

文章编号: 1004-0374(2010)04-0352-05

先天性甲状腺功能减退症致病基因的研究进展

王喜英, 张科进, 张富昌*

(西北大学生命科学学院人口与健康研究所, 西安 710069)

摘要 先天性甲状腺功能减退症(congenital hypothyroidism, CH)是由于甲状腺发育不良或甲状腺激素合成障碍所造成的一种疾病。现已证实有多个基因的遗传变异可导致甲状腺发育不良或甲状腺激素合成障碍。这一结果提示, 甲状腺发育不良和甲状腺激素合成障碍与遗传密切相关。该文简单阐述了近年来有关甲状腺激素合成障碍相关基因的研究状况, 并对该领域发展做了展望。

关键词: 先天性甲状腺功能减退症; 甲状腺激素合成; 遗传; 变异; 基因

中图分类号: R582.2; R592.4 **文献标识码:** A

Progress of genetic study on congenital hypothyroidism related genes

WANG Xi-ying, ZHANG Ke-jin, ZHANG Fu-chang*

(Institute of Population and Health, College of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract: Congenital hypothyroidism(CH) is caused by thyroid dysgenesis or by the disturbance of thyroid hormone synthesis. Recent studies have revealed that mutations in some genes can cause thyroid dysgenesis or dysmorphogenesis. These results suggest that thyroid dysgenesis and dysmorphogenesis may be associated with the heredity of the gene. This paper briefly addresses the research progress of genes associated with dysmorphogenesis in recent years, and gives a new prospect of the development in the area.

Key words: congenital hypothyroidism; dysmorphogenesis; heredity; mutation; gene

先天性甲状腺功能减退症(congenital hypothyroidism, CH)是一种最常见的新生儿代谢疾病,在我国,2 000个新生儿中就会有1个CH患儿^[1],如果不及治疗将会引起严重的神经发育障碍。遗传因素是CH的发病原因之一,目前已证实有多个基因的遗传变异均可导致CH。与CH发病相关的基因主要分成两大类:(1)与甲状腺发育不良有关的基因;(2)与甲状腺激素合成障碍有关的基因。约85%病例由甲状腺发育不良引起,甲状腺发育不良多为散发,约2%为家族性;其余15%的病例由甲状腺激素合成障碍引起,为常染色体隐性遗传性疾病,有明显家族性^[2]。近年来,国内外的研究工作者对影响甲状腺发生、发育和甲状腺激素合成过程及其作用的诸多分子生物学机制进行了研究,但是CH的遗传学机制至今尚未完全阐明。随着分子生物学和遗传学的发展,该病的遗传因素越来越受到人们的

关注。现已确定,能影响甲状腺激素合成的基因有甲状腺过氧化物酶、甲状腺球蛋白、*pds*基因、钠碘同向转运体、甲状腺氧化物酶基因。最近,又发现新的与甲状腺激素合成障碍有关的基因。本文对甲状腺激素合成过程中CH易感基因结构、功能和突变的研究进展做一综述。

1 甲状腺及甲状腺素

甲状腺是人体最大的内分泌腺体,其主要作用是合成甲状腺激素。甲状腺滤泡是甲状腺的基本结

收稿日期: 2009-09-09; 修回日期: 2009-10-26

基金项目: 国家“十一五”科技攻关计划项目(2001BA901A49); 陕西省自然科学基金项目(SJ08C236); 陕西省教育厅专项基金项目(08JK468)

*通讯作者: Tel:029-88303328; E-mail:zhfch@nwu.edu.cn

构和功能单位, 由外周的一层上皮细胞和中间的滤泡腔组成。滤泡腔内充满胶体, 其主要成分是甲状腺球蛋白, 它参与甲状腺激素的合成^[3]。人体中的甲状腺激素包括3, 3', 5'-三碘甲腺原氨酸(T3)和3, 5, 3', 5'-四碘甲腺原氨酸(T4), 其中T3是它的主要活性形式, 而T4则是T3的前体和(或)储备形式。

碘是甲状腺激素合成必不可少的原料, 它从血液中被转运到甲状腺滤泡中是由数个转运蛋白介导完成, 主要有2个步骤: (1) 血液中的碘先被转运到甲状腺细胞内。这是甲状腺激素合成的第一步, 也是限速步骤。这一主动转运过程是由位于滤泡细胞基底膜上的转运蛋白——钠碘同向转运体(sodium-iodide symporter, Nis或Slc5a5)介导的。(2) 细胞内的碘被转运到滤泡胶质中, 参与这一转运的主要是位于顶膜上的两个蛋白, 它们分别是pendrin蛋白和人类顶膜碘转运体(human apical iodide transporter, hAit)^[4, 5]。

在甲状腺泡上皮细胞微毛与腺泡交界处, 游离态的碘被甲状腺过氧化物酶(Tpo)活化, 然后与甲状腺球蛋白分子上的酪氨酸残基结合, 生成一碘酪氨酸(MIT)和二碘酪氨酸(DIT), 后两者最终形成三碘甲腺原氨酸(T3)和四碘甲腺原氨酸(T4), 储存于胶质内。这一过程必须有甲状腺氧化物酶(Duox2)

催化合成的H₂O₂的参与。当机体需要甲状腺激素时, 通过吞饮作用, 甲状腺球蛋白从滤泡腔进入腺细胞内, 与溶酶体融合而形成吞噬体, 并在溶酶体蛋白水解酶的作用下, 将T4、T3以及MIT和DIT水解下来。T4和T3分泌至血液, 而未被利用的MIT和DIT在细胞内受碘酪氨酸脱碘酶(Dehal1)的作用而脱碘, 脱下来的碘供重新利用合成甲状腺激素^[3, 6](图1)。

2 CH 相关基因

甲状腺激素合成过程异常是CH的主要因素之一, 而目前所发现的CH敏感基因也多与甲状腺激素的合成过程有关。这些基因从不同方面通过影响碘元素代谢、甲状腺激素合成等过程, 使个体发生CH。从已经报道CH基因的功能出发, 根据它们对机体碘代谢、甲状腺激素形成的作用及其遗传变异造成的结果, 将其划分为四种类型: 碘转运相关基因、甲状腺球蛋白合成相关基因、碘活化相关基因和碘循环相关基因。

2.1 碘转运相关基因

碘转运过程(其中包括由血液进入到细胞中及由胞内到滤泡胶质)是碘代谢乃至甲状腺激素合成的关键环节, 而主要控制该环节的CH基因主要有钠碘同向转运体(*nis*)、*pds*基因和人类顶膜碘转运体(*ait*)

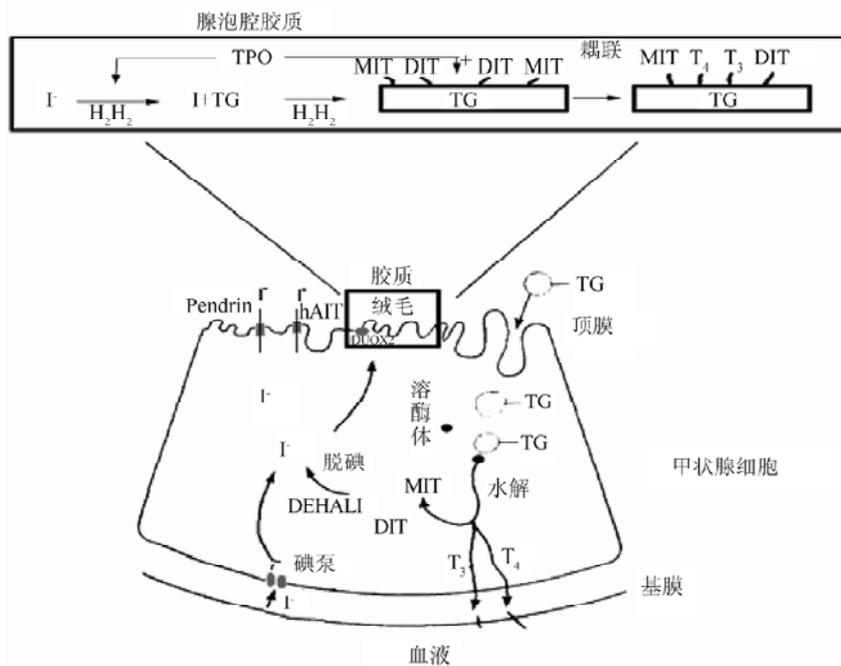


图1 甲状腺激素合成与代谢的基本过程

基因。

2.1.1 人类钠碘同向转运体(*nis*)基因 人类钠碘同向转运体基因(*nis*)又称*slc5a5*,位于人类第19号染色体的短臂上(19p12~13.2),含15个外显子和14个内含子,其编码产物为具有643个氨基酸残基的糖蛋白,是钠/溶质同向转运体家族成员之一。对于人类Nis蛋白的结构有两种观点:(1)Nis蛋白具有12个穿膜结构域且氨基端和羧基端均位于细胞膜的胞浆内,其N-末端位于细胞外,C-末端位于细胞内^[7];(2)Nis蛋白具有13个穿膜结构域,氨基端位于细胞外,羧基端位于细胞内^[8]。Nis蛋白主要表达在甲状腺滤泡细胞基底膜上,通过促甲状腺激素(TSH)依赖的方式完成摄取碘离子的功能,可使碘离子有机化,并进一步螯合。

人类*nis*基因突变可引起碘转运缺陷,是导致个体CH的主要原因之一。自1996年,Smanik等^[9]成功克隆人类*nis*基因以来,目前已经确定该基因有12个突变位点可引起CH^[10,11]。其中位于Nis蛋白的跨膜或胞内结构域的编码序列区域的突变较为常见,可影响到Nis蛋白的成熟、碘摄取能力以及它在滤泡膜上的正确定位等。另外,Wu等^[11]应用定点诱变发现了位于胞外域的一种新的*nis*基因突变类型——226de1H突变。该突变能导致Nis丧失对碘的运输能力。

2.1.2 *pds*基因 1896年,Pendred^[12]报道了一种特殊的常染色体综合征,即Pendred综合征(pendred syndrom, PDS),这种疾病是由于一种Pendrin蛋白功能缺陷所引起的。*pds*基因位于染色体7q22.3~q31,含有21个外显子,其编码蛋白Pendrin是一种含780个氨基酸的高度疏水性跨膜蛋白,具有11或12个跨膜片断^[13,14]。Pendrin是Slc26a(solute carrier family 26a,可溶性转运家族26a)家族成员之一,是一个碘/氯转运蛋白。*pds*基因的转录产物表现出高度的组织特异性:主要表达于人甲状腺组织,在肾脏和内耳也有少量表达^[15,16]。

细胞内的碘通过甲状腺滤泡的顶膜上的Pendrin蛋白进入滤泡腔,并在过氧化物酶的作用下与甲状腺球蛋白(Tg)结合。Pendrin蛋白功能受损后,碘转运过程受到影响,碘则不能有效地进入滤泡腔而引起部分碘的有机化障碍,也是形成Pendred综合征的原因之一。目前在*pds*基因上已经发现了150多种基因变异,大部分属于错意突变^[3]。虽然*pds*基因是CH的易感基因之一,但该基因突变所致的CH很少发生。据Banghova等^[17]报道的197例CH患者

中,仅有2名患者是由*pds/slcl26a4*基因突变所致。因此,*pds*基因在机体的碘转运过程中具体起什么重要作用,以及它的作用形式,还需要进一步研究。

2.1.3 人类顶膜碘转运体(*ait*)基因 研究者在定向摧毁小鼠*pds*基因后发现会引起严重的内耳功能障碍,但是其甲状腺功能正常,因此推测在甲状腺滤泡上皮细胞的顶膜上,可能还存在其他的碘转运系统。2002年,Rodriguez等^[5]依据*nis*基因序列的同源性,对肾脏cDNA文库进行筛查,发现了一个新的基因——*ait*,这个基因位于12q23,其编码蛋白含有610个氨基酸,相对分子质量为69k,与*nis*有很高的同源性。免疫组化提示该编码蛋白表达于人甲状腺滤泡细胞的顶膜上,其功能与Pendrin蛋白相同,参与机体的碘转运过程,介导甲状腺细胞内的碘流入滤泡腔中^[18]。但是目前还没有*ait*基因多态性与CH的相关性研究。

2.2 甲状腺球蛋白(Tg)合成相关基因

甲状腺球蛋白(Tg)是在甲状腺滤泡细胞内合成的一种糖蛋白,主要参与甲状腺激素的合成与储存。Tg不仅参与甲状腺激素的合成,而且对甲状腺的功能具有调节作用。人类TG基因长超过30kb,位于染色体8q24,有48个外显子。Kim等^[19]在对小鼠研究时发现,TG基因点突变可以引起严重的先天性甲减(智力和体格发育障碍),并伴有内质网储存病。在人类,现已报道了39种TG基因失活突变,其中包括23种错义突变、5种无意突变、8种剪切位点突变、2种单核苷酸缺失和1种单核苷酸插入突变^[20]。TG基因的失活突变会导致TG蛋白的结构缺陷并滞留在内质网中,从而引起甲状腺激素合成障碍。

2.3 碘活化相关基因

在甲状腺激素合成过程中,甲状腺过氧化物酶(Tpo)是甲状腺激素合成的关键酶,负责碘的活化、酪氨酸残基碘化及碘化酪氨酸的耦联等有机化过程,而这些有机化过程必须有甲状腺氧化酶(Duox2)的参与。Duox2是在甲状腺滤泡细胞质膜顶部表达的一类膜蛋白,是钙依赖性辅酶II(Ca/NADPH)氧化酶的催化活性部分,催化合成H₂O₂,为碘有机化过程提供电子受体。因此,这两个酶编码蛋白的遗传变异也会影响到机体的甲状腺素合成,进而表现出CH。

2.3.1 甲状腺过氧化物酶基因(*tpo*) *tpo*基因定位于2p25,长约150kb,由17个外显子和16个内含子

组成, 在转录水平上受甲状腺转录因子 TTF1、TTF2、Pax8 等的调节。大量研究证明, *tpo* 基因缺陷是甲状腺激素合成障碍最常见的原因, 现已在此基因上发现了 50 多种突变类型, 包括错义突变、无义突变、移码突变、剪切突变和基因缺失突变^[21]。由于 Tpo 蛋白酶的活性取决于正确的蛋白折叠和膜插入以及活性位点的完整性(由外显子 8、9 和 10 编码的血红素结合位点), 因此有三种不同的机制可导致 Tpo 蛋白酶的活性降低: (1) 移码突变会导致蛋白质变短, 跨膜域和膜内域的缺失破坏了 Tpo 在甲状腺滤泡细胞顶膜上的表达; (2) 氨基酸的取代会引起此蛋白的三维结构发生变化或破坏了糖基化序列, 使 Tpo 蛋白定位于内质网中, 而不能在细胞顶膜上表达; (3) 单个氨基酸的改变可能会在不改变 Tpo 整体结构和定位的情况下而破坏了它的功能^[22]。

2.3.2 甲状腺氧化物酶(*thox2*)基因 甲状腺氧化物酶(*thox2*)基因又称 *duox2*。*duox2* 基因定位 15q15.3, 含有 34 个外显子, 其编码的具有功能性的 *Duox2* 是甲状腺激素能正常合成的条件之一。一旦 *duox2* 发生基因突变, 造成 *Duox2* 功能异常, 不能正常提供 H_2O_2 , 使碘不能有机化, 甲状腺激素合成不足, 这是 CH 的发病机制之一。Moreno 等^[23]对 9 例 CH 患者的研究发现, 1 例具有严重 TH 缺乏和完全性碘有机化缺陷的患者存在 *duox2* 基因的纯合性无义突变(c. 1300C3T, p. R434X)。在 8 名轻度暂时性 CH 和部分碘有机化作用缺陷患者中, 3 名患者分别存在 *Duox2* 基因杂合性突变(p. Q686X、p. R701X 和 p. S965fs29X), 这些突变均导致翻译时终止密码子提前出现, 致使 *Duox2* 蛋白变短, 缺乏功能性的 H_2O_2 生成结构域, 如 NADPH 结合区、FAD 结合区等。该研究还发现, *duox2* 双等位基因突变导致永久性甲减, 而其单等位基因突变往往引起暂时性甲减。但 Maruo 等^[24]在日本暂时性甲减患者中也发现了双等位基因突变, 提示可能 *duox1* 和其他因素的影响。

2.4 碘循环障碍

在甲状腺组织中, 碘酪氨酸脱碘酶(Dehal1)位于甲状腺滤泡膜的顶膜, 它是一种跨膜蛋白, 包括胞外域的 N-端、单跨膜结构域和胞外域的 C-端, 属于硝基还原酶家族^[25]。参与控制甲状腺激素合成后的碘再利用过程。Moreno 等^[26, 27]利用基因表达序列分析(SAGE)克隆出人 *dehal1* 基因(GenBank: AY259176), 该基因位于 6q24~25, 由 6 个外显子和 5 个内含子组成, 其 mRNA 除了主要表达于甲状腺组织外, 在心脏、肾脏和肠道也有少量表达。

早在 20 世纪 50 年代, 利用放射性标记化合物的色谱研究和酶活性的测量方法就已经发现部分 CH 患者存在 Dehal1 蛋白酶缺陷。直到 1979 年 Rosenberg 等^[28]才从牛的甲状腺中分离纯化出 Dehal1。随着分子生物学技术的发展, 人们开始从分子水平对 *dehal1* 基因进行研究, 发现 CH 的发生与 *dehal1* 基因密切相关。2008 年, Moreno 等^[29]对来自 3 个无关系的家庭的 4 名患者进行了基因扫描, 在外显子 2 上发现了 2 种错意突变和 1 种缺失突变。同时 Afink 等^[30]以一个近亲家系的 CH 患者为研究对象, 发现在 *dehal1* 基因的外显子 4 上发生了错意突变。上述 4 种突变均会使 Dehal1 蛋白酶的活性部分或者完全丧失, 影响了机体中碘的再使用循环的平衡, 但具体的机制尚未阐明。

3 展望

随着分子生物学技术的发展, 不断发现与甲状腺的发生、发育和甲状腺素合成有着密切关系的诸多新的基因, 如 *mct8* 和 *duoxa2* 基因的发现, 这提示先天性甲减可能是一个多基因或多因素源性的疾病, 其未来研究方向包括: 对多个先证者或父母血缘近的大家庭的全基因组连锁分析, 确定基因改造或随意基因突变的小鼠模型所表现出的 CH 的表型和以 CH 为突出特征的邻近基因综合征的连锁分析与定位克隆等。在 CH 未来的研究中, 对 CH 各种类型的基因突变的全面定位及对 CH 的功能和发生机制进一步探讨, 是有待解决的问题。随着 CH 相关致病基因研究的进一步深入, 将为 CH 的基因诊断和产前诊断奠定基础, 也是对新生儿疾病筛查工作的完善。

[参 考 文 献]

- [1] Xu YH, Qin YF, Zhao ZY. Retrospective study on neonatal screening for congenital hypothyroidism and phenylketonuria in China in the past 22 years. *Chin J Pediatr*, 2009, 47(1): 18-22
- [2] Rubio IG, Galrao AL, Pardo V, et al. A molecular analysis and long-term follow-up of two siblings with severe congenital hypothyroidism carrying the IVS30+1G>T intronic thyroglobulin mutation. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2008, 52(8): 1337-44
- [3] Bizhanova A, Kopp P. The sodium-iodide symporter NIS and pendrin in iodide homeostasis of the thyroid. *Endocrinology*, 2009, 150(3): 1084-90
- [4] Yoshida A, Taniguchi S, Hisatome I, et al. Pendrin is an iodide-specific apical porter responsible for iodide efflux from thyroid cells. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(7): 3356-61

- [5] Rodriguez AM, Perron B, LaCroix L. Identification and characterization of a putative human iodide transporter located at the apical membrane of thyrocytes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(7): 3500-3
- [6] De Vijlder JJ. Primary congenital hypothyroidism: defects in iodine pathways. *Eur J Endocrinol*, 2003, 149(4): 247-56
- [7] Smanik PA, Ryu KY, Theil KS, et al. Expression, exon-intron organization, and chromosome mapping of the human sodium iodide symporter. *Endocrinology*, 1997, 138(8): 3555-8
- [8] Levy O, De la Vieja A, Ginter CS, et al. N-linked glycosylation of the thyroid Na/I-symporter (NIS). Implications for its secondary structure model. *J Biol Chem*, 1998, 273(35): 22657-63
- [9] Smanik PA, Liu Q, Furminger TL, et al. Cloning of the human sodium iodide symporter. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 226(2): 339-45
- [10] De la Vieja A, Ginter CS, Carrasco N. Molecular analysis of a congenital iodide transport defect: g543e impairs maturation and trafficking of the Na/I-symporter. *Mol Endocrinol*, 2005, 19(11): 2847-58
- [11] Wu SL, Ho TY, Liang JA, et al. Histidine residue at position 226 is critical for iodide uptake activity of human sodium/iodide symporter. *Endocrinology*, 2008, 199(2): 213-9
- [12] Pendred V. Deaf-mutism and goiter. *Lancet*, 1896, 2: 532
- [13] Everett LA, Glaser B, Beck JC, et al. Pendred syndrome is caused by mutations in a putative sulphate transporter gene (PDS). *Nat Genet*, 1997, 17(4): 411-22
- [14] Royaux IE, Suzuki K, Mori A, et al. Pendrin, the protein encoded by the Pendred syndrome gene (PDS), is an apical porter of iodide in the thyroid and is regulated by thyroglobulin in FRTL-5 cells. *Endocrinology*, 2000, 141(2): 839-45
- [15] Soleimani M, Greeley T, Petrovic S, et al. Pendrin: an apical Cl⁻/OH⁻/HCO⁻ exchanger in the kidney cortex. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2001, 280(2): F356-64
- [16] Everett LA, Morsli H, Wu DK, et al. Expression pattern of the mouse ortholog of the Pendred's syndrome gene (Pds) suggests a key role for pendrin in the inner ear. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(17): 9727-32
- [17] Banghova K, Al Taji E, Cinek O, et al. Pendred syndrome among patients with congenital hypothyroidism detected by neonatal screening: identification of two novel PDS/SLC26A4 mutations. *Eur J Pediatr*, 2008, 167(7): 777-83
- [18] Lacroix L, Pourcher T, Magnon C, et al. Expression of the apical iodide transporter in human thyroid tissues: a comparison study with other iodide transporters. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(3): 1423-8
- [19] Kim PS, Hossain SA, Park YN, et al. A single amino acid change in the acetylcholinesterase-like domain of thyroglobulin causes congenital goiter with hypothyroidism in the cog/cog mouse; a model of human endoplasmic reticulum storage diseases. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95(17): 9909-13
- [20] Machiavelli GA, Caputo M, Rivolta CM, et al. Molecular analysis of congenital goitres with hypothyroidism caused by defective thyroglobulin synthesis. Identification of a novel c. 7006C>T [p. R2317X] mutation and expression of minigenes containing nonsense mutations in exon 7. *Clin Endocrinol: Oxf*, 2009, 72(1): 112-21
- [21] Simm D, Pfarr N, Pohlenz J, et al. Two novel mutations in the human thyroid peroxidase (TPO) gene: genetics and clinical findings in four children. *Acta Paediatr*, 2009, 98(6): 1057-61
- [22] Deladoey J, Pfarr N, Vuissoz JM, et al. Pseudodominant inheritance of goitrous congenital hypothyroidism caused by tpo mutations: molecular and *in silico* studies. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(2): 627-33
- [23] Moreno JC, Bikker H, Kempers MJ, et al. Inactivating mutations in the gene for thyroid oxidase 2 (*THOX2*) and congenital hypothyroidism. *N Engl J Med*, 2002, 347(2): 95-102
- [24] Maruo Y, Takahashi H, Soeda I, et al. Transient congenital hypothyroidism caused by biallelic mutations of the dual oxidase 2 gene in Japanese patients detected by a neonatal screening program. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(11): 4261-7
- [25] Gnidehou S, Caillou B, Talbot M, et al. Iodotyrosine dehalogenase 1 (DEHAL1) is a transmembrane protein involved in the recycling of iodide close to the thyroglobulin iodination site. *FASEB J*, 2004, 18(13): 1574-6
- [26] Moreno JC, Keijser R, Aarraas S, et al. Cloning and characterization of a novel thyroidal gene encoding with a conserved nitroreductase domain. *Endocrinol Invest*, 2002, 25: 23
- [27] Moreno JC. Identification of novel genes involved in congenital hypothyroidism using serial analysis of gene expression. *Horm Res*, 2003, 60(3): 96-102
- [28] Rosenberg IN, Goswami A. Purification and characterization of a flavoprotein from bovine thyroid with iodotyrosine deiodinase activity. *J Biol Chem*, 1979, 254(24): 12318-25
- [29] Moreno JC, Klootwijk W, van Toor H, et al. Mutations in the iodotyrosine deiodinase gene and hypothyroidism. *N Engl J Med*, 2008, 358(17): 1811-8
- [30] Afink G, Kulik W, Overmars H, et al. Molecular characterization of iodotyrosine dehalogenase deficiency in patients with hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(12): 4894-901