

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591517

研究課題名(和文) DUOX2 遺伝子変異による先天性甲状腺機能低下症の有病率・臨床像・分子機序の解明

研究課題名(英文) Prevalence, clinical manifestation, and molecular mechanism of congenital hypothyroidism due to DUOX2 abnormality

研究代表者

長谷川 奉延 (HASEGAWA, TOMONOBU)

慶應義塾大学・医学部・教授

研究者番号：20189533

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000 円、(間接経費) 1,230,000 円

研究成果の概要(和文)：両アレル性DUOX2変異(DUOX2異常症)による永続性先天性甲状腺機能低下症(CH)は常染色体劣性遺伝病であり、その有病率は一般人口の1/44,000、CHの8/102(7.8%)である。DUOX2異常症による永続性CHの臨床症状は新生児期に重症でその後軽症化する。DUOX2異常症は一過性CH、遅発性CHを示すこともある。片アレル性DUOX2変異保有者は多因子遺伝病として1%未満にCHを発症するにすぎない。片アレル性DUOX2変異かつ片アレル性TSHR変異の二重保因者のCH発症リスクは3.7%である。  
変異DUOX2分子の発現実験系での機能解析方法を確立した。

研究成果の概要(英文)：The prevalence of congenital hypothyroidism (CH) due to biallelic DUOX2 mutations is 1/44,000 in Japan. In CH, the prevalence of biallelic DUOX2 mutations is 8/102 (7.8%). The inheritance mode of biallelic DUOX2 mutations is autosomal recessive. CH due to biallelic DUOX2 mutations has some characteristics as follows: It is permanent, transient, or late-onset. Clinical findings in neonatal period are severe, while they improve by the age of 2 years. Environmental factors such as maternal iodine exposure can affect clinical findings. Biochemical study does not always show defects of iodine organization. In contrast, monoallelic DUOX2 mutation rarely (<1%) develops CH. The inheritance mode of CH related to monoallelic DUOX2 mutation is multifactorial. 3.7% of subjects having both monoallelic DUOX2 mutation and monoallelic TSHR mutation develop CH.  
I have established in vitro assay to characterize function of wild or mutant DUOX2 molecule.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・小児科学

キーワード：先天性甲状腺機能低下症 DUOX2 有病率 機能解析 環境因子 TSHR 分子機能

## 1. 研究開始当初の背景

先天性甲状腺機能低下症 (congenital hypothyroidism, 以下 CH) は約 2,000-5,000 出生に 1 名の頻度で認められる最も高頻度の先天性内分泌疾患である。本研究開始当時、単一遺伝子異常による CH は CH 全体の 5-12.5% 程度と推定されていた。また、その異常が原発性 CH の発症に関与することが示されていた遺伝子は 12 種であり、それらは (1) 甲状腺器官形成に関与する分子群 (*PAX8*, *NKX2-1*, *FOXE1*) (2) 甲状腺ホルモン合成に関与する分子群 (*TG*, *TPO*, *SLC5A5*, *SLC26A4*, *DUOX2*, *DUOXA2*, *DEHAL1*) (3) TSH シグナルに関与する分子群 (*TSHR*, *GNAS1*) の 3 群に大別されていた。これらの遺伝子異常の一般人口における有病率は不明であったが、私は科学研究費補助金・基盤研究(C)「先天性甲状腺機能低下症の分子遺伝学的発症機序および病態生理の解明」平成 20 年度～22 年度 研究代表者長谷川奉延)を通じて、永続性 CH の病因の 2% が *PAX8* 変異であること ((1) の異常)、6% が *TSHR* 変異であること ((3) の異常) を世界に先駆けて明らかにした。本研究ではこの研究成果をさらに発展させ、(2) の異常のうち、当時研究の立ち遅れていた *DUOX2* 遺伝子変異に焦点をあてた。

*DUOX2* (Dual oxidase 2) は甲状腺細胞濾胞面に発現し、同部位における過酸化水素の合成を司る。この過酸化水素は、甲状腺ペルオキシダーゼにより触媒されるサイログロブリンのヨード化反応に必須である。*DUOX2* による過酸化水素供給は甲状腺ホルモン合成系全体の律速段階であり、特に甲状腺ホルモン需要量の高い新生児期には *DUOX2* 活性が低い個体では甲状腺ホルモン合成量を維持できず、甲状腺機能低下症を呈すると推測される。

本研究開始時点、*DUOX2* 異常症の報告はあるものの、その疾患概念は確立していなかった。2002 年、Moreno らは有機化障害(サイログロブリンのヨード化障害)を伴う CH 患者 45 名のうち 1 名において両アレル性 *DUOX2* 変異を、また一過性 CH 患者 8 名中 3 名において片アレル性 *DUOX2* 変異を同定した。以後両アレル性 *DUOX2* 変異は 11 家系で同定されているのみであり、その臨床像は永続性 CH のみならず、老年期に甲状腺腫と甲状腺機能低下が進行した症例、一過性 CH も含まれ、臨床像の全貌は不明であった。また、片アレル性 *DUOX2* 変異による一過性 CH は初報告以来報告がなく、*DUOX2* 異常症の遺伝形式も不明であった。さらにその時点までに、機能が検討されている変異 *DUOX2* 蛋白は 6 種類にすぎなかった。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、世界で初めて *DUOX2* 異常症の疾患概念を確立することである。すなわち、*DUOX2* の変異による先天性甲状腺機能低下症 (以下 CH) の有病率、臨床像、分子機序を

解明する。

## 3. 研究の方法

研究の具体的な方法は以下の 3 点である。(1) 地域集団に基づいた CH 患者集団に由来する標本(ゲノム DNA)を用いた変異解析により、両アレル性 *DUOX2* 変異による永続性 CH の一般人口および CH 患者集団における有病率を世界で初めて明確にする。(2) 変異陽性患者の臨床像の分析により、両アレル性 *DUOX2* 変異保有者および片アレル性 *DUOX2* 変異保有者の遺伝形式を含む臨床像を明確にする。(3) 変異 *DUOX2* 分子の発現実験系での機能解析方法を確立し、*DUOX2* 変異による分子機能喪失の機序を解明する。

## 4. 研究成果

### 研究の主な成果

(1) 地域集団に基づいた CH 患者集団に由来する標本(ゲノム DNA)を用いた変異解析  
地域集団に基づいた CH 患者 (N=102) を対象とし変異解析および変異 *DUOX2* 分子の機能解析 (下記(3)参照)を行った。その結果 8 名の両アレル性 *DUOX2* 変異を同定した。両アレル性 *DUOX2* 変異による永続性 CH 有病率は、我が国一般人口において 1/44,000、CH 患者集団において 8/102 (7.8%) である。

### (2) 変異陽性患者の臨床像の分析

*DUOX2* 異常症の遺伝形式は常染色体劣性遺伝であることを世界で初めて明らかにした。我が国の永続性 CH の遺伝的原因として両アレル性 *DUOX2* 変異は最多であり、27/230 (12%) を占める。甲状腺ホルモン合成障害による永続性 CH の 43% の原因は *DUOX2* 変異である。両アレル性 *DUOX2* 変異による永続性 CH の臨床症状は、新生児期にもっとも重症で、その後 2 歳までに軽症化する。すなわち、血中 TSH 値、血中サイログロブリン値、および甲状腺サイズは改善する。さらに 1 歳以降 TSH を正常化させるために必要な体重あたりの Levothyroxine 投与量 ( $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{日}$ ) は減少する。両アレル性 *DUOX2* 変異は一過性 CH を示すことがある。両アレル性 *DUOX2* 変異により新生児マス・スクリーニング陰性の遅発性 CH を示すことがある。両アレル性 *DUOX2* 変異の臨床症状に、母体ヨード過剰を含む環境因子が関与することがある。両アレル性 *DUOX2* 変異保有者は必ずしもヨード有機化障害を認めるとは限らない。

片アレル性 *DUOX2* 変異保有者のごく一部のみ (1%未満) が CH を発症し、片アレル性 *DUOX2* 変異保有者の CH 発症に関する遺伝形式はメンデル遺伝には従わない多因子遺伝である。片アレル性 *DUOX2* 変異かつ片アレル性 *TSHR* 変異の二重保因者 CH 発症リスクは 3.7% である。

(3) 変異 *DUOX2* 分子の発現実験系での機能解

## 析方法の確立

HEK293 細胞を用いた一過性強制発現により、野生型および変異型 DUOX2 の過酸化水素産生能を定量化することに成功した。その結果、あらたに同定した DUOX2 遺伝子のシーケンズバリエーション 20 種類について機能解析を行い、うち 12 個に過酸化水素産生能低下を証明した。特筆すべきことは、変異 DUOX2 分子のひとつである p.H678R の分子機能である。すなわち p.H678R は部分的過酸化水素産生能低下かつ部分的転写効率低下を示し、他の変異 DUOX2 分子機能とは異なる。

## 得られた成果の国内外の位置づけとインパクト

地域集団に基づいた CH 患者集団に由来する標本(ゲノム DNA)を用いた変異解析により DUOX2 異常症の有病率を明らかにしたこと、変異陽性患者の臨床像の分析により、DUOX2 変異による CH の遺伝形式は常染色体劣性遺伝であることを明らかにしたこと、片アレル性 DUOX2 変異保有者のごく一部のみが CH を発症し、片アレル性 DUOX2 変異保有者の CH 発症に関する遺伝形式はメンデル遺伝には従わない多因子遺伝であること明らかにしたこと、の 3 点はすべて世界初めての知見である。また DUOX2 分子の機能解析方法の確立はシカゴ大学について世界で二番目、我が国において初めてである。

## 今後の展望

本研究により、DUOX2 異常症の疾患概念(有病率、臨床像および分子機能喪失機序)を確立し、当初の目標を達成した。本研究による今後の展望は以下 2 点である。すなわち、DUOX2 遺伝子変異と他の遺伝的因子あるいは環境因子との相互作用、および DUOX2 異常症の長期予後(とくに甲状腺癌発症リスク増大の有無)の解明である。

## 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 3 件)

Yoshizawa-Ogasawara A, Ogikubo S, Satoh M, Narumi S, Hasegawa T. Congenital hypothyroidism caused by a novel mutation of the dual oxidase2 (DUOX2) gene. J Pediatr Endor Met 査読有 26:45-52,2013.

doi: 10.1515/jpem-2012-0082.

Kasahara T, Narumi S, Okasora K, Takaya R, Tamai H, Hasegawa T. Delayed onset congenital hypothyroidism in a patient with DUOX2 mutations and maternal iodine excess. Am J Med Genet A 査読有 161A:214-217, 2013

doi: 10.1002/ajmg.a.35693.

Narumi S, Muroya K, Asakura Y, Adachi M, Hasegawa T. Molecular Basis of Thyroid Dysmorphogenesis: Genetic Screening in Population-Based Japanese Patients. J Clin Endocrinol Metab 査読有 96:E1838-1842, 2011

doi: 10.1210/jc.2011-1573.

### 〔学会発表〕(計 17 件)

阿部清美、鳴海覚志、天野直子、石井智弘、室谷浩二、朝倉由美、安達昌功、長崎啓祐、阿部貴行、長谷川奉延。遺伝性甲状腺ホルモン合成障害を初診時に予測できる：ROC 解析によるカットオフ値の提唱 第 47 回日本小児内分泌学会学術集会 2013 年 10 月 10 日 - 12 日 東京

木戸佑二、室谷浩二、阿部清美、飯島弘之、花川純子、朝倉由美、鳴海覚志、長谷川奉延、安達昌功。Levothyroxine 内服量の経時的変化からみた DUOX2 遺伝子異常と TSHR 遺伝子異常との相違 第 47 回日本小児内分泌学会学術集会 2013 年 10 月 10 日 - 12 日 東京

鳴海覚志、阿部清美、室谷浩二、朝倉由美、安達昌功、長谷川奉延。

従来法 vs 次世代法：先天性甲状腺機能低下症における遺伝子診断アプローチの精度比較 第 47 回日本小児内分泌学会学術集会 2013 年 10 月 10 日 - 12 日 東京

上村美季、鳴海覚志、梅木郁美、箱田明子、菅野潤子、長谷川奉延、藤原幾磨。新生児マススクリーニングで発見されなかった先天性甲状腺機能低下症の 3 例 第 47 回日本小児内分泌学会学術集会 2013 年 10 月 10 日 - 12 日 東京

河口亜津彩、本庄紗帆、母坪智行、星野恵美子、黒岩由紀、布施茂登、森俊彦、横田美紀、阿部清美、鳴海覚志、長谷川奉延。橋本病母体より出生し、新生児マススクリーニングは正常判定であった DUOX2 異常症の 1 例 第 47 回日本小児内分泌学会学術集会 2013 年 10 月 10 日 - 12 日 東京

Abe K, Narumi S, Amano N, Ishii T, Muroya K, Asakura Y, Adachi M, Sasaki G, Nagasaki K, Abe T, Hasegawa T. Monoallelic mutations in TSHR and DUOX2

do not act as single Mendelian factors but as risk factors for congenital hypothyroidism: Pathway burden hypothesis 9<sup>th</sup> Joint Meeting of Paediatric Endocrinology ESPE - PES - APEG - APPEP - ASPAE - JSPE - SLEP 2013.9.19-9.22 Milan, Italy

Nagasaki K, Narumi S, Abe K, Asami T, Sato H, Ogawa Y, Kikuchi T, Hasegawa T, Saitoh A. A study of iodine organization in transient hypothyroidism with biallelic DUOX2 mutations: organization defect is not an invariable feature. 9<sup>th</sup> Joint Meeting of Paediatric

Endocrinology ESPE - PES - APEG - APPEP - ASPAE - JSPE - SLEP  
2013.9.19-9.22 Milan, Italy  
長谷川奉延。先天性甲状腺機能低下症 私たちは今どこにいるの？これからどこに行くの？ 第 27 回東北成長障害・成長因子研究会 2013 年 3 月 9 日 仙台  
阿部清美、鳴海覚志、天野直子、石井智弘、室谷浩二、朝倉由美、安達昌功、佐々木悟郎、長崎啓祐、阿部貴行、長谷川奉延。先天性甲状腺機能低下症発症における Pathway Burden 仮説の提唱 第 55 回日本甲状腺学会 2012 年 11 月 30 日 福岡  
鳴海覚志、阿部清美、天野直子、石井智弘、長谷川奉延。次世代シーケンシングによる先天性甲状腺機能低下症の包括的遺伝子解析 第 55 回日本甲状腺学会 2012 年 11 月 30 日 福岡  
長崎啓祐、鳴海覚志、阿部清美、佐藤英利、小川洋平、浅見直、長谷川奉延、菊池透。両アレル性 DUOX2 変異例におけるヨード有機化能の検討 第 55 回日本甲状腺学会 2012 年 11 月 30 日 福岡  
阿部清美、鳴海覚志、天野直子、石井智弘、室谷浩二、朝倉由美、安達昌功、佐々木悟郎、長崎啓祐、阿部貴行、長谷川奉延。先天性甲状腺機能低下症発症における Pathway Burden 仮説の提唱 第 46 回日本小児内分泌学会学術集会 2012 年 9 月 27 日 - 29 日 大阪  
阿部清美、濱島崇、鳴海覚志、長谷川奉延。DUOX2 変異による偽性優性遺伝を示した先天性甲状腺機能低下症の一家系 第 54 回日本甲状腺学会 2011 年 11 月 21 日-23 日 名古屋  
笠原俊彦、鳴海覚志、岡空圭輔、高谷竜三、長谷川奉延、玉井浩。新生児マス・スクリーニングでは発見されなかった複合ヘテロ接合性 DUOX2 変異の一女兒例 第 54 回日本甲状腺学会 2011 年 11 月 21 日-23 日 名古屋  
笠原俊彦、鳴海覚志、岡空圭輔、高谷竜三、長谷川奉延、玉井浩。新生児マス・スクリーニング陰性であった両アレル性 DUOX2 変異による一過性先天性甲状腺機能低下症の一例 第 45 回日本小児内分泌学会学術集会 2011 年 10 月 6 日 8 日 大宮 ポスター  
滝沢文彦、小野真、松原洋平、高澤啓、保坂篤人、鳴海覚志、阿部清美、長谷川奉延、鹿島田健一、水谷修紀。両アレル性 DUOX2 変異による一過性先天性甲状腺機能低下症の 1 家系 第 45 回日本小児内分泌学会学術集会 2011 年 10 月 6 日 8 日 大宮  
阿部清美、濱島崇、鳴海覚志、長谷川奉延。DUOX2 変異による偽性優性遺伝を示した先天性甲状腺機能低下症の一家系 第 45 回日本小児内分泌学会学術集会 2011 年 10 月 6 日 8 日 大宮

〔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〕  
なし

## 6. 研究組織

- (1) 研究代表者  
長谷川 奉延 (HASEGAWA, Tomonobu)  
慶應義塾大学・医学部・教授  
研究者番号：20189533
- (2) 研究分担者  
なし
- (3) 連携研究者  
鳴海 覚志 (NARUMI, Satoshi)  
慶應義塾大学・医学部・特任助教  
研究者番号：40365317