行政院國家科學委員會專題研究計劃成果報告

計劃名稱：探討甲狀腺疾病對於過氧反轉催化酵素和甲狀腺素濃度關係之研究
Superoxide Distumase(SOD) and Thyroxine(T4) concentration in thyroid disease.

計劃類別：☑個別型計劃　　□整合型計劃

計劃編號：**NSC 88-2314-B-002-298**

執行期間：**87 年 08 月 01 日至 88 年 07 月 31 日**

計劃主持人：**廖廣義　教授**

處理方式：一年後可對外提供參考

執行單位：台大醫學院外科

中華民國 89 年 01 月 27 日

緒論

在生物演化過程中，大自然選用氧做為最後的電子接受者，而發揮出最有效的機轉產生對生物有用的能量。可是利用氧做最後氧化劑的結果，卻產生部分還原型之氧類：有超氧化物自由基，過氧化氫，以及羥基自由基。這些活性氧類就是對人類造成癌症及各種疾病(1)。

抗活性氧的主要保護機轉有: (1)抗氧化物，如維生素 E、維生素 C、胡蘿蔔素、尿酸；(2)抗氧化酵素，如超氧化物歧化酶、醌、胳胱甘肽過氧化酶以及過氧化氫酶。次要的保護機轉有: (1)限制活性氧在細胞內濃度的酵素，如(a)維生素 E 自由基還原酶，(b)胳胱甘肽還原酶，(c)維生素 C 去氫酶，(2)修復 DNA、RNA 及 protein 有關的酵素(1)。

O_2^-在氧毒性方面扮演重要角色的原因是，它會與過渡金屬離子，過氧化氫、醌、以及滷化物發生第二次反應而產生更具毒性的 $OH\cdot$ 自由基。O_2^-之主要反應是歧化作用，這種反應在生物系中大部份是靠 SOD 來催化(1)。

我們知道有一些疾病其氧化過程與自由基有密切關係，包括肝臟受傷及壞死組織(2)。我們研究肝癌組織，發現其 SOD 活性比正常肝臟組織 SOD 活性低下很多(3)。因此將這發現應用到甲狀腺組織上，因為甲狀腺有分: (1)良性組織，如甲狀腺節結及腺瘤(4); (2)惡性組織，如佔 2/3 的乳凸癌、濾泡性癌、少數髓腺癌及少數未分化癌(5); (3)原發性甲狀腺機能亢進症(6); (4)甲狀腺機能低下症，造成原因為甲狀腺炎末期或手術後所造成的。我們在良性及惡性甲狀腺疾病組織中探究 SOD 活性為如何?

研究方法

一.病患選擇

選擇甲狀腺癌患者 32 名，良性甲狀腺腫瘤患者 40 名，原發性甲狀腺機能亢進 17 名，對照組方面則選擇甲狀腺癌患者最側組織(近似正常組織)21 名。

二.標本採取

在病患手術中切取組織，而組織則須注意不要採取出血組織，放在液態氮中保存。

三.測量方式

1.Superoxide Distumase(SOD)的測定:

取 0.3g 甲狀腺組織加 1ml 50mM Tris-0.1mM EDTA(pH=7.6)

↓

用均質機均質化 6100 x g，1-2 分鐘(均質時必須冰浴方式)

↓

離心 6100 x g，30 分鐘，10℃

↓

取上清液 250 μl(用 2ml 離心管分裝)

↓

加入二次水 750 μl，均勻混合

↓

加入酒精(99.95%) 250 μl，均勻混合 30 秒

↓

加入氯仿 150 μl，均勻混合 60 秒

↓

離心 6100 x g，10 分鐘，10℃

↓

取上清液，每管分裝 250 μl (sample stock) 存放-70℃ 中

下層氯仿收入廢液瓶中

↓

利用 Winterbourn *et al.* 方式分析。

2.甲狀腺組織 T4 測試方式:

取 0.5 g 甲狀腺組織加入 0.25M Surose pH8.2
(wt：vol=1：9)

↓

均質混合，約 2-3 分鐘。

↓

離心 800 x g，30 分鐘，取上層液。

↓

離心 10,000 x g，1-2hrs。

↓

取沉澱物加入 0.05M Tris-0.25M Surose　pH8.2

↓

0.1ml 之沉澱物加入 2 倍體積之酒精(99.95%)。

↓

混合後，置 37℃ 培養箱中 2 小時。

↓

離心 385 x g，5min，取上層液，送台大醫院核子醫學部檢測。

↓

利用放射線免疫方法檢測。

結果

我們研究結果顯示，在甲狀腺正常組織其 SOD 活性值為 510.63±105.55 U/mg protein，甲狀腺癌組織之 SOD 活性值為 369.43±50.55 U/mg protein，原發性甲狀腺機能亢進組織之 SOD 活性值為 761.00±204.65 U/mg protein，甲狀腺節結組織之 SOD 活性值為 588.00±84.85 U/mg protein。

T_4 方面，我們研究結果顯示在正常甲狀腺組織其 T_4 值為 7.79±1.43 μg/dl，甲狀腺癌組織之 T_4 值為 4.25±0.78 μg/dl，原發性甲狀腺機能亢進組織之 T_4 值為 2.16±1.01 μg/dl，甲狀腺節結組織之 T4 值為 4.82±1.71 μg/dl。

Table. 甲狀腺正常組織與疾病組織 SOD 活性及 T4 值之比較

Tissue	SOD(U/mg)	T4(μg/dl)
Normal(n=21)	510.63±105.55	7.79±1.43
Thyroid Ca(n=32)	369.43± 50.55*	4.25±0.78*
Hyperthyroidism(n=17)	761.00±204.65*	2.16±1.01*
Nodular Goiter(n=40)	588.00± 84.85	4.82±1.71*

*: P<0.001, v.s. Normal tissue.

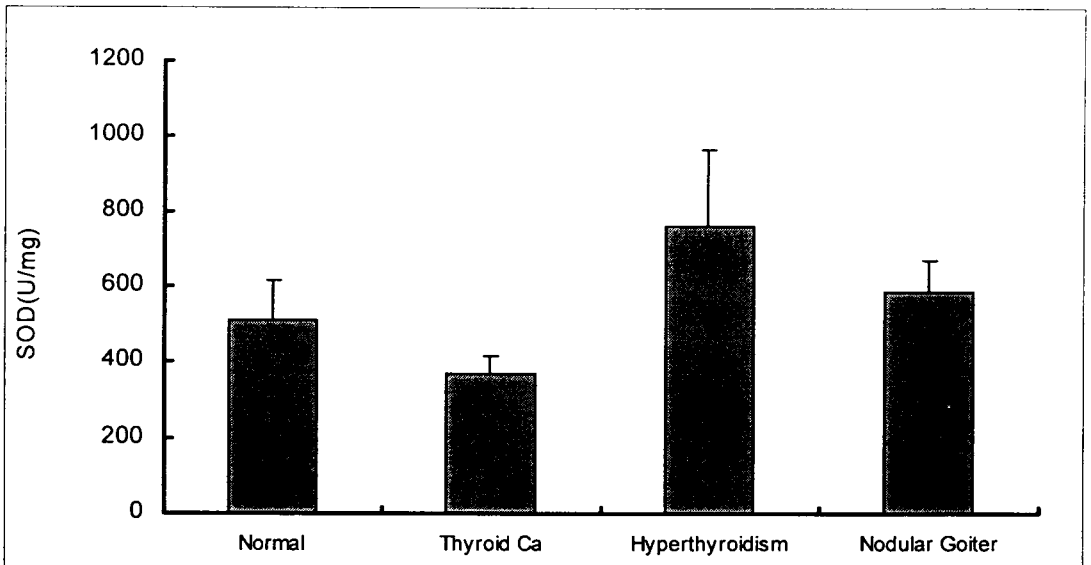

Fig.1 正常甲狀腺組織，甲狀腺癌組織，原發性甲狀腺機能亢進組織，甲狀腺節結組織SOD活性之比較.

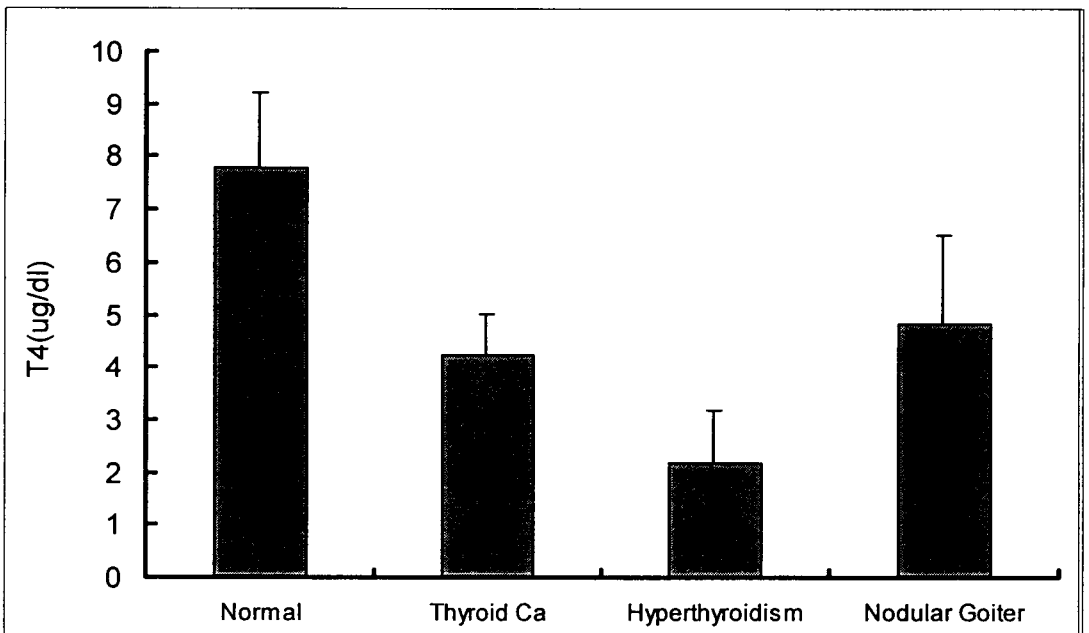

Fig.2 甲狀腺正常組織，甲狀腺癌組織，原發性甲狀腺機能亢進組織，甲狀腺節結組織T4值之比較.

討論

人體內氧自由基的生成，生化反應及其代謝過程，原本為正常的生理現象；因為在人體正常細胞裡具有所謂的"抗氧化物防衛系統"—乃是由許多酵素、維生素、微營養素、以及一些微量元素所組成—可以限制體內氧自由基的生成，防止因其過量所造成的危害，包括：細胞膜崩潰、酵素蛋白質損毀、和對細胞核內物質造成突變性的傷害，與可能因這些危害所導致的病理變化，目前較確定的是癌症細胞。

Superoxide distumase (SOD) 是酵素的一種，其功用在禦防細胞因受損害而產生具有毒性的自由基，而此具毒性之自由基則是因氧化代謝所生成。我們發現甲狀腺癌(乳凸癌,濾泡性癌)的 SOD 活性值比正常甲狀腺組織 SOD 活性值低下，其原因是甲狀腺癌之氧化過程，其自由基增加，而 SOD 活性減少。而在原發性甲狀腺機能亢進組織中發現，其 SOD 活性值比正常甲狀腺組織 SOD 活性值高，其原因為：病患在吃抗甲狀腺素數月後其甲狀腺新陳代謝呈低下狀態，而所檢測的標本是從吃了藥的病患身上取下，所以 SOD 活性值會比較高。在甲狀腺節結方面，其 SOD 活性值與正常組織相似，表示其氧化過程正常。

我們從上述可知：氧化過程高時，SOD 活性值低下。而氧化過程低時，SOD 活性值較高。

在同時我們也檢測甲狀腺組織之 T_4 值。發現甲狀腺癌 T_4 值較正常甲狀腺組織 T_4 值低下。原本原發性甲狀腺機能亢進組織之 T_4 值會增高，然而檢測出結果數值較正常值較低，其原因是所檢測的標本為吃了抗甲狀腺機能亢進藥數月後之病患，因此 T_4 值呈現較低的數值。而在甲狀腺節結組織方面，其 T_4 值會偏低是因為節結瘤無功能或是變成囊腫(7)。

References

1. "自由基生物學與醫學" 呂鋒洲、許義勇等著,自由基雜誌社,台北,創刊號及第二卷,1993
2. Dashti H, Al-Sayer H, Behbehani A, et al. Zinc and free radicasls in liver injury and cirrhosis. In: Abdulla M. ed. Metabolism of minerals and trace elements in human diseases. Smith Gordon, 1989:71-85.
3. Koung-Yi Liaw, M.D., Po-Huang Lee, M.D., Fang-Ching Wu, Jir-Shiong Tsai, M.D., and Shoei-Yn Lin-Shiau, Ph.D. Zinc, Copper, and Superoxide Distumase in Hepatocellular Carcinoma. The American J. of Gastroenterology 1997;92(12):2260-3
4. Masahiro S., Takeshi K., Edward D. Lee, Junta T., Garrett A. H., Kanji K., and Geraldo A. M.N. Dyficiency of Superoxide Distumase in Endemic Goiter Tissue.* J. Clinical Endocrinol. & Metabol. 1988;67(6):1156-61
5. I. Durak*, F. Bayram**, M. Kavutcu*, O. Canbolat*, and H.S. Öztürk* Impaired enzymatic antioxidant defense mechanism in cancerous human thyroid tissues. J. Endocrinol. Invest.1996; 19: 312-5
6. Kohtaro A., Kazushige D., Hidemasa H., Yoshinori M., and Kiyohiko K. Lipid Peroxidation and Free Radicals Scavengers in Thyroid Dysfunction in the Rat: A Possible Mechanism Hyperthyroidism. Endocrinol. 1987; 121(6):2112-8
7. Hitoshi I., Mitsuo I., Kiyoshi T., Yasuo M., Koichi N., Mitdudhige N., and Hiroo I. Triiodothyronine Generation from Thyroxine in Human Thyroid: Enhanced Conversion in Graves' Thyroid Tissue. J. Clinical. Endocrinol. & Metabol. 1981;l52(6):1211-7.