

W, Hall P, Shu XO, Easton DF, Kang D. Common genetic determinants of breast-cancer risk in East Asian women: a collaborative study of 23 637 breast cancer cases and 25 579 controls. *Hum Mol Genet.* 2013;22:2539-50.

4. Pandey JP, Kistner-Griffin E, Black L, Namboodiri AM, Iwasaki M, Kasuga Y, Hamada GS, Tsugane S. IGKC and FcγR genotypes and humoral immunity to HER2 in breast cancer. *Immunobiology.* 2014;219:113-7.

5. Kuchiba A, Iwasaki M, Ono H, Kasuga Y, Yokoyama S, Onuma H, Nishimura H, Kusama R, Tsugane S, and Yoshida T. Global methylation levels in peripheral blood leukocyte DNA by LUMA and breast cancer: a case-control study in Japanese women. *Br J Cancer* (in press)

2. 学会発表

1. 岩崎基、津金昌一郎. 移民研究から推定されるがん予防効果. 第72回日本癌学会学術総会、神奈川県横浜市、2013年

H.知的所有権の取得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3.その他

なし

表 1. Mean global methylation level in leukocyte DNA (%) by quartile of serum lipid-adjusted organochlorine level (n=399).

Serum organochlorine		Global methylation level of leukocyte DNA (%)			
Quartile Median ^a	No. of	Crude	Multivariate-adjusted ^b		<i>P</i> -value
category (ng/g lipid)	subjects	Mean	Mean (95% CI)	β (95% CI)	
<i>o,p'</i> DDT					
Lowest 0.9	79	70.9	71.2 (70.4, 72.1)		
Second 1.3	102	70.6	70.6 (69.8, 71.3)		
Third 2.0	109	69.9	69.8 (69.1, 70.5)		
Highest 4.1	109	69.4	69.0 (68.2, 69.7)		
Continuous (per quartile category)				-0.75 (-1.11, -0.40)	<0.0001*
<i>p,p'</i> DDT					
Lowest 5.6	98	71.4	71.6 (70.8, 72.3)		
Second 8.5	99	70.3	70.1 (69.4, 70.8)		
Third 12	95	69.7	69.7 (68.9, 70.4)		
Highest 23	107	69.2	68.9 (68.2, 69.6)		
Continuous (per quartile category)				-0.83 (-1.17, -0.49)	<0.0001*
<i>p,p'</i> DDE					
Lowest 160	95	70.8	71.0 (70.3, 71.8)		
Second 300	98	70.7	70.5 (69.8, 71.3)		
Third 490	102	70.2	70.1 (69.4, 70.8)		
Highest 1100	104	68.9	68.6 (67.8, 69.3)		
Continuous (per quartile category)				-0.77 (-1.12, -0.42)	<0.0001*
<i>trans</i> -Nonachlor					
Lowest 13	89	70.8	71.0 (70.1, 71.9)		
Second 20	100	70.0	69.9 (69.2, 70.6)		
Third 27	103	70.1	70.2 (69.4, 70.9)		
Highest 41	107	69.8	69.3 (68.5, 70.1)		
Continuous (per quartile category)				-0.44 (-0.84, -0.04)	0.030*
<i>cis</i> -Nonachlor					
Lowest 2.0	94	70.7	70.6 (69.8, 71.5)		
Second 3.3	104	70.0	69.9 (69.2, 70.6)		
Third 4.7	95	70.1	70.2 (69.4, 71.0)		
Highest 7.0	106	69.8	69.6 (68.8, 70.3)		
Continuous (per quartile category)				-0.28 (-0.67, 0.11)	0.16
Oxychlorthane					
Lowest 5.4	99	70.8	70.9 (70.1, 71.7)		
Second 7.8	94	70.3	70.4 (69.6, 71.1)		
Third 9.7	91	69.7	69.5 (68.7, 70.3)		
Highest 15	115	69.9	69.4 (68.7, 70.2)		
Continuous (per quartile category)				-0.53 (-0.90, -0.15)	0.006*
HCB					
Lowest 20	94	70.5	70.7 (69.9, 71.5)		
Second 25	85	70.3	70.2 (69.5, 71.0)		
Third 30	118	70.2	69.9 (69.2, 70.6)		

Highest	38	102	69.7	69.4 (68.6, 70.2)		
Continuous (per quartile category)					-0.41 (-0.79, -0.03)	0.034*
Mirex						
Lowest	1.4	86	70.6	70.4 (69.6, 71.3)		
Second	1.9	96	69.6	69.6 (68.9, 70.4)		
Third	2.4	112	70.3	70.3 (69.6, 71.0)		
Highest	3.5	105	70.1	69.8 (69.0, 70.6)		
Continuous (per quartile category)					-0.09 (-0.46, 0.28)	0.63
β -HCH						
Lowest	26	96	70.8	71.3 (70.4, 72.1)		
Second	52	102	70.3	70.2 (69.4, 70.9)		
Third	82	89	70.1	69.9 (69.1, 70.6)		
Highest	160	112	69.5	68.9 (68.2, 69.7)		
Continuous (per quartile category)					-0.73 (-1.11, -0.35)	0.0002*
Total PCBs						
Lowest	110	98	70.4	70.5 (69.7, 71.3)		
Second	160	82	69.8	69.7 (68.9, 70.6)		
Third	200	116	70.3	70.2 (69.5, 70.9)		
Highest	290	103	70.0	69.7 (68.9, 70.5)		
Continuous (per quartile category)					-0.19 (-0.59, 0.20)	0.33

CI, confidence interval.

DDT, dichlorodiphenyltrichloroethane.

DDE, dichlorodiphenyldichloroethylene.

HCB, hexachlorobenzene.

β -HCH, β -hexachlorocyclohexane.

PCB, polychlorinated biphenyl.

^aData from Itoh et al. (2009).

^bAdjusted for age (continuous), body mass index (continuous), smoking habit (ever, never) and drinking habit (non-drinker, occasional drinker, regular drinker).

* $P < 0.05$.

表 2. Association between quartile levels of serum individual PCBs and mean global methylation level in leukocyte DNA.

Serum PCB congener (nanograms per gram lipid)	Multivariate-adjusted ^a	
	β (95% CI)	<i>P</i> -value
PCB17	-0.43 (-0.78, -0.08)	0.015*
PCB28	-0.23 (-0.59, 0.12)	0.20
PCB52/69	-0.33 (-0.67, -0.0007)	0.0495*
PCB48/47	-0.07 (-0.42, 0.29)	0.71
PCB74	-0.64 (-1.08, -0.20)	0.004*
PCB66	-0.23 (-0.58, 0.12)	0.20
PCB90/101	-0.29 (-0.63, 0.04)	0.085
PCB99	-0.35 (-0.72, 0.02)	0.061
PCB118	-0.26 (-0.64, 0.12)	0.18
PCB114	-0.46 (-0.88, -0.05)	0.030*
PCB105	-0.27 (-0.66, 0.12)	0.17
PCB146	-0.30 (-0.69, 0.10)	0.14
PCB153	-0.27 (-0.66, 0.12)	0.17
PCB164/163	-0.17 (-0.56, 0.22)	0.38
PCB138	-0.33 (-0.71, 0.05)	0.086
PCB128/162	-0.03 (-0.38, 0.32)	0.87
PCB167	-0.29 (-0.68, 0.11)	0.15
PCB156	-0.28 (-0.67, 0.11)	0.16
PCB182/187	-0.22 (-0.60, 0.15)	0.24
PCB183	-0.45 (-0.82, -0.07)	0.022*
PCB177	-0.29 (-0.68, 0.09)	0.14
PCB180	-0.16 (-0.55, 0.22)	0.40
PCB170	-0.22 (-0.58, 0.14)	0.24
PCB189	-0.15 (-0.53, 0.23)	0.43
PCB202	-0.09 (-0.47, 0.28)	0.62
PCB198/199	-0.12 (-0.50, 0.26)	0.53
PCB196	-0.009 (-0.38, 0.36)	0.96
PCB203	-0.09 (-0.48, 0.29)	0.63
PCB194	-0.11 (-0.48, 0.26)	0.56
PCB208	-0.11 (-0.49, 0.28)	0.58
PCB206	-0.09 (-0.44, 0.27)	0.64
PCB209	-0.08 (-0.45, 0.29)	0.67

PCB, polychlorinated biphenyl.

CI, confidence interval.

^aAdjusted for age (continuous), body mass index (continuous), smoking habit (ever, never) and drinking habit (non-drinker, occasional drinker, regular drinker).

**P*<0.05.

表3. Association between plasma levels of biomarkers and the risk of pancreatic cancer according to follow-up periods.

Category	All follow-up period						Follow-up period: less than 8 years			Follow-up period: 8-13 years			Follow-up period: more than 13 years		
	Median	case	control	OR ^a	95% CI	P for trend	OR ^a	95% CI	P for trend	OR ^a	95% CI	P for trend	OR ^a	95% CI	P for trend
Adiponectin															
Lowest	206	59	113	1.00		0.23	1.00		0.09	1.00		0.85	1.00		0.55
Middle	339.2	67	113	1.17	(0.70 , 1.93)		0.63	(0.24 , 1.65)		1.61	(0.51 , 5.03)		1.22	(0.42 , 3.60)	
Highest	569.9	44	114	0.69	(0.37 , 1.29)		0.36	(0.11 , 1.17)		1.33	(0.34 , 5.16)		0.64	(0.17 , 2.43)	
CRP															
Lowest	27.3	44	112	1.00		0.23	1.00		0.04	1.00		0.69	1.00		0.71
Middle	52.1	63	114	1.47	(0.87 , 2.47)		3.09	(1.07 , 8.92)		1.83	(0.63 , 5.35)		0.36	(0.11 , 1.16)	
Highest	135.7	63	114	1.43	(0.83 , 2.49)		3.07	(1.10 , 8.60)		1.42	(0.46 , 4.42)		0.94	(0.27 , 3.20)	
IGFBP3															
Lowest	120.5	52	113	1.00		0.37	1.00		0.70	1.00		0.11	1.00		0.23
Middle	151.6	57	113	1.30	(0.78 , 2.14)		0.72	(0.29 , 1.81)		4.06	(1.20 , 13.76)		2.21	(0.67 , 7.24)	
Highest	187.3	61	114	1.29	(0.73 , 2.27)		0.83	(0.27 , 2.56)		3.41	(1.00 , 11.70)		1.88	(0.47 , 7.49)	
IGFBP2															
Lowest	13.1	69	111	1.00		0.24	1.00		0.35	1.00		0.86	1.00		0.06
Middle	19.8	48	115	0.74	(0.45 , 1.22)		1.14	(0.41 , 3.16)		0.40	(0.13 , 1.26)		0.70	(0.26 , 1.89)	
Highest	29.6	53	114	0.72	(0.42 , 1.26)		1.68	(0.56 , 5.05)		0.82	(0.31 , 2.21)		0.24	(0.06 , 1.03)	
C2a															
Lowest	273.9	58	112	1.00		0.89	1.00		0.83	1.00		0.23	1.00		0.86
Middle	319	47	114	0.76	(0.44 , 1.32)		0.84	(0.27 , 2.67)		1.04	(0.36 , 3.04)		0.61	(0.20 , 1.84)	
Highest	372.5	65	114	1.01	(0.58 , 1.76)		0.88	(0.31 , 2.50)		1.85	(0.62 , 5.48)		0.90	(0.29 , 2.73)	
C2b															
Lowest	263.7	53	113	1.00		0.10	1.00		0.58	1.00		0.01	1.00		0.77
Middle	319	42	113	0.86	(0.49 , 1.50)		0.72	(0.27 , 1.94)		1.34	(0.39 , 4.58)		1.21	(0.38 , 3.81)	
Highest	377.4	74	114	1.50	(0.88 , 2.56)		1.35	(0.48 , 3.76)		4.08	(1.35 , 12.38)		1.21	(0.36 , 4.05)	

^a Adjusted for matching variable (sex, age group, area, fasting status), age, body mass index, smoking status, alcohol intake, physical activity in leisure time, history of diabetes mellitus.

厚生労働科学研究費補助金
(難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (がん関係研究分野))
分担研究報告書

PSCA 遺伝子多型、ピロリ菌感染、喫煙習慣で層別化した胃がんの累積リスクに関する研究

研究分担者 伊藤 秀美
愛知県がんセンター研究所 疫学・予防部 室長

研究要旨

確立されたリスク要因を用いて生涯リスクを正しく評価することは、がん予防行動を促進するひとつのシンプルな方法である。我々は、PSCA 遺伝子多型-rs2294008、ピロリ菌感染と喫煙習慣といった遺伝的あるいは環境要因、生活習慣で層別化した累積リスクを、胃がん症例 697 例と非がん対照者 1372 例の症例対照研究を用いて評価した。これらのリスク要因と胃がんリスクとの関連を、性、年齢、胃がん家族歴、野菜・果物摂取を調整したロジスティック回帰モデルを使い、オッズ比と 95%信頼区間で評価した。さらに、Peto らの方法により、オッズ比と日本人の 5 歳年齢階級別罹患率等を組み合わせて、累積リスクを算出した。75 歳までの累積リスクは、0.9% (95% CI, 0.3%-3.3%) から 13.4% (95% CI, 13.3%-13.4%) まで、リスクに応じて大きく異なっていた。PSCA 遺伝子多型のリスクアレルの保有者では、ピロリ菌感染陽性で喫煙習慣のある人の累積リスクは 13.4%であったが、ひとつでもリスク要因が除かれると、累積リスクは 2.0% (95% CI, 1.9%-2.0%、ピロリ菌陰性、非喫煙)、3.9% (95% CI, 3.8%-3.9%、ピロリ菌陰性、喫煙歴あり)、9.4% (95% CI, 9.4%-9.5%、ピロリ菌陽性、非喫煙) と低くなることが分かった。本研究では、遺伝的要因と環境要因を組み合わせることで正確に高危険度群を補足することが可能であることが分かった。また、本研究成果は、リスクに応じた胃がんの一次予防、二次予防の促進に重要な示唆を与えるものであった。

A. 研究目的

日本において胃がんの年齢調整罹患率は減少に転じているものの、いまだ頻度の高いがんであり、胃がん対策は我が国の重要課題の一つである。

これまでの Genome-wide association study (GWAS) において、胃がんリスクと関連する遺伝子多型が同定されている。しかし、胃がんにおいて、これらの遺伝子多型と既知の生活習慣や環境要因とを組み合わせた場合の影響については検討されていない。さらに、次ステップとして、これらの知見をがん予防への応用することが必要である。つまり、胃がんリスクに関連する遺伝的な情報を胃がん予防介入へ応用する「トランスレーション」が必要である。

本研究では、確立されたリスク要因を用いて生涯リスクを正しく評価することは、がん予防行動を促進するひとつのシンプルな方法であると考え、遺伝的要因や環境要因で層別化された胃がん累積リスクを評価した。

B. 研究方法

対象は、2001 年から 2005 年に愛知県がんセンター中央病院で実施されている病院疫学研究に参加した対象者の中から選択した。参加者のうち、697 名の初発胃がん患者と、同時期に受診し、年齢を適合させた 1,372 名の非がん対照者を用いた症例対照研究を実施した。

受診時に自記式の質問票により、喫煙状況、野菜、果物摂取、胃がんの家族歴等を、参加者より聴取している。また同時に提供を受けた血液検体より DNA を抽出し、PSCA 遺伝子多型

(PSCA-rs2294008) の測定に用いた。遺伝子多型の決定には、TaqMan 法を用いた。また、ピロリ菌感染について、血清を用いて、ピロリ菌 IgG 抗体を測定して決定した。

遺伝子多型、ピロリ菌感染、喫煙習慣と胃がんリスクとの関連の指標として、条件付き多変量ロジスティック回帰モデルを用いたオッズ比とその 95%信頼区間を用いた。多変量解析モデルには、既知の交絡要因を調整因子として投入した。対照群において、各遺伝子座の Hardy-Weinberg 連鎖不平衡からの乖離を検討した。

PSCA 遺伝子多型、ピロリ菌感染、喫煙習慣を用いて構築されたリスク予測モデルの正確性について、ROC 解析で遺伝的リスク要因のみ、年齢、ピロリ菌感染、喫煙習慣からなる既知のリスク要因のみ、遺伝的+既知のリスク要因による 3 つのモデルの曲線下面積 (AUC) を比較することで、検討した。

PSCA 遺伝子多型、ピロリ菌感染、喫煙で層別化した累積リスクについては、Peto らの方法 (BMJ 2000) により、リスクグループのオッズ比、対照群におけるリスクグループの頻度分布、2003 年日本人人口、2003 年胃がん 5 歳階級別罹患率 (国立がん研究センター提供) を用いて算出した。

また、PSCA 遺伝子多型、ピロリ菌感染、喫煙によるリスク予測の正確性について、ROC 解析による AUC (area under the curve) により評価した。

(倫理面への配慮)

この研究は、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に基づき計画され、愛知県がんセンターのヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会にて「初診患者を対象とした癌遺伝子多型と環境要因の交互作用の研究」として承認を受けている。実施においては、研究対象者よりインフォームドコンセントを行った上で安全に実施された。

C. 研究結果

表1に対象者の特性を示す。胃癌症例は、対照者に比べて、喫煙経験者(禁煙者、現喫煙者)が多く、ピロリ菌感染陽性者が多かった。ピロリ菌感染陰性者に比べ、陽性者のオッズ比は、3.07(95%CI, 2.34-4.02)で、非喫煙者と比べた場合のオッズ比は、喫煙経験者で1.09(0.79-1.50)、現喫煙者で1.91(1.42-2.57)と、胃癌と喫煙の間には統計学的有意な関連が認められた(表2)。ピロリ菌感染と喫煙習慣は、それぞれ胃癌の独立したリスク要因であったが、両者の間に交互作用は認められなかった(P for interaction, 0.389)。表3に示すとおり、PSCA 遺伝子多型-rs22940008 と胃癌リスクとの間には、統計学的有意な関連が認められた。

次に、PSCA 遺伝子多型のリスクアレル数(0, 1-2)、ピロリ菌感染の有無、喫煙経験の有無により、8つのリスクグループを作成し、PSCA 遺伝子多型のリスクアレル0、ピロリ菌感染陰性、非喫煙者に対する、その他7つのリスクグループのオッズ比を算出し、それを元に累積リスクを算出した。75歳までの累積リスクは、0.9%(95% CI, 0.3%-3.3%)から13.4%(95% CI, 13.3%-13.4%)まで、リスクに応じて大きく異なっていた。PSCA 遺伝子多型のリスクアレルの保有者では、ピロリ菌感染陽性で喫煙習慣のある人の累積リスクは13.4%であったが、ひとつもリスク要因が除かれると、累積リスクは2.0%(95% CI, 1.9%-2.0%、ピロリ菌陰性、非喫煙)、3.9%(95% CI, 3.8%-3.9%、ピロリ菌陰性、喫煙歴あり)、9.4%(95% CI, 9.4%-9.5%、ピロリ菌陽性、非喫煙)と低くなることが分かった。(表4、図1)

図2に、PSCA 遺伝子多型、ピロリ菌感染、喫煙によるリスク予測モデルのROC曲線を示す。遺伝子多型のみモデルのAUCは0.617、既知のリスク要因(ピロリ菌感染と喫煙習慣)によるAUCは0.725であった。さらに、遺伝的要因と環境要因によるモデルのAUCは0.742と、統計学的有意に他の2つのモデルよりも予測能が優れていた(p, 9.60x10⁻³⁴)。

D. 考察

胃癌ががんの遺伝的リスク予測モデルを構築した。本研究の結果より、胃癌リスク予測には、遺伝的要因のみでは不十分で、環境要因や生殖要因といった既知のリスク要因と合わせて予測する必要があることが分かった。また、PSCA 遺伝子多型、ピロリ菌感染、喫煙習慣によって、胃癌罹患累積リスクが大きくなったことから、遺伝的リスクごとに個別化

された一次予防(リスク評価とリスク変容)や二次予防(検診頻度や強度等)の重要性が示唆された。

本研究で用いた遺伝的がんリスク予測モデル構築やがん罹患累積リスク算出の手法は、びまん型胃癌、肺癌、膵がん等の難治性のがんにも適用することができ、これらのがんにおける遺伝的リスク予測マーカーの同定や高危険群の捕捉に役立つものと考えられた。

E. 結論

PSCA 遺伝子多型、ピロリ菌感染、喫煙習慣で層別化した胃癌累積リスク算出と、3要因によるリスク予測モデルを構築した。本研究の成果は、個別化乳がん予防の重要性を示唆するものであった。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Ito H. et al. Time to first cigarette and lung cancer risk in Japan. *Ann Oncol*.24(11)2870-2875,2013

2. Matsuo K, Ito H. et al. The aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) Glu504Lys polymorphism interacts with alcohol drinking in the risk of stomach cancer. *Carcinogenesis*, 34(7), 1510-115, 2013

3. Pelucchi C, Ito H. et al. The stomach cancer pooling (StoP) project: study design and presentation. *Eur J Cancer Prev*, 2014

2. 学会発表

伊藤秀美ら。日本人におけるPSCA 遺伝子多型、ピロリ菌感染、喫煙状況別の累積胃癌リスク。第72回日本癌学会学術総会、2013年10月3日-5日、横浜。

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 いが対象者の特性

Overall		Cases n=697		Controls n=1372	
			%		%
Sex					
	Males	521	74.8	1,028	74.9
	Females	176	25.2	344	25.1
Age (years)					
	<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
Smoking Status					
	Never	222	31.9	538	39.2
	Former	181	26.0	403	29.4
	Current	294	42.2	430	31.3
	Unknown	0	0.0	1	0.1
Alcohol drinking					
	Never	228	32.7	452	33.0
	Former	16	2.3	39	2.8
	Current	452	64.9	881	64.2
	Unknown	1	0.1	0	0.0
Fruit/Vegetable intake					
	Lowest tertile (less than 114.0g/day)	263	37.7	446	32.5
	Middle tertile (< 199.96g/day)	208	29.9	445	32.4
	Highest tertile (199.96g/day or more)	209	30.0	445	32.4
	Unknown	17	2.4	36	2.7
Family history of gastric cancer					
	Yes	153	22.0	239	17.4
	No	544	78.0	1,133	82.6
H.pylori IgG test					
	Negative	124	17.8	628	45.8
	Positive	573	82.2	744	54.2
AG defined by PG testing					
	Negative	262	37.6	893	65.1
	Positive	434	62.3	479	34.9
	Unknown	1	0.1	0	
Histologic classification					
	Diffuse	379	54.4		
	Intestinal	305	43.7		
	Unknown	13	1.9		

表2 胃がんリスクとピロリ菌感染、喫煙習慣との関連

		Case	Control	Model 1 OR ^a (95% CI)	Model 2 OR ^b (95% CI)	
<i>H.pylori</i> infection						
	Negative	124	628	Reference	Reference	
	Positive	573	744	3.81 (3.00 - 4.83)	3.07 (2.34 - 4.02)	
			<i>p</i> for trend	2.90 x 10 ⁻²⁸	4.38 x 10 ⁻¹⁶	
Smoking ^c						
	Never	222	538	Reference	Reference	
	Former	181	403	1.20 (0.91 - 1.59)	1.09 (0.79 - 1.50)	
	Current	294	430	2.09 (1.60 - 2.70)	1.91 (1.42 - 2.57)	
			<i>p</i> for trend	3.88 x 10 ⁻⁹	3.39 x 10 ⁻⁶	
	Ever	475	833	1.66 (1.31 - 2.12)	1.50 (1.15 - 1.95)	
			<i>p</i> for trend	3.15 x 10 ⁻⁵	2.86 x 10 ⁻³	
<i>H.pylori</i> infection and smoking						
	Negative	Never	40	264	Reference	Reference
	Negative	Ever	84	363	2.02 (1.28 - 2.18)	1.80 (1.11 - 2.89)
	Positive	Never	182	274	4.64 (3.09 - 6.99)	3.56 (2.30 - 5.53)
	Positive	Ever	391	470	6.78 (4.48 - 10.3)	5.11 (3.27 - 7.98)
			<i>p</i> for trend	1.14 x 10 ⁻³²	4.09 x 10 ⁻¹⁸	
			<i>p</i> for interaction	0.196	0.389	

^a ORs by the conditional logistic regression model adjusted for age.

^b ORs were calculated by a conditional logistic regression model adjusted for smoking status or *H.pylori* infection status, and other potential confounding factors such as age fruit/vegetable intake, family history of cancer, gastric atrophy defined by serological PG testing and drinking habit.

^c One control subject was excluded because information on smoking status was unknown.

表3 胃がんリスクと PSCA 遺伝子多型との関連

Chromosome /Gene/ SNP	Genotype	Case	Control	Model 1		Model 2	
				OR ^a (95% CI)	p	OR ^b (95% CI)	p
8q24.3 PSCA rs2294008							
	CC	48	190	Reference		Reference	
	CT	327	660	1.94 (1.36 - 2.74)	2.10 x 10 ⁻⁴	1.94 (1.29 - 2.89)	1.31 x 10 ⁻³
	TT	322	522	2.39 (1.69 - 3.39)	8.23 x 10 ⁻⁷	2.56 (1.72 - 3.83)	4.45 x 10 ⁻⁶
	MAF	0.303	0.379				
		Per allele model		1.42 (1.23 - 1.64)	1.74 x 10 ⁻⁶	1.49 (1.26 - 1.76)	4.13 x 10 ⁻⁶
		Dominant model		2.16 (1.55 - 3.01)	6.38 x 10 ⁻⁶	2.23 (1.52 - 3.28)	4.29 x 10 ⁻⁵
		Recessive model		1.40 (1.16 - 1.69)	4.09 x 10 ⁻⁴	1.50 (1.20 - 1.87)	3.08 x 10 ⁻⁴

^a Crude OR by the conditional logistic regression model

^b ORs were calculated by a conditional logistic regression model adjusted for smoking habit, fruit/vegetable intake, family history of cancer, gastric atrophy defined by serological PG testing, H.pylori infection status and drinking habit.

表4 胃がんリスクにおける、PSCA 遺伝子多型、ピロリ菌感染、喫煙習慣の共同効果

# of risk alleles	H.pylori infection	Smoking	Cases	Controls	OR ^a (95% CI)	Cumulative risk (%) by age 75 years (95% CI)
0	Negative	Never	3	31	1.00 (reference)	1.17 (0.32 - 4.23)
0	Negative	Ever	7	40	2.53 (0.52 - 12.4)	2.95 (2.21 - 3.90)
0	Positive	Never	10	42	3.04 (0.69 - 13.3)	3.53 (2.96 - 4.18)
0	Positive	Ever	28	76	4.90 (1.24 - 19.2)	5.63 (5.22 - 6.00)
1-2	Negative	Never	37	233	2.19 (0.60 - 8.04)	2.56 (2.54 - 2.55)
1-2	Negative	Ever	77	323	3.82 (1.04 - 14.0)	4.42 (4.40 - 4.41)
1-2	Positive	Never	172	232	8.17 (2.24 - 29.8)	9.21 (9.15 - 9.22)
1-2	Positive	Ever	363	394	11.64 (3.19 - 42.5)	12.9 (12.8 - 12.9)
			P for interaction ^b		0.612	

^a ORs were calculated by a conditional logistic regression model adjusted for fruit/vegetable intake, family history of cancer, gastric atrophy defined by serological PG testing and drinking habit.

^b *P* for interaction was calculated to assess the effect modification by rs2294008 on the combined effect of HP infection and smoking

図1 PSCA 遺伝子多型、ピロリ菌感染、喫煙習慣による層別化累積リスク

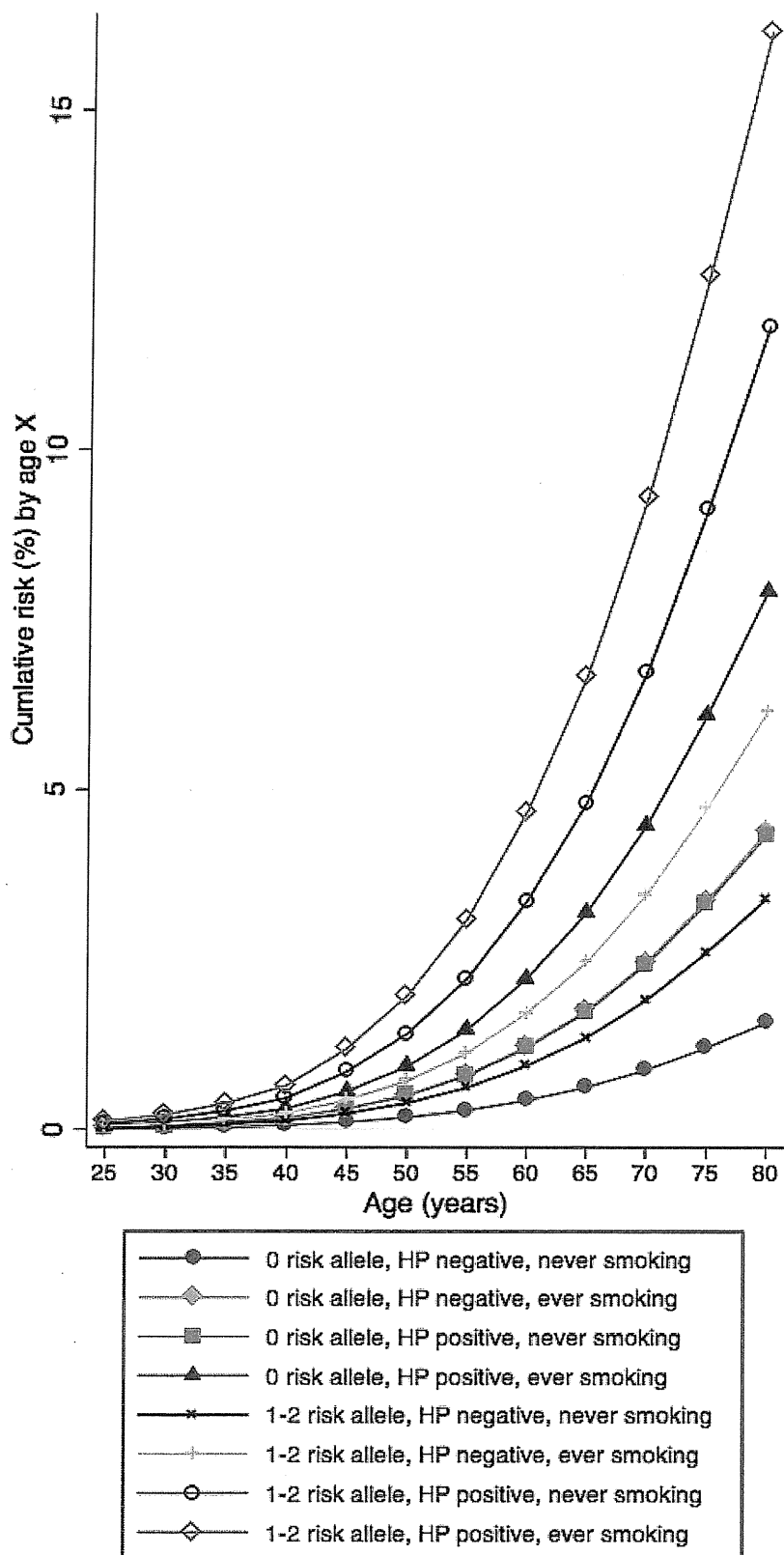
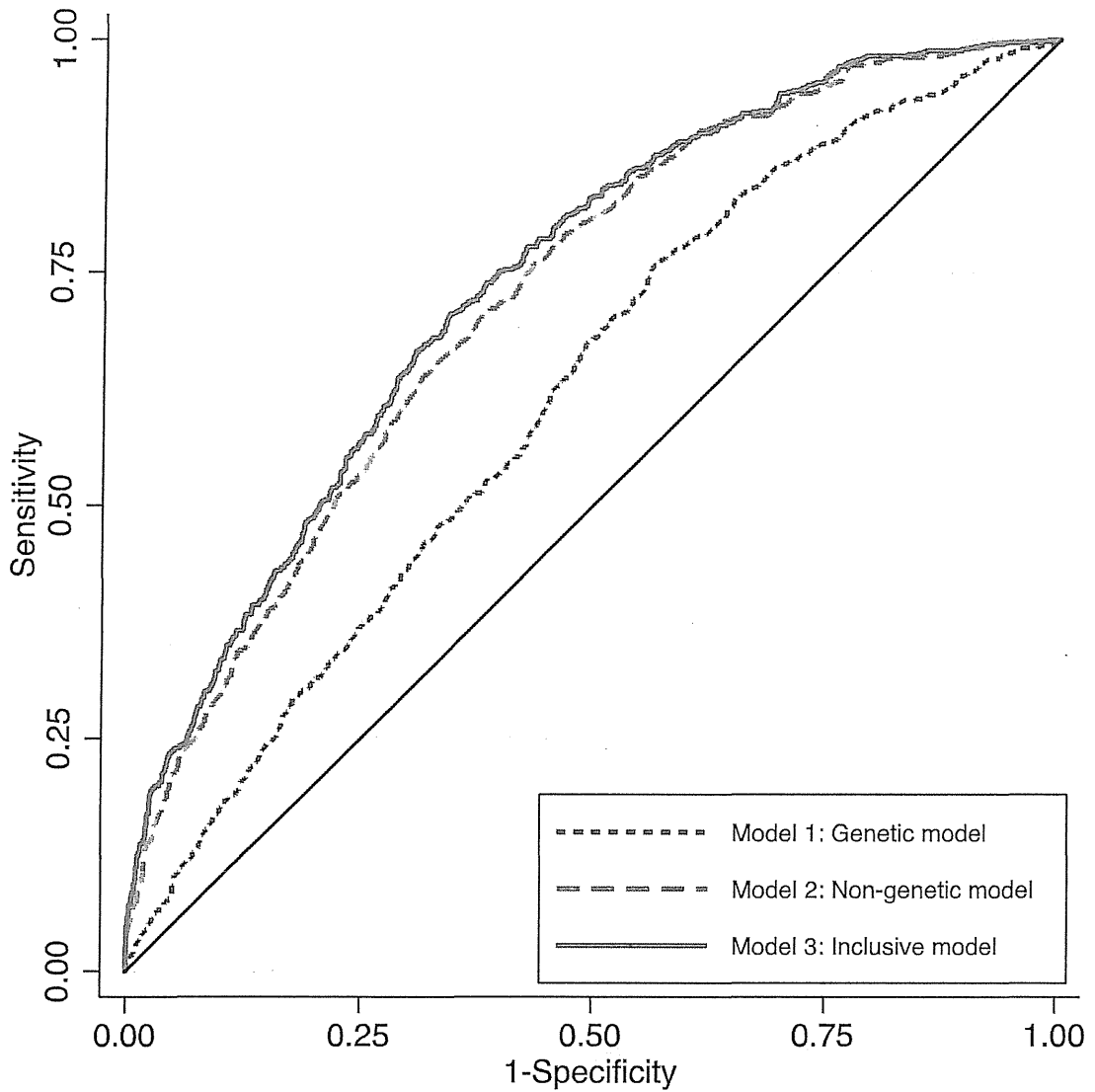


図2 PSCA 遺伝子多型、ピロリ菌感染、喫煙習慣による胃がんリスク予測モデルの精度評価



Prediction model (Predictors)	Area under the curve (95% CI) ^a	Integrated discrimination improvement (p) ^b
Genetic model (rs2294008)	0.617 (0.592 - 0.642)	0.01396 (<0.00001)
Non-genetic model (HP infection & smoking)	0.725 (0.703 - 0.747)	0.07756 (<0.00001)
HP infection model	0.703 (0.680 - 0.726)	0.06501 (<0.00001)
Smoking model	0.628 (0.603 - 0.652)	0.0088 (0.00008)
Inclusive model (rs2294008, HP infection, smoking)	0.742 (0.720 - 0.764)	-
p values for comparing three models	9.60 x 10 ⁻³⁴	

P values for comparing non-genetic model and inclusive model.

3.40×10^{-4}

「プロテオーム解析に関する研究」

分担研究者 尾野雅哉

国立がん研究センター研究所・創薬臨床研究分野・ユニット長

研究要旨

本年度は、われわれが開発した 2DICAL (2 Dimensional Image Converted Analysis of Liquid Chromatography and Mass Spectrometry (LC/MS)) によって発見された水酸化プロリン・-フィブリノーゲンタンパク質が膵がん発症危険因子となりうるかを検討するために、6 万人コホートより発症した膵がん 170 症例と年齢、性別を一致させた対照 340 症例、計 510 例の血液サンプルの水酸化プロリン・-フィブリノーゲンタンパク質濃度をトランスジェニック社が開発したサンドイッチ ELISA 測定キットを用いて測定した。水酸化プロリン・-フィブリノーゲンタンパク質濃度の中・高値群は低値群と比較し、発症 7 年未満の症例でオッズ比が有意に上昇しており、発症危険因子または発症前早期診断マーカーとなりうる可能性が示されたが、前向き試験を含め、さらなる症例での検証が必要であることが結論された。

A. 研究目的

2DICAL は、複数のスペクトラムからなる液体クロマトグラフィー質量分析計 (LCMS) データを、各スペクトラムの相関係数から LC の時間変動を補正して、質量電荷比 (m/z)、保持時間 (RT) の 2 軸を持つ平面に描出する手法を基本とする。この手法により同一ペプチド由来のピークが、強度 (Intensity) を変数に持つ m/z 、RT 座標に変換され、複数サンプル間での無標識定量比較解析をショットガンプロテオミクスで可能にした。同時にサンプル (S) をもうひとつの次元ととらえ、同一 m/z のピークを RT、サンプルの 2 軸の平面で描出することができ、多数検体間の定量比較も可能としている。この技術の開発により、LCMS で作成される膨大なピークデータから効率よくかつ定量的に多数検体解析が可能となり、ショットガンプロテオミクスにおける血中腫瘍マーカー開発が可能となった。本研究では、本技術を用いて発見された新規の膵がんマーカーである水酸化プロリン・-フィブリノーゲンタンパク質が膵がん発症危険因子となりうるかの検討を目的とする。

B. 研究方法

1) 膵がん発症危険因子の検討

約 6 万人のコホートより発症している 170 例の膵がん症例の発症前検体を、膵がん発症危険因子探索の対象とした。この血液検体に対して血液採取時期、年齢、性別を一致させたがん未発症 340 例を対照とした。

2) 腫瘍マーカー実用化に向けた技術開発

2DICAL で発見された腫瘍マーカー候補である水酸化プロリン・-フィブリノーゲンタンパク

質に対するサンドイッチアッセイ系で、多数症例の水酸化プロリン・-フィブリノーゲンタンパク質を測定した。

（倫理面への配慮）

国立がん研究センター、その他連携各施設の倫理委員会による審査で承認された方法で採取保管され、検体の個人情報が出ることがないように匿名化が厳重に行われるように配慮した患者、健常者より得られた血漿検体を用いた。

C. 研究結果

1) 膵がん発症危険因子の検討

6 万人コホートより発症した膵がん 170 症例と年齢、性別を一致させた対照 340 症例、計 510 例の血液サンプルの水酸化プロリン・-フィブリノーゲンタンパク質濃度測定を行った。

膵がん発症までの時間で区分し、水酸化プロリン α -フィブリノーゲン濃度の低値群 (0.23-76.0 $\mu\text{g/ml}$)、中等度群 (76.1-151 $\mu\text{g/ml}$)、高値群 (152-2178 $\mu\text{g/ml}$) に分類して、低値群に対するオッズ比 (OR) を条件付きロジスティック回帰分析で解析した。中等度群・高値群では発症 7 年未満・5 年未満のいずれの症例群でも調整後 OR は有意に上昇した。

2) 腫瘍マーカー実用化に向けた技術開発

水酸化プロリン・-フィブリノーゲンタンパク質に対してトランスジェニック社が開発したサンドイッチ ELISA 測定キットを用いて、510 症例の血漿を測定した。

D. 考察

水酸化プロリン・-フィブリノーゲンタンパク質に対するサンドイッチ ELISA キットにより 510 例の血漿水酸化プロリン・-フィブリノー

ゲンタンパク質濃度を測定した。水酸化プロリン・-フィブリノーゲンタンパク質濃度が中等度群・高値群では発症7年未満・5年未満のいずれの症例群でも調整後 OR は有意な上昇を示し、膵がんの発症危険因子となりうる可能性が示唆されたが、前向き試験を含め、さらなる症例での検証が必要である。

E. 結論

サンドイッチ ELISA 測定キットを用いて、6万人コホートより発症した膵がん170症例と年齢、性別を一致させた対照340症例、計510例の血液サンプルの水酸化プロリン・-フィブリノーゲンタンパク質濃度測定を行った。

水酸化プロリン・-フィブリノーゲンタンパク質濃度の中・高値群は低値群に比較し、発症7年未満の症例でオッズ比が有意に上昇しており、発症危険因子または発症前早期診断マーカーとなりうる可能性が示されたが、検証のためには、前向き試験を含め、さらなる症例での検証が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

(2013年4月1日から2014年3月31日まで)

1. 論文発表

Taira, N., Yamaguchi, T., Kimura, J., Lu, Z. G., Fukuda, S., Higashiyama, S., Ono, M., Yoshida, K.

Induction of amphiregulin by p53 promotes apoptosis via control of microRNA biogenesis in response to DNA damage.

Proc Natl Acad Sci U S A 111, 717-22 (2014).

Matsukawa, S., Morita, K. I., Negishi, A., Harada, H., Nakajima, Y., Shimamoto, H., Tomioka, H., Tanaka, K., Ono, M., Yamada, T., Omura, K.

Galectin-7 as a potential predictive marker of chemo- and/or radio-therapy resistance in oral squamous cell carcinoma.

Cancer Med 3, 349-61 (2014).

Kobayashi, E., Satow, R., Ono, M., Masuda, M., Honda, K., Sakuma, T., Kawai, A., Morioka, H., Toyama, Y., Yamada, T.

MicroRNA expression and functional profiles of osteosarcoma.

Oncology 86, 94-103 (2014).

Masuda, M., Chen, W. Y., Miyanaga, A., Nakamura, Y., Kawasaki, K., Sakuma, T., Ono, M., Chen, C. L., Honda, K., Yamada, T.

Alternative mTOR signal activation in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma

cells revealed by array-based pathway profiling.

Mol Cell Proteomics, Epub ahead of print (2014).

Takahashi, R. U., Takeshita, F., Honma, K., Ono, M., Kato, K., Ochiya, T.

Ribophorin II regulates breast tumor initiation and metastasis through the functional suppression of GSK3beta.

Scientific reports 3, 2474 (2013).

Singh, S. K., Maeda, K., Eid, M. M., Almofty, S. A., Ono, M., Pham, P., Goodman, M. F., Sakaguchi, N.

GANP regulates recruitment of AID to immunoglobulin variable regions by modulating transcription and nucleosome occupancy.

Nat Commun 4, 1830 (2013).

Makuuchi, Y., Honda, K., Osaka, Y., Kato, K., Kojima, T., Daiko, H., Igaki, H., Ito, Y., Hoshino, S., Tachibana, S., Watanabe, T., Furuta, K., Sekine, S., Umaki, T., Watabe, Y., Miura, N., Ono, M., Tsuchida, A., Yamada, T.

Soluble interleukin-6 receptor is a serum biomarker for the response of esophageal carcinoma to neoadjuvant chemoradiotherapy.

Cancer Sci 104, 1045-51 (2013).

2. 学会発表

61th Conference on Mass Spectrometry and Allied Topics

平成25年6月13日 (Minneapolis Convention Center, Minneapolis, USA)

Ono M., Kamita M, Sakuma T, Banno M, Yamada T

Comparative phosphoproteomic analysis of 106 human liver tissues by 2-dimensional image-converted analysis of liquid chromatography and mass spectrometry (2DICAL)

Hupo 2013 12th Annual World Congress

平成25年9月16日 (パシフィコ横浜、横浜市)

Ono M., Kamita M, Sakuma T, Gomi M, Banno M, Yamada T

Phosphoproteomics of human liver cancer analyzed by 2DICAL

第72回日本癌学会学術総会

平成25年10月4日 (パシフィコ横浜、横浜)

市)

Ono M, Kamita M, Miyamoto Y, Otake Y,
Sakamoto T, Nakajima T, Matsuda T, Saito
Y, Yamada T

Proteomic approach to adenoma-carcinoma
sequence of colorectal cancer by 2DICAL

特許

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

なし

H.知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

別紙 3

厚生労働科学研究費補助金（難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業）
（がん関係研究分野）（分担）研究報告書 平成 25 年度

血漿アポリポプロテイン AII アイソフォームを用いた膵がん診断法の開発
研究分担者 本田一文 国立がん研究センター研究所 ユニット長
小林道元 東レ株式会社・先端融合研究所 主任研究員
鄭 基晩 東レ株式会社・先端融合研究所 主席研究員
金田 隆 日本大学松戸歯学部放射線学講座 教授
加藤仁夫 日本大学松戸歯学部インプラント科 教授

研究要旨

早期膵がんを検出する血漿診断マーカーを開発し、膵がんの死亡率の改善を目的とする。アポリポプロテイン AII (apoAII) 2 量体中の C 末端に変化を受けた 5 種類のアイソフォームが膵がん血漿中に循環していることを先行研究で同定した。ApoAII の 2 量体の片側鎖の C 末端からグルタミンが欠失したタイプのアイソフォーム (apoAII-2) の減弱が早期膵がんから認められ、質量分析用いた膵がん血漿解析により早期膵がん診断マーカーとしての有用性を明らかにしてきた。

本年度の研究では、apoAII-2 を定量的に測定するサンドウィッチ ELISA キットの開発を進め、早期膵がんを含む消化器がん、消化器疾患、健常者の血漿を用いて、臨床性能を評価した。ELISA キットの性能は、先行研究である質量分析で行われた結果と遜色がないことを証明し、臨床検査として実用化への道筋をつけた。

A. 研究目的

早期膵がんを低侵襲な方法で検出する血漿バイオマーカーは、膵がん死亡率を改善する。本研究の目的は、血漿・血清を用いて早期膵がんを診断するバイオマーカーを開発することである。

B. 倫理面の配慮

研究を進めるにあたり、国立がん研究センター及び東レ株式会社の倫理審査委員会の承認を受けた。

C. 研究結果

1) ApoAII-2 に対するサンドウィッチ ELISA キットの構築

ApoAII-2 の C 末端に特異的に反応する特異抗体を作製し、apoAII-2 を定量的に測定するサンドウィッチ ELISA 検査系を構築した (apoAII-2 サンドウィッチ ELISA)。

ApoAII-2 サンドウィッチ ELISA を使用して、先行研究で質量分析を用いて測定した apoAII-2 の結果と比較した。200 例以上の健常者と膵がんを含む血漿検体を用いて、質量分析結果と ELISA による apoAII-2 の血漿中の量比を比較したが、相関係数は 0.82 を超え、ELISA の結果と質量分析の結果は、apoAII-2 を測定する上で同等な結果であった。先行研究で基本理論を構築した質量分析検査系から、臨床検査に特化した ELISA 検査系への移行が完了した。

質量分析検査系では、apoAII-2 の血漿内濃度を定量的に測定することは困難であったが、apoAII-2 ELISA 検査の開発により、apoAII-2 の血漿内濃度を絶対定量系で測定

が可能になった。質量分析に比較して、コスト面での削減と測定時間の短縮が期待できる。

2) ApoAII-2 サンドウィッチ ELISA キットの臨床性能

500 例を超える早期膵がんを含む消化器がん、消化器良性疾患、健常者の血漿における apoAII-2 濃度を、apoAII-2 ELISA キットで再測定した。

ApoAII-2 ELISA キットの血漿内濃度は、先行研究で示された質量分析で測定された時の結果と同様に、膵がん患者で顕著な減少が認められ、膵がんと健常者における判別性能は ROC 解析における AUC 値で、0.9 を上回った。この AUC 値は、既存の膵がんの血漿バイオマーカーである CA19-9 の AUC 値と比較しても遜色のない結果であった。ApoAII-2 の血漿内発現は、CA19-9 とは相補的になり、CA19-9 と apoAII-2 の組み合わせは、CA19-9 に反応しない膵がん患者を捕捉するバイオマーカーとしても有用であった。

3) 【検体収集プロジェクト】

日本大学松戸歯学部から血液収集プロトコールに従い 85 例の健常者血漿・血清の登録がされた。

E. 結論

1) 質量分析に頼らない apoAII-2 の血漿濃度測定法を考案した。

2) 臨床検査に特化した測定系の考案により、膵がん診断を目指した検査系構築への道筋をつけた。

G. 研究発表
(論文)

1: Masuda M, Chen WY, Miyanaga A, Nakamura Y, Kawasaki K, Sakuma T, Ono M, Chen CL, Honda K, Yamada T. Alternative mTOR signal activation in sorafenib-resistant hepatocellular carcinoma cells revealed by array-based pathway profiling. Mol Cell Proteomics. In press

2: Watabe Y, Mori T, Yoshimoto S, Nomura T, Shibahara T, Yamada T, Honda K. Copy number increase of ACTN4 is a prognostic indicator in salivary gland carcinoma. Cancer Med. 2014 Feb 27.

3: Kobayashi E, Satow R, Ono M, Masuda M, Honda K, Sakuma T, Kawai A, Morioka H, Toyama Y, Yamada T. MicroRNA Expression and Functional Profiles of Osteosarcoma. Oncology. 2014 Jan 18;86(2):94-103. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 24457375.

4: Sakane A, Alamir Mahmoud Abdallah A, Nakano K, Honda K, Kitamura T, Imoto I, atsushita N, Sasaki T. Junctional Rab13-binding protein (JRAB) regulates cell preading via filamins. Genes Cells. 2013 Sep;18(9):810-22. doi:10.1111/gtc.12078. Epub 2013 Jul 25. PubMed PMID: 23890175.

5: Noro R, Honda K, Tsuta K, Ishii G, Maeshima AM, Miura N, Furuta K, Shibata T, Tsuda H, Ochiai A, Sakuma T, Nishijima N, Gemma A, Asamura H, Nagai K, Yamada T. Distinct outcome of stage I lung adenocarcinoma with ACTN4

cell motility gene amplification. Ann Oncol. 2013 Oct;24(10):2594-600. doi: 10.1093/annonc/mdt293.

Epub 2013 Jul 30. PubMed PMID: 23899839.

6: Makuuchi Y, Honda K, Osaka Y, Kato K, Kojima T, Daiko H, Igaki H, Ito Y, Hoshino S, Tachibana S, Watanabe T, Furuta K, Sekine S, Umaki T, Watabe Y, Miura N, Ono M, Tsuchida A, Yamada T. Soluble interleukin-6 receptor is a serum biomarker for the response of esophageal carcinoma to neoadjuvant chemoradiotherapy. Cancer Sci. 2013 Aug;104(8):1045-51. doi: 10.1111/cas.12187. Epub 2013 Jun 13. PubMed PMID: 23648090.

7: Ohtomo R, Mori T, Shibata S, Tsuta K, Maeshima AM, Akazawa C, Watabe Y, Honda K, Yamada T, Yoshimoto S, Asai M, Okano H, Kanai Y, Tsuda H. SOX10 is a novel marker of acinus and intercalated duct differentiation in salivary gland tumors: a clue to the histogenesis for tumor diagnosis. Mod Pathol. 2013 Aug;26(8):1041-50. doi: 10.1038/modpathol.2013.54. Epub 2013 Apr 5. PubMed PMID: 23558573.

(特許)

1. 発明の名称: α -アクチニン-4 遺伝子のコピー数または発現レベルを指標とした膵癌の検出を補助する方法および診断のためのキット

特許番号: 第 5391400 号

特許登録日: 平成 25 年 10 月 25 日

発明者: 本田一文 他 7 名

研究報告書

平成25年度厚生労働科学研究費補助金
 (難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業 (がん関係研究分野))
 分担研究報告書

血液検体のゲノム・エピゲノム・トランスクリプトーム解析に基づく、
 膵がん・肺がん等の高危険度群の捕捉のためのバイオマーカー同定研究

分担研究課題名：臨床情報管理

研究分担者 浅村尚生 国立がん研究センター中央病院 呼吸器外科長

研究要旨 TR研究を推進するに当たっては、とくにその生物学的意義の検討において重要となる予後情報をどのように臨床側より提供されるべきかが問題となる。観察期間が長期化しやすい比較的予後良好の早期症例に関してはなお一層、その点が重要となる。そのためには腫瘍の病理生物学的特性を加味した検討が必要である。

A. 研究目的

腫瘍学におけるTR研究推進に当たって、基礎研究側において結果の腫瘍学的意味づけの上で欠かせない臨床情報をどのように提供されるべきかについて検討を行う。

B. 研究方法

TR研究において、例えば、特定のバイオマーカーの生物学的意義について検討を行う場合には、予後情報との関連性をみることに必須である。予後情報については、特に前向き研究の場合、収集すべき情報の特性についての検討が必要である。このような点を、生物統計学的な見地から検討を加えた。

C. 研究結果

比較的予後良好な早期がんを対象とする治療介入の臨床試験においては、全生存overall survivalなどを主評価項目として第Ⅲ相試験として比較検討されることが多い。バイオマーカーの意義を検証する際にも、比較的早期の症例を対象とすれば、同様に全生存を主評価項目とすることが求められる。全生存は、明確に事象の発生時を特定出来る長所を有する反面、短所として、長期の観察期間が必要とされること、腫瘍に関連しない他病死が多いがん腫ではその意義が曖昧となることの欠点が挙げられる。

D. 考察

特に、バイオマーカーの生物学的意義を討していく場合、長期の観察期間は大きく短所となるため、信頼性は高くてもこのような予後情報は研究成果の早期のフィードバックという観点から問題が多い。全生存のsurrogateとしては、無病生存disease

free survival といった指標も用いることが出来る。この場合、全生存に比較するとより早期に結論を得ることは出来る一方、事象の発生時、すなわち、生存期間が観察方法によって影響を受けやすい、あるいは再発後の後治療に対する反応によって、全生存と結果が乖離するなどの欠点も指摘される。このようなことから、TR研究に適した予後情報は、対象とする腫瘍の病理生物学的な特性を基盤とした選択と、研究結果公表までの期間の短縮といった両側面からの多重な視点が必要である。

E. 結論

TR研究においては、バイオマーカーの予後予測因子としての検証においては、予後情報との関連性の検討が不可欠ではあるけれども、全生存などの長期観察が必要となるパラメーターはその妥当性を腫瘍の病理学的な特性とのかねあいから、評価項目としての妥当性が検討されなければならない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Asamura H, Hishida T, Suzuki K, Koike T, Nakamura K, Kusumoto M, Nagai K, Tada H, Mitsudomi T, Tsuboi M, Shibata T, Fukuda H: Japan Clinical Oncology Group Lung Cancer Surgical Study Group. Radiographically determined noninvasive adenocarcinoma of the lung: Survival outcomes of Japan Clinical Oncology Group 0201. J Thorac Cardiovasc Surg 2013;146(1):24-30.