

21. オキシステロール産生酵素（コレステロール 25-ヒドロキシラーゼ）のインスリン様成長因子等による活性制御

生化学

篠原安武, 安戸博美, 堀端康博, 杉本博之

生体内にはコレステロールが水酸化されたオキシステロールが存在し, その生理作用が近年注目されている. 細胞はコレステロールを水酸化しオキシステロールを産生する酵素を有することが知られ, 内因性オキシステロール産生を制御する酵素の活性調節機構に興味を持った. その中で, コレステロールの 25 位炭素を水酸化するコレステロール 25-ヒドロキシラーゼ (Ch25h) は NIH3T3 細胞で十分な発現が認められた. また, 細胞培養液中の FBS により Ch25h の転写が抑制されることも見出した. 今回, 我々は, FBS 中に存在する CH25H の転写抑制因子の同定及びその物質の Ch25h への転写の影響に関して研究を進めた.

FBS を C (クロロホルム) /M (メタノール) 分画し脂質層や水層に分離・抽出したところ, FBS 水層に Ch25h の転写抑制作用が認められた. 本転写抑制因子精製のため, FBS (C/M 抽出) 水層を HPLC-C18 逆相クロマトで分画した結果, Fraction 11 に Ch25h 転写抑制が認められた. そこで HPLC-C18-Fr.11 を LC-MS/MS で解析したところ, 転写抑制因子の候補として insulin like growth factor-II (IGF-II) を同定した. NIH3T3 細胞に市販の IGF-II, インスリン, グルカゴンを追加したところ, IGF-II 添加により CH25H mRNA 量は低下した. インスリン添加でも CH25H の mRNA 量は低下したが, グルカゴン添加では反対に増加した. 以上から, IGF, インスリン, グルカゴンにより Ch25h は転写調節を受けることが明らかになった. このことから, 細胞内 25-HC 量が増加すると推測され, 25-HC はこれらホルモンの細胞内シグナルを担う可能性が示唆された.

22. ヨードトランスポーター SLC26A7 の機能喪失は先天性甲状腺機能低下症を引き起こす

病理学

石井 順, 矢澤華子, 柏木維人, 矢澤卓也

【目的】甲状腺ホルモンは, 甲状腺濾胞内腔へと輸送されたヨウ素を原料に合成される. ヨウ素は濾胞上皮細胞膜上に発現するヨウ素輸送体・SLC26A4 により輸送されるが, SLC26A4 遺伝子が機能せずとも甲状腺ホルモンが合成され得ることから, 甲状腺には他にもヨウ素輸送体が存在すると考えられていた. データベース解析の結果, 腎の陰イオン輸送体 SLC26A7 が甲状腺でも高度に発現していたことから, SLC26A7 が甲状腺のヨウ素輸送体であると仮説を立てて検証した.

【方法】ヒト甲状腺組織における SLC26A7 の発現を, 免疫組織化学および RT-PCR 法で解析した. SLC26A7 のヨウ素輸送能を, SLC26A7 遺伝子導入培養細胞を用いた放射性ヨウ素輸送実験, パッチクランプ法, ヨウ素感受性蛍光タンパクを用いた方法で解析した. 先天性甲状腺機能低下症の兄妹患者家族のエクソン配列を全エキソーム解析で調べた.

【結果】SLC26A7 は甲状腺の濾胞上皮細胞の内腔側で強く発現する傾向がみられた. 培養細胞に導入した SLC26A7 は, 細胞膜の側面および頭頂側に局在した. SLC26A7 導入細胞は細胞内のヨウ素を頭頂側より細胞外へ輸送すると考えられた. 先天性甲状腺機能低下症兄妹の SLC26A7 遺伝子にホモ接合性のナンセンス変異が認められた. 患者の変異型 SLC26A7 を培養細胞に導入すると, 細胞膜での発現局在とヨウ素輸送能が損なわれていた.

【考察】甲状腺で発現していた SLC26A7 はヨウ素輸送能を有しており, 甲状腺のヨウ素輸送体として機能すると考えられた. 先天性甲状腺機能低下症の兄妹では, SLC26A7 以外には甲状腺機能に関連する遺伝子に変異は認められなかったことから, SLC26A7 が原因遺伝子であると考えられた.

【結論】SLC26A7 は甲状腺のヨウ素輸送体であり, 先天性甲状腺機能低下症の原因遺伝子であると考えられた.