

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：高精度エピゲノム胃癌リスク診断の確立と多層的食道がんリスク診断の開発
2. 研究開発代表者：牛島俊和 (国立研究開発法人国立がん研究センター 研究所 エピゲノム解析分野)

3. 研究開発の成果

1)ピロリ菌除菌後健常者の中の胃癌高危険度群の高精度捕捉の前向き臨床研究

【研究開発目的及び内容】

慢性胃炎に対する *Helicobacter pylori* (ピロリ菌) 除菌が開始され、除菌後健常者が急増している。この中からも胃癌は発生し、高危険度群を捕捉する技術の確立が急務となっている。そこで本研究では、除菌後の健常者を対象に、胃粘膜での DNA メチル化レベルの定量 (エピゲノムマーカー) により胃癌高危険度群の高精度捕捉が可能であることを前向き臨床研究で証明する(UMIN000016894)。

【H27年度の成果】

①IRB 承認進捗状況および症例登録

H27年3月24日に国立がん研究センター中央病院で最初の IRB による研究許可が得られ、9月末までには全9分担施設で IRB 承認が得られた。分担施設の協力施設に関しては、計55施設が IRB 承認を受けた。H27年6月1日より症例登録が開始され、459例が登録された。新倫理指針の適用に伴う IRB 承認遅延のため、H27年6月の進捗状況報告の際に研究進捗予定の見直しを行った。月当たりの登録数は65例程度と見直し後の予定登録ペースにほぼ到達した。

③マーカー遺伝子の同定・開発

知財取得可能な新規 DNA メチル化マーカーの開発を行った。本研究の対象者であり、臨床的にも判別が重要な、ピロリ菌除菌後も胃粘膜萎縮を有する健康人(G2)と、同等の背景を有して胃癌を発症した人(G3)、それぞれの非がん部胃粘膜を集積しゲノム網羅的スクリーニングにより、G2とG3を区別できるマーカー候補を49個同定した。これらのうち MSP およびパイロシークエンシングによる確認によりスクリーニング群での違いが確認され、今後バリデーションを行うマーカー遺伝子の候補4個を選定した。

2)食道がん高危険度群捕捉の多層的リスクマーカーの開発

【研究開発目的及び内容】

食道がんは難治性ゆえに早期発見が重要であり、既知のリスク因子とは独立に高危険度群を捕捉できる技術の開発が重要である。そこで本研究では、食道粘膜に蓄積した点突然変異を定量可能とし、エピゲノムマーカーと組み合わせた食道がん多層的リスクマーカーを開発する。

【H27年度の成果】

①微量の点突然変異を測定する新技術開発

H26年度までに開発した特定の遺伝子領域に存在する点突然変異頻度測定方法の信頼性を検証するため、変異原物質を投与した細胞株の点突然変異頻度解析を行った。その結果、変異原物質の曝露量に応じて、変異原物質の特性を反映した点突然変異頻度の上昇を認め、十分な検出力と、また独立反復実験により再現性も確認された。

②食道粘膜に蓄積した点突然変異頻度の測定

食道がん発がん因子非曝露群の食道粘膜 (G1)、発がん因子曝露群の食道粘膜 (G2)、食道がん患者 (発がん因子に曝露している) の非がん部食道粘膜 (G3)を国立台湾大学の協力により集積した。開発新技術により点突然変異頻度を測定した結果、G1、G2、G3と発がんリスク上昇に伴い、変異頻度が上昇する

ことが示された。発がん因子曝露者（G2、G3）の中で、食道がん患者を区別する ROC 解析を行うと、ROC 曲線下面積（AUC）は 0.79 と高い予測能を示した。また、発がん因子を含めた多変量解析においても突然変異頻度は最も強い食道発がん危険因子であった（ $P < 0.01$ ）。蓄積した点突然変異頻度の測定は食道がんリスク診断に有用であることが示されたことから、特許出願（診断薬企業と共願）を行った。

4. その他