

令和 6 年 6 月 4 日現在

機関番号：33920

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21H03186

研究課題名（和文）GWASで同定した新規膵がん感受性遺伝子GP2に関する分子遺伝疫学研究

研究課題名（英文）Genetic and molecular epidemiology study of GWAS-identified pancreatic cancer-associated GP2 gene

研究代表者

林 櫻松（LIN, YINGSONG）

愛知医科大学・医学部・教授

研究者番号：50340302

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 12,600,000円

研究成果の概要（和文）：膵がんゲノムワイド関連解析で同定された感受性遺伝子GP2についての分子遺伝疫学研究を行った。ファインマッピングにより、GP2遺伝子領域のバリエーションrs78193826は、日本人を含むアジア人に特異的なバリエーションであることが示唆された。膵がんGWASでは、13q22.1、9q34.2、16p12.3、1p13.2の4つのゲノム領域における遺伝的変異が膵がんリスクと有意に関連することが明らかになった。さらに、臨床的有用性については、対照群に比べて膵がん症例群での血漿GP2濃度が有意に上昇し、症例群においてステージが上がることに濃度が上昇するという結果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膵がんは、発生の大部分が不明で、早期発見が依然として困難である。そのため、新しい視点に立った膵がん発症における遺伝・環境要因の解明やハイリスク者の同定が急務である。ゲノムワイド関連解析で同定された膵がん感受性遺伝子GP2にフォーカスした本研究の成果は、膵がん病態生理の理解を深めるとともに、ハイリスク者の同定による膵がんの早期発見や発症予防に役立つものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：We conducted genetic and epidemiologic analyses focusing on our GWAS-identified pancreatic cancer susceptibility gene GP2. Fine mapping suggested that the lead variant rs78193826 in the GP2 region is a variant specific to Asians, including Japan. In the pancreatic cancer GWAS, genetic variants in four genomic regions (13q22.1, 9q34.2, 16p12.3, and 1p13.2) were significantly associated with pancreatic cancer risk. In terms of clinical utility, plasma GP2 concentrations were significantly increased in the pancreatic cancer patients, and the concentration further increased with clinical stage. These findings suggest that GP2 variant may play a role in the pathophysiology of pancreatic cancer in Japanese people. Further studies are needed to confirm its clinical significance as a risk or diagnostic biomarker.

研究分野：がん疫学

キーワード：膵がん ゲノムワイド関連解析 遺伝子多型

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

膵がんは、罹患率・死亡率とも年々増加傾向にあるものの、発生要因の大部分が不明であり、早期発見につながるバイオマーカーが存在していない。そのため、新しい視点から膵がん発症における遺伝及び環境要因の解明やハイリスク者の同定が急務である。

我々の研究グループが、アジアで最大規模の膵がん GWAS メタ解析(症例 2039 人、対照 32,592 人)を実施した。その結果、3カ所のゲノム領域(13q12.2, 13q22.1, 16p12.3)において、ゲノムワイド有意水準($p < 5 \times 10^{-8}$)を満たす関連を認めた(1)。そのうち、16p12.3は新規領域であり、この領域内で膵がんリスクと有意な関連を示した10個のSNPは、全てGP2遺伝子領域内に存在していた。同定された10個のSNPのうち、GP2のコーディング領域に存在するSNP(rs78193826)は、これまでに報告された膵がん関連SNP(オッズ比=1.1-1.2)と比べてオッズ比、P値共に最も強い関連を示した(オッズ比=1.46)。さらにこのSNPは、アミノ酸変異(Val Met)を伴い、PolyPhen2、SIFTのスコアからGP2タンパク質の構造や機能に有害な影響を与えると予測されている。GP2タンパク質は、膵臓に特異的に発現しており、膵腫瘍組織では発現の低下が確認されている。

GP2 rs78193826を候補 causal variantであると仮定し、我々は膵がん細胞株 PATU8988S、ゲノム編集(CRISPR-Cas9)、次世代シーケンサー(RNAseq)を併用した機能解明を試みた。CRISPR-cas9でrs78193826のリスクアレルTをPATU8988Sに導入し、GP2ゲノム編集細胞株(V282M株)を作成した。野生(WT)株とV282M株に対しRNA-seqを実施し、遺伝子セット解析(GSEA)により両株間の遺伝子発現プロファイルの違いを評価したところ、有意な遺伝子セットが数多く同定された。そのうち、KRASの活性化により発現が低下する遺伝子群が、GP2 V282M株で有意に低発現していた。すなわち、rs78193826はKRAS活性を調節することで膵がんリスクに影響を及ぼすことが示唆された。これらの結果から、rs78193826は膵がんの候補 causal variantである可能性が高い。しかしながら、GP2遺伝子にrs78193826以外の候補 causal variantが存在しているかどうか、存在するとすればどのようにGP2タンパク質の機能に影響を及ぼし、膵がん発症に寄与するのか、ハイリスク者の同定に利用できるのかは明らかにされていない。

2. 研究の目的

大規模GWASメタ解析で同定した膵がん感受性遺伝子GP2に焦点を当て、GP2領域における膵がんの原因となる causal variantを特定するとともに、血中GP2が膵がん早期発見のリスクマーカーとしての有用性を評価する。最終的にはGP2をターゲットとしたハイリスク者の同定による膵がん発症予防を目指す。

3. 研究の方法

(1)膵がんGWASを行うため、東北メディカル・メガバンク機構(ToMMo)GWASセンターにおいてSNP Genotyping & Imputationを実施した。ゲノムワイド遺伝子型データの取得にはジャポニカアレイNEOが用いられた。SNPのインピュテーションにはSHAPEIT2とIMPUTE4(参照パネル:3.5KJPNv2+1KGP3クロスリファレンス)を使用した。性別矛盾や判定不能者は除外し、近縁関係や人種チェックは実施しなかった。SNPと膵がんリスクとの関連解析にはMETALを用い、その際に分析対象となったSNPは、マイナーアレル頻度(MAF)が0.01以上かつインピュテーション精度が0.4以上のものだけに限り、共変量には第1~第10主成

分を使用した。

(2) GP2 の膵がん早期発見バイオマーカーとしての有用性を検討するために、ELISA法を用いて血漿 GP2 濃度を測定した。判別性能の指標として、感度や特異度、ROC 曲線下面積(AUC)などを用いた。使用した統計ソフトは SAS である。

4. 研究成果

(1) GP2 遺伝子多型と生活習慣の関連

愛知医大が主導で行っている多施設膵がん症例対照研究により収集した膵がん 620 例とコントロール 400 例を対象として、GP2 の原因候補遺伝子多型である rs78193826 と体格指数(BMI)、糖尿病の関連を検討した。rs78193826 多型が CC 型の人々の BMI 平均値は 22.9 ± 3.3 、CT または TT 型の人々の平均値は 22.8 ± 3.0 と両者の間に統計学的有意差が認められなかった。一方で、CC 型と比べて、CT または TT 型を持つ人で糖尿病の割合が有意に高い(14.8% 対 22.8%)ことが明らかになった。

(2) ファインマッピング

GP2 領域の原因候補遺伝子多型を絞りこむために、アメリカ NCI PanScan (膵がんコンソーシアム)及び Panc4 (膵がん症例対照研究 コンソーシアム)と共同研究契約を締結し、膵がん症例約 8000 例、コントロール約 10000 人のサマリーデータを入手した。これらのデータを用いて、GP2 遺伝子領域のバリエーションと膵がんリスクの関連を検討した。その結果、ヨーロッパ人集団では rs78193826 のマイナーアレル T の頻度が 0.01% よりも低いいため、本遺伝子多型に関する情報が得られなかった。さらに、rs78193826 と連鎖不平衡関係にあるほかのバリエーション(rs117267808, rs73541251 など)について検討したところ、いずれも膵がんリスクと有意な関連が認められなかった($P > 0.05$)。これらの結果より、GP2 領域のバリエーションは、日本人を含むアジア人に特異的なバリエーションであることが示唆された。

(3) 膵がん GWAS メタ解析

これまでに報告されている膵がん GWAS メタ解析データ(ケース 2039 例、コントロール 32592 例)に前年度実施した膵がん GWAS で得られたデータ(ケース 496 例、コントロール 4454 例)を加え、GWAS メタ解析(ケース 2535 例、コントロール 37046 例)を実施した。その結果、13q22.1(rs4885093)、9q34.2(rs9411476)、16p12.3(rs73541251)、1p13.2(rs3737136)の 4 か所のゲノム領域における遺伝的変異が膵がんリスクと有意に関連することが明らかになった。

(4) GP2 の膵がん早期発見のバイオマーカーとしての有用性

GP2 の膵がん早期発見のバイオマーカーとしての有用性を検討するために、ELISA法を用いて血漿 GP2 濃度を測定した。膵がん症例 134 例(うちステージ 1 が 6 例、ステージ 2 が 26 例)と対照 134 例について、血漿 GP2 濃度を比較した。対照群における GP2 濃度の中央値は 79,790 pg/ml であったのに対し、症例群では 128,345 pg/ml であった。さらに、膵がん症例群でステージが上がるにつれ、GP2 濃度が有意に上昇していた。

今後はさらに GP2 の発症前リスク予測マーカーとしての有用性を検討し、論文化を予定している。

<引用文献>

- 1) Lin Y, Nakatochi M, Hosono Y, et al. Genome-wide association meta-analysis identifies GP2 gene risk variants for pancreatic cancer. Nat Commun. 2020;11:3175.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Adachi Y, Nojima M, Mori M, Kubo T, Akutsu N, Sasaki Y, Nakase H, Lin Y, Kurozawa Y, Wakai K, Tamakoshi A; Japan Collaborative Cohort Study.	4. 巻 32(2)
2. 論文標題 Serum Soluble Fas Levels and Incidence of Liver Cancer in Nested Case-Control Study.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.	6. 最初と最後の頁 260-265
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1158/1055-9965.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Lin Y, Kawai S, Sasakabe T, Kurosawa M, Tamakoshi A, Kikuchi S; JACC Study Group.	4. 巻 33(11)
2. 論文標題 Associations between cigarette smoking and biliary tract cancer by anatomic subsite and sex: a prospective cohort study in Japan.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cancer Causes Control	6. 最初と最後の頁 1335-1341
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.pone.0279169.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Lin Y, Nakatochi M, Sasahira N, Ueno M, Egawa N, Adachi Y, Kikuchi S.	4. 巻 43(1)
2. 論文標題 Glycoprotein 2 in health and disease: lifting the veil.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genes and Environment	6. 最初と最後の頁 53
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1186/s41021-021-00229-8.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Osaki T, Lin Y, Sasahira N, Ueno M, Yonezawa H, Hojo F, Okuda M, Matsuyama M, Sasaki T, Kobayashi S, Tezuka S, Tanaka K, Dan N, Kuruma S, Egawa N, Kamiya S, Kikuchi S.	4. 巻 27(1)
2. 論文標題 Prevalence estimates of Helicobacter species infection in pancreatic and biliary tract cancers.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Helicobacter	6. 最初と最後の頁 e12866
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/hel.12866	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分 担 者	中枿 昌弘 (Nakatochi Masahiro) (10559983)	名古屋大学・医学系研究科(保健)・准教授 (13901)	
研究 分 担 者	櫻井 美佳 (Sakurai Mika) (80508359)	東北大学・東北メディカル・メガバンク機構・准教授 (11301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------