

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 15 日現在

機関番号：82606

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010 ～ 2011

課題番号：22700934

研究課題名（和文） 日本人、日系人、非日系人を対象とした食物・遺伝要因に関する乳がんの症例対照研究

研究課題名（英文） Diet, genes, and breast cancer risk in case-control studies in Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians

研究代表者

岩崎 基（IWASAKI MOTOKI）

独立行政法人国立がん研究センター・がん予防・検診研究センター・室長

研究者番号：60392338

研究成果の概要（和文）：

乳がんの症例対照研究のデータを用いて、緑茶、カルシウム、ビタミンD摂取と乳がんリスクの関連の検討、およびこれらの食品に関連する遺伝子多型を用いて遺伝環境交互作用を検討した。その結果、緑茶摂取と乳がんリスクの間に有意な関連は見られず、また緑茶ポリフェノール類の代謝および作用機序に関連する遺伝子多型との間に有意な交互作用も観察されなかった。一方、カルシウム・ビタミンD摂取の多い群でリスク低下が示唆され、現在、ビタミンD受容体遺伝子多型、血中ビタミンD濃度に関連する遺伝子多型を用いて交互作用の検討を行っている。

研究成果の概要（英文）：

We examined the association between green tea, calcium, vitamin D intake and the risk of breast cancer in case-control studies in Nagano and Sao Paulo. We further investigated gene-environment interaction using genetic polymorphisms related to these dietary factors. No significant association was found between green tea consumption and breast cancer risk and no significant interaction was observed by potential genetic effect modifiers. An inverse association was suggested between calcium and vitamin D intake, and breast cancer risk. We have investigated gene-environment interaction using genetic polymorphisms related to vitamin D receptor gene and blood level of vitamin D.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：総合領域

科研費の分科・細目：腫瘍学、がん疫学・予防

キーワード：遺伝子環境交互作用、日系移民

## 1. 研究開始当初の背景

乳がんは世界の女性のがんの中で最も頻

度の高い部位であるが、罹患率・死亡率は国・地域によって大きく異なり、欧米諸国で

高く、ブラジルは中間、日本は低い国に位置づけられる (1)。欧米諸国の中には罹患率の増加にストップがかかり、死亡率の減少が見られる国もあるが、日本ではいまだに罹患率・死亡率ともに増加しており、早急に対策が必要ながんである (1)。また 1980 年から 2000 年の 20 年間のブラジル在住日系人 1 世、ブラジル人の乳がん死亡率も増加しており、日系人は日本人とブラジル人の中間の値を取りながら推移していた (2)。

乳がんのリスク要因のうち食物栄養要因に関しては、脂質、野菜・果物、食物繊維、イソフラボンなどが注目され、乳がんとの関連が検討されてきたが、これまでにアルコール以外は確実な要因と言えるものはない (3)。これまでの疫学研究が乳がん発生における食物栄養要因の役割を明確にできなかった理由として、集団の摂取量の分布の範囲が乳がんリスクを検出できるほど十分に広くなかったこと、宿主の疾患感受性を十分考慮していなかったこと、乳がんの中でもエストロゲンまたはプロゲステロン受容体の発現の有無により病因が異なる可能性が指摘されているが、このような乳がんの性質を考慮していなかったことなどが挙げられる。

このような従来の疫学研究における問題点を踏まえ、長野県内 4 病院およびブラジルのサンパウロ市内 8 病院で乳がんの症例対照研究を行った。この 2 地域の研究は比較可能な研究計画の下で実施され、最終的に日本人 405 ペア、日系人 83 ペア、非日系人 389 ペアのデータを得た。食物栄養要因に関して、日本をはじめアジアでよく食べられ、欧米ではほとんど食べられていないイソフラボンに注目して検討したところ、日本人（閉経後のみ）、日系人、非日系人のいずれの集団でも摂取量の多い群で乳がんリスクの低下を観察した。しかし乳がんのホルモン受容体の発現のパターンによる違いは見られなかった (4)。次に摂取量の多い日本人から中等量の日系人、さらに非常に少ない非日系人を合わせて、非常に広い摂取量の範囲で乳がんリスクとの量反応関係を検討したところ、中等量 (1日 20-30mg) まではリスク低下が見られるがそれ以降は一定であるというパターンを観察した (4)。さらにエストロゲン受容体ベータ遺伝子多型 (rs4986938)、17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase type I 遺伝子多型 (rs605059)、sex hormone-binding globulin 遺伝子多型 (rs6259) との間で相互作用を示唆する結果を得た (5, 6)。

## 2. 研究の目的

本研究では、これまでの我々の研究計画と成果に基づき、環境および遺伝要因の分布と乳がんリスクの異なる 3 つの集団（日本人、

日系人、非日系人）を対象とした症例対照研究のデータを用いて、食物栄養要因を中心とする環境要因の乳がん発生における役割を明らかにし、同時に環境要因と遺伝要因の相互作用を検討することで、個別化予防に対する科学的根拠を探求することを目的とする。具体的に以下の 2 点について検討する。

### (1)食物栄養要因、遺伝子多型との相互作用の検討

食物栄養要因として、緑茶・コーヒー、カルシウム・ビタミン D を解析対象とする。緑茶は、乳がん罹患率の低い日本に特徴的な食習慣として日本人の摂取量が多く、一方、カルシウムは欧米人に比べて摂取量が少ないという特徴がある。遺伝子多型については、緑茶・コーヒーは男性ホルモンから女性ホルモンへの合成に関与する CYP19 がポリフェノールによって抑制されることが示唆されていることから CYP19 遺伝子多型との相互作用、さらにエストロゲン代謝とポリフェノール代謝の両方に関与する COMT 遺伝子多型との相互作用を検討する。カルシウム・ビタミン D についてはビタミン D 受容体遺伝子多型との相互作用を検討する。

### (2)近年の GWAS により明らかになった遺伝子多型を用いた相互作用の検討

2009 年 3 月に中国人を対象とした GWAS により 6q25.1 上の rs2046210 が乳がんリスクに関連することが示された (7)。この多型はエストロゲン受容体アルファ遺伝子の上流にあることから、ホルモン関連要因の影響を修飾する可能性が考えられる。そこでまず 3 集団において rs2046210 と乳がんリスクの関連を追試し、さらにイソフラボン摂取、体格、生理生殖要因などのホルモン関連要因との相互作用を検討する。

## 3. 研究の方法

### (1)対象集団

#### ①長野乳がん症例対照研究

長野県内の 4 病院（長野松代総合病院、長野赤十字病院、長野市民病院、北信総合病院）において多施設症例対照研究を行った。

初発の乳がんと診断され、上記の 4 病院に入院した 20 歳以上 75 歳未満の女性患者全員を症例とし、400 症例を目標に収集した。対照は長野松代総合病院と北信総合病院の人間ドック受診予定者の女性で上記症例に対して年齢 ( $\pm 3$  歳) と居住地が一致する者のうち最も年齢に近い 1 名とした。最終的に症例 405 例と同数の対照を収集した。

対象者本人による自記式の質問票調査を行った。質問票は、生理・生殖関連、既往歴、職業、居住地、飲酒、喫煙などに関する質問票と食物摂取頻度調査票の 2 つを用いた。が

んの部位、進行度、ホルモンレセプターなどの臨床情報の記載を担当医師に依頼した。また生体試料として7mlEDTA2Na採血管1本、および血清9ml用採血管2本分の血液検体を収集した。

## ②ブラジル乳がん症例対照研究

サンパウロ市内の8病院において多施設症例対照研究を行った。

初発の乳がんと診断され、上記8病院に入院した20歳以上75歳未満の女性患者全員を症例とし、対照は患者と同じ病院に受診した非がん患者の中から、年齢(±5歳)と人種が一致する者のうち最も年齢の近い1名とした。最終的に日系人症例83例、非日系人症例389例とそれぞれ同数の対照を収集した。

面接により質問票調査を行った。質問票は、生理・生殖関連、既往歴、職業、居住地、飲酒、喫煙などに関する質問票と食物摂取頻度調査票の2つを用いた。がんの部位、進行度、ホルモンレセプターなどの臨床情報の記載を担当医師に依頼した。また生体試料として10mlEDTA2Na採血管2本分の血液検体を収集した。

## (2) 遺伝子多型解析

### ①食物栄養要因、遺伝子多型との相互作用の検討

遺伝子多型のタイピングに用いた genomic DNAは、末梢白血球から QIAGEN FlexiGene<sup>®</sup> DNA Kits を使って抽出した。また遺伝子多型のタイピングは Genetic Lab. 社に委託し TaqMan<sup>®</sup> SNP Genotyping Assays によりタイピングを行った(rs10046、rs4680、rs731236、rs1544410)。

### ②近年の GWAS により明らかになった遺伝子多型を用いた相互作用の検討

血中ビタミンD濃度に関連する SNPs を中心に 7SNPs(rs2282679、rs3829251、rs6599638、rs2060793、rs12794714、rs12785878、rs2228570) と乳がんリスクに関連する 24SNPs(rs1045485、rs4973768、rs6504950、rs4784227、rs3803662、rs1800470、rs2981582、rs3817198、rs614367、rs13281615、rs865686、rs2380205、rs1219648、rs6913578、rs10995190、rs1011970、rs2046210、rs10941679、rs2180341、rs9383938、rs889312、rs11249433、rs13387042、rs3734805)のタイピングを国立がん研究センター研究所遺伝医学研究分野で TaqMan<sup>®</sup> SNP Genotyping Assays により行った。

## (3) 統計解析

### ①緑茶摂取と乳がんリスクの関連

統計解析は、エネルギー摂取量が極端な者(500kcal未満または4000kcal以上)、血液検体のない者、緑茶摂取の質問に回答がなかった者を除外した369ペアを対象とした。

緑茶摂取量が1日120ml未満の群を基準に、1日120ml以上600ml未満、1日600ml以上の群のオッズ比を条件付ロジスティック回帰分析により算出した。オッズ比は閉経状況、出産数、乳がん家族歴、喫煙状況、身体活動、ビタミンサプリメント使用、ウーロン茶、紅茶、コーヒーおよび缶コーヒー摂取で調整した。また、乳がんはホルモンレセプター陽性・陰性でリスク因子が異なることが考えられるため、一般化ロジットモデルを用いて多項ロジスティック回帰分析を行い、ホルモンレセプター別の乳がんについてオッズ比を計算すると同時に効果の差を検定した。相互作用の検討は、相互作用を含むモデルと含まないモデルの間のモデルカイ2乗値の差を用いてp値を算出した。

### ②カルシウム・ビタミンD摂取、ビタミンD受容体遺伝子多型および血中ビタミンD濃度に関連する遺伝子多型と乳がんリスクの関連

統計解析は、エネルギー摂取量が極端な者(500kcal未満または4000kcal以上)、血液検体のない者を除外し、長野の日本人384ペア、ブラジルの日系人78ペア、非日系人373ペアを解析対象者とした。

対照群におけるカルシウムおよびビタミンDの摂取量に基づく3分位点を用いて3群に分け、最低摂取量の群に対するオッズ比を条件付ロジスティック回帰分析により算出した。また遺伝子多型はメジャーホモを基準に各遺伝子型に対するオッズ比を算出した。オッズ比は閉経状況、出産数、乳がん家族歴、喫煙状況、身体活動、ビタミンサプリメント使用で調整した。

## 4. 研究成果

### (1) 緑茶摂取と乳がんリスクの関連

緑茶摂取量が1日120ml未満の群を基準にした、1日120ml以上600ml未満、1日600ml以上の群のオッズ比(95%信頼区間)は、それぞれ0.86(0.53-1.41)、1.27(0.75-2.14)であった。また傾向性の検定のp値は0.20で、有意なリスク低下は観察されなかった。また閉経状況、イソフラボン摂取量、葉酸摂取量により層別解析を行ったが、いずれも層による明らかな違いは見られなかった。

ホルモン受容体別の解析では、1日120ml未満の群に対する1日600ml以上の群のオッズ比(95%信頼区間、傾向性の検定)は、ER+PR+が0.84(0.50-1.43、p=0.68)、ER+PR-が1.46(0.62-3.45、p=0.19)、ER-PR-が1.88(0.86-4.14、p=0.07)であり、ER-PR-ではむしろリスク上昇の傾向が見られた。

遺伝子環境相互作用の検討として、緑茶ポリフェノール類の代謝に関与するCOMT遺伝子の多型、ポリフェノールがアロマターゼの活性を下げる可能性が指摘されているため

CYP19A1 遺伝子の多型、さらに先行研究において交互作用が検討されている MTHFR の遺伝子多型について、緑茶摂取との間の交互作用を検討した。交互作用の p 値は、COMT 遺伝子 (rs4680) が 0.77、CYP19A1 遺伝子 (rs10046) が 0.24、MTHFR C677T (rs1801133) が 0.46、MTHFR A1298C (rs1801131) が 0.54 で、いずれも交互作用を示唆する結果は得られなかった。

(2) カルシウム・ビタミン D 摂取、ビタミン D 受容体遺伝子多型および血中ビタミン D 濃度に関連する遺伝子多型と乳がんリスクの関連

長野の日本人のデータとブラジルの日系人と非日系人を合わせたデータの 2 つのデータセットを個別に予備的な解析を行った。その結果、長野では閉経後女性においてカルシウム摂取が多い群で有意なリスク低下が見られたが、ブラジルでは閉経前後にかかわらず有意なリスク低下が観察された。ビタミン D 摂取は、長野では関連が見られなかったが、ブラジルでは摂取量の多い群で有意なリスク低下が見られた。ビタミン D 受容体遺伝子多型のうち、長野では rs2228570 の A アレルを持つ群で有意なリスク低下が見られ、ブラジルでは有意ではないが閉経後女性においてリスク低下の傾向が観察された。また長野では rs1544410 の A アレルを持つ群で有意なリスク上昇が見られたが、ブラジルでは関連が見られなかった。そのほか、rs731236 はいずれの集団においても関連が見られなかった。さらに血中ビタミン D 濃度に関連する 6 つの遺伝子多型と乳がんリスクとの関連を検討したが、いずれの集団においても有意な関連は観察されなかった。今後はこれらの多型とカルシウム・ビタミン D 摂取との交互作用を検討する予定である。

(3) 乳がんリスクに関連する遺伝子多型を用いた交互作用の検討

近年の GWAS において乳がんリスクとの関連が報告されている 24SNPs についてタイピングが終了した。長野およびブラジルの 2 つのデータセットにおいて、乳がんリスクとの関連を再確認するとともに、環境要因との交互作用の検討を行う予定である。

[参考文献]

1. Ferlay J, et al. GLOBOCAN 2002.
2. Iwasaki M, et al. Eur J Cancer Prev. 2008;17:1-8
3. World Cancer Research Fund and American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity and the Prevention of Cancer: A Global Perspective, 2007.

4. Iwasaki M, et al. Breast Cancer Res Treat. 2009;116:401-11.

5. Iwasaki M, et al. Cancer Sci. 2009;100:927-33.

6. Iwasaki M, et al. Nutr Cancer 2010;62:466-75.

7. Zheng W, et al. Nat Genet 2009;41:324-28.

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

① Long J, Iwasaki M, (52 人中 20 番目) Genome-wide association study in East Asians identifies novel susceptibility loci for breast cancer. PLoS Genet. 2012;8:e1002532. (査読あり)

② Iwasaki M, Hamada GS, et al. (13 人中 1 番目) Comparison of postmenopausal endogenous sex hormones among Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians. BMC Med. 2011;9:16. (査読あり)

③ Iwasaki M, Hamada GS, et al. (14 人中 1 番目) Fragment c gamma receptor gene polymorphisms and breast cancer risk in case-control studies in Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians. Breast Cancer Res Treat. 2011;126:497-505. (査読あり)

④ Iwasaki M, Tsugane S. Risk factors for breast cancer: epidemiological evidence from Japanese studies. Cancer Sci. 2011;102:1607-14. (査読あり)

⑤ Cai Q, Iwasaki M, (54 人中 16 番目) Genome-wide association study identifies breast cancer risk variant at 10q21.2: results from the Asia Breast Cancer Consortium. Hum Mol Genet. 2011;20:4991-9. (査読あり)

⑥ Cai Q, Iwasaki M, (46 人中 15 番目) Replication and Functional Genomic Analyses of the Breast Cancer Susceptibility Locus at 6q25.1 Generalize Its Importance in Women of Chinese, Japanese, and European Ancestry. Cancer Res. 2011;71:1344-55. (査読あり)

⑦ Iwasaki M, (8 人中 1 番目) Green tea drinking and subsequent risk of breast cancer in a population to based cohort of Japanese women. Breast Cancer Res. 2010;12:R88. (査読あり)

⑧ Long J, Iwasaki M, (41 人中 28 番目) Identification of a functional genetic

variant at 16q12.1 for breast cancer risk: results from the Asia Breast Cancer Consortium. PLoS Genet. 2010;6:e1001002. (査読あり)

- ⑨ Iwasaki M, et al. (9人中1番目) Plasma tea polyphenol levels and subsequent risk of breast cancer among Japanese women: a nested case-control study. Breast Cancer Res Treat. 2010;124:827-34. (査読あり)
- ⑩ Iwasaki M, Hamada GS, et al. (16人中1番目) Dietary isoflavone intake, polymorphisms in the CYP17, CYP19, 17beta-HSD1, and SHBG genes, and risk of breast cancer in case-control studies in Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians. Nutr Cancer. 2010;62:466-75. (査読あり)

[学会発表] (計 7 件)

- ① 小野弘恵、岩崎 基、他. 白血球由来DNAのグローバルなメチル化レベルと葉酸代謝に関わる食事・遺伝的要因の関連. 第70回日本癌学会学術総会(愛知県名古屋市)、2011年10月3日-5日
- ② 鈴木礼子、岩崎 基、他. 余暇運動と乳がん罹患 ブラジル症例対照研究. 第70回日本癌学会学術総会(愛知県名古屋市)、2011年10月3日-5日
- ③ Iwasaki M, Hamada GS, et al. Comparison of postmenopausal endogenous sex hormones among Japanese, Japanese Brazilians, and non-Japanese Brazilians. XIX IEA World Congress of Epidemiology, 7-11th August 2011. Edinburgh International Conference Centre, Edinburgh, Scotland.
- ④ 岩崎 基、他. 緑茶摂取と乳がん罹患との関連: 多目的コホート研究より. 第21回日本疫学会学術総会(札幌、かでの 2.7 北海道立道民活動センター)、2011年1月21日-22日
- ⑤ Iwasaki M, et al. International Sessions: Asian trend of molecular epidemiology: Investigation of international collaboration. Molecular epidemiologic studies of Japanese Brazilians: findings from breast cancer case-control studies. 第69回日本癌学会学術総会(大阪、大阪国際会議場、リーガロイヤルホテル大阪)、2010年9月22日-24日
- ⑥ Iwasaki M. Analytic Epidemiology for Risk Factors of Breast Cancer among Japanese. 第69回日本癌学会学術総会(大阪、大阪国際会議場、リーガロイヤルホテル大阪)、2010年9月22日-24日

- ⑦ 岩崎 基. シンポジウム「乳がんなどの女性ホルモン依存性がんのリスク要因に関する疫学的・分子疫学的研究」“多目的コホート研究(JPHC研究)からのエビデンス”. がん予防学術大会 2010 札幌(札幌、北海道大学学術交流会館)、2010(平成22)年7月15-16日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岩崎 基 (IWASAKI MOTOKI)

独立行政法人国立がん研究センター・がん予防・検診研究センター・室長

研究者番号: 60392338

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

Gerson Shigueaki Hamada

Nikkei Disease Prevention Center,  
Director