

称号及び氏名	博士（獣医学）	爰島 洋子
学位授与の日付	平成28年8月31日	
論文名	Pathological Studies on Dwarf Rats Derived from Wistar Hannover GALAS Rats, with Particular Reference to Thyroid, Pituitary and Bone (Wistar Hannover GALAS ラット由来侏儒症ラットの病理学的研究：特に甲状腺、下垂体及び骨について)	
論文審査委員	主査	山手 丈至
	副査	玉田 尋通
	副査	笹井 和美
	副査	岡田 利也

論文要旨

緒論

内分泌系は代謝や成長、性分化などの身体機能を制御するホルモン産生腺の集合体である。多くのホルモンが互いに関連し、バランスを保っているため、いずれか一つのホルモンが過剰あるいは欠乏することによって、全身に様々な障害が生じる。特に、常に成長している小児では影響が大きい。世界保健機構は、甲状腺機能障害、糖尿病、肥満、思春期早発症などを重要な小児内分泌疾患として挙げている。小児内分泌疾患の多くは先天性で、成長や性分化の異常として生じ、完治困難とされるが、早期に発見できれば、ホルモン補充などの治療によりコントロールできることがある。

甲状腺機能低下症は、甲状腺の構造的あるいは機能的な障害によりそのホルモン産生が阻害される疾患である。原発性甲状腺機能低下症には先天性と後天性があるが、先天性の場合、患者は適切な治療を受けないと重度の精神遅延や成長障害に生涯苦しめられる。このため、日本では先天性甲状腺機能低下症は、新生児の先天性疾患のスクリーニングの対象となっており、**3,200**人に**1**人の割合で認められる。甲状腺ホルモン（TH）の欠損は骨、脳、生殖器や眼などに、最も影響が現れるとされるが、そのメカニズムは十分には解明されていない。また、長期に亘るTHの欠損は、**negative feedback**を介し甲状腺濾胞細胞や下垂体の甲状腺刺激ホルモン（TSH）分泌細胞に増殖性病変を誘起することが知ら

れている。

ラットやマウスでは、外科的甲状腺切除や **goitrogen** 投与、ヨウ素欠乏などによる実験的甲状腺機能低下症が実験モデルとして広く用いられている。しかし、これらのモデルでは、先天性甲状腺機能低下の病態を的確に再現するのは難しいとされる。先天性甲状腺機能低下症モデルの報告は少なく、特にラットでは **rdw** ラットのみが知られている。

この一連の研究では、著者らが発見した **Wistar Hannover GALAS** ラット由来の自然発生性侏儒症ラットの特性を、特に甲状腺、下垂体、そして骨を中心に病理学的に調べ、さらに新しい先天性原発性甲状腺機能低下モデルとしての有用性を追究した。

第1章 Wistar Hannover GALAS ラット由来侏儒症ラットの甲状腺病変

第1節 Wistar Hannover GALAS ラット由来侏儒症ラットの甲状腺の形態学的・内分泌的特性

Wistar Hannover GALAS ラットに偶発的に認められた甲状腺機能低下症を原因とする侏儒症ラットは、常染色体劣性様式で遺伝し、その表現型の原因はサイログロブリン (**Tg**) 遺伝子の点変異であることが報告されている。この侏儒症のラットを交配することで維持し、得られた個体を検査対象とした。まず、この動物の特性を調べるため、甲状腺を組織学的、免疫組織学および電子顕微鏡学的に精査し、さらに血中のトリヨードサイロニン (**T₃**)、サイロキシン (**T₄**) 及び **TSH** を測定した。

この疾患動物の甲状腺では、コロイド形成の低下、小型の濾胞及び濾胞上皮細胞のサイログロブリン (**Tg**) 陽性の大型空胞が認められた。大型空胞は、拡張した粗面小胞体 (**r-ER**) に一致した。血中 **T₃** 及び **T₄** は著しく低く、一方 **TSH** は顕著に高い値を示した。以上のことから、この侏儒症は原発性甲状腺機能低下に由来し、ヒトの原発性先天性甲状腺機能低下、特に小胞体貯蔵病を引き起こす **Tg** の遺伝的障害の有用なモデルとなると考えられた。

第2節 Wistar Hannover GALAS ラット由来侏儒症ラットの甲状腺濾胞上皮細胞の増殖性病変

長期に亘る下垂体-甲状腺軸の乱れがラットの甲状腺で濾胞上皮細胞の過形成や腺腫などの増殖性病変を高率に発生させることが報告されている。また、長期に亘って治療されなかった甲状腺機能低下症患者でホルモン合成障害性甲状腺腫から甲状腺癌が生じたとの症例報告がある。しかしながら、自然発生性甲状腺機能低下症のラットでの報告はない。そこで、侏儒症ラットを長期飼育し、甲状腺濾胞上皮細胞の増殖性病変の発生状況と組織病理学的特徴を調べた。

侏儒症ラットでは、濾胞上皮細胞のび慢性肥大あるいは過形成が生じており、さらに **50** 週齢以上の雄 **9** 例雌 **13** 例では、過形成 (雄 **3** 例雌 **4** 例)、活性型過形成 (雌 **2** 例)、腺腫 (雌雄各 **2** 例) 及び腺癌 (雌 **6** 例) などの限局性の増殖性病変が高率に認められた。このことから、持続する血中 **TSH** の高値が濾胞上皮細胞のび慢性肥大を生じさせ、その後限局性増殖性病変へと進展したことが考えられた。

第2章 Wistar Hannover GALAS ラット由来侏儒症ラットの下垂体病変

TH は下垂体の発達と維持に重要な役割を果たす。げっ歯類の実験的甲状腺機能低下症では、下垂体における甲状腺切除細胞の出現と増加が認められ、この変化は遺伝的甲状腺機能障害ミュータントである *hyt/hyt* や *Pax8*^{-/-} マウスでも生じることが報告されている。しかし、*rdw* ラットでは甲状腺切除細胞が認められない。また、長期に亘る原発性甲状腺機能低下症患者の下垂体では、TSH 産生細胞の過形成や、時に下垂体腫瘍をみとめ、マウスやラットでの実験的甲状腺機能低下の状態でも過形成や腺腫が誘発されることが知られている。そこで、侏儒症ラットの下垂体及び下垂体腺腫を、組織学的、免疫組織学的に解析した。また、TH がその分泌に関与すると報告されている成長ホルモン (GH) とプロラクチン (PRL) の血中濃度を測定した。

45 週齢の侏儒症ラットの下垂体は、酸好性細胞が雄で特に少なく、好塩基～両染色性の細胞質をもつ肥大した細胞が雌のみにみられた。免疫染色により、GH 産生細胞及び PRL 産生細胞が少ないことが示された。同時にこのラットでは血中 GH と PRL 値が低かった。さらに、甲状腺切除細胞は認められず、TSH 産生細胞のび慢性過形成も認められなかった。一方、下垂体腺腫は雄 5 例及び雌 11 例に認められた。免疫組織学的に評価できた 13 例のうち、TSH 含有腺腫が 4 例、TSH 及び PRL 含有腺腫が 2 例、PRL 含有腺腫が 1 例、そしていずれのホルモンに対しても陽性を示さなかった **all negative** 腺腫が 6 例であった。以上より、このミュータントの特徴として、TSH 含有腺腫が最も多く (合計 6 例、46%)、かつすべてが雌であることが示された。これは、この侏儒症の遺伝的甲状腺機能低下症によって惹起されたものと考えられた。特に、下垂体-甲状腺軸の乱れに対して雌がより感受性が高いことが示唆された。

第 3 章 Wistar Hannover GALAS ラット由来侏儒症ラットの骨病変

小児の甲状腺機能低下症は成長遅延、骨年齢遅延や骨端形成不全を生じることが知られている。このことから、8 及び 45 週齢の侏儒症ラットの骨、特に成長板について形態学的に解析した。

組織病理学的に、8 週齢の侏儒症ラットでは、骨端骨化中心の小型、骨芽細胞の肥大及び減少、成長板への血管侵襲の減少が認められた。45 週齢の侏儒症ラットでは、軟骨細胞の柱構造が維持されたままで、骨端癒合が遅れていることが示された。これらの所見は、侏儒症ラットで骨年齢が遅延していることを示し、TH や GH の低値が、その原因と考えられたが、甲状腺切除ラットや *Pax8*^{-/-} 及び *hyt/hyt* マウスで報告されている変化とは異なっていたことから、週齢によって TH や GH の影響が異なることが最も重要と考えられた。

第 4 章 侏儒症ラットと他の甲状腺機能低下げっ歯類モデル/ヒト患者の病態生理学的特徴の比較

原発性甲状腺機能低下症モデルには先天性と実験的誘発とがあり、先天性には、この研究で解析した侏儒症ラット以外に、*hyt/hyt*、*cog/cog*、*Pax8*^{-/-} 及び *growth-retarded (grt)* マウス、*rdw* ラットが知られている。侏儒症ラット、*rdw* ラット及び *cog/cog* マウスは Tg 合成障害、*hyt/hyt* 及び *grt* マウスは TSH 受容体の欠損、*Pax8*^{-/-} マウスは甲状腺欠損が甲状腺機能低下の原因である。これらのミュータントモデルの甲状腺の組織像はヒトの同等疾患とよく類似するが、*rdw* ラットでは *goiter* を生じない点異なる。TH の低値及び TSH の高値は全てのミュータントモデルで認められ、さらに侏儒症ラットと *rdw* ラットでは GH 及

び PRL の低値が認められる特徴がある。すべてのミュータントの下垂体では、TSH 産生細胞の肥大・過形成及び PRL 産生細胞の減少が生じる。下垂体のこのような変化を伴う TH と GH の低値、TSH の高値はヒトの同等疾患でも認められるが、ヒトでは PRL の高値や PRL 産生細胞の過形成が報告されている。侏儒症ラットの甲状腺及び下垂体での腫瘍発生は、長期に亘る TH 減少による **negative feedback** 刺激が原因と考えられ、甲状腺機能低下症患者のそれに相当する。

以上より、この侏儒症ラットは、先天性原発性甲状腺機能低下症の新規の、有用な動物モデルとなり得ると考えられる。

まとめ

新たに見出された **Wistar Hannover GALAS** ラット由来の侏儒症ラットはサイログロブリン遺伝子の点変異による常染色体劣性遺伝様式を示すミュータントで、その交配により得られた個体を用いて、先天性原発性甲状腺機能低下症モデルとしての有用性を病理学的に解析した。一連の研究から、以下の成績を得た。

1. この侏儒症ラットの甲状腺濾胞上皮には粗面小胞体の拡張による空胞化が特徴的にみられ、先天性原発性甲状腺機能低下症の有用なモデルとなり得ることが示された。TSH の高値が持続することから甲状腺濾胞上皮細胞の増殖性病変が高率に発生し、その発生率は雄より雌で高かった。
2. 侏儒症ラットで自然発生した下垂体腺腫は TSH 含有腺腫が最も多く、特に雌で高発した。この TSH 含有腺腫は遺伝的甲状腺機能低下症に関連し、雄よりも雌が下垂体-甲状腺軸の乱れに、より感受性が高いことが分かった。
3. 侏儒症ラットの成長板で骨年齢の遅延が示された。TH や GH の低値に起因すると考えられたが、これらの変化は他の遺伝性の甲状腺機能低下げっ歯類モデル (*hyt/hyt*、*cog/cog*、*Pax8*^{-/-}及び *grt* マウス) のそれとは異なっていた。それは TH や GH の影響が週齢によって異なることが原因と考えられた。
4. 侏儒症ラットと、その他の先天性あるいは実験誘発性甲状腺機能低下げっ歯類モデルの病態生理学的特性を比較し、さらには甲状腺機能低下症患者の特性との類似性を検討した。その結果、侏儒症ラットは、特に甲状腺濾胞上皮や下垂体の腫瘍の発生メカニズムを解明する上で新規の甲状腺機能低下症モデルになり得ることが示された。

審査結果の要旨

甲状腺機能低下症は、甲状腺障害によりそのホルモン産生が阻害される疾患で、先天性と後天性がある。先天性の場合、患者は適切な治療を受けないと重度の精神発達遅延や成長障害に生涯苦しめられる。甲状腺ホルモン (TH) の欠

損は骨、脳、生殖器や眼などに最も影響が現れるとされるが、そのメカニズムは十分には解明されていない。また、長期に亘る **TH** の欠損は、**negative feedback** の解除を介し甲状腺や下垂体に増殖性病変を誘起することが知られている。ラットやマウスでは、実験的誘発甲状腺機能低下症が動物モデルとして用いられているが、先天的な甲状腺機能低下症の病態を的確に再現するのは難しい。先天性甲状腺機能低下症モデルの報告は少なく、特にラットでは **rdw** ラットのみが知られている。

本研究では、著者らが発見し、疾患動物として維持している **Wistar Hannover GALAS** ラット由来の遺伝性侏儒症ラットの特性を、特に甲状腺、下垂体、そして骨を中心に病理学的に解析することで、新規の先天性原発性甲状腺機能低下症モデルとしての有用性を追究している。

第 1 章第 1 節では、トリヨードサイロニン (**T3**) とサイロキシン (**T4**) 及び甲状腺刺激ホルモン (**TSH**) の血中濃度を測定するとともに、この疾患ラットの甲状腺を組織学的に精査している。その結果、血中 **T3** 及び **T4** 値は著しく低下するが、一方 **TSH** は高い値を示すことが分かった。甲状腺では、組織学的に、コロイド形成の低下、小型の濾胞及び濾胞上皮細胞のサイログロブリン (**Tg**) 陽性の大型空胞が認められ、その大型空胞は、電顕観察で、拡張した粗面小胞体に一致していることを示した。この疾患動物の侏儒症の病態は、**Tg** 遺伝子の点変異で生じることから、ヒトの先天性原発性甲状腺機能低下症、特に小胞体貯蔵病として知られる **Tg** の遺伝性疾患の有用なモデルとなることを示している。

さらに、第 1 章第 2 節では、この侏儒症ラットの甲状腺濾胞上皮細胞の増殖性病変を調べている。侏儒症ラットでは、濾胞上皮細胞のび慢性の肥大あるいは過形成が生じ、さらに限局性過形成、限局性活性型過形成、腺腫及び腺癌などの増殖性病変が高率に認められることが分かった。このことは、持続する血中 **TSH** の高値が、濾胞上皮細胞のび慢性肥大を生じさせ、その後増殖性病変へと進展することを示す。

第 2 章では、この侏儒症ラットの成長ホルモン (**GH**) とプロラクチン (**PRL**) の血中濃度を測定し、さらに下垂体の変化を主に免疫組織学的手法で解析している。45 週齢の侏儒症ラットでは、血中 **GH** と **PRL** の低値と一致して下垂体では **GH** 産生細胞及び **PRL** 産生細胞が少ないことが示された。また、**TSH** 産生細胞のび慢性の過形成病変は認められなかった。一方、下垂体腺腫の発生在 16 例に認められ、免疫組織学的に評価できた 13 例のうち、**TSH** 含有腺腫が 4 例、**TSH** と **PRL** の双方を含有する腺腫が 2 例にみられた。すなわち、**TSH** 産

生細胞を含む腺腫が計 6 例（46%）と最も多く認められ、この 6 例すべてが雌であった。TSH 産生細胞を含む腺腫の発生は、この侏儒症ラットの遺伝的甲状腺機能低下により誘発されたものと考えられ、それは特に雌でより感受性が高いことが分かった。

第 3 章では、侏儒症ラットの骨、特に成長板について組織学的に解析している。8 週齢では、骨端骨化中心の小型化、骨芽細胞の減少、成長板への血管侵襲の減少がみられ、45 週齢では、骨端癒合の遅れが認められた。これらの所見より、侏儒症ラットでは骨年齢が遅延していることが示され、それは血中 TH や GH の低値と関連することを明らかにしている。

第 4 章では、この侏儒症ラットでみられた病変を、マウス・ラットなどの齧歯類の遺伝性あるいは実験的に誘発した甲状腺機能低下症モデル、さらにはヒトの先天性甲状腺機能低下症患者（クレチン病）のそれと文献的考察を含めて比較解析している。その結果この侏儒症ラットと既存のげっ歯類モデルやヒト患者とでは一部相違点がみられるものの、多くの共通点があることを明らかにしている。

本研究成果は、ラットにおいて見出された遺伝性侏儒症モデルの病態について、特に甲状腺、下垂体及び骨の病変を病理学的に詳細に解析することで、この疾患モデルが、ヒトの先天性原発性甲状腺機能低下症の新規の有用なモデルになることを提示している。この成果は、獣医学・医学の発展、とりわけ実験動物学や動物病理学における病態解明に向けた新たな展開に資すると判断する。よって、本論文の審査並びに学力確認の結果と併せて、博士（獣医学）の学位を授与することを適当と認める。