

クレチン症の鑑別診断
—先天性 TSH 単独欠損症の病態—
(分担研究：マススクリーニング施行中に
新しく派生した諸問題の検討)

宮 井 潔*

(共同研究者：遠藤雄一*, 林崎良英**, 松原謙一**)

要約 現在クレチン症のほとんどは甲状腺原発性と考えられており、したがってネガティブフィードバックで上昇した血中 TSH を指標としてマススクリーニングが行なわれている。しかし下垂体 TSH 分泌欠損によるクレチン症も皆無ではなく、われわれは、先天性 TSH 単独欠損症の第 1 家系を見出している^{1), 2), 3)}。そこで本研究ではその病態と病因を詳細に検討した結果、TSH は分泌されていないが、TSH を構成するサブユニットのうち α 鎖が増量し、一方 β 鎖遺伝子に点変異のあることが明らかとなった。その家族検索の結果から本症は常染色体劣性遺伝であること、また保因者の存在することも明らかとなった。

見出し語： TSH

研究方法： 対象；先天性 TSH 欠損症姉妹と、その両親である。空腹時あるいは、甲状腺刺激ホルモン (TSH) 放出ホルモン (TRH) 500 μ g 静注前及び経時的に採血し、血清分離後ホルモン測定に供した。またヘパリン採血では白血球を分離し、その一部は EB virus による blast transformation を行ない細胞株化し、DNA 源とした。

ホルモン測定；サイロキシン (T_4)、トリヨードサイロニン (T_3) は通常のラジオイムノアッセイ (RIA) で、また TSH は高感度イムノラジオメトリックアッセイ (IRMA) で測定した。

TSH- α 鎖は、純化 TSH- α (NIH) を 125 I で標識し、抗 TSH- α (UCB 社) を用い遅延添加二抗体 RIA 法で測定した。本法で

*大阪大学医学部臨床検査診断学 (Dept. of Laboratory Medicine, Osaka University Medical School)

**大阪大学細胞工学センター (Institute for Molecular and Cellular Biology, Osaka University)

はTSHとの交差反応が11.3%あるので補正した。

TSH- β 鎖は抗TSH β モノクローナル抗体を用い、一つの抗体を β -D-galactosidaseと結合させ、別の抗体を固相化したサンドイッチエンザイム免疫アッセイ(EIA)で測定した⁴⁾。

DNA解析;既にわれわれの研究室でクローニングされているヒトTSH- β 鎖遺伝子⁵⁾をプローブとして、前記末梢白血球から得られたDNAを制限酵素EcoRI, PvuII, HindIIIを用いて、常法に従ってSouthern blotを行なった。また λ L-47 BamHI armを用いInsert DNAとしてはDNAをBglIIで完全消化し、TSH- β 鎖遺伝子BglII 4.4 kbpをクローニングした。塩基配列の決定にはM13法を用いた。さらに患者DNAの解析で見出された点変異を患者DNAから直接検出する方法として、制限酵素MaeIを用いたSouthern blotを行なった。

結果:

(1) 血中ホルモン

患者姉妹の血中 T_4 , T_3 は低値であった。ところがTSHは、高感度IRMA法でも検出できず、TRH投与後でも検出できなかった。これに対し両親の甲状腺機能は正常であった。

TSH α 鎖を特異的RIAで測定すると、両患者で8.0 ng/ml(第1例), 17.8 ng/ml(第2例)と健常人3.0 ng/ml以下に比べ明らかに増量していた。またTRH投与により14.6 ng/ml, 25.5 ng/mlと明らかに上昇反応を示した。逆に甲状腺ホルモン投与により3.0 ng/ml以下に減少した。

一方TSH β 鎖はいずれも検出されなかった。

(2) DNA解析⁶⁾

本患者のDNAを用い、EcoRI, PvuII, HindIIIでSouthern blotを行なったが、変異を見出し得なかった。

そこで患者のTSH- β 鎖遺伝子をクローニングし、その塩基配列を決定したところ、第2エクソン内にある分泌型TSH β の29番目のアミノ酸Glycine(²⁹Gly[GGA])の1st tripletであるGがAに置換し²⁹Arg[AGA]となっていることが明らかとなった。

またこの変異により新たにMaeI site [CTAG]を生じるので、この制限酵素を用いたSouthern blotでは1.3 kbpと0.35 kbpに分れる。実際に行なってみると、患者では1.3 kbpの1本のバンドが、健常人では1.65 kbpの1本のバンドが、また両親では1.3 kbpと1.65 kbpの2本のバンドが検出された。

考察:本患者は血中甲状腺ホルモン低値で、症状からも先天性甲状腺機能低下症(クレチン症)は確実である。しかし通常のクレチン症とは異なり、高感度TSH測定法でもTSHが検出されないことから、先天性TSH欠損であることが再確認された。

一方、本症はTSH分泌のみが欠損しているが、他の下垂体ホルモン、とくに α 鎖遺伝子による産物を共有している性腺刺激ホルモン分泌が正常なことから α 鎖遺伝子に異常はないと想定されていたが、今回TSH α 鎖が血中に検出されたことから確められた。またTRHで血中TSH α 鎖が上昇することは、下垂体TSH産生細胞が存在することも示された。

そこで患者DNAをしらべたところ、Southern blotでは大きな欠失は見出せなかったが、クローニングにより点変異を見出し

た。この部分 ^{27}Cys [TGT], ^{28}Ala [GCT], ^{29}Gly [GGA], ^{30}Cys [TGT] は “CAGY” 領域と呼ばれ, 種を越えて TSH 及び他の糖タンパクホルモンで保存され, TSH 生合成に重要な役割りを果していると考えられている。したがって, ここで ^{29}Gly から, bulky で電荷の異なる ^{29}Arg に変異したため TSH 生合成が阻害されたと考えられる。

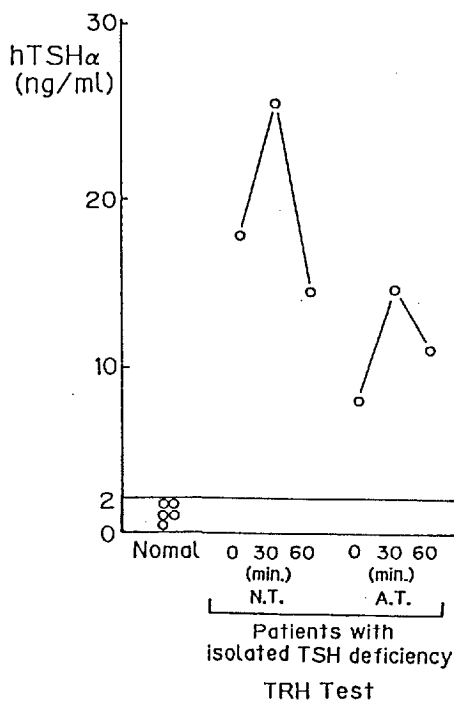
Mae I による Southern blot から, 正常人では正常遺伝子がホモ, 患者では変異遺伝子がホモ, 両親では変異遺伝子がヘテロで検出され, 本症が常染色体劣性遺伝疾患であることが示された。さらに, 家系調査中であるが, 保因者がかなり存在する可能性も示唆され, 今後のマススクリーニングにおいて, 特殊ケースではあるが再考の余地があると思われる。

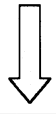
文献

- 1) Miyai, K., Azukizawa, M. & Kumahara, Y. *New Engl. J. Med.* 285, 1043 (1971)
- 2) Miyai, K., Azukizawa, M., Onishi, T., Hashimoto, T., Sawazaki, N., Nishi, K. & Kumahara, Y. *Excerpta Medica International Congress Series 403*, 345 (1976)
- 3) Hayashizaki, Y., Miyai, K., Onishi, T. & Kumahara, Y. *Horm. Metabol. Res.* 18, 849 (1986)
- 4) Iijima, Y., Endo, Y., Hata, N., Fujita, H., Unoki, M. & Miyai, K. *Clin. Chem.* 33, in press (1987)
- 5) Hayashizaki, Y., Miyai, K., Kato, K. & Matsubara, K. *FEBS Lett.* 188, 394 (1985)

- 6) 林崎良英, 宮井 潔, 松原謙一. 第 26 回臨床化学学会年会記録集 / 印刷中 (1988)

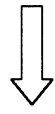
TSH α Concentration





検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



要約 現在クレチン症のほとんどは甲状腺原発性と考えられており,したがってネガティブフィードバックで上昇した血中 TSH を指標としてマススクリーニングが行なわれている。しかし下垂体 TSH 分泌欠損によるクレチン症も皆無ではなく,われわれは,先天性 TSH 単独欠損症の第 1 家系を見出している。そこで本研究ではその病態と病因を詳細に検討した結果,TSH は分泌されていないが,TSH を構成するサブユニットのうち 鎖が増量し,一方 鎖遺伝子に点変異のあることが明らかとなった。その家族検索の結果から本症は常染色体劣性遺伝であること,また保因者の存在することも明らかとなった。