

甲状腺癌の発生機序—最近の基礎研究からの知見

みつたけ のりさと
光武 範吏*

* 長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 原爆後障害医療研究施設 分子医療部門 分子診断学分野

Key words 甲状腺癌 (thyroid cancer), 癌遺伝子 (oncogene), 癌幹細胞 (cancer stem cell), 多型 (polymorphism)

はじめに

「がん」という疾患は遺伝子病とされ、遺伝子変異とそれに伴うゲノム不安定性がその病態の本質とされる。これは、RAS や TP53 等の癌原遺伝子や癌抑制遺伝子の変異により、細胞内シグナル伝達の制御が効かなくなり、細胞が癌化するというものである。長年この視点に沿って癌の研究はなされてきており、甲状腺癌もその例外ではない。

しかし近年、「癌幹細胞」と呼ばれる細胞に関する研究が活発に行われるようになってきた。これは、癌組織中の細胞は均一ではなく、大部分の「癌細胞」とは別に少数の「癌幹細胞」と呼ばれる細胞が存在しており、この細胞が腫瘍の進展、転移、再発等に重要な役割を果たしているのではないかというものである。実際、白血病、乳癌、脳腫瘍でこの研究は先行しており、癌の発生から治療に関するまで幅広い知見をもたらしている。この考え方によると、癌幹細胞の発生する母地は、その特徴の類似点から、組織幹細胞であるという考え方が有力である。

さらに近年の技術革新により、大規模、網羅的なゲノム解析が可能になり、それによって個人間の違

い、すなわち遺伝子多型による発癌しやすさも注目されるようになってきた。当然、発癌メカニズムと関連していると思われる。

甲状腺癌は、甲状腺濾胞細胞という一種の細胞から、乳頭癌、濾胞癌、未分化癌とさまざまなタイプの組織型を持つ癌が発生してくるという特徴を持つ。本稿では、起源が別である髄様癌は割愛させて頂き、これら濾胞細胞から発生してくる癌、特に症例数が圧倒的に多い乳頭癌をメインに、(1) 遺伝子変異とシグナル伝達異常、(2) 癌幹細胞、(3) 遺伝子多型の関与について概説する。

遺伝子変異

甲状腺濾胞細胞を起源とする癌で見られる遺伝子異常のパターンと頻度を図1、表1にまとめた。それぞれの組織型で特徴的なパターンが見られる。まずは乳頭癌に見られる RET/PTC 再配列と BRAF 点突然変異、RAS 点突然変異について述べる。

RET はレセプター型のチロシンキナーゼであるが、甲状腺濾胞細胞にはほとんど発現していない。ところが染色体再配列により、RET のキナーゼドメインをコードする C 末端側と、他のパートナー遺伝子の N 末端側が結合してキメラ遺伝子を作ると、その発現はパートナー遺伝子のプロモーターによって

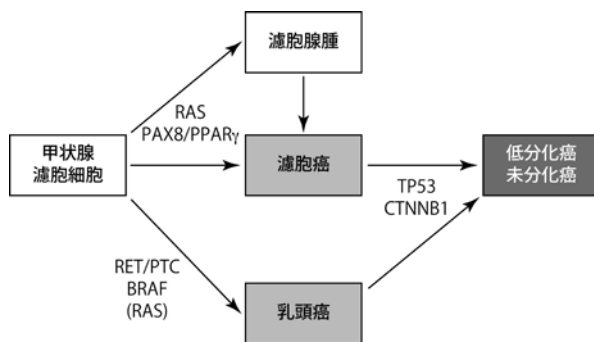


図1. 甲状腺細胞の癌化ステップに関与する遺伝子変異

表1. 濾胞細胞から発生する癌における遺伝子変異の頻度

	乳頭癌	濾胞癌	低分化癌	未分化癌
RET/PTC	13-43%	0%	0-13%	0%
BRAF mutation	29-69%	0%	0-13%	10-35%
RAS mutation	0-21%	10-53%	18-55%	20-60%
PAX8/PPAR γ	0%	25-63%	0%	0%
CTNNB1 mutation	0%	0%	0-25%	66%
TP53 mutation	0-5%	0-9%	17-38%	67-88%

制御され、キメラタンパクであるRET/PTCが作り出される。RET/PTCは、容易に二量体を形成、自己リン酸化によって恒常的に活性化した状態となる。つまり、RET以下のシグナル伝達が常にonの状態となる。RET/PTCは、パートナー遺伝子の違いで15種類以上報告されているが、RET/PTC1とRET/PTC3で全体の90%を占める。

BRAFは、セリンスレオニンキナーゼであるRAFファミリーの一つで、甲状腺乳頭癌で見られる突然変異は、ほぼ全てがコドン600に起こったバリンがグルタミン酸に変化する点突然変異である(BRAF^{V600E})。この変異によって、BRAFのキナーゼ活性が恒常的にonとなると考えられている。

RAS変異は、他の固形癌でも高頻度に見られる遺伝子異常であり、詳細は省くが、同じく点突然変異でシグナル伝達を恒常的に活性化させる変異である。ただし、甲状腺乳頭癌での頻度は低い。

甲状腺乳頭癌の発生メカニズムについて極めて重要な点は、これら3つの遺伝子変異(癌遺伝子)に重複が見られないという事である。RET/PTC, RAS, BRAFは全てMAPKシグナル伝達経路を活性化する分子であり、RET/PTCやRASは他の下流シグナルを活性化するにもかかわらず、ひとつの腫瘍にはほとんど遺伝子変異の重複が見られない。これは、MAPKの恒常的な活性化が、乳頭癌の発生に重要な役割を果たしているという証拠といえる^{1),2)}。

サイログロブリンプロモーターを用い、甲状腺濾胞細胞にこれらの変異遺伝子が発現するように遺伝子改変されたトランスジェニックマウスでは、ヒトとよく似た乳頭癌の発生が認められた³⁾。このことは、これら癌遺伝子が発癌の原因であることを示唆する。しかしこれらのモデルでは、癌遺伝子が胎生期から全甲状腺細胞に発現し、そのため甲状腺機能が低下、フィードバックにより血清TSHが上昇し、甲状腺細胞の増殖にかなりの影響を与えていると予想される。極めて人工的な系といわざるを得ない。また、*in vitro*で正常甲状腺細胞にこれら癌遺伝子を発現させても、細胞の癌化は観察されなかった⁴⁾。これらの結果から、甲状腺乳頭癌の発生には、MAPKの恒常的な活性化が重要であるが、それだけでは十分でない可能性が高く、より詳細な機序の解明が待たれる。

濾胞癌や未分化癌についても簡単に触れるが、これらはより不明な点が多い。濾胞癌でよく見られる遺伝子異常はRAS, PAX8/PPAR γ 等である。PAX8/PPAR γ は染色体転座t(2;3)(q13;p25)によって生じるキメラタンパクであるが、細胞の癌化機序はまだよく分かっていない。ただし、これらの変異は良性の濾胞腺腫でも見られ、腫瘍発生の初期段階に起こるとされる。変異RASのトランスジェ

ニックマウスでは、濾胞腺腫、濾胞癌の発生が見られるが、これも前述のように生理的なモデルとはいえない。また、甲状腺ホルモン不応症に見られる変異甲状腺ホルモンレセプター β (TR β^{PV})をホモに導入したノックインマウスでも、濾胞癌の発生が見られる。さらに興味深いことに、このマウスとTSHレセプターノックアウトマウスをクロスすると、濾胞癌の発生は完全に抑制される⁵⁾。このことは、TSHシグナルと甲状腺ホルモンのシグナルも癌の発生に関与していることを示唆している。未分化癌では、TP53, β -カテニン(CTNNB1)の変異が高頻度で見られ、これらが関係するシグナル伝達の異常が甲状腺癌細胞の脱分化、高度悪性化に重要な役割を果たしていることを示唆している。

以上のように様々な遺伝子変異が同定され、マウスモデルをはじめ、*in vitro*でも機能解析が進んでいるが、前述のようにマウスモデルもヒトの病態を完全に反映したものとはいえず、未だ甲状腺濾胞細胞からの「発癌」メカニズムを完全には説明できていない。

癌幹細胞

癌組織中の癌細胞は決して均一でなく、新たな腫瘍を形成できるものはごく一部である。近年、これらの一部の細胞は、自己複製能と分化能(この場合、分化能とは厳密には分化ではなく、その他大多数の癌細胞を生み出す能力のこと)を併せ持つ「癌幹細胞」ではないかという説が盛んに論じられるようになってきた。一般的な抗癌剤等による癌治療は、癌組織の大部分を占める癌細胞をターゲットとしたものであり、治療によって大部分の癌細胞を除いたとしても、少数の癌幹細胞が生き残っていれば、これが再発の原因となる(図2)。この癌幹細胞は、様々な癌において同定、報告されてきており、癌根治の戦略としてこの癌幹細胞の研究は必須のものとなってきている。現在のところ、癌幹細胞の起源は、その性質の類似点から組織幹細胞であるとする説が有力で、組織幹細胞に上で述べたいくつかの遺伝子変異が蓄

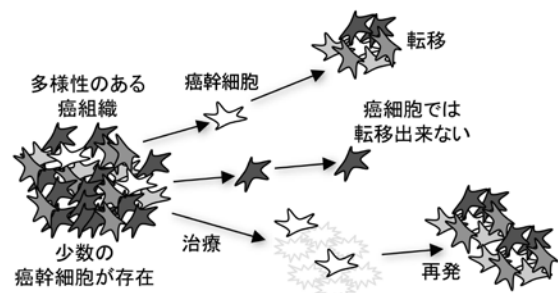


図2. 癌幹細胞セオリー

積されることによって癌幹細胞に変化すると考えられている。様々な異なった報告があるが、癌幹細胞は増殖スピードが緩やかであったり、DNA修復能が高い、また抗癌剤等を細胞外に排出するポンプのようなトランスポーターが高発現しているとする報告がある。これが治療抵抗性の原因となっていると考えられる。

甲状腺癌は、前述の通り一種類の甲状腺濾胞細胞から乳頭癌、濾胞癌、未分化癌と様々なタイプの癌が発生してくる。高野らは、これは甲状腺幹細胞が分化してくる各段階で、分化がブロック、悪性化したものではないかという芽細胞発癌説 (fetal cell carcinogenesis theory) を発表した⁶⁾。この説によると、最も未分化な甲状腺幹細胞 (thyroid stem cell) から癌化したものが未分化癌、次の段階の甲状腺芽細胞 (thyroblast) から癌化したものが乳頭癌、そしてかなり分化した段階である前甲状腺細胞 (prothyrocyte) から濾胞腫瘍が発生するのではないかとされている。上の癌幹細胞説と組み合わせて考えると非常に興味深い。

しかしながら、実際の甲状腺癌幹細胞の研究はまだ十分進んでいるとはいえない。筆者らは、一般的に癌幹細胞が抗癌剤などを排出するABCトランスポーターを高発現していることを利用し、side population法というフローサイトメトリーを用いた方法を用い、甲状腺癌細胞を解析した⁷⁾。造血幹細胞やある種の癌幹細胞がこのside population分画に濃縮されることが報告されている。我々の実験では、ARO、FRO等の細胞にside population細胞を認め、AROのside population細胞がいくつかの癌幹細胞様性質を持つ事を明らかにした。また、他の二つのグループも、ARO細胞中のCD133高発現細胞が癌幹細胞を含んでいると報告した^{8),9)}。CD133は、脳腫瘍等でも用いられる癌幹細胞のマーカーである。しかしながら、その後のDNAプロファイリングの結果、AROは甲状腺癌由来の細胞でない可能性が示唆されたため¹⁰⁾、結局、甲状腺癌における癌幹細胞の単離は未だ成功していない。

この様に、甲状腺癌でも癌幹細胞の関与を示唆する報告はあるものの、未だにそのマーカー、単離法、機能については確立されたものはなく、ほとんど何も分かっていない。甲状腺癌の発生メカニズム、そして新規治療法の開発の上でも、この分野での研究の進展が待たれる。

遺伝子多型

近年のゲノム解析の進歩により、個々人の甲状腺癌発症リスクを規定する遺伝子多型の同定が試みられるようになってきた。遺伝子多型とは一般的に1%

以上の頻度で見られる遺伝子の違いであり、個体全ての細胞が持ち、遺伝的に受け継がれるものである。1%以下の頻度で見られるものは変異と呼ばれ、前述の遺伝子変異等は一般的に癌細胞でのみ見られるものである。

甲状腺癌の臨床的特徴から、DNA修復、TP53、エストロゲンレセプター、甲状腺ホルモンレセプター、IL-6、抗酸化酵素等にターゲットを絞った解析がなされ、それぞれに甲状腺癌発症リスクと相関する多型が報告されてきた。各々の検討で統計学的に有意差が見られるものの、症例数も比較的小規模なものが多く、今後の追試、さらなる検討が必要であろう。

さらに最近の急速な技術革新により、極めて大規模で網羅的なゲノムワイドな解析が可能となってきた。アレイ技術を用い、数十万の遺伝子多型を一度に解析できる。2009年、Gudmundssonらはアイスランドの住民を中心とした大規模な分子疫学調査の解析結果を発表した¹¹⁾。その結果、9q22.33と14q13.3に甲状腺癌発症と強い関連がある多型が発見された。9q22.23と14q13.3付近にはそれぞれ甲状腺機能に非常に重要な転写因子であるFOXE1 (TTF2)とNKX2-1 (TTF1)がコードされており、非常に興味深い。両遺伝子にホモ接合性に関連多型を持つのは約3.7%であり、その推定リスクは5.7倍であると報告された。また筆者らのグループは、チェルノブイリ事故後に発症したベラルーシ小児甲状腺癌患者と健常者から提供されたDNAを用い、やはり遺伝子多型の大規模解析を進行中である。これまでのところ、やはりFOXE1のlocusに強い相関を認め、これを報告した¹²⁾。ただし、NKX2-1 locusとの相関は見られず、これが自然発症と放射線誘発との違いかもしれない。FOXE1 locusは、自然発症、放射線誘発の二つの独立した大規模調査で確認され、この多型が少なくとも白人甲状腺癌の発症に重要な役割を果たしているのは間違いなさそうである。今後の機能解析が待たれると共に、日本人症例での検討も必要であろう。

おわりに

上記のように、甲状腺癌の発生に関与する様々な因子が同定されてきた。しかしながら、各々のピースはまだバラバラの状態、パズル全体を完成するには至っていない。正常細胞からの一貫した癌発生メカニズムの解明のために、臓器横断的、分野横断的な研究を遂行する必要がある。今後、これらの研究成果が、治療に関しても多くの知見をもたらしてくれるものと期待する。

文献

- 1) Kimura ET, Nikiforova MN, Zhu Z, Knauf JA, Nikiforov YE, Fagin JA: High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer; genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma. *Cancer Res* 2003; 63: 1454-1457
- 2) Knauf JA, Fagin JA: Role of MAPK pathway oncoproteins in thyroid cancer pathogenesis and as drug targets. *Curr Opin Cell Biol* 2009;
- 3) Knauf JA, Ma X, Smith EP, Zhang L, Mitsutake N, Liao XH, Refetoff S, Nikiforov YE, Fagin JA: Targeted expression of BRAFV600E in thyroid cells of transgenic mice results in papillary thyroid cancers that undergo dedifferentiation. *Cancer Res* 2005; 65: 4238-4245
- 4) Mitsutake N, Knauf JA, Mitsutake S, Mesa C, Jr., Zhang L, Fagin JA: Conditional BRAFV600E expression induces DNA synthesis, apoptosis, dedifferentiation, and chromosomal instability in thyroid PCCL3 cells. *Cancer Res* 2005; 65: 2465-2473
- 5) Lu C, Zhao L, Ying H, Willingham MC, Cheng SY: Growth activation alone is not sufficient to cause metastatic thyroid cancer in a mouse model of follicular thyroid carcinoma. *Endocrinology* 2010; 151: 1929-1939
- 6) Takano T: Fetal cell carcinogenesis of the thyroid: a hypothesis for better understanding of gene expression profile and genomic alternation in thyroid carcinoma. *Endocr J* 2004; 51: 509-515
- 7) Mitsutake N, Iwao A, Nagai K, Namba H, Ohtsuru A, Saenko V, Yamashita S: Characterization of side population in thyroid cancer cell lines: cancer stem-like cells are enriched partly but not exclusively. *Endocrinology* 2007; 148: 1797-1803
- 8) Friedman S, Lu M, Schultz A, Thomas D, Lin RY: CD133+ anaplastic thyroid cancer cells initiate tumors in immunodeficient mice and are regulated by thyrotropin. *PLoS One* 2009; 4: e5395
- 9) Zito G, et al: In vitro identification and characterization of CD133(pos) cancer stem-like cells in anaplastic thyroid carcinoma cell lines. *PLoS One* 2008; 3: e3544
- 10) Schweppe RE, et al: Deoxyribonucleic acid profiling analysis of 40 human thyroid cancer cell lines reveals cross-contamination resulting in cell line redundancy and misidentification. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 4331-4341
- 11) Gudmundsson J, et al: Common variants on 9q22.33 and 14q13.3 predispose to thyroid cancer in European populations. *Nat Genet* 2009; 41: 460-464
- 12) Takahashi M, et al: The FOXE1 locus is a major genetic determinant for radiation-related thyroid carcinoma in Chernobyl. *Hum Mol Genet* 2010; 19: 2516-2523