様 式 C－19、F－19－1、Z－19 （共通）

科学研究費助成事業　　研究成果報告書

平成 ２９ 年　 ６ 月　 １ 日現在

機関番号：１７１０２
研究種目：挑戦的萌芽研究
研究期間：2013～2016
課題番号：２５５６０３５１

研究課題名（和文）大学生への肺がん感受性遺伝子多型告知による禁煙行動への影響

研究課題名（英文）Impact of announcement of polymorphism genotypes for lung cancer susceptibility on smoking cessation among university students

研究代表者

清原　千香子（Kiyohara, Chikako）

九州大学・医学研究院・講師

研究者番号：００１６９９６３

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費）　　3,000,000円

研究成果の概要（和文）：肺がん高感受性であると言われた場合の恐れやすさ（オッズ比と95%信頼区間）は、男子学生に対して女子学生は3.10 (2.14 - 4.48)であった。肺がん高感受性であると言われた場合の禁煙しやすさは、男子学生に対して女性学生は4.07 (2.25 - 7.37)であった。喫煙に対して肺がん低感受性と仮定された場合の禁煙しやすさは、男子学生に対して女子学生は1.68 (1.15 - 2.47)であった。本研究は倫理委員会の承認が得られず、当初の研究目的から乖離しない研究が実施できなかった。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to examine the potential impact of announcement of polymorphism genotypes for lung cancer susceptibility on smoking cessation among university students. For baseline examination, I carried out a questionnaire survey about the prevalence of smoking and feeling against informing on the genotypes of participants. Women were more tended to be fear about the fact than men in the assumed high susceptibility genotype (HSG) (odds ratio, 95% confidence interval; 3.10, 2.14 - 4.48). Women were more predisposed to quitting smoking than men among HSG (4.07, 25 - 7.37). Similarly, women were more predisposed to quitting smoking than men among low SG (1.68, 1.15 - 2.47). As this study was not approved by the Ethic Committee of Kyushu University Graduate School of Medicine, I could not fulfill my original purpose.

研究分野：疫学

キーワード：禁煙教育　がん　感受性遺伝子　喫煙　行動変容　遺伝子多型

１．研究開始当初の背景

がんの中では罹患率が高く予後の悪い肺がんの感受性遺伝子多型を告知することにより、禁煙をより強く動機付けできると考える。もし、肺がん高感受性遺伝子多型組み合わせ群で、他の群と比較して有意な喫煙率の低下が認められれば、ハイリスク・ストラテジー（高リスクアプローチ）である個人の遺伝的素因を加味したオーダーメイド禁煙の推進に役立つと考えられる。

肺がんの原因は喫煙が最も重要である。しかし、喫煙者の 10 人に 1 人が肺がんに罹患すると推定されている [1)]。これは、個体によって喫煙による肺がんの個体特性（遺伝要因）が異なることを示している。研究代表者はこれまで、肺がんの個体特性についての研究を数多く行ってきた [2-8)]など他多数)。喫煙による肺がんリスクには、DNA 付加体の原因となる中間活性体の生成量を決定する薬物代謝酵素と DNA 付加体の除去修復に関与する酵素の遺伝子多型の組み合わせが強く関連していることが分かった [9)]。これまでの研究成果を肺がん予防に役立てるために、本研究を行うことにした。研究代表が行おうとしているような研究は国内外においてまだ行われていない。

２．研究の目的

肺がんは喫煙が原因で生じる疾患であることは周知の事実であり、またその予後が非常に悪いことも広く知られている。肺がんは多因子疾患であるため、複数の遺伝要因と複数の環境要因が複雑に絡み合って発症する。肺がん感受性遺伝子の本人への告知は、肺がんの原因（決定）遺伝子ではないので精神的なダメージを与えることはないと考える。

告知する複数の遺伝子多型の選択は、一般的にたばこ煙中の発がん物質の代謝に関与していると報告されている単一あるいは複数の遺伝子多型の恣意的な選択ではなく、科学的な証拠に基づいている [9)]。学部学生を研究対象にすることの利点は、喫煙開始まもない若者では、禁煙が比較的容易であり、この時期の禁煙が成功すれば禁煙継続性が長期間保持されて喫煙による社会利益の損失が少なくなることが期待される。対象を医療系学部学生に限定することにより、遺伝子多型を決定するために必要な DNA 試料を得るための口腔細胞の自己採取が可能となり、本研究の遂行可能性が高まるという利点がある。一般集団では、調査票を用いたアンケート調査では高い研究参加率（80%以上）が得られるが、「遺伝子の測定」を実施することに対して少なからず否定的な態度を有しているため参加率が低くなることが報告されている。疫学研究においては、研究参加率が低いと対象者に選択にバイアスが生じる（選択バイアス）。選択バイアスとは、実際に観察する集団が、本来目的とする集団、母集団の正しい代表ではなく、特定の傾向、特性、方向性を持った集団であるときに起こる偏りのことである。本研究のような疫学研究においては、選択バイアスの存在は仮説要因と疾病の真の関連が正しく評価されずゆがめられてしまう可能性が高める。「遺伝子の測定」に対して親和性が高い医療系学部学生を対象にすることによって高い研究参加率（選択バイアスの少ない）が得られると確信している。

そこで、肺がん感受性遺伝子の遺伝子型を医療系学部学生に告知することにより、喫煙率をどの程度低下させることが出来るか、また肺がん感受性の異なる遺伝子多型の組み合わせの相違でどのように禁煙率に与える影響が異なるかを明らかにしたい。さらに、告知後短期間の追跡では一時的な喫煙率の低下は期待されるので、長期的間（2 年間、この間定期的喫煙状況を調査）追跡し、遺伝子多型告知による長期的な喫煙行動への影響も明らかにするために本研究を行った。

３．研究の方法

大学の医療系学部（医学部、歯学部、薬学部）の学生を対象とした。就学年数の前半にある学生に対して喫煙状況に関するベースライン調査を行った。喫煙者で研究参加を希望した者（研究参加者）から、遺伝子多型解析のための口腔細胞を専用の綿棒にて DNA を採取する予定であった。研究参加者に肺がん感受性遺伝子多型解析の結果を返却し、文書による禁煙指導を行う予定であった。ただし、リスクアレルの保持状況により禁煙指導の方法は変えないこととする。定期的（4 ヶ月ごと）に喫煙状況の調査を行う。1 年以上の追跡期間の後、肺がん感受性遺伝子のリスクアレル別の禁煙状況を比較するする予定であった。

【調査対象者】

大学の医療系学部の就学年数の前半、つまり医学部医学科 (300 名)、歯学部（180 名)、薬学部臨床薬学科（100 名）は 1-3 年生に、医学部保健学科（300 名）・生命科学科（40 名)、薬学部創薬科学科（100 名）では 1-2 年生に対して、合計 1020 名について喫煙状況の調査（ベースライン調査）を行った。アンケート調査実施の許可が得られた講義において、学生に調査票への記入を依頼し（記入所要時間は 5 分程度)、記入終了後直ちに調査票を回収した。

【研究参加者の選択】

平成 22 年国民健康・栄養調査結果では、現在習慣的に喫煙している者の割合は男性全体 32.2%、女性では 8.4%となっている。国民健康・栄養調査の対象者の中で最も若い年齢層である 20-29 歳の喫煙率は男性では 34.2%、女性では 12.8%である。第 1-3 学年の学生の年齢は 20-29 歳よりも 10 歳程度若いが、この喫煙率であると仮定する。最も人数

の多い医学部（保健学科+生命科学科+医学科）の場合女性の割合は 54.6%を占めているので、全体の男女比は単純に 1：1 と仮定する。これらの二つの仮定のもと喫煙者の数を推定すると 240 人（510 × 0.342 + 510 × 0.128）となる。さらに、医療系学部の男子学生の喫煙率は同年代の男子学生よりも低いので喫煙者は 200 人程度と推定する。200 人の中で遺伝子解析を含む本調査への協力のインフォームド・コンセントが得られる者の割合を 0.8（経験値、医療系学部学生であるため他の学部学生よりも高い）と仮定して、この値を乗じた約 160 名（200×0.8）を最終的に研究参加者数として推定した。

【研究参加者との接触：喫煙状況調査および生体試料の収集】

生体試料は、研究参加者が学生あることを考慮し、手軽で、非侵襲的で、迅速で、信頼性が高い、頬粘膜を綿棒で擦り取る方法（DNA BuccalAmp™ DNA Extraction Kit、エア・ブラウン社）を採用する予定であった。このキットで採取された生体試料は夏場でも 1 週間は室温での保存が可能である。生体試料や 4 ヶ月ごとの喫煙状況追跡調査票の送付・回収は基本的に郵便で行う予定であった。

【遺伝子多型解析】

遺伝子多型は、研究申請者の研究結果 [9)]に基づき Cytochrome P450 (CYP1A1) T3801C 多型 (rs4646903)、Excision Repair Cross-Complementing Rodent Repair Deficiency, Complementation Group 2 (ERCC2) Lys751Gln 多型 (rs13181) および Glutathione S-transferase Mu1 (GSTM1) deletion 多型を解析する予定であった。前者の 2 つの多型は PCR（Polymerase Chain Reaction）-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) 法にて行う。GSTM1 deletion 多型は PCR のみ行う。遺伝子多型解析の quality of control として、10%のランダムサンプルについて再解析を行う予定であった。

【禁煙指導】

本調査があくまで疾病に直ぐにつながる遺伝子の異常ではなく、血液型のように一般集団の中に人種に応じた割合で存在することを理解してもらった上で、禁煙指導を文書にて行う予定であった。本調査では 3 つの肺がん感受性遺伝子多型を解析する予定なので、リスクアレルが 3 つそろった場合が喫煙を続けた場合に最も喫煙関連疾患に罹患しやすい。しかし、リスクアレルが 0 だからと言って喫煙関連疾患に罹患しないわけではない。学生にはリスクアレルの数のみを告知（希望があれば個々の遺伝子の多型を告知）し、リスクアレルの数とは無関係に禁煙指導を行う予定であった。禁煙の動機付けとして、喫煙の有害性を説明するのではなく、禁煙による健康状態の改善についての説明を行う予定であった。

【統計解析】

平均値、比率、中央値の症例群と対照群の比較はそれぞれ t 検定、カイ二乗検定、順位和検定で行う。検体の genotype データが Hardy-Weinberg 平衡に達している否かは Pearson のカイ二乗検定で行う。この場合、P≥0.05 の場合は平衡に達していないと判定する。統計解析には unconditional logistic model を用い、 odds ratio （OR）および 95%信頼区間（95% CI）を計算する。全てのデータ解析は、統計解析パッケージ STATA ver. 14.2 (StataCorp., College Station, TX) を用いて、危険率 5%未満を統計学的に有意であると判定する。

４．研究成果

医学部において喫煙の健康影響や肺がん感受性遺伝子についての講義を行った学部生および大学院学生を対象に喫煙状況や遺伝子解析に対する考え方についての基礎調査を実施した。これまでに 1197 名の回答が得られた。現在喫煙者と過去喫煙者の割合はそれぞれ女性では 1.24%と 2.80%、男性では 5.83%と 7.77%であった。「非喫煙者に較べて、喫煙者は約 10 倍肺がん（扁平上皮がん）になりやすい」という知識を得た場合の喫煙継続の意志は、学年、学部（医療系か非医療系）、大学の間に有意差は認められなかった。遺伝的に喫煙感受性が高く肺がんになりやすい（肺がん高感受性）であると言われた場合にそのことを恐れやすさを算出した。学年、性、学部、大学を相互に調整した恐れやすさは、男性に対して女性は 3.10 (95%信頼区間 = 2.14 - 4.48)、本学に対して他大学は 1.37 (0.98 - 1.91)であった。遺伝的に喫煙感受性が高く肺がんになりやすい（肺がん高感受性）であると言われた場合、交絡要因を調整した禁煙しやすさは、男性に対して女性は 4.07 (2.25 - 7.37)であった。大学、学部や学年は有意ではなかった。同様に、喫煙に対して肺がん低感受性と仮定された場合の禁煙しやすさは、男性に対して女性は 1.68 (1.15 - 2.47)であった。大学、学部や学年は有意ではなかった。

遺伝子解析を行う本研究の申請書を倫理委員会に提出していたが、学生が自分の遺伝子多型を知ることに恐怖を感じるからとの理由で研究内容の変更を指示された。しかし、研究期間を 1 年間延長して本研究の目的から乖離しない研究計画を模索したが、納得できる研究計画は見つからず、倫理委員会の承認は得られなかった。

＜引用文献＞

1) Doll R, Peto R. The causes of cancer: quantitative estimates of avoidable risks of cancer in the United States today. J Natl Cancer Inst. 1981;66(6):1191-1308.
2) Kiyohara C, Horiuchi T, Miyake Y, Takayama

K, Nakanishi Y. Cigarette smoking, TP53 Arg72Pro, TP53BP1 Asp353Glu and the risk of lung cancer in a Japanese population. Oncol Rep. 2010;23(5):1361-1368.
3) Kiyohara C, Horiuchi T, Takayama K, Nakanishi Y. IL1B rs1143634 polymorphism, cigarette smoking, alcohol use, and lung cancer risk in a Japanese population. J Thorac Oncol. 2010;5(3):299-304.
4) Kiyohara C, Wakai K, Mikami H, Sido K, Ando M, Ohno Y. Risk modification by CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms in the association of environmental tobacco smoke and lung cancer: a case-control study in Japanese nonsmoking women. Int J Cancer. 2003;107(1):139-144.
5) Kiyohara C, Yamamura KI, Nakanishi Y, Takayama K, Hara N. Polymorphism in GSTM1, GSTT1, and GSTP1 and Susceptibility to Lung Cancer in a Japanese Population. Asian Pac J Cancer Prev. 2000;1(4):293-298.
6) Kiyohara C, Nakanishi Y, Inutsuka S, Takayama K, Hara N, Motohiro A, Tanaka K, Kono S, Hirohata T. The relationship between CYP1A1 aryl hydrocarbon hydroxylase activity and lung cancer in a Japanese population. Pharmacogenetics. 1998;8(4):315-323.
7) Kiyohara C, Hirohata T. Environmental factors and aryl hydrocarbon hydroxylase activity (CYP1A1 phenotype) in human lymphocytes. J Epidemiol. 1997;7(4):244-250.
8) Kiyohara C, Hirohata T, Inutsuka S. The relationship between aryl hydrocarbon hydroxylase and polymorphisms of the CYP1A1 gene. Jpn J Cancer Res. 1996;87(1):18-24.
9) Kiyohara C, Horiuchi T, Takayama K, Nakanishi Y. Genetic polymorphisms involved in carcinogen metabolism and DNA repair and lung cancer risk in a Japanese population. J Thorac Oncol. 2012;7(6):954-962.

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　0 件）

〔学会発表〕（計　0 件）

〔図書〕（計　1 件）
1) <u>Kiyohara C</u>, Yoshimasu K. Lung cancer and smoking habit. Encyclopedia of Cancer, 4th Edition, Schwab M (ed.), Springer-Verlag. NY, pp. 2088-2094, 2016.

〔産業財産権〕

○出願状況（計　0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計　0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

６．研究組織
(1)研究代表者
清原　千香子（KIYOHARA　CHIKAKO）
九州大学・大学院医学研究院・講師
研究者番号：00016963

(2)研究分担者
なし　　（　　）

研究者番号：

(3)連携研究者
なし　　（　　）

研究者番号：

(4)研究協力者
なし　　（　　）