

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：12301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2017

課題番号：16K15493

研究課題名(和文)新規疾患概念「潜在性中枢性甲状腺機能低下症」の病態解明と診断法開発

研究課題名(英文)New concept "subclinical central hypothyroidism"

研究代表者

山田 正信 (Yamada, Masanobu)

群馬大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：90261833

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：潜在性甲状腺機能低下症は、高 LDL コレステロール血症や心脳血管障害の発症危険因子として注目されている。私たちは 300 例以上の下垂体腫瘍の検討から新たな疾患「潜在性中枢性甲状腺機能低下症」を発見した。さらに、顕性中枢性甲状腺機能低下症でも血清 TSH 値は基準値内を示し診断や治療指標にできない。本研究では、症例の検体ならびに TRH ノックアウトマウスをモデル動物として血清の異常 TSH を検出する診断法を確立し、最終的に潜在性中枢性甲状腺機能低下症の生活習慣病への関与を検討する。

研究成果の概要(英文)：Subclinical hypothyroidism is drawing attention as a risk factor for the development of high LDL cholesterolaemia and cardiovascular disorders. We have discovered a new disease "subclinical central hypothyroidism" from the study of more than 300 pituitary tumors. Even in overt central hypothyroidism, the serum TSH level was within the reference range and can not be a diagnostic or therapeutic index. In this study, we have attempted to establish a diagnostic method to detect serum abnormal TSH using sample specimens and TRH knockout mice as model animals and finally investigate involvement of subclinical central hypothyroidism in lifestyle-related diseases

研究分野：内分泌代謝学

キーワード：中枢性甲状腺機能低下症 潜在性 TRHノックアウトマウス

1. 研究開始当初の背景

潜在性甲状腺機能低下症は、高 LDL コレステロール血症や心脳血管障害の発症危険因子として注目されている。私たちは 300 例以上の下垂体腫瘍の検討から新たな疾患「潜在性中枢性甲状腺機能低下症」を発見した。さらに顕性甲状腺機能低下症も含め中枢性甲状腺機能低下症では下垂体からでなく正中隆起部からの TSH も分泌され、この TSH は TRH の制御を受けず糖鎖の伸展が変化し IgG やアルブミンと結合したマクロ TSH を形成しやすく生物学的活性が低下することを明らかとした。

さらに顕性中枢性甲状腺機能低下症でも血清 TSH 値は基準値内を示し診断や治療指標にできない。

2. 研究の目的

本研究では、症例の検体ならびに TRH ノックアウトマウスをモデル動物として血清の異常 TSH を検出する診断法を樹立することにより潜在性中枢性甲状腺機能低下症の診断法を確立することを目的とした。さらに最終的には潜在性中枢性甲状腺機能低下症の生活習慣病への関与を検討する。

3. 研究の方法

新たな疾患「潜在性中枢性甲状腺機能低下症」病態の解析と異常 TSH を検出する診断法を開発するため以下の実験計画を立案した。

1) モデル動物として私たちの樹立した TRH ノックアウトマウスを用い、下垂体の cDNA マイクロアレイ解析を行い変化している遺伝子群を同定する。

2) 下垂体腺腫症例と正常者の血清を用い、マクロ TSH の有無、TSH 糖鎖の変化を MALDI TOF-MS/MS にて解析し診

断法を確立する。そのためには大量のヒト TSH に対する抗体が必要で作成の必要がある。抗原は NHPP の Dr.Parlow から提供受け家兔に免疫することにより得る。

4. 研究成果

1) TRH ノックアウトマウスの詳細を解析すると、ヘテロ接合体においても軽度 T4 値が低下し、血清 TSH 値は基準値内にあり、潜在性中枢性甲状腺機能低下症のモデルマウスになり得ることが明らかとなった。

また、cDNA マイクロアレイ解析によりマウス下垂体では約 25000mRNA が発現しており、TRH ノックアウトマウスでは TSH が特異的に低下し、TRH の作用の特異性が明らかとなった。

2) Dr. Parlow よりご提供いただいた純化されたヒト TSH を抗原に家兔 3 匹に、皮下注射を行い、約 3 ヶ月で高力価の抗体を得たことを ELISA 法にて確認した。得られた血清から IgG 分画をカラムにて精製した。

3) 得られた抗ヒト TSH 抗体が実際に血清 TSH を認識するか、Western 解析にて血清を検体に解析した。Western 解析では TSH α 鎖と β 鎖が分離するようだが検出はされていた。

4) 上記の抗ヒト TSH 抗体を用いて血清 TSH が免疫沈降でき、濃縮できるか現在検討中である。コントロールとして Dr.Parlow らが作成した抗ヒト TSH 抗体も用いている。

免疫沈降された後に、原発性甲状腺機能低下症や中枢性甲状腺機能低下症の症例の血清を用いて、糖鎖のパネルや

MS/MS を用いて、糖鎖の変化を検討する予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

1. Lacroix A, Gu F, Gallardo W, Pivonello R, Yu Y, Witek P, Boscaro M, Salvatori R, Yamada M, Tauchmanova L, Roughton M, Ravichandran S, Petersenn S, Biller BMK, Newell-Price J; Pasireotide G2304 Study Group. Efficacy and safety of once-monthly pasireotide in Cushing's disease: a 12 month clinical trial. 査読有、Lancet Diabetes Endocrinol. 2018 Jan;6(1):17-26. doi: 10.1016/S2213-8587(17)30326-1.
2. Hashimoto K, Nishihara E, Matsumoto M, Matsumoto S, Nakajima Y, Tsujimoto K, Yamakage H, Asahara-Satoh N, Noh JY, Ito K, Miyauchi A, Mori M, Yamada M, Ogawa Y. Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin I as a Novel Predictive Biomarker for Relapse in Graves' Disease-A multicenter study. 査読有、Thyroid. 2018 Jan;28(1):50-59. doi: 10.1089/thy.2017.0244.
3. Okamura T, Nakajima Y, Shibusawa N, Horiguchi K, Matsumoto S, Yamada E, Tomaru T, Ishii S, Ozawa A, Ishizuka T, Hashimoto K, Okada S, Satoh T, Yamada M. Pituitary NR4A1 is negatively regulated by thyroid hormone without direct binding of thyroid hormone receptors on the gene. 査読有、Mol Cell Endocrinol. 2018 Feb 5;461:32-42. doi: 10.1016/j.mce.2017.08.007.
4. Sapkota S, Horiguchi K, Tosaka M, Yamada S, Yamada M. Whole-Exome Sequencing Study of Thyrotropin-Secreting Pituitary Adenomas. 査読有、J Clin Endocrinol Metab. 2017 Feb 1;102(2):566-575. doi: 10.1210/jc.2016-2261.
5. Okano Y, Satoh T, Horiguchi K, Toyoda M, Osaki A, Matsumoto S, Tomaru T, Nakajima Y, Ishii S, Ozawa A, Shibusawa N, Shimada T, Higuchi T, Chikamatsu K, Yamada M. Nivolumab-induced hypophysitis in a patient with advanced malignant

melanoma. 査読有、Endocr J. 2016 63:905-912.

6. Nikitski A, Saenko V, Shimamura M, Nakashima M, Matsuse M, Suzuki K, Rogounovitch T, Bogdanova T, Shibusawa N, Yamada M, Nagayama Y, Yamashita S, Mitsutake N. Targeted Foxe1 Overexpression in Mouse Thyroid Causes the Development of Multinodular Goiter But Does Not Promote Carcinogenesis. 査読有、Endocrinology. 2016 May;157(5):2182-95. doi: 10.1210/en.2015-2066.

1.

[学会発表] (計 7 件)

1. Yasuyo Nakajima, Masako Akuzawa, Akiko Katano-Toki, Koji Sakamaki, Yasuhiro Masamura, Tetsuro Sato, Yohnosuke Shimomura, Isao Kobayashi, Kimiko Andou, Masanobu Yamada. Subclinical Hypothyroidism and Indices for Metabolic Syndrome in Japanese Women. The 12th Asia and Oceania Thyroid Association Congress. 2017 (国際学会)
2. Atsushi Ozawa, Takuya Watanabe, Takuya Tomaru, Sumiyasu Ishii, Shunichi Matsumoto, Yasuyo Nakajima, Kazuhiko Horiguchi, Satoshi Yoshino, Nobuyuki Shibusawa, Tetsuro Satoh, Masanobu Yamada. Roles of thyrotropin-releasing hormone (TRH) during cold exposure and fasting. The 12th Asia and Oceania Thyroid Association Congress. 2017 (国際学会)
3. Kazuhiko Horiguchi, Takashi Okamura, Shunichi Matsumoto, Yasuyo Nakajima, Sumiyasu Ishii, Atsushi Ozawa, Nobuyuki Shibusawa, Tetsuro Satoh, Syozo Yamada, Masanobu Yamada. Central hypothyroidism related to pituitary adenomas: resistance to central hypothyroidism in patients with GH-secreting pituitary adenoma. The 12th Asia and Oceania Thyroid Association Congress. 2017 (国際学会)
4. Shunichi Matsumoto, Takashi Okamura, Kazuhiko Horiguchi, Yasuyo Nakajima, Sumiyasu Ishii, Atsushi Ozawa, Nobuyuki Shibusawa, Tetsuro Satoh, Masanobu Yamada. A case of Hashimoto's thyroiditis with fulminant type 1 diabetes and drug induced hypersensitivity syndrome. The 12th Asia and Oceania Thyroid Association Congress. 2017 (国際学会)
5. Sumiyasu Ishii, Kazuhiko Horiguchi, Shunichi Matsumoto, Yasuyo Nakajima,

Atsushi Ozawa, Nobuyuki Shibusawa, Tetsuro Satoh, Masanobu Yamada. A novel transcript identified in a patient with resistance to thyroid hormone. The 12th Asia and Oceania Thyroid Association Congress. 2017 (国際学会)

6, 中島 康代、佐藤哲郎、山田正信 潜在性甲状腺機能低下症とメタボリック症候群

第90回日本内分泌学会学術総会 クリニカルアワー 2017

7, 中島康代、岡本孝志、渋谷信行、小澤厚志、堀口和彦、橋本貢士、佐藤哲郎、佐々木努、北村忠弘、山田正信 下垂体の機能調節に関わる新規分子の解明 TRH ノックアウトマウスを用いた新たな生理活性経路の探索第87回日本内分泌学会学術総会 東京 2014 (シンポジウム)

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

なし

○取得状況 (計0件)

なし

〔その他〕

<http://naibunpi.showa.gunma-u.ac.jp>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山田 正信 (YAMADA Masanobu)

群馬大学大学院医学系研究科・教授

研究者番号：90261833

(2) 研究分担者

佐藤 哲郎 (SATO Tetsuro)

群馬大学医学部附属病院・講師

研究者番号：40302484

(3) 研究分担者

小澤 厚志 (OZAWA Atsushi)

群馬大学医学部附属病院・助教

研究者番号：10573496

(4) 研究分担者

中島 康代 (NAKAJIMA Yasuyo)

群馬大学医学部附属病院・助教

研究者番号：70707017