOPIC HIGHLIGHTSに選定され、学会Webでも紹介された。

3) 今後の展望について

課題1については、TRAP220の役割、T3依

存性のヒストン脱アセチル化機構の解明、そして異常TRがいかにSITSHを引き起こすかの検討が今後の研究課題である。課題2では、異常TRが甲状腺形成を障害する直接の機序の解明である。

4) 研究内容の効率性について

ともにここ数年、もっとも力を注いできた研究である。ようやく成果が出てきた段階である。

E. 結 論

1) TSH β 遺伝子を活性化させる因子は GATA2であり、TR $\beta 2$ はT3存在時GATA2の機能を阻害することで転写抑制に働く。ここにTRAP220が関与し、T3/TRはヒストンを脱アセチルする。

2) ドミナントネガティブ型異常TRの甲状腺における過剰発現は、甲状腺濾胞形成、甲状腺ホルモン合成に阻害的に働き、甲状腺機能低下症をきたす。甲状腺ホルモン不応症においても異常TR β が甲状腺機能に影響している可能性がある。

F. 研究発表

1) 国内

口頭発表	24件
原著論文による発表	0件
それ以外（レビュー）の発表	13件

そのうち主なもの

論文発表

中村浩淑：甲状腺ホルモン不応症の診断と治療。ホルモンと臨床 50(7):77-81, 2002

中村浩淑：甲状腺ホルモン不応症の診断と治療。よくわかる甲状腺疾患のすべて。永井書店、

2003、p256-260.

中村浩淑：甲状腺ホルモン不応症の動物モデル。最新医学 58(7):1671-1678, 2003

西山孝三、中村浩淑：甲状腺ホルモンによる情報伝達機構。内分泌・糖尿病科 18(2): 130-137, 2004

学会発表

Nishiyama K, Nakamura H et al.: Functional analysis of transgenic mice expressing a dominant negative mutant human thyroid hormone receptor $\alpha 1$, α F397X, in mouse thyroid. 第10回国際分子甲状腺学シンポジウム 2003年4月 (松本)

中村浩淑：甲状腺ホルモン不応症の診断と治療 日本医学会総会シンポジウム。2003年4月 (福岡)

佐々木茂和、中村浩淑：甲状腺ホルモンによるTSH α 、 β 鎖遺伝子への負の転写調節。第77回日本内分泌学会総会シンポジウム 2004年6月 (京都)

中村浩淑：甲状腺ホルモン受容体と甲状腺ホルモン不応症。第47回日本甲状腺学会 三宅賞受賞講演 2004年11月 (前橋)

2) 海外

口頭発表	7件
原著論文による発表	5件
それ以外（レビュー）の発表	0件

そのうち主なもの

論文発表

Nakano K, Matsushita A, Sasaki S, Misawa H, Nishiyama K, Kashiwabara Y, Nakamura H: Thyroid hormone-dependent negative regulation of thyrotropin beta gene by thyroid hormone receptors: STUDY WITH A NEW EXPERIMENTAL SYSTEM USING CV1 CELLS. *Biochem J.* 378: 549-557, 2004

Kawai K, Sasaki S, Morita H, Ito T, Suzuki S, Misawa H, Nakamura H: Unliganded thyroid hormone receptor b1 represses liver X receptor a / oxysterol-dependent transactivation. *Endocrinology* 145: 5515-5524, 2004

Nishiyama K, Baba S, Yamada T, Matsushita A, Natsume H, Nakano K, Sasaki S, Nakamura H: Embryonic lethal effect of expressing a dominant negative mutant human thyroid hormone receptor a1 in mice. *Endocrine J.* 50: 561-570, 2003.

Natsume H, Sasaki S, Kitagawa M, Kashiwabara Y, Matsushita A, Nakano K, Nishiyama K, Nagayama K, Misawa H, Nakamura H: Beta-catenin/Tcfl-mediated transactivation of cyclin D1 promoter is negatively regulated by thyroid hormone. *Biochem Biophys Res Commun* 309: 408-413, 2003

Yokomura K, Suda Y, Sasaki S, Inui N, Chida K, Nakamura H: Increased expression of the 25-hydroxyvitamin D3-1alpha-hydroxylase gene in alveolar macrophages of patients with lung cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 5704-5709, 2003

学会発表

Sasaki S, Nakamura H et al.: The negative regulation of thyroid stimulating hormone (TSH) beta gene is mediated through the interaction between DNA binding domain of thyroid hormone receptor and the zinc finger region of transcription factor, GATA2. 第76回米国甲状腺学会 (Vancouver, Canada) 2003年9月

Nishiyama K, Nakamura H et al.: Hypothyroidism of transgenic mice expressing a dominant negative mutant thyroid hormone receptor in thyroid. 第76回米国甲状腺学会 (Vancouver, Canada) 2003年9月

Nakamura H et al. : Analysis of transgenic mice expressing a dominant negative mutant thyroid hormone receptor in thyroid. 第26回欧州甲状腺学会 (Edinburgh, UK) Topic highlights 2003年10月

Sasaki S, Nakamura H et al.: GATA2 is Essential to mediate the negative regulation of TSH alpha subunit gene by T3 and T3 receptor. 第75回米国甲状腺学会 (Palm Beach, FL, USA) 2003年9月

Nakamura H et al.: Thyroid hormone dependent negative regulation of thyrotropin gene promoters by thyroid hormone receptor in CV1 cells. 第25回欧州甲状腺学会 (Gothenburg, Sweden) Topic highlights 2002年9月

Sasaki S, Nakamura H et al.: The negative regulation of the thyrotropin promoters by