

201313043B

厚生労働科学研究費補助金
第3次対がん総合戦略研究事業

新規バイオマーカー開発による
胃がんのハイリスクグループ同定のための研究

(H24-3 次がん-一般-002)

平成 24～25 年度 総合研究報告書

研究代表者

津金 昌一郎 国立がん研究センターがん予防・検診研究センター

研究分担者

笹月 静 国立がん研究センターがん予防・検診研究センター

伊藤 秀美 愛知県がんセンター研究所

平成 26 年(2014)3月

厚生労働科学研究費補助金
第3次対がん総合戦略研究事業

新規バイオマーカー開発による
胃がんのハイリスクグループ同定のための研究

(H24-3 次がん-一般-002)

平成 24～25 年度 総合研究報告書

研究代表者

津金 昌一郎 国立がん研究センターがん予防・検診研究センター

研究分担者

笹月 静 国立がん研究センターがん予防・検診研究センター
伊藤 秀美 愛知県がんセンター研究所

平成 26 年(2014)3月

目次

I. 総合研究報告

新規バイオマーカー開発による胃がんのハイリスクグループ同定のための研究 津金昌一郎	----- 1
--	---------

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 21

III. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 23

厚生労働科学研究費補助金(第3次対がん総合戦略研究事業)
総合研究報告書

新規バイオマーカー開発による胃がんのハイリスクグループ同定のための研究

研究代表者 津金昌一郎 国立がん研究センター がん予防・検診研究センター
センター長

研究要旨

国立がん研究センターを中心として行ってきた多目的コホート研究(JPHC Study)のベースライン時に血液を提供した対象をもとに構築された胃がんのコホート内症例・対照研究において、糖尿病関連血漿マーカー(C-peptide, insulin, glucose)と胃がん発生との関連について検討した。その結果、C-peptide, insulin と胃がんとの間に正の関連が見いだされ、高インスリン状態が胃がんの発生に関わっていることが示唆された。自己申告の糖尿病ではなく、バイオマーカーに基づいて糖尿病が胃がんの発生に関連することが支持されたことから、胃がんのハイリスクグループ同定に加えて胃がん発生のメカニズム解明にも貢献することが期待される。

コホート内症例・対照研究のデータセットのうち DNA 検体を保有する約 950 サンプルについて胃がんハイリスクグループ同定の候補となる ADH1B, ADH1C, ALDH2 と飲酒および交互作用と胃がんとの関連について解析した。飲酒量 150g/週未満までの ALDH2 GG 遺伝子多型を基準として飲酒量 150g/週以上の ALDH2 A 遺伝子保有者では 2.08 倍の胃がんリスク上昇を認め、両者の間に交互作用があることが示唆された。後に述べる愛知がん研究センターでの結果を支持するものであり、飲酒単独ではなく、個人の飲酒行動やアルコール代謝に関わる多型も合わせて考慮することにより、胃がん予防のよりきめ細かい提言実現のための有力な候補と言える。CYP1A1, GSTM1, GSTT1 の遺伝子多型と胃がんとの関連について、喫煙との交互作用に着目して検討した。その結果、CYP1A1 GG 遺伝子多型を基準とすると、A 遺伝子保有者で 1.68 倍の胃がんリスク上昇を認めた。また喫煙と CYP1A1 遺伝子との交互作用は認めないが、非喫煙・CYP1A1 GG 遺伝子保有者を基準として累積喫煙量 30 以上・CYP1A1 A 遺伝子保有者では 2.19 倍の胃がんリスク上昇を認めた。すでに胃がんのリスク要因として確立している喫煙について、さらに代謝に関わる酵素の遺伝子多型を考慮することにより、ハイリスクグループの同定が可能であることが示された。

コホートのうち、1993 年に採取したコホート II 地域の血漿サンプル約 20,000 検体について、ピロリ菌抗体価とペプシノーゲンの値の測定、両検査結果の組み合わせに基づく胃がん罹患率が算出された。20,000 検体という研究集団の規模の大きさと精度の高い生活習慣情報から、信頼度の高いモデルの構築により胃がんのハイリスクグループ同定に大きく近づく可能性がある。

東アジアにおけるピロリ菌関連血中バイオマーカーと胃がん発生との関連についてのコホートコンソーシアムに参画するべく、必要な手続きを踏まえた上でデータおよびサンプルの提供準備中である。

愛知県がんセンター病院で構築している大規模病院疫学研究(HERPACC)を基盤に、胃がんにおいて、頭頸部がん・食道がんと同様に、飲酒とアセトアルデヒド代謝酵素である ALDH2 の rs671 遺伝子多型の遺伝子環境要因交互作用が存在するか否かを検討した。研究デザインは 697 名の胃がん患者並びに、1372 名の非がん対照者を用いた症例対照研究である。アセトアルデヒド活性が高い ALDH2 Glu/Glu 群に比べ、Glu/Lys 群、Lys/Lys 群の調整オッズ比は、1.40 (95%信頼区間: 1.11-1.76)、1.73 (1.12-2.68)であった。飲酒状況と組み合わせた解析では、ALDH2 Lys+群での高飲酒群のオッズ比は、3.03 (1.59-5.79)であった一方、Glu/Glu 群では 1.28 (0.77-2.12)であった。遺伝子環境要因交互作用に関する P 値は 0.0054 であり、有意なものであった。本研究は、胃がんにおいてアセトアルデヒド由来の発癌の可能性を強く示唆するとともに、遺伝子型によって取るべき飲酒行動が異なる可能性を示した意味で重要である。

また、HERPACC において、胃がんの背景要因として重要な因子であるヘリコバクターピロリ(HP)感染、萎縮性胃炎に関連する遺伝子座を全ゲノム関連解析研究として探索することを目的として研究を行った。愛知県がんセンターにおける 917 名の非がん者を用いた横断研究を用いて全ゲノム関連解析研究を実施。血漿 HP 抗体検査、ペプシノーゲン検査に基づき、HP 感染の有無、萎縮性胃炎の有無を定義する。遺伝子多型は Illumina Human 610Quad を用いて測定した。各状況との関連は、ロジスティック解析分析により評価した。

HP 感染は、男性、高齢者、累積喫煙量の高い者で多く、また、萎縮性胃炎は、高齢者、累積喫煙量の高い者で多かった。HP 感染、萎縮性胃炎のいずれに対しても、全ゲノムレベルでの有意差を示した遺伝子座は認められなかった。10⁻⁵ 以下の p 値を示す遺伝子座で且つ遺伝子の機能からその関連を示唆されるものが散見された。

本研究は、規模より十分な統計学的検出力が得られていないため、更なる大規模な検討が必要であると考ええる。

分担研究者

笹月 静・国立がん研究センター がん予防・検診研究センター 予防研究部 部長

伊藤秀美・愛知県がんセンター研究所 疫学・予防部 室長

A. 研究目的

I. 血漿中の糖尿病関連マーカーと胃がんとの関連 -JPHC Study-

胃がんに関連する要因として H.pylori 菌感染の他には喫煙、食塩摂取などの生活習慣要因があるが、近年、糖尿病との関連についても着目されている。

H.pylori 菌感染下ではガストリンレベルの上昇に伴い高血糖、高インスリン血症が誘起され、胃粘膜の変化および H.pylori 菌への修飾作用により胃がんリスクが高まる可能性が考えられる。実際に糖尿病と胃がんとの関連について検討した日本における 6 研究のうち、4 研究で糖尿病による胃がんのリスク上昇が示されている。そこで、近年着目されている糖尿病を軸として、胃がん予防に資する新たな血漿バイオマーカーを開発することを目的に、血漿中の Insulin、C-peptide、Glucose と胃がんとの関連について検討する。

II. DNA を保有するサンプルを用いた胃がんハイス

クグループ同定の候補遺伝子多型の分析—飲酒、ADH1B, ADH1C, ALDH2 と胃がんとの関連—

飲酒と胃がんとの関連についてはこれまで一致した関連が見られていない。近年のメタ・アナリシスの結果では、重度の飲酒が遠位部の胃がんのリスク上昇と関連があることが示唆された。飲酒関連の遺伝子多型と胃がんとの関連について、ほとんど研究がなされていない。そこで、飲酒および飲酒関連の遺伝子多型と胃がんとの関連についてその交互作用にも着目しながら検討した。

III. DNA を保有するサンプルを用いた胃がんハイリスクグループ同定の候補遺伝子多型の分析—喫煙、CYP1A1, GSTM1, GSTT1 と胃がんとの関連—

胃がんは IARC により喫煙関連がんとして報告されている。多目的コホート研究においても非喫煙者に対する喫煙者の胃がんリスクは 1.7 倍であることを示してきた。両者の関連はコホート研究を含む他の多くの国内の研究でも確認されており、喫煙が胃がん発生に関わることは確実とされている。また、喫煙はヘリコバクター・ピロリ菌感染と胃がんとの関連とは独立であるとの報告もある。そこで、がん原物質の代謝にかかわる酵素の遺伝子多型である CYP1A1, および、GSTM1, GSTT1 と喫煙暴露情報とともに考慮し、胃がんとの関連について検討した。

IV. コホート約2万検体を用いた胃がんの予測モデルの構築

胃がんの発生に関連する要因として H.pylori 感染は重要であるが、H.pylori に感染していても胃がん罹患する人は一部である。このことから、H.pylori 以外の要因も考慮して個人の胃がん発生リスクを求めることは H.pylori 除菌の動きが進む中、胃がんの個別化予防に向けた重要な視点である。そこで、多目的コホート研究 (JPHC Study) の中で測定された H.pylori 抗体価およびペプシノーゲン値および喫煙、胃がんの家族歴などの要因も加味しながら胃がんの予測モデルを構築することを目的とした。

V. 胃がんにおける飲酒とアセトアルデヒド代謝酵素である ALDH2 の rs671 遺伝子多型の遺伝子環境要因交互作用の検討- HERPACC Study-

胃がんは我が国における主要ながん種で有り、変容可能なリスク要因を同定することは重要である。既存の疫学研究において、胃がんに対する飲酒の影響は認められて来なかった。頭頸部がん・食道がんでは、飲酒とアセトアルデヒド代謝酵素である ALDH2 の rs671 遺伝子多型の遺伝子環境要因交互作用が知られている。このことはアセトアルデヒドによる発がんを強く示唆するものであるが、胃がんにおいて本視点に立った検討はなされて来なかった。本研究では、ALDH2 rs671 遺伝子多型と飲酒行動の間の遺伝子環境要因交互作用を検討するのが目的である。

VI. 病院の非がん患者を対象とした横断研究に基づく全ゲノム関連解析研究

胃がんは我が国における主要ながん種で有り、変容可能なリスク要因を同定することは重要である。既存の疫学研究において、胃がんのリスク要因として、ヘリコバクターピロリ(HP)の感染が知られている。HP 感染は、垂直並びに水平感染により比較的人生の早期に感染することが知られているが、その感染に個人が持つ遺伝的な背景が関係しているかどうかに関しては、メカニズムに基づき想定される遺伝子に関する検討は存在するが、網羅的な解析は殆ど行われていない。

B. 研究方法

I. 血漿中の糖尿病関連マーカーと胃がんとの関連 -JPHC Study-

多目的コホート研究 (JPHC Study) をベースに構築した胃がんのコホート内症例・対照研究デザインに基づき、これまでに検討・蓄積してきた H.pylori 感染をはじめとした環境要因も考慮に入れ、糖尿病関連血漿マーカーと胃がん発生との関連について検討した。

対象者: 1990 年開始の JPHC Study の血液提供者

約 6 万人のうち、追跡期間中に胃がんに罹患した 511 例のうちバイオマーカー測定のための十分なサンプル量を有する 477 例および性・年齢・地域・採血条件などをマッチさせた対照 477 例。

測定項目・測定方法: マルチプレックスサスペンションアレイシステムにより、複数の糖尿病関連マーカー (C-peptide, insulin) を同時測定、Glucose については血液提供時の健診データを用いた。

解析方法: 条件付ロジスティックモデルに基づき、交絡要因を調整した上で、バイオマーカーレベルを3分位に分けた時の第 1 群を基準として第 2,3 群の胃がん発生のオッズ比を算出した。

(倫理面での配慮)

本研究の参加者に対しては、実施当時の指針に照らして目的等を十分に説明の上、文書による同意を取得した(一部地域)。現在、全対象者向けにホームページ上で研究の概要を公開し、参加取りやめの機会を保障している。また、国立がん研究センターの倫理審査委員会により承認済みである。

II. DNA を保有するサンプルを用いた胃がんハイリスクグループ同定の候補遺伝子多型の分析—飲酒、ADH1B, ADH1C, ALDH2 と胃がんと関連—

多目的コホート研究内で構築したコホート内症例・対照研究のデータセットのうち DNA 検体を保有する約 950 サンプルについて濃度調整を行い、胃がんハイリスクグループ同定の候補となる遺伝子多型 ADH1B, ADH1C, ALDH2 と胃がんと関連について、飲酒との交互作用に着目して検討した。

(倫理面での配慮)

本研究の参加者に対しては、実施当時の指針に照らして目的等を十分に説明の上、文書による同意を取得した(一部地域)。現在、全対象者向けにホームページ上で研究の概要を公開し、参加取りやめの機会を保障している。また、国立がん研究センターの倫理審査委員会により承認済みである。

III. DNA を保有するサンプルを用いた胃がんハイリスクグループ同定の候補遺伝子多型の分析—喫煙、

CYP1A1, GSTM1, GSTT1 と胃がんと関連—

多目的コホート研究内で構築したコホート内症例・対照研究のデータセットのうち DNA 検体を保有する約 950 サンプルについて濃度調整を行い、胃がんハイリスクグループ同定の候補となる遺伝子多型 CYP1A1, および, GSTM1, GSTT1 と胃がんと関連について、喫煙との交互作用に着目して検討した。

(倫理面での配慮)

本研究の参加者に対しては、実施当時の指針に照らして目的等を十分に説明の上、文書による同意を取得した(一部地域)。現在、全対象者向けにホームページ上で研究の概要を公開し、参加取りやめの機会を保障している。また、国立がん研究センターの倫理審査委員会により承認済みである。

IV. コホート約2万検体を用いた胃がんの予測モデルの構築

対象: 多目的コホート研究対象者のうち、コホート II 地域でベースライン時の血液サンプルの提供があり、対象外などを除く 21,579 人。

測定項目: 血漿ピロリ菌抗体価とペプシノーゲン値
解析方法: ステップワイズ法及び過去の知見より共変量として年齢、喫煙、胃がんの家族歴、H.pylori 感染及び萎縮性胃炎を候補とし、Cox の比例ハザードモデルを用いて胃がん発生の相対危険度を算出する。

(倫理面での配慮)

本研究の参加者に対しては、実施当時の指針に照らして目的等を十分に説明の上、文書による同意を取得した(一部地域)。現在、全対象者向けにホームページ上で研究の概要を公開し、参加取りやめの機会を保障している。また、国立がん研究センターの倫理審査委員会により承認済みである。

V. 胃がんにおける飲酒とアセトアルデヒド代謝酵素である ALDH2 の rs671 遺伝子多型の遺伝子環境要因交互作用の検討- HERPACC Study-

本研究の研究デザインは症例対照研究である。対象者は 2001~2005 年に愛知県がんセンター病院を

受診し大規模病院疫学研究 (Hospital-based Epidemiologic Research Program at Aichi Cancer Center (HERPACC)) に、遺伝子測定用の DNA 検体を提供の上参加した患者より選択された。患者は同期間に組織学的に胃がんと診断された 697 名である。また同時期に HERPACC に参加し、受信後 1 年以内にいかなるがんとも診断されていない患者を非がん対照者として 1392 名抽出した。

飲酒状況【非飲酒、低飲酒群(週 5 日未満飲酒)、中等飲酒群(週 5 日以上飲酒、一回辺りエタノール量 46g 未満飲酒)、高飲酒群(週 5 日以上飲酒、一回辺り 46g 以上飲酒)に分類した。Rs671 遺伝子多型は TaqMan 法により測定し、Glu/Glu, Glu/Lys, Lys/Lys の遺伝子型を決定した。

飲酒状況、rs671 多型並びに両者の交互作用は、ロジスティック回帰分析により、性、年齢、喫煙状況、野菜果物摂取、胃がんの家族歴、ヘリコバクター・ピロリ菌感染状況、IgG 抗体によるペプシノーゲン I/II による萎縮性胃炎状況を調整した上で評価を行った。

(倫理面での配慮)

本研究の参加者に対しては、目的、個人情報の保護、参加拒否による不利益がないこと、いつでも参加を取りやめることが出来ること等を十分に説明の上、文書による同意を取得した。愛知県がんセンターのヒトゲノム倫理審査委員会により承認済みである。

VI. 病院の非がん患者を対象とした横断研究に基づく全ゲノム関連解析研究

本研究の研究デザインは横断研究である。対象者は 2001～2005 年に愛知県がんセンター病院を受診し大規模病院疫学研究 (Hospital-based Epidemiologic Research Program at Aichi Cancer Center (HERPACC)) に、遺伝子測定用の DNA 検体を提供の上参加した患者より選択された。患者は同期間に受診 1 年以内に担がんの診断を受けなかった者からランダムに選択をされ、全ゲノム解析を受け且つ HP 感染に関して検討された 917 名である。

HP 感染、ペプシノーゲン (PG) は血漿を用いて測定

した。HP 感染の有無は E プレート栄研 H.ピロリ抗体 (栄研) にて吸光度 10U/mL 以上とした。萎縮性胃炎の有無は、CLIEA 法による PG-I が 70 以下且つ PG-I/PG-II が 3 未満にて萎縮有りと判定した。全ゲノム解析は Illumina Human610-Quad BeadChip を使用した。

統計解析は plink を使用し、ロジスティック回帰分析による性を調整したオッズ比を関連の指標として用いた。従属変数を 1) HP 感染の有無、2) 萎縮の有無とした。p 値が 10^{-8} を切った場合に全ゲノム有意、 $10^{-6} \sim 10^{-8}$ の間の場合に全ゲノム示唆的有意と判定した。

(倫理面での配慮)

本研究の参加者に対しては、目的、個人情報の保護、参加拒否による不利益がないこと、いつでも参加を取りやめることが出来ること等を十分に説明の上、文書による同意を取得した。愛知県がんセンターのヒトゲノム倫理審査委員会により承認済みである。

C. 研究結果

I. 血漿中の糖尿病関連マーカーと胃がんとの関連 -JPHC Study-

図 1 に各種マーカーと胃がん発生との関連についての結果を示す。血中レベルを 3 分位に分け、最小群を基準としたときの第 2, 3 群の胃がん発生リスクをオッズ比で示した。交絡要因および糖尿病の既往や服薬歴で補正後 (Model3) Insulin は第 1 群と比較して第 2, 3 群のオッズ比は 1.68, 2.03 であった (トレンド $p=0.007$)。C-peptide も同様の傾向であったが有意ではなかった。glucose については特に関連は見られなかった。上記 2 つの指標で見られた正の関連は男性、また、空腹条件においてより明確に観察された。インスリン抵抗性の指標である HOMA-IR、インスリン分泌能の指標である HOMA- β と胃がんとの関連を検討したところ、 $HOMA-IR \geq 1.73$ において、 $HOMA-IR < 1.73$ と比べて 2 倍近い有意なリスク上昇を認めた。(OR=1.97)

II. DNA を保有するサンプルを用いた胃がんハイリス

クグループ同定の候補遺伝子多型の分析—飲酒、ADH1B, ADH1C, ALDH2 と胃がんとの関連—

男性において ALDH2 GG 遺伝子多型を基準とすると、A 遺伝子保有者で 1.6 倍の胃がんリスク上昇を認め、女性では関連が見られなかった。飲酒量 150g/week 未満までの ALDH2 GG 遺伝子保有者を基準として飲酒量 150g/week 以上の ALDH2 A 遺伝子保有者では 2.08 倍の胃がんリスク上昇を認めた。交互作用項の P 値は 0.08 であり、両者の間に交互作用があることが示唆された。

III. DNA を保有するサンプルを用いた胃がんハイリスクグループ同定の候補遺伝子多型の分析—喫煙、CYP1A1, GSTM1, GSTT1 と胃がんとの関連—

CYP1A1 GG 遺伝子多型を基準とすると、A 遺伝子保有者で 1.68 倍の胃がんリスク上昇を認めた。また喫煙との交互作用を調べた結果、CYP1A1 遺伝子と喫煙との交互作用は認めないが、非喫煙・CYP1A1 GG 遺伝子多型を基準として累積喫煙量 30 以上・CYP1A1 A 遺伝子保有者では 2.19 倍の胃がんリスク上昇を認めた(図3)。また、非喫煙者で A アレル保有者は GG 保有者に比較してリスクは 1.99 (1.24-3.19) であり、喫煙以外の物質の代謝の個人差も胃がんのリスク上昇に関与していることが示唆された。

IV. コホート約2万検体を用いた胃がんの予測モデルの構築

2009 年末までの追跡期間(316,996.6 人年)中に、444 例(男性 271 例、女性 173 例)の胃がんが発生した。ピロリ菌感染・萎縮性胃炎の有無に基づく胃がん罹患率を求めたところ、両方とも陽性の人では罹患率(10 万人年あたり)が男性で 455.30、女性で 125.91 と男女差が大きく、ピロリ菌感染なしだが萎縮性胃炎ありの人でも両方とも陽性の人に次ぐ(男性)、あるいは上回る(女性)罹患率であった(表 1, 2)。他要因も考慮して予測モデルの構築を行う。

V. 胃がんにおける飲酒とアセトアルデヒド代謝酵素である ALDH2 の rs671 遺伝子多型の遺伝子環境要

因交互作用の検討- HERPACC Study-

表 3 に対象者の特性を示す。症例の方が現在喫煙者が多く、Pack-year も高い傾向であった。また、高度飲酒者も症例群で多かった。野菜・果物摂取は低摂取者が症例群で多かった。胃がん家族歴も症例群で高かった。Helicobacter pylori 感染者、萎縮性胃炎の有病者は、感染者で明瞭に高かった。

表 4 に飲酒状況、ALDH2 遺伝子型の胃がんリスクへの影響を示す。どのモデルにおいても、ALDH2 Lys アレル保持者は統計学的に有意に高いリスクを示した。また、高度飲酒は、特に ALDH2 遺伝子型を考慮した場合には非飲酒群と比べて、1.72 (95%信頼区間: 1.17-2.52)と高い数値を示した。

表 5 には、飲酒状況と ALDH2 遺伝子型の交互作用を検討した結果を示す。ALDH2 Glu/Glu において、飲酒が増えることは明瞭なリスク上昇にはつながっていない一方、ALDH2 Lys アレル保持者においては、用量依存性のリスク上昇傾向を認めた。ALDH2 Glu/Glu 且つ非飲酒に比べ、ALDH2 Lys+且つ高度飲酒の調整オッズ比は 3.03 (95%信頼区間: 1.59-5.79)と有意な上昇を示した。また、交互作用に関する P 値も 0.0054 と強い交互作用を示唆する結果が得られた。

表 6 には非がん対照者のみを対象として ALDH2 遺伝子型と飲酒の組み合わせの萎縮性胃炎の有病率に対する影響を横断的に検討した結果を示す。胃がんリスクの時と同様、ALDH2 Lys アレル保持者において明確な用量依存性を示唆する関連が認められた。非飲酒且つ ALDH2 Glu/Glu に比して、高度飲酒且つ ALDH2 Lys アレル保持の調整オッズ比は 4.50 (95%信頼区間: 1.51-13.43)であった。ただしこの ALDH2 Glu/Glu と Lys アレル保持の間における飲酒状況の交互作用は統計学的には有意なものではなかった。

VI. 病院の非がん患者を対象とした横断研究に基づく全ゲノム関連解析研究

表 7 に HP 感染の有無に関する対象者の特性を示す。感染陽性者が男性、高齢者、累積喫煙量 PY

の高い群で有意に高かった。男女層別化した累積喫煙量の検討では、男性のみにおいて PY と感染の間に正の相関が認められている。

図4は、HP 感染に関する性を調整したロジスティック回帰分析における p 値の $-\log_{10}$ 値をマンハッタンプロットとして提示する。全ゲノム有意、示唆的有意な遺伝子多型は認められなかった。10⁻⁵ 以下のp値を示したのは染色体 6 番上の rs9375582, rs9372897、染色体 12 番上の rs1909153、染色体 17 上の rs222787 の4遺伝子座であった。これらのうち遺伝子上に位置するのは rs222787 で遺伝子は SHPK であった。本遺伝子の転写産物は炭水化物リン酸化酵素 Sedoheptulokinase をコードする。

表 8 に萎縮性胃炎に関する背景因子を示す。HP 感染同様に萎縮性胃炎は年齢、PY と有意な正の相関を示す一方、性による差は認められなかった。

図5には萎縮性胃炎に関する性を調整したロジスティック回帰分析における p 値の $-\log_{10}$ 値をマンハッタンプロットとして提示する。全ゲノム有意な遺伝子多型は認められなかった。示唆的有意な関連を示したのは、染色体 11 の rs1055543 であった。本多型は NAV2 遺伝子上に位置する。本遺伝子はラット、マウスにおいて神経の発達と関連していることが示されているが人間に関しては明確な報告は認められていない。その他、10⁻⁵ 以下のp値を示したのは染色体 1 番上の rs4659552, rs10802789, rs7551001、染色体 3 番上の rs9876612、染色体 9 番上の rs2148843、染色体 19 番上の rs2270028、染色体 20 番上の rs6082812 であった。染色体 1 番の 3 座は何れも CHRM3 (cholinergic receptor, muscarinic 3)上に位置する。また染色体 3 番上の rs9876612 は SMAD7 に位置する。染色体 19 番上の rs2270028 は LOC100129935 上に位置していた。

D. 考察

I. 血漿中の糖尿病関連マーカーと胃がんとの関連 -JPHC Study-

糖尿病と胃がんとの関連については糖尿病歴を曝露変数とした検討において女性におけるリスク上昇

が示唆されるも、複数のコホート研究を統合した解析でも有意な結果は得られていない。自己申告による糖尿病歴では要因を正確に把握できていない可能性がある。バイオマーカーを用いた本研究から高インスリン状態が胃がん発生に関与していることが示された。インスリン抵抗性の指標である HOMA-IR の結果より、高インスリン状態はインスリン抵抗性に起因するものである可能性がある。

II. DNA を保有するサンプルを用いた胃がんハイリスクグループ同定の候補遺伝子多型の分析—飲酒、ADH1B, ADH1C, ALDH2 と胃がんとの関連—

これまで飲酒と胃がんとの関連については否定的な報告が主流であったが、頭頸部癌で関連ありとの報告が多くなされている ALDH2 について、胃がんとの間にも飲酒との交互作用が示唆された。本研究対象者では週当たり 300g 以上の飲酒者の数が十分でなかったことから、重度飲酒者での検討は出来ないうが 150g 以上(日本酒に換算して1日当たり1合相当)の比較的中等度を含む飲酒でも交互作用が見いだされたことになる。

III. DNA を保有するサンプルを用いた胃がんハイリスクグループ同定の候補遺伝子多型の分析—喫煙、CYP1A1, GSTM1, GSTT1 と胃がんとの関連—

交互作用は明確でないも、CYP1A1 A 遺伝子保有者で喫煙暴露量が多い場合、胃がんのリスク上昇と関わることを示された。また、リスク上昇は喫煙者に限定されないことから、同酵素が代謝にかかわる物質で喫煙以外のものによっても胃がんのリスクが上昇することが示唆される。

IV. コホート約2万検体を用いた胃がんの予測モデルの構築

ピロリ菌感染の有無だけではなく、萎縮の度合いも胃がんの罹患率に大きく影響していることが示された。両者の組み合わせに喫煙、胃がんの家族歴、糖尿病歴など、重要な因子を考慮して予測モデルの構築を行っていく必要がある。

V. 胃がんにおける飲酒とアセトアルデヒド代謝酵素であるALDH2のrs671遺伝子多型の遺伝子環境要因交互作用の検討-HERPACC Study-

ALDH2 rs671 遺伝子多型は、アミノ酸の置換をもたらす遺伝子多型で有り、Glu/Gluのアセトアルデヒド代謝活性を100%とすると、Glu/Lysで6-7%、Lys/Lysでほぼ0%の活性低下というdominant negativeな機能変化をもたらすものである。本多型は日本人を含む東アジア人でアリル頻度が高く、同地域の食道がん、頭頸部がん、肝臓がんに対して、飲酒と組み合わせることにより遺伝子環境要因交互作用を示すことが報告されてきた。この遺伝子環境要因交互作用が示唆するのはアセトアルデヒドの発癌性であり、これらのがんにおける、飲酒による発がんの背景要因にアセトアルデヒドが存在することを強く示唆してきた。

本研究では胃がんにおける飲酒とALDH2多型の遺伝子環境要因交互作用を検討し、頭頸部がん・食道がんと同様の結果を得た。これまで疫学研究において胃がんは飲酒関連がんとは考えられてこなかったが、本研究の結果は、アセトアルデヒドが胃がん発生に影響することを示したものであり、予防を考える上で意義が大きい。さらに、頭頸部・食道がんが、扁平上皮癌が主たる組織型であるのに対し、腺癌が主体の胃がんでも同様の傾向が認められたことも、今後の飲酒由来の発癌を考える上で示唆的なものと考えられる。

また表6における非がん対照のみでの横断解析において、Lysアリル保持者において、萎縮性胃炎のオッズ比が高い事実は、アセトアルデヒドが萎縮性胃炎の進展の前の段階で寄与していることを意味していると考えられ、これまでのHelicobacter pylori感染、食塩、喫煙で説明されていたメカニズムに新たな一面を加えたという意義があると考えられる。

VI. 病院の非がん患者を対象とした横断研究に基づく全ゲノム関連解析研究

HP感染、萎縮性胃炎に関する全ゲノム関連解析を実施した。全ゲノム有意な関連を認めた遺伝子座

は認められなかった。また、示唆的有意なレベルの関連を示したのは萎縮性胃炎に関するNAV2遺伝子上のrs1055543のみであった。本遺伝子並びに遺伝子多型の人間における意義は明確ではなく、今後の更なる大規模なレベルでの検討が期待される。

HP感染で認められたSHPK上のrs222787であるが、マクロファージの免疫応答に関連するとの報告もあるがその意義は明らかでは無い。

HP感染での遺伝子座よりも萎縮性胃炎と10-5以下のp値を示す遺伝子多型は多かった。中でも染色体1番のCHRM3はコリン受容体の一つであるCHRM3であり胃における萎縮との関連で挙がってきていることは興味深い。また染色体3番SMAD7上のrs9876612も転写因子であり、萎縮あるいはその後の悪性への変化に関わっていることも考えられる。いずれにせよ、本研究結果のみで明確な答えを出すことは難しく、今後の大規模研究あるいはメタ解析等による検討が待たれる。

本研究は全ゲノム関連解析研究としては小～中規模で有り、その検出力には限界がある。

E. 結論

I. 血漿中の糖尿病関連マーカーと胃がんとの関連-JPHC Study-

本研究により、血中C-peptideおよびinsulinレベルと胃がんとの間に正の関連が見いだされ、胃がん発生において高インスリン状態が関与していることが示唆された。自己申告の糖尿病ではなく、バイオマーカーに基づいて糖尿病が胃がんの発生に関連することが支持された。胃がんのハイリスクグループ同定に加えて胃がん発生のメカニズム解明にも貢献することが期待される。

II. DNAを保有するサンプルを用いた胃がんハイリスクグループ同定の候補遺伝子多型の分析—飲酒、ADH1B, ADH1C, ALDH2と胃がんとの関連—

飲酒単独ではなく、個人の飲酒行動やアルコール代謝に関わる多型も合わせて考慮することにより、胃がん予防のよりきめ細かい提言が実現できる可能性

が示された。

III. DNA を保有するサンプルを用いた胃がんハイリスクグループ同定の候補遺伝子多型の分析—喫煙、CYP1A1, GSTM1, GSTT1 と胃がんとの関連—

すでに胃がんのリスク要因として確立している喫煙について、さらに代謝に関わる酵素の遺伝子多型を考慮することにより、ハイリスクグループの同定が可能であることが示された。

IV. コホート約2万検体を用いた胃がんの予測モデルの構築

胃がん発生の予測モデルの構築に着手した。20000 検体という研究集団の規模の大きさと精度の高い生活習慣情報から信頼度の高いモデルの構築により胃がんのハイリスクグループ同定に大きく近づく可能性がある。

V. 胃がんにおける飲酒とアセトアルデヒド代謝酵素であるALDH2のrs671遺伝子多型の遺伝子環境要因交互作用の検討-HERPACC Study-

本研究により、アセトアルデヒド代謝能の低いALDH2 Lys アリル保持者において、飲酒が用量依存的に胃がんリスクを挙げていることを示した。アセトアルデヒドは、萎縮性胃炎を発生する段階から影響を与えている可能性を示したことは、胃がん発癌メカニズムを考える上で新たな視点をもたらした。

VI. 病院の非がん患者を対象とした横断研究に基づく全ゲノム関連解析研究

本研究では、HP 感染、萎縮性胃炎に対して、全ゲノムレベルでの有意な関連を示す遺伝子座は認められなかった。低p値を示す遺伝子座の中に、機能的な関連を示唆するものが認められており、更なる大規模な検討が臨まれる。特に萎縮性胃炎に対する遺伝子座が多く認められている事は、萎縮性胃炎の進展に関して分子標的による予防を検討するきっかけとなる可能性が否定できないと考えられる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Inoue M, Tsugane S. Insulin resistance and cancer: epidemiological evidence. *Endocr Relat Cancer*. 2012 ;19(5):F1-8.

2) Sasazuki S, Tamakoshi A, Matsuo K, Ito H, Wakai K, Nagata C, Mizoue T, Tanaka K, Tsuji I, Inoue M, Tsugane S; Research Group for the Development and Evaluation of Cancer Prevention Strategies in Japan. Green tea consumption and gastric cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population. *Jpn J Clin Oncol*. 2012;42:335-46.

3) Hara A, Sasazuki S, Inoue M, Iwasaki M, Shimazu T, Sawada N, Yamaji T, Tsugane S; Japan Public Health Center-Based Prospective Study Group. Isoflavone intake and risk of gastric cancer: a population-based prospective cohort study in Japan. *Am J Clin Nutr*. 2012 ;95:147-54.

4) Sasazuki S, Charvat H, Hara A, Wakai K, Nagata C, Nakamura K, Tsuji I, Sugawara Y, Tamakoshi A, Matsuo K, Oze I, Mizoue T, Tanaka K, Inoue M, Tsugane S; for the Research Group for the Development and Evaluation of Cancer Prevention Strategies in Japan. Diabetes mellitus and cancer risk: Pooled analysis of eight cohort studies in Japan. *Cancer Sci* 104:1499-1507, 2013

5) Ma E, Sasazuki S, Sasaki S, Tsubono Y, Okubo S, Tsugane S. Vitamin C supplementation in relation to inflammation in individuals with atrophic gastritis: a randomised controlled trial in Japan. *Br J Nut* 109:1089-1095, 2013.

6) Kasuga M, Ueki K, Tajima N, Noda M, Ohashi K, Noto H, Goto A, Ogawa W, Sakai R, Tsugane S, Hamajima N, Nakagama H, Tajima K, Miyazono K, Imai K. Report of the Japan Diabetes Society/Japanese Cancer Association Joint Committee on Diabetes and Cancer. *Cancer Sci* 104:965-976, 2013

7) Hidaka A, Sasazuki S, Goto A, Sawada N, Shimazu T, Yamaji T, Iwasaki M, Inoue M, Noda M, Tajiri H, Tsugane S, for the JPHC Study Group. Plasma insulin, C-peptide, and blood glucose and risk of gastric cancer: The Japan Public Health Center-based Prospective Study (in submitting)

8) Charvat H, Sasazuki S, Inoue M, Iwasaki M, Sawada N, Shimazu T, Yamaji T, Tsugane S; JPHC Study Group. Impact of five modifiable lifestyle habits on the probability of cancer occurrence in a Japanese population-based cohort: results from the JPHC study. *Prev Med* 57:685-689, 2013.

9) Hara A, Sasazuki S, Inoue M, Miura T, Iwasaki M, Sawada N, Shimazu T, Yamaji T, Tsugane S; Japan Public Health Center-Based Prospective Study Group. Plasma isoflavone concentrations are not associated with gastric cancer risk among Japanese men and women. *J Nutr* 143:1293-1298, 2013.

10) Matsuo K, Oze I, Hosono S, Ito H, Watanabe M, Ishioka K, Ito S, Tajika M, Yatabe Y, Niwa Y, Yamao K, Nakamura S, Tajima K, Tanaka H. The aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) Glu504Lys polymorphism interacts with alcohol drinking in the risk of stomach cancer. *Carcinogenesis* 2013;34:1510-1515.

2. 学会発表

1) 津金昌一郎:糖尿病有病とがん罹患:疫学研究からのエビデンス、第 55 回日本糖尿病学会年次学術集会、2012 年 5 月 17 日-19 日、横浜市

2) 井上真奈美、津金昌一郎:糖尿病とがん:疫学研究からのエビデンス、第 71 回日本癌学会学術総会、2012 年 9 月 19 日-21 日、北海道札幌市

3)津金昌一郎:Diabetes and Cancer:Epidemiological Evidence、第 9 回国際糖尿病連合西太平洋地区会議・第 4 回アジア糖尿病学会学術集会、2012 年 11 月 24 日-27 日、京都府京都市

4) 原 梓、笹月静、井上真奈美、岩崎基、島津太一、澤田典絵、山地太樹、津金昌一郎:イソフラボン摂取と胃がんリスクとの関連:多目的コホート研究より、第 23 回日本疫学会学術総会、2013 年 1 月 24 日-26 日、大阪府吹田市

5)津金昌一郎:がんの予防と検診の個別化へ向けて、第 21 回日本 CT 検診学会学術集会(シンポジウム 2 「肺がん CT 検診研究の現状・課題・新展開」)、2014 年 2 月 14 日-15 日、千葉市

6) 原 梓、笹月静、井上真奈美、岩崎基、島津太一、澤田典絵、山地太樹、津金昌一郎:イソフラボン摂取と胃がんリスクとの関連:多目的コホート研究より、第 23 回日本疫学会学術総会、2013 年 1 月 24 日-26 日、大阪府吹田市

7)笹月静、若井建志、永田知里、中村こずえ、辻一郎、菅原由美、玉腰暁子、松尾恵太郎、尾瀬功、溝上哲也、田中恵太郎、井上真奈美、津金昌一郎:糖尿病とがん:8つのコホート統合解析の疫学的根拠より、第 72 回日本癌学会学術総会、2013 年 10 月 3 日-5 日、横浜市

H. 知的財産権の出願・登録状況
特に無し

図1. 糖尿病マーカーと胃がんとの関連

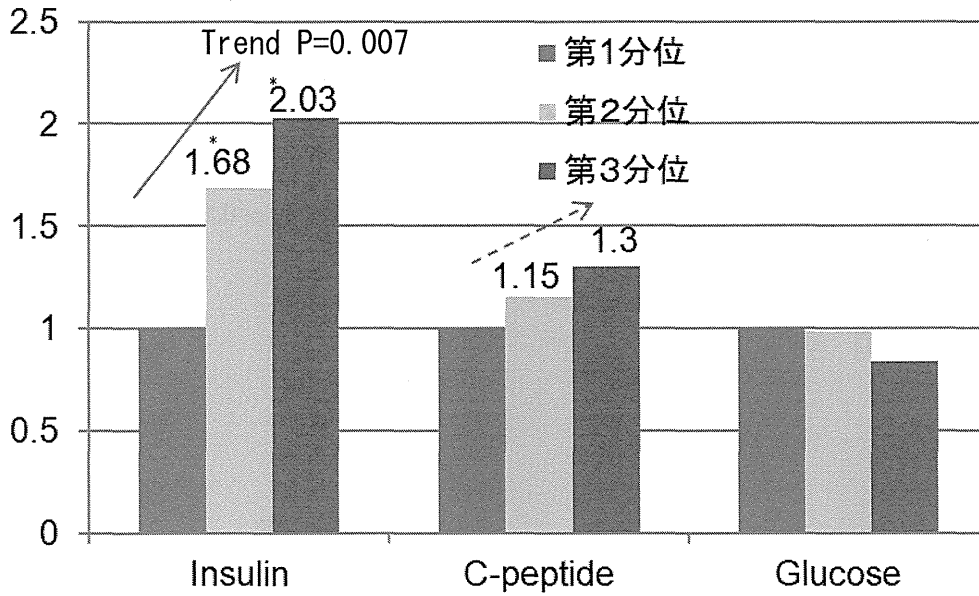


図2. ALDH2 遺伝子多型と飲酒量(週当たり 0-149.9/ 150g 以上)と胃がんとの関連-交互作用-

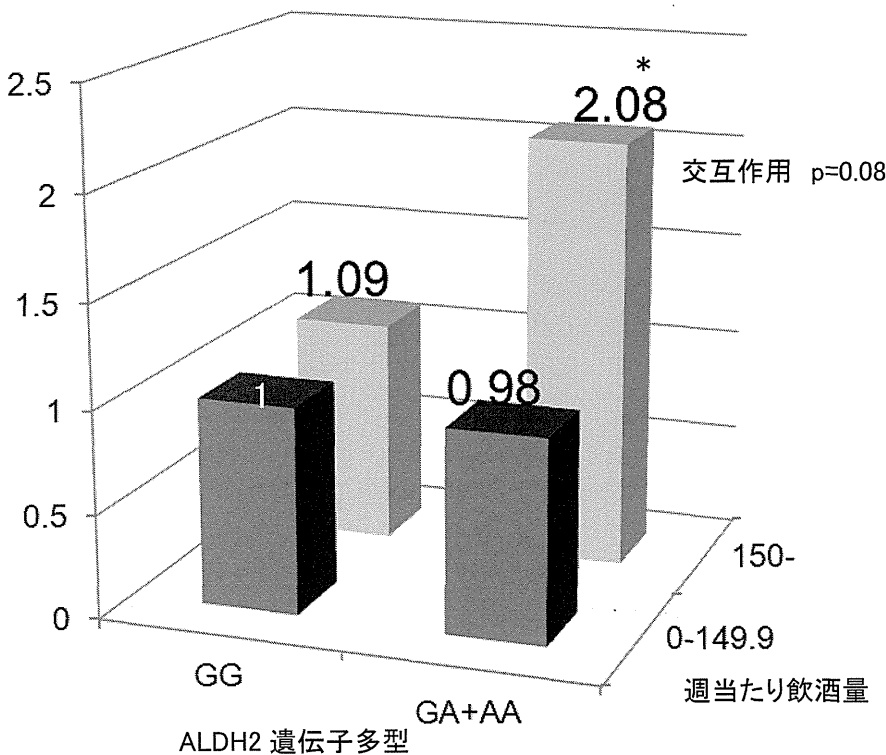


図 3. CYP1A1 遺伝子多型と喫煙と胃がんとの関連-交互作用-

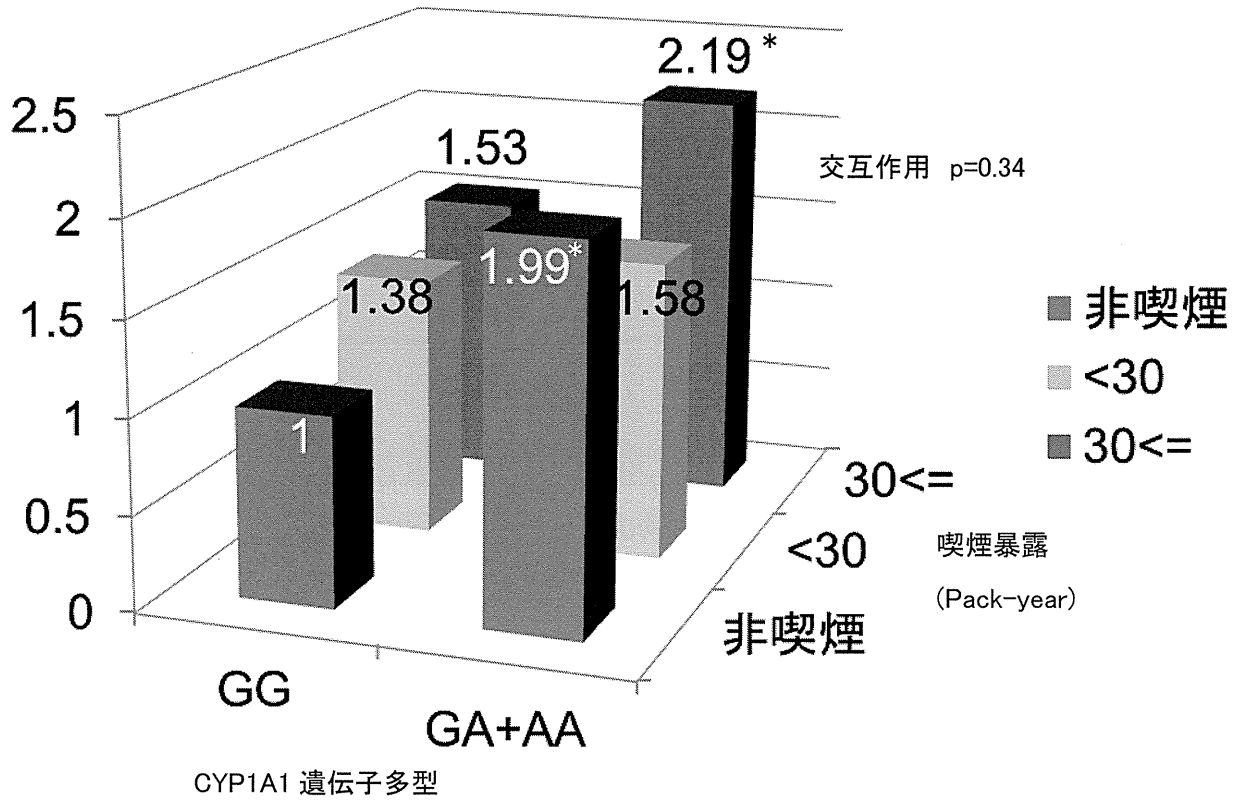


表 1. H.p 感染と萎縮性胃炎の有無の組み合わせと胃がん罹患率(10 万人年あたり) (男性)

男性	萎縮無	萎縮あり
HP 感染 陰性	31.61 [14.45, 60.01] 症例数: 9 人年: 28472.0	388.36 [217.36, 640.55] 症例数: 15 人年: 3862.4
HP 感染 陽性	167.01 [127.13, 215.43] 症例数: 59 人年: 35327.5	455.30 [392.54, 525.24] 症例数: 188 人年: 41291.3

表 2. H.p 感染と萎縮性胃炎の有無の組み合わせと胃がん罹患率(10 万人年あたり) (女性)

女性	萎縮無	萎縮あり
HP 感染 陰性	15.90 [7.62,29.23] 症例数: 10 人年: 62912.6	194.61 [97.15,348.21] 症例数: 11 人年: 5652.3
HP 感染 陽性	85.52 [63.48,112.75] 症例数: 50 人年: 58465.4	125.91 [102.66,152.84] 症例数: 102 人年: 81013.1

表 3. 対象者の特性

Overall		胃がん		非がん対照	
		697	%	1,372	%
性	男性	521	74.7	1,028	74.9
	女性	176	25.3	344	25.1
年齢	<40	34	4.9	146	10.6
	40-49	72	10.3	154	11.2
	50-59	245	35.2	429	31.3
	60-69	210	30.1	435	31.7
	>70	136	19.5	208	15.2
喫煙	非喫煙	222	31.9	538	39.2
	過去喫煙	181	26	403	29.4
	現在喫煙	294	42.2	430	31.3
Pack-years					
	非喫煙	222	31.9	539	39.3
	<20	99	14.2	286	20.9
	<40	160	23.0	272	19.8
	<60	117	16.8	153	11.2
	60 or more	92	13.2	113	8.2
飲酒	非飲酒	228	32.7	452	32.9
	軽度飲酒	167	24.0	412	30.0
	中等度飲酒	159	22.8	316	23.0
	高度飲酒	132	18.9	177	12.9
野菜・果物摂取 3 分位					
	最低 (<114.0 g/day)	263	37.7	446	32.5
	中等 (<199.96 g/day)	208	29.8	445	32.4
	最高 (≥199.96 g/day)	209	30	445	32.4
胃がんの家族歴					
	有り	153	22	239	17.4
	無し	544	78	1133	82.6
<i>Helicobacter pylori</i> IgG 抗体検査					
	陽性	124	17.8	628	45.8
	陰性	573	82.2	744	54.2
ペプシノーゲンによる慢性胃炎の有無					
	陰性	262	37.6	893	128.1
	陽性	434	62.3	479	68.7
	不詳	1	0.1	0	0

表4. 飲酒とALDH2 遺伝子型と胃がんリスクの関連

			モデル 1*1	モデル 2 *2	モデル 3 *3
	Case	Control	OR(95%CI)*2	OR(95%CI)*2	OR(95%CI)*2
飲酒状況					
非飲酒	228	452	Reference	Reference	Reference
軽度飲酒	167	412	0.81 (0.63-1.04)	0.89 (0.67-1.17)	1.04 (0.77-1.40)
中等度飲酒	159	316	1.03 (0.79-1.34)	0.92 (0.68-1.24)	1.15 (0.82-1.61)
高度飲酒	132	177	1.52 (1.14-2.04)	1.29 (0.92-1.80)	1.72 (1.17-2.52)
不詳	11	15			
ALDH2 遺伝子型 *4					
Glu/Glu	310	683	Reference	Reference	Reference
Lys+	386	689	1.24 (1.03-1.49)	1.27 (1.04-1.56)	1.42 (1.13-1.79)
Glu/Lys	323	580	1.23 (1.02-1.49)	1.25 (1.01-1.54)	1.40 (1.11-1.76)
Lys/Lys	63	109	1.27 (0.91-1.78)	1.42 (0.98-2.08)	1.73 (1.12-2.68)

*1 Crude ORs by the conditional logistic regression model.

*2 ORs were calculated by a conditional logistic regression model adjusted for pack-years of smoking, fruit and vegetable intake, family history of gastric cancer, gastric atrophy defined by serological pepsinogen testing, and *Helicobacter pylori* status.

*3 ORs were calculated by unconditional logistic regression model adjusted for age, sex, pack-years of smoking, fruit and vegetable intake, family history of gastric cancer, gastric atrophy defined by serological pepsinogen testing, *Helicobacter pylori* status, levels of drinking, and ALDH2 genotypes.

*4 One case was excluded because ALDH2 genotype was not defined.

表5. 胃がんリスクと飲酒・ALDH2 遺伝子型の組合わせの関連

飲酒状況	ALDH2 Glu/Glu			ALDH2 Lys+			交互作用 P
	症例	対照	OR(95%CI)*2	症例	対照	OR(95%CI)*2	
非飲酒	49	112	Reference	179	340	1.24 (0.82-1.90)	0.0054
軽度飲酒	87	208	1.07 (0.67-1.70)	80	204	1.03 (0.63-1.67)	
中等度飲酒	79	208	0.89 (0.54-1.44)	80	108	1.57 (0.94-2.64)	
高度飲酒	87	145	1.28 (0.77-2.12)	44	32	3.03 (1.59-5.79)	
不詳	8	10		3	5		

*1 One case was excluded because ALDH2 genotype was not defined.

*2 ORs were calculated by an unconditional logistic regression model adjusted for age, sex, pack-years of smoking, fruit and vegetable intake, family history of gastric cancer, gastric atropy defined by serological pepsinogen testing, and *Helicobacter pylori* status.

表6. 非がん対照者における ALDH2 遺伝子型と飲酒量の組合わせと、萎縮性胃炎の関連

	Overall			Combined with ALDH2 genotype					
	AG	non-AG	OR(95%CI)*2	ALDH2 Glu/Glu			ALDH2 Lys+		
				AG	non-AG	OR(95%CI)*2	AG	non-AG	OR(95%CI)*2
非飲酒	163	289	Reference	39	73	Reference	124	216	1.65 (0.92-2.93)
軽度飲酒	128	284	0.99 (0.68-1.44)	68	140	1.71 (0.90-3.25)	60	144	1.27 (0.66-2.44)
中等度飲酒	119	197	1.20 (0.81-1.79)	76	132	1.67 (0.88-3.17)	43	65	2.10 (1.00-4.41)
高度飲酒	66	111	1.19 (0.73-1.92)	51	94	1.48 (0.74-2.98)	15	17	4.50 (1.51-13.43)
不詳	3	12		1	9		2	3	

*1 One case was excluded because ALDH2 genotype was not defined.

*2 ORs were calculated by an unconditional logistic regression model adjusted for age, sex, pack-years of smoking, fruit and vegetable intake, family history of gastric cancer, and *Helicobacter pylori* status