

非小細胞肺癌の癌関連遺伝子変異のリスク予測と喫煙情報との関連

大阪市立大学大学院医学研究科 呼吸器内科学

小川 晃一

1. 諸言

肺癌は、世界において癌関連の罹患率・死亡率の主要な原因である。低線量コンピュータ断層撮影は肺癌のスクリーニング検査として有効であることが示されているが、適格基準は定まっていない。疫学研究によると、癌の発症は主に環境要因が原因で発生する¹⁾。喫煙は最もよく知られた癌の原因であり、肺癌の発症の一因となる。喫煙は肺癌のリスクを増加させるという確固たる証拠があり、現在の喫煙者の相対リスクは、男性が約4.4倍、女性が2.8倍であるとされている²⁾。

v-Ki-ras2 Kirsten rat sarcoma (*KRAS*) と Epidermal growth factor receptor (*EGFR*) の遺伝子変異は、肺腺癌の病因においてよく知られている。*KRAS* 遺伝子変異は性別では差がなく、アジア人よりも白人でより頻度が高く、ほとんどの患者は以前または現在の喫煙者である。*EGFR* 遺伝子変異は女性、アジア人、非喫煙者でより頻繁に見られることが報告されている。Pack-years に関する情報は、肺癌および慢性閉塞性肺疾患 (chronic obstructive pulmonary disease : COPD) のリスク評価に広く使用されている。Pack-years は、1日あたりのパック数に喫煙年数を掛けて計算される。塩基置換変異の総数は、全ての癌の種類において pack-years と正の相関があり、相関率により、1日1パックのタバコを1年間喫煙することで発生した、各組織の正常細胞に蓄積された変異の概数を推定することが可能となった。最近の研究で、pack-years よりも喫煙年数のみの方が COPD のリスク推定が強いことが報告された³⁾。しかしながら、非小細胞肺癌の喫煙関連癌性遺伝子変異においても喫煙年数が pack-years に代替可能かどうかは分かっていない。私たちは以前、詳細なアンケートに基づく包括的な喫煙情報と次世代シーケンシングを使用した 72 遺伝子の変異プロファイルを含む、前向き多施設分子疫学研究 (JME 研究) を報告した⁴⁾。*KRAS*、tumor suppressor p53 (*TP53*)、および *EGFR* 遺伝子変異の有病率は、喫煙量と関連している。さらに、シトシンからアデニンへの塩基置換 (cytosine-to-adenine base substitution (C>A)) は、最も重要な喫煙関連塩基置換パターンとして報告されている。

われわれはこの JME 研究のデータベースを使用して、非小細胞肺癌 (non-small cell lung cancer : NSCLC) の癌性遺伝子変異のリスクを予測する上で喫煙年数のみで pack-years の

代替になり得るかどうか調査した。

2.方法

2012年6月から2013年12月までにNSCLC Stage I - III B期の手術加療を行った876例(喫煙者441例、非喫煙者435例)を対象とした。以前に化学療法または放射線療法を受けている患者は除外とした。また、適切に治療された皮膚の基底細胞癌または扁平上皮癌、子宮頸上皮内癌を除く他の悪性腫瘍患者も除外とした。

喫煙状態(喫煙者または非喫煙者)と、年齢・性別・組織型・病理学的病期などの人口統計学的要因との相関関係を、 χ^2 検定を用いて統計学的に解析した。また、KRAS・TP53・EGFR・C>Aの頻度における、喫煙年数とpack-yearsの比較・優越性を、ロジスティック解析を行い算出されたarea under the receiver operating characteristic curve (AUC)値を用いて統計学的に解析を行った。P値が0.05未満を統計学的有意と定義した。

3.結果

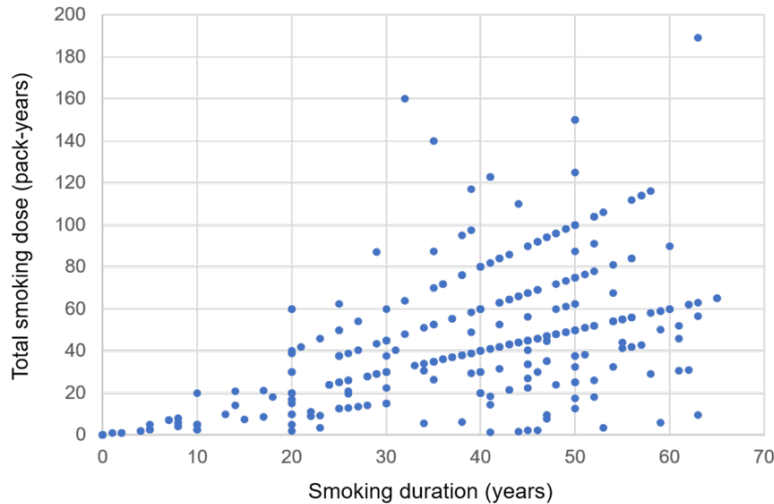
図1は喫煙状況に応じた全症例の臨床的特徴をまとめたものである。喫煙年数・pack-yearsを4群(never/light/middle/heavy)に分けており、割合は図1の通りとなっている。喫煙者における喫煙年数とpack-yearsの中央値は、それぞれ41年と43でした。

図1 喫煙状況に応じた全症例の臨床的特徴

項目	喫煙歴あり		喫煙歴なし		P値
	人数	%	人数	%	
手術時の年齢					
中央値	69		71		
範囲	41-89		23-92		
性別					<.001
男性	366	83.0	53	12.2	
女性	75	17.0	382	87.8	
喫煙年数					<.001
喫煙なし (never)	0	0.0	435	100.0	
0<year<20 (light)	28	6.3	0	0.0	
20≦year<40 (middle)	126	28.6	0	0.0	
40≦year (heavy)	246	55.8	0	0.0	
pack-years					<.001
喫煙なし (never)	0	0.0	435	100.0	
0<pack-years<30 (light)	102	23.1	0	0.0	
30≦pack-years<60 (middle)	184	41.7	0	0.0	
60≦pack-years (heavy)	109	24.7	0	0.0	
組織型					<.001
腺癌	265	60.1	415	95.4	
扁平上皮癌	135	30.6	7	1.6	
その他	41	9.3	13	3.0	
病期					<.001
I	280	63.5	338	77.7	
II	81	18.4	50	11.5	
III	65	14.7	39	9.0	
IV	15	3.4	8	1.8	
計	441	50.3	435	49.7	

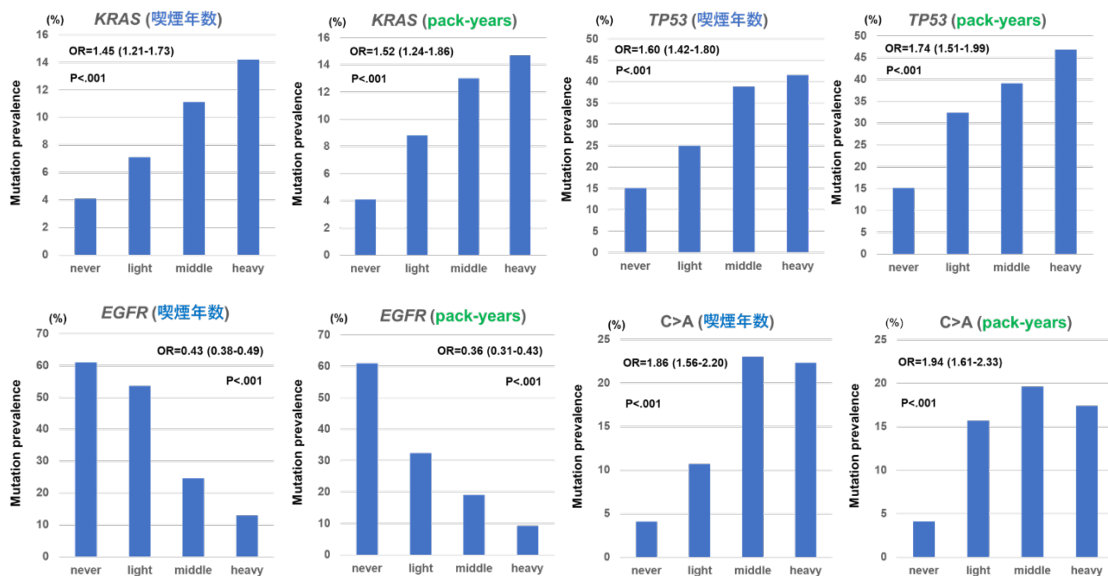
喫煙年数と pack-years の分布を図 2 に示す。縦軸を喫煙年数、横軸を pack-years とし、図 2 より 1 日あたり 20 本未満の喫煙の頻度は、1 日あたり 20 本以上の喫煙の頻度よりも高くなっていることが分かる。

図 2 喫煙年数と pack-years の分布を示した散布図



喫煙年数・pack-years における、*KRAS/TP53/EGFR/C>A* の頻度を 4 群に分けてグラフ化したものを図 3 に示す。ロジスティック回帰分析を使用して、それぞれの遺伝子変異または C>A の頻度と喫煙年数または pack-years のグループ間との関連を調べた。喫煙年数または pack-years における *KRAS/TP53/C>A* の頻度は、喫煙曝露の増加とともに有意に増加した (全てのグループで $P < 0.001$ であった)。対照的に、喫煙年数または pack-years における *EGFR* の頻度は、喫煙曝露の増加とともに有意に減少した (2 群とも $P < 0.001$ であった)。

図 3 *KRAS*, *TP53*, *EGFR*, C>A の頻度について



遺伝子変異・C>A に対する喫煙年数と pack-years の予測値を比較するために、ロジスティック回帰分析を使用して AUC 値を計算し図 4 に結果をまとめた。その結果、全症例の *KRAS* に関して、喫煙年数と pack-years の AUC 値はそれぞれ 0.746 と 0.759 であり、AUC の差の検定を行い有意差は見られなかったが (P=0.058)、喫煙者の *KRAS* に関して、喫煙年数と pack-years の AUC 値はそれぞれ 0.772 と 0.787 であり、AUC の差の検定を行い有意差が見られた (P=0.036)。TP53・EGFR・C>A に関しては、全症例・喫煙者の症例共に AUC 値に有意差は見られなかった。

図 4 遺伝子変異・C>A に対する喫煙年数・pack-years の AUC 値について

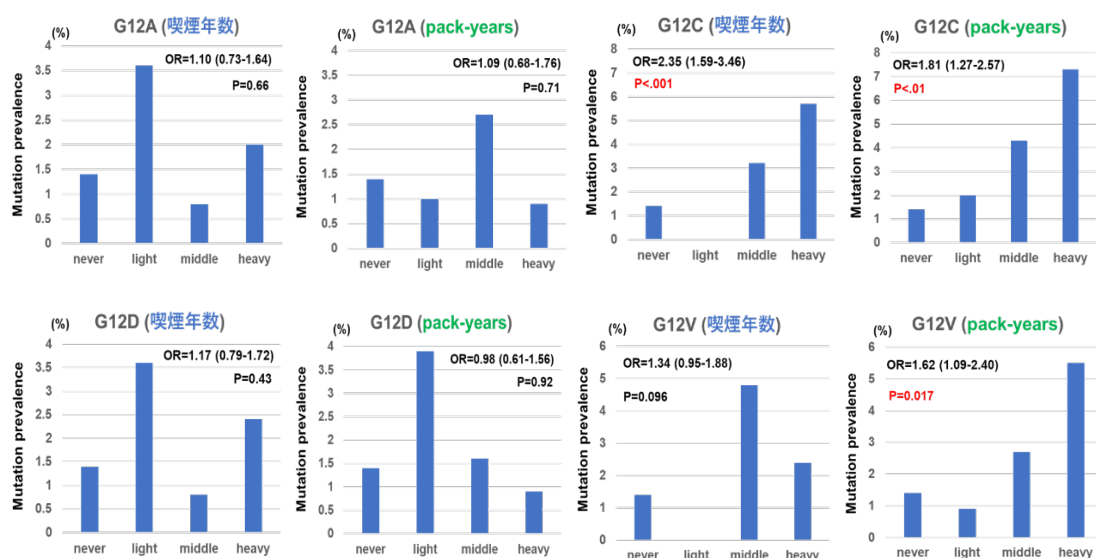
遺伝子変異 or C>A	対象	喫煙指数	AUC (95%信頼区間)	P値
<i>KRAS</i>	全症例	喫煙年数	0.746 (0.682-0.800)	0.058
		pack-years	0.759 (0.700-0.810)	
	喫煙者	喫煙年数	0.772 (0.697-0.833)	0.036
		pack-years	0.787 (0.714-0.845)	
TP53	全症例	喫煙年数	0.700 (0.658-0.739)	0.894
		pack-years	0.700 (0.658-0.738)	
	喫煙者	喫煙年数	0.627 (0.571-0.681)	0.774
		pack-years	0.629 (0.573-0.682)	
EGFR	全症例	喫煙年数	0.801 (0.770-0.829)	0.911
		pack-years	0.801 (0.770-0.828)	
	喫煙者	喫煙年数	0.850 (0.803-0.888)	0.454
		pack-years	0.844 (0.795-0.882)	
C>A	全症例	喫煙年数	0.746 (0.693-0.792)	0.472
		pack-years	0.736 (0.687-0.780)	
	喫煙者	喫煙年数	0.660 (0.593-0.721)	0.129
		pack-years	0.644 (0.576-0.707)	

4.考察

喫煙年数と pack-years の分布を示した散布図では、不均衡な分布を示していた。それゆえ、正確な喫煙量が反映されていない可能性がある。

喫煙年数は、時間の経過とともに変動する傾向がある 1 日あたりの平均喫煙本数よりも簡単かつ正確に思い出されるものと考えられる。また、1 日あたりの喫煙本数を正確に定量化することは困難であり、測定値は喫煙曝露の生化学的評価との相関性が低くなっている⁵⁾。*KRAS* のサブタイプは喫煙量と相関すると報告されている⁶⁾。*KRAS* の頻度予測において、なぜ pack-years の方が喫煙年数より優れていたのかを検証するため、*KRAS* サブタイプ別の頻度をそれぞれ 4 つの群 (never/light/middle/heavy) に分け、グラフ化したものを図 5 に示す。

図 5 KRAS サブタイプ別の頻度について



ロジスティック回帰分析を使用して、*KRAS* サブタイプ別 (G12A/G12C/G12D/G12V) の頻度と喫煙年数または pack-years のグループ間との関連を調べた。

G12C は喫煙者の間でよく見られる遺伝子変異で、G12D は非喫煙者の間でよく見られる遺伝子変異である。両群の G12C と pack-years 群の G12V の頻度は、喫煙量の増加とともに有意に増加した (G12C [喫煙年数] : $P < 0.001$ 、G12 [pack-years] : $P < 0.01$ 、G1 [pack-years] : $P = 0.017$)。喫煙量の増加に伴い、G12A (両群)、G12D (両群)、または G12V (喫煙年数) の頻度に有意な増加は見られなかった。このサブセット解析の結果に基づくと、*KRAS* 変異の頻度を予測する上で、pack-years は喫煙年数よりも優れていたと結論付けるのが妥当のようにも思われる。

5. 結語

喫煙年数で pack-years の代替になり得るとは言い切れなかったが、喫煙情報を取得する際のリコールバイアスを考慮すると、喫煙年数を pack-years のシンプルな代替手段としてさらに検討する必要がある。

6. 文献

- 1) P Lichtenstein, N V Holm, P K Verkasalo, A Iliadou, J Kaprio, M Koskenvuo, et al. Environmental and heritable factors in the causation of cancer—analyses of cohorts of twins from Sweden, Denmark, and Finland. *N Engl J Med* 2000; 343:78–85.
- 2) Kenji Wakai, Manami Inoue, Tetsuya Mizoue, Keitaro Tanaka, Ichiro Tsuji, Chisato Nagata, et al. Tobacco smoking and lung cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiological evidence among the Japanese population. *Jpn J Clin Oncol* 2006; 36:309–24.

- 3) Ludmil B Alexandrov, Young Seok Ju, Kerstin Haase, Peter Van Loo, Iñigo Martincorena, Serena Nik-Zainal, et al. Mutational signatures associated with tobacco smoking in human cancer. *Science* 2016; 354:618–22.
- 4) Tomoya Kawaguchi, Yasuhiro Koh, Masahiko Ando, Norimasa Ito, Sadanori Takeo, Hirofumi Adachi, et al. Prospective analysis of oncogenic driver mutations and environmental factors: Japan molecular epidemiology for lung cancer study. *J Clin Oncol* 2016; 34:2247–57.
- 5) Etter JF, Perneger TV. Measurement of self reported active exposure to cigarette smoke. *J Epidemiol Community Health* 2001; 55:674–80.
- 6) Daniel Temko, Ian P M Tomlinson, Simone Severini, Benjamin Schuster-Böckler, Trevor A Graham. The effects of mutational processes and selection on driver mutations across cancer types. *Nat Commun* 2018; 9:9.

7.成果発表

雑誌論文

- Koichi Ogawa, Yasuhiro Koh, Hiroyasu Kaneda, Motohiro Izumi, Yoshiya Matsumoto, Kenji Sawa, et al. Can smoking duration alone replace pack-years to predict the risk of smoking-related oncogenic mutations in non-small cell lung cancer? A cross-sectional study in Japan. *BMJ Open* 2020; 10: e035615.

学会発表

- Koichi Ogawa, Yasuhiro Koh, Hiroyasu Kaneda, Motohiro Izumi, Yoshiya Matsumoto, Kenji Sawa, Yoshihiko Taniguchi, Naoki Yoshimoto, Akihiro Tamiya, Masahiko Ando, Akihito Kubo, Shun-ichi Isa, Hideo Saka, Akihide Matsumura, Tomoya Kawaguchi. Can smoking duration alone replace pack-years in predicting the risk of smoking-related oncogenic mutations in non-small cell lung cancer ? 第 17 回日本臨床腫瘍学会. 京都. 2019.