

放射線による二次癌の研究

所属機関 (財) 癌研究会癌研究所病理部
研究者名 石川 雄一

《研究の概要》

放射線療法は、がん治療の最も重要な柱の一つである。しかしながら、放射線は発がん因子であることも事実で、放射線治療後に発生するがんは、「放射線二次がん」として知られている。子宮頸癌放射線治療後の大腸癌がその代表である。この調査により、放射線のリスク評価に貢献し、個人間での感受性の差異を考慮した治療を行う基礎ができる。これまで行われてきたわが国での調査は、症例数がそれほど多くない病院を基盤とした症例調査の集積であり、診断治療の基準などが統一されていない、雑多な結果の寄せ集めであった。癌研究会は戦前から、正確な線量評価に基づいて多くの症例を治療してきた。本研究では、癌研において系統的に放射線二次がんを抽出することにより、均一で信頼しうるデータを収集し、放射線二次がんの病理学的・遺伝子学的特徴を明らかにして、放射線治療のリスクを算出し、かつ患者の個性に応じた治療を実現することを目的とする。

癌研情報システム課の症例登録室にあるコンピュータデータベース(1984-2001年)を検索して、二重がん症例を抽出した。データベース上での「複数癌」は、転移も含んでおり、真の放射線誘発癌を抽出するには、病理学的に厳密に比較する必要がある。本研究では、放射線治療の対象となった元の癌と、その後生じた癌とを病理組織学的に比較して、転移を厳密に除外した。さらに、子宮癌治療後の大腸癌の対照群として、子宮癌治療後30年間癌を生じなかった症例、放射線治療をしないのに大腸癌を生じた症例も、各々20例ずつ収集した。

調査の結果、1473例の放射線二次癌を登録した。子宮頸癌治療後の大腸癌は31例、膀胱癌が10例あった。また、乳癌が45例あったのが目立った。頭頸部癌(咽喉頭、鼻腔など)治療後に176例の食道癌が見られた。甲状腺癌治療後では32例の二次癌が見られたが、舌、口腔、喉頭、食道をあわせて8例であった。

今回登録した症例数は、これまでわが国で報告された放射線二次癌の症例数にほぼ匹敵する。今後はこれを用いて、ヒトにおける放射線発がんの特徴、個人の放射線感受性などの研究を行っていきたい。

研究者氏名及び所属機関

	氏名	所属機関名	分担研究テーマ
研究代表者	石川 雄一	(財) 癌研究会癌研究所 病理部主任研究員	総括, 病理診断
共同研究者	鎌田 信悦	(財) 癌研究会附属病院 頭頸科部長	頭頸科症例の収集
	山下 孝	(財) 癌研究会附属病院 放射線治療科部長	放射線治療データの収集

研究報告

I. 研究の目的

放射線治療とその副作用

放射線療法は、がん治療の最も重要な柱の一つである。それは、放射線が増殖する細胞に極めて有効に障害を与えるからである。しかしながら、放射線は発がん因子であることも事実で、放射線治療後に発生するがんは、「放射線二次癌」として知られている。欧米では系統的な調査が行われ、放射線のリスク評価および適切な治療線量の選択に役立っている。しかるに、わが国におけるデータは、単一の病院を基盤とした症例調査の集積であり、がんの診断基準、治療基準、治療効果判定基準が統一されていない、雑多な結果の寄せ集めであった。

癌研究会は、戦前からその設立の目的の一つとして癌の放射線療法を掲げ、正確な線量評価に基づいて多くの症例を治療してきた。本研究では、癌研において系統的に放射線二次癌を抽出することにより、均一で信頼しうるデータを収集し、放射線二次癌ファイルを構築することを第1の目的とし、さらに発生した腫瘍の病理学的・遺伝子学的特徴を明らかにして、放射線治療のリスクを算出することを次の目的とする。

放射線二次癌研究の必要性

21世紀のがん治療では、患者はあらゆる情報を知った上で治療を選択するようになる。その際に、放射線療法がどの程度のリスクであるかを予め提示しなければならない。本研究はそのリスクを、より確実なデータに基づいて算出するために必要である。

さらに近年、放射線感受性は個々人の遺伝的背景によって大きく異なる可能性のあることが判ってきた。本研究では、放射線治療なしでも同様ながんを発症した症例、あるいは放射線治療後でもがんを生じなかった症例と放射線二次癌症例とを比較することにより、放射線により発がんしやすい遺伝学的特徴を解明するための基礎データを蓄積する。これは、放射線治療の際、線量を考慮すべき患者を選ぶのに必要である。

II. 研究計画および材料と方法

対象とする患者の抽出法：

癌研究会附属病院では、1984年から全症例をコンピュータデータベース化している。こ

れを用いて、放射線療法の既往のある複数癌症例を収集した。データベース上の「複数癌症例」の中には、多重癌および再発・転移が含まれており、前者から後者を区別する方法には、臨床的方法と病理学的方法とがある。臨床的方法は、主として画像診断により、多発性、発生部位、腫瘍陰影の輪郭などの性質から判断するものであり、病理学的方法は、2つの腫瘍を病理組織学的に比較して、新たに発生したものが転移かを判定するものである。本研究では、臨床的に多重癌と推定され、かつ病理学的にも転移ではないとされたもののみを多重癌として登録した。そのために、「複数癌症例」の中から組織分類も考慮に入れて抽出し、その上で組織像を確認した。子宮癌放射線治療後の大腸癌の場合について例を述べると、子宮癌、放射線治療、大腸癌という例のうち大腸癌の方が子宮癌より後に発生したものを検索し、その中から、子宮癌と大腸癌の組織型が異なるものはそのままファイルに入れ（大部分は子宮頸部扁平上皮癌—放射線治療—大腸腺癌である）、子宮頸部腺癌および子宮体部癌（腺癌）については、大腸癌との異同を組織学的に確認し、大腸癌が原発性腺癌であるものを登録した。

コンピュータデータベース以外に、臨床各科および病理部で個別に収集している症例も、可能なかぎり登録した。特に、1984年以前の症例を拾い上げるようにした。

対照群の設定：

放射線治療後に発生した癌と、放射線治療なしで偶然発生した癌とを比較することも、意味のあることである。このため、以下の2つの対照群（n=20）を作成する。

第1対照：子宮頸癌放射線治療後に、30年間がんを発生しなかった症例、

第2対照：子宮頸癌のあと放射線治療なしで大腸がんを起こした症例。

重複癌の病理学的確認：

重複癌であるか既往歴にある癌の転移であるかは、最終的には病理学的に判定される。本研究では、(1)組織型が異なるもの、(2)同じ組織型であるが亜型が異なるもの、(3)亜型も同じであるが、病理組織学的に新たな原発性癌であると考えられるもの、のみを重複癌として登録した。第1癌が他院で治療されたものについては、プレパレートや病理診断書などを収集して病理学的に明かな場合のみを重複癌と見なした。

線量評価：

これまで殆どの放射線二次癌の研究では、放射線量として治療線量をそのまま用いていた。本研究では、二次癌の発がんに関連する線量、すなわち、腫瘍発生部位での線量を評価することを目指した。

具体的には、患者の照射記録から、最終治療線量、照射法、線質、照射野と誤差、散乱線などを考慮して、二次癌発生部位（原腫瘍治療時には正常組織）での線量を、数学的に計算する。

遺伝子解析：

本研究では予算の制約から、放射線二次癌ファイルの作成に主力を注ぐこととしたが、研究の途中から同時並行で行っていた cDNA マイクロアレイを用いた網羅的発現解析が軌道に乗り始めたので、いくつかの症例について発現解析を実施した。

また、例数は限られるが、放射線二次癌の新鮮凍結材料を用いて、p53 遺伝子変異のパターンを調べた。p53 遺伝子変異は、肺癌、肝癌などで、喫煙、ウイルス、放射線などの外来性発がん因子と変異パターンとの相関が知られている。

Ⅲ. 研究成果

放射線二次癌の登録

1984-2001年のコンピュータデータベースからの抽出した放射線治療後の二次癌 1473 例を各臓器別にまとめると以下ようになった。また病理学的比較が完了していないので、同一臓器の場合は、組織型が異なるもの以外はこのリストからははずした。例えば、肺癌治療後の肺重複癌は 36 例あった。

子宮癌治療後 169 例：胃癌 21、大腸癌 31、肺癌 10、乳癌 45、膀胱癌 10 例、甲状腺癌 7 例

副鼻腔喉頭治療後 253 例：食道癌 40、胃癌 37、大腸癌 21

骨軟部腫瘍治療後 41 例：胃癌 5、大腸癌 6、喉頭癌 4、子宮頸癌 5、甲状腺癌 4

男性生殖器治療後 55 例：胃癌 13、大腸癌 1、膀胱癌 10

甲状腺癌治療後 32 例：舌・口腔癌 3、喉頭癌 2、食道癌 3、胃癌 5、乳癌 4

消化管（食道一肛門管）治療後 52 例

肺癌治療後 168 例：乳癌 14 例

乳癌治療後 223 例：胃癌 33、食道癌 9、甲状腺癌 21、子宮頸癌 55、子宮体癌 20

食道癌治療後 189 例：胃癌 42 例、喉頭癌 21、大腸 17

咽頭癌治療後 401 例：食道癌 136、胃癌 60、歯肉 12、大腸 26

泌尿器科癌治療後 44 例：乳癌 10 例、大腸癌 2 例

子宮癌治療後では、大腸の二次癌がよく知られており、今回も 31 例あり、新たなものも見つかった。膀胱癌も 10 例あり、一般における頻度を考慮すると、放射線誘発である可能性が高い。最も注目されるのは 45 例の乳癌である。乳癌は女性で最も発生率の高い癌であり、泌尿器科癌放射線治療後に発生した 44 例中の 10 例も乳癌であった。

頭頸部癌（n=659）治療後では 176 例の食道癌がみられた。この 2 癌は発がん因子が共通しており、放射線誘発であるかどうか、慎重に検討する必要がある。

一方、甲状腺癌はその近傍に発生する癌と発がん因子が共通している可能性は低い。しかし、放射線治療後に舌、口腔、喉頭、食道に計 8 例がみられ、放射線誘発である可能性がある。

対照群の登録

対照とする症例（子宮頸癌放射線治療後も 30 年間癌をおこさなかった症例、子宮頸癌のあと放射線治療なしで大腸がんを起こした症例を各々 20 例）を抽出した。

線量評価

各症例の線量評価は、本研究の特徴の一つであった。しかし、癌研物理部、癌研病院放射線科共同で作成した、散乱線分布図などの基礎データを収集したにとどまった。

網羅的遺伝子発現解析

平成 13 年度に、中外製薬・東大先端研と共同で行ってきた microarray 解析が軌道に乗ってきたので、放射線二次癌 6 例の新鮮凍結材料による、遺伝子の網羅的発現解析を行った。症例の内訳は、大腸癌 4 例、肺癌 2 例である。年齢・性別のマッチした対照症例（n=

10)も両臓器で準備した。RNA抽出は良好で、T7-based RNA amplificationを行なって、少量の腫瘍検体から安定した結果を得た。

しかしながら平成16年3月までの段階で、大腸癌、肺癌共に一般の癌とどのような点でも差を見つけることができなかった。また大腸については、非腫瘍部分で多量の放射線が照射された部分、殆ど放射線の当たっていない部分、および対照症例の同じ部位の組織の3ヶ所についても解析を行ったが、未だ差を見出せなかった。

遺伝子異常の解析

放射線誘発と考えられる大腸癌4例、肺癌1例の新鮮凍結材料を用いて、p53遺伝子変異パターンを検索したしかし、exon 5-8には、変異は確認できなかった

IV. 考察

放射線二次癌として登録したのは1473例にのぼり、当初の予想500-1000例よりかなり多かった。完全な病理学的比較が終了していない現在の時点では、同一臓器の癌を除いたために原発性の癌が除かれた可能性、および一見、原発性に見えたが厳密な比較では転移と判明するものがある可能性、の両方を考慮すると、最終的に約1500例前後と考えられる。この数は、これまでわが国で報告された全ての放射線二次癌とほぼ同数となり、本研究は意義のあるものであったと考えられる。

放射線治療後に発生した癌を収集したものの、放射線と無関係に発生したものも含まれている。これを考察するために、子宮癌治療後の大腸癌に関しては、二つの対照群を置き、各群20例ずつ収集した。現在、厳密な組織学的特徴、遺伝子変異の差などを比較している。放射線誘発大腸癌では、粘液癌が多いという特徴が判明しており、組織学のレベルでも、比較する意味が十分にある。

子宮癌治療後の癌では、乳癌が45例あったのが注目される。乳癌は女性では最も発生頻度の高い癌であり、この例数が真の増加を意味するのかどうか慎重に検討する必要がある。これまでの組織学的検索では、一般の乳癌との差異は見出されていない。今後は、遺伝子変異、タンパク発現などの観点から、更に検討していく予定である。

本研究は、hospital studyであるため、例数を示すことができるにとどまり、頻度を示すことができない。それでも、放射線二次癌の特徴を描き出すことができると考えるが、例数が多いことを利用して、癌研で治療された総人数と治療線量データから、擬似的に頻度を推定し、放射線発がんリスクを推定することができる可能性もある。今回の3年間の研究ではなしえなかった患者ごとの線量評価と共に、今後の検討課題としたい。

研究の途中で、網羅的遺伝子発現解析に時間と費用とを割いたため、線量評価が遅れてしまい、全体としては症例の登録をほぼ完了したにとどまった。遺伝子発現解析は、今後は網羅的解析というより、base excision repair 関係や遺伝子不安定性に関与するものなど、的を絞った解析を行う方向で検討したい。

V. 研究成果の発表

1. Ishikawa Y, Furuta R, Miyoshi T, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Tsuchiya E. Loss of heterozygosity and the smoking index increase with decrease in differentiation of lung adenocarcinomas: etiologic implications. Cancer Lett.

- 187: 47-51, 2002.
2. Virtanen C, Ishikawa Y, Honjoh D, Kimura M, Shimane M, Miyoshi M, Nomura H, Jones MH. Integrated classification of lung tumors and cell lines by expression profiling. Proc Natl Acad Sci USA 99: 12357-62, 2002.
 3. Meguro S, Atsumi Y, Matsuoka K, Ishikawa Y, Sugimoto M, Goto M. Werner syndrome in a Korean man. Diabetes Care, 25: 1483-4, 2002.
 4. Satoh Y, Hoshi R, Tsuzuku M, Horai T, Ishikawa Y, Asami H, Komatsu H. Cytologic characteristics of large cell neuroendocrine carcinoma of the lung. Acta Cytol 46 (suppl), 224, 2002.
 5. Nishida K, Kobayashi Y, Ishikawa Y, Satoh Y, Okumura S, Nishimura H, Nakagawa K, Nakamura K, Koike M, Tsuchiya E. Sarcomatoid adenocarcinoma of the lung: clinicopathological, immunohistochemical and molecular analyses. Anticancer Res 22:3477-3483, 2002.
 6. Miyoshi T, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Shirakusa T, Tsuchiya E, Ishikawa Y. Early-stage lung adenocarcinomas with micropapillary pattern, a distinct pathological marker for a significantly poor prognosis. Am J Surg Pathol 27:101-109, 2003.
 7. Nakamura Y, Shimizu T, Ishikawa Y, Matsumoto T, Sugimoto M, Goto M, Yoshimura Y, Wakitani S, Takaoka K. Triple primary sarcoma in Werner syndrome with a novel mutation. Rheumatology (Oxford) 42: 798-800, 2003
 8. Satoh Y, Ishikawa Y, Miyoshi T, Mukai H, Okumura S, Nakagawa K. Pulmonary Metastases from a low-grade endometrial stromal sarcoma confirmed by chromosome aberration and FISH approaches: A case of recurrence thirteen years after hysterectomy. Virchows Arch 442: 173-8, 2003.
 9. Satoh Y, Ishikawa Y, Furuta N, Tsuzuku M. Difficulty of cytodiagnostic approaches to pulmonary metastases from a case of low grade endometrial stromal sarcoma. Acta Cytol 47: 1140-1, 2003.
 10. Honda S, Hayashi M, Kobayashi Y, Ishikawa Y, Nakagawa K and Tsuchiya E. A role for the pituitary tumor-transforming gene in the genesis and progression of non-small cell lung carcinomas. Anticancer Res. 23: 3775-3782, 2003.
 11. Kobayashi K, Tokuchi Y, Hashimoto T, Hayashi M, Nishimura H, Ishikawa Y, Nakagawa K, Sato Y, Takahashi A and Tsuchiya E. Molecular markers for reinforcement of histological subclassification of neuroendocrine lung tumors. Cancer Sci. 95: 334-41, 2004
 12. Jones MH, Virtanen C, Honjoh D, Miyoshi T, Satoh Y, Okumura S, Nakagawa K, Nomura H, Ishikawa Y. Two prognostically significant subtypes of high-grade lung neuroendocrine tumours independent of small-cell and large-cell neuroendocrine carcinomas identified by gene expression profiles. Lancet 363: 775-81, 2004.
 13. Hoshi R, Satoh Y, Tsuzuku M, Horai T, Y Ishikawa. Fine needle aspiration

- cytology of fibrous histiocytomas of the lung. *Acta Cytol* 48: 290-292, 2004.
14. Kobayashi K, Tokuchi Y, Hashimoto T, Hayashi M, Nishimura H, Ishikawa Y, Nakagawa K, Sato Y, Takahashi A and Tsuchiya E. Molecular markers for reinforcement of histological subclassification of neuroendocrine lung tumors. *Cancer Sci.* 95: 334-341, 2004.
 15. Hoshi R, Tsuzuku M, Horai T, Ishikawa Y, Satoh Y. Micropapillary clusters in early-stage lung adenocarcinomas: a distinct cytologic sign of significantly poor prognosis. *Cancer.* 102:81-6, 2004
 16. Liu D, Wada I, Tateno H, Ogino D, Suzuki M, Li L, Lu W, Kojiro M, Fukayama M, Okabe H, Fukumoto M. Allelotypic characteristics of thorotrast-induced intrahepatic cholangiocarcinoma: comparison to liver cancers not associated with thorotrast. *Radiat Res.* 161: 235-43, 2004
 17. Fukumoto S-i, Yamauchi N, Moriguchi H, Hippo Y, Watanabe A, Taniguchi H, Ishikawa S, Ito H, Yamamoto S, Iwanari H, Hironaka M, Ishikawa Y, Sohara Y, Kodama T, Nishimura M, Fukayama M, Dosaka-Akita H, Aburatani H. Aldo-keto reductase family protein AKR1B10 is frequently overexpressed in squamous cell lung carcinoma and lung adenocarcinoma of heavy smokers. submitted.
 18. Inamura K, Jones MH, Virtanen C, Shimane M, Miyoshi T, Nakagawa K, Nomura H, Ishikawa Y. Class identification and survival prediction in lung squamous cell carcinoma by gene expression profiling. (in preparation)