

# 15-16 がんの遺伝相談実施施設の連携による遺伝性腫瘍の解析及び診断の精度の向上に関する研究

主任研究者 国立がんセンター 吉田 輝彦

## 研究成果の要旨

我が国の遺伝性腫瘍の遺伝医学・医療の向上を目指して、genotype-phenotype 関係のデータベース化、臨床検査としての遺伝子解析法の感度改善、保因者の適切なサーベイランスの開発適切な遺伝相談・カウンセリングの確立等の課題に多角的に取り組む。①家族性大腸腺腫症 (FAP) に対して、DNA・RNA の両者を用いる複数の方法を段階的に組み合わせる遺伝子検査を継続し、約 60%に変異を検出した。特徴的甲状腺がんを合併する例に認められる変異好発部位を見出した。②HNPCC の原因遺伝子変異を持つ症例の約 14%に、初発時に多重がんの合併を認めた。これらを含めて 44 例 (69%) に二次がんの発症があり、発症時期の中央値は 6 年であった。③HNPCC 症例に対するサーベイランスとして PET 検診の有用性が考えられたので、前向き研究での検討を開始した。④質問紙及び面接調査により、遺伝情報やがん医療に関する情報提供のみならず、医療活用に対する直接的支援の提供や社会的資源として患者サポートグループ等を紹介していくことが遺伝カウンセリングにおいて重要であることが示唆された。

## 研究者名および所属施設

研究者名	所属施設および職名	分担研究課題
吉田 輝彦	国立がんセンター研究所 部長	家族性大腸腺腫症の遺伝子解析及び診断の精度の向上に関する研究、及び総括
岩間 毅夫	杏雲堂病院 副院長	生涯・世代を考慮した遺伝性消化管腫瘍の適正な診断・追跡・治療および遺伝相談のあり方の検討
内野 眞也	野口病院 部長	家族性大腸ポリポーシスにおける甲状腺腫瘍の発生
菅野 康吉	栃木県立がんセンター研究所 副主幹医長・特別研究員	遺伝カウンセリング外来で行われる高発がん家系のフォローアップとがん予防の推進
武田 祐子	慶應義塾大学 教授	遺伝性腫瘍家系の長期的支援を目指した遺伝相談のあり方と評価に関する研究
新井 正美	癌研究会有明病院 医長	HNPCC 患者・保因者のサーベイランスにおける PET の有用性に関する研究
市川 喜仁	霞ヶ浦医療センター 医長	HNPCC 家系における婦人科がんの解析及び診断精度の向上

## 研究報告

## 1 研究目的

現在までに主要な遺伝性腫瘍の原因遺伝子の大半は同定され、遺伝性腫瘍の研究は臨床現場で被検者への結果開示を含む研究の段階に入っており、商業化への動きも盛んである。しかしながら、我が国のがん臨床に家族性腫瘍症候群の遺伝子診断を適切に導入するためには、日本人における病像の把握と適切な臨床診断基準、高度な allele heterogeneity に基づく、多彩な genotype-phenotype 関係を精度良く臨床現場において予測するための基盤情報、不完全浸透に関する情報、一般集団中のアレル頻度、modifier gene に関する知見、適切な遺伝相談・カウンセリングの在り方と、それを確立するための根拠となる情報、生活習慣・環境因子が phenotype に与える影響、適切なサーベイランス及び予防法・治療法、等の重要な検討課題が残されている。本研究では基礎研究の成果を遺伝医学の臨床に translate するため、我が国の遺伝性腫瘍の genotype-phenotype 関係のデータベース化、臨床検査としての遺伝子解析法の検討、適切な遺伝相談・カウンセリングの確立、保因者の適切なサーベイランスの開発等の課題に総合的に取り組む。今年度の具体的研究項目としては、①家族性大腸腺腫症 (FAP) の遺伝子診断の継続と、FAP に特徴的な甲状腺乳頭がんに関する遺伝的特徴の解析、②ミスマッチ修復遺伝子に変異が認められた遺伝性非ポリポーシス大腸がん (HNPCC) における多重多発がんの発症リスク等の解析、③遺伝性大腸がん症候群におけるがんのサーベイランス法の検討、④患者及び家族への適切かつ有効な長期的支援法を提案するための、FAP 患者会ハーモニー・ライフ患者会のアンケート及び会員への面接調査の解析、遺伝相談外来受診者に対するアンケート調査の解析。

## 2 研究方法

上記「1 研究目的」に記載した個別研究目的毎に以下の通り。①家族性大腸腺腫 (FAP) の遺伝子検査の精度の向上を目指して、PTT 法に塩基配列解析と WAVE/heteroduplex/SSCP 法の組み合わせ、長距離 RT-PCR 産物の直接塩基配列解析、MLPA 法、MYH 遺伝子解析からなる複数の遺伝子解析法を段階的に組み合わせる方法により、FAP もしくはそれが疑われるポリポーシス症例の遺伝子検査解析例の集積を行った。FAP 患者に発生する特徴的な病理組織像を呈する甲状腺乳

頭がん、cribriform-morula variant of papillary thyroid carcinoma (CMVPTC) 合併との相関等を解析した。②HNPCC が疑われ遺伝相談外来を受診した症例に対して MSH2、MLH1 および MSH6 等のミスマッチ修復遺伝子の生殖細胞系列変異を解析した。③臨床診断基準あるいは生殖細胞系列変異を認める HNPCC 術後患者 30 名を対象として、2 年に一度 PET 検査を行い、その有用性の検討に着手した。PET 検査をがん検診として施行した約 2 万例の間診票を対象として、retrospective にがんの家族歴、喫煙歴、飲酒歴などのリスク要因と PET がん検診におけるがんの検出リスクの相関を統計学的に検討した。④患者会 (患者サポートグループ) の行った無記名の 33 項目のアンケート調査に協力してについて集計・解析した。アンケート配付は非会員を含めて行った。会員を対象に、半構成的面接を行った。また、大学病院の遺伝相談外来において、複数の家系員が受診した発端者を対象として、疾患・遺伝に対する考え、家族内での情報の共有、予防行動の実施状況およびそれに伴う身体・心理・社会的負担とそれに対する支援の有無、遺伝相談外来についての考え等についてインタビュー調査を行った。さらにインタビュー調査結果を参考に質問紙を作成し、遺伝相談外来受診者を対象に郵送による調査を行った。

## 3 研究成果

①FAP を疑われる症例 (発端者) 累計 115 名に対して解析を行い、今年度までに 69 名、59%に病的変異を同定した。このうち、PTT 法で異常が検出されずに、長距離 RT-PCR による全コード領域の塩基配列解析により変異が同定されたのは 1 例のみであり、現行のプライマーデザインによる PTT 法の優秀性が示唆された。PTT が偽陰性であった 1 例はイントロン 10 におけるスプライシング acceptor site の高度に保存されているコンセンサス配列 AG の 2 塩基欠失を持つことにより mRNA のスプライシングの際、正常な部位でのイントロンの解離が行われず、エクソン 11 内の AG を認識して異常なスプライシングが行われ、結果としてストップコドンがコドン 480 の部位に出現したものと考えられた。この例の経験からも、FAP の遺伝子検査の精度と感度の向上のためには DNA と RNA の両方の試料を確保することの必要性が示唆された。また、CMVPTC 16 症例、31 腫瘍組織の APC 遺伝子解析の結果、生殖細胞系列変異あるいは腫瘍組織における体細胞変異は 81%に存在し、APC 遺伝子のコドン 178-935、特に Armadillo

repeat 部位に変異が集中すること、Wnt シグナル伝達経路の異常が関与していることを示唆した。

②HNPCC 遺伝子検査を実施された全例が大腸がん、子宮体がんあるいはその他のがんに罹患しており、発症年齢の中央値は全症例 (n=63) の検討では 42 才、男性 (n=32) 42 才、女性 (n=31) 40 才であり、変異遺伝子による違いは認められなかった。統計的に有意ではないが、女性では 30 才未満の大腸がん発症の相対危険率が 1.77 (95%CI, 0.96-3.27) と高値を示した。一方、初発が子宮内膜がんであった 9 症例中 8 例が 30 才から 49 才の間に発症し、30 才未満の発症は認められず、女性では 20 才代前半からの大腸がんスクリーニングが重要と考えられた。遺伝子変異を認めた 63 例中 16 例 (14%) に多発がん・重複がんを認め、初発時に多重がんの合併の有無についての精査が重要と考えられた。これら初発時多重がん症例を含めて 44 例 (69%) に二次がんの発症が認められ、発症期間の中央値は全症例の検討では 6 年、初発がん発症後 10 年以内に二次がんを発症するリスクは 71%と考えられ、HNPCC における術後長期間のサーベイランスの必要性が確認された。

③PET を用いた HNPCC 患者のサーベイランスの検討では、予備試験において 4 例中 1 例に早期子宮内膜がんを検出した。この症例は hMSH2 遺伝子に生殖細胞系列変異を有する術後 7 年目の 50 代の大腸がん患者であり、PET 検査施行 4 ヶ月前に実施した婦人科診および子宮内膜細胞診では異常所見が認められておらず、この症例においては今回の PET 検査は有効な検診手段であったと言える。前向き研究対象者のエントリーを開始した。一方、がん検診における PET 検査により大腸がんが発見された 38 例のリスク因子について matched case-control study により検討した。その結果、大腸がんが発見されたグループでは、第一度近親者にがんの家族歴を有する症例が有意に高率であった (Odds ratio=2.57(95%CI, 1.07-6.16))。家族歴として認められたがんは、胃がん 6 例、大腸がん 6 例、肺がん 4 例、乳がん 2 例、食道がん 2 例などであった。また、喫煙・飲酒については有意な相関を認めなかった。

④今回の FAP 患者会アンケートは、1) 患者会自身による調査、2) 陳情などを行う上での基本的資料、3) 遺伝性腫瘍の同様な患者会を広げていくための先駆的試み、および 4) 患者の抱える問題点の概要を明らかにする、等を目的として行われた。調査の集計・解析結果は、(1) 104 名に配布して回収率 40.4%、男 15 人、女 26 人から回答を得た。(2) 診断時の平均年

齢 27±10 歳、現在の平均年齢 45.6±15 歳で 18.6 年の差であった。(3) 手術回数は 0 回から、20 回まで、最頻値 2 回、中央値 3 回であった。(4) 手術時に自分に大腸がんがあったかどうか知らない方が 7 人 (19.4%) であった。(5) 常勤で就業している方は 50%であった。それと関連して、医療保険では 47%が社会保険であった。(6) 現在とても具合が悪い 0 から特に何でもない 10 までのスケール評価では平均 7.2±2.0 であり、特に仕事に差し支えない人は 55%であった。さらにインタビューにより、(7) 他の会員をモデル・目標にするなども含め、ピアサポートとしての効果があること、(8) 講演会や親睦会などで FAP の知識と臨床経験が多い医療関係者との接触は、情報提供以外にも精神的安定・不安の軽減につながっており、「フォローをしていく責任と役割」への期待感は、非常に大きいこと、等が明らかになった。この結果、a) 東日本の代表的な FAP 患者会においては、会員の年齢が比較的高いこと、その一部はこどものために入会していると考えられること、b) 手術回数が 3 回 (中央値) と多いこと、c) 精神的混乱の中でがんの有無も分からない場合があること、d) 体調は万全でなく 7 割程度であること、e) 社会的資源として患者サポートグループ等を紹介していくことが遺伝カウンセリングの役割として重要であること等が示唆された。また、FAP については更に QOL を考慮した治療法の開発・改善が望まれる。

#### 4 倫理面への配慮

本研究班では遺伝性腫瘍が疑われるすべての症例とその血縁者について、施設倫理委員会の承認を得た研究計画に基づき、説明と同意および適切な遺伝カウンセリングを実施したうえで、遺伝子検査を実施することを原則としている。

#### 研究成果の刊行発表

##### 外国語論文

1. Hichiya H, Tanaka-Kagawa T, Soyama A, Jinno H, Koyano S, Katori N, Matsushima E, Uchiyama S, Tokunaga H, Kimura H, Minami N, Katoh M, Sugai K, Goto Y, Tamura T, Yamamoto N, Ohe Y, Kunitoh H, Nokihara H, Yoshida T, Minami H, Saijo S, Ando M, Ozawa S, Saito Y, Sawada J. Functional Characterization of Five Novel CYP2C8 Variants, G171S, R186X, R186G, K247R and K383N, found in a Japanese population. Drug Metab Dispos

- 33(5): 630-6, 2005.
2. Liu Y, Yoshimura K, Hanaoka T, Ohnami S, Ohnami S, Kohno T, Yoshida T, Sakamoto H, Sobue T, Tsugane S. Association of habitual smoking and drinking with single nucleotide polymorphism (SNP) in 40 candidate genes: data from random population-based Japanese samples. *J Hum Genet* 50:62-8, 2005.
  3. Nishigaki M, Aoyagi K, Danjoh I, Fukaya M, Yanagihara K, Sakamoto H, Yoshida T, Sasaki H. Discovery of aberrant expression of R-RAS by cancer-linked DNA hypomethylation in gastric cancer using microarrays. *Cancer Res* 65(6):2115-24, 2005.
  4. Takano T, Ohe Y, Sakamoto H, Tsuta K, Matsuno Y, Tateishi U, Yamamoto S, Nokihara H, Yamamoto N, Sekine I, Kunitoh H, Shibata T, Sakiyama T, Yoshida T, Tamura T. Epidermal growth factor receptor gene mutations and increased copy numbers predict gefitinib sensitivity in patients with recurrent non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 23(28):6829-37, 2005.
  5. Morikawa S, Sakiyama T, Hasegawa H, Saijo M, Maeda A, Kurane I, Maeno G, Kimura J, Hirama C, Yoshida T, Asahi-Ozaki Y, Sata T, Kurata T, Kojima A. An attenuated LC16m8 smallpox vaccine: analysis of full-genome sequence and induction of immune protection. *J Virol* 79(18): 11873-91, 2005
  6. Saeki M, Saito Y, Jinno H, Sai K, Ozawa S, Kurose K, Kaniwa N, Komamura K, Kotake T, Morishita H, Kamakura S, Kitakaze M, Tomoike H, Shirao K, Tamura T, Yamamoto N, Kunitoh H, Hamaguchi T, Yoshida T, Kubota K, Ohtsu A, Muto M, Minami H, Saijo N, Kamatani N, Sawada J. Haplotype structure of the UGT1A gene complex in a Japanese Population. *Pharmacogenomics J*, in Press.
  7. Otani T, Iwasaki M, Hanaoka T, Kobayashi M, Ishihara J, Natsukawa S, Shaura K, Koizumi Y, Kasuga Y, Yoshimura K, Yoshida T, Tsugane S. Folate, Vitamin B6, Vitamin B12, Vitamin B2 Intake, Genetic Polymorphisms of Related Enzymes, and Risk of Colorectal Cancer in a Hospital-based Case-control Study in Japan. *Nutrition and Cancer* 53:42-50, 2005
  8. Sai K, Itoda M, Saito Y, Kurose K, Katori N, Kaniwa N, Komamura K, Kotake T, Morishita H, Tomoike H, Kamakura S, Kitakaze M, Tamura T, Yamamoto N, Kunitoh H, Yamada Y, Ohe Y, Shimada Y, Shirao K, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Kamatani p N, Ozawa S, Sawada J. Japanese population: an expanded haplotype block covering the distal promoter region, and associated ethnic differences. *Annals of Human Genetics*, in press. Iwama T, Takeda Y. Colorectal Cancer can Run in the Family, 2005.12, Eds. Macrae F, Berk T. Does selective cyclogenase-2 inhibitor (tiracoxib) induce clinically sufficient suppression od adenomas in patients with familial adenomatous polyposis? A randomized double blind placebo-controlled clinical trial. *Int J Clin Onclo.* in press
  9. Lee KD, Uchino S, Menin mutational analysis in a MEN 1 family. *Korean J Otolaryngol* 48: 347-351, 2005
  10. Sakurai A, Uchino S, Current status of clinical care for familial endocrine tumor syndromes in Japan. *Endocr J* 52: 757-762, 2005
  11. Uchino S, Mutational analysis of the APC gene in cribriform-morula variant of papillary thyroid carcinomas. *World J Surg.* in press
  12. Iwata, T., Sugano, K., et al., Frequent immune responses to a cancer/testis antigen, CAGE, in patients with microsatellite instability-positive endometrial cancer. *Clin Cancer Res.* 2005, 11(10):3949-57.
  13. Chihara, Y., Sugano, K., et al., Loss of blood group A antigen expression in bladder cancer caused by allelic loss and/or methylation of the ABO gene. *Lab Invest.* 2005, 85(8):1051.
  14. Aoki, M., Sugano, K., et al., A genetic variant in the gene encoding the stress 70 protein chaperone family member STCH is associated with gastric cancer in the Japanese population. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005, 335(2):566-74.
  15. Ogiso N., Takeda Y., Iwama T., The experience and

meaning of participation in a self-help group for Japanese familial adenomatous polyposis patients, FAMILIAL CANCER4(1), 114, 2005

16. Noda H, Kato Y, Yoshikawa H, Arai M, Togashi K, Nagai H, Konishi F and Miki Y. Microsatellite instability caused by hMLH1 promoter methylation increases with tumor progression in right-sided sporadic colorectal cancer. *Oncology* 69: 354-362, 2005.
17. Takano, K., Ichikawa, Y., et al., Microsatellite instability and expression of mismatch repair genes in sporadic endometrial cancer coexisting with colorectal or breast cancer, *Oncology Reports*, 13, 11-16, 2005

#### 日本語論文

1. 岩間毅夫、家族性大腸腺腫症. *総合臨床* 54: 2507-2508, 2005
2. 首藤茂、内野眞也、家族性腫瘍の人々への支援をさぐる：レジストラの立場から：家族性腫瘍 5, 18-21, 2005
3. 櫻井晃洋、内野眞也、MEN 患者家族の相互交流・相互支援のためのニューズレター発行：家族性腫瘍 5, 95-97, 2005
4. 内野眞也、家族性甲状腺癌—臨床的側面から：内分泌外科 22, 73-78, 2005
5. 首藤茂、内野眞也、遺伝診療—医療施設におけるレジストラの必要性—：癌と化学療法 32, 954-956, 2005
6. 内野眞也、内分泌代謝疾患の診療に必要なインフォームド・コンセントの知識 多発性内分泌腺腫症 (MEN)：ホルモンと臨床 53, 1281-1285, 2005
7. 佐久間威之、菅野康吉、hMLH1 の遺伝子変異が明らかとなった HNPCC の 1 例. *家族性腫瘍*, 5: 45-50, 2005
8. 村上好恵、菅野康吉、遺伝カウンセリング. *消化器外科*, 28: 609-613, 2005
9. 菅野康吉、NCC-ST-439 XII. 腫瘍マーカー. *日本臨床*, 63: 681-683, 2005
10. 菅野康吉、遺伝カウンセリングケースレポート 17 網膜芽細胞腫. *小児科診療*, 68: 1938-1940, 2005
11. 菅野康吉、海外論文紹介第 67 回 リンチ症候群 (遺伝性非ポリポーシス大腸癌) のスクリーニング. *G. I. Research*, 13: 75-77, 2005

12. 菅野康吉、遺伝性大腸癌の遺伝子診断とインフォームド・コンセント. *早期大腸癌*, 9: 501-506, 2005
13. 菅野康吉、家族性がん, 遺伝子異常とがん. *medicina*, 60: 1888-1892, 2005
14. 菅野康吉、HNPCC. *ゲノム医学*, 5: 95-100, 2005
15. 菅野康吉、家族性腫瘍 遺伝子診療学—遺伝子診断の進歩と遺伝子治療の展望—. *日本臨床*, 65 巻増刊号: 191-195, 2005
16. 武田祐子、岩間毅夫、遺伝性腫瘍診療におけるコーディネーションの役割, *早期大腸癌* 9(6), 517-521, 2005
17. 武田祐子、看護サイドからみた患者・家族に対するサポートのあり方, *日本内分泌学会雑誌* 81(1), 59, 2005
18. 武田祐子、サイコセラピューティックな看護—遺伝性腫瘍の遺伝カウンセリングと看護の実践から—, *精神療法* 31(6), 2005
19. 武田祐子、家族性腫瘍の人々への支援を探る—看護の立場から—, *家族性腫瘍* 5(1), 2005
20. 武田祐子、小木曾奈々、岩間毅夫、家族性腫瘍患者会におけるピアサポートとしての効果と医療者の役割, *家族性腫瘍* 5(2), 133, 2005
21. 武田祐子、乳がんの遺伝に関する相談, 乳がん患者へのトータルアプローチ—エキスパートナースをめざして—射場典子他編, *PILAR PRESS*, 230-235, 2005
22. 武田祐子、矢崎久妙子、菅野康吉、遺伝性腫瘍の家系内での遺伝情報共有におけるキーパーソンの思いと遺伝カウンセリングの役割, (第 30 回遺伝カウンセリング学会発表予定), 2006
23. 市川喜仁、遺伝性非ポリポーシス大腸癌家系における子宮内膜癌の重要性, *日本婦人科腫瘍学会雑誌*, 23, 103-107, 2005
24. 市川喜仁、予防的付属器切除術を行った卵巣癌ハイリスク女性の 1 例, *日本産科婦人科学会 関東連合地方部会会報*, 42, 9-14, 2005