

機関番号：14301
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2009～2010
課題番号：21790337
研究課題名(和文) チェルノブイリコホートの全ゲノム解析による放射線誘発甲状腺がん感受性遺伝子の同定
研究課題名(英文) The Identification of Genes Associated with Radiation-related Thyroid Cancer by Genome Wide Association Analysis
研究代表者
高橋 めい子 (TAKAHASHI MEIKO)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：20372592

研究成果の概要(和文)：本研究の主題は「放射線誘発甲状腺がんの発症リスクに関与する遺伝子多型性 SNPs の同定」である。申請者らはチェルノブイリ原子力発電所の事故により乳幼児期に放射能被曝を受けたベラルーシ人から、早発型甲状腺乳頭がんの患者群の検体と、その患者と年齢、性別、被曝時の居住地が一致する健常者群の収集をし、全ゲノム関連解析 GWAS を実施した。

研究成果の概要(英文)：The main aim of this research is to identify the SNPs associated with the risk of radiation-related thyroid cancer. We have started genome wide association analyses of thyroid cancer patients who were aged 0-18 years and resided in the radio-contaminated regions of Belarus at the time of the Chernobyl accident, and matched Belarusian control subjects.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
21 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
22 年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・人類遺伝学

キーワード：ゲノム医科学

1. 研究開始当初の背景

人類史上最悪の放射線事故であるチェルノブイリ原子力発電所の事故から 25 年経過した。放射線の影響の明らかな健康障害は、事

故当時乳幼児・小児であった子供達に多発した甲状腺がんである。放出された放射性物質の一つに半減期が短いヨード 131 があるが、これを吸入したり、汚染牛乳などの飲用を通して摂取することで、周辺地域住民が体内被曝をしたと考えられている。ヨードは甲状腺

に蓄積される性質があり、そのことが事故後、小児において甲状腺がんが激増した原因になったと考えられている。

被爆者固形癌の発症の分子メカニズムを明らかにするためには生体試料が不可欠である。貴重な生体試料を用いた解析の結果、チェルノブイリ原発事故当時に10歳未満であった小児被爆者が15歳までに発症した甲状腺癌の多くがRET/PTC遺伝子再構成を保有するのに対して、成人の発症例ではBRAF遺伝子の点突然変異が多くなっていることが判明している。このように発症までの潜伏期間すなわち発症時の年齢因子が、発癌プロセスにおいて大きな影響をもたらしている。この潜伏期の違いで惹起される放射線誘発甲状腺がんの発症分子機構を明らかにするため、61万個のSNPマーカーを搭載したSNPアレイを用いて全ゲノム関連解析(GWAS)を開始した。

ヒトゲノムの塩基配列には、個人間、人種間で微妙な違いが多数存在する。これら塩基の個体差を多型と呼び、疾患と個人の遺伝的素因の関係を調べる有用なツールとなっている。そのうち一塩基の多型 (Single Nucleotide Polymorphism: SNP) はヒトゲノム上で数百塩基に1箇所の割合で存在するが、必ずしもそのすべてが疾患と関係するわけではない。近年ではDNAチップの開発により全ゲノム関連解析(GWAS: Genome Wide Association Study)が可能になった。がん患者と健常者対照群について数十万個のSNP遺伝子型データを一度に決定し、両群で有意差を認めるSNPを探索することにより疾患発症に重要な影響を及ぼす遺伝子多型が同定可能である。

2. 研究の目的

本研究の主題は3つのテーマから構成される。

(1) GWASによる放射線誘発甲状腺癌に特異的な遺伝子の同定

(2) 放射線による発がん機構の解明

(3) 放射線によるがん発生と遺伝的発がん感受性との関連

これらを通じて、放射線被爆による甲状腺癌の発がんの分子機構を解明し、それを予防および新たな甲状腺癌医療の展開につながる事を目的とする。放射線によって起こる他の組織のがんにも関与しているかを調べることにより、放射線誘発甲状腺がんの発症メカ

ニズムは全ての発がん研究のモデルとなることが期待でき、癌の予防、発症の予測等に貢献できる。分子遺伝情報に基づいた病体解明を通して、医学の究極的目的である臨床医学への展開につなげるための情報を収集していきたい。

3. 研究の方法

我々は放射線誘発甲状腺がんの発症リスクに関与する遺伝因子を同定するためGWASを開始した。症例は乳幼児期に放射能被爆を受けたベラルーシ人(事故当時18歳以下の者)にしぼり、対照群は症例に対して、性、年齢、被爆時の居住地をマッチさせた。患者、対照群のDNA各々200検体を用いて行ったタイピング結果により選択されたSNPsに関して統計解析を行い、患者集団内での頻度が統計学的有意に達するSNPがあるかを検討した。

4. 研究成果

(1) ゲノムワイド関連解析(GWAS) : Set1

申請者らは、イルミナ社のHuman610kアレイを用いて、患者、対照群のDNA各々200検体のゲノムスキャンを実施した。症例は事故当時18歳以下の者にしぼり、対照群は症例に対して、性、年齢、被爆時の居住地をマッチさせた。結果の品質管理は、検体については、タイピング成功率が90%以上、近縁度が高いペアの片方を除外、またSNPについてはタイピング成功率が95%以上のもののみを解析に使用した。最終的に甲状腺がん患者187検体、対照群172検体のタイピング結果により選択されたSNPsに関して統計解析を行い、患者集団内での頻度が統計学的有意に達するSNPがあるかを検討した。有意差の得られたSNPについては、それを含むハプロタイプの頻度に差があるか否かを検討した。その結果、 $p=2 \times 10^{-7}$ を含む22個の潜在的有意差を持つSNPが得られた。

(2) ゲノムワイド関連解析(GWAS) : Set2

平成21年度はそれに加えて、甲状腺がん患者214検体のゲノムスキャンを実施した。対照群はロシア人の一般母集団448検体のデータを用いた。同様の品質管理を実施し、患者と対照群の間で、アリル頻度、ジェノタイプ分布を統計解析した。ゲノムワイドで有意となるSNP($p=9.6 \times 10^{-8}$)はなかった。

(3) Set1 と Set2 のメタ解析

Mantel-Haenszel 法により Set 1 (患者 187 検体、対照群 172 検体)、Set 2 (患者 214 検体、対照群 448 検体) のメタ解析を実施した結果、ゲノムワイドで有意となる SNP、rs965513 を染色体 9 番に同定した。

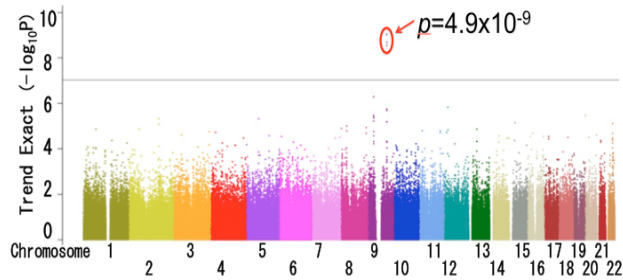


図 1 : 染色体別 p 値

縦軸はメタ解析 p 値の $-\log$ を表し、ゲノムワイドで有意と判定できるボーダー ($p=9.6 \times 10^{-8}$) を水平の実線で表した。

(4) 再現性の検証

独立したサンプルセット (Set3: 患者 259 検体、対照群 648 検体) を用いた再現性検証を Taqman 法で試みた結果、 $p=2.0 \times 10^{-4}$ が得られ、また Sets 1、2 とのメタ解析で $p=4.8 \times 10^{-12}$ と極めて強い関連が得られた ($OR=1.65$, 95% $CI:1.43-1.91$)。rs965513 は FOXE1 遺伝子の upstream に位置し、非放射線誘発甲状腺がんとも強い関連が報告されている。FOXE1 は病型にかかわらず甲状腺がんの遺伝因子となっていることが示された。

rs965513 以外で Set1 と Set2 双方で有意差を示した SNP が染色体 9 番に 4 個、染色体 12 番に 2 個得られた。Set3 を用いた再現性検証を Taqman 法で試みた結果、有意差を示す SNP が 1 つあった ($p=3.3 \times 10^{-3}$)。Set1 から Set3 各々の結果を用いてメタ解析を実施した結果、ゲノムワイドで有意ではなかったものの強い関連を示す値 $p=2.3 \times 10^{-7}$ が得られた。今後は、放射線誘発甲状腺がんの患者群の検体と、その患者と性別、年齢、被爆時の居住地の一致する健常者群の収集をベラルーシで続けるとともに、ウクライナからも収集し始める。今回得られた結果は再現性を確認する必要があるため、研究全体を通して検体数の増加 (約 1,500

検体ずつ) につとめる。放射線誘発甲状腺がん特異的に関連を示す SNP を同定し、被爆することによりどのように甲状腺の癌化につながるかを明らかにする。

なお、非放射線誘発甲状腺がんと強い関連を示した 14 番染色体に存在する SNP rs944289 と放射線誘発甲状腺がんの関連は見出せなかった (Set1 $p=0.23$, Set2 $p=0.43$, メタ解析 $p=0.17$)。

(5) 今後の研究計画

放射線発癌は直接 DNA が障害されることによって発生するのではなく、潜伏期に発癌が起こる、間接的な機構が重要であることが明らかになってきている。放射線誘発甲状腺がんに関する発がん関連遺伝子群の分離・同定・機能解析と、それに基づく治療法の開発は、被爆者医療の向上のため極めて重要である。本研究で得られた結果を用いた将来的な展望として、放射線による発がん機構の解明、そして放射線によるがん発生と遺伝的発がん感受性との関連に、大きな寄与をもたらすと考えている。これらを通じて、放射線被爆による甲状腺がんの発がんの分子機構を解明し、予防および新たな甲状腺がん医療の展開につながることを期待される。また、放射線によって起こる他の組織のがんにも関与しているかを調べることにより、放射線誘発甲状腺がんの発症メカニズムは全ての発がん研究のモデルとなることを期待でき、癌の予防、発症の予測等に貢献できる。分子遺伝情報に基づいた病体解明を通して、医学の究極的目的である臨床医学への展開につなげるための情報を収集していきたい。

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 1 件)

Meiko Takahashi, Vladimir Saenko, Tatiana Rogounovitch, Takahisa Kawaguchi, Valentina Drozd, Hisako Takigawa-Imamura, Natallia Akulevich, Chanavee Ratanajaraya, Norisato Mitsutake, Noboru Takamura, Larisa Danilova, Maxim Lushchik, Yuri Demidchik, Simon Heath, Ryo Yamada, Mark Lathrop, Fumihiko Matsuda & Shunichi Yamashita.

The FOXE1 locus is a major genetic

determinant for radiation-related thyroid carcinoma in Chernobyl.
Human Molecular Genetics 査読有、Vol. 19
2010、pp. 2516-2523.

〔学会発表〕（計 2 件）

- (1) 高橋めい子：チェルノブイリコホートのゲノムワイド解析による放射線誘発甲状腺がん感受性遺伝子の同定
第 54 回大会 日本人類遺伝学会
2009 年 9 月 24 日
グランドプリンスホテル高輪
- (2) 高橋めい子：チェルノブイリコホートの全ゲノム関連解析による放射線誘発甲状腺がん感受性遺伝子の同定
第 55 回大会 日本人類遺伝学会
2010 年 10 月 28 日
大宮ソニックシティ

6. 研究組織

- (1) 研究代表者
高橋めい子 (TAKAHASHI MEIKO)
京都大学・医学研究科・助教
研究者番号：20372592