

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K09804

研究課題名(和文) TERTは甲状腺癌の予後推測・治療方針決定のマーカーとなりうるか？

研究課題名(英文) Can TERT be a marker for prognosis and treatment decision making in thyroid cancer?

研究代表者

松瀬 美智子 (MATSUSE, Michiko)

長崎大学・原爆後障害医療研究所・助教

研究者番号：30533905

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：甲状腺癌は近年、その数が世界的に増加している疾患であり、再発・転移を来す悪性度の高い甲状腺癌を推定できる新たな分子マーカーの発見が望まれる。

本研究ではテロメアを伸長する逆転写酵素をコードするTERT遺伝子のプロモーター領域における変異が上述した分子マーカーとなりうるのか検討した。

TERTプロモーター変異は甲状腺癌の予後予測分子マーカーとして有用であること、また放射性ヨード治療抵抗性と関連することを明らかにした。さらにTERTプロモーター変異陰性症例の中にTERT mRNAが高発現している症例があることを発見し、これらも再発リスクが高いことを明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

TERTプロモーター変異は甲状腺癌の予後予測分子マーカーとして有用であること、また放射性ヨード治療抵抗性と関連することを明らかにした。さらにTERT mRNAも甲状腺癌の新たな分子マーカーとして有用であることを明らかにした。このマーカーによって術前に癌の悪性度を予測できれば、手術を行う・行わない、半葉切除か全摘かなどの治療方針の決定に重要な情報を提供できる。これにより、治療・管理の最適化、患者QOLの改善、ひいては医療経済の節約にもつながるものと考えられる。

研究成果の概要(英文)： The incidence of thyroid cancer has been increasing worldwide. Although most papillary thyroid carcinomas have a good prognosis, a small but certain fraction shows aggressive behavior. Therefore, a novel and well-performing molecular marker is needed.

In the present study, we examined whether mutations in the promoter region of the telomerase reverse transcriptase (TERT) gene could serve as a molecular marker as described above.

TERT promoter mutations were found to be useful as a prognostic molecular marker for thyroid cancer and were associated with resistance to radioiodine therapy. We also found that some TERT promoter mutation-negative cases expressed TERT mRNA, and those had a higher recurrence rate.

研究分野：内分泌学

キーワード：甲状腺癌 TERT

1. 研究開始当初の背景

甲状腺乳頭癌 (PTC) の悪性度・予後を決定する分子マーカーについて

甲状腺癌は近年、その数が世界的に増加している疾患であり、再発・転移を来す悪性度の高い甲状腺乳頭癌 (PTC) を推定できる新たな分子マーカーの発見が望まれる。

欧米では *BRAF* 変異が PTC の悪性度と関連すると報告されているが、日本人 PTC 症例における *BRAF* 変異の頻度は約 70% と非常に高く、この変異を持つ PTC が全て悪性度の高いものであるとは考えにくい。事実、日本ではこれを否定する結果が数多く報告されている。つまり、日本では PTC の悪性度を決定する分子マーカーが見つかっていないというのが現状である。

近年、様々な癌において、テロメア伸長を行う逆転写酵素をコードする *TERT* 遺伝子のプロモーター領域における変異 (chr5:1,295,228 C>T (C228T)、chr5:1,295,250 C>T (C250T)) が発見され、悪性度と関連することが報告されている (Huang, *Science* 2013)。我々は共同研究により、甲状腺癌においてもこの変異が検出されることを世界ではじめて報告した (Landa, *JCEM* 2013)。その後も様々なグループから、特に予後の悪い未分化癌や低分化癌でこの変異が高頻度に検出されることが報告されている。米国での症例を用いた報告によると、*BRAF* と *TERT* プロモーター両変異を持つ PTC は予後不良であることが示された (Xing, *JCO* 2014)。しかし、上述したように日本人 PTC 症例では *BRAF* 変異の頻度が約 70% と欧米人 (約 45%) と比べて非常に高いなど、遺伝子プロファイルが大きく異なっており、日本人症例を用いた検討が必要である。

甲状腺微小癌の手術適応を推定できる分子マーカーについて

近年、超音波診断装置および超音波ガイド下細胞診の発達により、今までは発見されなかった 10 mm 以下の微小な甲状腺乳頭癌 (微小癌) が偶発的に発見されるようになった。この中には、長期間ほとんど進行しないものがあることが分かり、全ての微小癌に手術を行うのは過剰な治療であると考えられるようになってきた (Ito, *Thyroid* 2014)。

また福島第一原発事故後に始められた福島県における甲状腺検査 (事故当時 18 歳までの小児・若年者に対する超音波検査) において、予想をはるかに超える頻度で甲状腺癌が見つかってきている。個人の被ばく線量は極めて低く、これらの癌は放射線誘発とは考えにくい。遺伝子解析の結果も成人 PTC とよく似た遺伝子プロファイルであった (Mitsutake, *Sci Rep* 2015) ことから、これらの大部分は、成人のある時期まで問題なく経過していたと予想されるが、現状ではエビデンスがなく、保護者の希望もありほぼすべて手術を施行している。

以上より今後多数発見されてくるこれらの甲状腺癌の予後・手術適応を推定できる新たな分子マーカーの発見が望まれる。

2. 研究の目的

TERT プロモーター変異や *TERT* の発現亢進が上述した分子マーカーとなりうるのか検討し、臨床的に有用なマーカーを発見することが本研究の目的である。

3. 研究の方法

- (1) PTC の FFPE サンプルを用いてダイレクトシーケンスにより *BRAF* 及び *TERT* プロモーター変異を検索する。臨床病理学的特徴・再発率との関連を検討することにより、両変異と悪性度・予後との関連を調べる。
- (2) 増大する一部の甲状腺微小癌を *BRAF* 及び *TERT* プロモーター変異の有無で見分けることができるか検討する。
- (3) 変異だけでなく、*TERT* mRNA の発現量と悪性度・予後との関連も検討し、どちらが優れた指標が明らかにする。
- (4) 放射性ヨード治療の反応性と *TERT* プロモーター変異との関連を検討する。

4. 研究成果

- (1) 隈病院において手術を受けた日本人 PTC 症例 356 例 (女性 303 例、男性 53 例、50.9 ± 15.8 歳) を解析した結果、*BRAF* 変異は 82.6% (294/356)、*TERT* プロモーター変異は 10.1% (36/356) に検出され、*TERT* プロモーター変異症例は全て *BRAF* 変異も陽性であった。さらに両変異は年齢、腫瘍径、甲状腺外浸潤、遠隔転移等の high risk な臨床病理学的特性と有意な関連が認められ、再発リスクも両変異をもつ PTC で有意に高いことを確認した (HR: 6.74; 95% CI: 2.17-20.91; *P* = .001)。今回の日本人症例を用いた検討において *BRAF* 変異単独では悪性度との関連は認められなかったが、

BRAFV600E+TERT プロモーター変異は日本人においても PTC の悪性度・予後規定因子であることが示唆された。またさらに、これまで PTC の予後と相関するとされてきた Ki-67 labeling index (LI) とこれら遺伝子変異を組み合わせ、より精度の高い分子予後診断を試みた。変異パターンと Ki-67 LI とを組み合わせ、症例を低・中・高リスク群に分類したところ、それぞれの再発率は 1.9%、18.2%、44.4% と有意な違いを示すことが分かった。以上より、*BRAFV600E+TERT* プロモーター変異と Ki-67 LI を組み合わせることにより、正確な悪性度・予後予測が可能であることが示唆された (Matsuse, *Scientific Reports* 2017)。

- (2) 隈病院では 1993 年より、低リスクの微小癌に対しては患者さんの同意のもとに非手術経過観察を行っており、10 年の観察期間で 3mm 以上増大したものは 8%、新たにリンパ節転移が現れたものは 3.8%、臨床疾患に進行したものは 6.8%、と増大・進行するものはごく一部と報告されている。この増大する一部の微小癌を *BRAF* 及び *TERT* プロモーター変異の有無で見分けることができるか検討した。1,252 例の経過観察を行った微小乳頭癌のうち、観察中に増大した、もしくはリンパ節転移が出現した症例に対して上記マーカーの解析を行ったところ、*BRAF*、*TERT* 変異の関連は無く、Ki-67LI のみ相関することを報告した (Yabuta, *Thyroid* 2017)。
- (3) *TERT* は正常なヒト体細胞では発現が認められないが、プロモーター領域における変異により転写因子の新たな結合領域ができることで転写が活性化されると考えられている。この変異の有無と mRNA の発現量との関連を検討したところ、変異のある全ての甲状腺乳頭癌症例で mRNA の発現を認めた。しかし変異が無くとも mRNA が高発現している症例があることが分かった。さらにこれらの症例は mRNA 発現陰性症例と比較して再発リスクが高いことが明らかとなり、*TERT* mRNA 発現も PTC の新たな分子マーカーとして有用である可能性が示唆された。さらに興味深いことに、*TERT* プロモーター変異は年齢と非常に強い相関があることがわかっていたが、上述した変異陰性 *TERT* mRNA 高発現症例はむしろ若年者に多く、予後予測マーカーとして高齢者では *TERT* 変異、若年者では *TERT* 発現が有用であることが示唆された (Tanaka, *Thyroid* 2019)。
- (4) 高度進行甲状腺癌に対して放射性ヨード治療を行い、放射性ヨード取り込みの有無や治療効果によって症例を治療反応群と抵抗性群に分けたところ、原発巣における *TERT* プロモーター変異陽性症例は全て治療抵抗群に含まれていたことから *TERT* プロモーター変異を持つ甲状腺癌は、放射性ヨード治療に対して抵抗性となるリスクが高いことが明らかとなった。このことは、初発時より放射性ヨード治療への反応性を予測できる可能性があり、治療法選択の一助となることを示唆している (Meng, *IUBMB Life* 2019)。

以上の結果から、*TERT* プロモーター変異は甲状腺癌の予後予測分子マーカーとして有用であること、また放射性ヨード治療抵抗性と関連することを明らかにした。さらに *TERT* mRNA も甲状腺癌の新たな分子マーカーとして有用であることを明らかにした。このマーカーによって術前に癌の悪性度を予測できれば、手術を行う・行わない、半葉切除か全摘かなどの治療方針の決定に重要な情報を提供できる。これにより、治療・管理の最適化、患者 QOL の改善、ひいては医療経済の節約にもつながるものと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tanaka A, Matsuse M, Saenko V, Nakao T, Yamanouchi K, Sakimura C, Yano H, Nishihara E, Hirokawa M, Suzuki K, Miyauchi A, Eguchi S, Yoshiura KI, Yamashita S, Nagayasu T, Mitsutake N.	4. 巻 29
2. 論文標題 TERT mRNA Expression as a Novel Prognostic Marker in Papillary Thyroid Carcinomas.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Thyroid	6. 最初と最後の頁 1105 1114
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/thy.2018.0695.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Meng Z, Matsuse M, Saenko V, Yamashita S, Ren P, Zheng X, Jia Q, Tan J, Li N, Zheng W, Zhao L, Mitsutake N.	4. 巻 71
2. 論文標題 TERT promoter mutation in primary papillary thyroid carcinoma lesions predicts absent or lower 131I uptake in metastases.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 IUBMB Life.	6. 最初と最後の頁 1030 1040
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/iub.2056.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shiraiwa K, Matsuse M, Nakazawa Y, Ogi T, Suzuki K, Saenko VA, Xu S, Umezawa K, Yamashita S, Tsukamoto K, Mitsutake N.	4. 巻 29
2. 論文標題 The JAK/STAT3 and NF-kappaB signaling pathways regulate cancer stem cell properties in anaplastic thyroid cancer cells.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Thyroid	6. 最初と最後の頁 674 682
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/thy.2018.0212.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Shimura K, Shibata H, Mizuno Y, Amano N, Hoshino K, Kuroda T, Kameyama K, Matsuse M, Mitsutake N, Sugino K, Yoshimura Noh J, Hasegawa T, Ishii T.	4. 巻 91
2. 論文標題 Rapid Growth and Early Metastasis of Papillary Thyroid Carcinoma in an Adolescent Girl with Graves' Disease.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Horm Res Paediatr	6. 最初と最後の頁 210 215
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000491102.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ohba K, Mitsutake N, Matsuse M, Rogounovitch T, Nishino N, Oki Y, Goto Y, Kakudo K.	4. 巻 53
2. 論文標題 Encapsulated Papillary Thyroid Tumor with Delicate Nuclear Changes and a KRAS Mutation as a Possible Novel Subtype of Borderline Tumor.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Pathology and Translational Medicine	6. 最初と最後の頁 136 141
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.4132/jptm.2018.12.07.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yabuta T, Matsuse M, Hirokawa M, Yamashita S, Mitsutake N, Miyauchi A.	4. 巻 27(9)
2. 論文標題 TERT Promoter Mutations Were Not Found in Papillary Thyroid Microcarcinomas That Showed Disease Progression on Active Surveillance.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Thyroid	6. 最初と最後の頁 1206-1207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/thy.2016.0645.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Otsubo R, Mussazhanova Z, Akazawa Y, Sato A, Matsuda K, Matsumoto M, Yano H, Matsuse M, Mitsutake N, Ando T, Niino D, Nagayasu T, Nakashima M.	4. 巻 31(4)
2. 論文標題 Sporadic pediatric papillary thyroid carcinoma harboring the ETV6/NTRK3 fusion oncogene in a 7-year-old Japanese girl: a case report and review of literature.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 J Pediatr Endocrinol Metab.	6. 最初と最後の頁 461-467
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1515/jpem-2017-0292.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nikitski A, Saenko V, Shimamura M, Nakashima M, Matsuse M, Suzuki K, Rogounovitch T, Bogdanova T, Shibusawa N, Yamada M, Nagayama Y, Yamashita S, Mitsutake N.	4. 巻 157(5)
2. 論文標題 Targeted Foxe1 Overexpression in Mouse Thyroid Causes the Development of Multinodular Goiter But Does Not Promote Carcinogenesis.	5. 発行年 2016年
3. 雑誌名 Endocrinology.	6. 最初と最後の頁 2182-95
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/en.2015-2066.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nikitski AV, Rogounovitch TI, Bychkov A, Takahashi M, Yoshiura KI, Mitsutake N, Kawaguchi T, Matsuse M, Drozd VM, Demidchik Y, Nishihara E, Hirokawa M, Miyauchi A, Rubanovich AV, Matsuda F, Yamashita S, Saenko VA.	4. 巻 27(2)
2. 論文標題 Genotype Analyses in the Japanese and Belarusian Populations Reveal Independent Effects of rs965513 and rs1867277 but Do Not Support the Role of FOXE1 Polyalanine Tract Length in Conferring Risk for Papillary Thyroid Carcinoma.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Thyroid.	6. 最初と最後の頁 224-235
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/thy.2015.0541.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Matsuse M, Yabuta T, Saenko V, Hirokawa M, Nishihara E, Suzuki K, Yamashita S, Miyauchi A, Mitsutake N.	4. 巻 7
2. 論文標題 TERT promoter mutations and Ki-67 labeling index as a prognostic marker of papillary thyroid carcinomas: combination of two independent factors.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Scientific reports.	6. 最初と最後の頁 41752
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/srep41752.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Iyama K, Matsuse M, Mitsutake N, Rogounovitch T, Saenko VA, Suzuki K, Ashizawa M, Ookouchi C, Suzuki S, Mizunuma H, Fukushima T, Suzuki S, Yamashita S.	4. 巻 27
2. 論文標題 Identification of Three Novel Fusion Oncogenes, SQSTM1/NTRK3, AFAP1L2/RET, and PPF1BP2/RET in Thyroid Cancers of Young Patients in Fukushima.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Thyroid.	6. 最初と最後の頁 811-818
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/thy.2016.0673.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件(うち招待講演 0件/うち国際学会 0件)

1. 発表者名 松瀬美智子、光武範吏
2. 発表標題 甲状腺乳頭癌におけるTERTプロモーター領域のメチル化とmRNA発現の検討
3. 学会等名 第62回日本甲状腺学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 田中彩、松瀬美智子、光武範吏
2. 発表標題 甲状腺乳頭癌におけるTERTプロモーター変異のアレル頻度・TERT mRNA発現と予後との関連性について
3. 学会等名 2. 第61回日本甲状腺学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 松瀬 美智子
2. 発表標題 甲状腺癌幹細胞に重要なシグナル伝達経路の解析
3. 学会等名 第60回日本甲状腺学会学術集会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 松瀬 美智子
2. 発表標題 定量RT-PCR法を用いた融合遺伝子スクリーニングにより同定した甲状腺癌新規融合遺伝子の機能解析
3. 学会等名 第59回日本甲状腺学会学術集会
4. 発表年 2016年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	光武 範吏 (MITSUTAKE Norisato) (50404215)	長崎大学・原爆後障害医療研究所・教授 (17301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 協力 者	サエンコ ウラジミール (SAENKO Vladimir)		