

---

**ミニ・レビュー**

---

**甲状腺ホルモン受容体 (TR) による遺伝子発現調節と TR 遺伝子異常  
- 甲状腺ホルモン不応症モデルマウスに発生する下垂体 TSH 産生腫瘍 -**

古元礼子

山口大学医学部情報解析医学系・生化学第一講座 宇部市南小串 1 丁目1-1 (〒755-8505)

**Key words :** 甲状腺ホルモン, 甲状腺ホルモン受容体, 甲状腺刺激ホルモン,  
甲状腺ホルモン不応症, TSH産生腫瘍**和文抄録**

甲状腺ホルモン (T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>) は発生, 成長, 代謝において重要な働きをしているが, その作用は甲状腺ホルモン受容体 (TR) を介して発現する. TR は核内受容体スーパーファミリーに属するリガンド依存性の転写調節因子であり, 標的遺伝子の発現を調節する. ヒトの TR 遺伝子の異常は甲状腺ホルモン不応症 (RTH) として報告され,  $\alpha$  と  $\beta$  の 2 つの TR 遺伝子のうち, TR  $\beta$  遺伝子の欠損または変異によるホルモン作用の異常である. TR  $\beta$  を優位に発現する下垂体では甲状腺刺激ホルモン (TSH) に対するネガティブフィードバックが破綻する. 今回, 我々は RTH 患者で同定された TR  $\beta$  遺伝子の変異を導入した遺伝子改変マウスを解析した. この変異 TR  $\beta$  (TR  $\beta$  PV) はリガンド結合部位のアミノ酸置換のためリガンドが結合できない. TR  $\beta$  PV/PV マウスは血中 T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, TSH の著しい上昇を示し, 半年齢から下垂体が野生型の 2 倍以上に増大した. 病理組織学的には多発性の TSH 産生腫瘍を認めた. コントロールとして TR  $\beta$  PV/PV マウスと同様に著しい T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, TSH の上昇を示す TR  $\alpha$  1<sup>-/-</sup>, TR  $\beta$  <sup>-/-</sup> マウス (TR  $\alpha$  1 と TR  $\beta$  を欠損する) を解析した. TR  $\alpha$  1<sup>-/-</sup>, TR  $\beta$  <sup>-/-</sup> マウスは TSH に対するネガティブフィードバックが破綻し, 下垂体から TSH を激

しく産生するにもかかわらず, 下垂体は正常であった. 腫瘍の発生にリガンドの結合しない変異 TR  $\beta$  が重要である可能性が示唆された. cDNA マイクロアレイによる遺伝子発現解析より, TR  $\beta$  PV/PV マウスに発生する TSH 産生腫瘍では cdc2, cyclin D1 など細胞周期, 細胞増殖に関連する遺伝子の発現が上昇していた. TR  $\beta$  PV の機能解析により, リガンドの結合しない TR  $\beta$  PV を介して cyclin D1/CDK/Rb/E2F シグナルが活性化され, 腫瘍の発生に関わっている可能性が示唆された.

**はじめに**

甲状腺ホルモンは発生, 成長, 代謝において不可欠であることが古くから知られていた. 先天性甲状腺機能低下症 (クレチン症) はヨード欠乏や甲状腺形成不全によるものが多く, 早期に甲状腺ホルモンの補充を行わないと重篤な成長障害や中枢神経系の障害を起こす. 後天性甲状腺機能低下症は粘液水腫とも呼ばれ, 代謝異常, 気力低下やうつ症状など, 種々の臓器の機能障害をきたす. 一方, 甲状腺機能亢進症はバセドウ病によるものが多いが, 代謝の亢進, 不眠, イライラ, 動悸, 頻脈などを示し, 不整脈から時に死に至ることもある. このように甲状腺疾患は決して見逃せない疾患であるが, ホルモンの補充・抗甲状腺剤などによる治療が確立しており, 目新しい領域ではなかった. しかし, 近年の甲状腺

ホルモン受容体 (TR) 遺伝子のクローニング以降、TRが核内受容体スーパーファミリーに属し、ホルモン依存性に標的遺伝子の転写調節を行うことが明らかとなった。また甲状腺ホルモン不応症の原因がTRの遺伝子異常であり、マウスモデルの解析も進み、視床下部-下垂体-甲状腺のフィードバック制御について分子レベルでの新しい知見が報告されている。本稿では、TRを介した転写調節とTR遺伝子異常に関連する疾患について、最近の知見を交えて解説・考察したい。

甲状腺ホルモン受容体 (TR) による遺伝子発現調節

甲状腺ホルモン (3,3',5-triiodo-L-thyronine : T3 ; thyroxin : T4) は発生、成長、代謝において重要な働きをしているが、その作用は甲状腺ホルモン受容体 (thyroid hormone receptor : TR) を介して発揮される<sup>1)</sup>。TR遺伝子は1983年にがん原遺伝子c-erbAに相同性が高い遺伝子としてクローニングされた<sup>2)</sup>。TRはステロイドホルモン受容体やビタミンD受容体と同じ核内受容体スーパーファミリーに属す。ヒトのTRには第17染色体に  $\alpha$  と第3染色体に  $\beta$  の2つの遺伝子が存在し、alternative splicingによって  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  の4つのアイソフォームが産生される (図1)。TRはN末の転写活性化ドメイン、DNA結合ドメインとC末のリガンド結合ドメインを共通の蛋白構造とする。体内での分布はTR  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$  はほとんどすべての臓器で発現するが、TR  $\beta 2$  は視床下部、下垂体、発生過程の耳に発現し、臓器と時期特異的に機能を発揮する。なお、TR  $\alpha 2$  はC末が独特のアミノ酸配列のため、リガンド結合能を持たない。

TRはリガンド依存性の転写調節因子で、標的遺伝子のプロモーター上の甲状腺ホルモン応答配列 (thyroid hormone responsive element : TRE (図2)) という一定の塩基配列にレチノイドX受容体 (retinoid X receptor : RXR) とヘテロダイマーを形成する (図3)<sup>3)</sup>。リガンドである甲状腺ホルモンがTRに結合すると、蛋白の立体構造が変化して標的遺伝子の発現が誘導される。甲状腺ホルモンは古くから成長、発達、代謝において重要であることが知られていたが、その作用機序はTRを介した標的遺伝子の発現調節である (表1)。甲状腺機能亢

進症ではTRの標的遺伝子の発現が上昇し、甲状腺機能低下症では逆に低下することで症状が発現する。甲状腺ホルモンの分泌を制御する下垂体や視床下部では他の臓器と異なり、甲状腺刺激ホルモン (TSH) やTSH放出ホルモン (TRH) の遺伝子発現はTRを介して抑制される<sup>4, 5, 6)</sup>。TSHは  $\alpha$  と  $\beta$  の2つのサブユニットから成るが、それぞれの遺伝子発

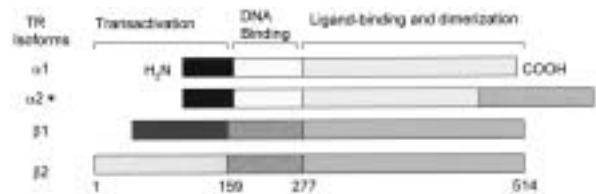


図1 甲状腺ホルモン受容体の蛋白構造  
Thyroid hormone receptors (TR)

甲状腺ホルモン受容体はN末の転写活性化ドメイン、DNA結合ドメイン、C末のリガンド結合ドメインを共通の蛋白構造とする。 $\alpha$  と  $\beta$  の2つの遺伝子があり、4つのアイソフォームの  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  が臓器・時期特異的に発現する。

- 1) TR  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ , and  $\beta 1$  : ほとんどすべての臓器で発現
- 2) TR  $\beta 2$  : 視床下部, 下垂体前葉, 発育過程の耳に優位に発現

\* TR  $\alpha 2$  はリガンド結合能を持たない

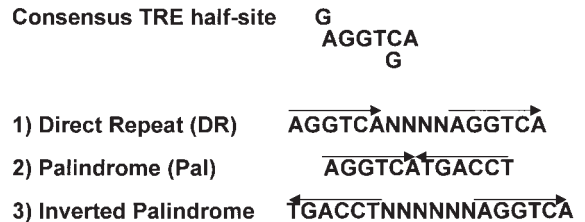


図2 甲状腺ホルモン応答配列  
(thyroid hormone responsive element : TRE)

表1 TRの標的臓器における生理的作用 (文献1より)

標的臓器・細胞	生理的作用 (遺伝子発現調節)
骨・骨芽細胞 破骨細胞	alkaline phosphatase ↑, osteocalcin ↑, IGF-1 ↑ hydroxyproline, pyridinium, deoxypyridinium など破骨細胞マーカーの尿中排泄増加
心臓・心筋細胞	myosin heavy chain ↑ sarco/endoplasmic reticulum Ca <sup>2+</sup> -ATPase (SERCA2) ↑
肝臓	リンゴ酸酵素 ↑, グルコース6リン酸脱水素酵素 ↑, 脂肪酸合成酵素 ↑, コレステロール代謝酵素 など ↓
脂肪組織・白色脂肪 褐色脂肪	酸素消費 ↑, リンゴ酸酵素 ↑, 脂肪酸合成酵素 ↑, グルコース6リン酸脱水素酵素 ↑, 脂肪分解 ↑ uncoupling proteins 3 ↑
脳・大脳皮質形成 小脳皮質形成 視床下部	軸索伸長・樹状突起形成 顆粒細胞の増殖と移動、プルキンエ細胞の樹状突起形成 TSH 放出ホルモン (TRH) ↓
下垂体	成長ホルモン ↑, 甲状腺刺激ホルモン (TSH) ↓

現はTRを介して抑制される (図4)。つまり、血中T3濃度が低い状態ではTSH遺伝子の転写が活性化されているが、血中T3濃度が上がると、下垂体TSH産生細胞のTRβにT3が結合し、TSH遺伝子のプロモーター上でTRβの蛋白立体構造が変化することで転写抑制因子が引き寄せられ、遺伝子発現が抑制される<sup>7)</sup>。これが甲状腺ホルモンによる下垂体へのネガティブフィードバックにおけるメカニズムの1つである。

### TRの遺伝子異常 (甲状腺ホルモン不応症)

TRの遺伝子異常はヒトでは甲状腺ホルモン不応症 (resistance to thyroid hormone : RTH) として知られる<sup>8)</sup>。その本態はTRβ遺伝子の完全欠損、ま

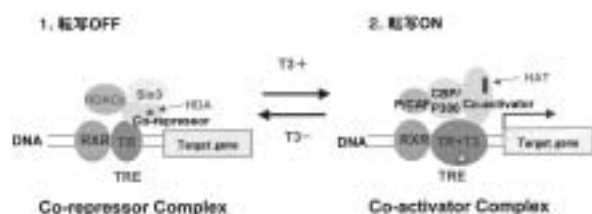


図3 TRはリガンド依存性の転写調節因子

1. 甲状腺ホルモン受容体TRは標的遺伝子のプロモーター上の甲状腺ホルモン応答配列 (thyroid hormone responsive element : TRE) という一定の塩基配列にRXRとヘテロダイマーを形成して存在する。
2. TRにリガンドであるT3が結合すると、転写活性化複合体が形成され標的遺伝子の転写が開始される。

T3 : 3, 3', 5-triiodo-L-thyronine ; RXR : Retinoid X receptor ; HDA : Histone deacetylase ; HAT : Histone transacetylase

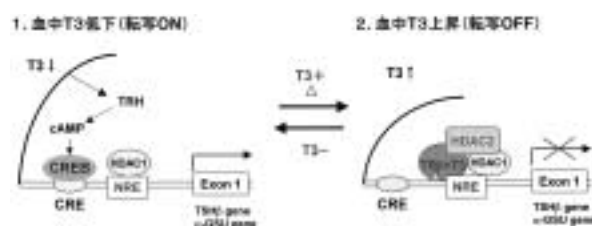


図4 TRはリガンド依存性にTSH遺伝子発現を抑制する

1. 血中T3値が低い時は視床下部から分泌されるTRHの作用により、TSH産生細胞内のcAMP濃度が上昇してTSHサブユニット遺伝子の転写が活性化される。
2. TSHの作用で甲状腺ホルモンが分泌されると、TSH産生細胞内のTRβにT3が結合し、転写抑制因子がリクルートされ、TSHサブユニット遺伝子の転写が抑制される。

CRE : cAMP-responsive element ; CREB : cAMP responsive element binding protein ; NRE : Negatively regulatory element ; HDAC : Histone deacetylase (文献7より)

たはTRβ遺伝子のリガンド結合部位の変異による、標的臓器・細胞でのホルモン作用の欠乏である。ほとんどの臓器ではTRαとTRβの2つのアイソフォームがお互い作用を補いあっているが、RTHではTRβが優位に存在する視床下部や下垂体で甲状腺ホルモン欠乏症状が現れる。標的遺伝子である成長ホルモンなどの発現は低下し、TSHやTRHはTRβを介した転写抑制がかからないため、逆に上昇する。患者はTSH上昇を伴う甲状腺機能亢進症を示す。ここで興味深いのは、TRβ遺伝子欠損によるRTHは常染色体劣性遺伝形式を示すのに対し、TRβ遺伝子リガンド結合部位の変異によるRTHは常染色体優性遺伝形式を示すことである。TRβ遺伝子欠損によるRTH患者はホモ接合体であり、ヘテロ接合体は無症状のcarrierである<sup>9)</sup>。TRβ遺伝子欠損のヘテロ接合体は片方のalleleは正常であるので、TRβの蛋白レベルは健常者の半分と考えられ、正常のTRβが半分あれば量的には問題が無いといえる。一方、TRβ遺伝子変異によるRTH患者は、血族婚による1例を除いてすべてヘテロ接合体と報告されている<sup>1, 8)</sup>。TRβ遺伝子変異のヘテロ接合体は、蛋白レベルでは正常TRβと変異TRβが半分ずつ存在すると考えられるが、甲状腺ホルモン作用が不足する。その理由として、変異TRβは標的遺伝子のプロモーター上のTREには結合するが、リガンドであるホルモンが結合せず、転写調節機能を発揮しないドミナントネガティブ分子であるためと考えられる。これまで、RTHは約100家系が報告されているが、TRβ遺伝子欠損の常染色体劣性遺伝性RTHは1家系のみで、あとはすべてTRβ遺伝子変異による常染色体優性遺伝性である。常染色体優性遺伝性RTHではいくつかのホットスポットが報告されており、TRβ遺伝子のリガンド結合部位に集中している。その変異はアミノ酸1個の置換からアミノ酸の欠損、フレームシフトまで様々である<sup>1)</sup>。症状も変異TRβのリガンド結合能によって異なり、軽度のホルモン値異常のみでほとんど無症状の症例から、高度の成長障害・発達障害・難聴を示す重篤な症例まで様々である。

### 甲状腺ホルモン不応症モデルマウスの解析

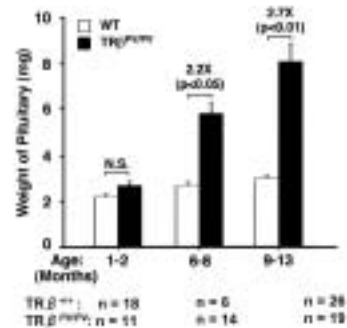
TRの機能を明らかにしRTHの病態を解明するため、様々なTR遺伝子改変マウスが作成されている。TRの2つのアイソフォームであるTR $\alpha$ とTR $\beta$ は互いに作用を補い合うため、それらのシングルノックアウトマウスは比較的軽い表現型を示す。TR $\alpha$ 1は心機能や基礎代謝に関する遺伝子発現を調節するので、TR $\alpha$ 1 $^{-/-}$ は低体温、低心拍数を示すが、TR $\alpha$ 1 $^{+/-}$ は、ほぼ正常である<sup>10)</sup>。TR $\beta$ は下垂体、発育過程の耳で発現が優位なので、TR $\beta$  $^{-/-}$ は難聴、甲状腺ホルモン値とTSHの上昇（正常の数倍）を示すが、TR $\beta$  $^{+/-}$ は表現型を認めない<sup>11)</sup>。唯一、TR $\alpha$ 1とTR $\alpha$ 2の両方が欠損するTR $\alpha$  $^{-/-}$ は重篤な表現型を示し、発育不全のため3~4週齢で死亡するが、TR $\alpha$ 2はリガンド結合能を持たないので、このマウスの表現型の解釈は難しいとされる<sup>12)</sup>。

RTHの病因として最も多いのはTR $\beta$ のリガンド結合部位の変異である。よって、RTHのモデルとして、TR $\beta$ の変異を導入したノックインマウスの解析も行われている<sup>13, 14, 15)</sup>。今回マウスに導入された変異TR $\beta$  (TR $\beta$ PV)は比較的重症のRTH患者で同定された変異で、エキソン10に1塩基の挿入によるフレームシフトの結果、C末のリガンド結合部位に大幅なアミノ酸の置換と追加がおきる<sup>16)</sup>。この変異受容体TR $\beta$ PVはリガンド結合能を欠損し、ドミナントネガティブ作用を示す。TR $\beta$  $^{PV/+}$ はT3, T4とTSHの軽度上昇を示し、通常ヘテロ接合体であるヒトのRTHを再現した<sup>14)</sup>。一方、ホモ接合体であるTR $\beta$  $^{PV/PV}$ は発育障害とT3, T4, TSHの著しい上昇を示した (T3, T4は正常の10~30倍, TSHは正常の100~500倍)。TR $\beta$  $^{PV/PV}$ ではTR $\beta$ が優位に発現する下垂体と視床下部に機能しないドミナントネガティブ分子しか存在しないため、甲状腺ホルモンによる下垂体へのネガティブフィードバックが完全に破綻していると考えられた。ヒトのRTHでは変異TR $\beta$ のホモ接合体は血族婚による1例が報告されているが、患者は激しいホルモン値の上昇、発育障害など重篤な症状を示しており、TR $\beta$  $^{PV/PV}$ の表現型はそれと矛盾しない。

### 甲状腺不応症モデルマウスに発生する下垂体TSH産生腫瘍

TR $\beta$  $^{PV/PV}$ はTSHの著しい上昇を示し、下垂体から無制御にTSHが産生・分泌されている。このマウスの下垂体は加齢に伴い重量が増加し、6ヵ月齢以上では野生型の2倍に達した。肉眼的にも下垂体は腫大し、腫瘍形成を伴い、病理組織学的には下垂体に多発性のTSH産生腫瘍 (TSHoma) を認めた (図5, 6)<sup>17)</sup>。TSHomaは下垂体のTSH産生細胞 (thyrotroph) 由来の腫瘍で、腫瘍細胞からの自律性のTSH産生が特徴である。患者はTSHの上昇を伴うT3, T4の上昇、甲状腺腫や甲状腺機能亢進症状を示し、RTHと鑑別が必要である。ヒトのTSHomaのTR遺伝子については体細胞変異やalternative splicingによるTR $\beta$ のリガンド結合部位の変異が報告されている<sup>18, 19)</sup>。リガンド結合能の無い変異TR $\beta$ が腫瘍細胞からの自律性のホルモン

#### 1) 加齢に伴う下垂体重量の変化



#### 2) TR $\beta$ $^{PV/PV}$ マウスの腫大した下垂体

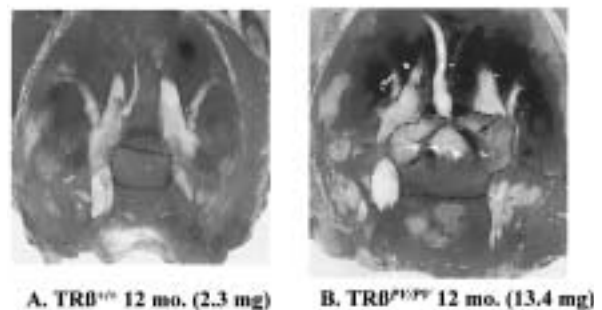


図5 TR $\beta$  $^{PV/PV}$ マウスの下垂体の変化

- 1) 半年齢以上のTR $\beta$  $^{PV/PV}$ は野生型の2倍に下垂体重量が増加した。
- 2) 肉眼的にも腫大した下垂体の表面は出血 (矢印) を認め、腫瘍の形成を伴っていた (文献17より)

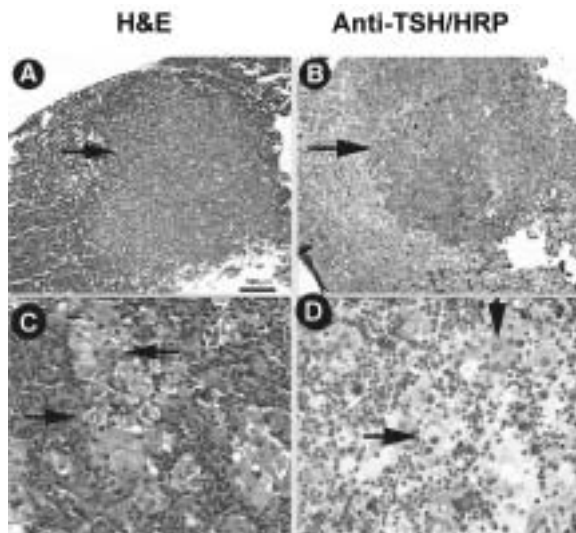


図6 TR $\beta^{PV/PV}$ マウスの下垂体に自然発生するTSH産生腫瘍  
7ヵ月齢のTR $\beta^{PV/PV}$ の下垂体に生じた腫瘍。  
A, B: 弱拡大, 矢印は腫瘍の辺縁を示す。  
C, D: 強拡大, 矢印はThyroprival cellという大形の異型細胞で, ヒトの下垂体では長期の甲状腺ホルモン欠乏状態やTSHomaで認められる。(文献17より)

分泌に関与することが示唆されるが, 我々はリガンド結合能の無いTR $\beta$ がthyrotrophの腫瘍化に関与しているのではないかと考えた。

その仮説を証明するため, 我々はTR $\alpha 1$ とTR $\beta$ のシングルノックアウトを交配して生まれるTR $\alpha 1$ , TR $\beta$ ダブルノックアウトマウス (TR $\alpha 1^{-/-}$ , TR $\beta^{-/-}$ ) の下垂体を解析した。TR $\alpha 1^{-/-}$ , TR $\beta^{-/-}$ は機能するTRが存在せず, 甲状腺ホルモンによるネガティブフィードバックが破綻し, TR $\beta^{PV/PV}$ と同様のT3, T4の上昇, TSHの著しい高値を示す<sup>20)</sup>。ネガティブフィードバックの破綻による自律性のTSH産生がthyrotrophの腫瘍化に関与するなら, このTR $\alpha 1^{-/-}$ , TR $\beta^{-/-}$ の下垂体にもTSHomaが発生すると予測した。結果はTR $\alpha 1^{-/-}$ , TR $\beta^{-/-}$ の下垂体は病理組織学的に変化を認めず, TSHomaは発生しなかった<sup>17)</sup>。TSHの無制御な分泌だけではthyrotrophの腫瘍化には不十分であることが確認された。

TR $\beta^{PV}$ マウスに発生したTSHomaの遺伝子発現の変化をcDNAマイクロアレイで解析したところ, cdc2, cyclin D1など細胞周期, 細胞増殖に関連する遺伝子の発現が上昇していた。ウェスタンブロットで蛋白発現についても上昇を確認した。CDK4, CDK6の発現も上昇しており, cyclin D1シグナルが活性化されていることを確認した。cyclin D1はヒ

トのTSHomaでも発現が上昇することが報告されており, このマウスに発生したTSHomaはヒトの腫瘍と同じメカニズムで発生している可能性が示唆された。これらの遺伝子発現の変化に変異TR $\beta$ がどのように関与しているかを明らかにするために, レポータージーンアッセイとGST-pull downアッセイを行った。その結果, TR $\beta$ にはcAMP応答配列結合蛋白 (cAMP responsive element binding protein; CREB) を介した転写を抑制する作用があり<sup>21)</sup>, 野生型のTR $\beta$ はcyclin D1のプロモーター上のcAMP応答配列 (cAMP responsive element ; CRE) を介する転写をリガンド依存性に抑制すること, 変異型のTR $\beta^{PV}$ にはその転写抑制作用が無いことを確認した<sup>17)</sup>。リガンド結合能の無い変異TR $\beta$ がcyclin D1の遺伝子発現を抑制できないことが, thyrotrophの腫瘍化に関わっている可能性が示唆された。

#### おわりに

TRの生理的機能についての最近の知見に触れながら, 分子レベルでどこまで明らかになっているか解説した。甲状腺ホルモンとその受容体が古くて新しい研究対象であり, 興味を持っていただけると幸いである。

今回検討したTR $\beta^{PV/PV}$ マウスは特発的に下垂体TSH産生腫瘍を発生する腫瘍モデルである。我々の今回の研究では, この腫瘍モデルマウスの遺伝子, 蛋白発現を解析し, 腫瘍発生における変異TR $\beta$ の役割のほんの一部を明らかにしたに過ぎない。今後, さらにこのマウスの解析を行い, ヒトのTSH産生腫瘍の発生のメカニズムの解明や治療法の開発に寄与することを期待したい。

#### 引用文献

- 1) Yen PM. Physiological and molecular basis of thyroid hormone action. *Physiol Rev* 2001 ; 81 : 1097-1142.
- 2) Jansson M, Philipson L, Vennstrom B. Isolation and characterization of multiple human genes homologous to the oncogenes of avian erythroblastosis virus. *EMBO J* 1983 ;

- 2 : 561-565.
- 3) Li D, Li T, Wang F, Tian H, Samuels HH. Functional evidence for retinoid X receptor (RXR) as a nonsilent partner in the thyroid hormone receptor/RXR heterodimer. *Mol Cell Biol* 2002 ; **22** : 5782-5792.
  - 4) Hollenberg AN, Monden T, Flynn TR, Boers ME, Cohen O, Wondisford FE. The human thyrotropin-releasing hormone gene is regulated by thyroid hormone through two distinct classes of negative thyroid hormone response elements. *Mol Endocrinol* 1995 ; **9** : 540-550.
  - 5) Wondisford FE, Farr EA, Radovick S, Steinfeldt HJ, Moates JM, McClaskey JH, Weintraub BD. Thyroid hormone inhibition of human thyrotropin beta-subunit gene expression is mediated by a cis-acting element located in the first exon. *J Biol Chem* 1989 ; **264** : 14601-14604.
  - 6) Tagami T, Park Y, Jameson JL. Mechanisms that mediate negative regulation of the thyroid-stimulating hormone alpha gene by the thyroid hormone receptor. *J Biol Chem* 1999 ; **274** : 22345-22353.
  - 7) Sasaki S, Lesoon-Wood LA, Dey A, Kuwata T, Weintraub BD, Humphrey G, Yang WM, Seto E, Yen PM, Howard BH, Ozato K. Ligand-induced recruitment of a histone deacetylase in the negative-feedback regulation of the thyrotropin beta gene. *EMBO J* 1999 ; **18** : 5389-5398.
  - 8) Refetoff S, Weiss RE, Usala SJ. The syndromes of resistance to thyroid hormone. *Endocr Rev* 1993 ; **14** : 348-399.
  - 9) Takeda K, Sakurai A, DeGroot LJ, Refetoff S. Recessive inheritance of thyroid hormone resistance caused by complete deletion of the protein-coding region of the thyroid hormone receptor-beta gene. *J Clin Endocrinol Metab* 1992 ; **74** : 49-55.
  - 10) Wikström L, Johansson C, Saltó C, Barlow C, Campos Barros A, Baas F, Forrest D, Thorén P, Vennström B. Abnormal heart rate and body temperature in mice lacking thyroid hormone receptor alpha 1. *EMBO J* 1998 ; **17** : 455-461.
  - 11) Forrest D, Erway LC, Ng L, Altschuler R, Curran T. Thyroid hormone receptor beta is essential for development of auditory function. *Nat Genet* 1996 ; **13** : 354-357.
  - 12) Fraichard A, Chassande O, Plateroti M, Roux JP, Trouillas J, Dehay C, Legrand C, Gauthier K, Keding M, Malaval L, Rousset B, Samarut J. The T3R alpha gene encoding a thyroid hormone receptor is essential for post-natal development and thyroid hormone production. *EMBO J* 1997 ; **16** : 4412-4420.
  - 13) Abel ED, Kaulbach HC, Campos-Barros A, Ahima RS, Boers ME, Hashimoto K, Forrest D, Wondisford FE. Novel insight from transgenic mice into thyroid hormone resistance and the regulation of thyrotropin. *J Clin Invest* 1999 ; **103** : 271-279.
  - 14) Kaneshige M, Kaneshige K, Zhu X, Dace A, Garrett L, Carter TA, Kazlauskaite R, Pankratz DG, Wynshaw-Boris A, Refetoff S, Weintraub B, Willingham MC, Barlow C, Cheng S. Mice with a targeted mutation in the thyroid hormone beta receptor gene exhibit impaired growth and resistance to thyroid hormone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000 ; **97** : 13209-13214.
  - 15) Kaneshige M, Suzuki H, Kaneshige K, Cheng J, Wimbrow H, Barlow C, Willingham MC, Cheng S. A targeted dominant negative mutation of the thyroid hormone alpha 1 receptor causes increased mortality, infertility, and dwarfism in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001 ; **98** : 15095-15100.
  - 16) Parrilla R, Mixson AJ, McPherson JA, McClaskey JH, Weintraub BD. Characterization of seven novel mutations of the c-erbA beta gene in unrelated kindreds with generalized thyroid hormone resistance. Evidence for two "hot spot" regions of the ligand binding

- domain. *J Clin Invest* 1991 ; **88** : 2123-2130.
- 17) Furumoto H, Ying H, Chandramouli GV, Zhao L, Walker RL, Meltzer PS, Willingham MC, Cheng SY. An unliganded thyroid hormone  $\beta$  receptor activates the cyclin D1/cyclin-dependent kinase/retinoblastoma/E2F pathway and induces pituitary tumorigenesis. *Mol Cell Biol* 2005 ; **25** : 124-135.
  - 18) Ando S, Sarlis NJ, Oldfield EH, Yen PM. Somatic mutation of TRbeta can cause a defect in negative regulation of TSH in a TSH-secreting pituitary tumor. *J Clin Endocrinol Metab* 2001 ; **86** : 5572-5576.
  - 19) Ando S, Sarlis NJ, Krishnan J, Feng X, Refetoff S, Zhang MQ, Oldfield EH, Yen PM. Aberrant alternative splicing of thyroid hormone receptor in a TSH-secreting pituitary tumor is a mechanism for hormone resistance. *Mol Endocrinol* 2001 ; **15** : 1529-1538.
  - 20) Göthe S, Wang Z, Ng L, Kindblom JM, Barros AC, Ohlsson C, Vennström B, Forrest D. Mice devoid of all known thyroid hormone receptors are viable but exhibit disorders of the pituitary-thyroid axis, growth, and bone maturation. *Genes Dev* 1999 ; **13** : 1329-1341.
  - 21) Méndez-Pertuz M, Sánchez-Pacheco A, Aranda A. The thyroid hormone receptor antagonizes CREB-mediated transcription. *EMBO J* 2003 ; **22** : 3102-3112.

Thyroid Hormone Receptor Mediated Transcriptional Regulation  
and Diseases Caused by TR Gene Mutation  
– TSH – Secreting Pituitary Tumor Developed in Mouse with  
Targeted Mutation in TR  $\beta$  Gene –

Hiroko FURUMOTO

*Biochemistry I. and Biomedical & Biomolecular Science, Yamaguchi University School of Medicine,  
1-1-1 Minami Kogushi, Ube, Yamaguchi, 755-8505, Japan*

**SUMMARY**

Thyroid hormones (T3, T4) play critical roles in development, growth, and metabolism. The action of thyroid hormone is mediated by thyroid hormone receptors (TRs), which are ligand-dependent transcription factors. TRs are encoded by two genes TR  $\alpha$  and TR  $\beta$ . There are four major isoforms produced by alternative splicing, TR  $\alpha$  1, TR  $\alpha$  2, TR  $\beta$  1, and TR  $\beta$  2. Resistance to thyroid hormone (RTH) is a syndrome of disorders of thyroid hormone functions caused by mutation of TR  $\beta$  gene. To investigate the mechanism of RTH, mouse with a targeted mutation of TR  $\beta$  gene was generated. The mutated TR  $\beta$ , TR  $\beta$  PV, which was identified in a patient with RTH, lacks T3-binding activity and acts in a dominant negative manner. TR  $\beta^{PV/PV}$  showed severe RTH, extremely high serum TSH levels in spite of highly elevated thyroid hormone. And they spontaneously developed TSH secreting pituitary tumors. We also analyzed mice lacking all functional TRs, TR  $\alpha$  1<sup>-/-</sup>, TR  $\beta$ <sup>-/-</sup> mice and found that they had normal pituitary in spite of highly elevated TSH levels as TR  $\beta^{PV/PV}$ . These results indicate that the loss in negative regulation of TSH is not sufficient to induce TSHoma and unliganded mutant TR  $\beta$  may play a critical role in the tumorigenesis of thyrotroph.