

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 18 日現在

機関番号：12301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591345

研究課題名(和文) 新たな疾患概念「潜在性中枢性甲状腺機能低下症」の確立と病態の解析

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

研究代表者

山田 正信 (Yamada, Masasnobu)

群馬大学・医学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：90261833

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：潜在性甲状腺機能低下症は、血清遊離T4値が基準値内であるが、軽度血清TSH値が上昇した病態で心脳血管障害の発症危険因子として注目されている。これまで潜在性甲状腺機能低下症は、甲状腺自体の障害によるものばかりであったが、私たちは「潜在性中枢性甲状腺機能低下症」という新たな病態が存在する可能性を発見し、動物モデルのTRHノックアウトマウスを用いてその病態を解析した。

研究成果の概要(英文)：Subclinical hypothyroidism (SCH) is defined as elevated serum thyrotropin (TSH) in the presence of a normal thyroid hormone concentration. Central hypothyroidism (CH) is defined as hypothyroidism due to insufficient stimulation of the thyroid gland by TSH, for which secretion and activity can be impaired at either the hypothalamic or pituitary level. In the present study, we found a new clinical concept "subclinical central hypothyroidism" and investigated its pathophysiology using TRH knockout mice.

研究分野：医師薬学

科研費の分科・細目：内分泌学

キーワード：中枢性甲状腺機能低下症 TRH TSH NR4A1 レプチン

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。この病態は、主に橋本病などによる甲状腺自体の障害に基づいている。一方、甲状腺機能低下症の原因として、視床下部や下垂体レベルでの障害による中枢性甲状腺機能低下症もある。私達は、「潜在性中枢性甲状腺機能低下症」という新たな病態が存在する可能性を発見した。

2. 研究の目的

本研究では、新たな疾患概念「潜在性中枢性甲状腺機能低下症」を症例の解析により確立し、さらにその病態を TRH ノックアウトマウス (TRHKO) をモデル動物としてその病態の解明することを目的とした。

3. 研究の方法

1) 中枢性甲状腺機能低下症の最も多い原因である下垂体腺腫症例の臨床データを蓄積し、さらに術前術後の検査値の変化などを検討する。

2) TRHKO のホモ接合体は、甲状腺ホルモンが約 60% の軽度の甲状腺機能低下症になるが、血清 TSH 値は生物学的活性が低下しむしろ軽度増加することが判明している。野性型、TRHKO 並びに TRHKO に甲状腺ホルモンを補充した下垂体より mRNA を抽出し、TSH 鎖や鎖などを Real-time PCR 法にて解析すると同時に、マイクロアレイ法と K-means 法解析により網羅的に TRH 欠損状態の程度により変化する遺伝子群について検討する。

3) 脂肪細胞より分泌されるレプチンが視床下部弓状核と室傍核におけるレプチン受容体を介して室傍核 TRH を制御し、絶食など生理的にレプチンが低下する状態で血中 T4 値が低下することが明らかとなりつつある。このレプチン-甲状腺系における TRH の重要性を検証するため、野性型と TRHKO における絶食とレプチン投与による甲状腺ホルモン、血清 TSH、下垂体 TSH mRNA レベルなどの変化について検討する。

4. 研究成果

1) 非機能性下垂体腺腫においては、約 75% に中枢性甲状腺機能低下症を認めた。この際血清 TSH 値はほとんどの症例で基準値内にあった。血清 TSH と FT4 値が基準値内にある症例でも術後に FT4 値が軽度増加し、「潜在性中枢性甲状腺機能低下症」という病態があることが示唆された。

2) 野生型マウスと TRHKO で血清 FT4 値と下垂体 TSH mRNA 量は負の相関を認めたが、

TRHKO ではその応答性が低下していた。

3) 解析した 45,101 クローンの内、甲状腺ホルモンにより抑制的かつ TRH 依存性に最も大きく変化する遺伝子は、TSH 遺伝子で、(TRHKO で野生型の 63%、甲状腺ホルモン補充群でさらに 9% に mRNA 発現が減少) TRH が下垂体に発現している遺伝子の中で、TSH 遺伝子に極めて強い特異性があることが判明した。そして、同一のクラスターに所属し TRH 依存性の遺伝子にオーファン核内受容体である NR4A1 遺伝子を発見した。

4) NR4A1 は下垂体前葉に細胞核に発現を認めたと、野生型と比較し TRHKO では TSH 陽性細胞数が減少するが、TSH 陽性細胞において NR4A1 の発現が特異的に減少していた。

5) 下垂体細胞株 GH4C1 細胞において 1 nM TRH は NR4A1 mRNA を 1 時間で約 50 倍にも増加させ、この変化は時間依存性かつ容量依存性であった。また、この増加は PKA や Ca チャネル阻害剤では阻害されず、PKC と MAPK 阻害剤で有意に阻害された。

6) TSH 遺伝子プロモーター発現には、Pit1 並びに GATA2 の発現が必要だが、NR4A1 を発現させることによりその活性は容量依存性に増加した。

7) NR4A1 遺伝子プロモーターをクローニングし GH4C1 細胞でその活性を検討すると、TRH の添加によりその活性は有意に増加した。また、TRH 受容体のない CV-1 細胞でその活性化は認められず、TRH 受容体を強制発現することにより TRH に対する反応を認めた。

8) 絶食により遊離 T4、T3 は 50 時間まで経時的に低下した。絶食 16 時間で TSH 値は約 10%、TSH mRNA は約 70% 著減した。レプチン投与により、絶食により低下した T4 値は正常へ回復したが、TSH 並びに TSH mRNA は不変であった。TRHKO でも絶食により甲状腺ホルモン並びに TSH は低下したが、レプチン投与による甲状腺ホルモンへの影響は消失し、レプチンの HPT 系への作用には TRH が必須であり TSH の生物学的活性を制御していることが明らかとなった。

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 33 件)

1. Sasaki T, Kikuchi O, Shimpuku M, Susanti VY, Yokota-Hashimoto H, Taguchi R, Shibusawa N, Sato T, Tang L, Amano K, Kitazumi T,

- Kuroko M, Fujita Y, Maruyama J, Lee YS, Kobayashi M, Nakagawa T, Minokoshi Y, Harada A, Yamada M, Kitamura T. Hypothalamic SIRT1 prevents age-associated weight gain by improving leptin sensitivity in mice. *Diabetologia*. 査読有り、2014 Apr;57(4):819-831. doi: 10.1007/s00125-013-3140-5.
2. Nakajima Y, Yamada M, Akuzawa M, Ishii S, Masamura Y, Satoh T, Hashimoto K, Negishi M, Shimomura Y, Kobayashi I, Andou Y, Mori M. Subclinical hypothyroidism and indices for metabolic syndrome in Japanese women: one-year follow-up study. *J Clin Endocrinol Metab*. 査読有り、2013 98:3280-3287. doi: 10.1210/jc.2013-1353.
 3. Katano-Toki A, Satoh T, Tomaru T, Yoshino S, Ishizuka T, Ishii S, Ozawa A, Shibusawa N, Tsuchiya T, Saito T, Shimizu H, Hashimoto K, Okada S, Yamada M, Mori M. THRAP3 interacts with HELZ2 and plays a novel role in adipocyte differentiation. *Mol Endocrinol*. 査読有り、2013 27:769-780. doi: 10.1210/me.2012-1332.
 4. Yamada M, Nakajima Y, Taguchi R, Okamura T, Ishii S, Tomaru T, Ozawa A, Shibusawa N, Yoshino S, Toki A, Ishida E, Hashimoto K, Satoh T, Mori M. KCNJ5 mutations in aldosterone- and cortisol-co-secreting adrenal adenomas. *Endocr J*. 査読有り、59:735-741, 2012. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22863749>
 5. Nakajima Y, Yamada M, Taguchi R, Shibusawa N, Ozawa A, Tomaru T, Hashimoto K, Saito T, Tsuchiya T, Okada S, Satoh T, and Mori M. NR4A1 (Nur77) Mediates Thyrotropin-Releasing Hormone-Induced Stimulation of Transcription of the Thyrotropin β Gene: Analysis of TRH Knockout Mice. *PLoS One*. 査読有り、2012;7(7):e40437. doi: 10.1371/journal.pone.0040437.
 6. Taguchi R, Yamada M, Nakajima Y, Satoh T, Hashimoto K, Ozawa A, Shibusawa N, Okada S, Rokutanda N, Takata D, Koibuchi Y, Horiguchi J, Oyama T, Takeyoshi I, Mori M. Expression and mutations of KCNJ5 mRNA in Japanese patients with aldosterone-producing adenomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 査読有り、97:1311-1319. 2012 doi: 10.1210/jc.2011-2885
 7. Taguchi R, Yamada M, Horiguchi K, Ozawa A, Shibusawa N, Hashimoto K, Satoh T, Mori M. Haploinsufficient and Predominant Expression of Multiple Endocrine Neoplasia Type 1 (MEN1)-Related Genes, *MLL*, *p27^{Kip1}* and *p18^{Ink4C}* in Endocrine Organs. *Biochem Biophys Res Commun*. 査読有り、2011:415:378-383. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.10.077.
 8. Nakajima Y, Yamada M, Taguchi R, Satoh T, Hashimoto K, Ozawa A, Shibusawa N, Okada S, Monden T, Mori M. Cardiovascular complications of patients with aldosteronism associated with autonomous cortisol secretion. *J Clin Endocrinol Metab*. 査読有り、2011 :96:2512-2518. doi: 10.1210/jc.2010-2743
 9. Ishida E, Yamada M, Horiguchi K, Taguchi R, Ozawa A, Shibusawa N, Hashimoto K, Satoh T, Yoshida S, Tanaka Y, Yokota M, Tosaka M, Hirato J, Yamada S, Yoshimoto Y, Mori M. Attenuated expression of *menin* and *p27 (Kip1)* in an aggressive case of multiple endocrine neoplasia type 1 (MEN1) associated with an atypical prolactinoma and a malignant pancreatic endocrine tumor. *Endocr J*. 査読有り、2011: 58:287-296. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21441703>
 10. Hashimoto K, Matsumoto S, Ishida E, Miura A, Horiguchi K, Ozawa A, Shibusawa N, Satoh T, Yamada M, Yamada S, Mori M. Liver X receptor- α/β expression ratio is increased in ACTH-secreting pituitary adenomas. *Neurosci Lett*. 査読有り、2011:494:34-37. doi: 10.1016/j.neulet.2011.02
- 〔学会発表〕(計 26 件)
1. 橋本 貢士, 石田 恵美, 武田 茂樹, 登丸 琢也, 石井 角保, 小澤 厚志, 渋谷 信行, 佐藤 哲郎, 岡田 秀一, 清水 弘行, 山田 正信, 森 昌朋, 摂食抑制ペプチド Nesfatin-1 の細胞内シグナル伝達機構の解析とその特異的受容体の探索、第 86 回日本内分泌学会、2013 年 4 月 25 日、仙台
 2. 山田 正信, 中島 康代, 田口 亮, 森 昌朋. 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 8

- 9 回日本生理学会大会, 2012年3月 30 日、松本, 2012(シンポジウム)
3. 渋沢 信行, 田口 亮, 登丸 琢也, 石井 角保, 小澤 厚志, 橋本 貢士, 佐藤 哲郎, 山田 正信, 森 昌朋 甲状腺刺激ホルモン放出ホルモンによる膵島 FGF21 遺伝子発現調節機構 第 55 回日本甲状腺学会 2012 年 11 月 29 日、福岡
 4. 山田 正信, 渋沢 信行, 田口 亮, 中島 康代, 橋本 貢士, 佐藤 哲郎, 森 昌朋 下垂体 NR4A1(Nur77)を介する視床下部-下垂体-甲状腺系のエネルギー代謝調節機構 第 33 回日本肥満学会 2012 年 10 月 11 日、京都
 5. 山田 正信, 田口 亮, 堀口 和彦, 中島 康代, 佐藤 哲郎, 橋本 貢士, 山崎 勇一, 柿崎 暁, 登坂 雅彦, 好本 裕平, 山田 正三, 森 昌朋 下垂体前葉疾患の研究の進歩 潜在性内分泌代謝病をリードする甲状腺機能異常の多様性 第 85 回日本内分泌学会学術総会 2012 年 4 月 21 日、名古屋
 6. 山田正信, 小澤厚志, 田口亮, 梶博史, 今井常夫, 櫻井晃洋, 本邦の多発性内分泌腺腫症 型における MEN 1 遺伝子変異陰性例の特徴 p27 並びに p18 遺伝子変異の検討, 第 84 回日本内分泌学会学術集会, 4 月 21 日、神戸, 2011
 7. 山田正信, 田口亮, Garay Guerrero J, 小澤厚志, 渋沢信行, 橋本貢士, 佐藤哲郎, 森昌朋, レプチンの TRH-TSH-甲状腺系制御機構, 第 54 回日本糖尿病学会学術集会, 5 月 19 日、札幌, 2011
 8. 山田正信, 小澤厚志, 田口亮, 石田恵美, 森昌朋, 梶博史, 今井常夫, 櫻井晃洋, MEN 1 遺伝子変異陰性例における p27 ならびに p18 遺伝子の意義: 悪性度の高い MEN 症例における特徴から, 第 17 回日本家族性腫瘍学会学術集会 6 月 17 日、京都, 2011
 9. 山田正信, 田口亮, 中島康代, 渋沢信行, Garay Guerrero J, 小澤厚志, 橋本貢士, 佐藤哲郎, 森昌朋, レプチンの視床下部 下垂体 甲状腺系制御機構: TRH ノックアウトマウス(TRHKO)の解析, 第 32 回日本肥満学会学術集会, 9 月 23 日、淡路, 2011
 10. 小澤厚志, 山田正信, 田口亮, 登丸琢也, 渋沢信行, 橋本貢士, 佐藤哲郎, 森昌朋, 変異 JunD による膵内分泌腫瘍発症機構: マウスモデルの解析, 第 38 回日本神経内分泌学会学術集会, 11 月 26 日、東京, 2011

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)
取得状況 (計 0 件)

〔その他〕
ホームページ等

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 なし

(3) 連携研究者 なし