

201438092A

厚生労働科学研究委託費  
革新的がん医療実用化研究事業

前向き大規模コホート研究において  
既に収集されているがん罹患前試料・情報を用いた  
発がんリスク要因の探索と層別化に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 岩崎 基

平成 27 (2015) 年 3 月

本報告書は、厚生労働省の革新的がん医療実用化研究事業による委託業務として、独立行政法人国立がん研究センター理事長 堀田 知光が実施した平成26年度「前向き大規模コホート研究において既に収集されているがん罹患前試料・情報を用いた発がんリスク要因の探索と層別化に関する研究」の成果を取りまとめたものです。

厚生労働科学研究委託費  
革新的がん医療実用化研究事業

前向き大規模コホート研究において  
既に収集されているがん罹患前試料・情報を用いた  
発がんリスク要因の探索と層別化に関する研究

平成26年度 委託業務成果報告書

業務主任者 岩崎 基

平成 27 (2015) 年 3 月

## 目 次

I.	委託業務成果報告（総括）		
	前向き大規模コホート研究において既に収集されているがん罹患前試料・情報を用いた発がんリスク要因の探索と層別化に関する研究		
	岩崎 基	-----	1
II.	委託業務成果報告（業務項目）		
	1. 既知の遺伝要因及び血漿バイオマーカーと全がん罹患リスクについての再現性の確認に関する研究（a. SNPタイピングおよび血漿バイオマーカーの分析）		
	岩崎 基	-----	15
	2. 既知の遺伝要因及び血漿バイオマーカーと大腸がん罹患リスクについての再現性の確認に関する研究（b. 既存情報とがんリスクとの関連の検討）		
	山地 太樹	-----	25
	3. 既知の遺伝要因及び血漿バイオマーカーと大腸がん罹患リスクについての再現性の確認に関する研究（b. 既存情報とがんリスクとの関連の検討）		
	澤田 典絵	-----	33
	4. メタボローム解析による新規リスク要因の探索に関する研究		
	吉田 優	-----	39
	5. リスク予測モデルの構築と検証に関する研究		
	口羽 文	-----	43
III.	学会等発表実績	-----	47
IV.	研究成果の刊行物・別刷	-----	51

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）

委託業務成果報告（総括）

前向き大規模コホート研究において既に収集されているがん罹患前試料・情報を用いた  
発がんリスク要因の探索と層別化に関する研究

業務主任者 岩崎 基 (独)国立がん研究センターがん予防・検診研究センター  
疫学研究部部長

研究要旨

1) 既知の遺伝的要因及び血漿バイオマーカーとがん罹患リスクについての再現性の確認

a. SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析

リスク予測モデルに含める既知のゲノム情報は、SNP チップを用いてゲノム網羅的に収集することを計画しており、平成 26 年度から測定を開始した。リスク予測モデルに含める既知の血漿バイオマーカー情報は、ゲノム情報とは異なり、網羅的に収集することが困難なため、研究計画時にリストアップしていた分析候補の中から、平成 26 年度は C-peptide の測定をがん症例 約 3,750 名とサブコホート対照 約 4,500 名の血漿検体を用いてケース・コホート研究のデザインで行った。その際、分析時期の違いを検討したり、研究の拡張性を担保したりする目的で QC サンプルを加えている。平成 27 年度は、基礎研究と疫学研究の知見から抗腫瘍効果が期待されるビタミン D に着目し、同数の症例・対照で血漿濃度の測定を行う予定である。

b. 既存情報とがんリスクとの関連の検討

【大腸がん】本委託事業における平成 26 年度の業務として、ビタミン D 受容体の遺伝子内に存在する遺伝的ブロック構造をもとに 29 の tag SNP を選択し、ビタミン D 受容体の遺伝子全体にわたって大腸がんとの関連を検討したが、統計学的有意な結果は得られなかった。来年度は、前向き大規模コホート研究である「多目的コホート研究」において既に収集されている血漿中ビタミン D 濃度を用いて、ビタミン D 受容体の遺伝子多型との遺伝-環境交互作用を検討することで、発がんリスクの層別化に寄与するエビデンスの構築を目的に、日本人集団での再現性を確認したい。

【前立腺がん】本研究対象者の血漿中 25(OH)D 濃度は、先行研究と比較して、高濃度で範囲が狭いことがわかった。現在、前立腺がんとのリスクについて解析中である。今後は、今回の結果を含む生活習慣関連要因、および、既知の遺伝的要因から、疾患予測モデルの作成の検討を行う予定である。

## 研究要旨（続き）

### 2) メタボローム解析による新規リスク要因の探索

本委託事業における平成 26 年度の業務として、ガスクロマトグラフ質量分析計、あるいは液体クロマトグラフ質量分析計を用いた 4 つの分析プラットフォームによる血漿代謝物分析システムを構築した。さらに、前向き大規模コホート研究である「多目的コホート研究」において既に収集されている血漿検体を用いて、大腸がんの Training set (60 症例、120 対照) の分析を開始した。平成 27 年度も引き続き、大腸がんの Training set の分析を進めていき、大腸がんに対する新規リスク要因候補を見出していく。

### 3) リスク予測モデルの構築と検証

本委託事業における平成 26 年度の業務として、予測モデルの良さを評価するための指標の一つである C-index に対して、ケース・コホート研究あるいはコホート内症例対照研究から推定するために重み付き C-index の定義をまとめた。平成 27 年度は、考察で述べた課題に加え、C-index 以外の予測性能評価指標についても整理を行い、本委託事業で構築する予測モデルの評価方法を確立する予定である。

## 業務項目の担当責任者

山地 太樹（国立がん研究センターがん予防・検診研究センター疫学研究部・室長）

澤田 典絵（国立がん研究センターがん予防・検診研究センター疫学研究部・室長）

口羽 文（国立がん研究センター研究支援センター生物統計部生物統計室・研究員）

吉田 優（神戸大学大学院医学研究科内科系講座病因病態解析学分野・准教授）

再現性の確認を行うこと（a. SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析、b. 既存情報とがんリスクとの関連の検討）、2) メタボローム解析による新規リスク要因の探索を行うこと、3) リスク予測モデルの構築と検証を行うことを業務の柱としている。

1) 既知の遺伝的要因及び血漿バイオマーカーとがん罹患リスクについての再現性の確認

a. SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析

本委託事業で計画している SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析を実施するに当たり、前向き大規模コホート研究である「多目的コホート研究」において既

## A. 研究目的

本委託事業においては、生活習慣要因にゲノム情報および血漿バイオマーカー情報を取り入れたリスク予測モデルの構築を目的として、1) 既知の遺伝的要因及び血漿バイオマーカーとがん罹患リスクについての

に収集されているがん罹患前試料を用いるという本委託事業の特性を踏まえて、分子疫学的な研究デザインの検討を行った上で、SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析を実施することとした。

b. 既存情報とがんリスクとの関連の検討

本委託事業における平成 26 年度の業務として、多目的コホート研究で既に収集されている試料・情報を用いて、ビタミン D 受容体の遺伝子多型と大腸がんとの関連、および血漿ビタミン D 濃度と前立腺がんとの関連を検討し、日本人集団での再現性を確認することにした。

2) メタボローム解析による新規リスク要因の探索

本委託事業における平成 26 年度の業務として、多目的コホート研究参加者でアンケート情報がない集団からコホート内症例対照研究のデザインで大腸がんの Training set (60 症例、120 対照) を構築し、ガスクロマトグラフ質量分析計、あるいは液体クロマトグラフ質量分析計を用いたメタボローム解析を行い、大腸がんに対する新規リスク要因候補の探索を行うこととした。

3) リスク予測モデルの構築と検証

本委託事業における平成 26 年度の業務として、ケース・コホート研究デザインおよびコホート内症例対照研究デザインから得られるデータを用いて C-index を推定する方法について検討することにした。

B. 研究方法

本委託事業の研究基盤となる「多目的コホート研究」において、主に 1990 年から追

跡が開始された 4 つの保健所(岩手県二戸保健所、秋田県横手保健所、長野県佐久保健所、沖縄県中部保健所)の管内に在住する住民と、主に 1993 年から追跡が開始された 5 つの保健所(茨城県水戸保健所、新潟県長岡保健所、高知県中央東保健所、長崎県上五島保健所、沖縄県宮古保健所)の管内に在住する住民のうち、研究開始時の質問票に回答し、健診などの機会に研究のために血液を提供した 40 歳以上 70 歳未満(調査開始時年齢)の男女は約 3.4 万人いて、本研究の母集団となる。

1) 既知の遺伝要因及び血漿バイオマーカーとがん罹患リスクについての再現性の確認

a. SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析

本研究の母集団全員を対象に、既に収集されているがん罹患前試料を用いて SNP タイピングや血漿バイオマーカーの分析を行うことは現実的ではないため、約 3.4 万人の母集団から本研究の対象者をサンプリングして研究効率を高める必要がある。そこで、前向き大規模コホート研究を基盤とする分子疫学研究において良く選択される研究デザインであるコホート内ケース・コントロール研究とケース・コホート研究の長所・短所を比較し、本研究の目的に沿った研究デザインを選択し、血漿バイオマーカーの分析を開始することにした。

b. 既存情報とがんリスクとの関連の検討

【大腸がん】2003 年末までの追跡期間中に大腸がんと診断された人を症例とし、症例 1 名に対し性、年齢等がマッチする対照 2 名を選択することで、症例 375 名と対照 750 名を含む大腸がんのコホート内症例対照研究をデザインした。ビタミン D 受容体

の遺伝子多型解析は、多目的コホート研究の開始時に収集されたパフィーコート検体を用いて行った。統計解析では、質問票から得られた、喫煙習慣、飲酒習慣、BMI 等を交絡要因として調整し、条件付きロジスティック解析を用いて、4 つの遺伝学的モデル (genotype model・additive model・dominant model・recessive model) で、大腸がんのオッズ比とその 95%信頼区間を算出した。

【前立腺がん】2004年12月31日までの追跡期間中に前立腺がんを発症した201名に対して、年齢、居住地、採血年月日、採血時間、空腹時間をマッチングして、1症例につき2対照を選択し(402対照)、コホート研究開始時の血漿サンプルについて血漿中25hydroxi vitamin D(25(OH)D)濃度を測定し、コホート内症例対照研究において、前立腺がん罹患との関連の検討を行った。解析時には、質問票から得られた、喫煙習慣、飲酒習慣、婚姻状況、BMI、緑茶・味噌汁飲用、カルシウム摂取量を交絡要因として調整した上でロジスティック解析を用いて、オッズ比を算出した。

## 2) メタボローム解析による新規リスク要因の探索

メタボローム解析は、ガスクロマトグラフ質量分析計、あるいは液体クロマトグラフ質量分析計を用いた4つの分析プラットフォームにより実施した。なお、4つの分析プラットフォームは、以下の通りである。

- ①ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた有機酸・糖アルコール等の分析系
- ②液体クロマトグラフ質量分析計を用いたリン脂質を中心とした脂質分析系
- ③液体クロマトグラフ質量分析計を用いた糖リン酸・有機酸などアニオン系分子

を中心とした分析系

- ④液体クロマトグラフ質量分析計を用いたアミノ酸・有機酸などカチオン系分子を中心とした分析系

得られた測定結果をそれぞれデータ解析に供し、半定量データの取得を行った。

## 3) リスク予測モデルの構築と検証

ケース・コホート研究デザインあるいはコホート内症例対照研究デザインから得られたデータを用いて予測モデルの評価を行うために、重み付き C-index の定義をまとめた。

(倫理面への配慮)

多目的コホート研究では、採血当時、口頭および文書での説明を行い、口頭または文書で同意を得ている。多目的コホート研究における血液提供者には、生体試料を用いた研究実施に関する説明書を郵送して案内し、問い合わせおよび提供された血液試料の本研究での利用を拒否する機会を保障し、ホームページなどを通じて広く情報を公開している。すでに採取され保存されている血液を使用するので、新たに生じる侵襲的負担は生じない。

生体試料を用いた解析について、国立がん研究センターの倫理審査委員会にて承認を得ている。

## C. 研究結果

- 1) 既知の遺伝要因及び血漿バイオマーカーとがん罹患リスクについての再現性の確認
  - a. SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析

Figure 1 にコホート内ケース・コントロール研究とケース・コホート研究の長所・短所を比較した結果をまとめる。ケース・コホート研究で用いるサブコホートは、コホート



全体を反映するようランダムサンプリングされており、代表性が高い集団であると言える。そのため、サブコホートを共通コントロールとすることで、様々な疾患との関連を効率よく検討できる。コホート内ケース・コントロール研究では、対象疾患ごとにケース・コントロールを構築する必要があるため、対象疾患が多くなると効率が悪くなる。

サブコホートで分析した項目は、様々な疾患の対照として利用可能であるが、サブコホートと異なる時期に分析が行われると、分析条件の違いが問題となる可能性がある。特に、血漿バイオマーカーの分析ではQCサンプルなどを準備し、分析条件の違いを検討できるようにしておく必要がある。

本委託事業のように複数のアウトカムを対象とした研究を行う場合、サブコホートで分析した項目は複数の疾患の対照として利用可能であるため、コホート内ケース・コントロール研究よりもケース・コホート研究の方が、SNP タイピングや血漿バイオマーカーの分析結果を効率よく利用することが出来る。そこで、本研究では、母集団となる「多目的コホート研究」の約3.4万人から発生した全がん症例（約3,750）と、同じ母集団からランダムサンプリングした約4,500名をサブコホートとして、ケース・コホート研究をデザインすることにし、C-peptideの分析を実施することにした。その際、分析時期の違いを検討したり、研究の拡張性を担保したりする目的でQCサンプルを加えることとした。

#### b. 既存情報とがんリスクとの関連の検討

【大腸がん】Table 1 に genotype model での大腸がんのオッズ比とその95%信頼区間を示す。Major Homozygous を対照とした

とき、Heterozygous と Minor Homozygous がともに大腸がんと統計学的有意に関連しているビタミンD受容体の遺伝子多型は無かった。

Figure 2 の A~C に additive model・dominant model・recessive model での大腸がんのオッズ比とその95%信頼区間を示す。大腸がんと統計学的有意に関連しているビタミンD受容体の遺伝子多型は、additive model と dominant model でそれぞれ6 SNPs あったが、recessive model では0 SNPs あった。additive model と dominant model で統計学的有意であったビタミンD受容体の遺伝子多型も、検討の多重性を考慮すると統計学的有意でなくなった。

【前立腺がん】表1に対象者の属性を示す。症例と対照における、平均年齢、および、体格・喫煙者・飲酒者・婚姻状況あり・緑茶飲用・みそ汁飲用の各割合について比較したが、統計学的有意な差はみとめられなかった。

表2に血漿中25(OH)D濃度を示す。症例と対照における統計学的有意な差はみとめられなかった

#### 2) メタボローム解析による新規リスク要因の探索

4つの分析プラットフォームによる血漿検体分析の妥当性について検討し、それぞれの分析プラットフォームで分析可能な血漿中代謝物リストを作成した。続けて、多目的コホート研究参加者のうち、アンケート情報がない対象者から構築したコホート内症例対照研究の血漿検体(Training set)の分析を開始し、現在、分析進行中である。

#### 3) リスク予測モデルの構築と検証

Harrellら(1996)は、C-indexを生存時間データへ拡張している。 $C_i = \sum_j C_{ij}$ 、 $D_i = \sum_j D_{ij}$

とすると、Harrellら(1996)のC-indexは以下のように推定できる。

$$C\text{-index} = \frac{\sum_i C_i}{\sum_i (C_i + D_i)}$$

ここで、C-indexについても重み付き推定を考える。対象者*i*のサンプリング確率の逆数  $w_i$  を重みとして用いれば、ケース・コホート研究、あるいはコホート内症例対照研究データを用いてC-indexは以下のように推定できる(Gannaら, 2012)。ただし、疾患を発症した対象者は確率1でサンプリングされるものとする。

$$wC\text{-index} = \frac{\sum_i w_i C_i}{\sum_i w_i (C_i + D_i)}$$

#### D. 考察

1) 既知の遺伝要因及び血漿バイオマーカーとがん罹患リスクについての再現性の確認

a. SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析

本委託事業では、複数のアウトカムを対象に研究を行うことから、ケース・コホート研究デザインを採用し、SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析を実施することとした。分析時期の違いを検討したり、研究の拡張性を担保したりする目的でQCサンプルを加えて、血漿バイオマーカーの分析を行った。平成26年度は、採用した研究デザインを基に研究対象者を選択し、がん症例約3,750名とサブコホート対照約4,500名の血漿検体を準備する必要があったため、C-peptideの測定開始までにかかなりの時間を要してしまった。平成27年度は、検体準備の時間が省略できるので、血漿分析もよりスムーズに進捗する予定である。

b. 既存情報とがんリスクとの関連の検

#### 討

【大腸がん】従来の分子疫学研究では、ビタミンD受容体の遺伝子多型のうち制限酵素法で分析が可能なrs7975232 (ApaI)、rs2228570 (FokI)、rs731236 (TaqI)、rs11568820 (CDX2)を中心に研究が行われてきた。本研究ではrs7975232 (ApaI)、rs2228570 (FokI)、rs731236 (TaqI)、rs11568820 (CDX2)を含む29のビタミンD受容体の遺伝子多型と大腸がん罹患リスクとの関連を4つの遺伝学的モデル(genotype model・additive model・dominant model・recessive model)で検討したが、検討の多重性まで考慮すると、統計学的有意な結果は得られなかった。

本研究の特徴は、ビタミンD受容体の遺伝子内に存在する遺伝的ブロック構造を基にtag SNPを選択し、ビタミンD受容体の遺伝子全体にわたって大腸がんとの関連が検討したことである。本研究の限界点は、前向き大規模コホート研究である「多目的コホート研究」から構築された、症例375名と対照750名を含む大腸がんのコホート内症例対照研究であっても、多数の遺伝子多型を検討するには十分な統計学的パワーが得られなかったことである。

【前立腺がん】本研究の25(OH)D濃度(28.0-39.0 ng/ml)は、他の先行研究と比較して、高濃度で範囲が狭かった。

25(OH)Dの産生には日照時間と肌のメラニン色素が関与しており、先行研究が行われた国と日本とはそれらが異なることによりビタミンD産生の差に影響があること、ビタミンD摂取源が乳製品である(Calvo et al. 2005, 2013)のに対し、日本人はビタミンDの摂取源が魚である(Nakamura et al. 2002)ことが要因として考えられる。

## 2) メタボローム解析による新規リスク要因の探索

ガスクロマトグラフ質量分析計、あるいは、液体クロマトグラフ質量分析計を用いた4つの分析プラットフォームを採用することで、数多くの血漿中代謝物の分析が可能である。分析できる代謝物数が多ければ、大腸がんに対する新規リスク要因を見つける可能性も高くなり、低分子代謝物を網羅的に解析する技術メタボローム解析を、前向き大規模コホート研究において既に収集されている血漿検体を用いた新規リスク要因探索に供することは意義があるとともに、その実現性も高いと考える。

## 3) リスク予測モデルの構築と検証

Inverse Probability Weighting (IPW) 法では、まず各対象者への重み  $w$  を求める必要がある。デザインに基づくサンプリング確率のほか、あるデータが観測されるかどうかを適切な回帰モデルを用いて推定する方法も考えられる。C-index 推定に対する重みの推定方法の影響は今後の検討課題である。また、分散の推定方法も整理する必要がある。

## E. 結論

### 1) 既知の遺伝的要因及び血漿バイオマーカーとがん罹患リスクについての再現性の確認

#### a. SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析

前向き大規模コホート研究である「多目的コホート研究」で既に収集されている貴重で限りあるがん罹患前試料をもちいて、本委託事業が目的とする生活習慣要因にゲノム情報および血漿バイオマーカー情報を取り入れたリスク予測モデルの構築を達成するためにも、大腸がん・乳がん・前立腺がんなどの主要部位別および全がんを対象とし

たケース・コホート研究のデザインで、SNP タイピングや血漿バイオマーカーの分析を行うこととした。平成26年度は、肥満および糖尿病との関連から特に有望と考えられるC-peptideの測定をがん症例 約3,750名とサブコホート対照 約4,500名の血漿検体を用いて行った。その際、分析時期の違いを検討したり、研究の拡張性を担保したりする目的でQCサンプルを加えている。平成27年度は、基礎研究と疫学研究の知見から抗腫瘍効果が期待されるビタミンDに着目し、同数の症例・対照で血漿濃度の測定を行う予定である。

#### b. 既存情報とがんリスクとの関連の検討

【大腸がん】本委託事業における平成26年度の業務として、ビタミンD受容体の遺伝子内に存在する遺伝的ブロック構造をもとに29のtag SNPを選択し、ビタミンD受容体の遺伝子全体にわたって大腸がんとの関連を検討したが、統計学的有意な結果は得られなかった。来年度は、前向き大規模コホート研究である「多目的コホート研究」において既に収集されている血漿中ビタミンD濃度を用いて、ビタミンD受容体の遺伝子多型との遺伝-環境交互作用を検討することで、発がんリスクの層別化に寄与するエビデンスの構築を目的に、日本人集団での再現性を確認したい。

【前立腺がん】本研究対象者の血漿中25(OH)D濃度は、先行研究と比較して、高濃度で範囲が狭いことがわかった。現在、前立腺がんとのリスクについて解析中である。今後は、今回の結果を含む生活習慣関連要因、および、既知の遺伝的要因から、疾患予測モデルの作成の検討を行う予定である。

## 2) メタボローム解析による新規リスク要因の探索

本委託事業における平成 26 年度の業務として、ガスクロマトグラフ質量分析計、あるいは液体クロマトグラフ質量分析計を用いた 4 つの分析プラットフォームによる血漿代謝物分析システムを構築した。さらに、前向き大規模コホート研究である「多目的コホート研究」において既に収集されている血漿検体を用いて、大腸がんの Training set (60 症例、120 対照) の分析を開始した。平成 27 年度も引き続き、大腸がんの Training set の分析を進めていき、大腸がんに対する新規リスク要因候補を見出していく。

## 3) リスク予測モデルの構築と検証

予測モデルの良さを評価するための指標の一つである C-index に対して、ケース・コホート研究あるいはコホート内症例対照研究から推定するために重み付き C-index の定義をまとめた。平成 27 年度は、考察で述べた課題に加え、C-index 以外の予測性能評価指標についても整理を行い、本委託事業で構築する予測モデルの評価方法を確立する予定である。

## F. 健康危険情報 なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) Wang H, Burnett T, Kono S, Haiman CA, Iwasaki M, Wilkens LR, Loo LW, Van Den Berg D, Kolonel LN, Henderson BE, Keku TO, Sandler RS, Signorello LB, Blot WJ, Newcomb PA, Pande M, Amos CI, West DW, Bézieau S, Berndt SI, Zanke BW, Hsu L; Genetics and Epidemiology of Colorectal

Cancer Consortium (GECCO), Lindor NM, Haile RW, Hopper JL, Jenkins MA, Gallinger S, Casey G; Colon Cancer Family Registry (CCFR), Stenzel SL, Schumacher FR, Peters U, Gruber SB; Colorectal Transdisciplinary Study (CORECT), Tsugane S, Stram DO, Le Marchand L. Trans-ethnic genome-wide association study of colorectal cancer identifies a new susceptibility locus in VTI1A. Nat Commun. 2014;5:4613.

2) Michikawa T, Inoue M, Sawada N, Tanaka Y, Yamaji T, Iwasaki M, Shimazu T, Sasazuki S, Mizokami M, Tsugane S; for the Japan Public Health Center-based Prospective Study Group. Plasma isoflavones and risk of primary liver cancer in Japanese women and men with hepatitis virus infection: a nested case-control study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 2015;24(3):532-7.

3) Hidaka A, Sasazuki S, Goto A, Sawada N, Shimazu T, Yamaji T, Iwasaki M, Inoue M, Noda M, Tajiri H, Tsugane S; JPHC Study Group. Plasma insulin, C-peptide and blood glucose and the risk of gastric cancer: the Japan Public Health Center-based prospective study. Int J Cancer. 2015;136(6):1402-10.

4) Hidaka A, Sasazuki S, Matsuo K, Ito H, Sawada N, Shimazu T, Yamaji T, Iwasaki M, Inoue M, Tsugane S; JPHC Study Group. Genetic polymorphisms of ADH1B, ADH1C and ALDH2, alcohol consumption, and the risk of gastric cancer: the Japan Public Health

Center-based prospective study.  
Carcinogenesis. 2015;36(2):223-31.

5) 山中 広大、小林 隆、西海 信、東 健、  
吉田 優 (2015) 血清メタボローム解析に  
もとづく早期大腸癌診断のバイオマーカー。  
G. I. Research 2月号, 第23巻, 第1号,  
46-51.

6) Fujiwara Y, Kobayashi T, Chayahara N,  
Imamura Y, Toyoda M, Kiyota N, Mukohara T,  
Nishiumi S, Azuma T, Yoshida M, Minami H.  
(2014) Metabolomics evaluation of serum  
markers for cachexia and their intra-day  
variation in patients with advanced  
pancreatic cancer. PLoS One. 9, e113259.

7) Matsubara A, Izumi Y, Nishiumi S,  
Suzuki M, Azuma T, Fukusaki E, Bamba T,  
Yoshida M. (2014) Supercritical fluid  
extraction as a preparation method for  
mass spectrometry of dried blood spots.  
Journal of Chromatography B, 969,  
199-204.

8) Inamura K, Yamauchi M, Nishihara R,  
Lochhead P, Qian ZR, Kuchiba A, Kim SA,  
Mima K, Sukawa Y, Jung S, Zhang X, Wu K,  
Cho E, Chan AT, Meyerhardt JA, Harris CC,  
Fuchs CS, Ogino S. Tumor LINE-1  
methylation level and microsatellite  
instability in relation to colorectal  
cancer prognosis. Journal of the National  
Cancer Institute. 2014; 106(9).

9) Li T, Liao X, Lochhead P, Morikawa T,  
Yamauchi M, Nishihara R, Inamura K, Kim SA,  
Mima K, Sukawa Y, Kuchiba A, Imamura Y,

Baba Y, Shima K, Meyerhardt JA, Chan AT,  
Fuchs CS, Ogino S, Qian ZR. SMO expression  
in colorectal cancer: associations with  
clinical, pathological and molecular  
features. Annals of Surgical Oncology.  
2014; 21(13):4164-73.

10) Imamura Y, Lochhead P, Yamauchi M,  
Kuchiba A, Qian ZR, Liao X, Nishihara R,  
Jung S, Wu K, Nosho K, Wang YE, Peng S, Bass  
AJ, Haigis KM, Meyerhardt JA, Chan AT,  
Fuchs CS, Ogino S. Analyses of  
Clinicopathological, Molecular, and  
Prognostic Associations of KRAS Codon 61  
and Codon 146 Mutations in Colorectal  
Cancer: Cohort Study and Literature  
Review. Molecular Cancer. 2014;  
13(1):135.

## 2. 学会発表

1) Kuchiba A, Wang M, Spiegelman D.  
Two-stage approach for identifying tumor  
subtypes associated with an exposure. The  
2014 Joint Statistical Meetings, Boston,  
MA. August 2-7, 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

1. 特許取得  
なし

2. 実用新案登録  
なし

3. その他  
なし

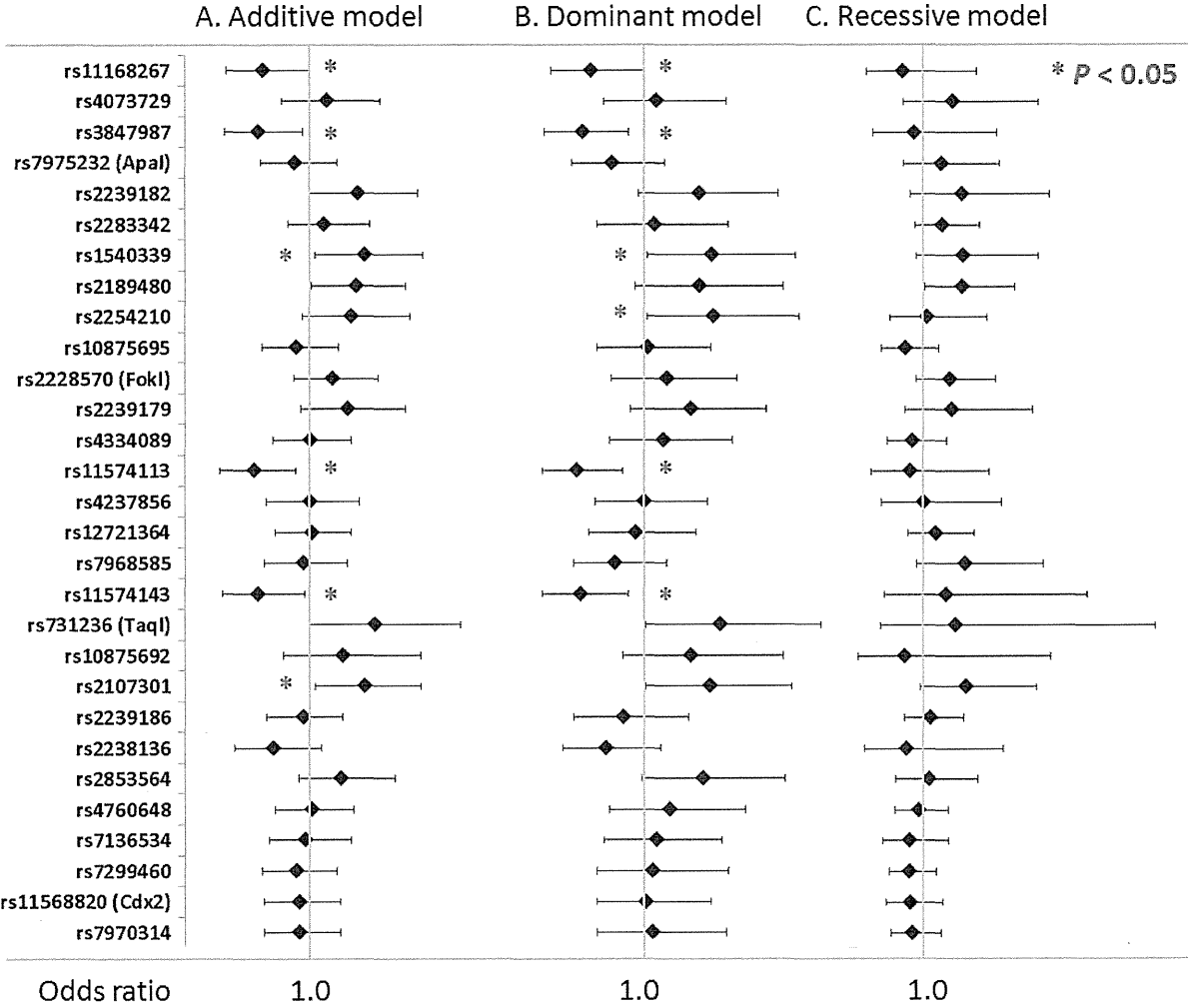
Figure 1.

## コホート内ケース・コントロール研究と ケース・コホート研究の比較

コホート内ケース・コントロール研究	ケース・コホート研究
コントロールは、ケースとマッチングしてサンプリングされるため、コントロールの分布がケースの分布に偏る。	サブコホートは、コホート全体を反映するようにランダムサンプリングされており、 <b>代表性が高い</b> 。断面研究としての利用価値も高い。
対象疾患ごとにケース・コントロールを構築するため、対象疾患が多くなると効率が悪くなる。	サブコホートを共通コントロールに <b>様々な疾患との関連が効率よく検討</b> できる。
ケース・コントロールごとに <b>分析条件をそろえることができる</b> 。	サブコホートで分析した項目は、様々な疾患の対照として利用可能であるが、サブコホートと異なる時期に分析が行われると、分析条件の違いが問題となる可能性がある。特に、血漿分析ではQCサンプルなどを準備し、分析条件の違いを検討できるようにしておく必要がある。

\* 両研究デザインとも、追跡期間中に発生した全ての症例を用いる。

Figure 2. Association of VDR gene polymorphisms and colorectal cancer risk. (Additive, dominant, and Recessive model)



Adjusted for smoking status, alcohol consumption, physical activity, body mass index, family history of CRC.

**Table 1. Association of VDR gene polymorphisms and colorectal cancer risk. (Genotype model)**

VDR gene polymorphisms	Major Homozygous OR (ref)	Heterozygous OR (95% CI)	Minor Homozygous OR (95% CI)	P trend
rs11168267	1.00 (ref.)	0.75 (0.55-1.02)	0.66 (0.31-1.40)	0.04
rs4073729	1.00 (ref.)	1.02 (0.77-1.36)	1.26 (0.72-2.21)	0.55
rs3847987	1.00 (ref.)	0.69 (0.51-0.93)	0.75 (0.36-1.56)	0.02
rs7975232 (ApaI)	1.00 (ref.)	0.80 (0.60-1.05)	1.03 (0.65-1.62)	0.43
rs2239182	1.00 (ref.)	1.22 (0.93-1.60)	1.48 (0.86-2.54)	0.07
rs2283342	1.00 (ref.)	0.99 (0.72-1.36)	1.13 (0.79-1.63)	0.50
rs1540339	1.00 (ref.)	1.27 (0.96-1.68)	1.52 (0.94-2.46)	0.03
rs2189480	1.00 (ref.)	1.18 (0.88-1.58)	1.47 (1.00-2.16)	0.05
rs2254210	1.00 (ref.)	1.36 (1.03-1.80)	1.12 (0.66-1.92)	0.11
rs10875695	1.00 (ref.)	1.08 (0.82-1.43)	0.77 (0.50-1.18)	0.47
rs2228570 (FokI)	1.00 (ref.)	1.05 (0.79-1.39)	1.25 (0.86-1.81)	0.29
rs2239179	1.00 (ref.)	1.19 (0.90-1.56)	1.34 (0.78-2.31)	0.14
rs4334089	1.00 (ref.)	1.15 (0.87-1.52)	0.88 (0.58-1.33)	0.90
rs11574113	1.00 (ref.)	0.67 (0.50-0.90)	0.71 (0.34-1.48)	0.01
rs4237856	1.00 (ref.)	1.00 (0.76-1.32)	0.93 (0.48-1.78)	0.91
rs12721364	1.00 (ref.)	0.93 (0.70-1.23)	1.02 (0.70-1.47)	0.96
rs7968585	1.00 (ref.)	0.78 (0.60-1.03)	1.25 (0.77-2.04)	0.68
rs11574143	1.00 (ref.)	0.66 (0.49-0.89)	1.02 (0.45-2.35)	0.03
rs731236 (TaqI)	1.00 (ref.)	1.35 (0.99-1.84)	1.38 (0.51-3.69)	0.06
rs10875692	1.00 (ref.)	1.24 (0.91-1.71)	0.78 (0.25-2.45)	0.34
rs2107301	1.00 (ref.)	1.25 (0.95-1.64)	1.55 (0.99-2.45)	0.03
rs2239186	1.00 (ref.)	0.88 (0.64-1.21)	0.92 (0.63-1.34)	0.64
rs2238136	1.00 (ref.)	0.82 (0.62-1.08)	0.68 (0.28-1.65)	0.12
rs2853564	1.00 (ref.)	1.31 (0.99-1.72)	1.13 (0.71-1.79)	0.18
rs4760648	1.00 (ref.)	1.16 (0.86-1.56)	0.97 (0.66-1.42)	0.98
rs7136534	1.00 (ref.)	1.10 (0.84-1.45)	0.82 (0.52-1.30)	0.79
rs7299460	1.00 (ref.)	1.12 (0.82-1.53)	0.84 (0.57-1.24)	0.43
rs11568820 (CDX2)	1.00 (ref.)	1.06 (0.80-1.41)	0.81 (0.54-1.23)	0.53
rs7970314	1.00 (ref.)	1.10 (0.81-1.51)	0.87 (0.60-1.27)	0.53

Adjusted for smoking status, alcohol consumption, physical activity, body mass index, family history of CRC.



表 1 対象者の属性

	症例	対照	p 値
人数	201	402	
年齢 (平均) ±SD	58.6±6.4	58.4±6.6	
BMI25 以上 (%)	24.9	24.4	0.89
飲酒者 (週 2 回以上) (%)	69.2	72.4	0.42
婚姻状況あり (%)	93.5	90.6	0.26
緑茶毎日飲む (%)	81.1	80.4	0.97
みそ汁毎日飲む (%)	82.6	78.9	0.18

P for Mantel-Haenszel test with matched-pair strata.

表 2. 血漿中 25hydroxy vitamin D (25 (OH)D)濃度

	症例	対照	p 値
25(OH)D 濃度 中央値 (4 分位範囲)	33.3 (28.0-39.0)	33.0 (28.0-38.0)	0.60

厚生労働科学研究委託費（革新的がん医療実用化研究事業）  
委託業務成果報告（業務項目）

既知の遺伝要因及び血漿バイオマーカーと全がん罹患リスクについての  
再現性の確認に関する研究

(a. SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析)

業務主任者 岩崎 基 (独)国立がん研究センターがん予防・検診研究センター  
疫学研究部部长

研究要旨

本委託事業においては、生活習慣要因にゲノム情報および血漿バイオマーカー情報を取り入れたリスク予測モデルの構築を目的として、リスク予測モデルに含める既知のゲノム情報および血漿バイオマーカー情報を得ることを業務の柱の一つとしている。本委託事業の研究基盤となる「多目的コホート研究」において研究開始時の質問票に回答し、研究のために血液を提供した40歳以上70歳未満の男女は約3.4万人いるため、SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析を行う対象者をサンプリングして研究効率を高める必要がある。そこで、分子疫学研究において良く選択されるコホート内ケース・コントロール研究とケース・コホート研究の長所・短所を比較し、本研究の目的に沿った研究デザインの選択を行った上で、SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析を実施することとした。本委託事業においては、複数のアウトカム（大腸がん・乳腺がん・前立腺がんなどの主要部位別および全がん）を対象とした研究を行うため、コホート内ケース・コントロール研究よりもケース・コホート研究の方が、SNP タイピングや血漿バイオマーカーの分析結果を効率よく利用することが出来る。選択された研究デザインに基づき、リスク予測モデルに含める既知の血漿バイオマーカー情報を得るため、平成26年度は肥満および糖尿病との関連から特に有望と考えられるC-peptideの測定をがん症例約3,750名とサブコホート対照約4,500名の血漿検体を用いて行った。その際、分析時期の違いを検討したり、研究の拡張性を担保したりする目的でQCサンプルを加えている。平成27年度は、基礎研究と疫学研究の知見から抗腫瘍効果が期待されるビタミンDに着目し、同数の症例・対照で血漿濃度の測定を行う予定である。リスク予測モデルに含める既知のゲノム情報は、SNP チップを用いてゲノム網羅的に収集することを計画しており、平成26年度から測定を開始した。

## A. 研究目的

本委託事業においては、生活習慣要因にゲノム情報および血漿バイオマーカー情報を取り入れたリスク予測モデルの構築を目的として、SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析を行い、リスク予測モデルに含める既知のゲノム情報および血漿バイオマーカー情報を得ることを業務の柱の一つとしている。リスク予測モデルに含める既知のゲノム情報は、SNP チップを用いてゲノム網羅的に収集することを計画しており、平成 26 年度から測定を開始した。リスク予測モデルに含める既知の血漿バイオマーカー情報は、ゲノム情報とは異なり、網羅的に収集することが困難なため、研究計画時にリストアップしていた分析候補の中から、平成 26 年度は C-peptide を選択し、測定を行うこととした。C-peptide は、肥満・身体活動・糖尿病既往と密接な関係にあり (Figure 1)、大腸・乳腺・前立腺などがんと関連が強く示唆されている血漿バイオマーカーである (Figure 2, Figure 3)。

本委託事業の研究基盤となる「多目的コホート研究」は 1990 年に開始された前向き大規模コホート研究で、同研究において既に収集されているがん罹患前試料は 20 年間以上の追跡情報を持つ、二つとない貴重な検体である。特に、血漿検体は、利用可能な検体量が一人当たり 1 ml と極めて限られており、より一層貴重な検体であると言える。「多目的コホート研究」で既に収集されている貴重で限りあるがん罹患前試料をもちいて、本委託事業が目的とする生活習慣要因にゲノム情報および血漿バイオマーカー情報を取り入れたリスク予測モデルの構築を達成するためにも、どのような

分子疫学的研究デザインで SNP タイピングや血漿バイオマーカーの分析を実施していくかについて、事前に検討しておくことは極めて重要であると考えられる。

当該業務主任者は、本委託事業で計画している SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析を実施するに当たり、前向き大規模コホート研究である「多目的コホート研究」において既に収集されているがん罹患前試料を用いるという本委託事業の特性を踏まえて、分子疫学的な研究デザインの検討を行った上で、SNP タイピングおよび血漿バイオマーカーの分析を実施することとした。

## B. 研究方法

多目的コホート研究において、主に 1990 年から追跡が開始された 4 つの保健所 (岩手県二戸保健所、秋田県横手保健所、長野県佐久保健所、沖縄県中部保健所) の管内に在住する住民と、主に 1993 年から追跡が開始された 5 つの保健所 (茨城県水戸保健所、新潟県長岡保健所、高知県中央東保健所、長崎県上五島保健所、沖縄県宮古保健所) の管内に在住する住民のうち、研究開始時の質問票に回答し、健診などの機会に研究のために血液を提供した 40 歳以上 70 歳未満 (調査開始時年齢) の男女は約 3.4 万人いて、本研究の母集団となる。この母集団全員を対象に、既に収集されているがん罹患前試料を用いて SNP タイピングや血漿バイオマーカーの分析を行うことは、測定費用だけとっても現実的ではないため、約 3.4 万人の母集団から本研究の対象者をサンプリングして研究効率を高める必要がある。そこで、前向き大規模コホート研究を基盤とする分子疫学研究において良く選択される研究デザインであるコホート内ケ

ース・コントロール研究とケース・コホート研究の長所・短所を比較し、本研究の目的に沿った研究デザインを選択し、血漿バイオマーカーの分析を開始することにした。

(倫理面への配慮)

採血当時、口頭および文書での説明を行い、口頭または文書で同意を得ている。多目的コホート研究における血液提供者には、生体試料を用いた研究実施に関する説明書を郵送して案内し、問い合わせおよび提供された血液試料の本研究での利用を拒否する機会を保障し、ホームページなどを通じて広く情報を公開している。すでに採取され保存されている血液を使用するので、新たに生じる侵襲的負担は生じない。

生体試料を用いた解析について、国立がん研究センターの倫理審査委員会にて承認を得ている。

### C. 研究結果

胃がんの研究を例にとって、コホート内ケース・コントロール研究とケース・コホート研究の概念図を Figure 4 と Figure 5 にそれぞれ示す。コホート内ケース・コントロール研究では、ケースが発生した時点で性・年齢などの基本的交絡要因をマッチングしてコントロールをサンプリングし (density sampling)、ケース・コントロールのペアのみを対象として生体試料の分析・解析を行う。ケース・コホート研究では、コホート全体からランダムサンプリングされたサブコホートとコホート全体から発生したアウトカム (この場合胃がん) を対象に生体試料の分析・解析を行う。ランダムサンプリングにより、サブコホートはコホート全体を代表する集団となっているので、任意のアウトカムに対する対照集団となり得る。

Figure 6 にコホート内ケース・コントロ

ール研究とケース・コホート研究の長所・短所を比較した結果をまとめる。ケース・コホート研究で用いるサブコホートは、コホート全体を反映するようランダムサンプリングされており、代表性が高い集団であると言える。そのため、サブコホートを共通コントロールとすることで、様々な疾患との関連を効率よく検討できる。コホート内ケース・コントロール研究では、対象疾患ごとにケース・コントロールを構築する必要があるため、対象疾患が多くなると効率が悪くなる。

サブコホートで分析した項目は、様々な疾患の対照として利用可能であるが、サブコホートと異なる時期に分析が行われると、分析条件の違いが問題となる可能性がある。特に、血漿バイオマーカーの分析では QC サンプルなどを準備し、分析条件の違いを検討できるようにしておく必要がある。

本委託事業のように複数のアウトカムを対象とした研究を行う場合、サブコホートで分析した項目は複数の疾患の対照として利用可能であるため、コホート内ケース・コントロール研究よりもケース・コホート研究の方が、SNP タイピングや血漿バイオマーカーの分析結果を効率よく利用することが出来る。そこで、本研究では、母集団となる「多目的コホート研究」の約 3.4 万人から発生した全がん症例 (約 3,750) と、同じ母集団からランダムサンプリングした約 4,500 名をサブコホートとして、ケース・コホート研究をデザインすることにし、C-peptide の分析を実施することにした。

サブコホートと異なる時期にケースの分析が行われると、分析条件の違いが問題となる可能性があるが、本研究ではコホート全体から発生した全がんを症例として SNP タイピングや血漿バイオマーカーの分析を行うため、大腸がん・乳腺がん・前立腺がんなど