

厚生労働科学研究費
がん対策推進総合研究事業（業務項目）研究報告書

①喫煙量依存的な肺がんリスクを規定する遺伝素因の同定

研究分担者 河野隆志、白石航也、島津太一、片野田耕太（国立がん研究センター）、
桃沢幸秀（理化学研究所）、松田文彦（京都大学）、松尾恵太郎、伊藤秀美（愛知県がんセンター）、
醍醐弥太郎（東京大学）

研究要旨：

各施設で既に取得されているゲノム情報を用いて全ゲノムインピュテーションを行い、年齢、性別、喫煙情報等の診療情報を収集した。喫煙との交互作用の検討やメタ解析を通してゲノム網羅的な関連解析を実施し、新規・候補となる感受性遺伝子座を同定した。

A. 研究目的

早期診断・外科治療のための高危険度群の捕捉が、肺がん死減少のための最も有効な手段である。喫煙は肺がんリスクを規定する主要因であり、受動喫煙によっても本邦肺がんリスクの1.3倍の上昇が示されている。したがって、喫煙による肺がんの罹患を効率よく減少させるため、本邦の政策の基盤となる「個別化肺がん予防効果の明確なエビデンス」が求められている。本研究では、肺がんリスクにおいて喫煙と交互作用する遺伝要因を用いて能動/受動喫煙者の肺がん絶対リスクを評価し、超高危険度群（相対危険度5以上）を把握することを目的とする。

B. 研究方法

各施設（理研/東大、国がんセ/BBJ、京大/愛知県がんセ）が保有している既存のSNPデータを用いてゲノム網羅的な関連解析を行い、候補感受性遺伝子座の同定を行った。具体的には、全肺腺がん・喫煙者・非喫煙者別での関連解析や喫煙量との交互作用を検討した。得られた候補感受性遺伝子に対して多施設で収集された症例を用いて検証研究を実施した。検証研究に用いた肺腺がん症例は10,000例を越え、十分な症例数を確保した。また能動・受動喫煙の情報が得られている症例の収集も合わせて行った。さらに最近、約16万人からなる日本人を対象とした喫煙習慣との関連解析を実施した報告がなされ（Matoba et al., Nat Hum Behav. 2019）、7つの喫煙習慣と関わる感受性遺伝子座（1日の喫煙本数と相関：*EPHX2-CLU*, *RET*, *CUX2-ALDH2*, 喫煙開始との相関：*DLC1*, *CXCL12-TMEM72-AS1*, *GALRI-SALL3*, *LINC01793-MIR4432HG*）が同定された。そこで本研究でも喫煙習慣と発がんリス

クとの関連を検討した。

（倫理面への配慮）

「ゲノム倫理指針」に従って、試料提供者のプライバシーを保護する。

C. 研究結果

全肺腺がんリスクに関わる感受性遺伝子座を同定するため、16,103例の肺腺がん症例と151,656例の非がんコントロールからなる検証研究並びに検出研究を行ったところ、新規感受性遺伝子座として複数同定した。さらに喫煙者・非喫煙者別での関連解析や喫煙量との交互作用を検討した。しかし、 $P_{interaction}$ 値が 10^{-8} レベルを示す感受性遺伝子座は同定されなかった。また既報の喫煙習慣と相関する遺伝子多型は、肺がんリスクには強く関連しなかった。

D. 考察&結論

今回の解析結果は、日本人集団においては過去最大の症例数を用いた関連解析であり、複数の新規感受性遺伝子を同定した。来年度は、喫煙量と交互作用する候補感受性遺伝子座に対して、検証研究を用いて新規感受性遺伝子座の同定を目指す。今後これらのデータは、リスクモデリングを構築するために必要なものであり、今後肺がんに対する高危険度群捕捉手法の確立が期待される。

F. 研究発表

論文発表・学会発表

研究成果の刊行に関する一覧表を参照

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

課題名：喫煙量依存的な肺がんリスクを規定する遺伝素因の同定

共同研究者：

国立がん研究センター：河野隆志、白石航也、島津太一、片野田耕太

理化学研究所：桃沢幸秀

京都大学：松田文彦

愛知県がんセンター：松尾恵太郎、伊藤秀美

東京大学：醍醐弥太郎

方法・結果：

遺伝子型情報がある症例を用いた全ゲノム関連解析の集団化の検討が完了し、肺腺がん（図 1、2）、非喫煙者肺腺がん（図 3）、喫煙者肺腺がん（図 4）、喫煙習慣との交互作用に関する相関解析（図 5）を実施した。その結果、肺腺がんについては、複数の新規感受性遺伝子座を同定しており（図 2）、検証研究を実施してもその関連は再現された。一方で、非喫煙者肺がん、喫煙者肺がん、喫煙習慣との交互作用に関する相関解析については、検出研究だけでGWAS レベル（ 5×10^{-8} ）を下回る多型は認められなかったが、候補となる感受性遺伝子座を複数同定した。また既報の喫煙習慣と相関があった多型は、肺腺がんリスクと強い関連は示さなかった（表 1）。

考察：

本研究を通して、複数の新規感受性遺伝子座並びに候補となる感受性遺伝子座を同定した。

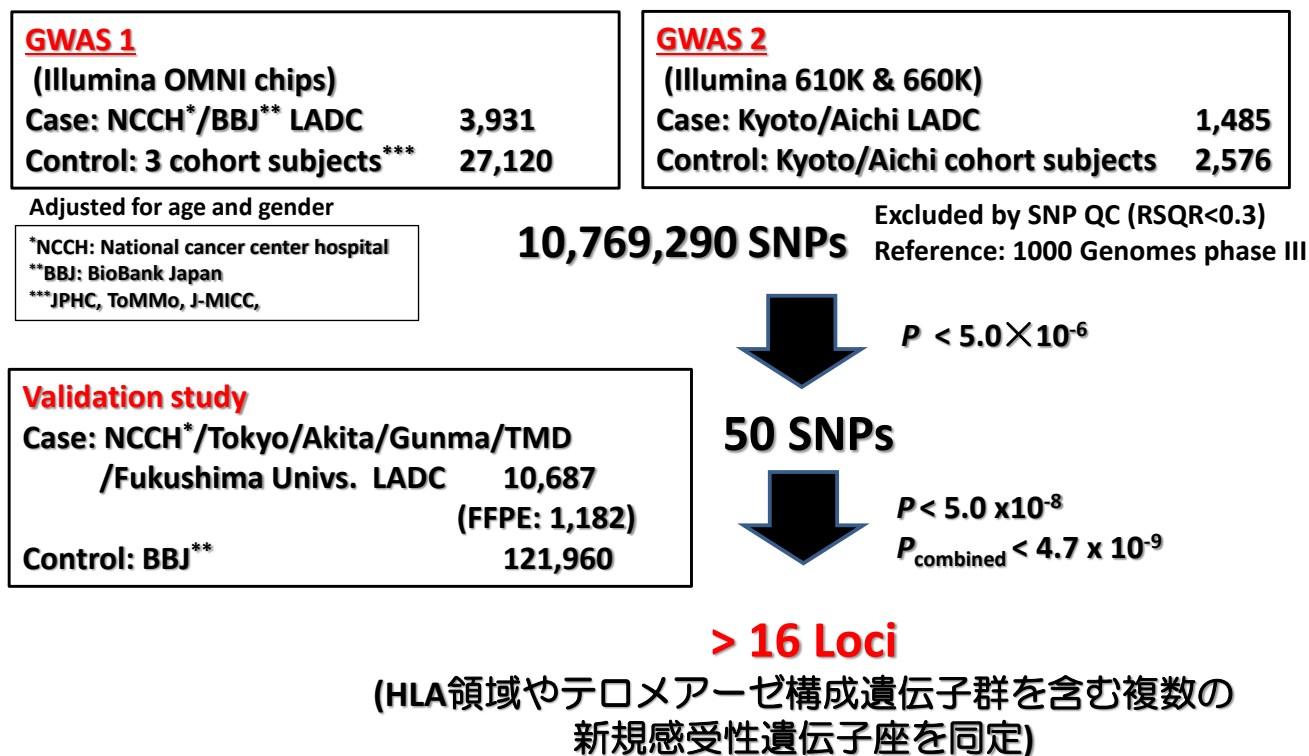
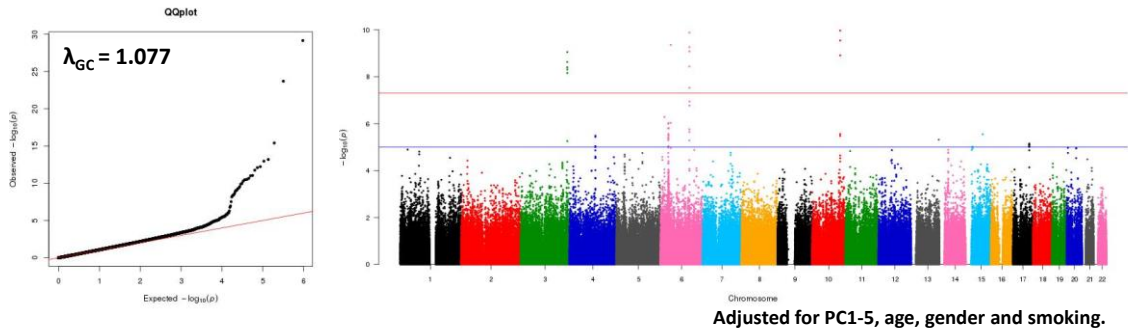


図1 肺腺がんに対する検出・検証研究の流れ

(1) NCCHとBBJ肺がん症例



(2) 京都大学と愛知県がんセンター肺がん症例

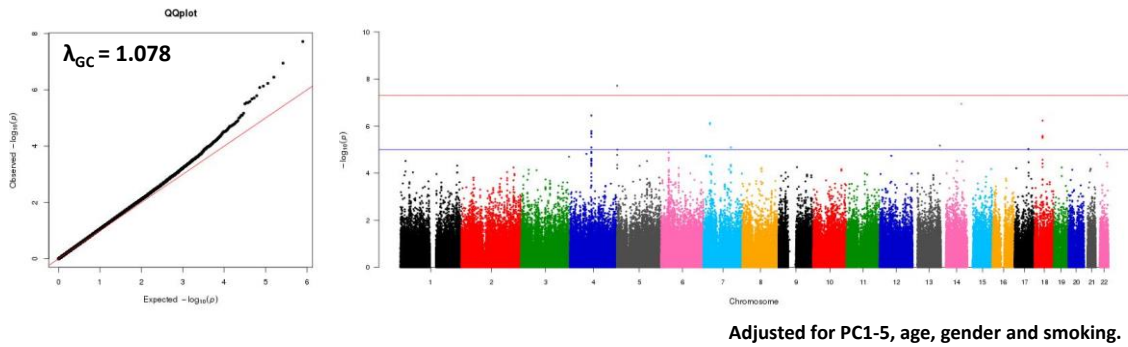


図2. 肺腺がんに対する全ゲノム関連解析の結果
マンハッタンプロットは、横軸が染色体別を示し、縦軸は関連の強さを示す。

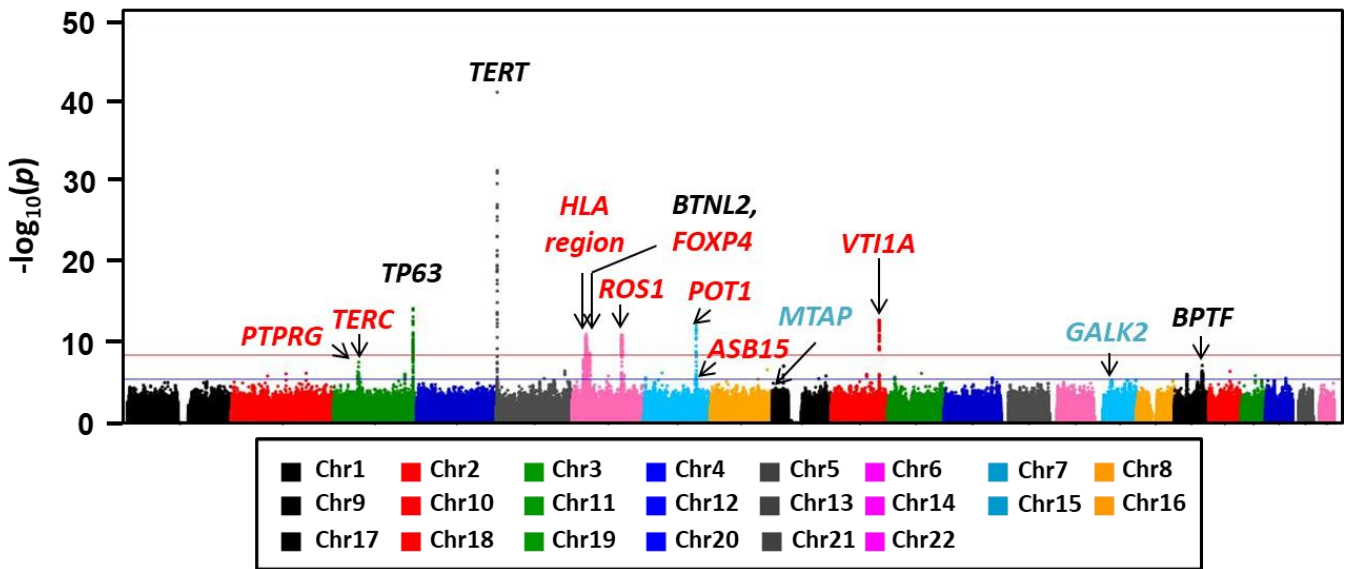
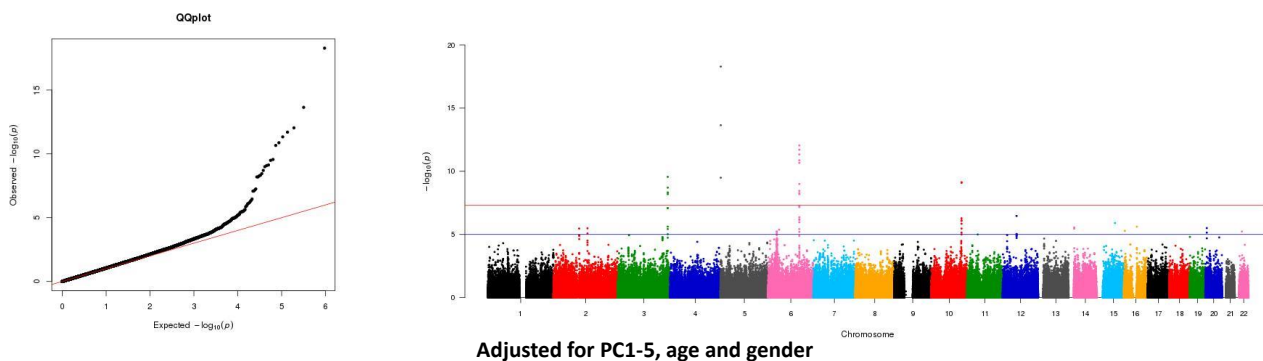


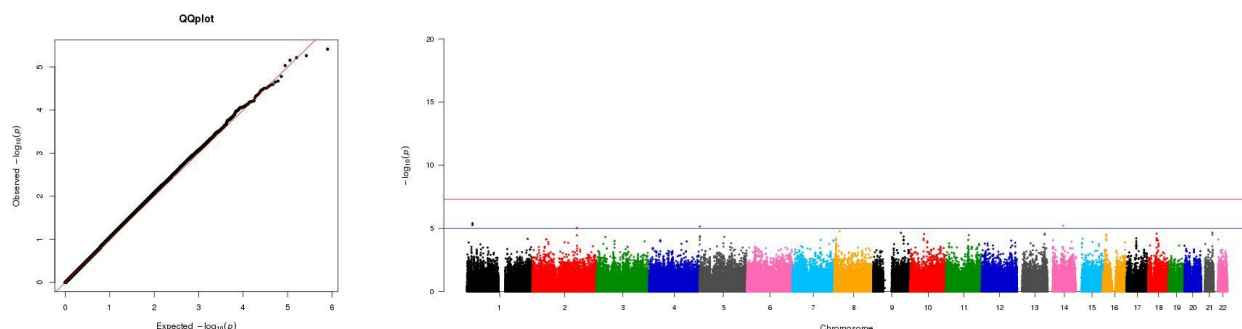
図3 メタ解析による肺腺がんに対する全ゲノム関連解析の結果

(1) NCCHとBBJ非喫煙者肺がん症例



Adjusted for PC1-5, age and gender

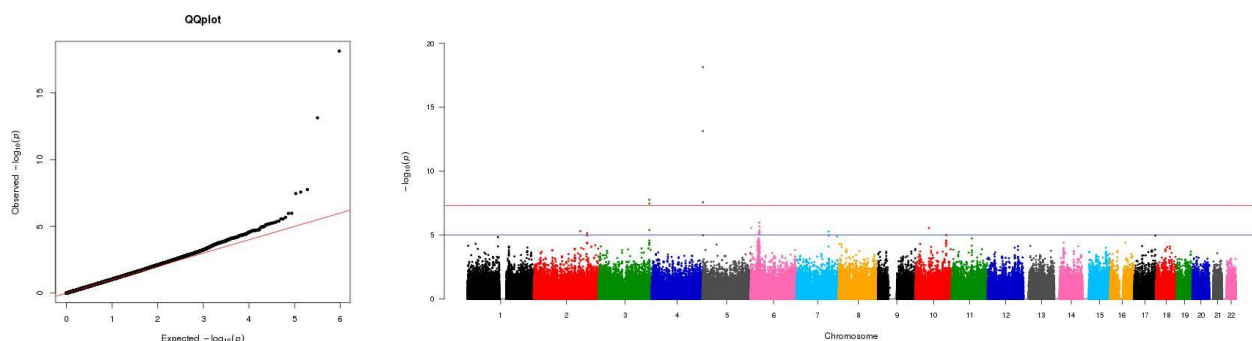
(2) 京都大学と愛知県がんセンター非喫煙者肺がん症例



Adjusted for PC1-5, age and gender

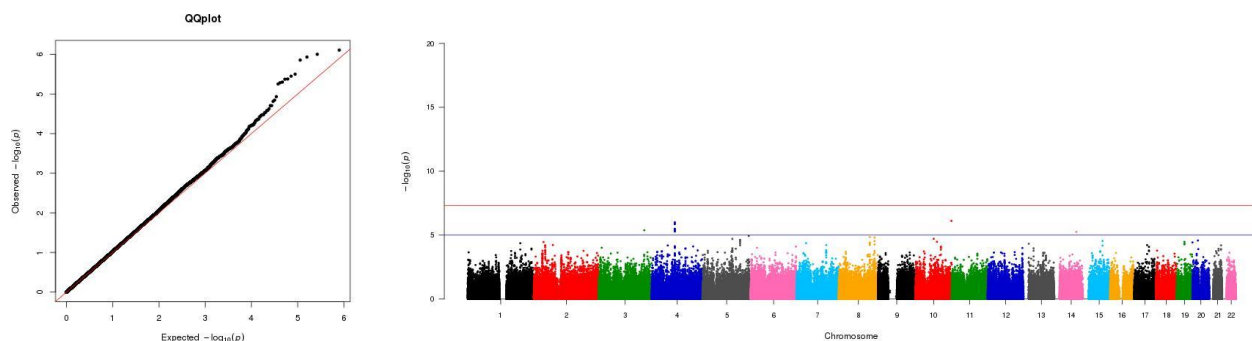
図4. 非喫煙者肺がんに対する全ゲノム関連解析の結果

(1) NCCHとBBJ喫煙者肺がん症例



Adjusted for PC1-5, age and gender

(2) 京都大学と愛知県がんセンター喫煙者肺がん症例



Adjusted for PC1-5, age and gender

図4. 喫煙者肺がんに対する全ゲノム関連解析の結果

SNP ID	Chr.	Position	Ref	Alt	BBJ+NCC cases/3 cohort controls					Kyodai+Aichi cases/3 cohort controls						
					Minor allele frequency		Allelic OR	95% CI		P value	Minor allele frequency		Allelic OR	95% CI		P value
					Case	Ctrl		Lower	Upper		Case	Ctrl		Lower	Upper	
(1) All subjects																
rs117036946	8	13287799	A	G	0.029	0.030	0.94	0.80	1.09	0.38	0.029	0.027	1.13	0.79	1.60	0.51
rs117097449	10	45182721	C	T	0.090	0.096	0.94	0.86	1.03	0.17	0.081	0.074	1.12	0.91	1.37	0.29
rs77105140	18	75028535	A	G	0.017	0.018	1.04	0.85	1.28	0.67	0.019	0.015	1.41	0.91	2.19	0.13
rs6718569	2	59605011	T	C	0.115	0.112	0.99	0.91	1.07	0.75	0.110	0.118	0.93	0.78	1.11	0.42
rs78277894	8	27429192	G	A	0.327	0.333	0.95	0.90	1.00	0.041	0.323	0.332	0.90	0.80	1.01	0.076
rs2435355	10	43624833	T	C	0.193	0.196	0.97	0.91	1.04	0.41	0.202	0.203	1.00	0.88	1.15	0.95
rs79105258	12	111718231	C	A	0.288	0.251	1.07	1.01	1.14	0.018	0.333	0.309	1.08	0.96	1.22	0.22
rs13329271	15	78914230	A	C	0.496	0.482	0.95	0.90	1.00	0.036	0.504	0.492	1.01	0.90	1.12	0.91
rs56129017	19	41416948	C	T	0.274	0.262	1.07	1.01	1.13	0.019	0.277	0.259	1.09	0.97	1.24	0.16
(2) Never-smoker																
rs117036946	8	13287799	A	G	0.026	0.031	0.83	0.66	1.05	0.12	0.033	0.029	1.08	0.69	1.71	0.73
rs117097449	10	45182721	C	T	0.091	0.095	0.97	0.85	1.11	0.68	0.090	0.072	1.16	0.88	1.53	0.28
rs77105140	18	75028535	A	G	0.018	0.018	1.08	0.81	1.45	0.60	0.018	0.016	1.14	0.63	2.05	0.67
rs6718569	2	59605011	T	C	0.113	0.109	0.98	0.87	1.10	0.71	0.107	0.110	1.02	0.79	1.30	0.90
rs78277894	8	27429192	G	A	0.336	0.332	0.98	0.91	1.06	0.66	0.324	0.332	0.95	0.81	1.11	0.52
rs2435355	10	43624833	T	C	0.195	0.203	0.96	0.88	1.06	0.45	0.195	0.212	0.91	0.76	1.10	0.33
rs79105258	12	111718231	C	A	0.277	0.256	1.00	0.92	1.09	0.99	0.324	0.306	1.09	0.93	1.28	0.30
rs13329271	15	78914230	A	C	0.484	0.482	0.98	0.91	1.06	0.66	0.469	0.491	1.12	0.97	1.29	0.13
rs56129017	19	41416948	C	T	0.265	0.269	1.00	0.92	1.09	0.91	0.257	0.256	1.06	0.90	1.26	0.49
(3) Smoker																
rs117036946	8	13287799	A	G	0.030	0.030	0.96	0.76	1.22	0.76	0.026	0.025	1.21	0.70	2.09	0.49
rs117097449	10	45182721	C	T	0.089	0.095	0.96	0.84	1.11	0.61	0.074	0.077	1.05	0.77	1.42	0.76
rs77105140	18	75028535	A	G	0.017	0.015	1.05	0.76	1.47	0.76	0.020	0.012	1.97	1.00	3.87	0.045
rs6718569	2	59605011	T	C	0.119	0.113	1.05	0.92	1.19	0.49	0.112	0.130	0.83	0.64	1.07	0.15
rs78277894	8	27429192	G	A	0.320	0.330	0.90	0.83	0.98	0.013	0.322	0.331	0.86	0.72	1.02	0.083
rs2435355	10	43624833	T	C	0.191	0.193	1.02	0.92	1.13	0.69	0.208	0.190	1.15	0.94	1.39	0.17
rs79105258	12	111718231	C	A	0.297	0.275	1.07	0.98	1.17	0.13	0.340	0.313	1.07	0.90	1.28	0.46
rs13329271	15	78914230	A	C	0.508	0.491	0.90	0.83	0.98	0.011	0.470	0.507	0.88	0.75	1.03	0.12
rs56129017	19	41416948	C	T	0.282	0.262	1.15	1.05	1.25	0.0029	0.292	0.262	1.12	0.93	1.34	0.22

図5. 全ゲノム関連解析による喫煙量との交互作用の検討

厚生労働科学研究費
がん対策推進総合研究事業（業務項目）研究報告書

②受動喫煙により感受性を示す肺がんリスク素因の同定

研究分担者 河野隆志、白石航也、島津太一、片野田耕太（国立がん研究センター）、
桃沢幸秀（理化学研究所）、松田文彦（京都大学）、松尾恵太郎、伊藤秀美（愛知県がんセンター）、
醍醐弥太郎（東京大学）

研究要旨：受動喫煙により感受性遺伝子を示す肺がんリスク素因を明らかにするために、受動喫煙の情報が得られる症例収集を行ったが、詳細な受動喫煙情報に基づく統合ができなかった。国立がん研究センター中央病院で収集されている症例が最も多かったため、本研究を通して同定した肺腺がん感受性遺伝子に着目した症例内での関連解析を実施したが、受動喫煙なしとあり群で大きなアリル頻度の差は認められなかった。

A. 研究目的

早期診断・外科治療のための高危険度群の捕捉が、肺がん死減少のための最も有効な手段である。喫煙は肺がんリスクを規定する主要因であり、受動喫煙によっても本邦肺がんリスクの1.3倍の上昇が示されている。したがって、喫煙による肺がんの罹患を効率よく減少させるため、本邦の政策の基盤となる「個別化肺がん予防効果の明確なエビデンス」が求められている。本研究では、肺がんリスクにおいて喫煙と交互作用する遺伝要因を用いて能動/受動喫煙者の肺がん絶対リスクを評価し、超高危険度群（相対危険度5以上）を把握することを目的とする。

B. 研究方法

各施設（理研/東大、国がんセ/BBJ、京大/愛知県がんセ）で保有している既存のSNPデータを用いてゲノム網羅的な関連解析を行い、新規感受性遺伝子座の同定を行い、その同定した感受性遺伝子座を中心に受動喫煙との相互作用の有無を検討した。その際、収集した症例を用いて、受動喫煙の有無で検討することにした。症例数が最も多い国立がん研究センター中央病院の症例を解析対象として、受動喫煙なし群とあり群での肺腺がん感受性遺伝子多型のアリル頻度分布の差異を検討した。

2011～2016年に国立がん研究センター中央病院にて、病理学的に肺腺がんと診断された1,528例に対し受動喫煙の有無の情報を問診表（10歳代、30歳代、現在における週何日受動喫煙を受けているかの選択形式）から集計した。そのうち、診療情報を再確認し、正確な受動喫煙の情報が得られた症例は856例であった。さらに、喫煙の影響が少ない、肺腺がんでかつ女性非喫

煙者に絞ったところ561例の症例を本研究対象とした。それらの症例に対して、症例内でのアリル頻度の分布を検討した。

（倫理面への配慮）

「ゲノム倫理指針」に従って、試料提供者のプライバシーを保護する。

C. 研究結果

561例の女性非喫煙者肺腺がん症例の内、10歳代に受動喫煙を毎日曝露した群としない群の2群に分けてアリル頻度に差がないか検討を行った。その結果、19の肺腺がん感受性遺伝子多型において統計学的にアリル頻度に差が認められなかった。

D. 考察 & 結論

現状では必要な症例数の確保には至っていないため、関連が認められなかった可能性がある。今後はより検出力の高い研究を実施する必要がある。

E. 研究発表

1. 論文発表
研究成果の刊行に関する一覧表を参照
2. 学会発表
なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

厚生労働科学研究費
がん対策推進総合研究事業（業務項目）研究報告書

③がん組織中で認められる体細胞変異シグネチャーと遺伝素因との関連の検討

研究分担者 河野隆志、白石航也（国立がん研究センター）

研究要旨：能動、もしくは受動喫煙高危険度群において、喫煙による体細胞変異シグネチャーが腫瘍ゲノムに顕著に蓄積していることを示すため、女性非喫煙者肺腺がん症例に着目し、受動喫煙を暴露した群と暴露していない群133例について全エクソンシーケンス解析を実施し、受動喫煙曝露群で喫煙によって形成される体細胞変異シグネチャーを認めた。

A. 研究目的

早期診断・外科治療のための高危険度群の捕捉が、肺がん死減少のための最も有効な手段である。喫煙は肺発がんリスクを規定する主要因であり、受動喫煙によっても本邦肺発がんリスクの1.3倍の上昇が示されている。したがって、喫煙による肺がんの罹患を効率よく減少させるため、本邦の政策の基盤となる「個別化肺がん予防効果の明確なエビデンス」が求められている。本研究では、能動、もしくは受動喫煙高危険度群において、喫煙による体細胞変異シグネチャーが腫瘍ゲノムに顕著に蓄積していることを示すことを目的とする。

B. 研究方法

2011～2016年に国立がん研究センター中央病院にて、病理学的に肺腺がんと診断された1,528例に対し受動喫煙の有無の情報を問診表（10歳代、30歳代、現在における週何日受動喫煙を受けているかの選択形式）から集計した。受動喫煙の影響を受けると考えられる非喫煙者に研究対象を絞り込んだところ、男性非喫煙者数が非常に少なかった。そこで、肺腺がんの約40%を占める女性非喫煙者に着目し研究対象とした。

女性非喫煙者肺腺がん症例の内、国立がん研究センター中央病院にて外科的手術を受け、かつ国立がん研究センターバイオバンクにて凍結組織検体が保存されていた女性非喫煙者肺腺がん症例198例を選択した。

さらに上記の症例の内、133例（10歳代・30歳代に受動喫煙を全く暴露されていない80例と10歳代・30歳代に受動喫煙を毎日暴露した53例）を抽出した。当初予定されていた登録症例数を約2倍に増やした133例について、非がん組織検体並びにがん組織検体よりDNAを抽出し、Agilent社SureSelectV5・V6を用いて全エクソンの濃縮を行

い、シーケンスランはIllumina社のHiSeq2500を用いて行った。ヒトゲノムへのマッピングについては、GATK4.1のBest practiceに従って行い、ReferenceはGRCh37を用いた。体細胞変異のコールについては、Mutect2を用いて検出した。

（倫理面への配慮）

「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に従って、試料提供者のプライバシーを保護する。

C. 研究結果

女性非喫煙者肺腺がんの内、133例（10歳代・30歳代に受動喫煙を全く暴露されていない80例と10歳代・30歳代に受動喫煙を毎日暴露した58例）を抽出した。これらの症例に対して全エクソンシーケンスを実施し、特徴的な受動喫煙による体細胞変異シグネチャーが認められるか検証したところ、体細胞変異数については統計学的に有意な差は認められなかった。但し、60歳以下の女性非喫煙者肺腺がん症例と比較したところ、有意な差は認められなかったものの、体細胞変異数が10歳代に受動喫煙を毎日暴露した群で増加傾向にあった。受動喫煙曝露群で喫煙によって形成される体細胞変異シグネチャーを認めた。

D. 結論・考察

受動喫煙曝露群において、喫煙による体細胞変異シグネチャーに影響を与える可能性が示唆されたが、検出される体細胞変異数が少ないことから、今後は全ゲノムシーケンスを実施する予定である。

E. 研究発表・学会発表

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

補足資料2

③がん組織中で認められる体細胞変異シグネチャーと遺伝素因との関連の検討
研究分担者 河野隆志、白石航也

図1. 女性非喫煙者肺腺がん症例の内、10歳代に受動喫煙を暴露されている群とされていない群での体細胞変異数との相関

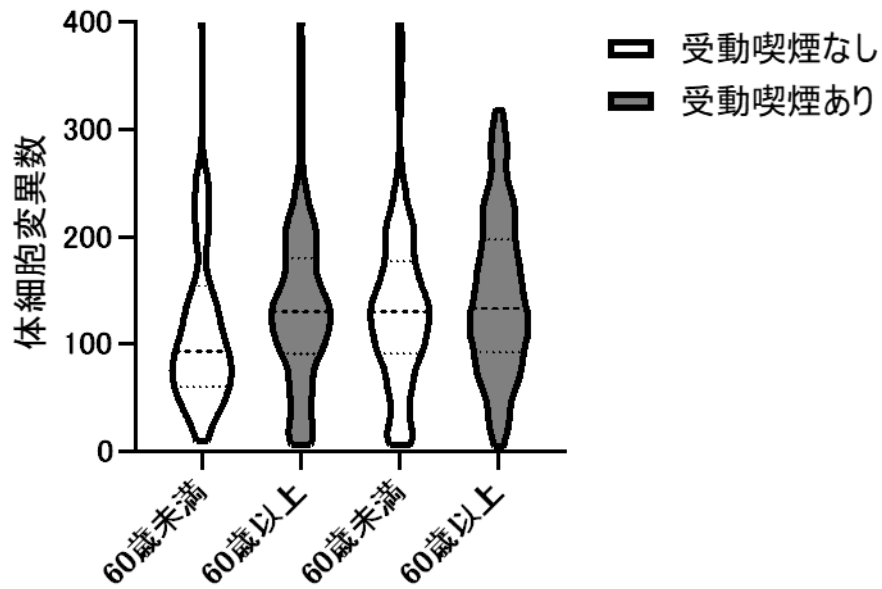
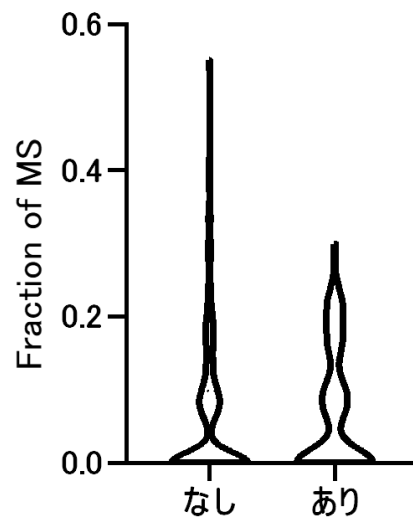


図2. 受動喫煙曝露群とない群における喫煙に関連する体細胞変異シグネチャーの割合



厚生労働科学研究費
がん対策推進総合研究事業（業務項目）研究報告書

④絶対リスク評価、リスクモデリングによる高危険度群捕捉手法の確立

研究分担者 河野隆志、白石航也、島津太一、片野田耕太（国立がん研究センター）

研究要旨： 本研究を通して同定された肺腺がん感受性遺伝子座が、多目的コホート研究においても再現されるかどうか、またこれらの遺伝要因をもとにしたリスクモデリングによる高危険度群の捕捉が可能かどうかを検討し、低リスク群に比べて約3倍の高リスク群を同定した。

A. 研究目的

早期診断・外科治療のための高危険度群の捕捉が、肺がん死減少のための最も有効な手段である。喫煙は肺がんリスクを規定する主要因であり、受動喫煙によっても本邦肺がんリスクの1.3倍の上昇が示されている。したがって、喫煙による肺がんの罹患を効率よく減少させるため、本邦の政策の基盤となる「個別化肺がん予防効果の明確なエビデンス」が求められている。本研究では、多目的コホート研究のコホート検体を用いて、肺腺がん感受性遺伝子座が発がんリスクにかかわるかどうか、また高リスク群の捕捉が可能かどうかを検討する。

B. 研究方法

本研究では、多目的コホート研究（JPHC）において、15,259例の前向きコホート検体でフォロー期間と喫煙情報が得られなかった検体を除外した12,221例（457例の肺がん症例を含む）を抽出した。フォローアップ期間中に認められた肺腺がんを診断された症例とがんが認められなかった健常群を用いたcase-cohort解析を実施した。

本研究での調整因子並びに重みづけに用いた因子としては、研究開始時の年齢、性別、喫煙量（pack-years）、過去喫煙者については禁煙までの期間、喫煙開始年齢を用いた。

リスクモデリングを構築する際、19 SNPsを加える場合、統計学的に有意差が認められたSNPsのみを用いた場合など複数の遺伝要因の組み合わせを用いて検討を行った。

C. 研究結果

遺伝子多型を用いたリスク評価を行うため、肺腺がん感受性遺伝子多型として同定した19 SNPsを用いて検討を行った。個別SNPsについてハザード比を算出したところ、2 SNPs以外は全ゲノム関連解析で同定された遺伝子多型が発がんリスクと関連を示した。さらに肺腺がんリスクにかかわる19SNPsを用いたリスク評価を行ったところ、19SNPsの内一つのアリルを持つとハザード比として、1.1倍のリスクの上昇に寄与することを明らかとなった。またこれらのリスクアリルを組み合わせで4群に分けて解析した。その中で、低リスク群と高リスク群を比較したところ、約3倍リスクが高まる高リスク群を同定した。

D. 結論・考察

当初予定していたほどの超高リスク群の同定には至らなかったものの、今までの症例対象研究で同定された感受性遺伝子座が発がんリスクに寄与することが再現された。

E. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし

F. 知的財産権の出願・登録状況
なし