

セッション3 甲状腺

内分泌攪乱物質と甲状腺機能

妹尾 久雄

名古屋大学

甲状腺ホルモン(TH)は、生体の発育、代謝に重要な役割を果たし、特に、胎児期、生直後の発育期成長・発達には不可欠である。先天的TH合成障害により、知能障害や低身長が起こる(クレチン症)。甲状腺ホルモン受容体(TR)遺伝子の変異によって発症する甲状腺ホルモン不応症においても、重症例には同様な症状が認められる。また、母親の妊娠中甲状腺機能低下症が、子供の精神発達の遅延やIQの低下をもたらすことも知られている。

近年、内分泌攪乱物質が、甲状腺機能に影響を与えることが、野生動物の研究やヒトを対象とした疫学的研究により次第に明らかにされつつある。中でもダイオキシン、PCBの構造は、THと類似し、甲状腺機能に与える影響が注目されている。Cheekら(Environmental Health Perspectives 107, 273-278, 1999)は、水酸化PCBの中には、血中のTH結合蛋白、とくにサイロキシン結合プレアルブミンとT4より高親和性で結合する化合物の存在を示した。更に、ダイオキシンは、肝細胞においてT4の取り込みを促進するL-amino acid transporterの発現やT4をグルクロン酸抱合胆汁中に排泄させるUDP-glucuronyl transferaseの発現を介して増加させることも明らかにされた。こうした知見は、ダイオキシン、PCBがTHの代謝を促進し、甲状腺機能低下症をもたらすことを示唆している。事実、母乳中のダイオキシン類の濃度と乳児のサイロキシンとTSHは、それぞれ負と正の相関を示すことが報告された。一方、妊娠ラットにPCBを投与すると、母体のT4レベルは、検出感度以下になるにも関わらず、その乳児の中樞神経系に甲状腺ホルモン応答性遺伝子であるRC3/neurograninの発現が増加することも報告され(Endocrinology 141, 181-189, 2000)、PCBがTRを介して作用する可能性を示唆している。

さて、THは、核内に存在するTRとの結合を介して作用する。TRは第17染色体に位置する遺伝子と第3染色体に位置する遺伝子よりコードされ、各々1、2と1、2アイソフォームを産生する。TRの構造は、核内受容体に共通し、アミノ末端、中央のDNA結合ドメイン(DBD = DNA binding domain)、ヒンジ領域、カルボキシル端のリガンド結合領域からなっている。1、1、2アイソフォームはアミノ端を除き相同性が高く、THと結合し、真の受容体として機能するが、2は1のC末端の40アミノ酸残基が異なる122個のアミノ酸に置換され、TH結合能が無く、他の受容体機能を抑制すると考えられている。TR1は、胎生の初期より広汎に発現が認められるのに対して、TR2は胎生後期より発現している。またTR2は、間脳、下垂体のみで発現している。このように、それぞれのアイソフォームの発現は、部位特異的、成長時期特異的に制御され、種々の臓器のTH作用の発現には、critical periodが存在する。

カエルの成長・発育・変態に甲状腺ホルモンが不可欠であることは、よく知られている。アフリカツメガエルでは、他の脊椎動物と同様、TR1、TR2の2つのアイソフォームを持ち、TR1は、甲状腺の形成以前に広汎な組織に発現している。従って、オタマジャクシの四肢の発生初期、脳における細胞増殖など変態初期には、TH、TR1は低く、エラや尾の退縮が認められる変態のクライマックス時には、著しいTHとTR2の増加が認められる。こうした知見は、カエルの成長・変態がTHとTRを介して調節されていることを示唆している。事実、ドミナントネガティブTR2を発現するトランスジェニックカエルを用いた研究では、THによるオタマジャクシの変態が完全に抑制されることも示されている。一方、アフリカツメガエルの受精卵にTR2 mRNAを注入し、THの存在下で培養すると奇形が発生することも知られ、カエルは甲状腺機能に影響を与える内分泌攪乱物質のスクリーニングに非常に有用と考えられる。

我が国の統計では、1981年から1995年の15年間に、出生率の減少にも関わらず、クレチン症の発症が3倍も増加していることが明らかにされている。この増加が内分泌攪乱物質に起因する可能性は高く、生物学者と甲状腺研究者との密接な研究協力がこの問題を解明するものと考えられる。

ステロイド受容体活性化補助因子SRC-3と前立腺がん

ミンジャー ツァイ、クー チョウ、橋本 良博、
シン レイ、トーマス M. ホイーラー、ソフィア Y. ツァイ

米国 ベイラー医科大学

ステロイドホルモン受容体は、標的遺伝子に対する転写活性化を橋渡しする際に、活性化補助因子を必要とする。ステロイド受容体活性化補助因子(SRC)の一群の中には、最近になって同定された一連の因子3種類(SRC-1、2、3)が存在する。そのうち、SRC-3(PCIP/ACTR/RAC3/AIB1/TRAM)は、乳がん、卵巣がん、胃がんなど様々な腫瘍の際に、増加または過剰に発現したりすることが明らかになっており、このことから、SRC-3は細胞増殖の制御と腫瘍発生において重要な役割を果たしていることが想定される。今回の報告は、SRC-3が前立腺がんにおいても過剰発現するに関するものである。*in situ*ハイブリダイゼーションを用いたアッセイを行った結果、ヒトの前立腺がん標本のうち46%において、腫瘍域ではSRC-3が過剰発現しているが、隣接正常域ではそうになっていないことが明らかとなった。さらに、SRC-3の過剰発現は、前立腺がん標本の進行度にも関連している。また、内因性SRC-3の発現レベルは、各種の前立腺がん細胞系列の細胞増殖速度に相関していることも、我々の研究結果が示している。安定してSRC-3を発現する遺伝子移入前立腺がん細胞を分析することで、SRC-3は細胞増殖、細胞周期進行、細胞生存率を実際に亢進させることが判明した。LNCaP細胞においてAktの発現とリン酸化を誘導することで、SRC-3はPI(3)キナーゼ/Aktシグナリング経路を活性化し、細胞分裂、細胞増殖、細胞生存の促進によるSRC-3の発がん作用をもたらしていることを、我々は実証した。以上の所見を総合すると、SRC-3は前立腺がん発生において重要な働きをしていると考えられ、SRC-3の発現レベルは前立腺腫瘍の進行を見る新たなバイオマーカーとなる可能性を持っている。

甲状腺ホルモン：多様な受容体を介した多様な働き

ジャック サマリユ

フランス 国立高等師範学校リヨン校

脊椎動物においては甲状腺ホルモン、なかでもトリヨードサイロニン(T₃)が多くの機能のコントロールを行なっている。甲状腺ホルモンは、発達期においては身体の成長と中枢神経系の成熟を促している。成体においては、炭水化物と脂質の代謝の生理学的ホメオスタシスを調節している。また、視床下部 下垂体 甲状腺系を介して、甲状腺ホルモンは自分自身の産生量を調節している。

T₃の作用は、特異的な核内受容体を介して発揮される。この核内受容体は転写因子であり、TR₁とTR₂という2種類の遺伝子にコードされている。TR₁遺伝子によってコードされる受容体には、TR₁とTR₂などのアイソフォームがあるが、TR₁、TR₂といったアイソフォームはT₃と結合しないので、T₃受容体に対するドミナントネガティブな阻害因子として働く。

TR₃遺伝子によってコードされる受容体は、TR₁、TR₂、TR₃の3種類のアイソフォームと、TR₃という阻害アイソフォームが1種類ある。

受容体は、標的遺伝子の通常はプロモーター領域にある特異的配列の部位でDNAに結合する。ホルモンが存在しない状況下では、これらの受容体は転写抑制因子として働く。T₃が結合すると、受容体は活性化因子と結合し、下流の遺伝子の転写を誘導する。主に中枢神経系に存在する一部の非常に特異的な遺伝子に対しては、受容体はリガンド依存性転写抑制因子として働く。

我々は、マウスを対象に実験遺伝学の手法を用いることで、T₃が発生や生理で行なう調節における各種TRアイソフォームの働きを調べた。TR₁とTR₂の遺伝子の特定領域をノックアウトすることで、マウスのミュータントを複数作成した。

この仕事を踏まえて、TR₃が骨、腸管、造血組織などの主要組織の生後発生を調節する主要受容体であると我々は結論した。TR₃は主に、知覚機能の発達と、甲状腺ホルモン産生の調節に関与する。脳などの一部の組織では、成熟に際して両方の受容体が共同して働く。成体では、TR₁とTR₂のアイソフォームがそれぞれ独立に種々の生理機能を調節しているようである。

以上のデータは、哺乳類においてTR₁・TR₂受容体はそれぞれ独自の機能を獲得したということを示しており、甲状腺ホルモンの病態を理解する上で新しい展望を開くと考えられる。

参考文献

- Gauthier K, Chassande O, Plateroti M, Roux JP, Legrand C, Pain B, Rousset B, Weiss R, Trouillas J and Samarut J. 1999. Different functions for the thyroid hormone receptors TR₁ and TR₂ in the control of thyroid hormone production and post-natal development. *EMBO J.* 18, 623-631.
- Macchia, P.E., Takeuchi, Y., Kawai, T., Cua, K., Gauthier, K., Chassande, O., Seo, H., Hayashi, Y., Samarut, J., Murata, Y., Weiss, RE, Refetoff, S. 2001. Increased sensitivity to thyroid hormone in mice with complete deficiency of thyroid hormone receptor TR₃. *PNAS*, 98: 349-354.
- Gauthier K, Plateroti M, Harvey CB, Williams GR, Weiss RH, Refetoff S, Willott JF, Sundin V, Roux JP, Malaval L, Hara M, Samarut J and Chassande O. 2001. Genetic analysis reveals different functions for the products of the TR₃ locus. *Mol. Cell Biol.* 21, 4748-4760.
- Baas D, Legrand C, Samarut J and Flamant F. 2002. Persistence of oligodendrocyte precursor cells and altered myelination in optic nerve associated to retina degeneration in mice devoid of all thyroid hormone receptors. *PNAS* 99: 2907-2911.

甲状腺ホルモン受容体突然変異と甲状腺がんの発生

シューヤン チェン

米国 国立がん研究所

甲状腺発がん性に関する分子遺伝子学的な基礎はあまりよく分かっていない。既存の甲状腺がんモデルの大半は、ごく稀にしか転移性の進行を呈することがないため、甲状腺がんの侵襲および転移において分子レベルで起きていることに対する理解を深めることは限られてしまっている。最近我々は優性陰性突然変異甲状腺ホルモン核受容体遺伝子である *TR PV* を *TR* 遺伝子座に導入した突然変異種マウスを生み出した。この *TR PV* マウスでは甲状腺脳下垂体系の制御に異常が見られ、それによりマウスに対する血中甲状腺刺激ホルモンの高濃度化および甲状腺内の胞上皮の大規模な過形成をもたらしている。甲状腺の重量は加齢と共に増大し、3~4カ月齢、5~7カ月齢、および12カ月齢を超えではそれぞれ野生型マウスの12倍、18倍、および36倍になる。重要な点は、*TR PV/PV* マウスは、*TR PV/+* マウスと異なり、加齢と共に転移性甲状腺がんを発症することである。5~14カ月齢のマウスの甲状腺を組織検査したところ、膜内浸潤(91%)、血管内浸潤(74%)、退形成(35%)、肺および心転移(30%)を観察した。これらの所見は、甲状腺発がん性が、続発する膜内浸潤、血管内浸潤、退形成、および最終的な転移に伴って進行することを示唆している。5カ月齢の *TR PV/PV* マウスおよび野生型マウスの甲状腺から調製したRNAをcDNAマイクロアレイ分析したところ、*TR PV* 遺伝子の発現が200個の遺伝子をアップレギュレーションし、95個の遺伝子をダウンレギュレーションすることが示された。そのうちの1つの遺伝子サイクリンD1は、活性化が8倍に増強されたことがノーザンブロット法で確認された。これらの結果は、ヒト甲状腺がんにおいてサイクリンD1は高い頻度で過剰発現するという所見と一致するものである。これらのマウスは、ヒト甲状腺がんの侵襲と転移に関する临床上重要な指標を提供するユニークなモデルとすることができる。このモデルによって、がんの進行と転移において発生が予測される遺伝子制御の変化を研究するための全く新しい手法が提供されたことが重要である。