

# 頰粘膜における体細胞モザイクの解明と安全で正確な食道がん予測モデルの構築

## —頰粘膜の体細胞モザイクは食道扁平上皮がんの生活習慣や遺伝子多型リスクを反映する—

### 概要

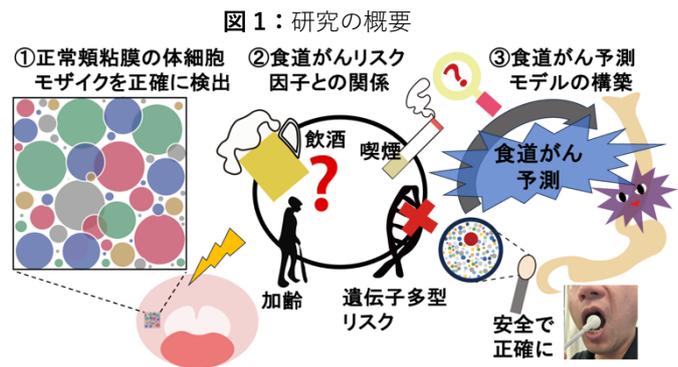
がんは多くの先進国で死因の第1位を占める深刻な病気で、その約40%が予防可能なリスク因子によって引き起こされており、なかでも飲酒や喫煙は頻度が高い要因とされています。このため、飲酒・喫煙量を聴取して発がんリスクを評価し、がんのスクリーニングに利用することが一部のがんで実用化されていますが、自己申告による飲酒・喫煙量は必ずしも正確ではないため、客観的で正確に発がんリスクを反映するバイオマーカーの開発が求められています。

最近、がんで頻繁に観察される遺伝子変異(ドライバー変異)の一部は、正常細胞においても加齢や環境因子への曝露にともなって獲得されることが明らかとなり、各臓器がドライバー変異細胞によって再構築される「体細胞モザイク」という現象が明らかになってきました。今回、京都大学医学部附属病院 腫瘍内科 横山 顕礼 講師、京都大学白眉センター(医学研究科消化器内科) 垣内 伸之 特定准教授、神戸朝日病院 金 秀基 院長らを中心とする研究チームは、頰の粘膜からスワブを用いて非侵襲的に細胞を採取し、最新の遺伝子解析技術を用いて、最小で約0.06 mm<sup>2</sup>のごく小さな遺伝子変異細胞を高精度に検出することに成功しました。その結果、頰粘膜では、加齢、飲酒・喫煙、及びアルコール代謝関連遺伝子の多型といったリスク因子に応じて遺伝子変異が蓄積することが判明しました。さらに、この“一見正常”な頰粘膜に生じた遺伝子変異の情報をもとに、食道がんの有無を正確に予測する新たな手法の開発に成功しました。体細胞モザイクをがんの予測に応用したのは、固形臓器では世界で初めての試みです。

解析の結果、私たちの頰粘膜では、他の臓器と同様に加齢に伴い、食道がんでよく見られる遺伝子変異を獲得した細胞が徐々に増加することがわかりました。加えて、驚くべきことに、日本人の約40%で認められる、飲酒の際に顔が赤くなるフラッシング反応を呈する人では、1日あたり平均60mlのビール(アルコール分5%)を飲むことは1年分の加齢と同等の影響がある一方で、フラッシング反応を有さない人では、飲酒の影響は無視できるほど小さい(1日平均1,000mlのビール≒1年分の加齢)ことが明らかになりました。これとは対照的に、喫煙の影響はフラッシング反応の有無とは関係なく一定でした。これらの結果から、頰粘膜の遺伝子変異は食道がんのリスク因子を反映する客観的なバイオマーカーであると考えられ、実際、頰粘膜の遺伝子情報にもとづいて食道がんの有無を正確に予測可能でした(図1)。

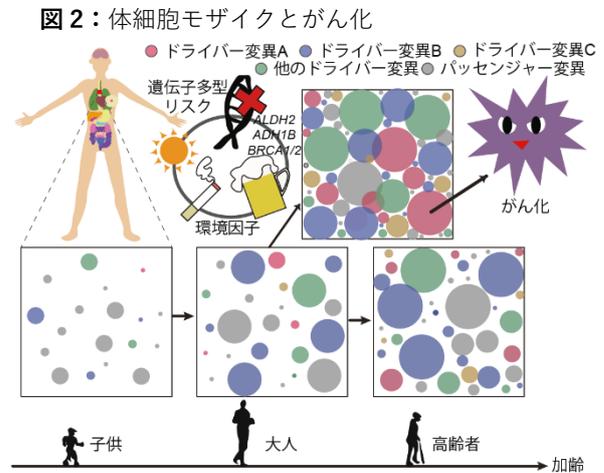
頰粘膜は安全で簡便な方法で採取でき、その遺伝子変異情報は食道がんのリスクを客観的かつ正確に反映しており、より効率的なスクリーニングによるがんの早期発見や、生活習慣の指導による発がん予防に貢献すると考えられます。

本研究の成果は、2025年4月30日に国際科学誌「*Science Translational Medicine*」にオンライン掲載されました。



## 1. 研究の背景

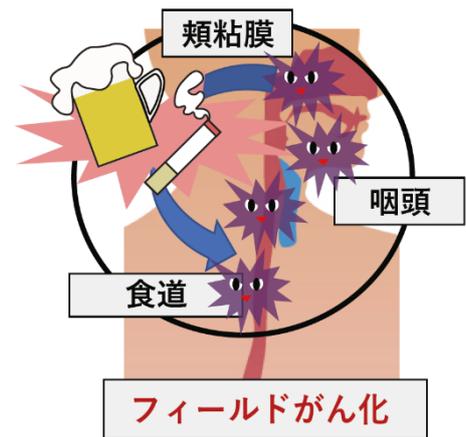
私たちの体は成人になると約 40 兆個の細胞から成り立っています。がんという病気は、この中の 1 つの細胞が起源となり、異常な細胞分裂を繰り返し際限なく増殖することで発症します。こうした一つの細胞に由来する細胞集団のことを「クローン」と呼び、その増殖を「クローン拡大」と言います。細胞の増殖に有利に働くゲノムの異常は「ドライバー変異」と呼ばれ、次世代シーケンサーを用いた近年の大規模な解析によって多くのドライバー変異が同定されました。さらに、がんの起源を解明する研究の一環として正常組織のゲノム解析研究が行われ、われわれの組織は「一見正常」であっても、加齢や環境因子への曝露に伴ってドライバー変異を獲得した細胞がクローン拡大していることが明らかとなり、このことは「体細胞モザイク」と呼ばれ世界的に注目を集める研究領域となっています (図 2)。



正常組織においてクローン拡大している細胞は、がんで頻繁に観察されるドライバー変異を獲得していることから、これらの細胞はがんの起源と考えられています。血液における体細胞モザイクは「クローン性造血」と呼ばれ、健康な高齢者の約 10~20%が有していますが、クローン性造血を有さない高齢者と比較すると白血病を発症するリスクが 12.9 倍も高くなっていることが明らかとなっています。このように体細胞モザイクはその臓器のがんの発症リスクを反映すると考えられますが、血液と異なり、その他の臓器では、組織採取そのものが侵襲的であり、また、クローンのサイズが小さく解析が困難であることから、発がんリスクを反映するバイオマーカーとしての応用はこれまで実現されてきませんでした。

食道扁平上皮がんは加齢や、飲酒や喫煙といった環境因子に加えて、アルコール代謝遺伝子である *ADH1B* や *ALDH2* の遺伝子多型がリスク因子として知られており、リスク多型を有する人口比率が高い、日本を含む東アジアに多いがんです。私たちはこれまでの研究で、食道ではたとえ正常な細胞であっても、加齢や飲酒・喫煙などのリスク因子への曝露により、がんのドライバー変異が蓄積することを明らかにしてきました。食道がん患者はしばしば、食道と隣接する臓器である咽頭や口腔にもがんが生じることが知られており、飲酒・喫煙などの環境因子がこれら 3 つの臓器全体をがんが発生しやすい母地へと変化させる「フィールドがん化」という現象に着目しました (図 3)。今回の研究では、最新のシーケンス技術を用いて、一見正常に見える頬粘膜をスワブで擦って細胞を安全に採取し、発がんに先立って正常細胞が獲得する遺伝子異常を高感度に検出しました。解析の結果、加齢、飲酒・喫煙量、遺伝子多型といったそれぞれのリスク因子と遺伝子変異の蓄積との関連が明らかになりました。特に、飲酒の影響は遺伝子多型によって大きく異なる事が判明し、フラッシング反応を有する人が日常的に飲酒することで食道がんが生じやすくなるメカニズムを理解するための重要な手がかりを得ることができました。さらに、頬粘膜における遺伝子変異の情報にもとづいて食道がんの有無を正確に予測することが可能であることを証明しました。

図 3: フィールドがん化



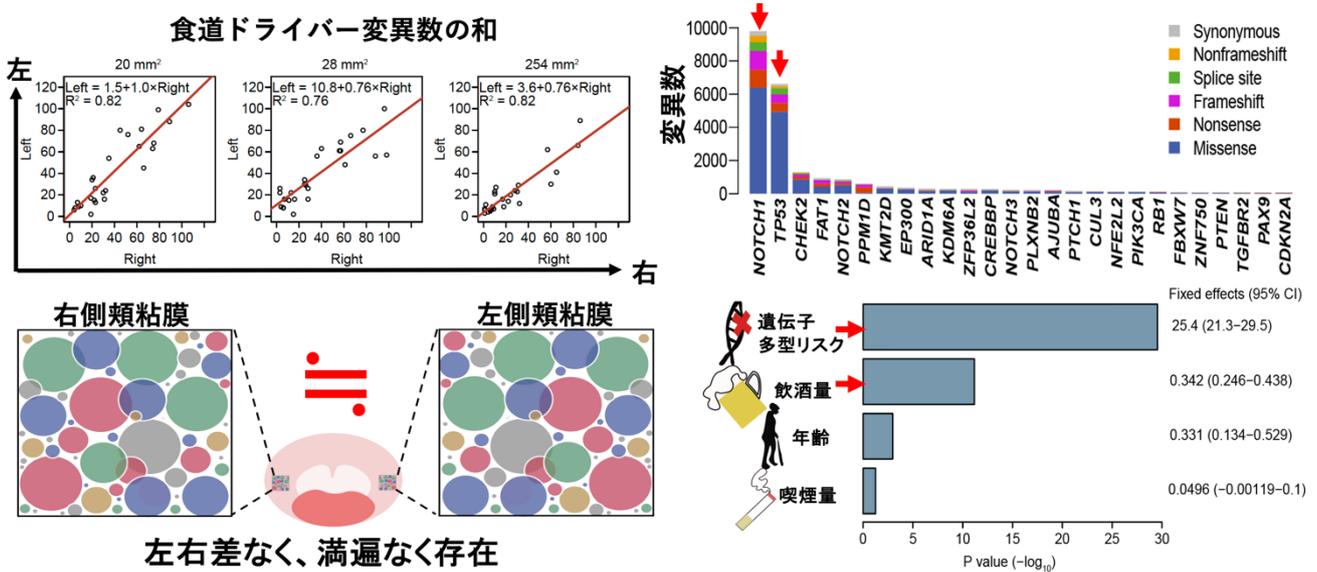
## 2. 研究の概要

### 正常頬粘膜における遺伝子変異の解析

頬粘膜において発がんに先だって生じる遺伝子変異クローンの拡大を解析する目的で、様々な年齢(40~94才、平均 70 才)、喫煙歴・飲酒歴、遺伝子多型を持つ被験者(京都大学医学部附属病院腫瘍内科(武藤 学 教授) 173 例、神戸朝日病院(金 秀基 院長) 49 例)から頬粘膜をスワブで採取し、次世代シーケンサーを用いて、クローン拡大の証拠となる遺伝子変異の検出を試みました。その際、食道がん患者(121 例)と食道がんではない症例(101 例)の間で、飲酒量と喫煙量に差がつかないように症例を集積しました。また、頬粘膜における遺伝子変異クローンの大きさが不明であったため、3 種類のサイズ (20 mm<sup>2</sup>, 28 mm<sup>2</sup>, 254 mm<sup>2</sup>) のスワブで頬粘膜から一定の面積で細胞を採取し、最新のシーケンス技術である分子バーコードシーケンスを用いることで、最小で約 0.06 mm<sup>2</sup> という微小な遺伝子変異クローンの検出を行いました。

食道がん患者では、一見正常に見える頬粘膜において、解析した 99% の試料で遺伝子変異が検出された一方で、食道がんではない症例の頬粘膜においても、96% の試料で遺伝子変異が検出されました。同じ被験者の左右の頬粘膜の遺伝子変異を比較したところ (図 4 左)、遺伝子変異の数やクローンのサイズに左右差は認められず、遺伝子変異クローンは頬粘膜全体に均等に分布していることがわかりました。また、頬粘膜で観察される遺伝子変異は、食道がんで頻繁に観察される *NOTCH1* 遺伝子や *TP53* 遺伝子に多く観察されました (図 4 右上)。頬粘膜の遺伝子変異数と食道がんのリスク因子 (年齢、飲酒量、喫煙量、遺伝子多型) との相関を解析すると、これらのリスク因子の中で、遺伝子多型と飲酒量が強い相関を示しました (図 4 右下)。

図 4：正常頬粘膜における体細胞モザイク

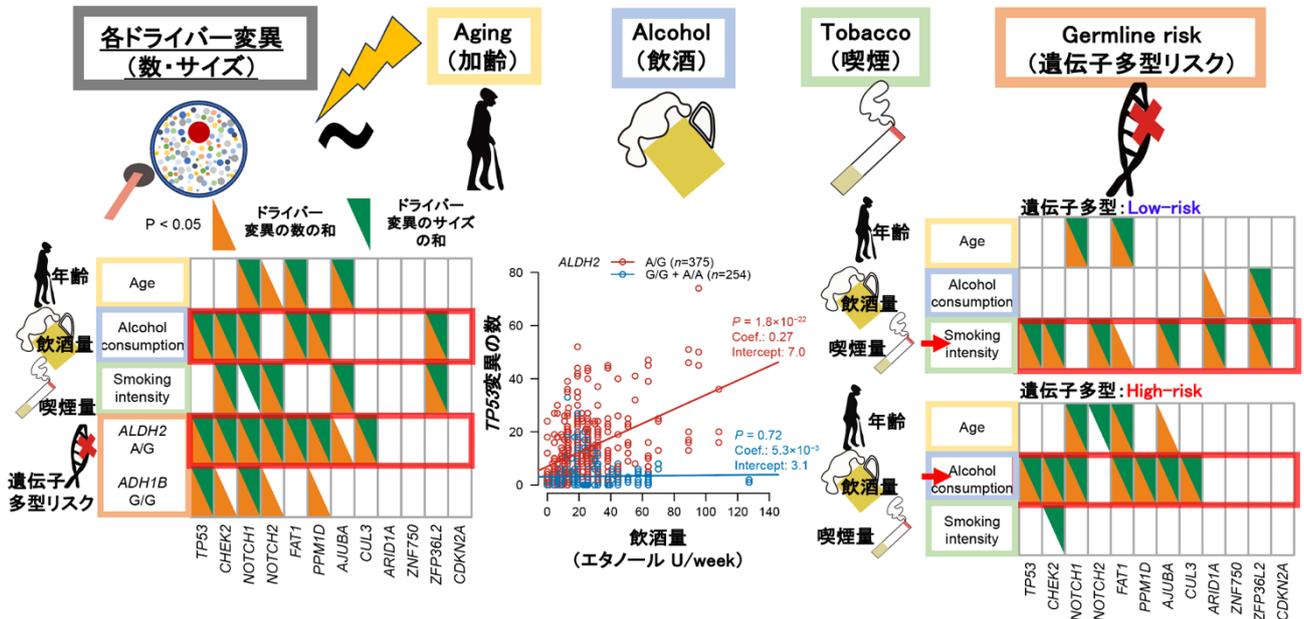


### 正常頬粘膜の遺伝子変異クローンと食道がんリスク因子との関係性

次に、頬粘膜における各ドライバー遺伝子変異と食道がんのリスク因子 (年齢、飲酒量、喫煙量、遺伝子多型 (*ALDH2* 遺伝子多型および *ADH1B* 遺伝子多型)) との相関について検討しました。その結果、最も多くのドライバー遺伝子と有意に相関したリスク因子は *ALDH2* 遺伝子多型で、次に多かったのは飲酒量でした (図 5 左)。そこで、これら 2 つの因子の両方と有意な相関を示した *TP53* 遺伝子変異について、飲酒量との関連を *ALDH2* 遺伝子多型の有無に分けて調べたところ、リスク多型を持たない人 (青) では、飲酒量が増加しても *TP53* 遺伝子変異は増加しませんが、リスク多型を有する人 (赤) では、飲酒量の増加とともに *TP53* 遺伝子変異の数が増加していました (図 5 中)。そこで、リスク多型の有無に分けて、ドライバー遺伝子と他のリ

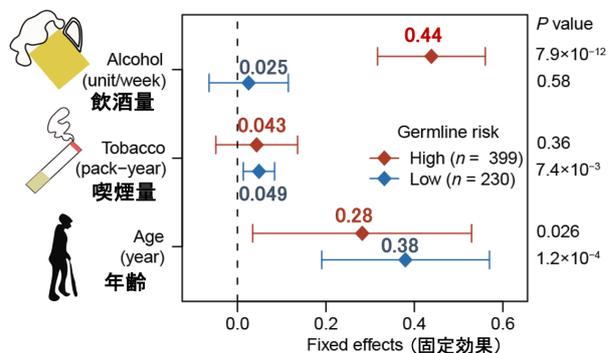
スク因子との相関を確認したところ、リスク多型がない場合は、喫煙が多く遺伝子変異と相関を示したのに対し（図5右上）、リスク多型がある場合は、飲酒量が多く遺伝子変異と相関を示し（図5右下）、体質によってリスク因子が及ぼす影響が異なることが判明しました。興味深い事に、年齢はリスク多型の有無に関わらず、2つの遺伝子変異との間で有意な相関を示しました。

図5：頬粘膜におけるドライバー変異と食道がんリスク因子の関係



さらに、頬粘膜におけるドライバー遺伝子変異の総数や延べ変異面積に年齢、飲酒量、喫煙量が及ぼす影響を、リスク多型の有無に分けて調べたところ、加齢や喫煙の影響はリスク多型の有無に関わらず一定でしたが、飲酒については、リスク多型がなければ飲酒量が増えても遺伝子変異はほとんど増加しない一方で、リスク多型がある人では飲酒量が増えるのに従って遺伝子変異も増加していました。1日平均1箱のタバコを7年間喫煙することは1才年齢を重ねることと効果は等しく、リスク多型がある人にとって1日あたりビール60ml(アルコール分5%)の飲酒習慣は1才分の加齢と等しい効果を有していました（図6）。

図6：リスク因子がドライバー変異の総数に及ぼす影響

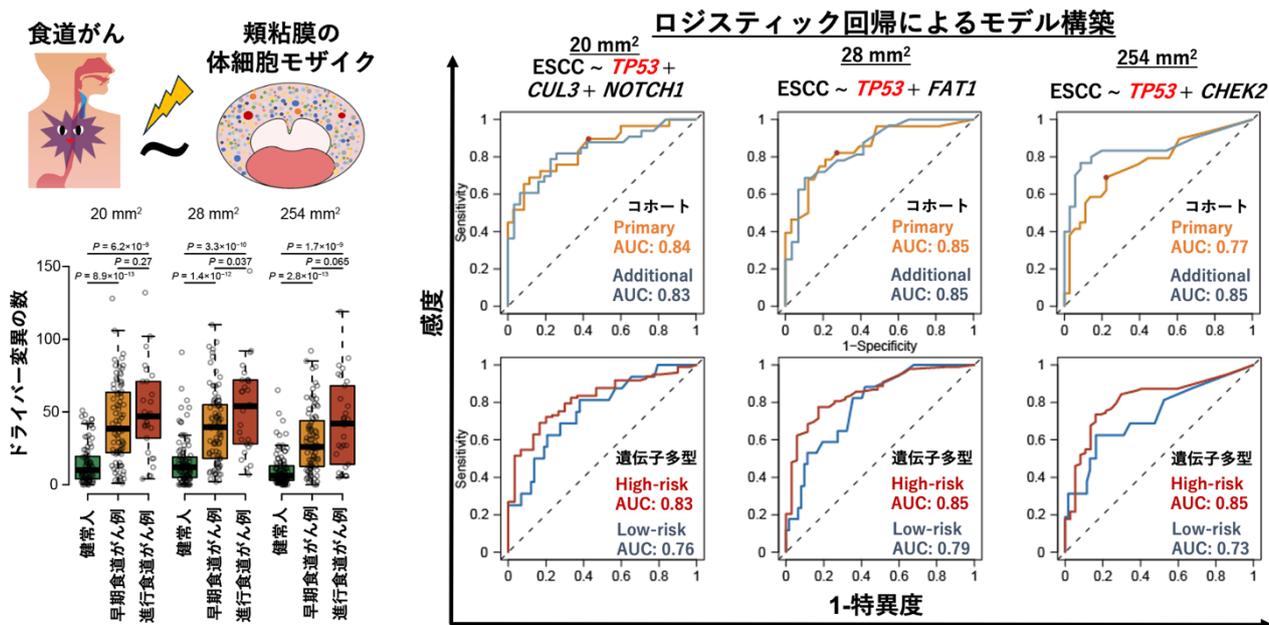


### 頬粘膜における遺伝子変異情報を用いた食道がん予測モデルの構築

非がん患者、早期食道がん患者、そして、進行食道がん患者で、頬粘膜におけるドライバー遺伝子変異の数を比較した結果、すべてのサイズのスワブで、早期食道がん患者であっても、変異数は非がん患者と比較して有意に多いことがわかり（図7左）、頬粘膜の遺伝子変異情報を用いることで食道がんの有無を予測できる可能性が示唆されました。このことを証明するため、食道がんの存在をより良く予測する数個のドライバー遺伝子の組み合わせを決定し、ロジスティック回帰モデルを用いて、頬粘膜の遺伝子変異の情報にもとづいた食道がん予測モデルを構築しました。この予測モデルの性能を検証するため、研究の前半に集めた症例（n=110）でモデルを最適化し、それを研究の後半に集めた症例（n=112）に当てはめました。その結果、3種類のサイズのスワブそれぞれで、2つないし3つの遺伝子の変異情報を用いることで、20 mm<sup>2</sup>と28 mm<sup>2</sup>のスワブで

ROC 曲線の AUC 値 0.83~0.85 と優れた精度を示しました。3 種類のどのスワブにおいても、*TP53* 遺伝子変異が食道がん予測モデルの因子として選択されており、頬粘膜の遺伝子変異情報を利用した食道がん予測モデルに必須の遺伝子であることが示唆されました (図 7 右上)。この食道がん予測モデルがリスク多型を有していない人にとっても有用であるかを検証したところ、20 mm<sup>2</sup> および 28 mm<sup>2</sup> のスワブでは、AUC 値 0.76~0.79 と十分な精度を示し、リスク多型を有さない人にとっても、頬粘膜の遺伝子変異情報を利用した食道がん予測モデルが有用であることが示されました (図 7 右下)。

図 7：頬粘膜の体細胞モザイクを用いた食道がん予測モデル



### 3. 波及効果、今後の予定

最近、ドライバー遺伝子変異を獲得した細胞によって正常組織が再構築される「体細胞モザイク」という現象が多く臓器で解明され世界的に注目を集めていますが、その応用については未だ十分に研究が進んでいません。本研究では、固形臓器において世界で初めて、がんを予測するためのバイオマーカーとして体細胞モザイクの有用性を確立しました。スワブを用いた頬粘膜の擦過は非侵襲的で安全であり、頬粘膜の体細胞モザイクは、従来用いられてきた生活習慣や体質の聴取に基づいたリスク評価法と比べてより客観的かつ正確な、食道がんリスクを反映するバイオマーカーとなります。本研究の成果が実用化されれば、より効率的なスクリーニングにより食道がんの早期発見に寄与するだけでなく、食道がんを発症しておらずとも頬粘膜の体細胞モザイクが高度である人は将来的に食道がんを発症する可能性が高いと考えられるため、生活習慣の是正によるがん予防にも貢献しえます。

日本では“酒は百薬の長”といわれて親しまれており、厚生労働省からはがんを含む生活習慣病のリスクを高める飲酒量として男性では 40g/日以上(ビール 1,000ml)、女性では 20g/日以上(ビール 500ml)とアナウンスされています。しかし、発がん性物質に関する WHO の勧告では以前からアルコールは第 1 種の発がん性物質に位置づけられています。さらに 2023 年には、がんを含む病気の発症に関して飲酒量に安全な基準はない、との勧告がなされました。本研究では、アルコールの代謝物で有害なアセトアルデヒドが体内に溜まりやすくなるアルコール代謝関連遺伝子(*ALDH2*, *ADH1B*)のリスク多型の有無により、飲酒が体細胞モザイクに及ぼす影響が明確に異なることが示されました。従って、体質と飲酒量に応じてがんの発症リスクを認識することが重要ですが、飲酒量を正確に申告することは困難です。頬粘膜の体細胞モザイクは食道がんのリスク因子を

総合的に反映するという観点からも、客観的で有用なバイオマーカーと言えます。なお、本研究で開発した頬粘膜の体細胞モザイクを利用した食道がんリスクの評価法は、グローバルな普及による食道がん診療の向上を目指して、国際特許出願を行っています。

#### 4. 研究プロジェクトについて

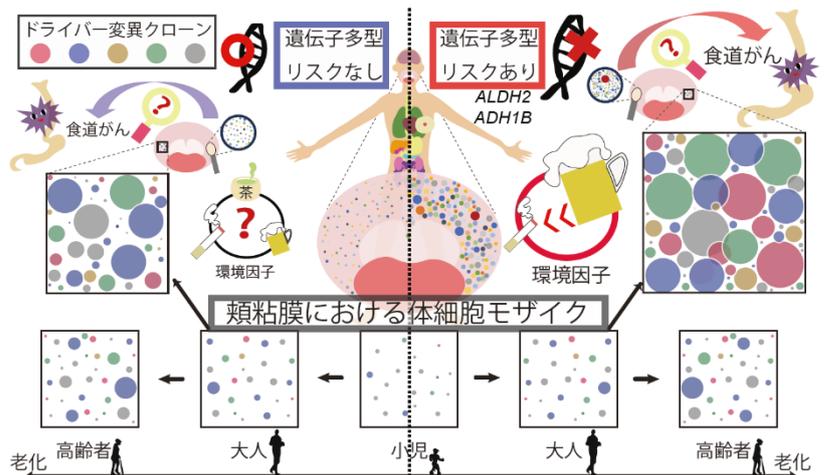
本研究プロジェクトは、下記の補助金による支援を受けて行われました。

- 日本学術振興会・科学研究費助成事業
- 日本医療研究開発機構研究費・次世代がん医療創生研究事業
- 日本医療研究開発機構研究費・革新的がん医療実用化研究事業
- 科学技術振興機構・創発的研究支援事業
- 科学技術振興機構・ムーンショット型研究開発事業
- 武田科学振興財団
- 高松宮妃がん研究基金
- テルモ生命科学振興財団
- 井上科学振興財団
- 内藤記念科学振興財団
- JCA-KFCR 若手研究助成
- 鹿児島共済会南風病院

#### <研究者のコメント>

がんは遺伝子に変異が蓄積した細胞が増殖することによって生じる疾患ですが、がんが発生する背景の正常組織には膨大な数の遺伝子変異クローンが存在し、ヒトの身体は絶えずこれら遺伝子変異クローンによって再構築されつづけます。今回の研究では、先天的および後天的なリスク因子がどのように組み合わさって正常組織における遺伝子変異クローンの出現に関わるのかについて重要な手がかりが得られるとともに、頬粘膜の体細胞モザイクを利用することで、安全かつ簡便に食道がんや咽頭がんの正確なリスク評価が可能となること示されました(図8)。がんは国民の生命を脅かす深刻な疾患であり、私たちの研究が、食道がんや咽頭がんをはじめとする飲酒によるがんの早期診断や予防に貢献し、がんによる死亡率の低減に繋がることを期待しています。(横山 顕礼、垣内 伸之)

図8：本研究のサマリ



#### <論文タイトルと著者>

タイトル：Somatic mosaicism in the buccal mucosa reflects lifestyle and germline risk factors for esophageal squamous cell carcinoma

著者: Akira Yokoyama<sup>1\*</sup>, Koichi Watanabe<sup>2</sup>, Yoshikage Inoue<sup>2</sup>, Tomonori Hirano<sup>2</sup>, Masashi Tamaoki<sup>1</sup>, Kenshiro Hirohashi<sup>1</sup>, Shun Kawaguchi<sup>2</sup>, Yoshihiro Ishida<sup>2</sup>, Yasuhide Takeuchi<sup>3</sup>, Yo Kishimoto<sup>4</sup>, Soo Ki Kim<sup>5</sup>, Chikatoshi Katada<sup>1</sup>, Yasuhito Nannya<sup>6</sup>, Hiroshi Seno<sup>7</sup>, Seishi Ogawa<sup>2,8,9</sup>, Manabu Muto<sup>1</sup>, Nobuyuki Kakiuchi<sup>2,7,10\*</sup>

所属機関: <sup>1</sup>Department of Medical Oncology, Kyoto University Graduate School of Medicine, Kyoto, Japan.

<sup>2</sup>Department of Pathology and Tumor Biology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan. <sup>3</sup>Department of Diagnostic Pathology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan. <sup>4</sup>Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan. <sup>5</sup>Department of Gastroenterology, Kobe Asahi Hospital, Kobe, Japan. <sup>6</sup>Division of Hematopoietic Disease Control, The Institute of Medical Science, The University of Tokyo, Tokyo, Japan. <sup>7</sup>Department of Gastroenterology and Hepatology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan. <sup>8</sup>Institute for the Advanced Study of Human Biology (WPI-ASHBi), Kyoto University, Kyoto, Japan. <sup>9</sup>Department of Medicine, Centre for Hematology and Regenerative Medicine, Karolinska Institute, Stockholm, Sweden. <sup>10</sup>The Hakubi Center for Advanced Research, Kyoto University, Kyoto, Japan.

\*Corresponding authors.

掲載誌: *Science Translational Medicine* DOI: 未定

#### < 特許出願 >

発明の名称: 食道癌、咽頭癌又は口腔癌の発症予測及び／又はリスク判定方法、並びに食道癌、咽頭癌又は口腔癌の発症予測及び／又はリスク判定用キット

PCT 出願: PCT/JP2025/010552, 台湾特許出願: TW114111371