

図2 ケロイドに関連する3領域

菱形の点はマーカー SNP、丸点は Tag SNPs、横軸はゲノム上の位置、縦軸は P 値の $-\log$ 値を表す。下段は D' に基づく LD (連鎖不平衡) ブロックを示し、紫の点線はマーカー SNP の位置、黒い点線は疾患感受性領域の境界を表す。矢印は各領域内に存在する EST あるいは遺伝子を表す。

(文献 3 より改変引用)

(カラーグラビア p3-5 写真 3 参照)

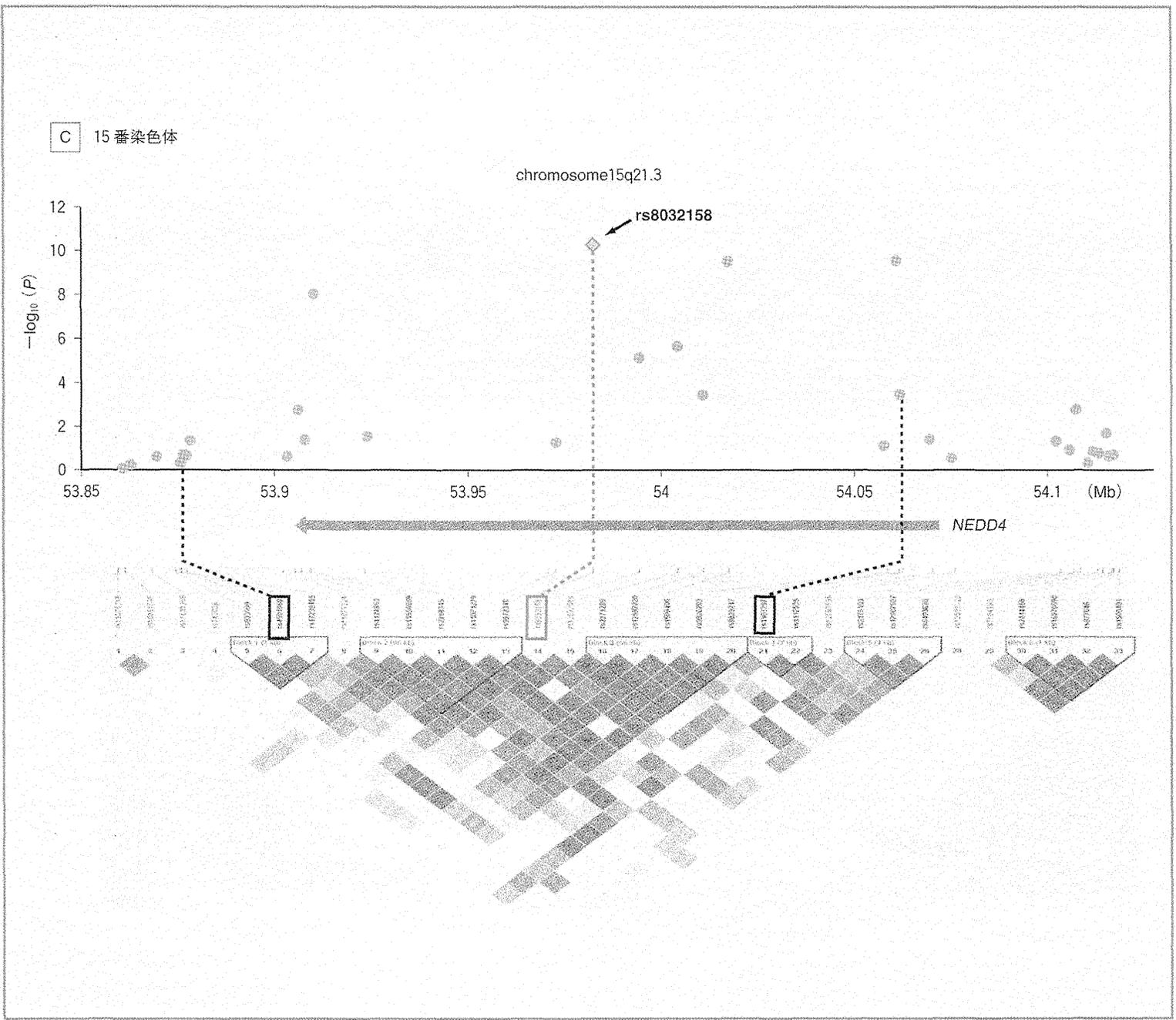


図2 ケロイドに関連する3領域

rs1511412 のあいだには中等度の連鎖不平衡が認められるが ($D' = 0.89$, $r^2 = 0.56$)、両 SNP 間の効果をロジスティック回帰分析 (logistic regression analysis) にて検討した結果、この2つの SNPs はそれぞれ独立した2つの領域に存在しているものと考えられた。rs940187 を含む領域には blepharophimosis, epicanthus inversus and ptosis, candidate 1 (BPESCI) という non-coding RNA の存在が⁹⁾、rs1511412 を含む領域には forkhead box L2 (FOXL2) 遺伝子と proline rich 23B (PRR23B) 遺伝子という2つの遺伝子が報告されている。FOXL2 は性腺ホルモン産生に深く関与していることが知られており¹⁰⁾、ケロイドは思春期に発症あるいは増悪すること、閉経後に消退するといった報告⁸⁾があることから、FOXL2 が女性ホルモンの産生を上昇させ、ケロイドの形成に関与している可能性が考えられる。

3 15 番染色体

15 番染色体は rs8032158 を含む 185 kb の連鎖不平衡領域 (53.87-54.06 Mb) との相関があり、同領域内には neural precursor cell expressed, developmentally down-regulated 4 (NEDD4) 遺伝子の存在が報告されている (図 2C)。NEDD4 遺伝子は E3 ユビキチンリガーゼの一種であり、PTEN や p27 のユビキチン化を行うことで、その安定性を制御していることが報告されており¹¹⁾、細胞増殖促進

や接触阻害の異常を引き起こし、また、細胞外マトリックスであるフィブロネクチンや I 型コラーゲンの産生促進に働く可能性が示唆されている。

おわりに

GWAS を用いることで新規のケロイド疾患感受性候補遺伝子の同定に成功した。今回の結果は、ケロイドのリスク予測システムの構築やケロイド発生機序の解明への寄与が期待できる。しかし、感受性遺伝子の機能とケロイドへの関与を解明し、新たな治療標的として臨床応用するためには、これらの遺伝子のさらなる機能解析が必要と考えられる。

文 献

- 1) Shih B, Bayat A : Genetics of keloid scarring. Arch Dermatol Res 302 : 319-339, 2010
- 2) Kruglyak L : Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. Nat Genet 22 : 139-144, 1999
- 3) Nakashima M, Chung S, Takahashi A, et al : A genome-wide association study identifies four susceptibility loci for keloid in the Japanese population. Nat Genet 42 : 768-771, 2010
- 4) Nakamura Y : The BioBank Japan Project. Clin Adv Hematol Oncol 5 : 696-697, 2007
- 5) De Baere E, Fukushima Y, Small K, et al : Identification of BPESCI, a novel gene disrupted by a balanced chromosomal translocation, t(3;4)

(q23;p15.2), in a patient with BPES. Genomics 68 : 296-304, 2000

- 6) Ellsworth BS, Burns AT, Escudero KW, et al : The gonadotropin releasing hormone (GnRH) receptor activating sequence (GRAS) is a composite regulatory element that interacts with multiple classes of transcription factors including Smads, AP-1 and a forkhead DNA binding protein. Mol Cell Endocrinol 206 : 93-111, 2003
- 7) Pisarska MD, Bae J, Klein C, Hsueh AJ : Forkhead 12 is expressed in the ovary and represses the promoter activity of the steroidogenic acute regulatory gene. Endocrinology 145 : 3424-3433, 2004
- 8) Moustafa MF, Abdel-Fattah MA, Abdel-Fattah DC : Presumptive evidence of the effect of pregnancy estrogens on keloid growth. Case report. Plast Reconstr Surg 56 : 450-453, 1975
- 9) Wang, X, Trotman LC, Koppie T, et al : NEDD4-1 is a proto-oncogenic ubiquitin ligase for PTEN. Cell 128 : 129-139, 2007
- 10) Fouladkou F, Landry T, Kawabe H, et al : The ubiquitin ligase Nedd4-1 is dispensable for the regulation of PTEN stability and localization. Proc Natl Acad Sci USA 105 : 8585-8590, 2008
- 11) Chung S, Nakashima M, Zembutsu H, Nakamura Y : Possible involvement of NEDD4 in keloid formation : its critical role in fibroblast proliferation and collagen production. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci 87 : 563-573, 2011

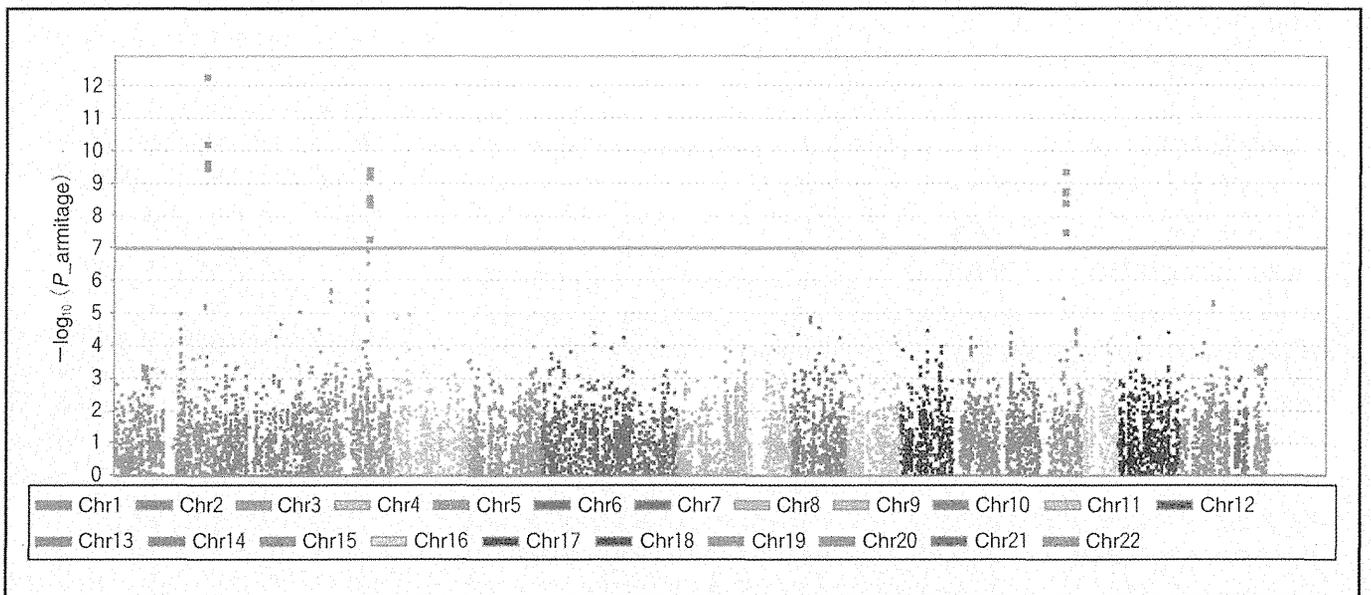


写真2 ケロイドのゲノムワイド関連解析の結果

⇒ p67

胆道癌, 膵癌に対する個別化治療の新展開

ゲノムワイド関連解析による
ジェムシタビン副作用関連遺伝子の同定

前佛 均¹⁾・清谷 一馬²⁾・宇野 智子³⁾・木村 康利³⁾
 蒔田 泰誠²⁾・光畑 直喜⁴⁾・伊奈志乃美⁵⁾・鬼原 史³⁾
 山上 裕機⁵⁾・平田 公一³⁾・中村 祐輔¹⁾

要約：抗癌剤による副作用発現の有無は多くの要因が関係して規定されているものと考えられるが、遺伝的要因もその重要な因子の一つと考えられている。われわれはジェムシタビンにより引き起こされる重篤な骨髄抑制と関連する遺伝子多型（一塩基多型：SNP）を同定するため、164例のジェムザール単剤治療症例を用いてゲノムワイド関連解析および再現性確認のための replication study を行った。その結果ジェムシタビンによる副作用と強い関連をもつ可能性の高い四つの SNP を含む遺伝領域を同定した（*DAPKI* 上の rs11141915： $P=1.27 \times 10^{-6}$ ，2q12 に存在する rs1901440： $P=3.11 \times 10^{-6}$ ，*PDE4B* 上の rs12046844： $P=4.56 \times 10^{-5}$ ，3q29 に存在する rs11719165： $P=5.98 \times 10^{-5}$ ）。同定された四つの SNP を用いて副作用リスクに働くと考えられる genotype の合計数に応じて各症例を点数化したところ、点数の高い症例では低い症例に比べて有意に副作用の発現率が高くなることが示された。今回同定された四つの遺伝子多型を用いたスコアリングシステムはジェムザールによる副作用の投与前診断に有用となる可能性が示された。

Key words：ジェムシタビン，骨髄抑制，ゲノムワイド関連解析，遺伝子多型

はじめに

現在胆膵悪性疾患をはじめ多くの悪性腫瘍に対する治療薬として適応となっているジェムシタビン（ジェムザール[®]）は骨髄抑制をはじめ、有害事象の発生頻度が決して少なくない薬剤であるが、その副作用の発

現を規定する遺伝的要因についてはいまだ十分に解明されていないのが現状である。生命の設計図とも言われる人の遺伝情報（ゲノム配列）は同じ人間といえども個人間でわずかな違いが存在することが知られており、遺伝子多型（一塩基多型）と呼ばれる塩基配列の個人差を比較することで副作用の発現と関係する遺伝子を同定しようとする解析が進んできており、一部は日常臨床に應用されている。近年、ゲノム全体にわたり一塩基多型を genotyping する技術が進歩し、ゲノムワイド関連解析（genome-wide association study, GWAS：「ジーワス」と呼ばれることが多い）という方法によりこれまで副作用との関連が全く知られていなかった新たな副作用関連遺伝子を発見する試みがなされるようになってきた。ジェムシタビンは SLC28A1, SLC28A3, SLC 29A1 などの薬剤輸送タンパクを介して血中から細胞内に入り¹⁻³⁾、deoxycyti-

A Genome-wide Association Study Identifies Four Genetic Markers for Hematological Toxicities in Cancer Patients Receiving Gemcitabine Therapy
Hitoshi Zembutsu et al

- 1) 東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター
(〒113-0033 文京区本郷 7-3-1)
- 2) 理化学研究所ゲノム医科学研究センター
- 3) 札幌医科大学医学部外科学第一講座
- 4) 呉共済病院泌尿器科
- 5) 和歌山県立医科大学外科学第二講座

dine kinase (dCK), cytidine deaminase (CDA) などの酵素により代謝を受けることが知られていることから⁴⁾, これらの既知遺伝子上の多型と副作用との関係を調べた報告はいくつか存在するが, 現在のところ副作用と強い関連を示す遺伝子多型は同定されていない。本研究はゲノムワイド関連解析を通じジェムザールによる副作用と強い関係を有する遺伝子多型を同定することで, 副作用予測診断へ応用することを目的として行われた⁵⁾。

I. ジェムシタピンによる有害事象

ジェムシタピン単剤による抗腫瘍治療を受けた174症例を対象に解析を行った(表1)。174例中 grade 3以上の白血球/好中球減少症をきたした54例を case, 副作用を示さなかった120例を control とし case-control study を行った。解析は21例の case および58例の control をゲノムワイド関連解析(GWAS)に用い, 33例の case および62例の control をGWAS結果の再現性確認のための replication study に用いた。case-control 間で有意な性差を認めず ($P>0.64$), 年齢分布にも有意差を認めなかった ($P>0.53$)。疾患別では, 半分以上の症例が肺癌(56.9%)でその他肺癌(20.1%), 胆管癌(18.4%)などであった。GWASで用いた症例と, 再現性確認のための replication study で用いたサンプル間で疾患分布に有意な差を認めなかった。

II. ゲノムワイド関連解析によるジェムシタピン副作用関連候補遺伝子の同定

ジェムシタピン投与により骨髄抑制 (>grade 3) が認められた21例と, 投与により有害事象を認めなかった58例を用いて, ゲノム全体にわたり(約610,000 SNP) 遺伝子多型をスクリーニングした。得られた各症例の610,000 SNP の genotype 情報を用いて case-control 関連解析(Fisherの正確検定)を行った。その結果, もっとも副作用と強い関連を示した遺伝子多型(SNP)は $P=0.000006690$ を示した。図1にゲノム全体にわたるマーカー SNP とジェムシタピン副作用との関連の強さをグラフで表したもの(マンハッタンプロット)を示すが, ジェムシタピンの副作用と関係する SNP はゲノム全体にわたり散在している可能性を示している。

III. ジェムシタピン副作用関連候補遺伝子の replication study

ゲノムワイド関連解析の結果の再現性を確認するために, 有意差上位100 SNP について33例の case および62例の control を用いて関連解析を行った。100 SNP に対する replication study の結果 $P<0.05$ を示す4 SNP が同定された(表2)。4 SNP とジェムシタピンによる骨髄抑制との関連はそれぞれ9番染色体上の rs11141915 が $P=2.77\times 10^{-3}$, 2番染色体上の rs1901440 は $P=1.82\times 10^{-2}$, 1番染色体上の rs12046844 は $P=3.09\times 10^{-2}$, 3番染色体上の rs11719165 は $P=4.61\times 10^{-2}$ を示した。さらにこの4 SNP についてGWASで用いた case および control 症例をそれぞれ加えて解析した結果, いずれもゲノムワイド有意水準である 1.07×10^{-7} に達する SNP は存在しなかったものの, 9番染色体上の rs11141915 は $P=1.27\times 10^{-6}$, オッズ比4.10 (95% CI: 2.21-7.62), 2番染色体上の rs1901440 は $P=3.11\times 10^{-6}$, オッズ比34.00 (95% CI: 4.29-269.48), 1番染色体上の rs12046844 は $P=4.56\times 10^{-5}$, オッズ比4.13 (95% CI: 2.10-8.14), 3番染色体上の rs11719165 は $P=5.98\times 10^{-5}$, オッズ比2.60 (95% CI: 1.63-4.14) を示し, この4 SNP を含む遺伝的領域はジェムシタピンによる骨髄抑制と何らかの関連を示す結果となった。また, 4遺伝領域の中で9番染色体上の領域については *DAPKI*, 1番染色体上の領域については *PDE4B* という既知の遺伝子を含んでいた。

IV. 遺伝子多型情報を用いたジェムシタピンによる骨髄抑制予測診断モデル

ジェムシタピンによる骨髄抑制と関連が示唆された4 SNP は multiple logistic regression 解析の結果それぞれ独立した副作用予測因子であったため, この4 SNP を用いた骨髄抑制予測診断システムについて検討を行った。四つの SNP について骨髄抑制リスクに働くと考えられる genotype を持っている場合, それぞれの SNP について1点を与え, もっていない場合には0点として各症例合計点数別に骨髄抑制発現群(case)と副作用を認めなかった群(control)で分布を調べた結果が表3および図2である。スコア0または1を示した113例中骨髄抑制群は11.5%, スコア2については60.9%, スコア3については86.7%が骨髄抑制発現群が占めており, コントロール群に比べ有意に高いスコ

表 1 Patients' characteristics

Stage	Platform	Source	No. samples	Female (%)	Age (mean ± SD)	Cancer types, <i>N</i>			
						Pancreatic	Lung	Bile duct	Others
GWAS									
ADR	Illumina HumanHap610-Quad	BioBank Japan	21	45.0	64.8 ± 10.9	12	6	1	2
non-ADR	Illumina HumanHap610-Quad	BioBank Japan	58	41.8	64.0 ± 8.7	23	19	10	1
Replication study									
ADR	Invader assay	BioBank Japan, Sapporo Medical University, Wakayama Medical University, Kure Kyosai Hospital	33	35.5	64.2 ± 9.9	28	3	4	3
non-ADR	Invader assay	BioBank Japan, Sapporo Medical University, Wakayama Medical University, Kure Kyosai Hospital	62	30.2	64.9 ± 9.0	36	7	17	2

ADR : adverse drug events

表 2 Summary of association results of GWAS and replication study

SNP	Chromosome	Chromosome location*	Gene	Allele 1/2 (risk)	Stage	ADR				non-ADR				<i>P</i> value			False discovery rate	Odds ratio (95%CI) †
						11	12	22	RAF	11	12	22	RAF	Allelic	Dominant	Recessive		
rs11141915	9	89425614	DAPKI	T/G (T)	GWAS	18	3	0	0.93	21	30	7	0.62	1.27 × 10 ⁻⁴	1.04 × 10 ⁻⁴	1.80 × 10 ⁻¹	0.185	7.94 (2.32-27.25)
					Follow up	22	11	0	0.83	23	31	8	0.62	2.77 × 10 ⁻³	9.23 × 10 ⁻³	4.73 × 10 ⁻²		3.05 (1.45-6.41)
					Combined	40	14	0	0.87	44	61	15	0.62	1.27 × 10 ⁻⁶	6.91 × 10 ⁻⁶	6.11 × 10 ⁻³		4.10 (2.21-7.62)
rs1901440	2	134154429	No gene	A/C (C)	GWAS	11	3	7	0.40	31	27	0	0.23	4.42 × 10 ⁻²	1.00 × 10 ⁻⁰	4.01 × 10 ⁻⁵	0.655	60.52 (5.45-632.87)
					Follow up	20	8	5	0.27	42	19	1	0.17	1.30 × 10 ⁻¹	5.05 × 10 ⁻¹	1.82 × 10 ⁻²		10.89 (1.22-97.64)
					Combined	31	11	12	0.32	73	46	1	0.20	1.44 × 10 ⁻²	7.39 × 10 ⁻¹	3.11 × 10 ⁻⁶		34.00 (4.29-269.48)
rs12046844	1	66010967	PDE4B	T/C (C)	GWAS	1	5	15	0.83	12	32	14	0.52	3.93 × 10 ⁻⁴	1.95 × 10 ⁻⁴	1.67 × 10 ⁻¹	0.545	7.86 (2.56-24.12)
					Follow up	4	10	19	0.73	7	34	21	0.61	1.50 × 10 ⁻¹	3.09 × 10 ⁻²	1.00 × 10 ⁻⁰		2.65 (1.11-6.31)
					Combined	5	15	34	0.77	19	66	35	0.57	3.05 × 10 ⁻⁴	4.56 × 10 ⁻⁵	3.43 × 10 ⁻¹		4.13 (2.10-8.14)
rs11719165	3	196067377	No gene	C/T (C)	GWAS	9	10	2	0.67	5	27	26	0.32	1.15 × 10 ⁻⁴	3.49 × 10 ⁻³	1.21 × 10 ⁻³	0.741	4.27 (2.01-9.05)
					Follow up	9	16	8	0.52	7	31	24	0.36	4.61 × 10 ⁻²	1.78 × 10 ⁻¹	8.12 × 10 ⁻²		1.87 (1.02-3.42)
					Combined	18	26	10	0.57	12	58	50	0.34	5.98 × 10 ⁻⁵	3.26 × 10 ⁻³	3.66 × 10 ⁻⁴		2.60 (1.63-4.14)

RAF, risk allele frequency : CI, confidence interval : GWAS, genome-wide association study.

*Based on NCBI 36 genome assembly.

†Odds ratios were shown for the model with minimum *P* values.

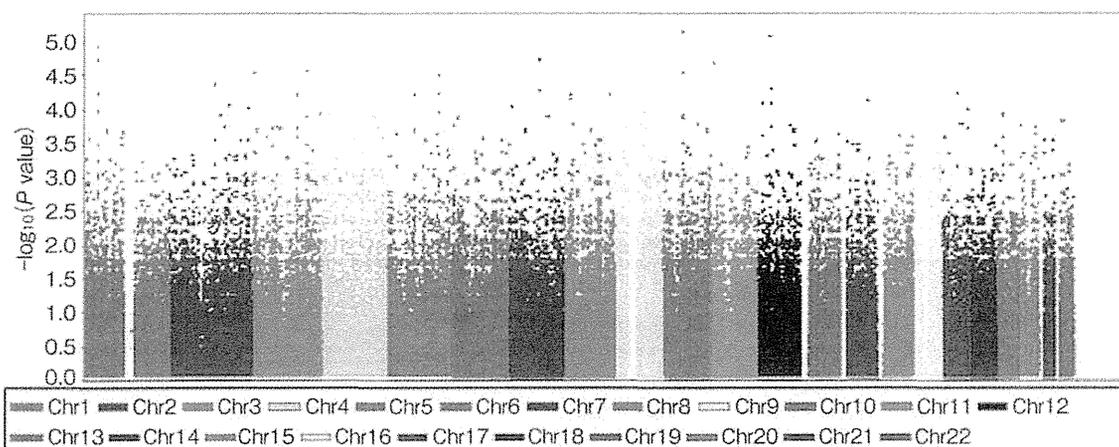


図 1 マンハッタンプロット

ゲノム全体のマーカー SNP (点) について各染色体を横軸に、ジェムシタピンによる骨髄抑制との関連の強さを縦軸に表示している。ほとんどの SNP (点) が下方に位置し関連が認められない一方で、いくつかの SNP は強い関連がある可能性が示されている。

表 3 Prediction scores of gemcitabine-induced sever leukopenia/neutropenia using rs11141915, rs1901440, rs12046844 and rs11719165

Score	ADR, N (%) (N=54)	non-ADR, N (%) (N=120)	Odds ratio (95% CI) P value	General control, N (%) (N=934)
0	4 (7.4%)	50 (41.7%)	1.00 (reference)	271 (29.0%)
1	9 (16.7%)	50 (41.7%)		423 (45.3%)
2	28 (51.9%)	18 (15.0%)	11.97 (5.23-27.37) 6.25×10^{-10}	194 (20.8%)
3	13 (24.1%)	2 (1.7%)	50.00 (10.13-246.90) 4.13×10^{-9}	46 (4.9%)
		(trend test)	9.91 (5.56-17.67) 1.31×10^{-14}	

CI, confidence interval.

アを示すことが確認された (trend test $P=1.31 \times 10^{-14}$)。さらに日本人一般集団をこのスコアリングシステムにあてはめた場合の分布を検討した結果、0 点が 29.0%、1 点が 45.3%、2 点が 20.8%、3 点が 4.9% になることが示され、このスコアリングシステムをジェムシタピン治療開始前に応用することで骨髄抑制の危険性が少なくより安全かつ適切な治療選択に有用となる可能性が示された (図 2)。

V. 考 察

われわれはゲノムワイド関連解析によりジェムシタピンによる骨髄抑制と深い関係があると考えられる遺伝領域として、9 番、2 番、1 番、3 番染色体上の遺伝子多型 (SNP) rs11141915, rs1901440, rs12046844, and rs11719165 をそれぞれ同定した。さらにこの四つの遺伝子多型を組み合わせることで解析することによりジェムシタピンによる骨髄抑制をより正確に予測できる可

能性が示唆された。

本研究において rs11141915 は最もジェムシタピンによる骨髄抑制と強い関連 ($P=0.00000127$, オッズ比 4.10), を示したが、この SNP は *DAPKI* 遺伝子の 3 番目のイントロン上に存在する。*DAPKI* 遺伝子はリン酸化酵素の一種で骨髄や末梢血細胞において発現していることが知られている。この遺伝子はジェムシタピンを含む抗癌剤に対する耐性と何らかの関係があることが指摘されており、機序は不明だがジェムシタピンによる骨髄抑制を引き起こす上で重要な役割を担っている可能性が高いものと考えられる⁶⁾。

また、rs12046844 はジェムシタピンによる骨髄抑制との関連が $P=0.0000456$, オッズ比 4.13 であったが、この SNP を含む領域には *PDE4B* 遺伝子が含まれていた。*PDE4B* 遺伝子は加水分解酵素の一種であるが、好中球や単球などで機能しており炎症細胞の活性調節を担っている。また肺癌においてジェムシタピン耐性に関係していることが指摘されていることも考慮する

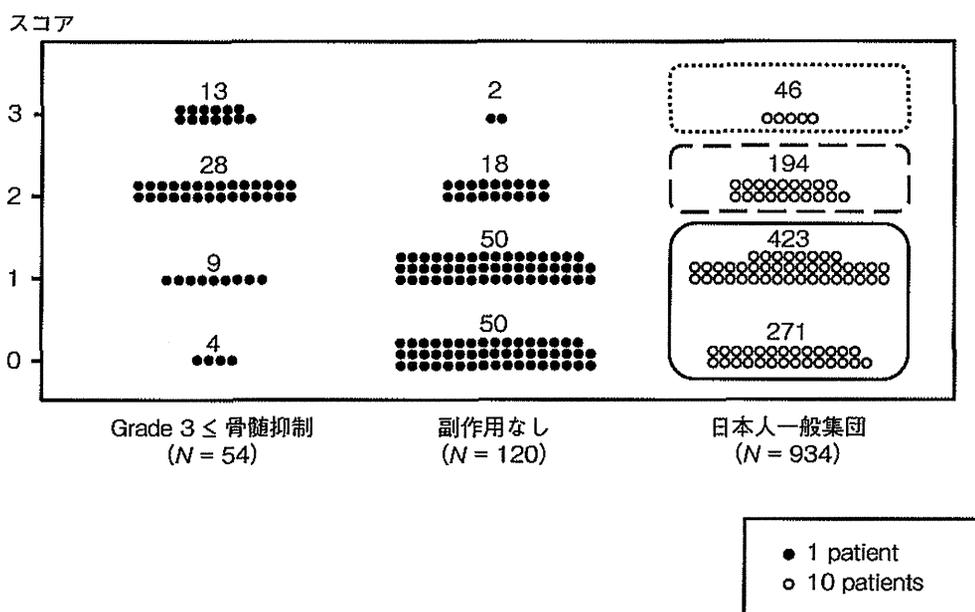


図 2 四つの遺伝情報を用いたジェムシタピン骨髄抑制予測診断システム
4 SNP について骨髄抑制リスクジェノタイプの合計数に応じて各症例をスコアリングした
場合の分布図。

と、*PDE4B* はジェムシタピンによる骨髄抑制において重要な役割を担っている可能性が考えられる。

ジェムシタピンが体内に入り細胞に到達し細胞内で代謝を受ける過程において *CDA*, *dCK*, *SLC28A1*, *SLC28A3*, *SLC29A1* などの遺伝子が関係していることは知られているが⁷⁻¹⁴⁾、今回のゲノムワイド関連解析の結果からは有意水準を超える強い関連を見出すことはできなかった。つまり、ジェムシタピンによる骨髄抑制はこれまで知られていないメカニズムによって引き起こされている可能性を示唆するものではないかと考えられる。

最後に今回同定された四つの遺伝子多型を含む遺伝領域はジェムシタピンによる骨髄抑制と何らかの関連があることが示唆され、さらにこの四つの遺伝子多型情報を用いた骨髄抑制予測システムによりジェムシタピン治療を行う前に骨髄抑制のリスクを回避できる可能性が考えられる。このようなゲノム情報に基づいた適切かつ安全な治療は今後ジェムシタピンに限らず、多くの薬剤についても応用されていくものと考えられる。

参考文献

- 1) Mackey JR, Yao SY, Smith KM, et al. : Gemcitabine transport in xenopus oocytes expressing recombinant plasma membrane mammalian nucleoside transporters. *J Natl Cancer Inst* 91 : 1876-1881, 1999.
- 2) Ritzel MW, Ng AM, Yao SY, et al. : Molecular identification and characterization of novel human and

mouse concentrative Na^+ -nucleoside cotransporter proteins (*hCNT3* and *mCNT3*) broadly selective for purine and pyrimidine nucleosides (system *ci*b). *J Biol Chem* 276 : 2914-2927, 2001.

- 3) Mackey JR, Mani RS, Selner M, et al. : Functional nucleoside transporters are required for gemcitabine influx and manifestation of toxicity in cancer cell lines. *Cancer Res* 58 : 4349-4357, 1998.
- 4) Plunkett W, Huang P, Gandhi V : Preclinical characteristics of gemcitabine. *Anticancer Drugs* 6 : 7-13, 1995.
- 5) Kiyotani K, Mushiroda T, Tsunoda T, et al. : A genome-wide association study identifies locus at 10q22 associated with clinical outcomes of adjuvant tamoxifen therapy for breast cancer patients in Japanese. *Hum Mol Genet* 21 : 1665-1672, 2012.
- 6) Zhang X, Yashiro M, Qiu H, et al. : Establishment and characterization of multidrug-resistant gastric cancer cell lines. *Anticancer Res* 30 : 915-921, 2010.
- 7) Rha SY, Jeung HC, Choi YH, et al. : An association between *RRM1* haplotype and gemcitabine-induced neutropenia in breast cancer patients. *Oncologist* 12 : 622-630, 2007.
- 8) Sugiyama E, Kaniwa N, Kim SR, et al. : Pharmacokinetics of gemcitabine in Japanese cancer patients : the impact of a cytidine deaminase polymorphism. *J Clin Oncol* 25 : 32-42, 2007.
- 9) Tanaka M, Javle M, Dong X, et al. : Gemcitabine metabolic and transporter gene polymorphisms are associated with drug toxicity and efficacy in patients with locally advanced pancreatic cancer. *Cancer* 116 : 5325-5335, 2010.

- 10) Chew HK, Doroshow JH, Frankel P, et al. : Phase II studies of gemcitabine and cisplatin in heavily and minimally pretreated metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 27 : 2163-2169, 2009.
- 11) Tibaldi C, Giovannetti E, Vasile E, et al. : Correlation of CDA, ERCC1, and XPD polymorphisms with response and survival in gemcitabine/ cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res* 14 : 1797-1803, 2008.
- 12) Okazaki T, Javle M, Tanaka M, et al. : Single nucleotide polymorphisms of gemcitabine metabolic genes and pancreatic cancer survival and drug toxicity. *Clin Cancer Res* 16 : 320-329, 2010.
- 13) Yonemori K, Ueno H, Okusaka T, et al. : Severe drug toxicity associated with a single-nucleotide polymorphism of the cytidine deaminase gene in a Japanese cancer patient treated with gemcitabine plus cisplatin. *Clin Cancer Res* 11 : 2620-2624, 2005.
- 14) Soo RA, Wang LZ, Ng SS, et al. : Distribution of gemcitabine pathway genotypes in ethnic Asians and their association with outcome in non-small cell lung cancer patients. *Lung Cancer* 63 : 121-127, 2009.

* * *

第22回学術総会/パネルディスカッション 1

ハイリスク乳癌に対する乳癌検診をどうするか

“乳がん発症ハイリスクグループに対する
乳房 MRI スクリーニングに関するガイドライン”の解説

国際医療福祉大学三田病院放射線診断センター¹⁾、聖マリアンナ医科大学放射線医学講座²⁾、
 亀田総合病院乳腺科³⁾、昭和大学医学部乳腺外科⁴⁾、聖フランシスコ病院放射線科⁵⁾、
 神鋼病院放射線診断科⁶⁾、
 聖マリアンナ医科大学附属研究所プレスト&イメージングセンター放射線科⁷⁾、
 八重洲クリニック放射線科⁸⁾、
 シーメンス・ジャパン株式会社イメージング&セラピー事業本部リサーチ&コラボレーション部⁹⁾、
 聖マリアンナ医科大学附属研究所プレスト&イメージングセンター乳腺外科・腫瘍内科¹⁰⁾

奥田 逸子¹⁾ 中島 康雄²⁾ 戸崎 光宏³⁾ 中村 清吾⁴⁾
 磯本 一郎⁵⁾ 門澤 秀一⁶⁾ 印牧 義英⁷⁾ 田淵 隆⁸⁾
 丸山 克也⁹⁾ 福田 護¹⁰⁾

要旨：本ガイドラインは乳がんハイリスク女性に対するスクリーニングとして、高い診断精度で乳がんを発見することを理念とし、関係学会の協力を得て日本乳癌検診学会が中心となり作成した。主な内容は、定義、理念、対象者、人的体制、乳房 MRI 検査およびガドリニウム造影剤の注意事項、撮像法、読影方法である。

MRI スクリーニングは造影することを前提としており、造影剤の使用を含めた撮像法を重要視し、具体的な臨床課題に対し解答するクリニカルクエスト形式でまとめた。撮像時期を考慮し、乳房専用コイルにて腹臥位で両側乳房を同時撮像することは強い科学的根拠を有し、強く勧められる。T2 強調画像および T1 強調画像の撮像は科学的根拠があり、撮像することを勧めている。ダイナミック検査を施行し、時間信号曲線の解析、造影早期相での診断は強く勧められる。読影は BI-RADS-MRI の定める用語およびカテゴリー分類を用いることが推奨される。

今後、本ガイドラインに準拠した乳房 MRI スクリーニングが普及することは、乳がん発症ハイリスクグループに対する乳がん検診の精度管理および診断に寄与することが期待される。

索引用語：ガイドライン、乳がん、ハイリスク、スクリーニング、MRI

はじめに

乳がんの診断における MRI の有用性は数多く報告され、その診断感度・特異度ともにマンモグラフィよりも優れていることが既知の事実になりつつある。また、近年、乳がん罹患率の増加とともに、若年発症乳がんに遺伝子の関与することも知られるようになった¹⁾。他の画像診断法と同様、乳房 MRI は高い精度管理の元に行われて初めてその威力を発揮する。欧米では American College of Radiology (ACR) や European Society of Breast Imaging (EUSOBI) などが主導して乳

房 MRI のガイドラインが作成され、その適応や撮像、読影について詳細に示されている。また、乳がんのハイリスクに対する MRI によるスクリーニングについても記載されている^{2,3)}。

わが国においても乳房 MRI をスクリーニングツールとして用いるための指診が必要と判断し、欧米に追従し、日本乳癌検診学会が中心となり、関係学会の協力の元に乳癌 MRI 検診検討委員会が構成され、ガイドラインを作成した(表 1)。本ガイドラインは欧米の乳房 MRI ガイドラインを軸に、乳がん MRI スクリーニングを実運用している施設の経験を参考に加えた上で、委員を中心としたエキスパートオピニオンを取り入れて作成した。

本稿ではガイドラインを作成するにあたり、慎重に議論を重ねた項目を中心に言及した。ガイドラインの詳細については、本誌別項に収載されている“乳がん

別冊請求先：〒108-8329 東京都港区三田 1-4-3
 国際医療福祉大学三田病院
 放射線診断センター 奥田逸子
 e-mail address: okudai-tora@umin.ac.jp

表1. 乳がん発症ハイリスクグループに対する乳房 MRI スクリーニングに関するガイドラインの内容

1. はじめに
2. 定義
3. 理念
4. 乳がん MRI スクリーニングの対象
5. 人員, 設備, 安全管理
6. 乳房 MRI 検査の注意事項
7. ガドリニウム造影剤の注意事項
8. 撮像法
1) 総論
2) 各論
9. 読影方法
10. 参考資料
・参照資料1: 造影剤投与量, 投与方法, 撮像シーケンス・画像表示法について
・参照資料2: BI-RADS-MRI カテゴリー

表2. 検査法とその Minds 推奨グレード

項目	クリニカルクエスチョン	推奨グレード	
総論 ①造影検査の必要性	乳房(乳がん検診)の MRI 検査に造影検査は勧められるか?	A	
②非造影 MRI の利点と欠点	拡散強調画像を含めた非造影 MRI による乳房 MRI スクリーニングは勧められるか?	C2	
各論 ①至適撮像時期	乳房 MRI の撮像時期について考慮することが勧められるか?	A	
②撮像装置	乳房 MRI には1.5T 以上の高磁場装置の使用が勧められるか?	A	
③撮像コイル, 撮像体位	乳房専用コイルによる腹臥位での撮像が勧められるか?	A	
④両側乳房同時撮像	両側乳房の同時撮像が勧められるか?	A	
⑤T2強調画像	T2強調画像の撮像は勧められるか?	B	
⑥T1強調画像	T1強調画像の撮像は勧められるか?	B	
⑦拡散強調画像	拡散強調画像の撮像は勧められるか?	C1	
⑧ダイナミック MRI	(1)時間信号曲線解析 (2)造影早期相 (3)空間分解能	乳房 MRI にダイナミック撮像による時間信号曲線(TIC)の解析は勧められるか? 造影早期相は乳がんの診断に勧められるか? 高空間分解能画像の撮像は必要か?	A A A

発症ハイリスクグループに対する乳房 MRI スクリーニングに関するガイドライン”の参照が望まれる。

1. 本ガイドラインの主旨

任意型検診を前提とし、精度の高い乳がんスクリーニングを行うためのガイドラインである。高い診断精度で乳がんを発見できる方法を記載することを理念として掲げている。対象者は乳がんの発症リスクが高く、特に対策型検診では早期診断が困難であると判断された女性である。

2. 検査法について

MRI の撮像は最も重要な項目と考え、具体的な臨床課題に対する解答というクリニカルクエスチョン形式でまとめた。撮像法に関して Minds 診療ガイドラ

イン作成の手引き2007⁴⁾に準じて作成している。利用したクリニカルクエスチョンの推奨グレードは、各文献で得られたエビデンスレベル^{4,5)}に基づいて行った(表2,3)。

1) 造影検査の必要性について

T1強調画像および T2強調画像で、乳がんは乳腺組織と等信号を示し、不明瞭であることが多い。そのため、乳がんの描出にはガドリニウム造影剤による造影検査が必須である。したがって、喘息や腎機能低下などで造影検査が実施できない場合やインプラントの評価を除き、MRI の適応はない^{3,6)}。

ガドリニウム造影剤を注入するには自動注入器を使用し、静脈内に投与する(図1)。ガドリニウムの投与量および投与方法は標準用量0.1mmol/kg を急速静

表3. Minds 推奨グレード

推奨グレード	内容
A	強い科学的根拠があり，行うよう強く勧められる。
B	科学的根拠があり，行うよう勧められる。
C1	科学的根拠はないが，行うよう勧められる。
C2	科学的根拠がなく，行わないよう勧められる。
D	無効性あるいは害を示す科学的根拠があり，行わないよう勧められる。

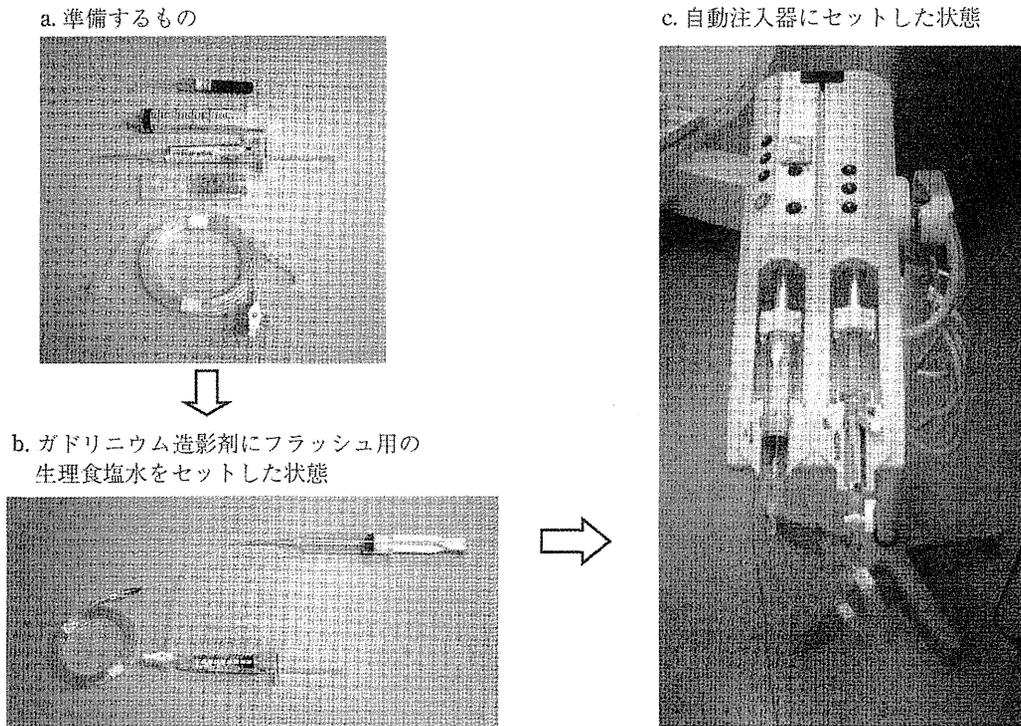


図1. ガドリニウム造影剤および自動注入器

注し，生理食塩水でフラッシュすることが推奨される⁷⁾。

2) 至適撮像時期について

乳房 MRI を行う至適撮像時期は月経開始後 5～12 日目に撮像することが強く推奨される。閉経前女性の乳腺組織への造影剤の取込みは月経周期の時期によって異なる(図 2)。月経周期後半の黄体期，特に月経直前は乳腺組織の造影剤の取込みが亢進しており，造影を行うと背景乳腺の増影効果が強くなる。このため，至適撮像時期は背景乳腺の造影効果の影響が少ない時期を推奨している^{3,8,9)}。

3) T2 強調画像の撮像について

T2 強調画像では乳がんは乳腺組織と等信号を示す場合が多く，通常は腫瘍の描出は難しい。しかし，嚢胞性病変(図 3)や粘液癌，粘液腫様間質を伴う線維腺腫などでは病変内の豊富な水分を反映し，強い高信号を示し明瞭に描出される^{3,9-11)}。したがって，T2 強調

画像を撮像することを推奨している。

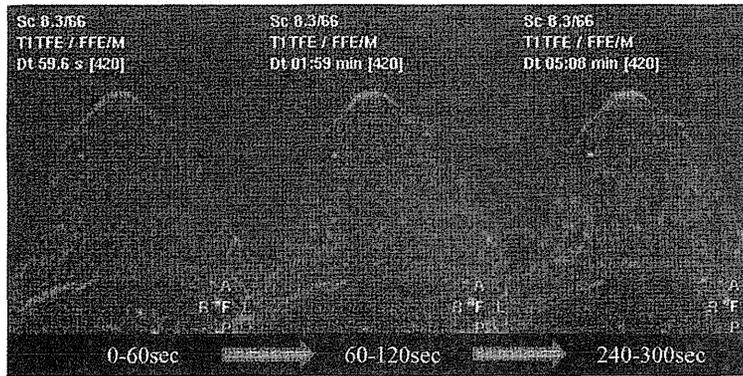
4) T1 強調画像(脂肪抑制なし)の撮像について

T1 強調画像では乳がんは乳腺組織と等信号を示し，不明瞭である場合が多く，通常は病変の検出が困難である。しかし，脂肪性乳房では腫瘍が脂肪に囲まれるため描出は良好であり，形状や辺縁の評価に有用である。また，過誤腫などの腫瘍内の脂肪の検出，血性乳汁や嚢胞内出血などのヘモグロビン変性物質(メトヘモグロビン)の検出に有用である¹²⁾。

おわりに

“乳がん発症ハイリスクグループに対する乳房 MRI スクリーニングに関するガイドライン”の特に重要と考えた項目を中心に解説した。今後，本ガイドラインに準拠した乳房 MRI スクリーニングが普及することは，乳がん発症ハイリスクグループに対する乳がん検診の精度管理および診断に貢献することが期待される。

a. MRI 検査日 月経開始後 10 日



b. MRI 検査日 月経開始後 18 日

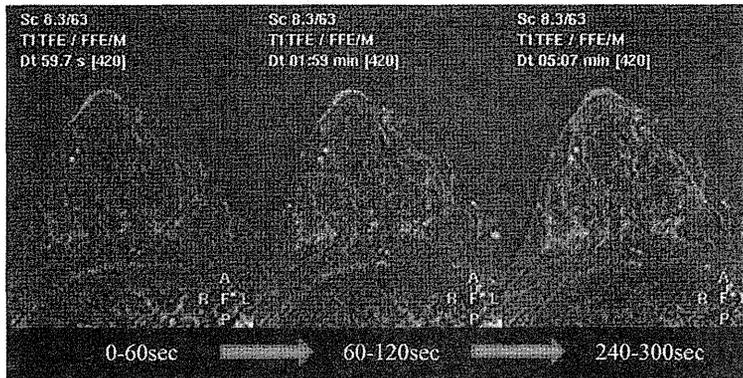


図 2. 月経周期による背景乳腺の造影効果の違い

a. T2 強調画像



b. 造影後 T1 強調画像



図 3. 嚢胞性腫瘍：右乳房の外側領域に嚢胞性病変がある。内部に含まれる液体を反映し、T2強調画像では強い高信号を呈する。

【文 献】

- 1) Sugano K, Nakamura S, Ando J, et al: Cross-sectional analysis of germline BRCA1 and BRCA2 mutations in Japanese patients suspected to have hereditary breast/ovarian cancer. *Cancer Science*, 99 : 1967-1976, 2008
- 2) American College of Radiology (ACR) : http://www.acr.org/~media/ACR/Documents/PGTS/guidelines/MRI_Breast.pdf, 2013/03/20 17 : 00
- 3) Mann RM, Kuhl CK, Kinkel K, et al: Breast MRI: guidelines from the European Society of Breast Imaging. *Eur Radiol*, 18 : 1307-1318, 2008
- 4) 福井次矢, 吉田雅博, 山口直人編 : Minds 診療ガイドライン作成の手引き2007. Minds 診療ガイドライン選定部会監修, 医学書院, 東京, 2007
- 5) Oxford Centre for Evidence-based Medicine—Levels of Evidence (March 2009). Centre for Evidence Based Medicine: <http://www.cebm.net/index.aspx?o=1025>, 2013/03/20 17 : 10
- 6) ACR practice guideline for the performance of contrast-enhanced magnetic resonance imaging (MRI) of the breast: <http://www.acr.org/~media/2A0EB28EB59041E2825179AFB72EF624.pdf>, 2013/03/20 17 : 10
- 7) Knopp MV, Bourne MW, Sardanelli F, et al: Gadobenate dimeglumine-enhanced MRI of the breast: analysis of dose response and comparison with gadopentetate dimeglumine. *AJR Am J Roentgenol*, 181 : 677-678, 2003
- 8) Delille JP, Slanetz PJ, Yeh ED, et al: Physiologic changes in breast magnetic resonance imaging during the menstrual cycle: perfusion imaging, signal enhancement, and influence of the T1 relaxation time of breast tissue. *Breast J*, 11 : 236-41, 2005
- 9) Kuhl CK, Bieling HB, Gieseke J, et al: Healthy premenopausal breast parenchyma in dynamic contrast-enhanced MR imaging of the breast: normal contrast medium enhancement and cyclical-phase dependency. *Radiology*, 203 : 137-144, 1997
- 10) 磯本一郎, 輿石 剛, 沖本智昭, 他 : 脂肪抑制 T2 強調像における乳腺腫瘍内に見られる著明な高信号域について. その分類と病理組織学的背景因子の検討. *日医放線会誌*, 64 : 99-106, 2004
- 11) Monzawa S, Yokokawa M, Sakuma T, et al: Mucinous carcinoma of the breast: MR imaging features of pure and mixed form with histopathologic correlation. *Am J Roentgenol*, 192 : 125-131, 2009
- 12) Weinstein S, Rosen M: Breast MR imaging: current indications and advanced imaging techniques. *Radiol Clin North Am*, 48 : 1013-1042, 2010

第22回学術総会/パネルディスカッション1

ハイリスク乳癌に対する乳癌検診をどうするか

わが国における HBOC の現状と今後の取組み

昭和大学医学部乳腺外科

中村 清吾

要旨：わが国では、*BRCA1/2*の遺伝子検査が保険適用でないために、20~30万円の個人負担となり、遺伝カウンセリングまでは受けても遺伝子検査を受ける人は少なく、その実態が明らかでなかった。また、遺伝子検査陽性者に対する対策(例えば、MRI 検診やリスク低減手術等)はいずれも保険適用外であることが、なお一層、本疾患に対する遺伝カウンセリング体制導入の遅延につながった。しかし、近年、若年性乳癌やいわゆる *triple negative* 乳癌が注目され、その一つの要因として、特に *BRCA1* 変異陽性との関連が取りざたされることが多くなった。そこで、欧米に比し、かなり遅れをとった日本の遺伝性乳癌・卵巣癌(HBOC)の研究を推進する目的で、2010年7月から2年にわたり、日本乳癌学会班研究として、「我が国における遺伝性乳癌・卵巣癌(*BRCA* 陽性患者)及び未発症陽性者への対策に関する研究」が行われた。その結果、遺伝カウンセリングを経て、遺伝子検査が行われた260名中81名(30.3%)に病的変異を認めた。また、そのうち46名(56.8%)が *BRCA1* 陽性であった。本稿では、特にわが国における HBOC の現状および今後の取組みについて、特にハイリスク乳癌の検診という観点から述べる。

索引用語：HBOC, *BRCA1/2* 遺伝子, 遺伝カウンセリング, ハイリスク乳癌

はじめに

欧米では、原発性乳癌のうち少なくとも5~10%は遺伝性といわれており、その70~80%が *BRCA1/2* の病的変異に基づくと報告されている¹⁻⁴⁾。わが国では、*BRCA1/2* の遺伝子検査が保険適用でないために20~30万円の個人負担となり、遺伝カウンセリングまでは受けても、遺伝子検査を受ける人はごく少数であり、その実態が明らかでなかった。また、遺伝子検査陽性者に対する対策(たとえばMRI 検診やリスク低減手術等)は、いずれも保険適用外であることが、なお一層、本疾患に対する遺伝カウンセリング体制導入の遅延につながった。しかし、近年、若年性乳癌や、いわゆる *triple negative* (TN) 乳癌が注目され、その一つの要因として、特に *BRCA1* 変異陽性との関連が取りざたされることが多くなった^{5,6)}。そこで、2011年度から2年にわたり、日本乳癌学会班研究として、「我が国における遺伝性乳癌・卵巣癌(*BRCA* 陽性患者)及び未発症陽性者への対策に関する研究」が行われた。

本稿では、その中で行われた調査研究の結果から、

乳癌検診に関わることを抽出して報告する。

1. わが国における HBOC の現状

前述の如く、日本乳癌学会において2011年度から2年間にわたり、HBOC に関する班研究が行われた。研究体制を表1に示す。わが国では、未だ家族性を明確に定義する元となる HBOC データベースが存在しないため、臨床の現場では海外のガイドラインに頼ることが多い。例えば、NCCN のガイドラインを表2に示すが、年齢単独の基準をどこに設けるか(45歳あるいは40歳)で、対象者は大きく異なる⁷⁾。すなわち、HBOC をなるべく漏れなく拾い上げようとするれば、対象者の数は多くなるが、検出率は低くなる。この点は、保険でカバーされている米国や韓国と検査費用が20~30万円かかるわが国の医療経済事情による考え方の差につながっている。わが国では各施設によってカウンセリングの対象の基準にばらつきがあるが、遺伝学的検査を施行した中から変異陽性であった260例の内訳を図1に示す。

2. *BRCA1/2* の組織型および年齢分布と検診における留意点

これまで *BRCA1/2* は遺伝性乳癌として一括りにして解析されることが多かったが、通常乳癌でも *intrinsic*

別冊請求先：〒142-8666 東京都品川区旗の台1-5-2

昭和大学医学部乳腺外科 中村清吾

e-mail address: seigonak@med.showa-u.ac.jp