

特集 (多因子性疾患の遺伝解析と臨床応用)

甲状腺癌におけるゲノム異常

北村 裕¹⁾ 清水 一雄¹⁾ 田中 茂夫¹⁾ 江見 充²⁾

¹⁾日本医科大学外科学第 2 教室

²⁾日本医科大学老人病研究所分子生物学部門

Genetic alterations in thyroid carcinomas

Yutaka Kitamura¹⁾, Kazuo Shimizu¹⁾, Shigeo Tanaka¹⁾ and Mitsuru Emi²⁾

¹⁾Department of Surgery II, Nippon Medical School

²⁾Department of Molecular Biology, Institute of Gerontology, Nippon Medical School

はじめに

甲状腺癌は濾胞細胞由来の乳頭癌，濾胞癌，未分化癌および傍濾胞細胞(C細胞)由来の髄様癌の4つの組織型に分類され，それぞれの組織型に特徴的な臨床像を有する．甲状腺癌全体に対する各組織型の頻度は，乳頭癌 85～90%，濾胞癌 5～10%，未分化癌約 2%，髄様癌約 2% である．乳頭癌と濾胞癌は細胞の分化度や緩徐な発育のため甲状腺分化癌とも呼ばれ，術後 10 年生存率は 95% 程度と非常に予後が良好である．甲状腺癌の発生については，臨床病理学的研究に加えて，

放射能汚染後の疫学的調査などさまざまな手法により論じられてきたが，いまだ詳細は不明である．近年，遺伝学的手法の急速な進歩により甲状腺癌の発生や進展に関連する遺伝的異常が報告されている．ras 癌遺伝子の変異は甲状腺濾胞腺腫と癌の両者で高率に認められ，甲状腺腫瘍の発生初期に関与すると考えられている¹⁾．また，甲状腺髄様癌では原因遺伝子検索による遺伝子診断がすでに臨床の場で実施されている．ここでは甲状腺癌の各組織型における臨床的諸問題とそれに関連したゲノム異常をわれわれの知見も交えて紹介する(表 1)．

1. 甲状腺乳頭癌 (papillary thyroid carcinoma)

甲状腺乳頭癌は組織学的に乳頭状増殖を特徴とする分化型腺癌で，ほとんどの症例の予後は良好であるが，長期の経過では約 10% の症例が術後再発や転移をきたす．甲状腺乳頭癌の診療においては術式や補助療法を選択の点から，この一部の予後不良症例の選別が重要な課題となっており，様々な予後因子の検討がなされてきた．高年齢，甲状腺被膜外浸潤，遠隔転移，低分化組織像などが予後不良因子として知られるが，これらの臨床病理所見のみによる予後の判断は難しく，遺伝的な予後の指標が望まれている．

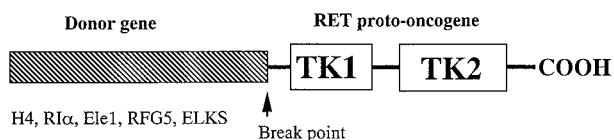
(1) RET 融合遺伝子

RET 遺伝子の再編成が甲状腺乳頭癌の 20～40% に認められ，乳頭癌の発生への関与が示唆されている^{2,3)}．甲状腺髄様癌の項で後述する RET 遺伝子の tyrosine kinase domain を含む exon 12 より 3' 側配列に全く異なる遺伝子の 5' 側配列が融合して RET 融合遺伝子 ret/PTC を形成する(図 1 a)．通常，甲状腺濾胞細胞では発現しない RET が，これら donor 遺伝子の

表 1 甲状腺癌の各組織型とゲノム異常

1. 乳頭癌	ret/PTC 融合遺伝子 染色体欠失と不良予後 (1q, 4p, 7q, 9, 16q)
2. 濾胞癌	高頻度の染色体欠失 (1p, 2, 3, 4p, 8q, 9, 11p, 13q, 15q, 22q)
3. 未分化癌	p53 腫瘍抑制遺伝子変異 高頻度の染色体欠失 (1q, 9p, 11, 17, 19p, 22q)
4. 髄様癌	
遺伝性	RET 胚細胞性変異
MEN2A	
髄様癌，褐色細胞腫	
上皮小体機能亢進症	
MEN2B	
髄様癌，褐色細胞腫	
骨格異常，神経腫症	
FMTC	
髄様癌	
散発性	RET 体細胞性変異

a. ret/PTC fusion genes in papillary carcinoma



b. Mutations of RET proto-oncogene in medullary carcinoma

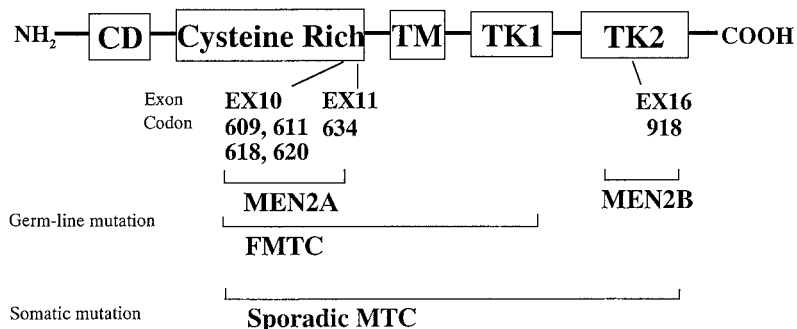


図1 RET proto-oncogene 変異と甲状腺癌

a. 甲状腺乳頭癌における ret/PTC 融合遺伝子 . tyrosine kinase domain を含む RET 遺伝子の C 末端側配列とそれぞれの donor 遺伝子 (H4 , RIα , Ele 1 RFG 5 ELKS) の N 末端側配列が融合する . b . 主な RET 遺伝子変異部位と甲状腺髄様癌の病型 . 遺伝性甲状腺髄様癌症例では胚細胞性変異 , 散发性症例では体細胞性変異を病型によってきわめて限られた部位に認める .

promoter により発現し , 活性化することが考えられている . 現在までに ret/PTC 1 (H4 RET) , ret/PTC 2 (protein kinase A の RIα subunit-RET) , ret/PTC 3 A (Ele 1 RET) , ret/PTC 5 (RFG 5 RET) およびわれわれの研究室で同定された ELKS/RET 融合遺伝子⁸ が報告されている . RET 融合遺伝子は放射線誘発甲状腺癌との関連が示唆されているが , 予後との関係は不明である .

(2) 染色体欠失と予後

一般に癌細胞の染色体欠失領域には腫瘍抑制遺伝子の存在が示唆される . Comparative genome hybridization (CGH) や microsatellite marker を用いた報告では , 甲状腺乳頭癌では染色体欠失は全く検出されていない^{9,10} . われわれは遺伝的予後因子を検出するため , 術後 10 年再発転移なく生存した予後良好甲状腺乳頭癌症例と原病死した予後不良症例において microsatellite marker を用いたヘテロ接合性の消失 loss of heterozygosity (LOH) の解析をすべての染色体で施行し , 甲状腺乳頭癌の予後と染色体欠失について検討した . 甲状腺乳頭癌生存群では染色体 22 q を除いた全染色体で , 極めて低い LOH 頻度を示した一方 , 死亡群では複数の染色体で高頻度の LOH を示し , 特に染色体 1 q , 4 p , 7 q , 9 p , 9 q , 16 q の欠失が有意に生存群より高率であった . 甲状腺乳頭癌の不良予後に関連する腫瘍抑制遺伝子が , これらの染色体領域に存在する可

能性が示唆された .

2. 甲状腺濾胞癌 (follicular thyroid carcinoma)

甲状腺濾胞癌は組織学的に腫瘍細胞の被膜浸潤や脈管浸潤により診断される . このため術前に良性の濾胞腺腫との鑑別診断が困難なことが多く , 現在でも濾胞癌の正確な診断が最も重要な臨床的課題となっており , 細胞診より得た腫瘍細胞や血流エコーの画像診断などを用いた研究が盛んに行われている . 被膜浸潤の程度が予後に関係することが知られ , minimal invasion の濾胞癌はきわめて予後が良好であるが , 広範な浸潤を示す widely invasive type のなかに予後不良な症例がみられる .

(1) 染色体欠失

甲状腺濾胞癌と濾胞腺腫を明瞭に鑑別する遺伝的変化はまだ捉えられていない . 甲状腺濾胞癌の遺伝的特徴は , 多くの染色体に欠失がみられ , 染色体不安定性を示すことである . 染色体 1 p , 2 , 3 , 4 p , 8 q , 9 , 11 p , 13 q , 15 22 q が高頻度に欠失を示すと報告されている^{9,11} . 染色体欠失を示さない濾胞細胞由来の甲状腺乳頭癌とは対照的であり , この差異は腫瘍発生の背景が異なることを思わせる . また , 多数の染色体欠失を示す腫瘍は widely invasive type であることから , 染色体欠失と予後との関連も想定されており , われわれはこの点について現在検討中である .

3. 甲状腺未分化癌 (anaplastic thyroid carcinoma)

甲状腺未分化癌が診断されると、現在のところいかなる治療にも抵抗し、診断から平均6ヵ月で死亡する¹²。長期間放置された、あるいは術後再発を繰り返す甲状腺分化癌が未分化癌に転化することが臨床病理学的に確認されているが、未分化癌の発生メカニズムについてはほとんど知られていない。甲状腺未分化癌の治療は困難であるので、未分化転化する以前の甲状腺分化癌に対する徹底的な治療が重要である。このためには甲状腺未分化癌の発生機構の理解および未分化転化する可能性の高い甲状腺分化癌症例の選別が必要となる。

(1) p53 遺伝子異常

p53 は apoptosis や細胞周期のコントロールにおいて重要な役割をしているが、代表的な腫瘍抑制遺伝子としても知られている。p53 遺伝子変異は多くの癌で報告され、癌の発生や進展および薬剤や放射線治療の感受性などに関与している。甲状腺未分化癌の40%程度に p53 遺伝子変異が検出されるが、甲状腺分化癌や髄様癌では p53 変異は全く検出されない^{13, 17}。p53 変異は甲状腺癌の末期の変化、つまり未分化癌の発生に関与している。

最近、甲状腺未分化癌において β -catenin 遺伝子の高率な変異が報告された¹⁸ が、われわれの未分化癌症例において現在検証中である。

(2) 染色体欠失

われわれは甲状腺未分化癌のゲノム異常のスクリーニングとして、microsatellite marker を用いた LOH 解析を全染色体に施行したところ、多数の染色体に高頻度の LOH を検出した。甲状腺未分化癌の発生に染色体の不安定性が重要であること、またとくに高頻度 LOH を示した染色体 1q, 9p, 11, 17, 19p, 22q には甲状腺癌の進展や未分化癌の発生に関与する腫瘍抑制遺伝子の存在が示唆された。

4. 甲状腺髄様癌 (medullary thyroid carcinoma)

甲状腺髄様癌¹⁹ の約 2/3 は散発性症例で、約 1/3 は遺伝性症例である。遺伝性髄様癌は、多内分泌腺腫症 2A 型 multiple endocrine neoplasia type 2A (MEN 2A), 多内分泌腺腫症 2B 型 (MEN 2B), 家族性甲状腺髄様癌 familial medullary thyroid carcinoma (FMTC) の3つの疾患カテゴリーに分類され(表1)、いずれも常染色体優性遺伝形式をとる。遺伝性症例と散発性症例では手術術式や follow-up 方針が異なるため、これらの鑑別はきわめて重要であるが、遺伝性髄様癌の臨

床診断には限界がある。遺伝性髄様癌の診療では、家系内の疾患保因者と非保因者を診断するための家系 screening が中心的な問題である。calcitonin 誘発試験で早期に保因者を診断できるようになったが、従来のこの方法にはいくつかの問題があり、より正確で簡便な screening 方法が望まれていた。

(1) RET 遺伝子異常と遺伝子診断

1993年に MEN 2A と FMTC 家系^{20, 21}で、翌年には MEN 2B 家系^{22, 24}で、RET 遺伝子の胚細胞性 (germline) 点突然変異がその原因として報告され、遺伝子診断が施行されるようになった。現在ではほとんどの遺伝性髄様癌家系に RET の変異が報告されている。また、約半数の散発性髄様癌においても、RET の体細胞性 (somatic) 変異が報告されている。甲状腺髄様癌に関連する RET 遺伝子変異の特徴は、病型により変異部位がきわめて限局した missense 変異で、これにより RET が活性化することである (図 1b)。MEN 2A と FMTC では細胞外 domain の細胞膜に近接した cysteine rich region の5つの cysteine をコードする exon 10 codon 609, 611, 618, 620 および exon 11 codon 634 の変異が、また MEN 2B では数家系の例外を除き細胞内の tyrosine kinase domain 内の exon 16 codon 918 の methionine が threonine に置換される変異 (Met 918 Thr) が特異的である。散発性髄様癌の体細胞性変異の多くは MEN 2B と同一の Met 918 Thr である。RET の変異による ligand 結合のない過剰な RET の活性化が腫瘍発生に関与すると考えられている。

MEN 家系の遺伝子診断による screening 結果に基づいて、発症前の保因者への予防的手術が施行されている^{25, 26}。しかし、特に小児に対する手術のタイミングについては、社会的な諸問題もあり、わが国では意見が定まっていない。また、遺伝子診断を行うことで、過去に散発性髄様癌と臨床的に診断された症例中に遺伝性症例が含まれていたことが示されており²⁷、すべての甲状腺髄様癌に RET 遺伝子の検索を行い、遺伝性症例を見逃さないようにすべきとの意見もある。RET 変異陽性者はほぼ確実に甲状腺髄様癌を発症することになる。遺伝子診断を施行する際、患者や家族とのインフォームドコンセントは最重要問題であり、遺伝外来でのカウンセリングなど、診療体制の確立が早急な課題である。

おわりに

甲状腺癌の主な4つの組織型について、臨床の問題点とそれに関連するゲノム異常について述べた。

文 献

- 1 . Challeton C, Bounacer A, Du Villard JA, Caillou B, De Vathaire F, Monier R, Schlumberger M, Suarez HG: Pattern of ras and gsp oncogene mutations in radiation-associated human thyroid tumors. *Oncogene* 1995; 11: 601 603.
- 2 . Bongarzone I, Pierotti MA, Monzini N, Mondellini P, Manenti G, Donghi R, Pilotti S, Grieco M, Santoro M, Fusco A, Vecchio G, Della P G: High frequency of activation of tyrosine kinase oncogenes in human papillary thyroid carcinoma. *Oncogene* 1989; 4 : 1457 1462.
- 3 . Kitamura Y, Minobe K, Nakata T, Shimizu K, Tanaka S, Fujimori M, Yokoyama S, Ito K, Onda M, Emi M: Ret/PTC 3 is the most frequent form of gene rearrangement in papillary thyroid carcinomas in Japan. *J Hum Genet* 1999; 44: 96 102.
- 4 . Grieco M, Santoro M, Berlingieri MT, Melillo RM, Donghi R, Bongarzone I, Pierotti MA, Della Porta G, Fusco A, Vecchio G: PTC is a novel rearranged form of the ret proto-oncogene and is frequently detected in vivo in human thyroid papillary carcinomas. *Cell* 1980; 60: 557 563.
- 5 . Bongarzone I, Monzini M, Borrello MG, Carcano C, Ferraresi G, Arighi E, Mondellini P, Della Porta G, Pierotti MA: Molecular characterization of a thyroid tumor-specific transforming sequence formed by the fusion of ret tyrosine kinase and the regulatory subunit R1a of cyclic AMP-dependent protein kinase A. *Mol Cell Biol* 1993; 13: 358 366.
- 6 . Bongarzone I, Butti MG, Coronelli S, Borrello MG, Santoro M, Mondellini P, Pilotti S, Fusco A, Della Porta G, Pierotti MA: Frequent activation of ret protooncogene by fusion with a new activating gene in papillary thyroid carcinomas. *Cancer Res* 1994; 54: 2979 2985.
- 7 . Klugbauer S, Demidchik EP, Lengfelder E, Rabes HM: Detection of a novel type of ret rearrangement (PTC 5) in thyroid carcinomas after Chernobyl and analysis of the involved ret-fused gene RFG 5. *Cancer Res* 1998; 58: 198 203.
- 8 . Nakata T, Kitamura Y, Shimizu K, Tanaka S, Fujimori M, Yokoyama S, Ito K, Emi M: Fusion of a novel gene, ELKS, to RET due to traslocation t(10; 12)(q 11; p 13) in a papillary thyroid carcinoma. *Genes Chrom Cancer* 1999; 25: 97 103.
- 9 . Ward LS, Brenta G, Medvedovic M, Fagin JA: Studies of allelic loss in thyroid tumors reveal major differences in chromosomal instability between papillary and follicular carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 525 530.
- 10 . Hemmer S, Wasenius V-M, Knuutila S, Franssila K, Joensuu H: DNA copy number changes in thyroid carcinoma. *Am J Pathol* 1999; 154: 1539 1547.
- 11 . Tung WS, Shevlin DW, Kaleem Z, Tribune DJ, Wells SA, Jr, Goodfellow PJ: Allelotype of follicular thyroid carcinomas reveals genetic instability consistent with frequent nondisjunctional chromosomal loss. *Genes Chrom Cancer* 1997; 19: 43 51.
- 12 . Kitamura Y, Shimizu K, Nagahama M, Sugino K, Ozaki O, Mimura T, Ito K, Ito K, Jr, Tanaka S: Immediate causes of death in thyroid carcinoma: Clinicopathologic analysis of 161 fatal cases. *J Clin Endocrinol Metab* 1999 in press.
- 13 . Ito T, Seyama T, Mizuno T, Tsuyama N, Hayashi T, Hayashi Y, Dohi K, Nakamura N, Akiyama M: Unique association of p 53 mutations with undifferentiated but not with differentiated carcinomas of the thyroid gland. *Cancer Res* 1992; 52: 1369 1371.
- 14 . Nakamura T, Yana I, Kobayashi T, Shin E, Karakawa K, Fujita S, Miya A, Mori T, Nishisho I, Takai S: p 53 gene mutations associated with anaplastic transformation of human thyroid carcinoma. *Jpn J Cancer Res* 1992; 83: 1293 1298.
- 15 . Donghi R, Longoni A, Pilotti S, Michieli P, Porta GD, Pierotti M: Gene p 53 mutations are restricted to poorly differentiated and undifferentiated carcinomas of the thyroid gland. *J Clin Invest* 1993; 91: 1753 1760.
- 16 . Fagin JA, Matsuo K, Karmakar A, Chen DL, Tang SH, Koeffler HP: High prevalence of mutations of the p 53 gene in poorly differentiated human thyroid carcinomas. *J Clin Invest* 1993; 91: 179 184.
- 17 . Kitamura Y, Shimizu K, Ito K, Tanaka S: p 53 gene mutation is not associated with tumorigenesis of medullary thyroid carcinoma. *Thyroidol Clin Exp* 1998; 10: 171 174.
- 18 . Garcia-Rostan G, Tallini G, Herrero A, D'Aquila TG, Carcangiu ML, Rimm DL: Frequent mutation and nuclear localization of beta-catenin in anaplastic thyroid carcinoma. *Cancer Res* 1999; 59: 1811 1815.
- 19 . 北村 裕, 清水一雄, 田中茂夫: 甲状腺癌・甲状腺髄様癌(特集:甲状腺・上皮小体をめぐって). *JOHNS* 1999; 15: 917 921.
- 20 . Mulligan LM, Know JBJ, Healey CS, Elsdon MJ, Eng C, Gardner E, Love DR, Mole SE, Moore JK, Papi L, Ponder MA, Telenius H, Tunnacliff L, Ponder BAJ: Germ-line mutations of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2 A. *Nature* 1993; 363: 458 460.
- 21 . Donis-Keller H, Dou S, Chi D, Carlson KM, Toshima K, Laimore TC, Howe JR, Moley JF, Goodfellow PJ, Wells SAJ: Mutations in the RET proto-oncogene are associated with MEN 2 A and FMTC. *Hum Mol Genet* 1993; 2: 851 856.
- 22 . Hofstra RMW, Landsvater RM, Ceccherini I, Stulp RP, Stelwagen T, Luo Y, Pasini B, Höppener JWM, van Amstel HKP, Romeo G, Lips CJM, Buys CHCM: A mutation in the RET proto-oncogene associated with multiple endocrine neoplasia type 2 B and sporadic medullary thyroid carcinoma. *Nature* 1994; 367: 375 376.
- 23 . Carlson KM, Dou S, Chi D, Scavarda N, Toshima K, Jackson CE, Wells SAJ, Goodfellow PJ, Donis-Keller H: Single missense mutation in the tyrosine kinase catalytic domain of the RET protooncogene is associated with multiple endocrine neoplasia type 2 B. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994; 91: 1579 1583.
- 24 . Eng C, Smith DP, Mulligan LM, Nagai MA, Healey CS, Ponder MA, Gardner E, Scheumann GFW, Jackson CE, Tunnacliffe A, Ponder BAJ: Point mutation within the tyrosine kinase domain of the RET proto-oncogene in multiple endocrine neoplasia type 2 B and

- related sporadic tumours. *Hum Mo Genet* 1994; 3 : 237 241.
- 25 . Wells SA Jr, Chi DD, Toshima K, Dehner LP, Coffin CM, Downton B, Ivanovich JL, DeBenedetti MK, Dilly WG, Moley JF, Norton JA, Donis-Keller H: Predictive DNA testing and prophylactic thyroidectomy in patients at risk for multiple endocrine neoplasia type 2A. *Ann Surg* 1994; 220: 237 250.
- 26 . Lips CJM, Landsvater RM, Höppener JWM, Geerdink RA, Blijham G, van Veen MJ, van Gils APG, de Wit MJ, Zewald RA, Berends MJH, Beemer FA, Brouwers-Smalbraak J, Jansen RPM, van Amstel HKP, van Vroonhoven TJMV, Vroom TM: Clinical screening as compared with DNA analysis in families with multiple endocrine neoplasia type 2 A. *N Eng J Med* 1994; 331: 828 835.
- 27 . Kitamura Y, Goodfellow PJ, Shimizu K, Nagahama M, Ito K, Kitagawa W, Akasu H, Takami H, Tanaka S, Wells SAJ: Novel germline RET proto-oncogene mutations associated with medullary thyroid carcinoma (MTC) Mutation analysis in Japanese patients with MTC. *Oncogene* 1997; 14: 3103 3106.

(受付 : 1999 年 8 月 5 日)

(受理 : 1999 年 8 月 11 日)
