

厚生労働科学研究費補助金
がん対策推進総合研究事業

研究課題名（課題番号）
環境要因・遺伝要因との統合解析による肺がん罹患リスクの検証と能動・受動喫煙に関する行動変
容に資するエビデンスの構築（H29-がん対策-一般-025）

平成 29 年度 総括研究報告書

研究代表者 河野 隆志

平成 30（2018）年 3 月

厚生労働科学研究費補助金研究報告書
目 次

I . 厚生労働科学研究費総括研究報告書 環境要因・遺伝要因との統合解析による肺がん罹患リスクの検証と能動・受動喫煙に関する 行動変容に資するエビデンスの構築 河野 隆志	----- 3
II . 研究報告書（業務項目） 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 河野隆志、白石航也、松尾恵太郎、伊藤秀美、松田文彦、久保充明、醍醐弥太郎、島津 太一、片野田耕太、アドリアン・シャルヴァ	----- 4
受動喫煙により感受性を示す肺がんリスク素因の同定 -1.受動喫煙に関する情報整理 河野隆志、白石航也、松尾恵太郎、伊藤秀美、松田文彦、久保充明、醍醐弥太郎、島津 太一、片野田耕太、アドリアン・シャルヴァ	----- 7
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 河野隆志、白石航也	----- 8
III . 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 9

厚生労働科学研究費
がん対策推進総合研究事業（総括）研究報告書

環境要因・遺伝要因との統合解析による肺がん罹患リスクの検証と能動・受動喫煙に関する行動変容に資するエビデンスの構築

研究代表者 河野隆志 | 国立がん研究センター

研究要旨：

喫煙と交互作用する遺伝要因を同定するため多施設共同研究実施体制を構築し、各施設からのゲノム情報並びに診療情報を統合した。また各施設から得られたデータを元に全ゲノムインピュテーション並びに全ゲノム関連解析を行うための環境整備を行った。

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

受動喫煙により感受性を示す肺がんリスク素因の同定

国立がん研究センター 分野長 河野隆志

国立がん研究センター ユニット長 白石航也

愛知県がんセンター 部長 松尾恵太郎

愛知県がんセンター 室長 伊藤秀美

京都大学大学院 教授 松田文彦

理化学研究所 副センター長 久保充明

東京大学 特任教授 醍醐弥太郎

国立がん研究センター 室長 島津太一

国立がん研究センター 部長片野田耕太

国立がん研究センター 研究員アドリアン・シヤルヴァ

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

国立がん研究センター 分野長 河野隆志

国立がん研究センター ユニット長 白石航也

A．研究目的

肺発がんリスクにおいて能動・受動喫煙と交互作用する遺伝子座を同定する。さらに国民に能動・受動喫煙に関する行動変容を促すためのエビデンスを得る。

B．研究方法

各施設（理研/東大、国がんセ、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、1000Genomesをレファレンスとした全ゲノムインピュテーションを行うための条件検討を行った。また診療情報については、年齢、性別、組織型情報の他に、喫煙歴（非喫煙、過去喫煙、現在喫煙）と喫煙量（1日の喫煙本数と喫煙期間）に関する診療

情報を収集した。また本研究で得られた候補感受性遺伝子座に対する検証研究用の試料の収集を行った。

（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

各施設で全ゲノムインピュテーションを行い、複数の解析結果を基に最適な研究デザインを検討した。現在、喫煙量と交互作用する肺がんリスク因子を同定するための解析を行っている。また検証研究に用いる肺がん症例は約10,000例となり、統計学的に高い検出力を伴う検証研究が実施可能となった。

D．考察

研究計画は順調に推移している。計画通り、来年度に候補感受性遺伝子座に対する検証研究を行うとともに、非喫煙者女性肺腺がんの内、受動喫煙を受けている群と受けていない群での遺伝子変異の蓄積の度合いについて全エクソンシーケンス解析を今後実施し、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を行う。また多施設からの受動喫煙に関する診療情報の収集を継続して行う。

E．結論

今年度の解析目標である各施設における全ゲノムインピュテーション解析が終了し、関連解析を開始している。来年度は喫煙量と交互作用する感受性遺伝子座の同定を進める。

F．健康危険情報

なし

G．研究発表（論文・学会発表）

なし

H．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

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、アドリアン・シャルヴァ、片野田耕太（国立がん研究センター）、久保充明（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つつ、年齢、性別、喫煙情報等の診療情報を収集した。喫煙との相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するための基盤情報の構築を行った。

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相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。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う。また多施設で収集された症例を用いて検証研究を実施するため、国立がん研究センターと京大と愛知県がんセンターが中心となり、症例を収集し、来年度以降実施予定の検証研究を実施するために必要な症例数の確保を行う。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う。

B．研究方法

各施設で既に取得された肺がん症例のゲノム情報（BBJ・東大：Miki et al., Nat Genet 2010, BBJ・NCCH：Shiraishi et al., Nat Genet 2012, 愛知県がん・京大）と健常群として三つコホートサンプルから得られたゲノム情報を統合した。さらに喫煙と遺伝要因との相互作用を検討するため、喫煙情報が得られた症例のみを抽出した。まずは、インピュテーション前のデータを用いて、構造化や解析手法の整合性を検討した。

一方で、この集団に対して、1000Genomesの全人種をレファレンスゲノムとして用い、これらを元に全ゲノムインピュテーションを実施した。関連解析は、Plink1.9を用いて相互作用の検討を行った。

（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

本研究に用いた集団の構造化などの検討をQQ plotを用いて行い、問題がないことを確認した。また施設間での既取得ゲノム情報を用いた全ゲノムインピュテーションが完了した。今後は、喫煙情報を元に層別化解析を行い、個々の関連解析を実施する予定である。

D．考察&結論

今回の解析結果は、アジア人集団においては過去最大の症例数を用いた関連解析となる。来年度以降は、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
なし

G．知的財産権の出願・登録状況

なし

研究報告書補足資料

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、アドリアン・シャルヴァ

理化学研究所：久保充明

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：

検出研究を実施するため、理化学研究所/東京大学、国立がん研究センター/バイオバンクジャパン、京都大学/愛知県がんセンターにて肺腺がんと診断された症例群と3つの健常者コホート群において、既を取得されているSNP chip dataを元に、症例と健常群内の集団遺伝構造の有無の検討を行った(図1)。その結果、QQ plotによる構造化を検討したところ、 $\lambda_{GC}=1.10$ 以下であったため、構造化は認められなかった。

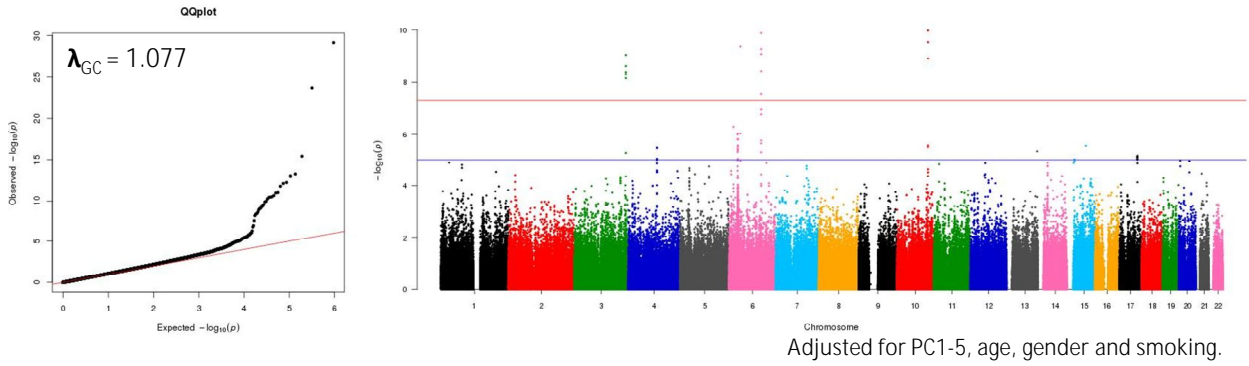
次に喫煙との交互作用を検討するため、喫煙情報が得られた症例の選別並びに診療情報の収集並びに確認を行った。喫煙量に関しては多くの症例で確認できたが、バイオバンクジャパンの症例については、現在喫煙者のみ喫煙本数と喫煙期間の情報が得られるため、症例数を減らしての解析となった。共変量は年齢(49歳以下、50-59歳、60-69歳、70歳以上)、性別、喫煙量(非喫煙者、 $0 < \text{Pack-year (PY)} \leq 20$ 、 $20 < \text{PY} \leq 40$ 、 $\text{PY} > 40$)とし、SNPと喫煙量との交互作用の検討を行った。現状では、各GWASとも少なくともGWASレベルに到達している感受性遺伝子座は認められていない。

最後に各施設で取得されたゲノム情報を用いて、1000Genomesの全人種レファレンスパネルを基にした全ゲノムインピュテーションをImpute2というソフトウェアを用いて実施した。

考察：

SNP chip dataだけでは、現状では全ゲノムレベル($P = 5.0 \times 10^{-8}$)を下回るSNPはまだ得られていない。今後はさらにゲノムデータが取得されている症例を追加して、さらに検出研究を大規模化させる。また公開データベースの活用も検討する。一方で、喫煙量依存的な検討を行う場合、喫煙していない非喫煙者を本解析に含めることが適切であるかも検討する必要がある。今後は非喫煙者を除外して同様の解析を行い、喫煙量依存的な遺伝要因が同定できるかどうかさらに検討する予定である。今後は候補となる感受性遺伝子座に関して検証研究を実施し、喫煙量依存的な肺がん感受性遺伝子があるかどうかを検証する。

(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

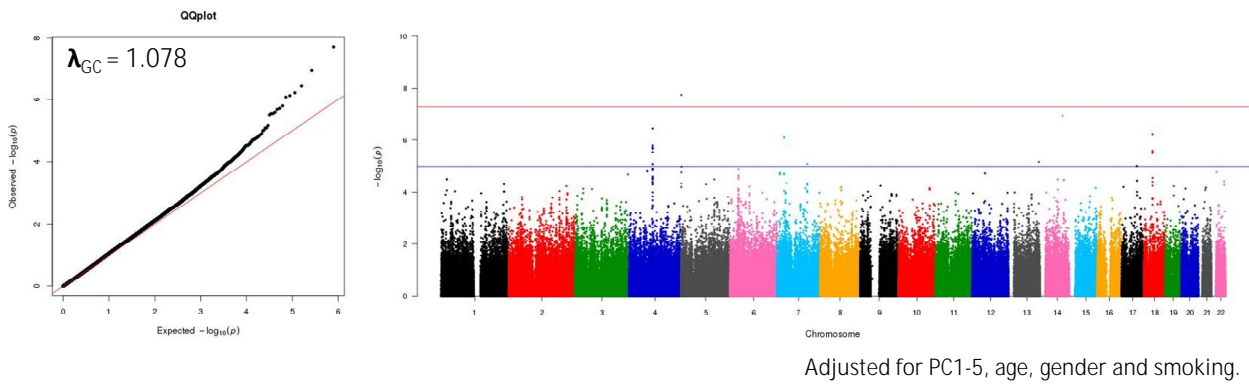
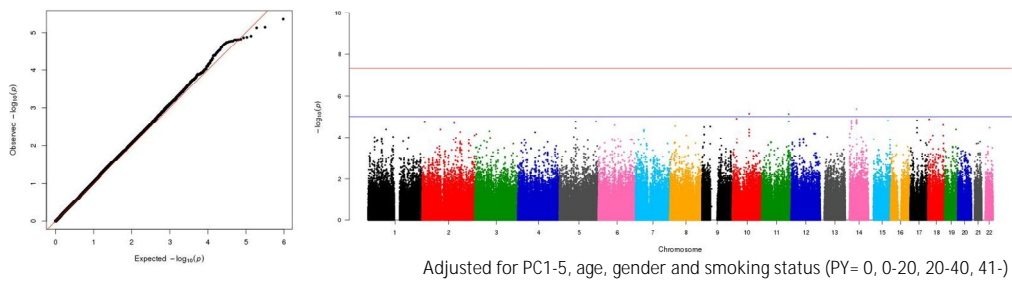


図1. 各施設別での肺腺がんリスクに対する全ゲノム関連解析の結果
 QQ plotによる構造化の有無を検討したところ、 $\lambda_{GC}=1.10$ 以下のため構造化は認められなかった。
 マンハッタンプロットは、横軸が染色体別を示し、縦軸は関連の強さを示す。

(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

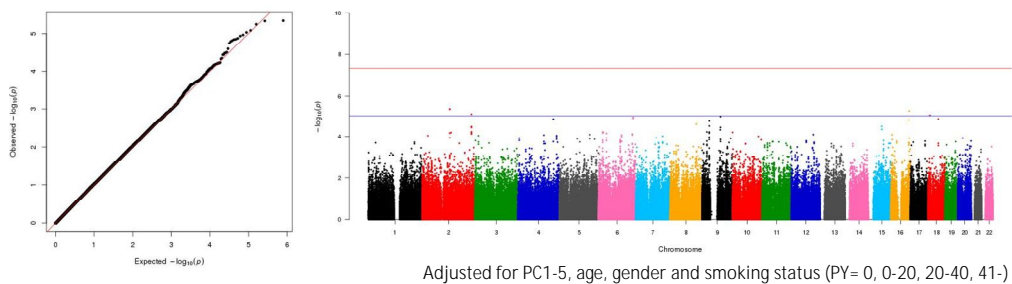


図2. 喫煙量との交互作用の検討

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

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、アドリアン・シャルヴァ、片野田耕太（国立がん研究センター）、久保充明（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：

候補となる感受性遺伝子を絞り込んだ後の検証研究用の症例を確保するため、能動・受動喫煙に関する情報が得られる肺がん症例並びに健常群の抽出を行う必要がある。本研究では解析対象となる症例の絞込みを行うため、質問表から情報を収集した。

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相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。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う。また多施設で収集された症例を用いて検証研究を実施するため、国立がん研究センターと京大と愛知県がんセンターが中心となり、症例を収集し、来年度以降実施予定の検証研究を実施するために必要な症例数の確保を行う。また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う。

B．研究方法

既に検出・検証研究として収集されている症例に関して、受動・能動喫煙に関する診療情報を収集し、統合した。具体的には、各施設で取られている質問票にある記載事項を用いた。質問事項等から受動喫煙の情報が得られる施設は多くなく、国立がん研究センターを初めとして、愛知県がんセンター、京都大学、群馬大学、各健常群コホートのみであった。

（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

国立がん研究センターを中心となり、受動喫煙の情報が得られている施設の症例を確認した。国立がん研究センターで登録された肺腺がん症例は4000例であり、その内受動喫煙の情報が得られた症例は約1500例であった。また他施設についても同様に確認したところ、約1000例について受動喫煙情報を伴う灰がん症例がいることを確認した。

D．考察 & 結論

現状では大規模解析を行うために必要な症例数の確保には至っていないため、引き続き来年度以降も継続して受動喫煙に関する診療情報の収集を進める。また新規登録症例も増やすことで、進めている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に用いることができる症例も合わせて収集する予定である。

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

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

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の抽出を行った。

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相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。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う。また多施設で収集された症例を用いて検証研究を実施するため、国立がん研究センターと京大と愛知県がんセンターが中心となり、症例を収集し、来年度以降実施予定の検証研究を実施するために必要な症例数の確保を行う。また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う。

B．研究方法

2011～2015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1225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約100例を選択した。

（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

1,225例の肺腺がん症例の内、非喫煙者489名の10歳代と30歳代の受動喫煙暴露状況を確認した。その結果、10歳代で週5日以上受動喫煙を暴露されていた方は全体の30%を占め、30歳代では全体の40%を占めた。但し、男性非喫煙者のほとんどが、週5日以上受動喫煙を暴露しており、受動喫煙を暴露されていない症例が非常に少なかった。そこで、女性非喫煙者肺腺がん症例に着目し、かつ凍結組織検体が保存されていた10歳代、30歳代とともに週5日以上受動喫煙を暴露された群と全く暴露されていない群それぞれ24例を選択し、全エクソンシーケンスを行うためのDNA試料の準備を完了した。

D．結論・考察

来年度に全エクソンシーケンスを行い、能動もしくは受動喫煙群において、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確認する。

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

別紙 4

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
該当なし							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
該当なし					