

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 革新的がん医療実用化研究事業  
(英語) Practical Research for Innovative Cancer Control

研究開発課題名： (日本語) 肺腺がんの個別化・層別化・早期発見のための高危険度群捕捉手法の確立に関する研究  
(英語) Identification of high-risk individuals for precision prevention of lung adenocarcinoma

研究開発担当者 (日本語) 国立がん研究センター研究所 ゲノム生物学研究分野分野長河野隆志  
所属 役職 氏名 (英語) Takashi Kohno  
Chief, Division of Genome Biology  
National Cancer Center Research Institute

実施期間： 平成26年 7月 11日 ～ 平成29年 3月 31日

分担研究 (日本語) 新規肺がん感受性遺伝子座の同定や生活環境因子と遺伝要因との相互作用の検討並びに国際コンソーシアムへの参画による人種差の検討  
開発課題名： (英語) Identification of lung adenocarcinoma susceptibility loci and their differentiation according to ethnicity

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター研究所 ゲノム生物学研究分野 研究員 白石航也  
所属 役職 氏名： (英語) Kouya Shiraishi  
Staff Scientist, Division of Genome Biology  
National Cancer Center Research Institute

分担研究 (日本語) 肺腺がん前がん病変と考えられるすりガラス様陰影 (GGO)の発症要因の同定  
開発課題名： (英語) Association of polymorphism in lung adenocarcinoma susceptibility genes with ground glass opacity (GGO) risk

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター 中央病院放射線診断科医長 柿沼龍太郎  
所属 役職 氏名 : (英語) Head Physician, Department of diagnostic radiology  
National Cancer Center Hospital

分担研究 (日本語) コホート研究試料を用いた遺伝素因・生活環境因子両方を考慮した絶対リスク予測モデルの予備的検討  
開発課題名 : (英語) Absolute risk prediction model using cohort subjects

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター 社会と健康研究センター 予防研究部 室長 島津  
太一  
所属 役職 氏名 : (英語) Taichi Shimazu  
Section Head, Division of Prevention  
Center for Public Health Sciences,  
National Cancer Center

分担研究 (日本語) コホート研究試料を用いた遺伝素因・生活環境因子両方を考慮した絶対リスク予測モデルの予備的検討  
開発課題名 : (英語) Absolute risk prediction model using cohort subjects

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター 社会と健康研究センター 予防研究部 研究員  
Charvat Hadrien  
所属 役職 氏名 : (英語) Charvat Hadrien  
Scientist, Division of Prevention  
Center for Public Health Sciences,  
National Cancer Center

分担研究 (日本語) 新規肺がん感受性遺伝子座の同定並びに国際コンソーシアムへの参画による人種差の検討  
開発課題名 : (英語) Identification of lung adenocarcinoma susceptibility loci and their differentiation according to ethnicity

研究開発分担者 (日本語) 国立がん研究センター研究所 ゲノム生物学研究分野客員研究員 横田淳  
所属 役職 氏名 : (英語) Jun Yokota  
Visiting Scientist, Division of Genome Biology  
National Cancer Center Research Institute

分担研究 (日本語) 新規肺がん感受性遺伝子座の同定や生活環境因子と遺伝要因との交互作用の検討  
開発課題名 : (英語) Identification of lung adenocarcinoma susceptibility loci

研究開発分担者 (日本語) 京都大学大学院 医学研究科附属ゲノム医学センター 教授 松田文彦

所属 役職 氏名 : (英 語) Fumihiko Matsuda  
Professor, Center for Genomic Medicine  
Graduate School of Medicine, Kyoto University

分担研究 (日本語) 新規肺がん感受性遺伝子座の同定や生活環境因子と遺伝要因との相互作用の検討

開発課題名 : (英 語) Identification of lung adenocarcinoma susceptibility loci

研究開発分担者 (日本語) 理化学研究所 統合生命医科学研究センター 副センター長 久保充明

所属 役職 氏名 : (英 語) Michiaki Kubo  
Deputy Director,  
Center for Integrative Medical Sciences, RIKEN

分担研究 (日本語) 新規肺がん感受性遺伝子座の同定や生活環境因子と遺伝要因との相互作用の検討

開発課題名 : (英 語) Identification of lung adenocarcinoma susceptibility loci

研究開発分担者 (日本語) 東京大学 医科学研究所附属病院 抗体・ワクチンセンター 特任教授 醍醐弥太郎

所属 役職 氏名 : (英 語) Yataro Daigo  
Project Professor, Center for Antibody and Vaccine Therapy, IMSUT  
Hospital, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo

分担研究 (日本語) 新規肺がん感受性遺伝子座の同定や生活環境因子と遺伝要因との相互作用の検討

開発課題名 : (英 語) Identification of lung adenocarcinoma susceptibility loci

研究開発分担者 (日本語) 愛知県がんセンター研究所 遺伝子医療研究部室長 伊藤秀美

所属 役職 氏名 : (英 語) Hidemi Ito  
Section Chief, Division of Molecular Medicine  
Aichi Cancer Center Research Institute

分担研究 (日本語) 新規肺がん感受性遺伝子座の同定や生活習慣因子と遺伝要因との相互作用の検討並びに国際コンソーシアムへの参画による人種差の検討

開発課題名 : (英 語) Identification of lung adenocarcinoma susceptibility loci and their differentiation according to ethnicity

研究開発分担者 (日本語) 愛知県がんセンター研究所 遺伝子医療研究部 部長 松尾恵太郎

所属 役職 氏名 : (英 語) Keitaro Matsuo  
Chief, Division of Molecular Medicine  
Aichi Cancer Center Research Institute

## II. 成果の概要（総括研究報告）

[和文]

研究開発は主に 3 項目に分かれる。

### (1) 肺腺がんに対する新規感受性遺伝子座の同定

高危険度群の捕捉手法としての正確なリスクモデルの構築には多数の感受性遺伝子座を必要とする。我々は研究計画通り、肺腺がん、女性非喫煙者肺がん、EGFR 変異陽性肺腺がんに対するゲノム網羅的な解析を行い、10 か所以上の新規・既知肺腺がん感受性遺伝子座を同定した。特にアジア人に多い EGFR 変異腺がんにおいては、HLA-Class II 遺伝子 HLA-DPB1 の多型がリスクとなることは、免疫能の個人差が肺がん感受性に寄与することを示しており、きわめて独創的・先駆的な知見を得ている(Shiraishi et al., Nat Comm, 2016)。具体的な解析手法として、EGFR 変異陽性肺腺がんの GWAS 解析を元に検証研究を実施した。解析に供する症例を増やすため、合計 3,000 例のがん組織から DNA を抽出し、HRM 法等を用いて EGFR 変異情報を取得した（マイルストーン 5 完了）。本研究に供した EGFR 変異陽性腺がん症例は、計 3,173 例、EGFR 変異陰性腺がん計 3,694 例、コントロールは計 15,158 例となった。検証研究の結果、感受性遺伝子座を計 6 箇所同定した（マイルストーン 4 完了）。本成果は学術誌に発表するとともに（Shiraishi et al., Nat Comm. 2016）、プレスリリース(NHK ニュース、朝日新聞、読売新聞)を行った。また、CT 検査で検出される GGO（ガラス様陰影）前がん病変保有に関しても関連解析を行い、*TERT* 並びに *TP63* 遺伝子など、一部の多型が GGO 保持リスクと関連することを見出した（マイルストーン 6、7 完了）。この結果は、肺腺がんの一部のみが肺腺腫の発生に関与していることを示している。

### (2) 国際共同研究メタ解析への参画

国際コンソーシアムの一つである FLCCA (Female Lung Cancer Consortium in Asia) との共同研究により、新たに 2 つの感受性遺伝子座（染色体 6p21.1 に位置する rs7741164 と染色体 9p21.3 に位置する rs72658409）を同定した (Wang Z\*, Seow WJ\*, Shiraishi K\*, Hsiung CA\*, Matsuo K\*,... Hum Mol Genet. 2016: \*co-first author)。また FLCCA によるアジア人研究においても、HLA-class II 領域の多型が EGFR 変異陽性肺腺がんの発症リスクに関わり、再現性が得られている（マイルストーン 8 完了: Seow WJ\*, Matsuo K\*, Hsiung CA\*, Shiraishi K\*,... Hum Mol Genet. 2017: \*co-first author)。しかしながら、上述の HLA-Class II 遺伝子座などは、多型性に大きな人種差が存在するため、本邦特有のリスクアレルが存在する可能性があり、国際コンソーシアム研究でさらに追及する。

### (3) リスクモデリング

(1) で本研究によって同定した既存感受性遺伝子座を元にリスクモデリングを行った。まず初めに愛知県がんセンター肺線がん症例 422 名と非がん対照者 716 名を対象に関連解析を実施したところ、オッズ比で 3 以上ある全体で数%の危険度群を捕捉できた（マイルストーン 10 完了）。しかし精度指標である AUC は 0.6 程度であり、十分な高危険度群を捕捉できたとは言い難く、更なる検討の余地があった。また、多目的コホート研究を用いた前向き試料を用いた検討は、喫煙者を対象としたリスク予測モデルでは非喫煙者に比べてよい結果が得られたが、十分な高危険度群を捕捉できたとは言い難く、更なる検討の余地があると考えられる。

[英文]

The purpose of research is mainly divided into three categories.

(1) Identification of lung adenocarcinoma (LADC) susceptibility loci.

To construct a method for capturing high-risk groups, a large number of susceptibility loci are needed to identify. According to our research plans for genomic analysis of LADC, female never-smoker lung cancer and *EGFR* mutation-positive LADC, more than 10 new and known LADC susceptibility loci have been identified. Genetic factors underlying the risk of *EGFR* mutation-positive LADC were identified by conducting a genome-wide association study, followed by two validation studies, in 3,173 Japanese patients with *EGFR* mutation-positive LADC and 15,158 controls. In order to increase the number of cases with *EGFR* mutation, DNA was extracted from a total of 3,000 more cancer tissues and was subjected to HRM assay to examine *EGFR* mutation (Milestone 5: completed). Four loci, 5p15.33 (*TERT*), 6p21.3 (*BTNL2*), 3q28 (*TP63*) and 17q24.2 (*BPTF*), previously shown to be strongly associated with overall LADC risk in East Asians, were re-discovered as loci associated with a higher susceptibility to *EGFR* mutation-positive LADC. In addition, two additional loci, HLA class II at 6p21.32 (*HLA-DPB1*: rs2179920) and 6p21.1 (*FOXP4*: rs2495239) were newly identified as loci associated with *EGFR* mutation-positive LADC (Milestone 4: completed). The rs2179920 SNP was located in an intergenic region near the *HLA-DPB1* (major histocompatibility complex, class II, DP beta 1) gene in the human leukocyte antigen (HLA) class II region, and was in a strong linkage disequilibrium with the Glu57Asp SNP. This result indicates that polymorphisms in *HLA-DPB1* may contribute to lung cancer risk by affecting immune responses against *EGFR*-positive tumour cells (Shiraishi et al., Nat Comm, 2016). We also examined whether polymorphisms in LADC susceptibility genes are associated with risk of GGO (ground glass opacity) detected by CT examination. Polymorphisms in *TERT* and *TP63* genes were associated with GGO risk (Milestone 6 & 7: completed).

(2) Participation in international collaborative studies using meta-analysis of genome-wide association studies.

To identify new susceptibility loci in Asian, our group participated in studies of FLCCA (Female Lung Cancer Consortium in Asia). Two susceptibility loci (rs7741164 located at chromosome 6p21.1 and rs72658409 located at chromosome 9p21.3) were newly identified (Wang Z \*, Seow WJ \*, Shiraishi K \*, Hsiung CA \*, Matsuo K \*, ... Hum Mol Genet. 2016: \* co-first author). In addition, polymorphisms in HLA-class II region were validated as a risk factor for *EGFR* mutation-positive LADC of Asians (Milestone 8: completed) (Seow WJ \*, Matsuo K \*, Hsiung CA \*, Shiraishi K \*, ... Hum Mol Genet. 2017: \* co-first author). Since HLA region is highly polymorphic, to define specific risk alleles is difficult in each population. Further studies were needed to define them.

(3) Construct of risk modeling for LADC.

Risk model to deduce risk for LADC was constructed based on eight SNPs in LADC susceptibility loci. We performed a case-control study consisted of 422 LADC cases and 716 non-cancer control subjects in the Aichi Cancer Center. The risk model could predict the high-risk individuals with odds ratios of

3 or more. On the other hand, AUC (area under the curve), an accuracy index, was about 0.6. Therefore, further improvement by including more risk factors is strongly needed.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 2 件、国際誌 5 件)

1. Shiraishi K, Okada Y, Takahashi A, Kamatani Y, Momozawa Y, Ashikawa K, Kunitoh H, Matsumoto S, Takano A, Shimizu K, Goto A, Tsuta K, Watanabe S, Ohe Y, Watanabe Y, Goto Y, Nokihara H, Furuta K, Yoshida A, Goto K, Hishida T, Tsuboi M, Tsuchihara K, Miyagi Y, Nakayama H, Yokose T, Tanaka K, Nagashima T, Ohtaki Y, Maeda D, Imai K, Minamiya Y, Sakamoto H, Saito A, Shimada Y, Sunami K, Saito M, Inazawa J, Nakamura Y, Yoshida T, Yokota J, Matsuda F, Matsuo K, Daigo Y, Kubo M, Kohno T. Association of variations in HLA class II and other loci with susceptibility to EGFR-mutated lung adenocarcinoma. **Nat Commun**, 2016; 7:12451.
2. Kakinuma R, Noguchi M, Ashizawa K, Kuriyama K, Maeshima AM, Koizumi N, Kondo T, Matsuguma H, Nitta N, Ohmatsu H, Okami J, Suehisa H, Yamaji T, Kodama K, Mori K, Yamada K, Matsuno Y, Murayama S, Murata K. Natural History of Pulmonary Subsolid Nodules: A Prospective Multicenter Study. **J Thorac Oncol**. 2016, 11(7):1012-28.
3. Seow WJ, Matsuo K, Hsiung CA, Shiraishi K, Song M, Kim HN, Wong MP, Hong YC, Hosgood HD 3rd, Wang Z, Chang IS, Wang JC, Chatterjee N, Tucker M, Wei H, Mitsudomi T, Zheng W, Kim JH, Zhou B, Caporaso NE, Albanes D, Shin MH, Chung LP, An SJ, Wang P, Zheng H, Yatabe Y, Zhang XC, Kim YT, Shu XO, Kim YC, Bassig BA, Chang J, Ho JC, Ji BT, Kubo M, Daigo Y, Ito H, Momozawa Y, Ashikawa K, Kamatani Y, Honda T, Sakamoto H, Kunitoh H, Tsuta K, Watanabe SI, Nokihara H, Miyagi Y, Nakayama H, Matsumoto S, Tsuboi M, Goto K, Yin Z, Shi J, Takahashi A, Goto A, Minamiya Y, Shimizu K, Tanaka K, Wu T, Wei F, Wong JY, Matsuda F, Su J, Kim YH, Oh IJ, Song F, Lee VH, Su WC, Chen YM, Chang GC, Chen KY, Huang MS, Yang PC, Lin HC, Xiang YB, Seow A, Park JY, Kweon SS, Chen CJ, Li H, Gao YT, Wu C, Qian B, Lu D, Liu J, Jeon HS, Hsiao CF, Sung JS, Tsai YH, Jung YJ, Guo H, Hu Z, Wang WC, Chung CC, Lawrence C, Burdett L, Yeager M, Jacobs KB, Hutchinson A, Berndt SI, He X, Wu W, Wang J, Li Y, Choi JE, Park KH, Sung SW, Liu L, Kang CH, Hu L, Chen CH, Yang TY, Xu J, Guan P, Tan W, Wang CL, Sihoe AD, Chen Y, Choi YY, Hung JY, Kim JS, Yoon HI, Cai Q, Lin CC, Park IK, Xu P, Dong J, Kim C, He Q, Perng RP, Chen CY, Vermeulen R, Wu J, Lim WY, Chen KC, Chan JK, Chu M, Li YJ, Li J, Chen H, Yu CJ, Jin L, Lo YL, Chen YH, Fraumeni JF Jr, Liu J, Yamaji T, Yang Y, Hicks B, Wyatt K, Li SA, Dai J, Ma H, Jin G, Song B, Wang Z, Cheng S, Li X, Ren Y, Cui P, Iwasaki M, Shimazu T, Tsugane S, Zhu J, Jiang G, Fei K, Wu G, Chien LH, Chen HL, Su YC, Tsai FY, Chen YS, Yu J, Stevens VL, Laird-Offringa IA, Marconett CN, Lin D, Chen K, Wu YL, Landi MT, Shen H, Rothman N, Kohno T, Chanock SJ, Lan Q. Association between GWAS-identified lung adenocarcinoma susceptibility loci and EGFR mutations in never-smoking Asian women, and

comparison with findings from Western populations. **Hum Mol Genet.** 2017; 26(2):454-465.

4. Fehringer G, Kraft P, Pharoah PD, Eeles RA, Chatterjee N, Schumacher FR, Schildkraut JM, Lindström S, Brennan P, Bickeböller H, Houlston RS, Landi MT, Caporaso N, Risch A, Amin Al Olama A, Berndt SI, Giovannucci EL, Grönberg H, Kote-Jarai Z, Ma J, Muir K, Stampfer MJ, Stevens VL, Wiklund F, Willett WC, Goode EL, Permuth JB, Risch HA, Reid BM, Bezieau S, Brenner H, Chan AT, Chang-Claude J, Hudson TJ, Kocarnik JK, Newcomb PA, Schoen RE, Slattery ML, White E, Adank MA, Ahsan H, Aittomäki K, Baglietto L, Blomquist C, Canzian F, Czene K, Dos-Santos-Silva I, Eliassen AH, Figueroa JD, Flesch-Janys D, Fletcher O, Garcia-Closas M, Gaudet MM, Johnson N, Hall P, Hazra A, Hein R, Hofman A, Hopper JL, Irwanto A, Johansson M, Kaaks R, Kibriya MG, Lichtner P, Liu J, Lund E, Makalic E, Meindl A, Müller-Myhsok B, Muranen TA, Nevanlinna H, Peeters PH, Peto J, Prentice RL, Rahman N, Sanchez MJ, Schmidt DF, Schmutzler RK, Southey MC, Tamimi R, Travis RC, Turnbull C, Uitterlinden AG, Wang Z, Whittemore AS, Yang XR, Zheng W, Buchanan DD, Casey G, Conti DV, Edlund CK, Gallinger S, Haile RW, Jenkins M, Le Marchand L, Li L, Lindor NM, Schmit SL, Thibodeau SN, Woods MO, Rafnar T, Gudmundsson J, Stacey SN, Stefansson K, Sulem P, Chen YA, Tyrer JP, Christiani DC, Wei Y, Shen H, Hu Z, Shu XO, Shiraishi K, Takahashi A, Bossé Y, Obeidat M, Nickle D, Timens W, Freedman ML, Li Q, Seminara D, Chanock SJ, Gong J, Peters U, Gruber SB, Amos CI, Sellers TA, Easton DF, Hunter DJ, Haiman CA, Henderson BE, Hung RJ; Ovarian Cancer Association Consortium (OCAC); PRACTICAL Consortium; Hereditary Breast and Ovarian Cancer Research Group Netherlands (HEBON); Colorectal Transdisciplinary (CORECT) Study; African American Breast Cancer Consortium (AABC) and African Ancestry Prostate Cancer Consortium (AAPC). Cross-Cancer Genome-Wide Analysis of Lung, Ovary, Breast, Prostate, and Colorectal Cancer Reveals Novel Pleiotropic Associations. *Cancer Res.* 2016; 76(17):5103-14.
5. Wang Z, Seow WJ, Shiraishi K, Hsiung CA, Matsuo K, Liu J, Chen K, Yamji T, Yang Y, Chang IS, Wu C, Hong YC, Burdett L, Wyatt K, Chung CC, Li SA, Yeager M, Hutchinson A, Hu W, Caporaso N, Landi MT, Chatterjee N, Song M, Fraumeni JF Jr, Kohno T, Yokota J, Kunitoh H, Ashikawa K, Momozawa Y, Daigo Y, Mitsudomi T, Yatabe Y, Hida T, Hu Z, Dai J, Ma H, Jin G, Song B, Wang Z, Cheng S, Yin Z, Li X, Ren Y, Guan P, Chang J, Tan W, Chen CJ, Chang GC, Tsai YH, Su WC, Chen KY, Huang MS, Chen YM, Zheng H, Li H, Cui P, Guo H, Xu P, Liu L, Iwasaki M, Shimazu T, Tsugane S, Zhu J, Jiang G, Fei K, Park JY, Kim YH, Sung JS, Park KH, Kim YT, Jung YJ, Kang CH, Park IK, Kim HN, Jeon HS, Choi JE, Choi YY, Kim JH, Oh IJ, Kim YC, Sung SW, Kim JS, Yoon HI, Kweon SS, Shin MH, Seow A, Chen Y, Lim WY, Liu J, Wong MP, Lee VH, Bassig BA, Tucker M, Berndt SI, Chow WH, Ji BT, Wang J, Xu J, Sihoe AD, Ho JC, Chan JK, Wang JC, Lu D, Zhao X, Zhao Z, Wu J, Chen H, Jin L, Wei F, Wu G, An SJ, Zhang XC, Su J, Wu YL, Gao YT, Xiang YB, He X, Li J, Zheng W, Shu XO, Cai Q, Klein R, Pao W, Lawrence C, Hosgood HD 3rd, Hsiao CF, Chien LH, Chen YH, Chen CH, Wang WC, Chen CY, Wang CL, Yu CJ, Chen HL, Su YC, Tsai FY, Chen YS, Li YJ, Yang TY, Lin CC, Yang PC, Wu T, Lin D, Zhou B, Yu J, Shen H, Kubo M, Chanock SJ, Rothman N, Lan Q. Meta-analysis of genome-wide association studies identifies multiple lung cancer susceptibility loci in never-smoking Asian women. **Hum Mol Genet.** 2016; 25(3):620-9.

6. 白石航也 EGFR 変異を伴う肺腺がんの発症にかかわる HLA を含む遺伝子領域の同定 臨床免疫・アレルギー科 2017年3月 p310-315
7. 白石航也、河野隆志 肺発がんリスクの規定要因を同定するための国際コンソーシアム研究 病理と臨床 2016年7月 p725-729

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Shiraishi K, Okada Y, Takahashi A, Kamatani Y, Momozawa Y, Ashikawa K, Kunitoh H, Matsumoto S, Takano A, Shimizu K, Goto A, Tsuta K, Watanabe S, Ohe Y, Watanabe Y, Goto Y, Nokihara H, Furuta K, Yoshida A, Goto K, Hishida T, Tsuboi M, Tsuchihara K, Miyagi Y, Nakayama H, Yokose T, Tanaka K, Nagashima T, Ohtaki Y, Maeda D, Imai K, Minamiya Y, Sakamoto H, Saito A, Shimada Y, Sunami K, Saito M, Inazawa J, Nakamura Y, Yoshida T, Yokota J, Matsuda F, Matsuo K, Daigo Y, Kubo M, Kohno T. Association of variations in HLA-class II and other loci with susceptibility to EGFR-mutated lung adenocarcinoma. AACR Special Conference on Improving Cancer Risk Prediction for Prevention and Early Detection. 2016年11月 (米国)
2. 久保充明 オーダーメイド医療の実現プログラムについて (口演) 革新的医療技術創出拠点プロジェクト プロジェクト連携シンポジウム (ゲノム) 2016年2月 (国内)
3. 久保充明 Biobank Japan Project (口演) Genomics and Precision Medicine in the UK セミナー 2016年3月 (国内)

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. **プレスリリース** : 本研究の成果である、EGFR 変異陽性肺腺がんへの罹患のリスク因子となる遺伝子多型の同定 (Shiraishi et al., *Nat Comm.*, 2016) について、プレスリリースを行った。NHK ニュース、朝日新聞、読売新聞でその成果が公表されるにいたった。
2. コホート・生体試料支援プラットフォーム市民公開講座「がんの先進的医療の開発研究：肺がんの新しい診断法と治療薬をつくる取り組み」2016年10月30日 名古屋

(4) 特許出願

特にありません。