



## Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士 (医学)
報告番号	甲第1921号
学位記番号	第1355号
氏名	山口 直哉
授与年月日	令和4年9月26日
学位論文の題名	<p>The iodide transporter Slc26a7 impacts thyroid function more strongly than Slc26a4 in mice (ヨードトランスポーターSlc26a7 はマウスにおいて Slc26a4 と比べ甲状腺機能により強く影響を与える)</p> <p>Scientific Reports 2022 Jul 4; 12(1): 11259.</p>
論文審査担当者	主査： 片岡 洋望 副査： 岩崎 真一, 加藤 洋一

## 論文内容の要旨

【背景】これまで甲状腺濾胞細胞の管腔側で働く既知のヨードトランスポーターとして SLC26A4 が同定されていた。ただし SLC26A4 の機能喪失で発症する Pendred 症候群では半数以上が甲状腺機能は正常であることから管腔側で働く他のヨードトランスポーターの存在が示唆されていた。そこで我々は 2019 年に SLC26A7 が SLC26A4 と同様に甲状腺濾胞細胞管腔側でヨードの輸送に関与し、先天性甲状腺機能低下症 (CH) の新規原因遺伝子であることを報告した。しかし SLC26A7 と SLC26A4 はどちらも管腔側のヨードトランスポーターであり、かつその機能喪失が CH をきたすという共通点はあるものの、それぞれの生体内での詳細な役割は未解明のままである。

【目的】 *Slc26a7*、*Slc26a4* 遺伝子異常のマウスでの表現型の違いおよびそれぞれの遺伝子の甲状腺でのヨード輸送における役割を明らかにする。

【方法】 CRISPR/Cas9 システムを用いて *Slc26a7* と *Slc26a4* のノックアウト (KO) マウスを作成し、交配によってダブルノックアウト (DKO) マウスを得た。これらのマウスを用いて表現型の解析と甲状腺組織の RNA-seq 解析を行った。

【結果】 *Slc26a7*KO マウスではヒトと同様に、甲状腺腫を伴う甲状腺機能低下がみられ、通常食では軽度の成長障害を認めた (*Slc26a7*KO:  $24.2 \pm 2.3$  g vs. 野生型:  $27.5 \pm 1.4$  g;  $P < 0.001$ )。また母体マウスに低ヨード食を与えて胎児期から低ヨード環境に暴露すると、*Slc26a7*KO マウスは著明な成長障害をきたし離乳後に全仔死亡したが、LT4 の投与により救命できることを確認した。それに対して *Slc26a4*KO マウスでは同様の低ヨード環境でも成長障害はみられず、甲状腺機能は正常のまま維持された。DKO マウスに関しては、通常食でも *Slc26a7*KO マウスより重度の成長障害が認められた (DKO:  $19.0 \pm 1.1$  g vs. *Slc26a7*KO:  $24.2 \pm 2.3$  g;  $P < 0.001$ )。野生型マウスの RNA-seq による甲状腺の遺伝子発現解析では、*Slc26a7* は *Slc26a4* と比較して明らかに発現量が多かった。また *Slc26a7*KO マウスでは *Slc26a4*KO マウスと比べ、発現変動遺伝子 (DEG) の数が有意に多かったが、その中でも甲状腺ホルモン合成に関わる遺伝子に限定して *Slc26a7*KO マウスの DEG を解析すると *Slc26a4* の発現が最も増加していることが確認された。

【考察】それぞれの KO マウスの表現型と野生型マウスにおける発現量の違いから、マウスでは SLC26A7 は SLC26A4 より極めて強くヨード輸送や甲状腺機能の維持に関与していると考えられる。ただし DKO マウスが *Slc26a7*KO マウスより成長障害の程度が強いことおよび、*Slc26a7*KO マウスにおいて *Slc26a4* が最も発現変動が大きいことから、*Slc26a4* は発現量が少ないものの、*Slc26a7* を補完するような働きを持っている可能性が示唆される。

【結論】マウスの甲状腺濾胞細胞の管腔側におけるヨード輸送では SLC26A4 は補助的な役割に留まり、SLC26A7 が主役である。

## 論文審査の結果の要旨

【背景】これまで甲状腺濾胞細胞の管腔側で働く既知のヨードトランスポーターとして SLC26A4 が同定されていた。ただし SLC26A4 の機能喪失で発症する Pendred 症候群では半数以上が甲状腺機能は正常であることから管腔側で働く他のヨードトランスポーターの存在が示唆されていた。我々は 2019 年に SLC26A7 が SLC26A4 と同様に甲状腺濾胞細胞管腔側でヨードの輸送に関与し、先天性甲状腺機能低下症 (CH) の新規原因遺伝子であることを報告した。しかし SLC26A7 と SLC26A4 はどちらも管腔側のヨードトランスポーターであり、かつその機能喪失が CH をきたすという共通点はあるものの、それぞれの生体内での詳細な役割は未解明のままである。【目的】 *Slc26a7*、*Slc26a4* 遺伝子異常のマウスでの表現型の違いおよびそれぞれの遺伝子の甲状腺でのヨード輸送における役割を明らかにする。

【方法】 CRISPR/Cas9 システムを用いて *Slc26a7* と *Slc26a4* のノックアウト (KO) マウスを作成し、交配によってダブルノックアウト (DKO) マウスを得た。これらのマウスを用いて表現型の解析と甲状腺組織の RNA-seq 解析を行った。【結果】 *Slc26a7*KO マウスではヒトと同様に、甲状腺腫を伴う甲状腺機能低下がみられ、通常食では軽度の成長障害を認めた。また母体マウスに低ヨード食を与えて胎児期から低ヨード環境に暴露すると、*Slc26a7*KO マウスは著明な成長障害をきたし離乳後に全仔死亡したが、LT4 の投与により救命できることを確認した。それに対して *Slc26a4*KO マウスでは同様の低ヨード環境でも成長障害はみられず、甲状腺機能は正常のまま維持された。DKO マウスに関しては、通常食でも *Slc26a7*KO マウスより重度の成長障害が認められた。野生型マウスの RNA-seq による甲状腺の遺伝子発現解析では、*Slc26a7* は *Slc26a4* と比較して明らかに発現量が高かった。また *Slc26a7*KO マウスでは *Slc26a4*KO マウスと比べ、発現変動遺伝子 (DEG) の数が有意に多かったが、その中でも甲状腺ホルモン合成に関わる遺伝子に限定して *Slc26a7*KO マウスの DEG を解析すると *Slc26a4* の発現が最も増加していた。【考察】それぞれの KO マウスの表現型と野生型マウスにおける発現量の違いから、マウスでは SLC26A7 は SLC26A4 より極めて強くヨード輸送や甲状腺機能の維持に関与していると考えられる。ただし DKO マウスが *Slc26a7*KO マウスより成長障害の程度が強いことおよび、*Slc26a7*KO マウスにおいて *Slc26a4* が最も発現変動が大きいことから、*Slc26a4* は発現量が少ないものの、*Slc26a7* を補完するような働きを持っている可能性が示唆される。

【結論】マウスの甲状腺濾胞細胞の管腔側におけるヨード輸送では SLC26A4 は補助的な役割に留まり、SLC26A7 が主役である。

【審査の内容】約 20 分間のプレゼンテーションの後に、主査の片岡から、*Slc26a7* 遺伝子改変マウスが frameshift 変異と deletion の 2 系統がある理由、*Slc26a7* の腎臓や胃での表現型の評価、*Slc26a7* は *Slc26a4* と同様に内耳で発現しているかなどについて、計 10 項目の質問をした。第一副査の岩崎教授からは、Double-KO マウスのジェノタイプについて、マウスの血清学的な評価で day45 では FT4 が低下し day90 では FT4、FT3 とともに低下する理由、*Slc26a7*KO マウスで難聴が起こらない理由、RNA-seq と RT-qPCR の使い分けなどについて計 5 項目の質問がなされた。第 2 副査の加藤教授からは、トランスポーターの分類、能動輸送をしているトランスポーターの例、SLC26A7、SLC26A4 と SLC5A5 の局在の違いなどについて計 10 項目の質問がなされた。いずれに対しても概ね満足のいく回答が得られ、学位論文の主旨を十分理解していると判断した。本研究は、新規ヨードトランスポーター SLC26A7 がマウスにおいて甲状腺機能の維持や甲状腺でのヨード輸送において重要な役割を果たしていることを示した論文であり、意義がある。以上をもって本論文の著者には、博士 (医学) の称号を与えるに相応しいと判断した。

論文審査担当者 主査 片岡 洋望

副査 岩崎 真一、加藤 洋一