

主 論 文 要 旨

報告番号	① 乙 第	号	氏 名	志 村 和 浩
主 論 文 題 名 Familial Non-Autoimmune Hyperthyroidism Caused by an Extracellular Domain Variant (p.Leu267Phe) of the TSH Receptor (TSH受容体の細胞外ドメインバリエント (p.Leu267Phe) による家族性非自己免疫性甲状腺機能亢進症の研究)				
(内 容 の 要 旨) 非自己免疫性甲状腺機能亢進症 (Non-autoimmune hyperthyroidism : NAH) は、甲状腺刺激ホルモン受容体(Thyroid stimulating hormone receptor : TSHR)をコードするTSHR遺伝子の生殖細胞系列の活性化バリエントによって引き起こされる、まれな遺伝性疾患である。NAHの原因となるTSHRバリエントの多くは、TSHRの7回膜貫通ドメインに存在する。しかし、3つのバリエント (p.Leu267Phe、p.Ser281Asn、p.Asn406Ser) のみ細胞外ドメインに存在し、そのうちp.Leu267Pheはこれまで機能解析はなされていないバリエントである。 日本人NAHの一家系において、直接シーケンス法を用いて、TSHR遺伝子を解析し、ヘテロ接合性にTSHRバリエント (p.Leu267Phe) を同定した。クライオ電子顕微鏡構造に基づき、通常のリガンド結合時と非結合時のTSHRの立体構造を比較した結果、Leu267周辺の細胞外ドメイン構造に顕著な変化を認めた。さらに、3つの細胞外ドメインバリエント (p.Leu267Phe、p.Ser281Asn、p.Asn406Ser) と、Leu267をロイシンおよびフェニルアラニン以外の18種類のアミノ酸に置換した一連のバリエントを作成した。HEK293細胞を用いたルシフェラーゼ活性アッセイにより、これらのバリエントのcAMP産生能を野生型TSHRと比較した。Leu267Phe-TSHRのリガンド非依存的なcAMP産生能は、野生型TSHRに対して238±20% (平均±標準誤差) であった。Leu267を他の19種類のアミノ酸に置換したバリエントの中で、Leu267Phe-TSHRとLeu267Tyr-TSHRのみが有意に高いリガンド非依存的cAMP産生能を示した。また、ウェスタンブロットおよび蛍光免疫染色を用いて、Leu267Phe-TSHRと野生型TSHRを比較した結果、Leu267Phe-TSHRはタンパク質発現レベルや細胞内局在に影響を与えないことを確認した。 Leu267Phe-TSHRはNAHの原因となることを、細胞を用いた実験系で証明した。Leu267が一部の芳香族アミノ酸に置き換えわることで立体構造が変化し、TSHRの平衡状態がより活性化に向かうようシフトすると考える。				