

平成28年9月

石藤雄子 学位論文審査要旨

主査 谷口晋一
副主査 山本一博
同 久留一郎

主論文

Follicular thyroglobulin enhances gene expression necessary for thyroid hormone secretion

(濾胞中のサイログロブリンは甲状腺ホルモン分泌に必要な遺伝子発現を増強する)

(著者：石藤雄子、Yuqian Luo、吉原彩、林もゆる、吉田明雄、久留一郎、鈴木幸一)

平成27年 Endocrine Journal 62巻 1007頁～1015頁

参考論文

1. Hsp90 prevents interaction between CHIP and HERG proteins to facilitate maturation of wild-type and mutant HERG proteins

(Hsp90はCHIPとHERGタンパク質との相互作用を阻害して野生型及び変異型HERGタンパク質の成熟化を促進する)

(著者：岩井ちさと、李佩俐、倉田康孝、星川淑子、森川久未、Nani Maharani、
檜垣克美、笹野哲郎、野津智美、石藤雄子、三明淳一郎、山本康孝、白吉安昭、
二宮治明、中井彰、村田茂穂、吉田明雄、山本一博、平岡昌和、久留一郎)

平成25年 Cardiovascular Research 100巻 520頁～528頁

学 位 論 文 要 旨

Follicular thyroglobulin enhances gene expression necessary for thyroid hormone secretion

(濾胞中のサイログロブリンは甲状腺ホルモン分泌に重要な遺伝子発現を増強する)

甲状腺の最小機能単位である濾胞の活動性は一様では無く、サイログロブリン(Tg)や甲状腺ホルモンの蓄積量、ヨード輸送や遺伝子発現レベルなどが濾胞ごとに大きく異なっている。このような濾胞間の機能状態の差はfollicular heterogeneityとして知られてきたが、一定量のTSH刺激の下でどうしてそのような差が出るのかは明らかにされていなかった。

それで、甲状腺濾胞では、ホルモンの合成、蓄積、分泌というサイクルを濾胞ごとのリズムで繰り返しており、それは濾胞内に蓄積したTg濃度依存性に調節されているのではないかという仮説が考えられてきた。

著者らは、これまでに、濾胞内に蓄積するTgによって甲状腺ホルモン合成に関わる遺伝子発現が転写レベルで抑制され、ヨード輸送や有機化が抑制されることによって濾胞機能が調節されていることを報告してきた。

しかしながら、生合成され濾胞内に蓄積したホルモン前駆体の再吸収、加水分解、ホルモンの輸送や分泌に濾胞内Tgが関与するかどうかは不明であった。

そこで、本研究の目的は、甲状腺ホルモントランスポーターであるmonocarboxylate transporter 8 (MCT8)とホルモン輸送に関わる μ クリスタリン(CRYM)の発現が濾胞内Tgとどのような関係にあるかを明白にすることである。

方 法

インスリンとTSH存在下で培養したラット甲状腺FRTL-5細胞に、濾胞内下限濃度である10 mg/mlのTg、あるいはコントロールとして同濃度のBSAを添加した。Tgの濃度や時間経過を観察し、MCT8とCRYM、及びTgによって抑制されることが明らかなNIS遺伝子をrealtime PCRを用いて評価をした。同様に、NIS、MCT8およびCRYMもそれぞれに特異的な抗体を用いてウエスタンブロッティングを行い、タンパク量の変動も検証した。

更に、ラット甲状腺組織でのMCT8の局在を確認するためラットの甲状腺組織切片を用いて、NISとMCT8の免疫蛍光染色を行った。

結 果

FRTL-5細胞にTgを添加し、時間ごとに観察するとBSAでは変化がみられないが、これまでの報告と同様にNISのmRNA発現量は強く抑制された。一方、MCT8の発現量は一過性に軽度減少した後、48時間以降増加した。CRYMの発現量も時間とともに増強し、この作用はTg濃度依存性であった。

次に、NIS、MCT8およびCRYMに対する抗体を用いてウエスタンブロッティングを行い、タンパク量の変動を評価すると、NISのタンパク発現はTgによって減少したが、MCT8およびCRYMのタンパク発現は、mRNAの結果と同じく強く誘導された。

更に、TSHの影響を検討するためTSH非存在下で培養した細胞にTSHを添加し、更に48時間後にTgを添加してみたところ、NISはTSHで発現量が回復し、Tgによって減少したのに対し、MCT8はTSHによって抑制されたのち、Tgによって発現量が増加した。CRYMはTSHの影響は受けず、Tgによって発現量は増強した。

また、ラット甲状腺組織切片の蛍光染色によりMCT8はNISとともに基底膜上に共局在することを確認した。

考 察

甲状腺ホルモントランスポーターであるMCT8と甲状腺ホルモンを輸送する働きのCRYMのmRNAとタンパク発現はTg依存的に増加した。ホルモン合成時に働く遺伝子にTgがネガティブフィードバック的に抑制したのとは対照的である。MCT8はTSHの影響を受けながら、濾胞内Tgに依存してホルモン分泌をしていることが明らかになり、細胞内のホルモン輸送に関してもTgによって制御されたCRYMの働きが大きいことが示唆された。

しかし、濾胞内TgによるMCT8やCRYMの発現増強が、実際のホルモン分泌や輸送の増強につながるのかどうかは今後の研究課題である。

結 論

FRTL-5細胞では、Tg添加により、ホルモン合成に関わるNISの発現は強く抑制されるのに対し、ホルモン分泌や輸送に関わるMCT8およびCRYMは、Tgによって発現が増強し、この変化は、Tg濃度依存性に認められた。同様のことがタンパク量の変動でも確認され、これらの結果から濾胞内Tgはホルモンの合成だけでなく、輸送や分泌の時にもそれぞれの遺伝子調節をしていることが明らかになった。