

令和 6 年 6 月 10 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2023

課題番号：20K16934

研究課題名（和文）甲状腺におけるヨード動態の解明とSLC26A7遺伝子異常の診療戦略の確立

研究課題名（英文）Elucidation of iodine dynamics in the thyroid gland and establishment of a strategy for treatment of SLC26A7 genetic abnormalities.

研究代表者

青山 幸平（Aoyama, Kohei）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・講師

研究者番号：40812095

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：新規ヨードトランスポーターであるSLC26A7と、他のヨードトランスポーターであるSLC26A4、SLC5A5について、各々の役割や相互の関係を調べることで、ヨード動態の解明と同時に、SLC26A7遺伝子異常による先天性甲状腺機能低下症の病態解明を試みた。Slc26a7ノックアウトマウスでは甲状腺腫は大きい、甲状腺機能低下の表現型は軽度であることが示された。そしてSlc5a5ノックアウトマウスでは既報通り高ヨード食による甲状腺機能低下所見や甲状腺腫の改善を認めたが、Slc26a7ノックアウトマウスでは体重や甲状腺腫に対する改善効果は限定的であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

先天性甲状腺機能低下症は様々な原因遺伝子の異常により発症する。その中で、新規ヨードトランスポーターであるSLC26A7と、他のヨードトランスポーターであるSLC26A4、SLC5A5について、各々の役割や相互の関係を評価した。ヨードは体内で甲状腺ホルモンの材料として使用される。本研究により、SLC26A7遺伝子異常による先天性甲状腺機能低下症の病態とヨードの体内における動態についての理解が進んだ。先天性甲状腺機能低下症においては甲状腺ホルモン内服治療が基本であるが、ヨード内服のようは他の治療選択の可能性について検討することができた。

研究成果の概要（英文）：By investigating the roles of the novel iodine transporter SLC26A7 and the other iodine transporters, SLC26A4 and SLC5A5, and their mutual relationships, we attempted to elucidate iodine dynamics as well as the pathogenesis of congenital hypothyroidism caused by SLC26A7 gene abnormalities. Slc26a7 knockout mice had a large goiter but a mild hypothyroid phenotype. Slc5a5 knockout mice showed improvement of hypothyroidism and goiter by high iodine diet as reported previously, while Slc26a7 knockout mice showed limited improvement of body weight and goiter by high iodine diet.

研究分野：小児内分泌

キーワード：SLC26A7 先天性甲状腺機能低下症

### 1. 研究開始当初の背景

原発性の先天性甲状腺機能低下症では 20 ~ 30% で原因遺伝子が同定される。原因遺伝子は病因ごとに複数知られているが、2018 年以降、Cangul らと私たちが、そこに SLC26A7 遺伝子を加えた。ヨードは生体内では甲状腺ホルモン合成のみに使用される微量元素で、ヨード輸送の異常により甲状腺ホルモン合成障害による先天性甲状腺機能低下症を呈す。私たちはヒト正常甲状腺組織を用いた免疫染色で SLC26A7 の甲状腺濾胞細胞の管腔側での発現を確認し、また、SLC26A7 遺伝子を強制発現した哺乳類細胞を用いたパッチクランプ法により SLC26A7 のヨード輸送能を立証した。さらに罹患者の SLC26A7 遺伝子変異導入により、ヨード感受性の YFP 変異体発現細胞で細胞内へのヨード輸送低下も確認した。以上の流れで私たちは SLC26A7 が新規ヨードトランスポーターであることを証明した。

ヨード輸送機構は、まず甲状腺濾胞細胞の血管側に存在するヨードトランスポーター SLC5A5 が甲状腺濾胞細胞内に能動的にヨードを輸送・濃縮する。濃縮されたヨードは甲状腺濾胞細胞の管腔側に存在するヨードトランスポーター SLC26A4 により甲状腺濾胞内へ輸送され、甲状腺ホルモンが合成される。新規ヨードトランスポーター SLC26A7 もこのいずれかの過程でヨード輸送に関わることが推測されている。

SLC26A4 遺伝子異常では甲状腺機能低下症の合併は半数未満に留まる。また SLC26A7 遺伝子異常の甲状腺機能低下症については、私たちは新生児マススクリーニングが正常で幼児期以降に甲状腺腫で気づかれた症例とマススクリーニング陽性で甲状腺ホルモンの服薬を開始したが、中止しても一時的に甲状腺機能が維持できた症例を経験している。このように SLC26A4、SLC26A7 の遺伝子異常において、甲状腺機能低下症が常時必発する訳ではない。私たちはこの現象は、ヨード環境の違いや、SLC26A4 や SLC26A7 といったヨードトランスポーターが互いにヨード輸送を補完し合うためと推測した。しかしながら、これらのヨードトランスポーターの甲状腺濾胞細胞内での相互作用および制御機構は未解明である。

### 2. 研究の目的

新規ヨードトランスポーターである SLC26A7 と、他のヨードトランスポーターである SLC26A4、SLC5A5 について、各々の役割や相互の関係を調べることで、ヨード動態の全容を解明する。またヨード取り込み障害による甲状腺機能低下症では、理論上、ヨード摂取がその治療や予防となる可能性があり、最終的に臨床的な応用へ繋がることを目指す。SLC26A7 遺伝子異常による先天性甲状腺機能低下症は報告も少なく、まだ臨床像がつかみきれていない。新規患者の探索と、遺伝学的・臨床的な検討の基、SLC26A7 遺伝子異常の臨床像を確立したい。

### 3. 研究の方法

ヨードトランスポーターの異常による先天性甲状腺機能低下症では、ヨード環境の違いにより甲状腺機能低下症の程度が修飾されると考えられる。Slc26a4 と Slc26a7 の各々のノックアウト (KO) マウスの甲状腺において他の甲状腺ホルモン産生に關与する遺伝子発現の変化も RT-qPCR あるいはトランスクリプトーム解析により評価する。また経時的な甲状腺機能の評価として、ELISA 法による血清 FT4、FT3、TSH、サイログロブリンの測定を行う。さらに、ヨードが実際に甲状腺にどの程度取り込まれるのか、各マウスの血清、尿、甲状腺組織におけるヨード濃度を可視吸光度法によって測定する。また、Slc26a4 と Slc26a7 のダブルノックアウト (DKO) マウスでも同様の実験を行う。

SLC26A7 変異をもつ新規患者の検索：過去に報告された変異はほぼ全てナンセンス変異などの機能喪失型変異である。SLC26A7 の甲状腺における重要性や臨床像を捕らえるには、遺伝学的によりインパクトの弱いミスセンス変異の探索が重要となる。非自己免疫性の甲状腺腫、サイログロブリン高値の症例について、甲状腺機能低下が無い症例でも SLC26A7 遺伝子解析対象とし新規患者検索を続ける。

遺伝子解析と変異体の機能評価：SLC26A7 遺伝子は次世代シーケンサーにより多数の患者解析も容易に検索可能である。次世代シーケンサーでコールされた変異をサンガー法で確認する。変異は Polyphen、SIFT、Mutation Taster、Human Splicing Finder 等の病原性予測モデルを使用するとともに、ヨード感受性蛍光蛋白である YFP 変異体を導入した HEK293T 細胞に、患者変異を持つ SLC26A7 遺伝子をトランスフェクションし、蛍光強度測定によりヨードトランスポーターの機能変化を評価する。

SLC26A7 変異患者の臨床像の評価：甲状腺ホルモンの合成過程において、SLC26A7 はヨードの有機化よりも前の段階で機能する。その場合、先天性甲状腺機能低下症の病型診断の有機化障害を評価するパークロレイト放出試験にて異常が検出される可能性が高い。これに加え甲状腺機能検査、超音波検査、TRH 負荷試験を行う。SLC26A7 変異による多様な甲状腺異常の臨床像を詳細に検討し、遺伝子変異・ヨード輸送能の機能解析の結果と比較し、遺伝子変異と臨床像の関係について検討する。

#### 4. 研究成果

SLC26A7 変異をもつ新規患者の検索については、自己免疫異常によらない甲状腺腫大・甲状腺機能低下症を対象として遺伝子解析を進めているが、希少疾患であると考えられ、まだ新たな患者の同定には至っていない。

KO マウスの実験系では、Slc26a7、Slc5a5 の KO マウスおよび両者の DKO マウスを作成し、日齢 45 から日齢 90 にかけて普通食 (ND 群)、高ヨード食 (HID 群) に分け、日齢 90 での表現型を野生型 (WT) も含めて解析した。

ND 群: 全ての KO マウスで血清学的に甲状腺機能低下を認めたが、KO マウス間で有意な差は認めなかった。KO マウスはいずれも WT より体重が軽く、甲状腺重量の増加を認めたが、体重は DKO、Slc5a5KO がより軽く、一方、甲状腺重量は Slc26a7KO が最も大きかった。

HID 群: 全ての KO マウスで高 TSH 血症は ND 群と比べて軽度に留まった。DKO と Slc5a5KO で体重はキャッチアップし Slc26a7KO と同等となった。甲状腺重量は DKO と Slc5a5KO は WT と比べて有意な増加を認めず、Slc26a7KO は ND 群程ではないが増加を認めた。

以上の結果より、Slc26a7KO では甲状腺腫は大きいですが、甲状腺機能低下の表現型は軽度であることが示された。また、Slc5a5KO では既報通り高ヨード食による甲状腺機能低下所見や甲状腺腫の改善を認めたが、Slc26a7KO では体重や甲状腺腫に対する改善効果は限定的であった。

私たちの研究により Slc26a7KO マウスの表現型について知見が深まり、ヨードの動態についての理解も進展した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Yamaguchi Naoya, Suzuki Atsushi, Yoshida Aya, Tanaka Tatsushi, Aoyama Kohei, Oishi Hisashi, Hara Yuichiro, Ogi Tomoo, Amano Izuki, Kameo Satomi, Koibuchi Noriyuki, Shibata Yasuhiro, Ugawa Shinya, Mizuno Haruo, Saitoh Shinji	4. 巻 12
2. 論文標題 The iodide transporter Slc26a7 impacts thyroid function more strongly than Slc26a4 in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-15151-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山口直哉
2. 発表標題 新規コードトランス-SLC26A7はSLC26A4よりも甲状腺機能に強く影響を与える
3. 学会等名 第65回日本甲状腺学会学術集会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 （ローマ字氏名） （研究者番号）	所属研究機関・部局・職 （機関番号）	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------