

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：82502

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K19876

研究課題名(和文) 妊娠・出産経験による放射線誘発乳がんの抑制メカニズムの研究

研究課題名(英文) Differential effect of parity on rat mammary carcinogenesis after pre- or post-pubertal exposure to radiation

研究代表者

高畠 賢 (Takabatake, Masaru)

国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所 放射線影響研究部・博士研究員(任常)

研究者番号：30756044

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、被ばく時年齢の違い(思春期前後)によって妊娠・出産経験がどのようにラット乳がんのリスクを変化させるかを明らかにすることを目的とした。長期飼育から非照射群と同様に思春期前に被ばくした群で、妊娠・出産経験による乳がんの予防効果が観察され、それらはER+PR+乳がんで顕著であった。加えて、思春期前の被ばくと妊娠・出産経験は、発がん過程の血清のプロゲステロン濃度を未経産群と比べて有意に減少させていた。一方、思春期後に被ばくした群では、妊娠・出産経験によるこれらの変化は観察されなかった。これらの結果は、妊娠・出産経験による乳がんの予防効果は放射線被ばく時年齢で異なることを示唆している。

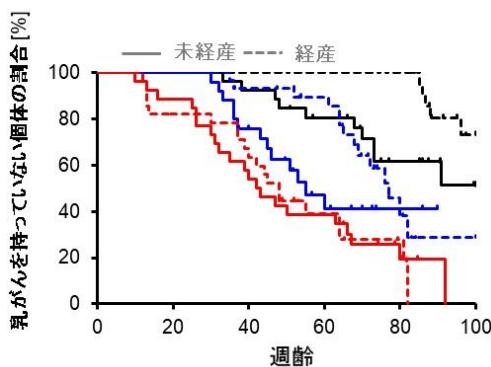
研究成果の概要(英文)：The present study investigated whether parity imposes differential protective effects against radiation-induced rat mammary carcinoma (MC) depending on the age at exposure. Pre- and post-pubertal female rats, irradiated (gamma, 4 Gy) or left unirradiated, were mated and allowed to nurse until weaning or left unmated. Appearance of MC was monitored, and serum levels of estradiol (E2) and progesterone (P4) were measured after weaning. MCs were evaluated by immunohistochemistry for ER, PR, and Ki-67. Parity reduced the risk of MC in unirradiated and pre-pubertally irradiated rats but not post-pubertally irradiated rats. Although radiation exposure increased serum P4 level, parity after pre-pubertal exposure significantly decreased the elevated P4 to a normal level. Moreover, parity significantly decreased the proportion of hormone receptor positive MCs after pre-pubertal exposure. Parity was also related to the observed positive association between PR and Ki-67 indices in cancer tissue.

研究分野：放射線生物学

キーワード：放射線 乳がん ラット 妊娠・出産 被ばく時年齢

## 1. 研究開始当初の背景

乳腺は小児の放射線治療による二次がんリスクが高い臓器の一つである[1]。乳がんのリスクを変化させる要因には妊娠・出産経験などがあるが、放射線被ばくと妊娠・出産経験による乳がんのリスクの変化は明らかになっていない。そこで妊娠・出産経験に着目し、思春期前または後(3または7週齢)のSprague-Dawley 雌ラットに放射線(線, 4Gy)を全身照射後、もしくは無処置のまま、妊娠・出産・授乳を経験させる群(経産群)と経験させない群(未経産群)に分別し、乳腺腫瘍の発生を100週齢まで観察した。その結果、思春期前の放射線被ばくでは妊娠・出産経験により乳がんのリスクが減少した一方で、思春期後の放射線被ばくではリスクの変化がないことを明らかにした(図1)。



群	ハザード比	p 値 Log-rank test
非照射	0.30	0.02
思春期前	0.50	0.08
思春期後	0.98	0.94

図1: 放射線被ばく後の妊娠・出産経験によるラット乳がんの発生率の変化

一般的に妊娠・出産経験により乳がんのリスクが低下するメカニズムとして考えられているのは、ホルモン環境の変化などがある[2]。ラットの乳がんはヒトの乳がんと同様に病理学的に似ているため、エストロゲンおよびプロゲステロン受容体陽性(ER+PR+)の乳がんが発生する。実際、放射線被ばくで誘発された乳がんのサブタイプが被ばくする時期によって異なることや、放射線被ばく及び妊娠・出産経験は乳腺のホルモン環境を変化させることが報告されている[3]。

## 2. 研究の目的

本研究は放射線を被ばくする時期によって妊娠・出産経験による乳がんのリスクが異なる原因を(1)放射線被ばく後及び妊娠・出産経験の有無によるホルモン環境、(2)乳がんのサブタイプの分類の違いから明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

### 3.1. 乳がんに関わるホルモンの測定

長期の発がん実験と同様に群を設定して、出産から8週間後の発情前期に未経産群及び経産群から血清を取得した。エストラジオール(E<sub>2</sub>)に関しては、液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法(LC-MS/MS)によって測定した。また血清中のプロゲステロン(P<sub>4</sub>)、卵胞刺激ホルモン(FSH)、黄体形成ホルモン(LH)、成長ホルモン、プロラクチン、サイロキシン、コルチコステロンレベルは、ユウロピウム(Eu<sup>3+</sup>)を用いた免疫測定法で行った。

### 3.2. ラット乳がんのサブタイプ分類

乳がんと診断された腫瘍に関してホルモン受容体であるエストロゲンおよびプロゲステロン受容体(ER および PR)、ヒト上皮成長因子受容体タイプ 2 (HER2)、増殖マーカーであるKi-67によって乳がんのサブタイプの分類を行った。

## 4. 研究成果

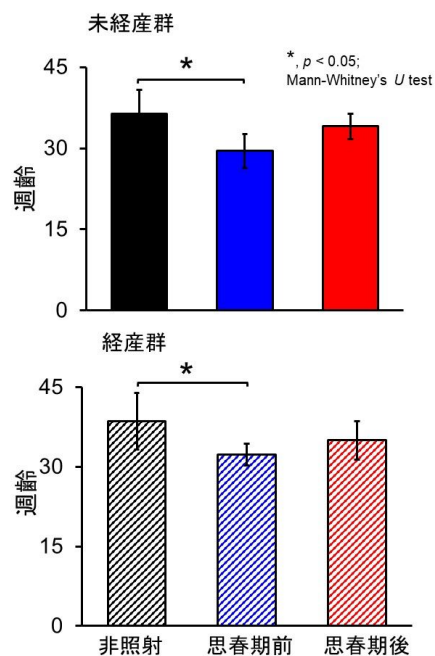


図2: 放射線被ばく後の正常な性周期の期間

### 4.1. 放射線被ばく後のホルモン環境の変化

これまでの研究で、思春期前の放射線被ばくによって有意に正常な性周期が短くなることが明らかになっている。本研究でも、同様な傾向が観察された(図2)。そこで発がん過程でのホルモン環境の変化を調べた。E<sub>2</sub>の血清レベルは、思春期前後の放射線被ばくで非照射群と比べて有意に減少していた(次ページ図3a)。FSHに関しては、被ばく群で有意に上昇していた(図3b)。これらの結果は、放射線被ばくが卵巣機能を低下させたと考えられる。P<sub>4</sub>に関しては、放射線被ばくによ

って非照射群と比べて有意に増加することが明らかになった(図 3c)。一方、思春期前の被ばくと妊娠・出産経験は、 $P_4$ の上昇を抑制して、非照射群レベルにすることが明らかになった。LHは、被ばく時期や妊娠・出産経験によって変化しなかった(図 3d)。加えて、成長ホルモン、プロラクチン、サイロキシン、コルチコステロンも被ばく時期や妊娠・出産経験によって変化しなかった。

\* , †, ‡, §,  $p < 0.05$ ; ††, ‡‡,  $p < 0.005$ ;  
\*\*\*, †††,  $p < 0.001$ ; Multi-way ANOVA

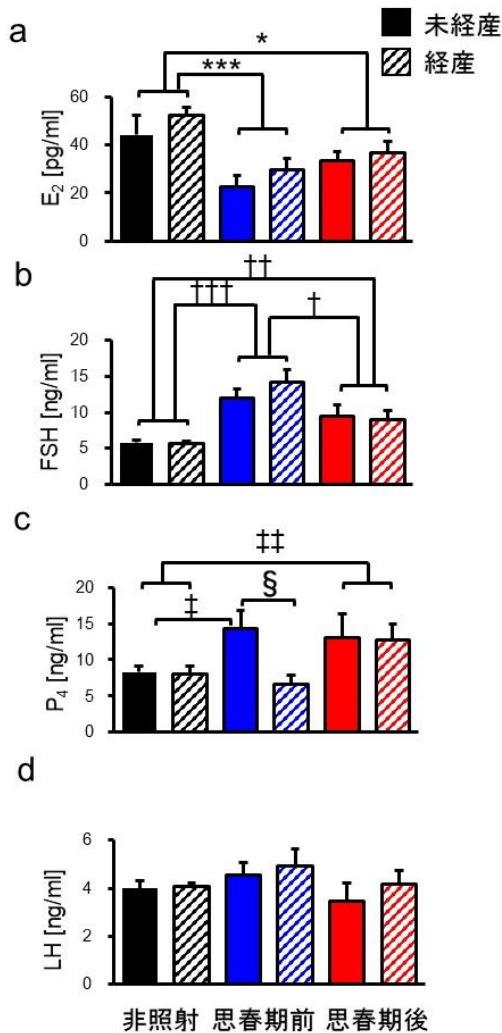


図 3: 放射線被ばく後の発がん過程でのホルモン変化

#### 4.2. 放射線被ばく後の妊娠・出産経験による乳がんのサブタイプの変化

疫学調査では、ホルモン受容体陽性(ER+PR+)乳がんが妊娠・出産経験によりリスクが低下することが報告されている[2]。そこで ER+PR+乳がんを分類して解析を行った。ラット乳がんは、ER+PR+乳がんが大部分を占めていた(図 4a)。妊娠・出産経験による影響は思春期前の被ばくで顕著であり、有意にER+PR+乳がんの割合を減少させることが明らかになった。

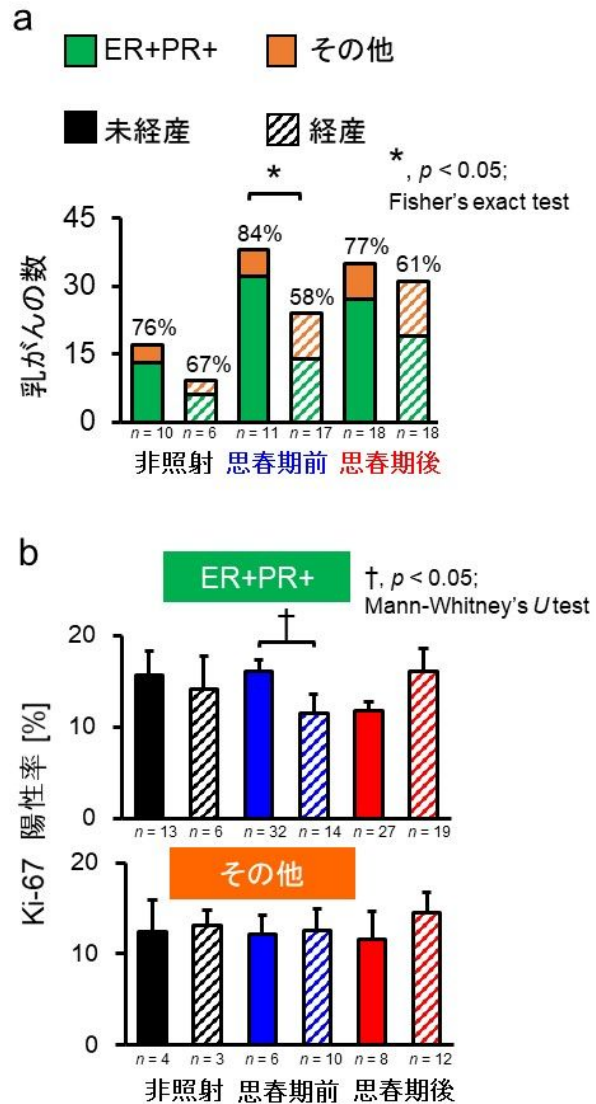


図 4: 被ばく時期や妊娠・出産経験による乳がんのホルモン受容体及び増殖活性の変化

Ki-67 の発現においても、思春期前の被ばくで誘発された乳がんが妊娠・出産経験により増殖活性が有意に低下することが明らかになった。一方、妊娠・出産経験は ER+PR+乳がん以外では、発生頻度や増殖活性マーカーである Ki-67 の発現を変化させないことが明らかになった。加えて、HER2 の発現に関しては、被ばく時期や妊娠・出産経験による発現パターンの変化は観察されなかった。興味深いことに、ER, PR 及び Ki-67 の発現パターンを比較すると、未経産群では PR と Ki-67 の発現に有意な相関は観察されなかった一方で、経産群において有意な相関があることが明らかになった(次ページ図 5)。ER と Ki-67 の発現に関しては、未経産でも経産群において有意な相関は観察されなかった。これらの結果から、妊娠・出産経験による予防効果は、被ばく時年齢で変化し、そのメカニズムは、ホルモン環境と乳がん組織の変化が示唆された。

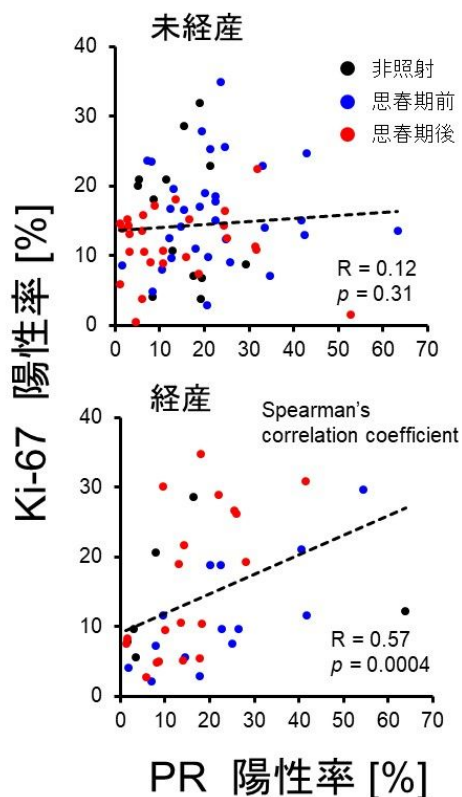


図 5: 未経産または経産群のラット乳がんにおける PR と Ki-67 の発現の関係

<引用文献>

1. Inskip, P. D. *et al.* Radiation-related new primary solid cancers in the Childhood Cancer Survivor Study: comparative radiation dose response and modification of treatment effects. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 94, 800-807 (2016).
2. Meier-Abt, F. & Bentires-Alj, M. How pregnancy at early age protects against breast cancer. *Trends Mol. Med.* 20, 143-153 (2014).
3. Imaoka, T. *et al.* Pre and postpubertal irradiation induces mammary cancers with distinct expression of hormone receptors, ErbB ligands, and developmental genes in rats. *Mol. Carcinog.* 50, 539-552 (2011).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3 件)

1. 高嶋 賢, 砂押 正章, 金 小海, 森岡 孝満: 「第 8 回放射線生物学者のための疫学研修会」参加印象記, 保健物理, 査読有, 53(1), 28 - 34, 2018-06. DOI: 10.5453/jhps.53.28
2. 高嶋 賢, 臺野 和広, 今岡 達彦, 森山 ひとみ, 蒲地 雄大, 西村 まゆみ, 柿沼 志津子, 福士 政広, 島田 義也: 妊娠・出産経験が与える乳癌への影響 ~放射線リスクを交えて~乳癌基礎研究, 査読有, 25, 9 - 14, 2017-04.

3. 今岡 達彦, 高嶋 賢, 鶴岡 千鶴, 西村 由希子, 飯塚 大輔, 島田 義也, 柿沼 志津子: 乳腺の幹細胞系: 細胞表面マーカーと細胞系譜追跡の研究から, 乳癌基礎研究, 査読有, 25, 15 - 25, 2017-04.

〔学会発表〕(計 5 件)

1. 高嶋 賢他: 放射線被ばく年齢で変化する妊娠によるラット乳がんの予防効果, 第 60 回日本放射線影響学会, 2017-10-26.
2. 高嶋 賢他: 妊娠によるラット乳がんの予防効果は放射線被ばく時年齢に依存する, 第 32 回発癌病理研究会, 2017-08-25.
3. 高嶋 賢他: Differential effects of pregnancy on rat mammary carcinoma induction by pre- and post-pubertal radiation exposures, 第 15 回幹細胞シンポジウム, 2017-05-27.
4. 高嶋 賢他: 放射線被ばく後の妊娠・出産経験による乳がんリスクの変化とそのサブタイプの影響, 第 59 回日本放射線影響学会, 2016-10-26.
5. 高嶋 賢他: 放射線被ばく後の妊娠・出産経験によるラット乳がんリスク変化とそのサブタイプの関係, 第 25 回乳癌基礎研究会, 2016-07-23.

〔その他〕

表彰

高嶋 賢, 日本放射線影響学会優秀演題発表賞, 第 60 回日本放射線影響学会, 2017-10-28.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高嶋 賢 (TAKABATAKE, Masaru)  
 国立研究開発法人量子科学技術研究開発機構・放射線医学総合研究所・放射線影響研究部・博士研究員  
 研究者番号: 30756044