

令和 5 年 6 月 13 日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2022

課題番号：19K07463

研究課題名(和文) 被ばく者癌における遺伝子変異シグネチャー解析

研究課題名(英文) Mutation signature of atomic bomb survivor's cancer tissue

研究代表者

赤澤 祐子 (Akazawa, Yuko)

長崎大学・原爆後障害医療研究所・准教授

研究者番号：80582113

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、原爆被ばく者癌について、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析・シグネチャー解析を行い、原爆被ばく者癌に特徴的構造変異および変異シグネチャーを特定することを目的とした。これまでに近距離被ばく20例(肺癌13例、甲状腺癌7例)について、至近距離被ばく症例の甲状腺癌および肺癌のDNAクオリティが解析可能であることを確認した。さらに、近距離被ばく者は、遠距離被ばく者と比較して構造異型の数や種類について差はみられないことが判明した。興味深いことに至近距離被ばく者症例で報告がない新たな融合遺伝子を発見した。現在さらなるシグネチャー解析を行っている。

研究成果の学術的意義や社会的意義

原爆による放射線被ばくによる発がんのマーカがゲノム内に検出できれば、集団の中で疫学的にしか明らかではなかった原爆被ばく者の発がんリスクが、個々の症例レベルで分子遺伝学的に放射線誘発性を同定することが可能になる。放射線の医療利用による発がんを含め、被ばく後長期的な発がんのリスク予測など社会的重要性は大きく、放射線防護基準に影響を与える可能性がある。

研究成果の概要(英文)：We aimed to perform whole-genome analysis and signature analysis using next-generation sequencers to identify characteristic structural variations and mutation signatures specific to cancer among atomic bomb (A-bomb) survivors. We have already initiated a pilot study on 20 cases of close-range exposure (13 lung cancer cases and 7 thyroid cancer cases), and confirmed the feasibility of analyzing DNA quality in thyroid cancer and lung cancer of cases with very close-range exposure. We found no significant differences in the number or types of structural variants larger than 50 base pairs between close-range and distant-range exposed individuals. Fusion genes, including RET-PTC, which were observed in the aftermath of the Chernobyl accident, were not prominent in A-bomb survivors. However, we discovered a new fusion gene that has not been reported before in thyroid cancer among individuals with close-range A-bomb exposure patients. We are currently conducting further signature analysis.

研究分野：病理学

キーワード：atomic bomb survivor mutation signature radiation DNA damage

1. 研究開始当初の背景

長崎の被爆者では原爆投下 75 年を経ても固形癌のリスクが増加し続けている。我々は放射線被ばく関連因子腫瘍の遺伝子学的な解明をすることを目的とし、2008 年より長崎被爆者組織バンクを設立し、被爆者癌の組織収集を行ってきた。一方、最近の次世代シーケンスの発展は目覚ましく、癌の全ゲノム解析が可能になった。しかし癌遺伝子には胎児期から癌の発育までの遺伝子変異情報が雑多なカタログのように含まれ、そのうちのごく一部が発癌に直接関連する p53 などのドライバ遺伝子の変異であるものの、大半が癌化と直接の関連はない変異である。これらの膨大な遺伝子情報の意味を紐解く技術が必要である。近年、癌の全ゲノム情報を音声分析にも使用される non-negative matrix factorization (NMF) によって解析し、特徴的な遺伝子変化のランドスケープを変異 Signature として検出する方法が注目されている (Alexandrov LB, Shibata T et al, 2013, nature)。例えば一塩基置換 (6 種類) に加え、前後の塩基が何であるか (16 種類) を加えた 96 種類のパターンで分類される一遺伝子置換 (SNV) シグネチャーの中には、胎児期からコンスタントに入る老化シグネチャーや、一時的、大規模な変化を反映する喫煙シグネチャーなどの刻印が同定できる。さらに、10Bp 以下の欠失やゲインの大きさ、DNA 修復機構の一つであるマイクロホモロジー媒介末端結合の有無で分類するインデル (ID) signature も提唱されている (<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>)。これまでに数十種類以上のシグネチャーとその疫学的要因が同定されている。放射線は遺伝子損傷および遺伝子不安定性を惹起する代表的な外部刺激であり、被ばく者には一時的、大規模な遺伝子損傷応答が起きたと考えられる。事実、我々は被ばく後長期経過した被ばく者の皮膚に遺伝子損傷応答蛋白 53Bp1 の核内過剰発現があることを報告している (Naruke, 2009)。興味深いことにチェルノブイリ原発事故後 5-10 年後、甲状腺癌には放射線被ばくの遺伝子損傷応答の過程でクロソナルな non-homologous DNA end joining (NEHG) の結果発生したと考えられる ID8 シグネチャーが被ばく量依存性に検出できることが発表された (Morton et al, Science, 2021)。このことから至近距離原爆被爆者癌にも同様のシグネチャーが存在する可能性がある。

しかし、被ばく後早期に発症する癌と長い時を得て発症する癌には大きな違いもある。チェルノブイリ原発事故後の甲状腺がんや原爆被ばく後数年~10 年で早期に増加した白血病・甲状腺癌では、遺伝子損傷の結果誤ったところで異なる染色体上の 2 点が転座により癒合し、これがドライバ遺伝子となって被ばく後比較的短期間で発癌したケースが多い。これに対し、被爆者固形癌・骨髄異形成症候群には一般的に上記のようなドラマチックな染色体異常は目立たず、特異な癌ドライバ遺伝子変異には乏しい。よって原爆被ばくの遺伝子損傷に基づいた 2 次的な遺伝子不安定性が長期間に生じ、そこに一般的な外因・内因的遺伝子変異が加わっていると想定できるよって、原爆被ばく者癌ではこれまでに発見されていない新たな遺伝子変異シグネチャーが検出できる可能性が高いと考えた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、原爆被ばく癌には特徴的なゲノムシグネチャーがあるか、またそれは、被ばく線量と関連があるかを解明することである。

3. 研究の方法

発癌への疫学的リスクが高い爆心地から至近距離 (2Km 未満) で被ばくした被ばく者検体を用い、コントロールとして疫学的に発癌リスクがないとされる遠距離 (>4km) 被ばく者の癌検体を用いて比較検討した。WGS により得られたシーケンス情報について構造異型および一塩基置換の特徴を解析した。構造の異型は Manta, 一遺伝子多型および shot indel は Mutect を用いて検出した。gnatures referenced in the COSMIC database (<http://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>) を用いてシグネチャーを検出した。

4. 研究成果

これまで合計 40 検体の解析を行った。至近距離被ばく症例の甲状腺癌および肺癌の DNA クオリティが十分解析可能であることを確認した。近距離被爆の甲状腺がんにおいては、チェルノブイリ原発事故でみられたような RET-PTC をはじめとする融合遺伝子は目立たないことを確認した。これまでに報告されていない融合遺伝子を肺がん症例にて特定した。また構造異型の総数は近距離被ばくと遠距離被ばくの癌で違いがなかったものの、小さな規模の構造異型のパターンに違いがある可能性があり、現在シグネチャー解析と合わせてさらなる検討を行っている。放射線の影響は線量依存性、つまり爆心地からの距離および遮蔽の有無および被ばく時の年齢、被曝か

らの年数によって決定される。これらの情報を被ばく者組織バンクより抽出し、変異シグネチャー発現との相関を定量的に明らかにする予定である。これらの癌に DNA 検体を有するのは当施設だけである。放射線被ばくによる発癌のマーカ―が遺伝子的に検出できれば、一個人の発癌に放射線が寄与しているかが同定でき、放射線被ばく後の長期的な発癌のリスク予測など学的、社会的に多岐にわたるメリットにつながると考える。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2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 IMAIZUMI TOSHINOBU, MATSUDA KATSUYA, TANAKA KEI, KONDO HISAYOSHI, UEKI NOZOMI, KUROHAMA HIROKAZU, OTSUBO CHIEKO, MATSUOKA YUKI, AKAZAWA YUKO, MIURA SHIRO, NAKASHIMA MASAHIRO	4. 巻 41
2. 論文標題 Detection of Endogenous DNA Double-strand Breaks in Oral Squamous Epithelial Lesions by P53-binding Protein 1	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Anticancer Research	6. 最初と最後の頁 4771 ~ 4779
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.21873/anticancerres.15292	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 Sato Ayako, Matsuda Katsuya, Motoyama Takahiro, Mussazhanova Zhanna, Otsubo Ryota, Kondo Hisayoshi, Akazawa Yuko, Higuchi Miyoko, Suzuki Ayana, Hirokawa Mitsuyoshi, Miyauchi Akira, Nagayasu Takeshi, Nakashima Masahiro	4. 巻 10
2. 論文標題 53BP1 expression as a biomarker to differentiate thyroid follicular tumors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Endocrine Connections	6. 最初と最後の頁 309 ~ 315
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1530/EC-20-0630	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1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 赤澤祐子
2. 発表標題 長崎被爆者組織バンク収集におけるコロナインパクト
3. 学会等名 日本病理学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 増崎 英明、前田桂子、木村直樹、野上建紀、王維、中島貴奈、吉良史明、Rudy Toet, 南森茂太、田口由香、山口敦子、安武敦子、赤澤祐子、在津祐美子、大平晃久、全炳徳、出水享	4. 発行年 2021年
2. 出版社 九州大学出版会	5. 総ページ数 330
3. 書名 今と昔の長崎に遊ぶ	

〔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	中島 正洋 (Nakashima Masahiro) (50284683)	長崎大学・原爆後障害医療研究所・教授 (17301)	
研究 分担者	柴田 龍弘 (Shibata Tatsuhiko) (90311414)	国立研究開発法人国立がん研究センター・研究所・分野長 (82606)	

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1件

国際研究集会 American association for the study of liver diseases	開催年 2019年～2019年
--	--------------------

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
---------	---------