The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Morphological, Functional and Genetic Changes Induced by Radiation and Dioxin in Human Thyroid Tissues Maintained in SCID Mice
Author(s)	ムク, シャイフディン
Citation	大阪大学, 2002, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/43764
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【29】

氏　　名	ムク　シャイフディン（むく しゃいふでぃん）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学　位　記　番　号	第　16826　号
学位授与年月日	平成14年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科生体制御医学専攻
学　位　論　文　名	SCIDマウスに維持したヒト甲状腺組織における放射線およびダイオキシンによる形態・機能異常と遺伝子変異（Morphological, Functional and Genetic Changes Induced by Radiation and Dioxin in Human Thyroid Tissues Maintained in SCID Mice）
論　文　審　査　委　員	（主査） 教　授　野村　大成 （副査） 教　授　網野　信行　　教　授　黒川　信夫

論　文　内　容　の　要　旨

【目的】

甲状腺は、ヒトの発達や成長に関与する最も重要な内分泌器官の一つであり、放射線や化学物質に最も影響を受けやすい器官の一つでもある。実際、放射線治療や核被曝により甲状腺がんの発生が報告されている。また、甲状腺は、ダイオキシン等内分泌撹乱物質の最も重大な標的臓器であることもよく知られている。

一方、放射線や化学物質の人体影響研究は、疫学調査、動物実験、あるいは、ヒト培養細胞実験でしかなすすべがなかったが、最近、拒絶反応をなくしたSCID（重度複合免疫不全）マウスに移植したヒト正常組織が2年以上の長期にわたり、その形態と機能を維持していることが、野村らにより証明されている。

本研究では、SCIDマウスに移植、長期間継代・維持したヒト甲状腺組織に、放射線あるいはダイオキシンを作用させ、ヒト甲状腺の形態、機能、および、がん関連遺伝子の経時的変化を調べ、環境有害因子の人体影響をヒト臓器組織を用い直接評価することを目的とした。

【方法】

ヒト甲状腺組織の継代・維持：甲状腺部分切除手術を受けた2名のGraves病患者（いずれも20歳）の甲状腺組織を許可を得てSCIDマウス（C.B17/N-*scid*）への移植に用いた。全例生着し、移植組織の長期継代・維持を行った。

放射線照射：　Gammacell 40 Exactor（Nordion Int. Inc., Canada）を用い、^{137}Cs γ線照射を行った。線量率は1.189Gy/minである。移植前の甲状腺に5Gy照射し、移植後2週間毎に1Gyづつ照射した。マウスが弱るか死亡した場合は移植片を取り出し、5Gy照射後、再移植し、2週間毎に1Gyの照射を繰り返した。

ダイオキシン経口投与：　ヒト甲状腺組織を移植したSCIDマウスに対し、移植2週間後より、2、3、7、8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin（TCDD）50ng/g、体重を毎週1回、食道チューブを用い、経食道投与した。対照群として、無処置のままヒト甲状腺組織をSCIDマウスに継代移植した。

甲状腺ホルモンの測定：　ヒト甲状腺を移植したSCIDマウスの末梢血を採取し、ラジオイミュノアッセイ法により、経時的に甲状腺ホルモン（T_3）値を測定した。

遺伝子変異解析：PCR-"Cold-SSCP"法、direct sequence法により、放射線照射を受けたヒト甲状腺組織における*p53*、K-*ras*、*c-kit*、*β-catenin*、*RET*遺伝子の変異を経時的に検出した。

【成績】

ヒト甲状腺の形態学的変化： SCIDマウスに移植された正常ヒト甲状腺の肉眼的、組織学的構造は、マウスの世代を超えて長期間維持される事をすでに証明している。Graves病甲状腺も、長期にわたって微細構造が保たれ、患者の元の甲状腺との差は認められなかった。しかし、繰り返し、放射線およびダイオキシンを作用させることにより、移植甲状腺は小さく、青白くなり、照射回数およびダイオキシン投与回数の増加とともに濾胞は消失し、壊死組織と結合組織に置き替わった。

ヒト甲状腺の機能的変化： ヒト甲状腺を移植したSCIDマウスに、繰り返しγ線を照射すると、ヒト血清T_3レベルは有意に減少した。ダイオキシン投与群でも同じであった。この結果は、形態学的変化と一致し、放射線およびダイオキシンによる甲状腺ホルモン分泌能の低下を示している。

ヒト甲状腺の遺伝子変異： ^{137}Csγ線照射、あるいは、ダイオキシン投与を受けたヒト甲状腺組織における*p53*、K-*ras*、c-*kit*、β-*catenin*、および*RET*遺伝子の変異を検索したところ、K-*ras*、β-*catenin*および*RET*遺伝子の変異は認められなかったが、放射線照射された15のヒト甲状腺組織のうち4例に、*p53*遺伝子およびc-*kit*遺伝子の変異が検出された。しかし、患者の元の甲状腺やダイオキシン投与を受けたヒト甲状腺組織および非照射群では、全く遺伝子変異は見られなかった（$P<0.01$）。*p53*とc-*kit*遺伝子の6個の変異はいずれも1塩基のtransitionであった。*p53*遺伝子に起こった変異は、silent mutationであったが、c-*kit*遺伝子に起こった3個の突然変異はいずれもmissense突然変異であった。c-*kit*遺伝子の突然変異は、これまでヒト甲状腺疾患では報告されていない。

【総括】

1．甲状腺組織に放射線や内分泌撹乱物質である微量ダイオキシンが作用すると、ヒト内分泌臓器の中でも特にヒト発育に重要な甲状腺の微細構造と機能が著しく損傷されることを実験的に初めて証明した。
2．γ線照射したヒト甲状腺組織に*p53*とc-*kit*遺伝子の変異が誘発されたが、K-*ras*、β-*catenin*、*RET*の変異は検出されなかった。
3．ダイオキシンによっては、これらの突然変異は誘発されなかった。
4．環境有害因子の人体影響をヒト臓器組織を用い直接評価できることを証明した。

論文審査の結果の要旨

甲状腺は、ヒトの発達や成長に関与する最も重要な内分泌器官の一つであり、放射線に対し最も感受性の高い標的臓器の一つでもある。

本研究は、ヒト甲状腺をSCIDマウスに移植、長期間継代・維持し、放射線および内分泌撹乱物質ダイオキシンを作用させ、ヒト甲状腺の形態、機能およびがん関連遺伝子の経時的変化を調べ、環境有害因子の人体影響をヒト臓器組織を用い直接評価することを試みている。

その結果、持続的に放射線およびダイオキシンを作用させることにより、移植甲状腺は小さく、青白くなり、照射回数およびダイオキシン投与回数の増加とともに濾胞は消失した。ヒト甲状腺移植SCIDマウスの血中ヒト甲状腺ホルモン（T3）レベルはγ線照射やダイオキシン投与で有意に減少した。すなわち、甲状腺組織に放射線や内分泌撹乱物質である微量ダイオキシンが作用すると、ヒト内分泌臓器の中でも特にヒト発育に重要な甲状腺の微細構造と機能が著しく損傷されることを実験的に初めて証明した。

また、K-*ras*、β-*catenin*、および*RET*遺伝子の変異は認められなかったが、放射線照射したヒト甲状腺組織に、有意にc-*kit*遺伝子の突然変異が誘発されることを明らかにした。患者の元の甲状腺やダイオキシン投与を受けたヒト甲状腺組織および非照射群では、*p53*やこれらの遺伝子変異は見られなかった。

環境有害因子の人体影響をヒト甲状腺を用い直接評価できる系を初めて確立したものであり、学位の授与に値する。