

令和 4 年 6 月 24 日現在

機関番号：13501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K07412

研究課題名(和文) 甲状腺がん進化における遺伝子変異選択とリスク層別化の解析

研究課題名(英文) Genetic mutation selection and risk stratification in thyroid cancer evolution

研究代表者

近藤 哲夫 (Tetsuo, Kondo)

山梨大学・大学院総合研究部・教授

研究者番号：30334858

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：甲状腺癌の主要なドライバー変異にはRET/PTC再構成、NTRK再構成、BRAF変異、RAS変異があり、乳頭癌と濾胞癌はRAS変異が共通の遺伝異常として存在する。本研究では遺伝子変異選択のメカニズムと分子生物学的プロファイリングに基づいた甲状腺癌の診断、リスク分類の解析を行った。遺伝子変異選択とは特定の腫瘍型にみられる染色体・遺伝子異常がどのように選択され、選択によってどのような結果を生じるかという課題である。本研究に結果によって分子情報プロファイルに基づく甲状腺がん進化における遺伝子変異選択のメカニズム解明と甲状腺腫瘍の層別リスク分類の根拠を示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では甲状腺がん進化における遺伝子変異選択とリスク層別化の解析を行った。研究期間中に関連する三つの課題についての解明を試みている。第一は甲状腺癌における分子情報プロファイルの臨床的有用性の証明。第二にはプログレッションに関わる甲状腺がん進化における遺伝子変異選択の解明。第三は遺伝子-表現型/形態に基づいた甲状腺癌のリスク層別化である。本研究の成果によって甲状腺癌患者の治療選択、予後予測に実用的な甲状腺癌の組織分類、リスク分類の基盤を形成した。

研究成果の概要(英文)：Major driver mutations in thyroid cancer include RET/PTC rearrangement, NTRK rearrangement, BRAF mutation, and RAS mutation, and papillary and follicular carcinomas have RAS mutation as a common genetic abnormality. In this study, we analyzed the mechanism of gene mutation selection and molecular profiling-based diagnosis and risk classification of thyroid cancer. Gene mutation selection is a question of how chromosomal and genetic abnormalities in specific tumor types are selected for and what the consequences of selection are. The results of this study provide mechanistic insights into the selection of genetic variants in thyroid cancer evolution based on molecular profiling and provide a rationale for stratified risk classification of thyroid tumors.

研究分野：人体病理

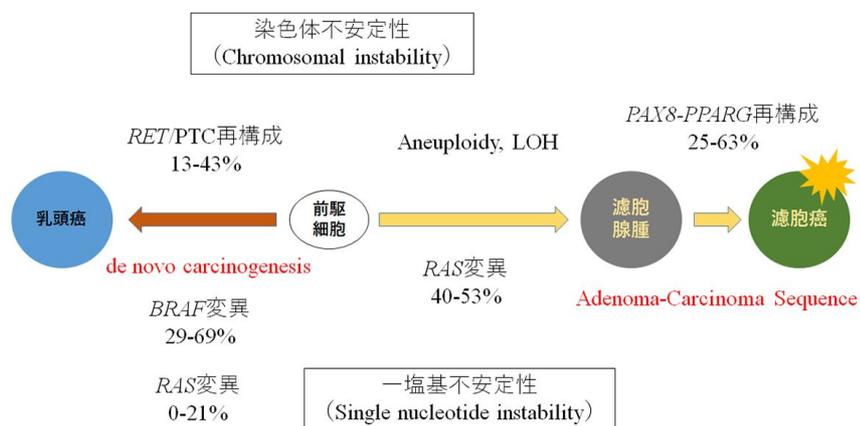
キーワード：甲状腺癌 がん進化 遺伝子異常選択

1. 研究開始当初の背景

濾胞上皮由来甲状腺癌は内分泌臓器の中で最も高頻度に発生する悪性腫瘍である。予後良好な微小型乳頭癌から極めて侵襲性の高い未分化癌にいたるまで腫瘍の分化と悪性度は広範囲にわたる。この甲状腺癌の発癌とプログレッションの過程には段階的な遺伝子異常の蓄積とエピジェネティクス異常が関与していることがわかってきた (Kondo T et al. Nat Rev Cancer 2006, Kondo T et al. Cancer Res 2007, Kondo T et al. Clin Cancer Res 2007)(下図)。RET/PTC 遺伝子再構成や BRAF 変異による MAPK 経路の持続活性化は甲状腺発癌の初期イベントと考えられ (Kondo et al. Hum Pathol 2007)、TP53 変異や CTNNB1 変異、TERT プロモーター変異は高分化癌から未分化癌に至る後期イベントと推定されている (Ohishi N, Kondo T et al Mod Pathol 2017)。甲状腺ホルモン産生能の機能的脱分化にはエピジェネティクス機構である DNA メチル化、ヒストン修飾による様々な甲状腺機能分子の発現異常が生じていることもわかった (Kondo T et al. Endocrinol Metab Clin North Am 2008, Kondo T et al. Lab Invest 2009)。さらに甲状腺癌の浸潤や転移、上皮間葉移行は転写因子 RUNX2 遺伝子の高発現によって調整されている (Niu D,

Kondo T et al Lab Invest 2012)。甲状腺癌の腫瘍発生とプログレッションに参与する分子異常が明らかとなる中で、我々がより一層の解明をすすめ

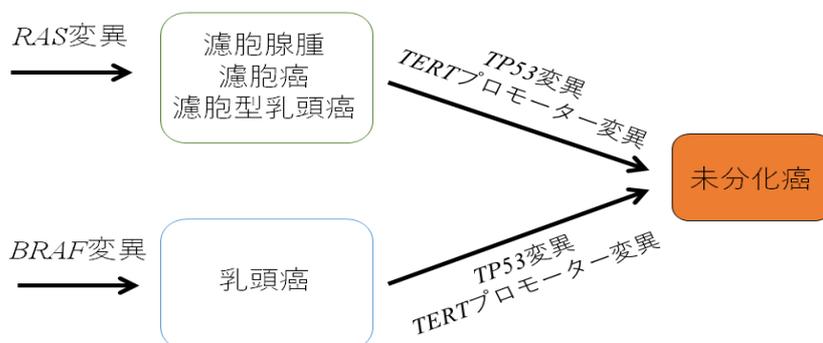
たいのが遺伝子変異選択のメカニズムと分子生物学的プロファイリングに基づいた甲状腺癌の診断、リスク分類である。



2. 研究の目的

遺伝子変異選択とは特定の腫瘍型にみられる染色体・遺伝子異常がどのように選択され、選択によってどのような結果を生じるかという根本的な課題である。甲状腺癌の主要なドライバー変異には RET/PTC 再構成、BRAF 変異、RAS 変異があるが、これら遺伝子変異の選択により腫瘍細胞に乳頭癌共通の細胞・組織形態学的変化をもたらす分子機序は不明である。一方で乳頭癌と濾胞癌には RAS 変異が共通の遺伝異常として存在するが、同じ遺伝子異常を有する濾胞上皮腫瘍が異なる核形態を示す原因についても解っていない。遺伝子変異選択は病理組織標本、細胞診標本上の形態変化のみでなく、

患者予後を含めた臨床病態も影響を与える。乳頭癌や濾胞癌の一部は低分化癌、未分化癌に進行する（左図）。これは **RAS** 変異、**BRAF** 変異の甲状腺癌に限定されており、**RET/PTC** 再構成の乳頭癌、**PAX8-PPARG** 再構成の濾胞癌では未分化癌には転化せず



“がん進化”の過程で行き止まり（**Dead End**）となる（**Mochizuki K, Kondo T et al Histopathol 2010**）。この結果は分子情報プロファイルによっ

て甲状腺癌患者の未分化転化リスクが層別化可能であることを示しており、術前の治療方針選択、術後のフォローアップに反映すべきと考えている。

近年、甲状腺腫瘍に2つの境界悪性病変が提唱された。“乳頭癌様核を非浸潤性甲状腺濾胞性腫瘍” **noninvasive follicular thyroid neoplasm with papillary like nuclear features**（**NIFTP**）と“悪性度不明の高分化腫瘍” **well differentiated tumor of uncertain malignant potential**（**FT-UMP**）である。**NIFTP**は腫瘍細胞の特徴的核所見から被包性濾胞型乳頭癌と診断されていたが、甲状腺腫瘍切術後の良性経過を示す臨床病理学的特徴により診断名の変更と悪性から境界悪性カテゴリーへの移行が行われた（第4版 **WHO** 分類、**2017**）。**NIFTP**の最初の報告では **RAS** 変異腫瘍と報告されたが、我々が現在行っている予備研究で **NIFTP** に **BRAF** 変異陽性群の存在を確認している。**NIFTP**の自然経過とその分子情報プロファイルは未だ結論がでていない。我々は

NIFTP	IHC	IHC	AS-PCR	RT-PCT	Sanger seq				
Case	NRAS Q61R	BRAF V600E	BRAF V600E	RET/PTC	BRAF	NRAS	HARS	KRAS	TERT
1	-	-	-	-	Wild	Wild	Wild	Wild	Wild
2	-	+	-	-	Wild	Wild	Wild	Wild	Wild
3	-	-	-	-	ND	Wild	Wild	Wild	Wild
4	-	+	+	-	V600E	Wild	Wild	Wild	Wild
5	-	-	-	-	ND	Wild	Wild	Wild	Wild
6	-	+	+	-	V600E	Wild	Wild	Wild	Wild
7	-	+	+	-	V600E	Wild	Wild	Wild	Wild
8	-	-	-	-	ND	Wild	Wild	Wild	Wild
9	-	+	+	-	V600E	Wild	Wild	Wild	Wild
10	+	-	-	-	ND	Wild	Q61R	Wild	Wild
11	-	+	+	-	V600E	Wild	Wild	Wild	Wild
12	+	-	-	-	Wild	Q61R	Wild	Wild	Wild

BRAF 変異を有する浸潤性の濾胞型乳頭癌、通常型乳頭癌は **BRAF** 変異陽性の **NIFTP** からのプログレッションによって生じると予測している。

前述した学術的背景とこれまでの

研究成果を踏まえ、本研究では甲状腺がん進化における遺伝子変異選択とリスク層別化の解析を行う。研究機関中に相互に関連する三つの課題についての解明を目的とした。第一は甲状腺癌における分子情報プロファイルの臨床的有用性の証明。第二にはプログレッションに関わる甲状腺がん進化における遺伝子変異選択の解明。第三は遺伝子 - 表現型/形態 (**genotype-phenotype/morphology**) に基づいた甲状腺癌のリスク層別化である。本研究の成果によって甲状腺癌患者の治療選択、予後予測に実用的な甲状腺癌の組織分類、リスク分類の基盤を提唱する。

3. 研究の方法

ヒト材料(甲状腺癌手術症例)の収集、病理診断の再評価、臨床情報の収集、遺伝子変異解析、免疫組織化学を中心とした蛋白発現解析を行った。ヒト材料の遺伝子解析ホルマリン固定パラフィン包埋組織より行った。病理診断の再評価については **WHO** 分類(第4版)が **2017** 年、甲状腺癌取り扱い規約が **2019** 年に改定され、主要な乳頭癌、濾胞癌、低分化癌の分類方法と診断基準が変更されたため、過去の材料については第4版 **WHO** 分類に基づいて再評価を行った。

4. 研究成果

本研究の成果として、以下の結果と考察を得た。

- (1) 再発を繰り返す甲状腺乳頭癌は **BRAF V600E** 変異、**TERT** プロモーター変異を高率に有し、再発を繰り返し乳頭癌で未分化転化する症例では再発リンパ節に組織学的な低分化成分が出現することを明らかにした (**Odate et al. Endocr Pathol 2021**)。このことから **BRAFV600E** 変異、**TERT** プロモーター変異は乳頭癌のハイリスク予後因子であると考えられる。甲状腺癌寒邪の治療方針選択を目的として、術前の細胞診検体を用いた **BRAFV600E** 変異、**TERT** プロモーター変異の検出を研究展開する予定である。
- (2) 本邦の甲状腺 **NIFTP** は約半数の症例に **BRAF V600E** 変異が検出され、**RAS** 変異の頻度は低かった。欧米の **NIFTP** は **RAS** 変異陽性の腫瘍と報告されており、遺伝子変異の頻度に解離が生じていることが判明した。この解離については本法と欧米との間の病理診断基準が異なることが要因であり、今後解決すべき課題であると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Odate Toru, Oishi Naoki, Kawai Masataka, Tahara Ippei, Mochizuki Kunio, Akaishi Junko, Ito Koichi, Katoh Ryohei, Kondo Tetsuo	4. 巻 32
2. 論文標題 Progression of Papillary Thyroid Carcinoma to Anaplastic Carcinoma in Metastatic Lymph Nodes: Solid/Insular Growth and Hobnail Cell Change in Lymph Nodes Are Predictors of Subsequent Anaplastic Transformation	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrine Pathology	6. 最初と最後の頁 347 ~ 356
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12022-021-09674-1	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 Odate Toru, Oishi Naoki, Vuong Huy Gia, Mochizuki Kunio, Kondo Tetsuo	4. 巻 9
2. 論文標題 Genetic differences in follicular thyroid carcinoma between Asian and Western countries: a systematic review	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Gland Surgery	6. 最初と最後の頁 1813 ~ 1826
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21037/gs-20-356	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 Vuong Huy Gia, Ngo Hanh Thi Tuyet, Bychkov Andrey, Jung Chan Kwon, Vu Trang Huyen, Lu Kim Bach, Kakudo Kennichi, Kondo Tetsuo	4. 巻 128
2. 論文標題 Differences in surgical resection rate and risk of malignancy in thyroid cytopathology practice between Western and Asian countries: A systematic review and meta analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cancer Cytopathology	6. 最初と最後の頁 238 ~ 249
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cncy.22228	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 Vuong Huy Gia, Ho An Thi Nhat, Tran Thao T. K., Capdevila Jaume, Benekli Mustafa, Nakazawa Tadao, Katoh Ryohei, Kondo Tetsuo	4. 巻 41
2. 論文標題 Efficacy and toxicity of sorafenib in the treatment of advanced medullary thyroid carcinoma: A systematic review and meta analysis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Head & Neck	6. 最初と最後の頁 2823 ~ 2829
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hed.25832	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5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 近藤哲夫
2. 発表標題 シンポジウム 甲状腺がんのゲノム・エピゲノム異常と組織細胞化学
3. 学会等名 第61回日本組織化学総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 近藤哲夫
2. 発表標題 シンポジウム 甲状腺癌に対する最新の治療戦略 甲状腺癌病理学的トピックス
3. 学会等名 第59回日本癌治療学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 近藤哲夫
2. 発表標題 シンポジウム 分子基盤に基づく病理診断（WHO分類）2 甲状腺腫瘍の分子基盤
3. 学会等名 第67回日本病理学会秋期特別総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 近藤哲夫
2. 発表標題 シンポジウム 組織細胞化学を用いた腫瘍研究の最前線 ゲノム異常から理解する甲状腺がんモデル
3. 学会等名 第62回日本組織化学総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 近藤哲夫
2. 発表標題 シンポジウム 次世代の甲状腺細胞診 甲状腺診断における免疫染色、遺伝子解析の近未来 LBC検体への展開
3. 学会等名 第62回日本臨床細胞学会春期大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>山梨大学教員情報：山梨大学 大学院 総合研究部 医学域 臨床医学系（人体病理学） 近藤哲夫 http://nerdb-re.yamanashi.ac.jp/Profiles/318/0031760/profile.html 山梨大学医学部人体病理学ホームページ http://human-pathology.yamanashi.ac.jp/</p>
--

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	中澤 匡男 (NAKAZAWA Tadao) (10345704)	東京女子医科大学・医学部・教授 (32653)	
研究分担者	望月 邦夫 (Mochizuki Kunio) (10377583)	山梨大学・大学院総合研究部・准教授 (13501)	
研究分担者	大石 直輝 (Oishi Naoki) (90623661)	山梨大学・大学院総合研究部・准教授 (13501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------