

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 10 月 14 日現在

機関番号：84420

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25740023

研究課題名(和文) Super-SCIDマウスを用いた放射性ヨウ素によるヒト甲状腺組織障害機構の解析

研究課題名(英文) Analysis of human thyroid damage induced by radioactive iodine using Super-SCID mice

研究代表者

足立 成基 (ADACHI, Shigeki)

独立行政法人医薬基盤研究所・難病・疾患資源研究部・研究員

研究者番号：60379261

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：放射線による致死的人体リスクの8割が癌である。チェルノブイリ原発崩壊では甲状腺癌が高発した。福島第一原発事故でも甲状腺障害が最も危惧される。I-131をヒト甲状腺移植SCIDマウスに投与することにより、内部被曝によるヒト甲状腺への直接影響を明らかにすることを目的とした。

ヒト甲状腺移植SCIDマウスにI-131(0.5～0.0625MBq)を腹腔内投与し、投与後1、2週間の移植甲状腺より、RNAを抽出し遺伝子発現解析を行った。4倍以上の変化は時間と共に増加傾向にあった。I-131投与後2週間の0.25MBq以上作用を受けた組織においてCOL8A1、HSD17B6が共通する遺伝子であった。

研究成果の概要(英文)：80% of fatal risk to human by radiation is cancer. Thyroid cancer developed in high frequency by Chernobyl Nuclear Power Plant accident. Human thyroid disorder is feared after the Fukushima Daiichi nuclear accident. By the injection of I-131 to Super-SCID mouse with human thyroid, it is aimed to clarify the direct influence of I-131 to human thyroid by internal exposure.

Human thyroid tissues were transplanted to Super-SCID mice, and 0.5 and 0.0625MBq of I-131 was injected i.p. to Super-SCID mice with human thyroid tissues. 1 and 2 weeks after I-131 injection, RNA was extracted from transplanted thyroid tissue and analyzed by microarray. 4-fold changes tended to increase with time. There were common two genes which showed more than 4-fold change in the thyroid tissues injected high dose(0.5, 0.25MBq) I-131. It was COL8A1 and HSD17B6.

研究分野：実験病理学

キーワード：放射性ヨウ素 ヒト甲状腺 SCIDマウス ヒト甲状腺移植 遺伝子発現 I-131 マイクロアレイ

1. 研究開始当初の背景

放射線による致死的人体リスクの 8 割 (ICRP2007 では 95%) が「がん」である。原爆放射線、医療被曝に比べ、チェルノブイリ原発崩壊にみられるように放射性ヨウ素による内部被曝により、甲状腺癌が高発した。これは、汚染された牧草を食べた乳牛のミルクを飲んだ子供達の甲状腺に放射性ヨウ素が蓄積したためである。事故後 25 年では、¹³⁷Cs 等による他の臓器のがんの有意な増加は見られていない(徐々に増加傾向にある)。従って、福島第一原発事故による人体影響についても放射性ヨウ素の内部被曝による甲状腺障害が最も危惧されるリスクである。

SCID マウスに移植したヒト甲状腺に、X 線、ガンマ線、中性子線を照射することにより、その組織像、ヒト甲状腺ホルモン分泌、遺伝子発現の変化を正確に把握することに成功している。

2. 研究の目的

I-131 をヒト甲状腺移植 SCID マウスに投与することにより、I-131 の内部被曝によるヒト甲状腺への直接影響を明らかにし、その成果を国際機関等に報告するとともに、福島原発事故による人体影響評価に役立てる。

3. 研究の方法 (図 1)

(1) ヒト甲状腺移植実験を行うため、IgG および IgM 値が検出限度以下 (<1 µg/ml) の C3H/HeJ-md+; scid/scid LPS マウスの生産を行った。

(2) ヒト甲状腺癌等の切除手術の際、治療上切除せざるを得ない甲状腺組織を患者および倫理委員会の承認を得て、医療機関より提供を受けた。ヒト甲状腺組織 (女性-61 歳、女性-78 歳、女性-46 歳、女性-69 歳、女性-57 歳) を、SCID マウス左右背部皮下に麻酔下にて移植した。

(3) ヒト甲状腺組織置換マウスへの 131-I 投与：放射性ヨウ素 I-131 原液に生理食塩水により、0.5 および 1.0MBq 濃度まで希釈した。甲状腺移植 1 週間後に放射性ヨウ素 I-131

(0.5MBq-4 匹、1.0MBq-4 匹) を腹腔内投与し、1 週間飼育しヒト甲状腺を摘出した。I-131 はヒト甲状腺組織に取りこまれており、放射活性が、1 原子以下になるまで冷凍保存した。パセドウ甲状腺 (女性-20 歳) を用いて前述した方法で 0.0625、0.125、0.25、0.5MBq 投与し、投与後 1 週間、2 週間で摘出したものについて、マイクロアレイ (GeneChip、Affymetrix) により、I-131 投与に特異的に反応している遺伝子の検索を行った。

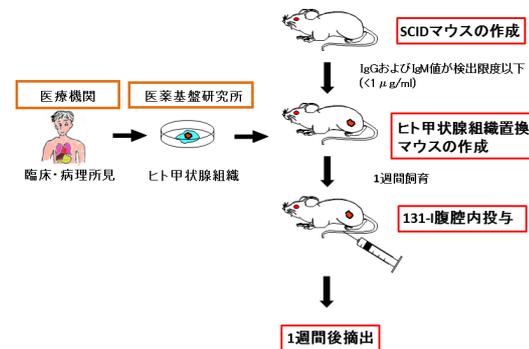


図 1. 研究の流れ

4. 研究成果

(1) 移植による遺伝子発現変化

ヨウ素の取り込み実験で放射活性が1原子以下になっているものについてマイクロアレイ解析 (HG-Focus、8500 遺伝子) を行った。移植前のヒト甲状腺組織と移植後の組織を比較したところ、遺伝子発現はこれまでに述べられているように (Adachi, Nomura et al, Mutat Res, 2010)、移植による変化は2週間後、3週間後において大きな差は見られなかった (表1)。従って、I-131 投与による甲状腺の障害を捉えることができる。

weeks after transplantation	Decrease	Increase
2weeks	135	263
3weeks	143	291

表 1. 移植前と移植後組織を比較したマイクロアレイ解析

(2) I-131 投与による遺伝子発現変化

移植 1 週間後に I-131 を腹腔内投与

(0.0625、0.125、0.25、0.5MBq)したヒト甲状腺組織と移植同期の組織を比較したところ、投与1週間後のヒト甲状腺組織では、4倍以上の減少が15、15.5、19、8.5個、4倍以上の増加が13、2、16、16.5個であった。また、投与2週間後のヒト甲状腺組織では、減少が22、41、58.5、28個、増加が5、17.5、24、16個であった(表2)。投与後1週間と2週間では、4倍以上の遺伝子変化の数が増加しているが、ほとんど共通性がなかった。

weeks after injection	Dose	Decrease	Increase
1week	0.0625MBq	15	13
	0.125MBq	15.5	2
	0.25MBq	19	16
	0.5MBq	8.5	16.5
2weeks	0.0625MBq	22	5
	0.125MBq	41	17.5
	0.25MBq	58.5	24
	0.5MBq	28	16

表2. 移植同期と各線量組織とを比較したマイクロアレイ解析(投与後1週間、2週間)

(3) 遺伝子発現の共通性

次に各線量において調べた組織に共通する遺伝子変化(4倍以上)を調べたところ、投与1週間ではほとんどなく、2週間で多くなり、I-131 0.25MBq以上作用を受けたヒト甲状腺組織(4ヶ)に共通して変化のあった遺伝子は、COL8A1(変性や再生)、HSD17B6(甲状腺ホルモン関連遺伝子)であった(表3)。

1week	Decrease	Increase
0.0625MBq	—	NUP50 ^{Ca}
0.125MBq	IL18 ^{Ca} , JAK2 SYT1	—
0.25MBq	—	CORO1A ^{Ca}
0.5MBq	MICB	—
2weeks	Decrease	Increase
0.125MBq	LTF ^{Ca} , NKG7, CCL19, SCG2, XPNPEP2	CCNA2 ^{Ca} , HSD17B6 ^{Thy} , LIPG, CLIC3, PRND, KRT19 ^{ThyCa} , TFF3 ^{ThyCa} , DIO1 ^{ThyCa}
0.25MBq	PTGS2, ABCC3 ^{Ca} , IL6 ^{ThyCa} , MTMR7, COL8A1, RRAD ^{Ca} , HSPA6 ^{Ca} , LTF ^{Ca} , ITGB8, CCL21, CXCL2, DIAPH3 ^{Ca} , CD3D, ADM ^{Thy}	CLIC3, PRND, HSD17B6 ^{Thy} , SLC25A15 ^{Ca} , ID1 ^{Ca} , COL9A3 ^{Ca} , TFF3 ^{ThyCa}
0.5MBq	COL8A1, CTLA4, PLIN2(ADFP) ^{Ca} , HILPDA(C7orf68) ^{Ca}	CCNA2 ^{Ca} , OMD, MAGED4 ^{Ca} , NEB, HSD17B6 ^{Thy} , DIO1 ^{ThyCa}

Ca-がん関連遺伝子 Thy-甲状腺ホルモン関連遺伝子

赤字-中性子線照射特異的に反応した遺伝子

表3. 各線量において調べた組織に共通する遺伝子

ヒト甲状腺組織に中性子線を照射して特

異的に反応した14遺伝子(損傷、ストレスに反応する遺伝子8、アポトーシス関連遺伝子3、複製関連遺伝子2、その他1)(Adachi, Nomura et al, Mutat Res, 2010)について観察したところ、I-131投与では共通性は少なく5遺伝子が共通して反応していた(ADM、HILPDA(C7orf68)、TFF3、DIO1、COL9A3)。

甲状腺癌の遺伝子異常で知られる BRAF、RET 遺伝子について観察したところ、131-I 投与1、2週目の早い段階での変化は見られなかった。

ヒト甲状腺組織のI-131による遺伝子発現変化は2週目より、高線量(0.5、0.25MBq)で多くなり、COL8A1(変性や再生)、HSD17B6(甲状腺ホルモン関連遺伝子)が共通して変化しており、I-131投与による初期反応を捉えることができた。

<引用文献>

Shigeki Adachi, Haruko Ryo, Taisei Nomura, et al. Effects of Fission Neutrons on Human Thyroid Tissues Maintained in SCID Mice. Mutat Res., 696,107-113 2010.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計7件)

Akira Tsujimura, Shinichiro Fukuhara, Tetsuji Soda, Kentaro Takezawa, Hiroshi Kiuchi, Tetsuya Takao, Yasushi Miyagawa, Norio Nonomura, Shigeki Adachi, Yoriko Tokita, Taisei Nomura. Histological Evaluation of Human Benign Prostatic Hyperplasia Treated by Dutasteride: A Study by Xenograft Model with Improved Severe Combined Immunodeficient (Super-SCID) Mice. Urology, 2015, 85(1) 274e1274-e8. 査読有 doi:10.1016/j.urology.2014.09.24

Iwamori M, Iwamori Y, Iwamori M, Tanaka K, Adachi S, Aoki D, Nomura T. Absence of lactobacilli containing glycolipids with the α -galactose epitope and the enhanced fucosylation of a receptor glycolipid GA1 in the digestive tracts of immune-deficient scid mice. J. Biochem. 150:515-523, 2015. 査読有 doi:

10.1093/jb/mvv021

野村大成、足立成基、梁 治子、坂巻 靖、鳥 正幸、吉留克英、野々村祝夫、古澤佳也、鵜澤玲子。ヒトがん組織等移植 SCID マウスを用いた重粒子線治療の有効性・安全性の研究。平成 26 年度放射線医学総合研究所 重粒子線がん治療装置等共同利用研究報告書、26 : 56 - 58, 2015 査読無

Ayako Kumagai, Akira Fujita, Tomoki Yokoyama, Yuki Nonobe, Yasuhiro Hasaba, Tsutomu Sasaki, Yumi Itoh, Minako Koura, Osamu Suzuki, Shigeki Adachi, Haruko Ryo, Arihiro Kohara Lokesh P. Tripathi, Masato Sanosaka, Toshiki Fukushima, Hiroyuki Takahashi, Kazuo Kitagawa, Yasuo Nagaoka, Hidehisa Kawahara, Kenji Mizuguchi, Taisei Nomura, Junichiro Matsuda, Toshihide Tabata and Hiroshi Takemori. Altered Actions of Memantine and NMDA-Induced Currents in a New *Grid2*-Deleted Mouse Line. *Genes*. 5 (4), 1095-1114, 2014 査読有
doi:10.3390/genes5041095

野村大成、足立成基、梁 治子、坂巻 靖、吉留克英、野々村祝夫、古澤佳也。ヒトがん組織等移植 SCID マウスを用いた重粒子線治療の有効性・安全性の研究。平成 25 年度放射線医学総合研究所 重粒子線がん治療装置等共同利用研究報告書 29 - 30, 2014 査読無

Iwamori M, Iwamori Y, Adachi S, Nomura T.. Changes in bacterial glycolipids as an index of intestinal lactobacilli and epithelial glycolipids in the digestive tracts of mice after administration of penicillin and streptomycin. *Glycoconj J*. 30(9): 889-897, 2013. 査読有
doi: 10.1007/s10719-013-9494-6.

Iwamori M, Iwamori Y, Matsumoto S, Adachi S, Nomura T., Enhanced expression of fucosyl GA1 in the digestive tract of immune-deficient scid, nude and IgR (-/-) mice. *J. Biochem*. 154(6):541-549, 2013. 査読有
doi: 10.1093/jb/mvt087.

〔学会発表〕(計 3 件)

Taisei Nomura, Shigeki Adachi, Haruko Ryo, Eiko Hatanaka, Momoyo Kaji, Koujun Yasuda. Suppression of Mouse and Human Cancer by AHCC. 22nd ICNIM, Sapporo July 27-28, 2014 ICNIM 2014., 2014.7.26-27, Hotel Royton Sapporo, Sapporo

岩森 正男、足立成基、野村 大成、田中 京子、青木 大輔。乳酸菌の腸内共生と免疫の役割。第 56 回日本脂質生化学会、近畿大学

東大阪キャンパス、2014 年 6 月 6-7 日。

平成 26 年度 HIMAC 共同利用研究 成果発表会

ヒトがん組織等移植 SCID マウスを用いた重粒子線の有効性・安全性の研究

野村大成、足立成基、梁 治子、坂巻 靖、鳥 正幸、吉留克英、野々村祝夫、古澤佳也、

鵜澤玲子

ホテルポートプラザちば
2015 年 04 月 20 日

〔図書〕 該当なし

〔産業財産権〕 該当なし

〔その他〕 該当なし

6 . 研究組織

(1) 研究代表者

足立 成基 (ADACHI, Shigeki)

独立行政法人 医薬基盤研究所・難病・疾患資源研究部・特任研究員

研究者番号 : 6 0 3 7 9 2 6 1

協力研究者

鳥 正幸 (TORI, Masayuki)

野村 大成 (NOMURA, Taisei)