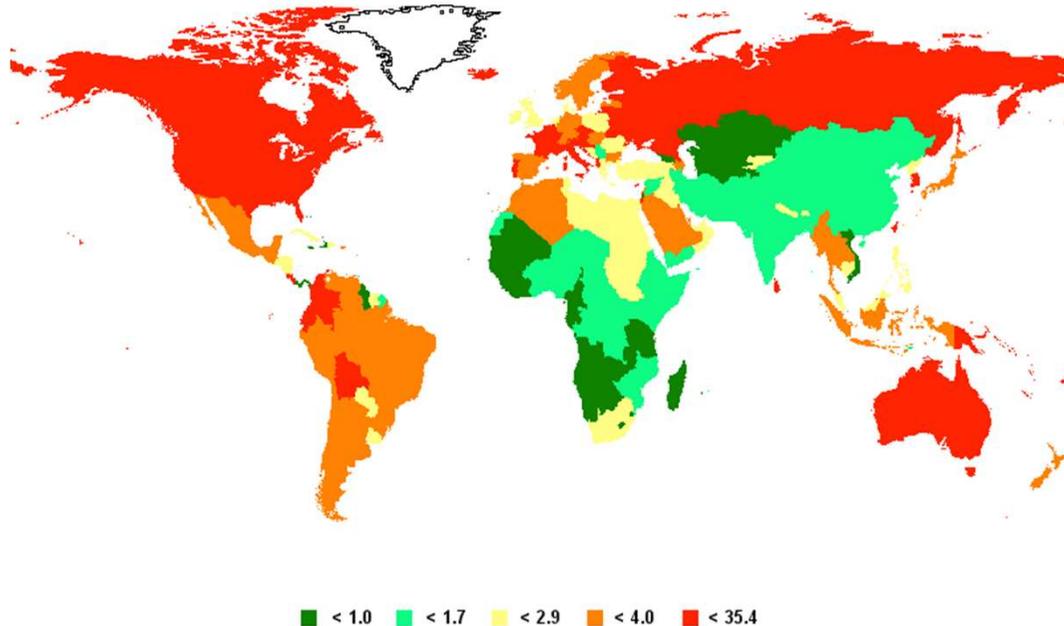

Suivi des cancers de la thyroïde dans la région de Tchernobyl ; rôle des facteurs génétiques modificateurs

F Lesueur, F Damiola, C Lonjou, M Moissonnier, G Durand, V Tenet, I Malakhova,
V Masyakin, F Le Calvez-Kelm, G Byrnes, E Cardis, A Kesminiene

Tchernobyl 30 ans après – SFRP, 15 mars 2016

Incidence des cancers de la thyroïde

International Agency for Research on Cancer
Organization
Estimated age-standardised incidence rate per 100,000
Thyroid: both sexes, all ages



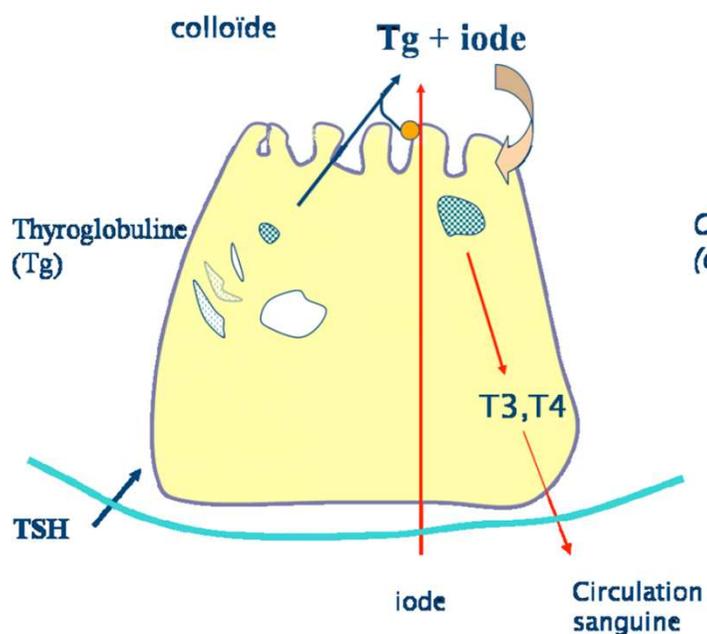
GLOBOCAN 2008 (IARC) - 12.9.2011

- ≈1% de tous les cancers
- Taux d'incidence standardisés sur l'âge : 0,5 à 5 pour 100,000 personnes
- Ratio Femmes/Hommes : 1,5
- 5^{ème} cancer le plus fréquent pour les femmes.

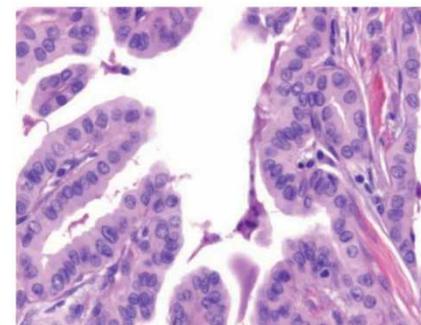
- **Incidence en augmentation depuis 20 ans probablement due à :**
- **une amélioration du diagnostic (sur-diagnostic ?)**
 - **des facteurs environnementaux**

Cancers différenciés de la thyroïde

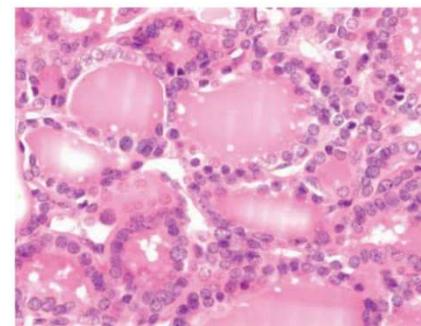
90% des cancers de la thyroïde ont une origine vésiculaire.



TSH : thyroid Stimulating Hormone
Tg : thyroglobuline
T3 : triiodothyronine
T4 : thyroxine



Cancers papillaires (80%)



Cancers vésiculaires (10%)

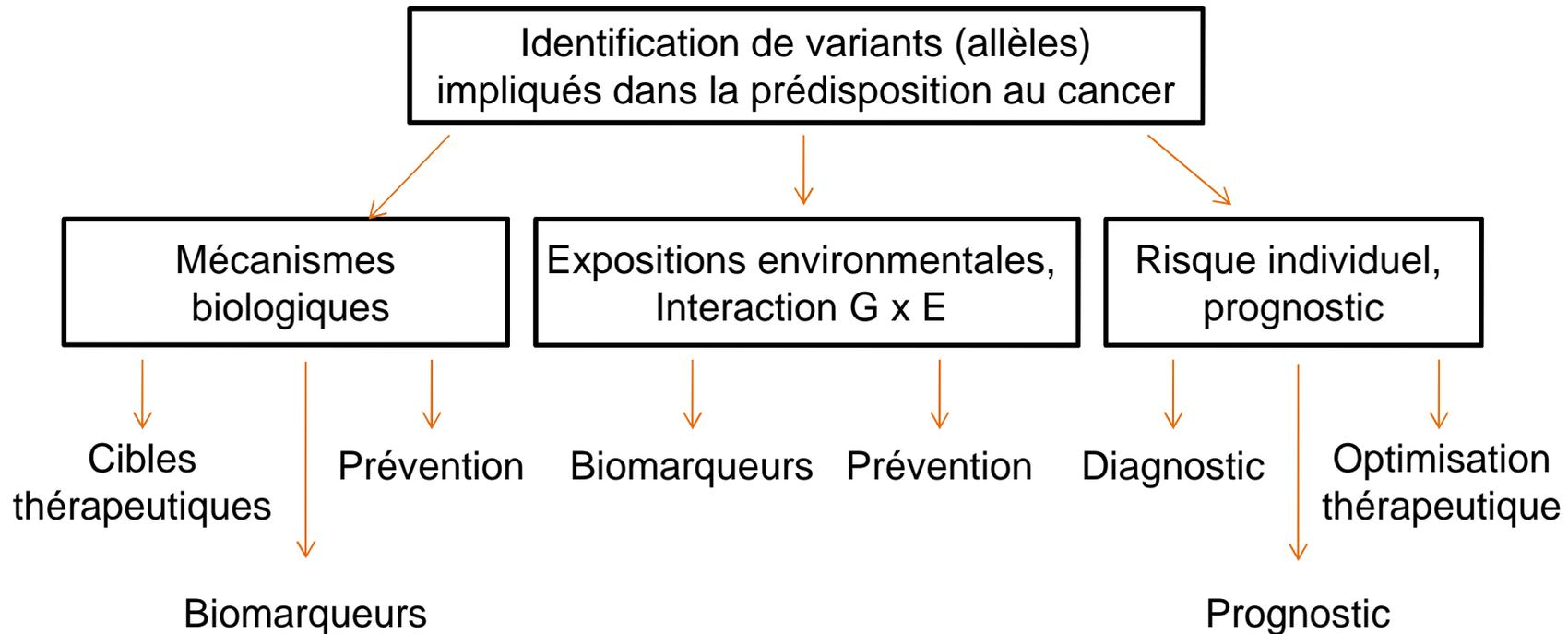
Facteurs de risque

- Exposition aux rayonnements ionisants (pendant l'enfance ou l'adolescence)
- Carence ou excès d'iode (alimentation)
- Facteurs hormonaux (grossesses)
- Antécédents de maladies bénignes de la thyroïde (nodules, goitres, maladies auto-immunes de la thyroïde, etc)
- Histoire familiale de cancer de la thyroïde (agrégations familiales dans des régions non-exposées aux rayonnements ionisants)

Cancer	RF*	Cancer	RF*	Cancer	RF*
Estomac	3,09	Myélome multiple	4,34	Ovaire	2,05
Colon	2,67	Lymphome de Hodgkin	1,27	Prostate	2,21
Rectal	1,78	Lymphome (autre)	1,68	Testicule	8,32
Pancréas	1,25	Mélanome	2,10	Vessie	1,53
larynx	8,01	Sein	1,83	Rein	2,45
poumon	2,55	Cervical	1,74	Cerveau	1,96
Leucémie (lymphocytes)	5,69	Myélome multiple	4,34	Thyroïde	8,60
Leucémie (granulocytes)	2,97	Utérus	1,32		

*RF : Risque Familial

Pourquoi rechercher des gènes de prédisposition ?



Stratégies d'étude :

-Etudes familiales : co-ségrégation de marqueurs génétiques avec la maladie

- Cancers de la thyroïde : loci en 14q31, 19p13, 2q21, 1q21, 8q24

-Etudes de population : études d'association (GWAS: *Genome-Wide Association Studies*)

- Cancers de la thyroïde : 9q22.33 (*FOXE1/TTF-2*), 14q13.3 (*NKX2/TTF-1*), 2q35, 8p12 ...

Données épidémiologiques (1)



Près de 5000 cas de cancer de la thyroïde diagnostiqués entre 1986 et 2002 dans les 4 régions les plus contaminées

Table 4. Number of cases of thyroid cancer diagnosed between 1986 and 2002, by country and age at exposure.

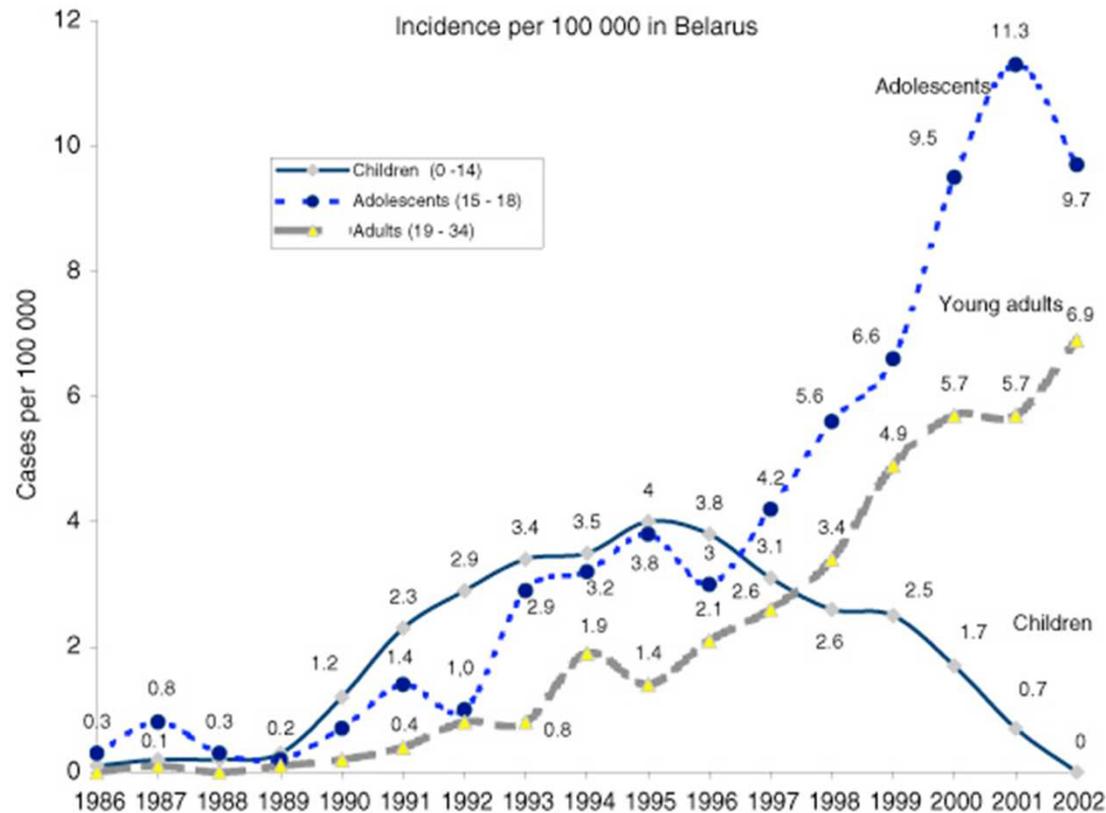
Age at exposure (years)	Number of cases			
	Belarus ^a	Russian Federation (4 most contaminated regions) ^b	Ukraine ^c	Total
<15	1711	349	1 762	3822
15–17	299	134	582	1015
Total	2010	483	2 344	4837
Population aged less than 15 years in 1986	2 300 000	1 100 000	11 000 000	14 400 000

^a Cancer Registry of Belarus, 2006.

^b Cancer subregistry of the Russian National Medical and Dosimetric Registry, 2006.

^c Cancer Registry of Ukraine, 2006.

Incidence des CPT après 1986 (Belarus)



- **Des variations inter-individus** en réponse à la dose de radiation reçue sont observées.

Données épidémiologiques (2)

- ✓ Les régions contaminées sont connues pour être carencées en iode
- ✓ Population exposée à de faibles doses de manière prolongée et exposée à un mélange de rayonnements ionisants externes et internes (inhalation et ingestion d' ^{131}I)
 - Doses moyennes : qq dizaines de Gy ; doses max : plusieurs dizaines de Gy
 - Les doses varient avec l'âge au moment de l'accident, le niveau de contamination du sol, la source et la quantité de lait consommé

ETUDE CAS-TEMOINS (Cardis *et al.* JNCI 2005) :

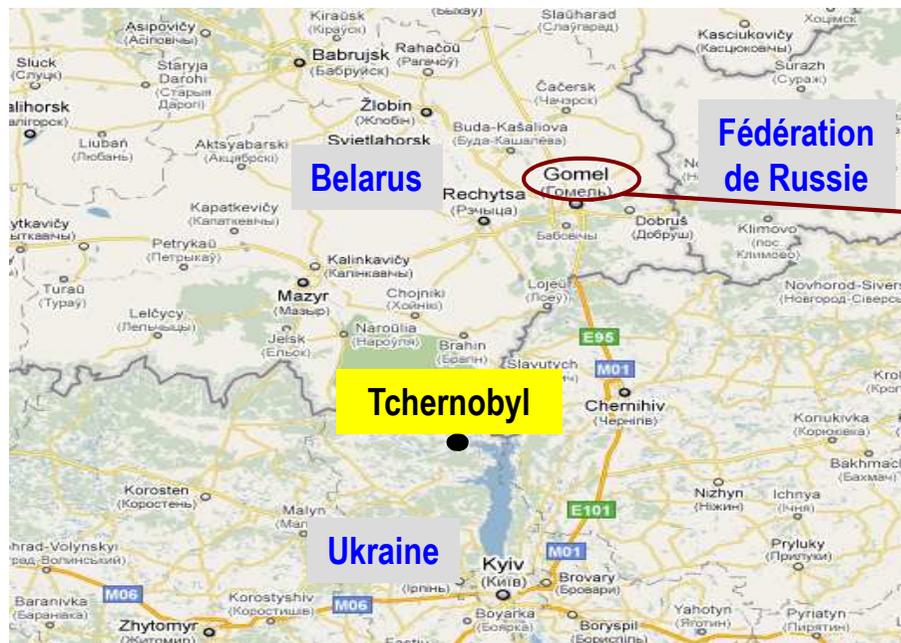
- 276 cas (entre 1992 et 1998) et 1300 témoins
- reconstruction des doses d' ^{131}I , d'irradiation externe, d'isotopes de l'iode à vie courte et de radioéléments à vie longue
- **Les enfants résidants dans les régions carencées ont un risque accru de cancer radio-induit;**
- **L'iode stable, administré des mois ou des années après l'exposition pourrait réduire le risque de développer un cancer de la thyroïde chez les sujets carencés.**

Etude d'épidémiologie génétique

- Recherche de gènes modificateurs du risque de CPT radio-induit et étude des interactions Gènes x Dose de rayonnement reçue.

Echantillon de population :

Sujets qui étaient enfants ou adolescents au moment de l'accident (= sous-groupe de l'étude cas-témoins du CIRC menée dans les régions les plus contaminées).



ADN extrait à partir d'un échantillon sanguin de 83 cas and 324 témoins

Population étudiée

	Cases	Controls	Total
Gender			
Male	35 (42%)	127 (39%)	162
Female	48 (58%)	197 (61%)	245
Age at exposure			
<1 y	9 (11%)	73 (22.5%)	82
1-1.9 y	14 (17%)	46 (14%)	60
2-2.9 y	9 (11%)	40 (12%)	49
3-3.9 y	17 (20%)	40 (12%)	57
4-4.9 y	9 (11%)	43 (13%)	52
5-5.9 y	4 (5%)	18 (5.5%)	22
6 - 9 y	13 (16%)	35 (11%)	48
10-14 y	8 (10%)	29 (10%)	37
Age at Diagnosis			
<11.5 y	24 (29%)	119 (37%)	143
11.5-14.9 y	33 (40%)	120 (37%)	153
15+ y	26 (31%)	85 (26%)	111

- Appariement sur l'âge, le sexe et le lieu de résidence au moment de l'accident.

Age au diagnostic	Critère appariement
>18 mois	1 an
12-18 mois	6 mois
<12 mois	1 mois

- 70% des cas diagnostiqués avant 15 ans (le plus âgé : 25 ans).
- Période de latence courte
- Histologie :
 - La quasi-totalité des tumeurs sont des CPT radio-induits
 - Tumeurs plus agressives
 - Altérations somatiques : réarrangements RET-PTC3

I. Etude de polymorphismes (SNPs) candidats

A.

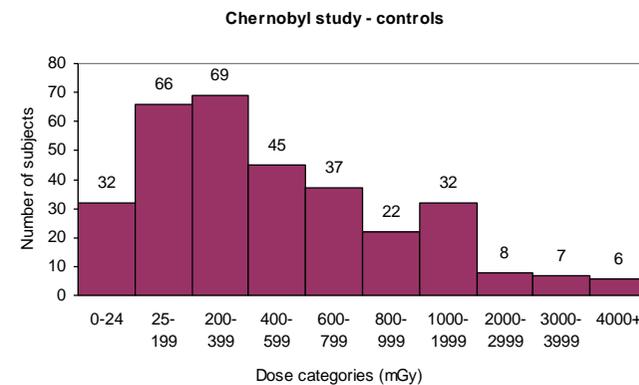
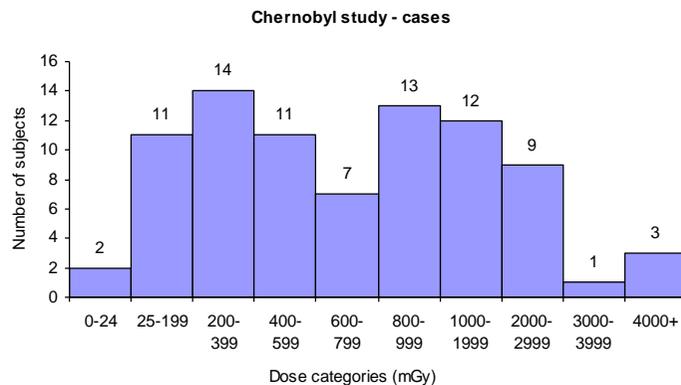
SNP	Gene/locus	MAF* Cauc.	Evidence from the literature
rs965513	9q22.33 (FOXE1)	0.37	Icelandic population (GWAS on 378 cases and 37,196 controls). OR=1.73 P=10 ⁻¹³ Population from contaminated Chernobyl region (GWAS on 401 cases and 620 controls). OR=1.76 P=10 ⁻⁹
rs944289	14q13.3 (NKX2-1)	0.40	Icelandic population (GWAS on 378 cases and 37,196 controls). OR=1.48 P=10 ⁻⁷
rs2910164	Pre-miR-146a	0.24	Caucasian population (candidate SNP, 608 cases and 901 controls + functional study). OR= 1.62 P=10 ⁻⁶
rs2145418	1p12-13	0.20	Spanish population (candidate SNP, 227 cases and 202 controls). OR= 5.0 P<0.0001
rs4658973	WDR3	0.43	Spanish population (candidate SNP, 402 cases and 479 controls). OR= 0.4 P<0.0001
rs1801516	ATM (D1853N)	0.19	Population from contaminated Chernobyl region (candidate SNP, 255 cases and 596 controls). OR=0.69 P=0.03

B.

SNP	Gene/locus	MAF* Cauc.	Evidence from the literature
rs965513	9q22.33 (FOXE1)	0.37	Associated with low concentration of TSH Associated with low concentration of T ₄ and high concentration of T ₃
rs944289	14q13.3 (NKX2-1)	0.40	Associated with low concentration of TSH
rs4903957	TSHR	0.32	Associated with the circulating TSH
rs2252696	TG (8q24)	0.57	Associated with the circulating TSH in Sardinian population Association between locus 8q24 and familial PTC
rs4704397	PDE8B	0.41	Associated with the circulating TSH in Sardinian population

Reconstruction individuelle des doses d'¹³¹I

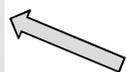
- Lieu de résidence, habitudes alimentaires (obtenus à partir du questionnaire épi)
- information sur la contamination de l'environnement pour chaque zone géographique



- Estimation du risque relatif de CPT pour les porteurs des polymorphismes (SNPs) :
 - prise en compte de la dose dans le modèle : pour les doses <1 Gy, $(1+dose)^\beta \approx 1+\beta$ dose
 - analyse principale sur les SNPs en excluant les sujets avec dose >2.0 Gy
(tests de sensibilité en gardant les sujets avec dose >2 Gy et aussi en excluant ceux avec dose <1.5 et <1.0 Gy)

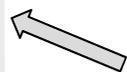
Association entre le risque de CPT et des SNPs dans *FOXE1* et *ATM*

Proposed to be the functional SNP through the recruitment of the Upstream Stimulatory Factors USF1 and USF2.



Gene	SNP	Nucl. change	Log-additive model	
			OR _{adj} [CI 95 %]	LR test
FOXE1 upstream	rs965513	G>A	1.40 [0.93, 2.09]	0.11
FOXE1 promoter	rs1867277	G>A	1.55 [1.03, 2.34]	0.035
ATM upstream	rs170548	T>G	1.66 [0.96, 2.87]	0.063
ATM upstream	rs3092993	A>C	0.34 [0.13, 0.89]	0.013
ATM 5'UTR	rs189037	G>A	1.00 [0.66, 1.49]	0.99
ATM intron 20	rs664677	T>C	0.99 [0.66, 1.50]	0.97
ATM P1526P	rs1800889	T>C	0.95 [0.40, 2.29]	0.92
ATM D1853N	rs1801516	G>A	0.34 [0.16, 0.73]	0.0017
ATM intron 61	rs664143	C>T	1.03 [0.69, 1.55]	0.88
ATM 3'UTR	rs4585	T>G	0.89 [0.52, 1.52]	0.67

Ataxia
Telangiectasia-
Mutated gene.



A-T patients are at increased risk of cancer and hyper-sensitive to radiation exposure.

Effet joint des rayonnements et des SNPs

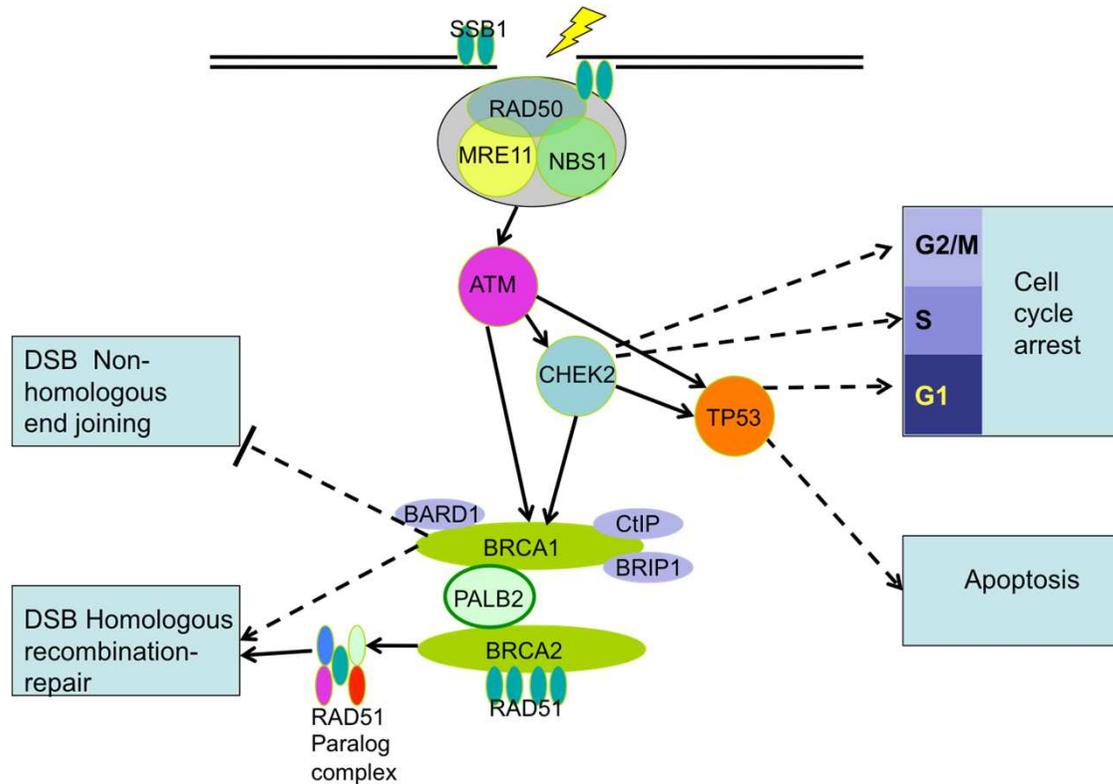
Doses < 2Gray	Genetic model	ATM (D1853N)	FOXE1 (5'UTR)	
Radiation doses	Additive	0.0017	0.035	LR test P value
vs.				
Radiation doses and Genetics	Dominant	0.00098	0.019	

- Ajouter la composante génétique dans le modèle permet de mieux expliquer le risque de CPT.

Doses < 2Gray	Genetic model	ATM (D1853N)	FOXE1 (5'UTR)	
Radiation doses and Genetics	Additive	0.45	0.53	LR test P value
vs.				
Radiation doses and Genetics and interaction factor	Dominant	0.79	0.51	

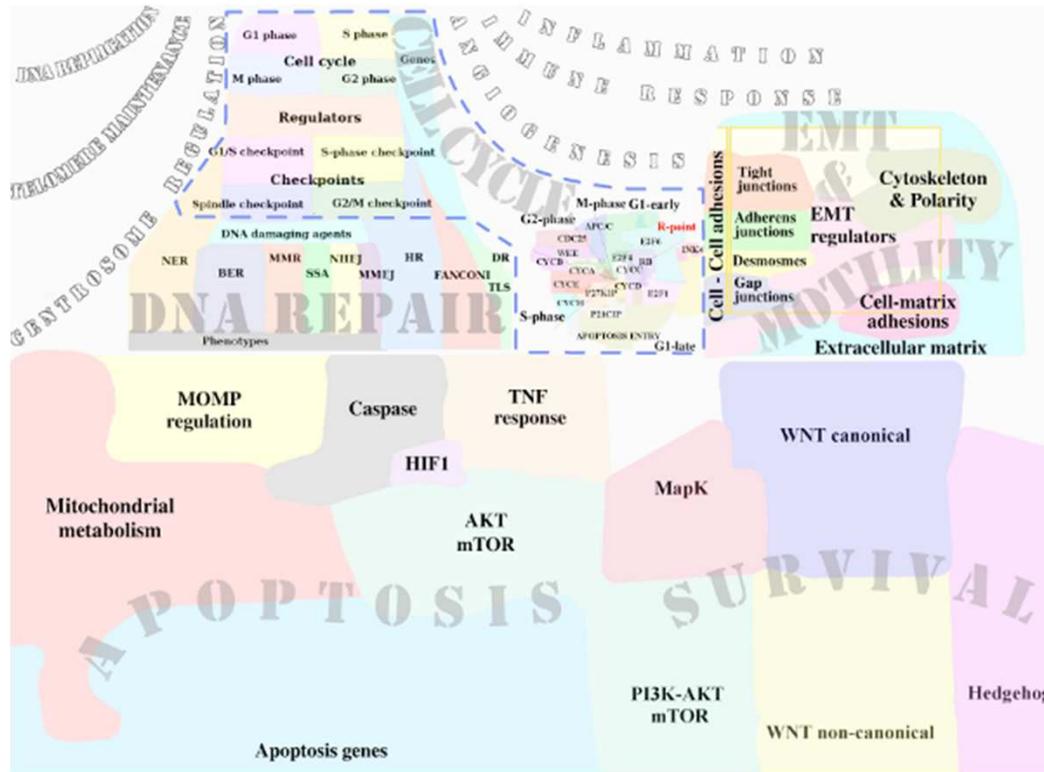
- La dose de rayonnement et les facteurs génétiques agissent de façon indépendante.

Rôle d'ATM dans la réparation des dommages de l'ADN



- Mutated in the recessive cancer-prone disease ataxia telangiectasia (radiation sensitivity).
- A subset of rare coding variants are associated with an increased risk of breast cancer.

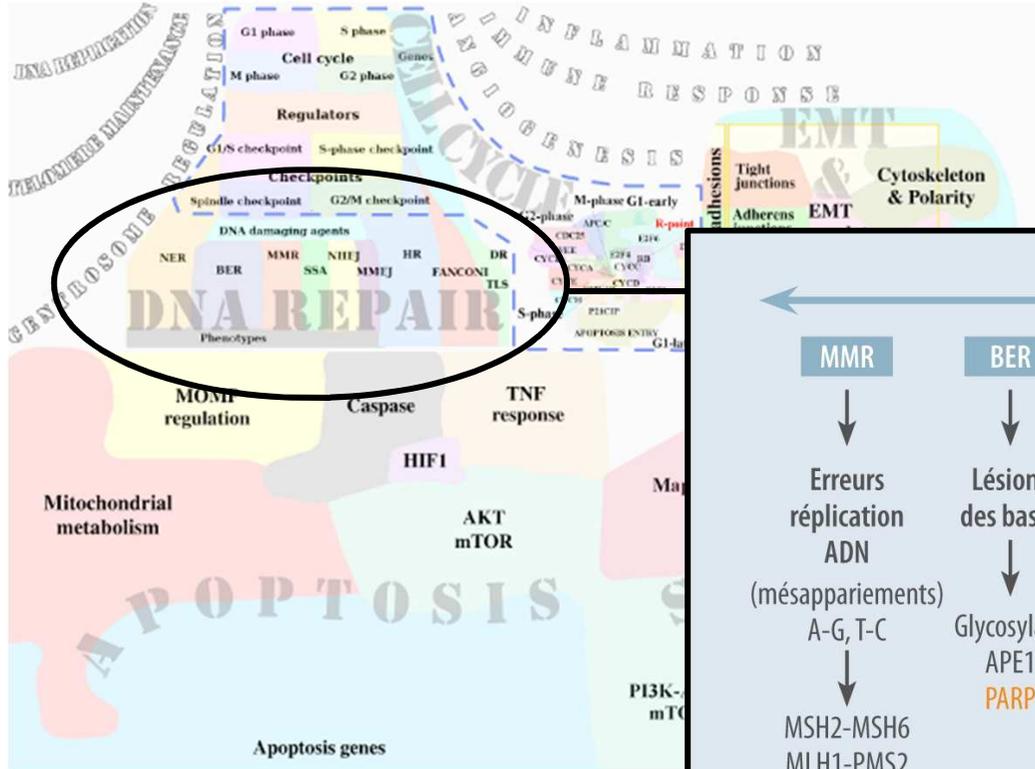
II. Etude des voies de réparation des dommages de l'ADN



Atlas of Cancer Signalling Networks

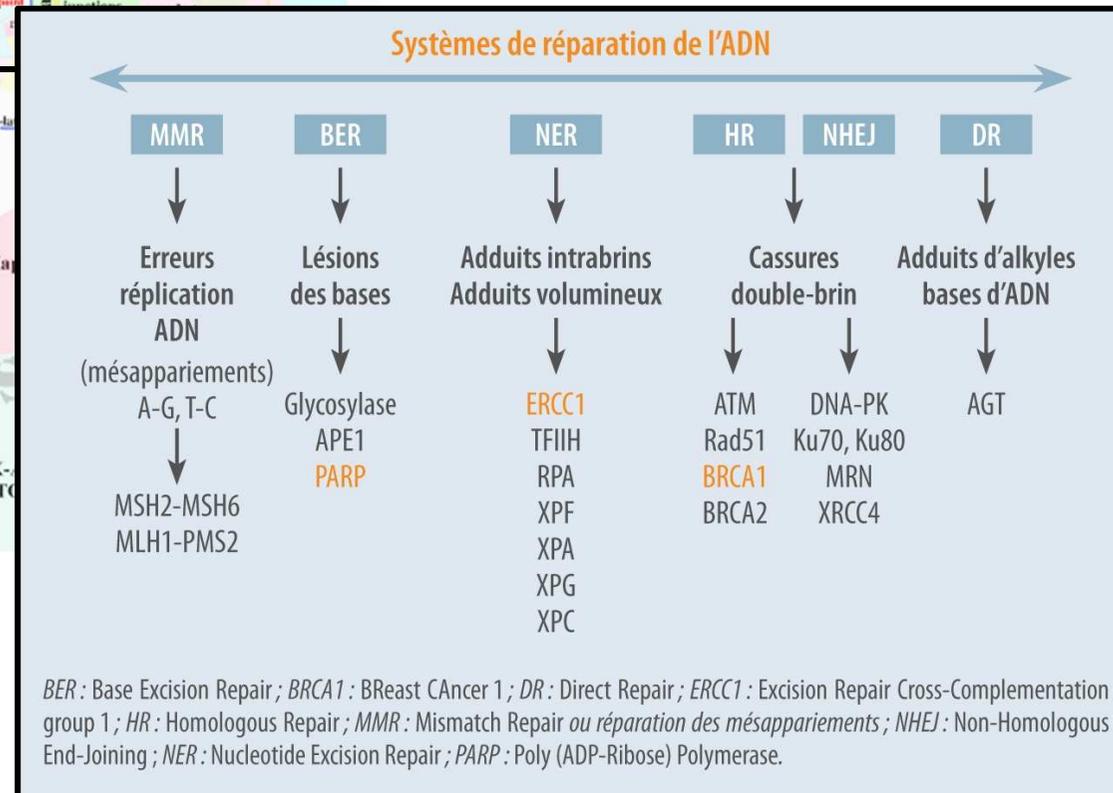
<https://acsncurie.fr/>

II. Etude des voies de réparation des dommages de l'ADN



Atlas of Cancer Signalling Networks

<https://acs.n.curie.fr/>



Sélection des SNPs

- ✓ Données de génotypage disponibles pour 1,421 SNPs localisés dans 421 gènes du cancer (puce Illumina « Cancer SNP Panel array » du Projet SNP500Cancer du NCI)
 - ✓ Sélection de 178 SNPs localisés dans 43 gènes de la réparation de l'ADN (d'après ACSN)
 - ✓ Contrôles qualité :
 - 22 échantillons exclus (call rate <90%)
 - 34 SNPs exclus (call rate <90%)
 - 3 SNPs exclus (HWE $p < 0.001$)
- **Analyse de 141 SNPs et 329 sujets (75 cas + 254 témoins)**

Résultats

Gene	DNA repair module	SNP	Nucl. change	Location relative to gene	MAF		Cases vs. Controls	
					Cases	Control s	OR _{per allele} (95%CI)	P-value Corr.
<i>MGMT</i>	DR	rs2296675	A>G	Intronic	0.21	0.10	2.54 (1.50, 4.30)	0.00055
<i>XRCC5</i>	NHEJ	rs1051685	A>G	3'UTR	0.09	0.16	0.39 (0.20, 0.78)	0.0078
<i>ERCC5</i>	BER, NER	rs1047768	C>T	Coding (p.His46His)	0.49	0.39	1.58 (1.06, 2.35)	0.024
<i>PARP1</i>	BER, HR, NHEJ	rs747659	C>T	intergenic	0.12	0.18	0.49 (0.26, 0.94)	0.032
<i>PCNA</i>	BER, MMR, NER, TLS	rs17349	C>T	5'UTR	0.14	0.08	1.98 (1.07, 3.68)	0.031
<i>PMS2</i>	MMR	rs3735295	G>A	Intronic	0.12	0.19	0.52 (0.28, 0.97)	0.040
<i>OGG1</i>	BER	rs125701	G>A	Intergenic	0.27	0.21	1.65 (1.01, 2.68)	0.044

Résumé

- ✓ Pas d'association avec *NKX2/TTF-1* (14q13) impliqué dans les CPT « sporadiques »
- ✓ Réplication des associations du CPT radio-induit avec :
 - **FOXE1/TTF-2**, déterminant génétique majeur du CPT, impliqué dans la différenciation des thyrocytes (cf Takahashi et coll. Hum Mol Genet 2009)
 - **ATM** : réparation des cassures double-brin de l'ADN (cf Akulevich et coll. Endocrin Relat Cancer 2009)
- ✓ Identification de nouveaux gènes impliqués dans différents mécanismes de réparation de l'ADN: **MGMT***, *XRCC5*, *ERCC5*, *PARP1*, *PCNA*, *PMS2*, *OGG1*

* Le SNP rs2296675 dans *MGMT* a été associé au risque de cancer (tous sites confondus) dans une méta-analyse (Alberg et coll, Carcinogenesis 2013):

$$O_{\text{per allele}} = 1.30, 95\%CI 1.19-1.43 ; P\text{-value: } 4.1 \times 10^{-8}$$

* Corrélation entre méthylation du promoteur, expression de *MGMT* et instabilité génomique dans les carcinomes de la thyroïde (Santos BMC Cancer 2013)

Remerciements

IARC, Genetic Cancer Susceptibility

Florence Le Calvez-Kelm
Nivonirina Robinot
Geoffroy Durand
Amélie Chabrier
Jocelyne Michelon

IARC, Radiation

Ausrele Kesminiene
Monika Moissonnier
Vanessa Tenet
Isabelle Deltour

IARC, Biostatistics

Graham Byrnes

IARC, Biobank

Christophe Lallemand

Centre Léon Bérard, Lyon

Francesca Damiola

U900, Institut Curie, Paris

Christine Lonjou

CREAL, Barcelona

Elisabeth Cardis

Republican Research Center of Radiation Medicine & Human Ecology, Gomel

Vladimir Masyakin

RSPC MT, Minsk

Irina Malakhova