

昭和 63 年度厚生省心身障害研究  
「マススクリーニングに関する研究」

クレチニン症の鑑別診断  
—先天性TSH欠損症によるクレチニン症の  
実態とマススクリーニングの計画—  
(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:芦田信之\*\* 林崎良英\*\* 畿圭太\* 松原謙一\*\*)

要約:現在クレチニン症の大部分は原発性と考えられているが、先天的にTSHが欠損するため二次的クレチニン症となる家族例のあることがわれわれによって見出され、<sup>1)</sup> その遺伝子解析の結果、常染色体劣性遺伝で、TSHβ鎖遺伝子の点変異であることが明らかにされた。<sup>2)</sup> そして3家系のDNA検索の結果、その祖先は同一でしかも某県出身であることが示唆された。したがって同地方では本症の発生する頻度が高いと推定され、従来のTSH法では見逃す危険があるので、ろ紙血液遊離型サイロキシン(FT<sub>4</sub>)のエンザイムイムノアッセイ(EIA)を開発し、マススクリーニングの計画を立てた。

見出し語:TSH欠損症

研究方法:対象は本邦で発見された先天性TSH単独欠損症の3家系(TO, TA, OS)に発症した本症例4例とその家族である。(図)

DNA解析は、末梢血白血球DNAからTSHβ遺伝子をクローニングして塩基配列を決定、あるいはMae Iを用いたサザンプロットで検索した。<sup>3)</sup>

ホルモン測定は血清TSH、サイロシン(T<sub>4</sub>)、トリヨードサイロニン(T<sub>3</sub>)はラジオイムノアッセイ(RIA)で測定した。またろ紙血液中FT<sub>4</sub>にはわれわれの開発したEIA<sup>4)</sup>を簡易化した。方法は、T<sub>4</sub>固相化マイクロプレートに、3mm径血液ろ紙ディスク1枚を入れ、T<sub>4</sub>-β-galactosidase結合体100μlを加え、25℃20時間インキュベート後内容を捨て、3回洗浄し、基質としてo-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside(ONPG)液200μlを加え25℃60分反応後、反応停止液50μlを加え、405nmで測光した。

結果:(1)TSH欠損症家族調査 3家系の発端者4例のTSHβ鎖遺伝子は点変異<sup>29</sup>Gly[GG A]→<sup>29</sup>Arg[AAG]がホモ接合体の形でみられ、イントロンの1bp置換も同様であった。また両親はいずれも近親結婚で、内分泌機能は正常であるが、異常遺伝子はヘテロ接合体であ

り、また同一家族内にヘテロ接合体が見出された。これら家系の出身地はいずれも某県であった。(2)ろ紙血液FT<sub>4</sub>測定 本法により0.16~5.12 ng/dlのFT<sub>4</sub>測定が可能であった。本法を用いて同地方出生児2314人についてろ紙血液FT<sub>4</sub>を測定し解釈中である。

考察：TSH欠損症は常染色体劣性遺伝であることがわかった。その遺伝子解釈から、コード領域及びイントロン部位での変異が全く同じことから、この3家系の祖先は同一と考えられる。問診では3家系間に親類関係はないということであるが、その祖先がいずれも某県出身であることがわかった。したがって同地方では本疾患のヘテロ接合体の頻度が高いと推定される。もし20年間に見出された3例がいずれも同県出身と仮定し同県の新生児出生数を年間18,000人とすると、本症の頻度は $q^2 = 3 / 18000 \times 20$ となり、その遺伝子頻度は $q = 0.0029$ 、ヘテロ接合体の頻度は $2q(1-q) = 0.0058$ で170人に1人となる。したがって同地方では、ホモ接合体を生じ本症を発症する危険が高いという可能性がある。

さて現在施行されているTSH法では、TSH欠損症は見逃すことになる。T<sub>4</sub>法では、TBG欠損症などの呼出しが多くなる。そこでTSH欠損によるクレチニン症をスクリーニングするには呼出しが少なく、しかも甲状腺機能低下を検出できるFT<sub>4</sub>がよいと考えられる。われわれは既にEIAによるろ紙血液中FT<sub>4</sub>測定法を開発しているが、今回はさらに簡易化してパイロットスタディを開始した。今後さらに件数を増して検討する予定である。

#### 文献：

- 1) Miyai, K., Azukizawa, M. & Kumahara, Y. New Engl. J. Med. 285, 1043 (1971)
- 2) Miyai, K., Hayashizaki, H., Hiraoka, Y., Matsubara, K., Endo, Y., Nishijo, K., Matuura, M., Kohno, H., Labbe, A. Progress in Endocrinology 1988 (Ed. by H. Imura et al.) Excerpta Medica P545 (1988)
- 3) Hayashizaki, Y., Miyai, K., Kato, K. & Matsubara, K. FEBS Lett. 188, 394 (1985)
- 4) Miyai, K., Ito, M., Hata, N., Endo, Y. Method of Enzymatic Analysis 3rd Ed. (Ed. by Beymeyer, H. U et al.) Vol 9. Proteins and Peptide. P532 (1986)

#### Abstract

#### Congenital Hypothyroidism Due to TSH Deficiency and its Mass Screening

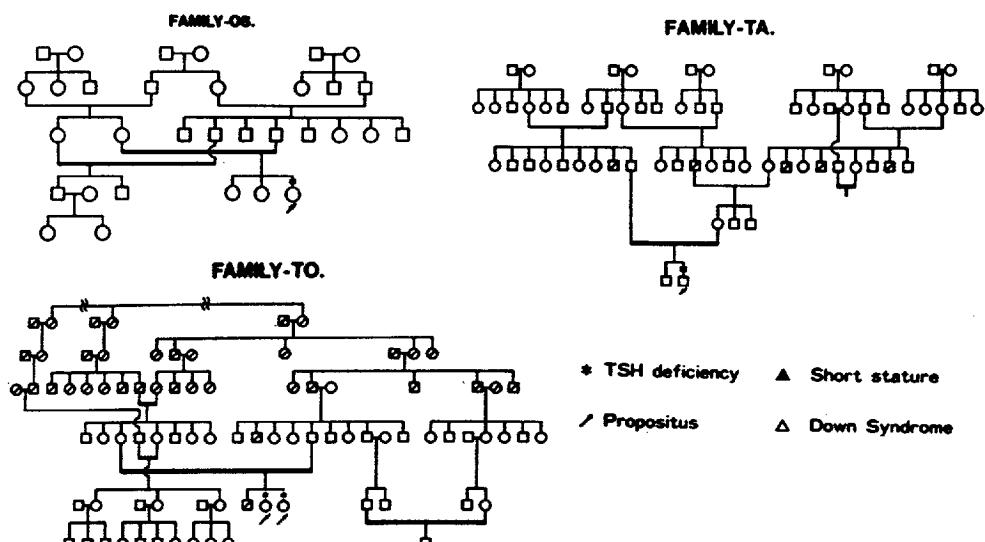
Kiyoshi Miyai\*

Nobuyuki Ashida\*\*, Yoshihide Hayashizaki, \*\* Keita Tatsumi\*, Kenichi Matsubara\*\*\*  
We first reported a family with congenital hypothyroidism due to isolated thyrotropin (hTSH) "deficiency". Cloning these patients' hTSH  $\beta$ -subunit gene and determining its sequence revealed a single amino acid substitution caused by a GGA (129 th amino acid Gly) to an AGA (arginine) transition. We further de-

veloped a genomic Southern hybridization procedure using MaeI endonuclease and are continuing to test a broader population. By this method we analyzed some members of the 3 families. All 4 patients (TO-1, TO-2, TA-1, OS-1) were homozygotes, and their parents were heterozygotes. Heterozygous carriers were also found in some clinically normal subjects in these families.

Even after careful examinations of family history, no relationships have been recognized among these 3 families. However their ancestors are from a small district in Japan and another one bp substitution in the intron is identical in all patients. These findings support the hypothesis that this mutant gene originated from one ancestor. Assuming that occurrence of the patients is 3 cases in 20 years within the same district and live birth in this district are 18,000 per year, the gene frequency and frequency of heterozygous carrier are estimated to be 0.0029 and 0.0058 ( $1/170$ ) respectively.

Therefore we attempt to perform mass screening for congenital hypothyroidism due to TSH deficiency in this district. We developed an enzyme immunoassay for measuring free thyroxine in dried blood samples on filter paper. This method is simple, rapid and non hazardous. We started a pilot study.



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

\*\* 大阪大学医療技術短期大学部 (College of Bio-Medical Technology, Osaka Univ)

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

**↓ 検索用テキスト OCR(光学的文書認識)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:現在クレチニン症の大部分は原発性と考えられているが、先天的に TSH が欠損するため二次的クレチニン症となる家族例のあることがわれわれによって見出され、1), その遺伝子解析の結果、常染色体劣性遺伝で、TSH 鎮遺伝子の点変異であることが明らかにされた。2) そして 3 家系の DNA 検索の結果、その祖先は同一でしかも某県出身であることが示唆された。したがって同地方では本症の発生する頻度が高いと推定され、従来の TSH 法では見逃す危険があるので、ろ紙血液遊離型サイロキシン(FT4)のエンザイムイムノアッセイ(EIA)を開発し、マスククリーニングの計画を立てた。