

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 27 日現在

機関番号：87301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460470

研究課題名(和文)放射線誘発甲状腺がんの発生機序の解明

研究課題名(英文)Mechanisms of radiation-induced thyroid cancer

研究代表者

伊東 正博(Ito, Masahiro)

独立行政法人国立病院機構(長崎医療センター臨床研究センター)・機能形態研究部・教授

研究者番号：30184691

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：本研究期間中、チェルノブイリ組織バンクに5021例の組織登録が完了した。ヨード環境の異なる本邦とチェルノブイリ周辺地域の被曝歴のない成人の甲状腺乳頭癌症例を用いて病理組織学的検討を行った。チェルノブイリ症例では小児、成人とも充実性成分を有する症例が多くみられ、ヨード環境や遺伝的背景の差が形態形成に差をもたらすこと、放射線感受性を考える上で環境因子が重要であることを報告した。また福島原発事故関連の若年症例では、大部分の症例が古典的乳頭癌形態を呈し、BRAF点突然変異が多く、ret/PTC変異を主とするチェルノブイリ症例とは腫瘍形態、遺伝子変異が大きく異なることを明らかにした。

研究成果の概要(英文)：By the end of this research period 5021 cases have been registered in the Chernobyl tissue bank. Using spontaneous adult papillary thyroid carcinomas from Japan and the Chernobyl area, the histopathological examination was performed. As a result both pediatric and adult papillary carcinomas in the Chernobyl area showed higher percentages of solid component, suggesting that the low-dietary iodine environment and genetic background bring differences in morphogenesis and radiation sensitivity.

And juvenile thyroid cancer cases of Fukushima showed commonly classic type papillary carcinoma and BRAF point mutation. These results are different from Chernobyl cases, which show high frequencies of solid component and ret/PTC rearrangement.

研究分野：病理学

キーワード：チェルノブイリ 放射線被曝 小児甲状腺癌 低ヨード 福島原発事故

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 2011年3月に福島原発事故が発生し周辺地域で甲状腺がん発症への不安が高まっているが、被曝形態や食事性ヨード環境はチェルノブイリ周辺地域では大きく異なっている。チェルノブイリ事故から29年が経過し周辺地域での甲状腺癌の発生は小児から成人にシフトし依然高い発生率が見られる。申請者のグループは過去23年間にわたり現地検診活動と共同研究を積極的に推進してきた。申請者は1998年に設立されたチェルノブイリ組織バンク病理部会の日本代表委員として参加し、2015年から福島症例の各種検討委員会の委員として参画している。チェルノブイリ組織バンクでは、全症例のパラフィンブロック、凍結標本、DNA、RNA 核酸抽出物など生体試料が収集管理され、共同研究に試料提供を行っている。

(2) 我々はこれまでにチェルノブイリ小児甲状腺癌の病理疫学的な特徴として 若年者ほど放射線感受性が高いこと、短潜伏期では充実性要素、ret/PTC3 再配列が高いこと、

高年齢被曝児ほど分化型成分が多く ret/PTC1 再配列が多いこと、 BRAF 変異は年齢と相関し被曝の有無とは関係しないことを明らかにしてきた (Br J Cancer 2004, J Clin Endocrinol Metab 2004)。また被曝甲状腺癌には一つの決まった特徴はなく、被曝形式により形態学的にも分子生物学的にも多様な形態を呈することを世界に先駆けて提案した (Thyroid, 2008, Br J Cancer, 2004)。

(3) 遺伝子不安定解析に関しては、53BP1 蛍光免疫染色、DNA 損傷応答関連分子リン酸化ヒストン H2AX やリン酸化 ATM、autophagy 関連遺伝子の遺伝子、microRNA 解析を計画している。DNA 二本鎖切断を修復する新規分子マーカー-53BP1 に関しては蛍光免疫染色を用い先駆的研究を行い国際学術雑誌に発表してきた (Histopathology 2013, Int J Cancer 2008)。

(4) 放射線誘発甲状腺がん研究の最大の関心は 放射線被曝に特異的な遺伝子異常が存在するかと 福島原発事故と若年者甲状腺癌とは関連があるのかと云える。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は『放射線被曝による甲状腺発がん分子機構を明らかにする』ことである。チェルノブイリ事故後に多発した小児甲状腺がんを精力的にゲノム DNA 解析がなされてきたが、放射線特異的な遺伝子異常は未だ見いだされていない。今回の申請では、乳幼児、若年被曝による放射線誘発甲状腺がんの高リスク分子機構を、ゲノム DNA 変異解析に加えエピジェネティックな変異解析の両面から解明することを目的とする。これらの研究成果は、福島第一原発事故後の若年者甲状腺発がんリスク評価に繋がる極めて重要な基盤研究データになることが期待される。

## 3. 研究の方法

(1) 1. サンプル収集・データの保存。

チェルノブイリ組織バンクに集積された生体試料 (パラフィン切片、組織マイクロアレイ、DNA・RNA 抽出物) の解析を継続する。国内施設からは原爆被曝関連甲状腺がん症例 (原爆被曝者腫瘍組織バンク) を追加収集する。

2. 甲状腺がん発癌の代表的なゲノム DNA 変異解析。

すでに実験方法の確立している Ret/PTC1,3 再配列、BRAF 点突然変異を解析し、潜伏期、被曝時年齢、被曝形態、人種間比較検討を研究期間、逐次継続していく。

DNA 修復・遺伝子安定性維持機構の損傷の解析。ホルマリン固定パラフィン切片を用い 53BP1 蛍光免疫染色で核内フォーカスの形成からパターン分析を行う。晩発性ゲノム不安定を 53BP1 核内フォーカスで検知できない場合は、他の損傷応答関連分子リン

酸化ヒストン H2AX やリン酸化 ATM についても相補的に蛍光染色を準備する。

( 3 ) microRNA解析。

小児甲状腺癌RNAはCTBから分与を受ける。自然発症乳頭癌症例と正常甲状腺組織のRNA発現、コピー数におけるBac array CGHデータ、SNP配列のデータはCTBから提供を受ける。マイクロアレイ解析は専門的な知識と技術が必要なため外部委託を予定している。

#### 4 . 研究成果

( 1 ) チェルノブイリ組織バンクには平成26年度は330症例の登録が追加され、これまでに5021例の組織登録が完了し、推定個人被曝線量の登録が昨年度から開始されている。国内では原爆被曝関連甲状腺がん症例の登録が進んでいる。形態学的には被曝甲状腺癌には一つの決まった特徴はなく、被曝形式により形態学的にも分子生物学的にも多様な形態を呈することを報告した。低ヨード環境は小児甲状腺癌の発生頻度の上昇、潜伏期の短縮、充実性形態変化に影響を及ぼしていることが推察された。

( 2 ) 低ヨード環境の影響を見る目的で、非被曝成人症例の国際比較検討を行った。本邦とチェルノブイリ周辺地域の被曝歴のない成人の甲状腺乳頭癌症例を用いて臨床病理組織学的検討を行った。その結果、チェルノブイリ症例では小児、成人とも充実性成分を有する症例が多くみられ、ヨード環境や遺伝的背景の差が形態形成に差をもたらすこと、放射線感受性を考える上で環境因子の考慮が必要であることを報告した ( Endocr J 2014 ) ( 3 ) 共同研究者とDNA修復・遺伝子安定性維持機構の損傷の解析、DNA 損傷応答遺伝子の多型性が放射線関連腫瘍発症リスクになっている可能性を報告している。

( 4 ) 福島県で実施されている世界で経験のない若年者のスクリーニングで発見され

た乳頭癌症例の遺伝子プロファイルを検索し、大部分の症例が古典的乳頭癌形態を呈し、BRAF 点突然変異が多く、ret/PTC 変異を主とするチェルノブイリ症例とは腫瘍形態、遺伝子変異が大きく異なるという報告を行った。これは放射線被曝の関与を考察する上で極めて重要な研究報告である ( Scientific Reports 2015 )。

#### 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 12 件 )

Mitsutake N, Saenko V, Ito M (他7名, 5番目, 7番目). BRAFV600E mutation is highly prevalent in thyroid carcinomas in the young population in Fukushima: a different oncogenic profile from Chernobyl. *Scientific Reports* 2015 Nov 20;5:16976. 査読有 doi: 10.1038/srep16976.PubMed PMID: 26584635; PubMed Central PMCID: PMC4653756..

Rogounovitch TI, Nakashima M, Ito M, Saenko VA.(他20名, 5,16,24番目) The Common Genetic Variant rs944289 on Chromosome 14q13.3 Associates with Risk of Both Malignant and Benign Thyroid Tumors in the Japanese Population. *Thyroid*. 2015; 25(3):333-40. 査読有 doi: 10.1089/thy.2014.0431. Epub 2015 Feb 5.PMID:25562676

Matsuu-Matsuyama M, Shichijo K, Nakashima M. (他4名, 7番目) Effect of age on the sensitivity of the rat thyroid gland to ionizing radiation. *J Radiat Res*. 2015; 56(3):493-501. doi: 10.1093/jrr/rrv003. Epub 2015 Feb 16.PMID:25691451 査読有

Ito M, Saenko V, Nakashima M.(他

8 名,1,3,7 番目) Morphological difference in adult thyroid papillary carcinoma between Japan and Ukraine. *Endocr J* 2014; 61 (12), 1221-1228 査読有 doi: 10.1507/endocrj.EJ14-0239. Epub 2014 Sep 20. PubMed PMID: 25242260

Otsubo R, Oikawa M, Nakashima M. (他 16 名,15 番目) Novel diagnostic procedure for determining metastasis to sentinel lymph nodes in breast cancer using a semi-dry dot-blot method. *Int J Cancer.* 2014; 134(4):905-12. doi: 10.1002/ijc.28408. Epub 2013 Sep 16. PMID:23913465 査読有

Mussazhanova Z, Saenko V, Ito M, Nakashima M. (他 8 名 5,11,12 番目) Radiation-associated small cell neuroendocrine carcinoma of the thyroid: a case report with molecular analyses. *Thyroid.* 2014; 24(3):593-8. doi:10.1089/thy.2013.0214. Epub 2014 Jan 15. PubMed PMID: 23844610. 査読有

Orim F, Nakashima M, Ito M, Saenko V. (他 8 名,4,5,9 番目) Thyrotropin signaling confers more aggressive features with higher genomic instability on BRAF(V600E)-induced thyroid tumors in a mouse model. *Thyroid.* 2014; 24(3):502-10. 査読有 doi: 10.1089/thy.2013.0038. Epub 2014 Jan 15. PubMed PMID:23924149; PubMed Central PMCID: PMC3949501.

Tsurusaki Y, Koshimizu E, Nakashima M. (他 17 名,15 番目) De novo SOX11 mutations cause Coffin-Siris syndrome. *Nat Commun.* 2014; 5:4011. doi: 10.1038/ncomms5011. PMID:24886874 査読有

Shimamura M, Nakahara M, Nakashima M. (他 3 名,5 番目) Disruption of transforming growth factor- signaling in thyroid follicular epithelial cells or intrathyroidal fibroblasts does not promote thyroid carcinogenesis. *Endocr J.* 2014; 61(3):297-302. Epub 2013 Dec 10. PMID:24335009 査読有

Furukawa K, Preston D, Ito M. (他 8 名, 5 番目) Long-term trend of thyroid cancer risk among Japanese atomic-bomb survivors: Sixty years after exposure. *Int J Cancer* 2013; 132(5):1222-6,2013 doi: 10.1002/ijc.27749. Epub 2012 Aug 16. PMID:22847218 査読有

Mussazhanova Z, Saenko V, Ito M, Nakashima M. (他 8 名, 7,11,12 番目) Significance of p53-binding protein 1 (53BP1) expression in thyroid papillary microcarcinoma: association with BRAFV600E mutation status. *Histopathology.* 2013; 63(5):726-34. 査読有 doi: 10.1111/his.12233. Epub 2013 Sep 5. PubMed PMID: 24004175.

Bychkov A, Saenko V, Nakashima M. (他 7 名, 2,3 番目) Patterns of FOXE1 expression in papillary thyroid carcinoma by immunohistochemistry. *Thyroid.* 2013;

23(7):817-28. doi: 10.1089/thy.2012.0466.  
Epub 2013 Jun 21. PMID:23327367 査読有

〔学会発表〕(計7件)

Ito M.

International Cooperation to Establish Post Chernobyl NIS Thyroid Tissue, Nucleic Acid and Data Banks. 23th Pathology Panel Meeting. Charing Cross Hospital, Imperial, London, 2015.05.29-30.

Ito M, Yamashita S.

Chernobyl Thyroid Tissue Bank.  
The 1st International Workshop on Sample/Tissue Archiving of Radiobiology (STAR 2015) Kyoto, 2015.05.25

伊東正博, Tatiana Bogdanova, Alexander Abrosimov, Guido Fadda, Jeniffer Hunt, Gerry Thomas, 中島正洋, 山下俊一.

チェルノブイリ組織バンクの活動状況と課題.

第104回日本病理学会総会. 名古屋, 2015.04.30-05.02.

伊東正博, Tetiana Bogdanova, Saenko Vladimir, Tatiana Rogounovitch, 光武範吏, 黒濱大和, 三原裕美, 前田茂人, 中島正洋, 山下俊一.

チェルノブイリ周辺地域と本邦の成人甲状腺乳頭癌の病理組織像と増殖活性の比較

第58回日本甲状腺学会学術集会 福島, 2015.11.05-07.

Ito M.

International Cooperation to Establish Post Chernobyl NIS Thyroid Tissue, Nucleic Acid and Data Banks. 22th Pathology Panel Meeting. Charing Cross Hospital, Imperial, London. 2014. 05, 20 -22

伊東正博, タチアナ・ボグダノワ、黒濱大和、三原裕美、前田茂人、中島正洋、山下俊一.

ヨード環境の異なる地域の甲状腺乳頭癌の MIB1 Index.

第2回甲状腺病理学会、神戸市、2014.7.12

伊東正博, Tatiana Bogdanova, 前田茂人、近藤久義、中島正洋、山下俊一.

本邦とウクライナの成人甲状腺乳頭癌の組織学的比較.

第103回日本病理学会 広島 広島国際会議場 2014.04.24-26

〔図書〕(計2件)

Bogdanova T, Williams ED, Ito M, Nakashima M. (他3名, 6,7番目) Thyroid cancer pathology in Ukraine after Chernobyl. Tronko M, Yamashita S (eds), Chapter 4. pp65-108, IN-TEX Ltd, Nagasaki, 2014 査読なし

Ito M, LiVolsi V, Nakashima M, Yamashita S. (他5名, 1,8番目) Pathology review of childhood thyroid cancer around Chernobyl. In Nakashima M, Takamura N, Suzuki K, Yamashita S (Eds). A new challenge of radiation health risk management, Nagasaki Newspaper Publish, Nagasaki, 2012, pp205-212 査読なし

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

<http://nagasaki-ajisai.jp>

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

伊東 正博(ITO,Masahiro)

独立行政法人国立病院機構(長崎医療センター臨床研究センター)・臨床研究センター・部長

研究者番号 : 30184691

### (2)研究分担者

中島 正洋(NAKASHIMA,Masahiro)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(医学系)・教授

研究者番号 : 50284683