

主論文の要旨

Impact of germinal center-associated nuclear protein polymorphisms on breast cancer risk and prognosis in a Japanese population

日本人における Germinal center-associated nuclear protein の一塩基多型が乳癌のリスクと予後に与える影響の検討

名古屋大学大学院医学系研究科 総合医学専攻
病態外科学講座 腫瘍外科学分野

(指導：榑野 正人 教授)

小谷 はるる

【背景】

Germinal center-associated nuclear protein (GANP)は、mRNA 核外輸送と DNA 組換えの調節に関与するリン酸化タンパク質で、その機能より発癌への関与が考えられている。ヒトの神経芽細胞腫の組織において GANP の発現は腫瘍抑制的に働くと報告される一方、他の腫瘍では逆の効果を示すという報告もあり、その意義は明らかではない。

乳癌に関する研究では、乳腺特異的に *ganp* を欠損させたマウスで高頻度に乳癌が発生し、その特徴も Estrogen receptor (ER) 陽性の乳癌が 78%、human epidermal growth factor receptor type 2 (Her2) 陽性が 30%とヒトの乳癌で見られる分布と類似していた。臨床検体を用いた検討で、乳癌組織では GANP の発現は正常乳腺に比べて著しく低下しており、また GANP が低発現である患者群では予後も不良であった。

今回我々は GANP の遺伝子多型が乳癌リスクや予後に関連するかについて日本人を対象とした症例対照研究を実施した。

【方法】

対象は、愛知県がんセンター病院疫学研究プログラムに 2001 年から 2005 年に参加した乳癌患者 697 名と、年齢と閉経状況を適合させた非癌対照者 1,394 名である。イルミナ社 iCOGS アレイを用いて、同アレイに含まれる 13 カ所の GANP 遺伝子多型を測定した。これらは、2 個の連鎖不平衡ブロック内に存在していたため (Figure 1)、各ブロックから 1 つずつ選出し、解析に用いた(rs2839186 と rs11702450)。また、これらの多型が発現に与える影響を、量的形質座位(expression Quantitative Trait Locus;eQTL)の公的データベースである Genotype-Tissue Expression(GTEEx)を用いて評価した。

乳癌リスクとの関連について交絡因子を調整した条件付きロジスティックモデルを、予後との関連を Kaplan-Meier 法と、年齢・進行度・手術歴・術前化学療法およびホルモン療法の有無、ER, progesterone receptor(PgR), HER2 を調整したコックス比例ハザードモデルを用いて評価した。rs2839178 では A、rs11702450 では G を基準アレルとした。解析は STATA ver.12 を用いておこない、両側検定で P 値<0.05 を統計学的有意とした。

【結果】

【患者および対照群の背景 (Table1)】

年齢および閉経状況は両群でよく適合していた。患者群では乳癌家族歴のある方が多く、初産が遅い傾向にあった。病院へ受診動機にも差があったが、その他の因子に差はなかった。

【GANP 遺伝子多型と乳癌リスク (Table2)】

対照群の GANP 遺伝子多型の頻度分布は Hardy-Weinberg の法則に則っていた(rs2839178: $P=0.51$; rs11702450: $P=0.36$)。

Table2 で示すように、rs2839178 G アレルは、有意に乳癌リスクと負の相関を認めた。

AA に比べ GG 遺伝子型のオッズ比(odds ratio: OR)は、0.48[95%信頼区間(confidence interval : CI) : 0.30-0.76、P = 0.002]であった。また、per-allele モデルでの OR は 0.84 (95% CI: 0.72-0.99, P=0.038)であった。これらの関連は閉経前後に層別化しても同様に認められた。

rs2839178 と乳癌リスクとの関連が、ER・PgR・Her2・腋窩リンパ節転移の状況により異なるかも検討したが、有意差は見られなかった。(Table3)

rs11702450 と乳癌リスクとの関連は認められなかった。

【GANP 遺伝子多型と乳癌の予後 (Table4, Figure2)】

G アレルを有する患者は無病生存期間が長く[ハザード比(hazard ratio; HR),0.62, 95%CI: 0.42-0.92, P=0.02)、全生存期間も長い傾向にあった。

rs11702450 は、乳癌の予後に関連していなかった。

【eQTL 解析】

GTE_x では、rs2839178 と強い連鎖不平衡にある rs2839173 ($D' = 1.00$ and $R^2 = 0.825$)は、正常乳腺組織において顕著に GANP の発現に関連($P = 1.9 \times 10^{-7}$)しており (Figure3)、rs2839178 の GANP 発現との関連を強く示唆した。

rs11702450 も乳腺組織において GANP の発現と関連($P = 1.3 \times 10^{-8}$)していた。

【考察】

本研究は疫学的解析であり、GANP の機能を明らかにするものではない。しかし、eQTL 解析を通して、イントロンに存在する多型である rs2839178 が、同じ連鎖不平衡ブロックに属し、エクソンに存在する rs2839173 と有意に関連し、乳腺組織での GANP の発現に間接的に影響し乳癌のリスクおよび予後に影響する可能性を示した。加えて、最近の中国人女性での whole-exome association study で GANP の近隣遺伝子である C21or58 上の rs13047478 が、乳癌リスクの新規の多型の 1 つとして同定され、基礎実験で同 SNPs の G アレルが MCF7 の GANP の mRNA レベルを低下させることが確認された。HapMap JPT によると、rs13047478 と rs2839178 は強い連鎖不平衡にあり ($D' = 1$ および $R^2 = 0.8573$)、今回の我々の研究結果を支持する結果であった。

本研究の強みは、サンプルサイズが十分であること、同じ地域に住み、同じ病院を受診した集団よりサンプルを抽出しており内的妥当性があること、年齢や閉経状況を適合させて対象を選択し、他の交絡因子も調整して統計的な検討を行ったことである。加えて、疫学研究プログラム参加者のライフスタイルと名古屋市に住む一般集団のそれに差がないことは先行研究で確認し、GANP の遺伝子型の頻度は 1000 人ゲノムプロジェクトに報告される日本人のものと齟齬がなく、選択の偏りは小さい。

本研究の短所は以下のとおりである。まず、背景因子の情報は自己申告式アンケートで得ており情報バイアスが懸念されるが、誤分類は僅少であると考えられる。次に、対照群は病院を受診した非がん患者から抽出したが、特定の因子への曝露の可能性を

避けるために更なる選択基準は設けなかった。また、本研究は後方視的であり思い出しバイアスも懸念されるが *GANP* の多型は生涯を通じ不変であり、結果への影響はない。そして、今回の研究では考慮できていない交絡因子の存在は否定できない。

本結果の更なる客観的裏付けには、他集団での検討が必要である。また、乳がんの発生や進行における *GANP* の生物学的役割を解明する基礎研究も必要であろう。

【結論】

GANP rs2839178 の G アレルは、乳癌患者におけるリスクの低下とより長い無病生存期間と有意に関連しており、リスクと予後との関連において一貫した方向性を示していた。したがって、*GANP* は散発性乳癌の発生と進行に重要である。