

## 学位論文の要旨

学位の種類	博士	氏名	松尾 公美浩
<p>学位論文題目</p> <p>High prevalence of <i>DUOX2</i> mutations in Japanese patients with thyroid dyshormonogenesis and transient hypothyroidism.</p> <p>(甲状腺ホルモン合成障害および一過性甲状腺機能低下症 日本人患者において<i>DUOX2</i>変異を高頻度に認める)</p> <p>共著者名</p> <p>棚橋祐典、向井徳男、鈴木滋、田島敏広、東寛、故藤枝憲二</p> <p>未掲載</p> <p>研究目的</p> <p>先天性甲状腺機能低下症 (CH) は新生児マススクリーニングで最も高頻度に同定される疾患であり、早期介入により長期合併症である精神発達遅滞の進行を抑制することが可能である。日本では診断後直ちにレボチロキシン投与が行われ、就学前に病型診断を行い、永続性甲状腺機能低下症 (甲状腺形成異常、甲状腺ホルモン合成障害 (DH))、あるいはその軽症型と考えられる一過性甲状腺機能低下症 (TH) の診断が下される。</p> <p>これまでCHの原因としていくつかの遺伝子異常が同定され、甲状腺ペルオキシダーゼ (TPO) 遺伝子が最も頻度の高い原因遺伝子と考えられてきた。近年、ヨード有機化を行うTPOの触媒である過酸化水素の産生に関与するdual oxidase 2 (DUOX2) 遺伝子変異がDHの原因として同定され、また、DUOX2のcofactorであるdual oxidase maturation factor 2 (DUOXA2) 遺伝子変異もDHの原因として同定された。</p> <p>当初、<i>DUOX2</i>変異が両アレル、片アレルの場合、それぞれ永続性CH、THを呈すると考えられていたが、その後THでも両アレル変異を有する症例が多数報告され、<i>DUOX2</i>変異がCHの原因として高頻度で、さらに軽症から重症まで幅広い表現型を示す可能性が示されるようになった。</p> <p>そこで今回、DHとTHにおける<i>DUOX2</i>変異の頻度を明らかにし、その遺伝子型表現型連関を検討する目的で日本人コホートにおける<i>DUOX2</i>遺伝子解析を行うことにした。また、<i>DUOXA2</i>、TPO遺伝子解析も行い、<i>DUOX2</i>変異と頻度の比較を行うことにした。</p>			

## 材 料 ・ 方 法

対象は、病型診断を行ったCH（甲状腺形成異常を除く）48例（男児28例、女児20例）。全例新生児マススクリーニングにてTSHの上昇（ $\geq 10 \mu\text{U/ml}$ ）を認め、レボチロキシン投与開始。甲状腺機能正常化の後、就学前にTRH負荷試験、甲状腺エコー、ヨード摂取率検査、パークロレイト放出試験による病型診断を行った。なお、CHが永続性か一過性かの診断については、TRH負荷試験におけるTSH過剰反応（正常： $< 35.0 \mu\text{U/ml}$ ）の有無にて決定した。

遺伝子解析については、患者と（あるいは）両親の同意を得た後、末梢血を採取し、genomic DNAを抽出。それを元に、それぞれの遺伝子のcoding exonならびにexon-intron境界部について、作成したプライマーを用いてPCR-直接シーケンス法を行い、塩基配列を決定した。また、同定されたミスセンス変異の機能予測のためPolymorphism Phenotyping version 2 (PolyPhen-2) およびscale invariant feature transform (SIFT)による解析を行った。

統計学的解析にはFisherの直接確率検定法を用いた。

なお、本研究は旭川医科大学倫理委員会の承認を得て行われた。

## 成 績

解析を行った48例において、14の*DUOX2*変異（10の新規変異を含む）と3つの*TPO*変異（全て新規変異）をそれぞれ11例（22.9%）、3例（6.3%）と、*DUOX2*においてより高頻度に変異を同定した（ $p=0.02$ ）。そのうち3例が*DUOX2*両アレル変異で、8例が*DUOX2*片アレル変異、3例が*TPO*片アレル変異で、1例において*DUOX2*と*TPO*の二重変異を同定した。また、8例の*DUOX2*片アレル変異のうち5例においてfunctional SNPであるH678Rを同定した。9つの*DUOX2*ミスセンス変異、3つの*TPO*ミスセンス変異の機能に関しては、それぞれ7つ、2つの変異において、PolyPhen-2とSIFTの両者または一方にて機能低下が推測された。なお、*DUOXA2*変異は同定されなかった。

48例のうち、30例（男児18例、女児12例）、18例（男児10例、女児8例）がそれぞれDH、THと診断された。*DUOX2*変異の頻度はTH（6/18、33.3%）の方がDH（5/30、16.7%）より高い傾向であったが有意差は認められなかった（ $p=0.165$ ）。また、3例の両アレル変異のうち、1例がTHで、2例がDHであった。ヨード有機化障害を呈したのは*TPO*変異の1例のみで、*DUOX2*変異例では認められなかった。

## 考 案

本研究で*DUOX2*変異がDHやTHの原因として*TPO*変異より頻度の高いものであることが示された。*DUOX2*片アレル変異を有する8例のうち5例がfunctional SNPであるH678Rを有して

おり、これらの症例はDHまたはTHを呈するものと思われるが、片アリル変異のみの場合、表現型はTHまたは正常であろうと推測される。しかし、残り3例のうち1例はDHであり、別の病因を有する可能性があると考えられる。また、1例においてDUOX2とTPOの二重変異を同定した。我々の知る限り、DUOX2とTPOの二重変異は初めての報告である。

DUOX2変異の頻度はDHよりTHにおいて高い傾向を示したが、これは両群での頻度を比較した唯一の既報と同様の結果であり、今回のDUOX2変異例においてヨード有機化障害を認めなかった点と合わせて、DUOX2変異は他の遺伝子異常に比較して軽症の表現型を呈するものが多いと推測された。したがって遺伝子型表現型連関については明らかにすることができなかった。

甲状腺ホルモンの需要はライフステージによって異なることが知られており、最も需要の高い時期は新生児期である。したがって、軽症例では新生児マススクリーニングにて陽性を示すものの、幼児期、学童期と進むにつれて甲状腺機能が正常化する可能性がある。しかし、その後思春期や妊娠期といった再び需要の高まる時期に再度顕在化する可能性があり、DUOX2変異症例においては表現型の如何に関わらず注意深い経過観察が必要である。

## 結 論

今回、DH、THを対象としたDUOX2遺伝子解析にて高頻度に変異を同定し、先天性甲状腺機能低下症の原因遺伝子として最も頻度の高いものであることを明らかにした。また、その表現型は比較的軽症なものが多いことが示唆された。

## 引 用 文 献

1. Moreno JC, Bikker H, Kemper MJ, van Trotsenburg AS, Baas F, et al. Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (THOX2) and congenital hypothyroidism. N Engl J Med 347: 95–102, 2002
2. Narumi S, Muroya K, Asakura Y, Aachi M, Hasegawa T. Molecular basis of thyroid dyshormonogenesis: genetic screening in population-based Japanese patients. J Clin Endocrinol Metab 96: E1838–42, 2011
3. Jin HY, Heo SH, Kim YM, Kim GH, Choi JH, et al. High frequency of DUOX2 mutations in transient or permanent congenital hypothyroidism with eutopic thyroid glands. Horm Res Paediatr 82: 252–60, 2014

## 学位論文の審査結果の要旨

報告番号	第 号		
学位の種類	博士(医学)	氏 名	松尾 公美浩
<p>審査委員長 <u>河田 勝計</u> (印)</p> <p>審査委員 <u>平石 雄</u> (印)</p> <p>審査委員 <u>原 潤 洋 明</u> (印)</p> <p>審査委員 <u>東 寛</u> (印)</p>			
<p>学位論文題目</p> <p><b>High prevalence of DUOX2 mutations in Japanese patients with thyroid dysmorphogenesis and transient hypothyroidism.</b></p> <p>(甲状腺ホルモン合成障害および一過性甲状腺機能低下症日本人患者において DUOX2 変異を高頻度に認める)</p>			
<p>先天性甲状腺機能低下症は、永続性甲状腺機能低下症（甲状腺形成異常、甲状腺ホルモン合成障害）と、その軽症型と考えられる一過性甲状腺機能低下症に分類されている。これまで先天性甲状腺機能低下症の原因として、甲状腺ペルオキシダーゼ（TPO）、dual oxidase 2（DUOX2）および dual oxidase maturation factor 2（DUOXA2）の遺伝子変異が同定されているが、日本人における遺伝子変異の頻度および遺伝子型・表現型連関は不明であった。</p> <p>論文申請者である松尾氏は、先天性甲状腺機能低下症 48 例の遺伝子解析を行い、11 例（22.9%）に 14 個の DUOX2 変異（10 個が新規変異）、3 例（6.3%）に 3 個の TPO 変異（全て新規変異）を同定し、DUOX2 変異が有意に高頻度であることを見出した。尚、DUOXA2 変異は同定されなかった。<i>In silico</i> の機能予測では、解析可能であった 9 個中 7 個の DUOX2 ミスセンス変異、3 個中 2 個の TPO ミスセンス変異に機能低下が推測された。解析対象となった 48 例の中で、DUOX2 変異の頻度は、永続性甲状腺機能低下症（甲状腺ホルモン合成障害）30 例中 5 例（16.7%）に比べ、一過性甲状腺機能低下症 18 例中 6 例（33.3%）に高頻度である傾向が認められた。また、ヨード有機化障害は TPO 変異 1 例にのみ認められ、DUOX2 変異例には認められなかった。以上の成績は、日本人先天性甲状腺機能低下症には DUOX2 変異例が多く、かつ DUOX2 変異例は軽症の表現型を呈することを示唆している。また、新規変異も多く検出されたことは注目値する。尚、諮問審査においても、本論文とその関連領域に関して十分な知識を有することが確認できた。</p> <p>よって、本論文を、医学博士の学位論文に値するものと判断した。</p>			