

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：32661

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26860713

研究課題名(和文) 抗甲状腺薬によるNIS発現誘導作用と甲状腺機能抑制以外の作用の全容の解明

研究課題名(英文) The different effects of anti-thyroid drugs on regulation of NIS and other gene expressions that play key role on thyroid function

研究代表者

須江 麻里子 (SUE, Mariko)

東邦大学・医学部・助教

研究者番号：50439965

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：バセドウ病の薬物療法に広く用いられる抗甲状腺薬 6-propyl-2-thiouracil (PTU) と 2-mercapto-1-methylimidazole (MMI) は共に TPO 活性阻害を介し甲状腺ホルモン合成を抑制するが、その他の作用は全く異なる。我々は TSH 非存在下における PTU の NIS 発現誘導作用を明らかにしてきた。本研究ではさらに TSH 存在下でも多くの甲状腺機能遺伝子が PTU と MMI による発現調節を受け、中でも甲状腺ホルモン合成過程に重要な役割を果たす脱ヨード酵素遺伝子 Dehal1 が PTU と MMI により抑制される事、また PTU によるそれは TSH 存在下のみで発現する事を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：6-propyl-2-thiouracil (PTU) and 2-mercapto-1-methylimidazole (MMI) are widely used curatives for Graves` disease. Instead of the similar anti-thyroid effects, their molecular structure and mechanism of actions are different. We have previously reported that PTU strongly increased NIS mRNA and protein expressions in the absence of TSH. In this research we revealed a few genes either induced or suppressed under PTU or MMI stimulation in the cells cultured with TSH, including Dehal1 and MCT8 that play key role in thyroid hormone synthesis through iodine-recycling. The inhibitory effect of PTU on Dehal1 gene and protein expressions were observed only in the cells cultured with TSH, where as that of MMI was independent of TSH stimulation. Interestingly, Dehal1 gene expression was induced by TSH, Insulin or Serum stimulation, where as iodine stimulation had inhibitory effect.

研究分野：内分泌

キーワード：甲状腺機能 抗甲状腺薬

1. 研究開始当初の背景

甲状腺濾胞上皮細胞の血管側基底膜に存在する NIS は、ナトリウム勾配を利用して血中のヨードイオンを能動的に取り込むことで、甲状腺ホルモン合成の最初の段階を司る輸送体である。NIS を介した甲状腺濾胞細胞内のヨード取り込みからなる一連の甲状腺ホルモン合成過程は TSH によって刺激され、TSH は甲状腺細胞増殖と甲状腺機能の両方を促進する事が明らかになっている。さらに NIS は甲状腺乳頭癌においてその組織型や悪性度により発現が異なる事が報告されており、NIS 発現に応じた放射線治療線量の適応といった将来的展望も期待されている (Wei S, et al (2013) Int J Clin Oncol epub ahead of print)。

一方、20-50 歳の成人における甲状腺機能亢進症の原因疾患の第一を占めるバセドウ病では、TSH 受容体および主要組織適合抗原 (MHC)classII 抗原の発現によって産生された TSH 受容体抗体がホルモン過剰産生を引き起こす事が明らかになっている。このバセドウ病の薬物療法には抗甲状腺薬 6-propyl-2-thiouracil (PTU) と 2-mercapto-1-methylimidazole (MMI) が広く用いられている。PTU と MMI は共に Tg をヨード化する TPO 活性を阻害する事によって甲状腺ホルモン合成を抑制するが、MMI が甲状腺細胞において抗原提示を行う事で免疫反応に関わり自己免疫性甲状腺疾患とも関連の深い MHC 発現を抑制する一方、PTU 投与患者では無顆粒球症や ANCA 関連血管炎の発症が多いなど、その他の作用やそれぞれの分子構造は全く異なっている。(Montani V, et al. (1998) Endocrinology 139:290-302) (Giuliani C, et al. (2010) J Endocrinol 204:57-66) (van Noorden CJ, et al. (1979) Horm Metab Res 11:366-370)。

2. 研究の目的

1996 年に遺伝子がクローニングされた sodium iodide symporter (NIS) は、甲状腺濾胞細胞の基底膜側にあるヨード輸送体である。NIS は甲状腺ホルモン合成の最初の段階を司るが、甲状腺以外にも唾液腺、乳腺、小腸などにも発現しており、甲状腺自己免疫性疾患や甲状腺がん、乳がんに関与するなど様々な役割が明らかになってきた。我々は今までに抗甲状腺薬である

6-n-propyl-2-thiouracil (PTU) の NIS 誘導作用を見出してきた。本研究ではその NIS 誘導機序を解明し、ヒト甲状腺細胞における抗甲状腺薬の甲状腺機能遺伝子発現調節作用を評価する事で、抗甲状腺薬の薬理作用や自己免疫性甲状腺疾患の病態抑制機構を見出し、病態に適した治療の選択や、さらに甲状腺がんや甲状腺以外の臓器疾患における適応を解明する事を目的とする。さらに、我々は PTU と MMI が、その分子構造の違いから甲状腺に対して、中でも甲状腺機

能発現や機能に異なる作用をもたらすと考え、これを解明する事で将来的にバセドウ病患者におけるより病態に適した治療の選択や、甲状腺がん患者における適応拡大といった可能性を検討すべく研究を行った。

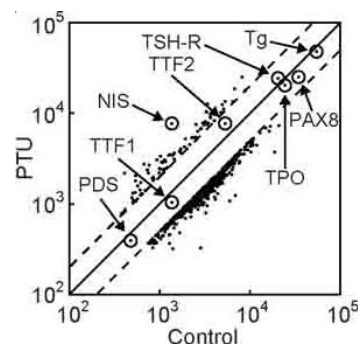
3. 研究の方法

初年度は、PTU による NIS 誘導の作用機序を明らかにする為、甲状腺機能を有する甲状腺培養細胞であるラット FRTL-5 細胞を用いて、PTU 刺激下でのシグナル伝達経路がどのように変化するかを、Western blotting や DNA マイクロアレイを用いて明らかにする。同時に MMI がそれらのシグナル伝達経路へ与える影響の有無もあわせて比較検討を行う。さらに、同定された PTU または MMI によって発現調節を受ける遺伝子が、それら以外の因子によっても発現が誘導または抑制されるのかを検討する。同定された細胞内シグナル伝達経路や転写因子の変化についてもシグナル伝達のリン酸化をタンパクレベル、転写因子を RNA およびタンパクレベル、さらに機能発現をヨード取り込みレベルで解析を行っていく。これらの検討により、抗甲状腺薬が自己免疫性甲状腺疾患患者の甲状腺細胞にどのような影響を与えるのかを明らかにする。

4. 研究成果

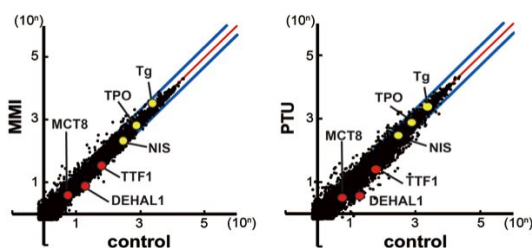
TSH 非存在下において PTU のみが NIS の発現を誘導する。

PTU と MMI 共に甲状腺ホルモン合成抑制作用を有するにも関わらず、甲状腺ホルモン合成を司る輸送体である NIS に全く異なる影響を及ぼす事を明らかにしてきた (Sue M, et al. (2012) Thyroid 22(8):844-852)。すなわち、TSH 非存在下において、MMI は NIS 発現に何ら影響を及ぼさないが、PTU は TSH とは異なる機序を持って NIS 遺伝子発現とヨード取り込みを誘導し、その一方で甲状腺細胞の機能発現や分化に重要な役割を担い、TSH により調節される TTF-1、TTF-2、Pax8 といった転写因子には何ら影響を及ぼさなかった。



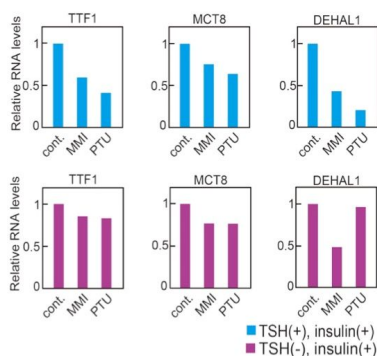
TSH 存在下において、甲状腺に発現する多くの遺伝子は MMI と PTU による発現調整を受ける。

MMI および PTU 刺激下での遺伝子発現変動を DNA マイクロアレイを用いて検討したところ、多くの遺伝子が TSH 存在下でも誘導または抑制される事を明らかにした。この中には、脱ヨード酵素 Dehal1 や MCT8 など、甲状腺ホルモン合成過程におけるヨード再利用に重要な役割を果たす遺伝子が含まれていた。



MMI と PTU の双方が Dehal1 抑制作用を有するが、PTU の Dehal1 抑制作用は TSH 存在下においてのみ確認される。

TSH 存在・非存在下における MMI と PTU の Dehal1 遺伝子発現抑制作用を検討した。その結果、MMI と PTU の双方が Dehal1 遺伝子発現抑制作用およびタンパク発現抑制作用を有することを確認した。さらに、抗甲状腺薬による Dehal1 遺伝子発現抑制作用は甲状腺刺激因子 TSH および抗甲状腺薬の作用時間による調節を受けており、MMI による Dehal1 遺伝子発現抑制作用は TSH の影響を受けなかった一方で、PTU は TSH 非存在下においてのみ Dehal1 の遺伝子発現抑制作用を有する事が明らかになった。



Dehal1 遺伝子発現は TSH、インスリン、血清によって誘導される一方、ヨードによって抑制される。

Dehal1 遺伝子発現を調節する因子を検討したところ、TSH、インスリン、血清によって

誘導され、中でも血清が最も強く誘導作用を示したが、TSH との共刺激下ではその作用が減弱する事を明らかにした。その一方で、ヨードは Dehal1 遺伝子抑制作用を示した。

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 2 件)

Oda K, Luo Y, Yoshihara A, Ishido Y, Sekihata K, Usukura K, Sue M, Hiroi N, Hirose T, Suzuki K. Follicular thyroglobulin induces cathepsin H expression and activity in thyrocytes. 2017 Biochem Biophys Res Commun. (483) 541-546 査読有

Luo Y, Akama T, Okayama A, Yoshihara A, Sue M, Oda K, Hayashi M, Ishido Y, Hirano H, Hiroi N, Kato R, Suzuki K. A Novel Role for Flotillin-Containing Lipid Rafts in Negative-Feedback Regulation of Thyroid-Specific Gene Expression by Thyroglobulin 2016 Thyroid (26) 1630-1639 査読有

[学会発表](計 1 件)

吉原彩、須江麻里子、小田健三郎、石藤雄子、Luo Yuqian、廣井直樹、鈴木幸一: Different effects of PTU and MMI on thyroid-specific gene expression. 15th International Thyroid Congress 21.10.2015 Florida (米国)

[図書](計 0 件)

[産業財産権]

出願状況(計 0 件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計 0 件)名称:

発明者:
権利者:
種類:
番号:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

須江 麻里子 (SUE, Mariko)

東邦大学・医学部・助教

研究者番号：50439965

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()