



Title	日本人女性におけるエストロゲン受容体陽性乳癌の罹患リスク予測モデルの構築
Author(s)	郭, 家志
Description	配架番号 : 2290
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(医学)
Dissertation Number	甲第12549号
Issue Date	2017-03-23
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k12549
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/67328
Type	doctoral thesis
File Information	Jiazhi_Guo.pdf



学 位 論 文

日本人女性における エストロゲン受容体陽性乳癌の 罹患リスク予測モデルの構築

(Establishment of risk prediction models
for estrogen receptor-positive breast cancer
in Japanese women)

2017 年 3 月

北 海 道 大 学

郭 家 志

学 位 論 文

日本人女性における
エストロゲン受容体陽性乳癌の
罹患リスク予測モデルの構築

(Establishment of risk prediction models
for estrogen receptor-positive breast cancer
in Japanese women)

2017 年 3 月

北 海 道 大 学

郭 家 志

目 次

1. 発表論文目録および学会発表目録	1 頁
2. 緒言	2 頁
2-1. 乳癌の疫学と予防	
2-2. 乳癌の危険因子	
2-3. 本研究の目的	
3. 略語表	8 頁
4. 研究方法	9 頁
4-1. 乳癌罹患数の年次推移	
4-2. 症例対照研究	
4-2-1. 環境要因の評価	
4-2-2. 血清因子の評価	
4-2-3. 遺伝子多型の評価	
4-2-4. 統計学的解析	

5. 結果	16 頁
5-1. 乳癌罹患数の年次推移	
5-2. 症例対照研究	
5-2-1. 環境要因の比較	
5-2-2. 血清因子の比較	
5-2-3. 遺伝子多型と乳癌リスクとの関連	
5-2-4. エストロゲン受容体陽性乳癌罹患リスク予測モデルの構築	
6. 考察	36 頁
7. 結論	41 頁
8. 謝辞	42 頁
9. 引用文献	43 頁

1. 発表論文目録および学会発表目録

本研究の一部は以下の論文に発表した。

- (1) J. Guo, A. Sueta, K. Nakamura, N. Yoshimoto, M. Baba, N. Ishida, K. Hagio,
T. Toyama, H. Iwase, A. Tamakoshi, H. Yamashita
Establishment of risk prediction models for estrogen receptor-positive
breast cancer in Japanese women
Annals of Oncology (投稿中)

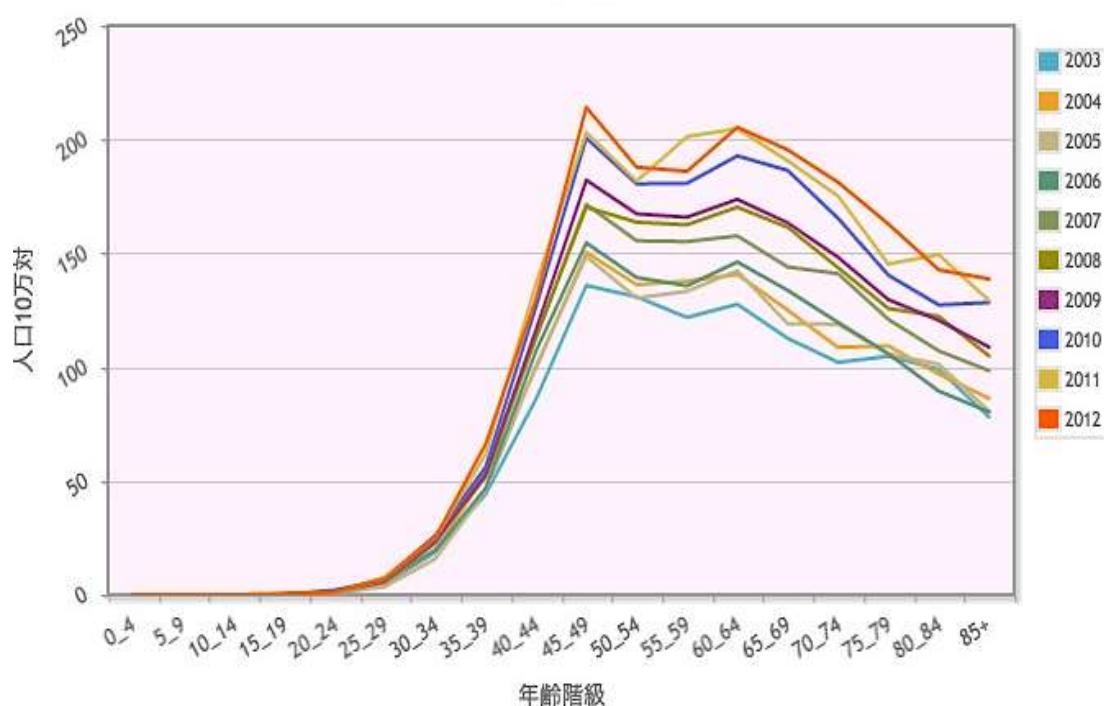
本研究の一部は以下の学会に発表した。

- (1) 郭 家志, 細田充主, 馬場 基, 石田直子, 萩尾加奈子, 山下啓子
ER 陽性 HER2 陰性乳癌の発症に関与する環境要因の検討
第 24 回日本乳癌学会学術総会, 2016 年 6 月 16-18 日・東京

2. 緒言

2-1. 乳癌の疫学と予防

日本人女性において、乳癌の罹患率は過去 20 年間で約 3 倍増加し、2014 年には生涯の乳癌罹患リスクは 12 人に 1 人と報告されている（独立行政法人国立がん研究センターがん対策情報センターhttp://gdb.ganjoho.jp/graph_db/index）。日本人女性乳癌の年齢階級別罹患率を見ると、罹患率のピークは 40 代後半および 60 代前半の二峰型を示している（独立行政法人国立がん研究センターがん対策情報センターhttp://ganjoho.jp/reg_stat/statistics/index.html）（図 1）。この傾向は、ピークが 60 代にある欧米の乳癌罹患年齢分布と異なっている（Surveillance Epidemiology and End Results Cancer Statistics, USA, and Cancer Research, UK）。



*資料：独立行政法人国立がん研究センターがん対策情報センター

図 1. 日本人女性乳癌の年齢階級別罹患率の年次推移

乳癌にはエストロゲン（女性ホルモン）依存性に進展するエストロゲン受容体（ER）陽性乳癌（乳癌細胞で ER が発現している）と、エストロゲンが関与しない ER 陰性乳癌が存在する。日本人女性乳癌において、ER 陽性乳癌の割合は 2004 年の 72%から 2011 年には 80%に増加し、2011 年には 40 代の女性の全乳癌の約 90%、50 代以降の女性の全乳癌の約 80%を占めることが報告された^{1,2}。劇的に増加している ER 陽性乳癌の罹患率を減少させることは重要な課題である。欧米では環境要因からなる乳癌高危険群選別モデル（Gail モデルなど³⁻⁵）が乳癌発症リスクの高い女性を選別するために使用されてきた。Gail モデルなどで高危険群と評価された女性を対象として欧米で行われた乳癌発症予防の臨床試験において、ER 陽性乳癌の発症率は、内分泌療法剤（タモキシフェンおよびアロマターゼ阻害剤）の予防投与により有意に減少することが報告されている⁶。タモキシフェンは全乳癌の発症率を 38%減少させ、浸潤性 ER 陽性乳癌の発症率を 4.0%から 2.1%に減少させた⁷。また、IBIS-II 試験と MAP.3 試験において、閉経後乳癌高リスク女性においてアロマターゼ阻害剤は全乳癌の発症率を 5.6%から 2.8%に減少させたことが報告されている^{5,8}。

日本人女性で急激に増加している ER 陽性乳癌の発症予防にも内分泌療法剤の投与が有効であると推測される。発症予防を行うためには、ER 陽性乳癌の高危険群を選別しなければならない。

2-2. 乳癌の危険因子

これまで報告されている乳癌の危険因子は 3 つのカテゴリーに分けることができる。環境要因、血清因子（表 1）⁹および遺伝子多型（SNPs）（表 2）である。

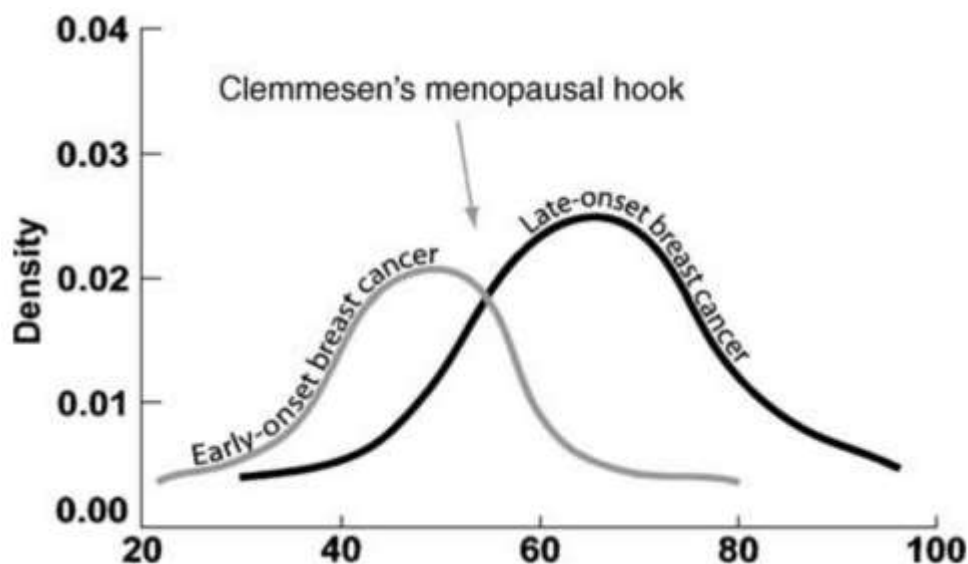
表 1. 乳癌の危険因子として報告された環境要因と血清因子⁹

	リスク減少	リスク増加
確実	出産 早い初産年齢 授乳	肥満（閉経後女性） 高身長 放射線被爆 良性乳腺疾患の既往 乳癌家族歴 ホルモン補充療法 高い乳腺密度
ほぼ確実	身体活動（閉経後女性）	飲酒 喫煙 大きい出生体重 早い初経年齢 遅い閉経年齢 糖尿病
可能性あり	良性卵巣嚢腫の既往 乳製品摂取 大豆製品摂取	受動喫煙 夜勤作業 肥満（閉経前女性） 経口避妊薬
証拠不十分	環境要因 血清因子	高脂肪食、緑茶、ビタミンサプリメント、スタチン、身体活動（閉経前女性）、電磁場、不妊治療、子宮内膜症、多嚢胞性卵巣症候群、ストレス 葉酸、ビタミン A、ビタミン B2、ビタミン B6、ビタミン B12、ビタミン C、ビタミン D、ビタミン E、カルシウム、鉄分、セレン、カロテノイド

表 2. 乳癌の危険因子として報告されている遺伝子多型（一部）

① ER 陽性乳癌のリスクに關与する 遺伝子多型：		②東アジア人女性の乳癌リスクに關与する 遺伝子多型：	
遺伝子多型	關連遺伝子	遺伝子多型	關連遺伝子
rs3803662 ^{10, 11}	T0X3	rs3803662 ¹⁰⁻¹³	T0X3
rs2046210 ¹⁰	ESR1	rs2046210 ^{12, 14}	ESR1
rs13281615 ¹⁵	Unknown	rs13281615 ¹²	Unknown
rs4973768 ¹⁰	SLC4A7	rs4784227 ^{12, 16}	L0C643714
rs10046 ¹¹	CYP19A1	rs4973768 ^{10, 12}	SLC4A7
rs743572 ¹⁷	CYP17A1	rs10046 ¹¹	CYP19A1
rs1042522 ¹¹	Tp53	rs743572 ¹⁷	CYP17A1
rs2583506 ¹⁸	TSPYL5	rs1042522 ¹¹	TP53
rs6905370 ¹¹	ESR1	rs2981579 ¹²	FGFR2
rs889312 ¹⁰	MAP3K1	rs10931936 ¹²	CASP8
rs2981582 ¹⁰	FGFR2	rs2981582 ¹²	FGFR2

最近の遺伝子発現に基づく検討により、ER 陽性乳癌と ER 陰性乳癌は発生・進展のメカニズムが異なる別の病気であることが解明された。従って、ER 陽性乳癌と ER 陰性乳癌の危険因子は異なると考えられる。さらに、乳癌の発症率は二峰性分布を示すが¹⁹ (図 2)、乳癌の危険因子、特に ER 陽性乳癌においては閉経前/閉経後で発生・進展のメカニズムが異なる可能性があると考えられる。そのため、ER 陽性乳癌の危険因子は閉経前/閉経後で異なる場合があると推測される¹¹。



*資料：Anderson, William F., et al. "Estrogen receptor breast cancer phenotypes in the Surveillance, Epidemiology, and End Results database." *Breast cancer research and treatment* 76.1 (2002): 27-36.

図 2. 乳癌の発症年齢の二峰性分布

2007 年以来、特に海外において乳癌リスクと関連する遺伝子多型が多数同定されている。乳癌罹患リスク予測モデルに遺伝子多型の情報を含めることにより、予測能が向上することが報告された^{11, 12, 20-25}。しかしながら、日本人女性において遺伝子多型を用いた乳癌リスク評価に関する研究は少なく、我々が以前行った研究¹¹および愛知県がんセンターからの報告¹²（いずれも小規模な症例対照研究）のみである。

2-3. 本研究の目的

本研究は、日本人女性における環境要因・血清因子・遺伝子多型を含めた ER 陽性乳癌罹患リスク予測モデルを構築することを目的とする。

3. 略語表

AUC: Area under the receiver operating characteristic curve

BMI: Body mass index

CI: Confidence interval

ECLIA: Electro-chemiluminescence immunoassay

ER: Estrogen receptor

GWAS: Genome-wide association studies

HER2: Human epidermal growth factor receptor 2

OR: Odds ratio

RIA: Radioimmunoassay

ROC: Receiver operating characteristic curve

SNP: Single nucleotide polymorphism

4. 研究方法

4-1. 乳癌罹患数の年次推移

2004～2014年の北海道大学病院で治療された日本人女性早期乳癌患者（1151例）において、4つのサブタイプ（ER陽性 HER2陰性、ER陽性 HER2陽性、ER陰性 HER2陽性、ER陰性 HER2陰性）毎に罹患数の割合の年次推移を検討した。

4-2. 症例対照研究

症例群は、2011年1月～2014年12月に北海道大学病院、熊本大学病院および名古屋市立大学病院で診療した ER陽性 HER2陰性乳癌症例 755例とした。対照群は、2015年1月～10月の北海道対がん協会札幌がん検診センターの乳癌検診受診者の内、45歳以上の健常人女性 996名とした。研究対象者に対し、研究内容の十分な説明を行い文書による同意を得た後、環境要因の情報は質問表を用いて収集し、血清因子および遺伝子多型解析に用いる血液検体を採取した。遺伝的要因を配慮して 40歳未満の症例群女性は除外した。80歳以上の女性は検診受診者がいないため除外した。最終的に、症例群は 253例（閉経前 103例、閉経後 150例）、対照群は 905名（閉経前 303名、閉経後 602名）が本研究の対象となった（図3）。本研究で検討した危険因子を表3に記載した。これまで乳癌の危険因子として報告されているものから選択した。

本研究は、ヘルシンキ宣言のガイドライン、および「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」を遵守し、各大学で倫理審査委員会の承認を得て実施した。研究対象者の個人情報 は連結可能匿名化され、検体および対応表は北海道大学病院乳腺外科で厳密に保管されている。

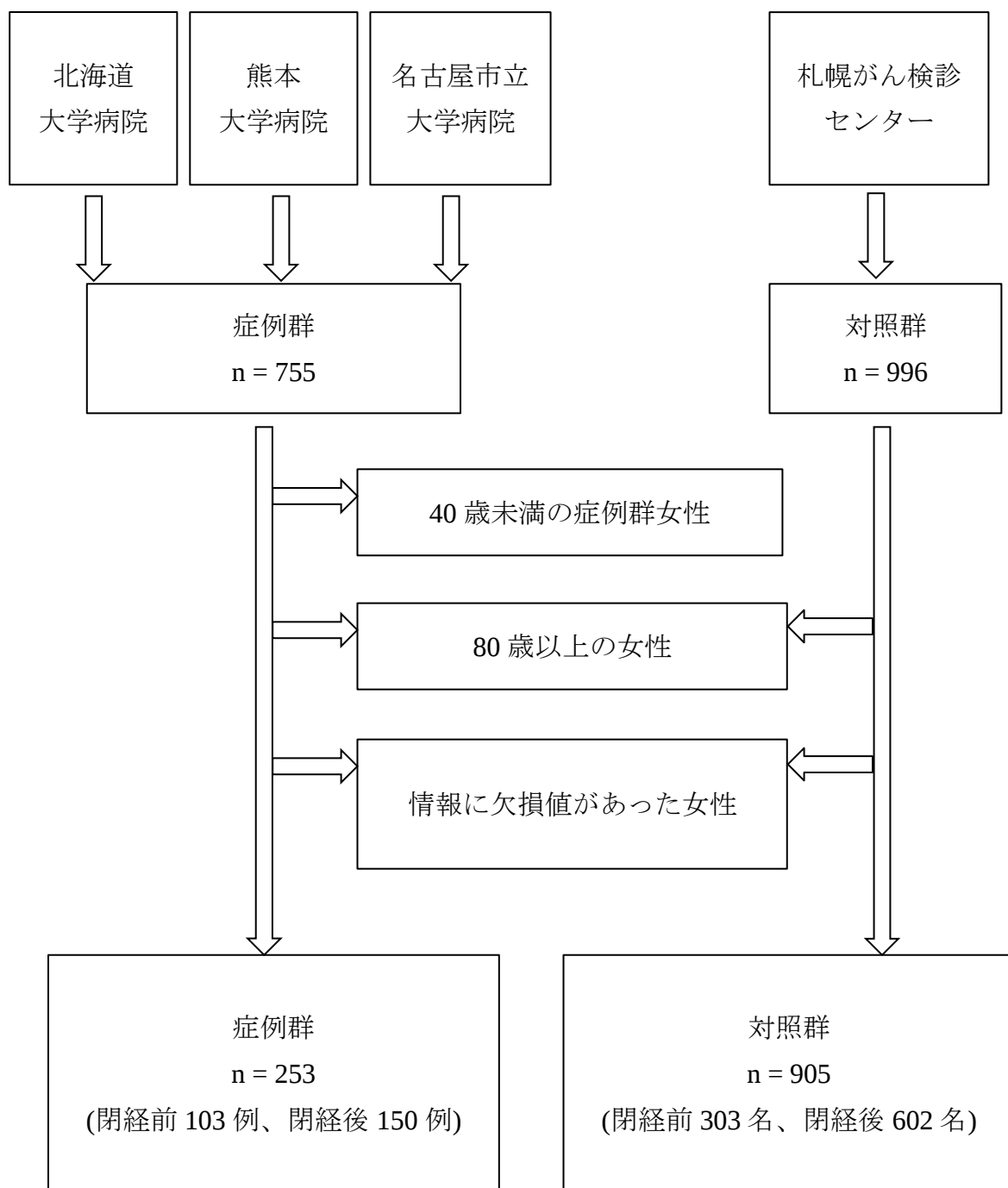


図 3. 本研究の対象

表 3. 本研究で評価した危険因子

危険因子	選択の理由
環境要因：	
BMI	脂肪組織は閉経後女性においてエストロゲン産生の場所であり、肥満は乳癌発症リスクを増加させる ^{9,26} 。
月経関連因子（初経年齢、閉経年齢、月経期間）	月経関連因子はエストロゲン暴露期間を決定する。
生殖要因（妊娠歴、出産歴、初産年齢）	生殖要因は内因性ホルモンの状態および乳腺細胞の生理機能に影響する ^{27,28} 。
授乳歴	授乳経験のない女性は、授乳経験のある女性と比較して乳癌発症リスクが高い ^{11,26-30} 。
良性乳腺疾患既往歴	増殖性良性乳腺疾患の既往は乳癌発症リスクを増加させる ³¹ 。
乳癌家族歴	乳癌家族歴は乳癌発症のリスク要因である ³² 。
高脂血症の合併 （閉経後のみ）	特に高コレステロール血症は、乳癌発症リスクを増加させる ^{33,34} 。
糖尿病の合併 （閉経後のみ）	糖尿病の合併は乳癌発症リスクを増加させる ³⁵ 。
喫煙歴	喫煙は乳癌発症リスクを増加させる可能性がある ³⁶ 。
飲酒歴	飲酒により乳癌発症リスクが増加する ³⁷ 。
血清因子	
血清テストステロン濃度	テストステロンはアロマターゼによりエストロゲンへ変換される ^{38,39} 。
血清 25-OH ビタミンD濃度	血清 25-OH ビタミンD濃度が低いと乳癌発症リスクが増加する ⁴⁰⁻⁴⁵ 。
血清エストラジオール濃度 （閉経後のみ）	血清エストラジオール濃度が高いと ER 陽性乳癌発症リスクが増加する ¹¹ 。

遺伝子多型：

rs3803662	日本人女性の乳癌発症リスク、特に ER 陽性乳癌発症リスクと関連する ¹¹⁻¹³ 。
rs2046210	東アジア人女性において ER 陽性乳癌の発症リスクと関連する ^{10, 12, 14} 。
rs13281615	日本人女性の乳癌発症リスクと関連し、ヨーロッパ人およびアジア人における研究では ER 陽性乳癌の発症リスクと関連する ^{12, 15} 。
rs4784227	東アジア人女性の乳癌発症リスクと関連する ^{12, 16} 。
rs4973768	東アジア人女性において ER 陽性乳癌の発症リスクと関連する ^{10, 12, 46} 。
rs10046 (閉経前のみ)	日本人女性において閉経前 ER 陽性乳癌の発症リスクと関連する ¹¹ 。
rs743572 (閉経前のみ)	血清テストステロン濃度と関連し、日本人女性において閉経前 ER 陽性乳癌の発症リスクと関連する ¹⁷ 。
rs1042522 (閉経後のみ)	日本人女性において閉経後 ER 陽性乳癌の発症リスクと関連する ¹¹ 。
rs2583506 (閉経後のみ)	血清エストロゲン濃度と関連し、閉経後 ER 陽性乳癌の発症リスクと関連する ¹⁸ 。

4-2-1. 環境要因の評価

年齢（歳）、BMI（kg/m²）、初経年齢（歳）、閉経年齢（歳）（閉経後のみ）、月経期間（年）（閉経後のみ）、妊娠回数（回）、出産歴（有/無）、初産年齢（歳）、授乳歴（有/無）、良性乳腺疾患既往歴（有/無）、乳癌家族歴（有/無）、高脂血症の合併（有/無）（閉経後のみ）および糖尿病の合併（有/無）（閉経後のみ）を評価した（表3）。乳癌家族歴は、乳癌に罹った二親等内の女性親族がいた場合「有」とした。

4-2-2. 血清因子の評価

血清テストステロン濃度、血清25-OHビタミンD濃度および血清エストラジオール濃度（閉経後のみ）を評価した（表3、表4）。血清は採取した血液検体を 1300 g、15℃で 10分間遠心分離し、-80℃で保存されているものを用いた。血清濃度の検討は、値（連続変数）を用いた場合とカットオフ値を用いて 2群に分類した場合との両方で評価した。血清テストステロン濃度および血清エストラジオール濃度は、中央値をカットオフ値とした。血清25-OHビタミンD濃度のカットオフ値は、ビタミンD欠乏の閾値である 20 ng/mlを用いた⁴⁷⁻⁴⁹。

表 4. 本研究で評価した血清因子

	測定方法	試薬名
テストステロン（ng/ml）	ECLIA	Testosterone II（Roche）
25-OH ビタミンD（ng/ml）	RIA	25-OH ビタミンD 125I RIA Kit（DiaSorin）
エストラジオール（pg/ml）	RIA	RIACoat ESTRADIOL US（CIS bio international）

4-2-3. 遺伝子多型の評価

Genome-wide association studies (GWAS)で報告された ER 陽性乳癌罹患リスクに関与する遺伝子多型、および東アジア人女性の乳癌罹患リスクに関与する遺伝子多型（全研究対象が5つ、閉経前女性のみが2つ、閉経後女性のみが2つ）を検討した（表3、表5）。ゲノム DNA は、血液検体より QIAamp DNA blood mini kit (Qiagen K.K., Tokyo) を用いて抽出し、4℃で保存されているものを用いた。Genotyping は、TaqMan Single Nucleotide Polymorphism Genotyping Assays、TaqMan GTXpress Master Mix および Applied Biosystems StepOnePlus Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA)を用いて行った。

表 5. 本研究で評価した遺伝子多型

Chromosome	Gene	SNP	Risk allele	Risk allele frequency (Japanese) *	Subject
16q12	TOX3	rs3803662	T	0.40	全女性
6q25	ESR1	rs2046210	T	0.31	全女性
8q24	Unknown	rs13281615	G	0.39	全女性
6q12	LOC643714	rs4784227	T	0.25	全女性
3q24	SLC4A7	rs4973768	T	0.18	全女性
5q21	CYP19A1	rs10046	T	0.46	閉経前女性
10q24	CYP17A1	rs743572	G	0.46	閉経前女性
17q13	TP53	rs1042522	G	0.41	閉経後女性
8q22	TSPYL5	rs2583506	T	0.12	閉経後女性

*資料： Applied Biosystems, Foster City, CA.
(<https://bioinfo.appliedbiosystems.com/genome-database/snp-genotyping.html>)

4-2-4. 統計学的解析

症例群（ER陽性乳癌患者）と対照群の比較は、連続変数は t検定を、カテゴリー変数はカイ二乗検定を用いて解析した。遺伝子多型と乳癌罹患リスクとの関連は、ロジスティックモデルを用いて年齢調整した後にオッズ比（OR）および 95%信頼区間を算出して解析した。Risk allelesの co-dominantモデル、dominantモデルおよび recessiveモデルを作成し、乳癌罹患リスクと有意に関連した遺伝子多型を抽出して多変量解析に用いた。対照群の 9つの遺伝子多型の allele頻度は Hardy-Weinberg equilibriumに準じていることをカイ二乗検定によって確認した。

①環境要因のみ、②環境要因＋血清因子、③環境要因＋血清因子＋遺伝子多型の 3種類についてロジスティック回帰分析を行い、それぞれにおいて receiver-operating characteristic (ROC) 曲線を描いて area under the curve (AUC) を算出した。最終的に、backward stepwise selection method を用いて最も有意と評価された危険因子を含む乳癌罹患リスク予測のベストモデルを作成した。全ての解析は IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY) を用いて閉経前女性/閉経後女性に分けて行った。両側検定で $P < 0.05$ を統計学的有意差ありとみなした。

5. 結果

5-1. 乳癌罹患数の年次推移

2004～2014年の北海道大学病院で治療した日本人女性における早期乳癌症例 1151例において、サブタイプ毎に罹患数の割合の年次推移を検討した(図4)。ER陽性 HER2陰性乳癌は、日本人女性で唯一増加しているサブタイプである^{1,2}。北海道大学病院の症例においても ER陽性 HER2陰性乳癌の割合は、2004年は 40%であったが、2014年には約 75%に増加していた(図4a)。浸潤癌症例 919例においても、同様な傾向が見られた(図4b)。閉経前女性、閉経後女性においても、ER陽性 HER2陰性乳癌のみが増加していた(図4c、4d)。2014年の ER陽性 HER2陰性乳癌の割合は閉経前女性では 80%、閉経後女性では約 70%を占めていた。

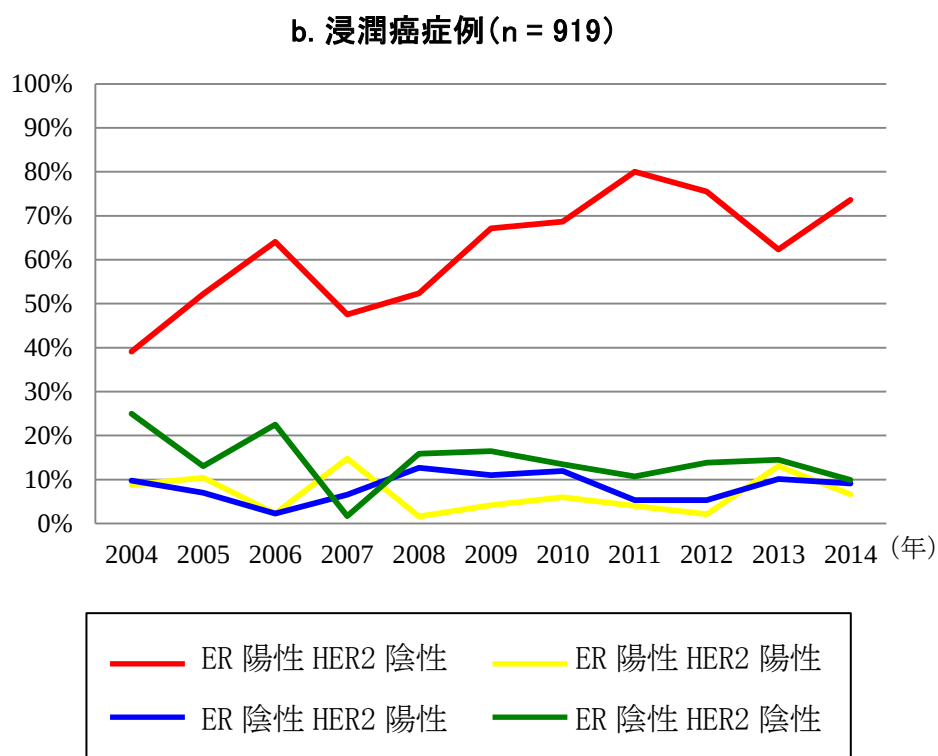
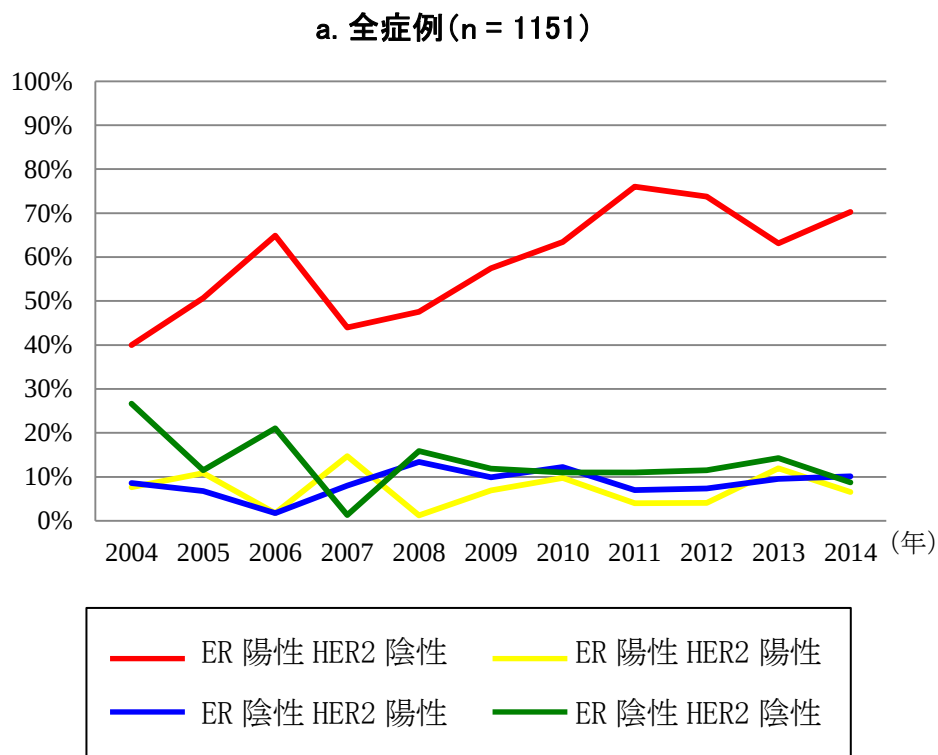
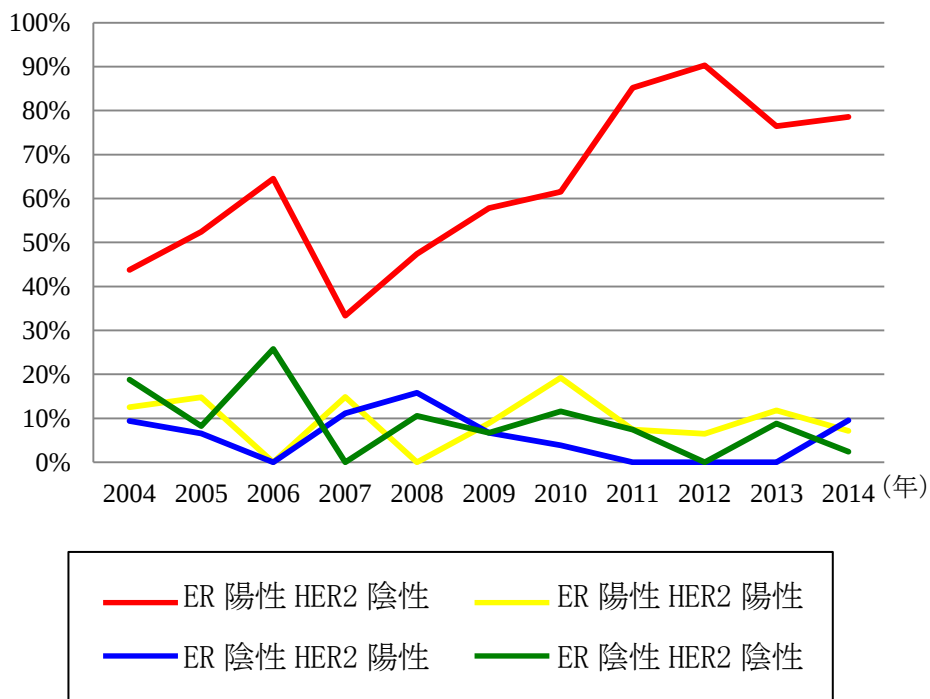
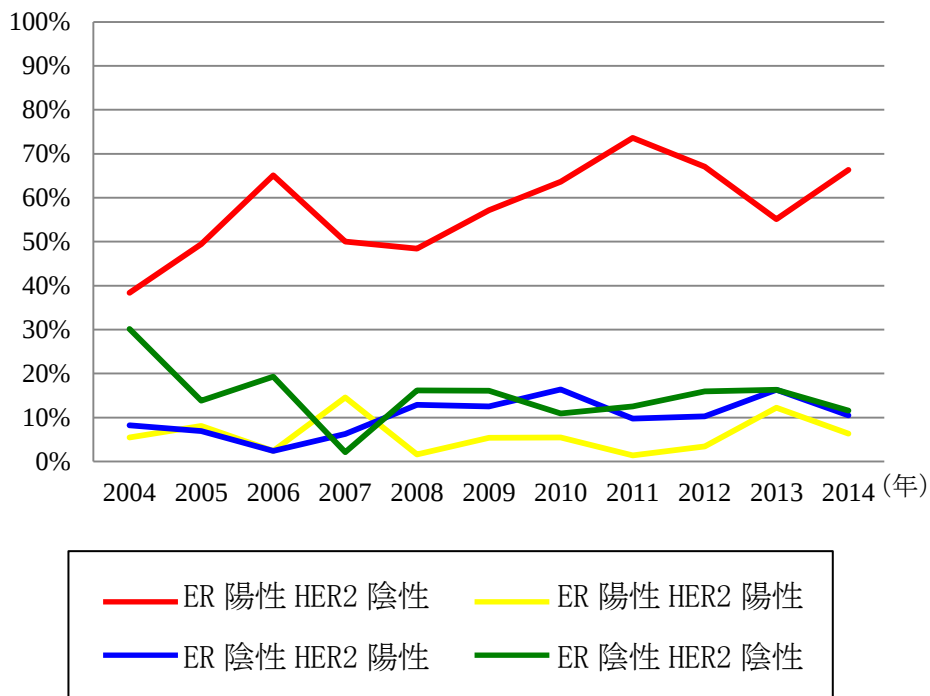


図 4. 北海道大学病院で治療した乳癌サブタイプ毎の罹患数の割合の年次推移

c. 閉経前女性 (n = 375)



d. 閉経後女性 (n = 768)



*資料：北海道大学病院

図 4. 北海道大学病院で治療した乳癌サブタイプ毎の罹患数の割合の年次推移

5-2. 症例対照研究

5-2-1. 環境要因の比較

閉経前女性において、症例群（ER陽性乳癌患者）は対照群と比較して年齢が若く（ $P = 0.015$ ）、妊娠回数が少なく（ $P = 0.049$ ）、未産女性が多く（ $P = 0.004$ ）、授乳歴がある女性が少なく（ $P = 0.001$ ）、乳癌家族歴がある女性が多かった（ $P = 0.034$ ）（表6）。

閉経後女性においては、症例群（ER陽性乳癌患者）は対照群と比較して年齢が高く（ $P < 0.001$ ）、BMI ≥ 25 kg/m²である女性が多く（ $P < 0.001$ ）、授乳歴がある女性が少なく（ $P = 0.009$ ）、高脂血症を有する女性が多く（ $P < 0.001$ ）、糖尿病を有する女性が多かった（ $P = 0.029$ ）。症例群女性で初経年齢が有意に高かったが（ $P < 0.001$ ）、閉経年齢（ $P = 0.51$ ）および月経期間（エストロゲン暴露期間）（ $P = 0.36$ ）には有意差はなかった（表7）。

喫煙歴および飲酒歴については、症例群と対照群で使用された質問表が異なり評価基準が統一されなかったため本検討から除外した。

表 6. 環境要因の症例群（ER 陽性乳癌患者）と対照群との比較（閉経前女性）

		症例群 (n = 103)		対照群 (n = 303)		P 値
年齢（歳）	40-49	75	(72.8%)	180	(59.4%)	0.015 ^{*a}
	≥50	28	(27.2%)	123	(40.6%)	
	Mean ± SD	47.0	± 3.8	48.7	± 2.5	<0.001 ^{*b}
BMI (kg/m ²)	<25.0	79	(76.7%)	242	(79.9%)	0.50 ^a
	≥25.0	24	(23.3%)	61	(20.1%)	
	Mean ± SD	23.0	± 3.9	22.5	± 3.9	0.28 ^b
初経年齢（歳）	≤12	55	(53.4%)	179	(59.1%)	0.59 ^a
	13-14	40	(38.8%)	102	(33.7%)	
	≥15	8	(7.8%)	22	(7.3%)	
	Mean ± SD	12.5	± 1.3	12.4	± 1.5	0.37 ^b
妊娠回数（回）	0	34	(33.0%)	67	(22.1%)	0.003 ^{*a}
	1	24	(23.3%)	46	(15.2%)	
	≥2	45	(43.7%)	190	(62.7%)	
	Mean ± SD	1.6	± 1.5	1.9	± 1.5	0.049 ^{*b}
出産歴	Yes	60	(58.3%)	222	(73.3%)	0.004 ^{*a}
	No	43	(41.7%)	81	(26.7%)	
初産年齢（歳）	Nulliparity	43	(41.7%)	81	(26.7%)	0.02 ^{*a}
	≤24	14	(13.6%)	40	(13.2%)	
	25-29	27	(26.2%)	91	(30.0%)	
	≥30	19	(18.4%)	91	(30.0%)	
	Mean ± SD	28.1	± 4.2	28.5	± 4.5	0.50 ^b
授乳歴	Yes	54	(52.4%)	215	(71.0%)	0.001 ^{*a}
	No	49	(47.6%)	88	(29.0%)	
良性乳腺疾患既往歴	Yes	16	(15.5%)	30	(9.9%)	0.12 ^a
	No	87	(84.5%)	273	(90.1%)	
乳癌家族歴	Yes	23	(22.3%)	41	(13.5%)	0.034 ^{*a}
	No	80	(77.7%)	262	(86.5%)	

^a カイ二乗検定、^b t 検定

*P 値 < 0.05 を有意差ありとした

表 7. 環境要因の症例群（ER 陽性乳癌患者）と対照群との比較（閉経後女性）

		症例群 (n = 150)		対照群 (n = 602)		P 値
年齢（歳）	<60	38	(25.3%)	219	(36.4%)	<0.001 ^{*a}
	60-69	72	(48.0%)	311	(51.7%)	
	70-79	40	(26.7%)	72	(12.0%)	
	Mean ± SD	64.6	± 7.2	61.5	± 6.3	<0.001 ^{*b}
BMI (kg/m ²)	<25.0	103	(68.7%)	501	(83.2%)	<0.001 ^{*a}
	≥25.0	47	(31.3%)	101	(16.8%)	
	Mean ± SD	23.5	± 4.2	22.2	± 3.0	<0.001 ^{*b}
初経年齢（歳）	≤12	35	(23.3%)	244	(40.5%)	<0.001 ^{*a}
	13-14	74	(49.3%)	241	(40.0%)	
	≥15	41	(27.3%)	117	(19.4%)	
	Mean ± SD	13.6	± 1.6	13.1	± 1.7	<0.001 ^{*b}
閉経年齢（歳）	≤49	43	(28.7%)	160	(26.6%)	0.61 ^a
	≥50	107	(71.3%)	442	(73.4%)	
	Mean ± SD	50.8	± 3.8	50.6	± 3.5	0.51 ^b
月経期間（年）	≤34	27	(18.0%)	112	(18.6%)	0.38 ^a
	35-39	86	(57.3%)	310	(51.5%)	
	≥40	37	(24.7%)	180	(29.9%)	
	Mean ± SD	37.1	± 4.0	37.5	± 3.9	0.36 ^b
妊娠回数（回）	0	25	(16.7%)	75	(12.5%)	0.40 ^a
	1	15	(10.0%)	62	(10.3%)	
	≥2	110	(73.3%)	465	(77.2%)	
	Mean ± SD	2.2	± 1.4	2.3	± 1.4	0.64 ^b
出産歴	Yes	121	(80.7%)	507	(84.2%)	0.294 ^a
	No	29	(19.3%)	95	(15.8%)	
初産年齢（歳）	Nulliparity	29	(19.3%)	95	(15.8%)	0.63 ^a
	≤24	39	(26.0%)	182	(30.2%)	
	25-29	60	(40.0%)	242	(40.2%)	
	≥30	22	(14.7%)	83	(13.8%)	
	Mean ± SD	26.3	± 4.0	26.2	± 3.8	0.75 ^b
授乳歴	Yes	105	(70.0%)	481	(79.9%)	0.009 ^{*a}
	No	45	(30.0%)	121	(20.1%)	

良性乳腺疾患既往歴	Yes	18	(12.0%)	103	(17.1%)	0.13 ^a
	No	132	(88.0%)	499	(82.9%)	
乳癌家族歴	Yes	21	(14.0%)	94	(15.6%)	0.62 ^a
	No	129	(86.0%)	508	(84.4%)	
高脂血症の合併	Yes	31	(20.7%)	54	(9.0%)	<0.001 ^{*a}
	No	119	(79.3%)	548	(91.0%)	
糖尿病の合併	Yes	9	(6.0%)	15	(2.5%)	0.029 ^{*a}
	No	141	(94.0%)	587	(97.5%)	

^a カイ二乗検定、^b t 検定

**P*値 < 0.05 を有意差ありとした

5-2-2. 血清因子の比較

閉経前女性において、血清テストステロン濃度は、対照群 (mean $\pm$ SD、0.17 $\pm$ 0.10 ng/ml) と比較し、症例群 (mean $\pm$ SD、0.19 $\pm$ 0.11 ng/ml) で有意に高かった ($P = 0.004$)。一方、血清25-OHビタミンD濃度は、対照群 (mean $\pm$ SD、19.04 $\pm$ 6.16 ng/ml) と比較し、症例群 (mean $\pm$ SD、17.04 $\pm$ 6.46 ng/ml) で有意に低かった ($P = 0.005$) (表8)。

閉経後女性においては、血清テストステロン濃度は、対照群 (mean $\pm$ SD、0.15 $\pm$ 0.10 ng/ml) と比較し、症例群 (mean $\pm$ SD、0.19 $\pm$ 0.13 ng/ml) で有意に高かった ($P = 0.001$)。一方、血清25-OHビタミンD濃度は、対照群 (mean $\pm$ SD、25.73 $\pm$ 7.15 ng/ml) と比較し、症例群 (mean $\pm$ SD、20.96 $\pm$ 6.91 ng/ml) で有意に低かった ($P < 0.001$) (表9)。

閉経後女性の血清エストラジオール濃度の基準値は 10 pg/ml 未満である。本研究では、閉経後女性において低濃度 (10 pg/ml 未満) の血清エストラジオール濃度を測定するために高感度 RIA 法を使用した。これまでの報告と異なり、血清エストラジオール濃度は対照群 (mean $\pm$ SD、8.56 $\pm$ 4.12 pg/ml) と比較し、症例群 (mean $\pm$ SD、6.62 $\pm$ 3.09 pg/ml) で有意に低かった ($P < 0.001$) (表9)。

表 8. 血清因子の症例群（ER 陽性乳癌患者）と対照群との比較（閉経前女性）

症例群 (n = 103)			対照群 (n = 303)		P 値
テストステロン (ng/ml)					
<0.16	38	(36.9%)	157	(51.8%)	0.009 ^{*a}
≥0.16	65	(63.1%)	146	(48.2%)	
Mean ± SD	0.19	± 0.11	0.17	± 0.10	0.04 ^{*b}
25-OH ビタミンD (ng/ml)					
<20.0	71	(68.9%)	174	(57.4%)	0.039 ^{*a}
≥20.0	32	(31.1%)	129	(42.6%)	
Mean ± SD	17.04	± 6.46	19.04	± 6.16	0.005 ^{*b}

^a カイ二乗検定、^b t 検定

*P 値 < 0.05 を有意差ありとした

表 9. 血清因子の症例群（ER 陽性乳癌患者）と対照群との比較（閉経後女性）

症例群 (n = 150)			対照群 (n = 602)		P 値
テストステロン (ng/ml)					
<0.13	52	(34.7%)	297	(49.3%)	0.001 ^{*a}
≥0.13	98	(65.3%)	305	(50.7%)	
Mean ± SD	0.19	± 0.13	0.15	± 0.10	0.001 ^{*b}
25-OH ビタミンD (ng/ml)					
<20.0	68	(45.3%)	123	(20.4%)	<0.001 ^{*a}
≥20.0	82	(54.7%)	479	(79.6%)	
Mean ± SD	20.96	± 6.91	25.73	± 7.15	<0.001 ^{*b}
エストラジオール (pg/ml)					
<7.6	110	(73.3%)	261	(43.3%)	<0.001 ^{*a}
≥7.6	40	(26.7%)	341	(56.7%)	
Mean ± SD	6.62	± 3.09	8.56	± 4.12	<0.001 ^{*b}

^a カイ二乗検定、^b t 検定

*P 値 < 0.05 を有意差ありとした

5-2-3. 遺伝子多型と乳癌リスクとの関連

閉経前女性において、対照群と比較して症例群で risk allele 頻度がより高かった遺伝子多型は rs3803662 ($P=0.004$)、rs2046210 ($P<0.001$)、rs4784227 ($P=0.049$) および rs4973768 ($P=0.043$) であった (表 10)。一方、閉経後女性において、対照群と比較して症例群で risk allele 頻度がより高かった遺伝子多型は rs2046210 ($P<0.001$) および rs4784227 ($P=0.044$) であった (表 11)。

表 10. 遺伝子多型の症例群（ER 陽性乳癌患者）と対照群との比較（閉経前女性）

Genomic loci	Gene/location	症例群 (%)		対照群 (%)		P 値*
rs3803662 (C>T)	TOX3/16q12	CC	9 (8.7%)	69 (22.8%)		0.004**
		CT	57 (55.3%)	157 (51.8%)		
		TT	37 (35.9%)	77 (25.4%)		
rs2046210 (C>T)	ESR1/6q25	CC	34 (33.0%)	161 (53.1%)		<0.001**
		CT	48 (46.6%)	114 (37.6%)		
		TT	21 (20.4%)	28 (9.2%)		
rs13281615 (A>G)	Unknown/8q24	AA	18 (17.5%)	60 (19.8%)		0.16
		AG	42 (40.8%)	148 (48.8%)		
		GG	43 (41.7%)	95 (31.4%)		
rs4784227 (C>T)	LOC643714/6q12	CC	53 (51.5%)	188 (62.0%)		0.049**
		CT	40 (38.8%)	102 (33.7%)		
		TT	10 (9.7%)	13 (4.3%)		
rs4973768 (C>T)	SLC4A7/3p24	CC	61 (59.2%)	201 (66.3%)		0.043**
		CT	35 (34.0%)	96 (31.7%)		
		TT	7 (6.8%)	6 (2.0%)		
rs10046 (C>T)	CYP19A1/5q21	CC	32 (31.1%)	104 (34.3%)		0.35
		CT	53 (51.5%)	132 (43.6%)		
		TT	18 (17.5%)	67 (22.1%)		
rs743572 (A>G)	CYP17A1/10q24	AA	28 (27.2%)	81 (26.7%)		0.60
		AG	48 (46.6%)	156 (51.5%)		
		GG	27 (26.2%)	66 (21.8%)		

*カイ二乗検定

**P 値 < 0.05 を有意差ありとした

表 11. 遺伝子多型の症例群 (ER 陽性乳癌患者) と対照群との比較 (閉経後女性)

Genomic loci	Gene/location	症例群 (%)			対照群 (%)		P 値*
rs3803662 (C>T)	TOX3/16q12	CC	24	(16.0%)	135	(22.4%)	0.62
		CT	73	(48.7%)	306	(50.8%)	
		TT	53	(35.3%)	161	(26.7%)	
rs2046210 (C>T)	ESR1/6q25	CC	50	(33.3%)	293	(48.7%)	<0.001**
		CT	66	(44.0%)	256	(42.5%)	
		TT	34	(22.7%)	53	(8.8%)	
rs13281615 (A>G)	Unknown/8q24	AA	21	(14.0%)	86	(14.3%)	0.81
		AG	72	(48.0%)	304	(50.5%)	
		GG	57	(38.0%)	212	(35.2%)	
rs4784227 (C>T)	LOC643714/6q12	CC	71	(47.3%)	353	(58.6%)	0.044**
		CT	70	(46.7%)	219	(36.4%)	
		TT	9	(6.0%)	30	(5.0%)	
rs4973768 (C>T)	SLC4A7/3p24	CC	94	(62.7%)	401	(66.6%)	0.50
		CT	50	(33.3%)	172	(28.6%)	
		TT	6	(4.0%)	29	(4.8%)	
rs1042522 (C>G)	TP53/17p13	CC	62	(41.3%)	237	(39.4%)	0.86
		CG	65	(43.3%)	276	(45.8%)	
		GG	23	(15.3%)	89	(14.8%)	
rs2583506 (C>T)	TSPYL5/8q22	CC	118	(78.7%)	504	(83.7%)	0.27
		CT	29	(19.3%)	92	(15.3%)	
		TT	3	(2.0%)	6	(1.0%)	

*カイ二乗検定

**P 値 < 0.05 を有意差ありとした

年齢調整したロジスティック回帰分析により、閉経前女性においては TOX3-rs3803662 ($P = 0.001$ in the dominant model)、ESR1-rs2046210 ($P = 0.002$ in the dominant model)、8q24-rs13281615 ($P = 0.025$ in the recessive model) および SLC4A7-rs4973768 ($P = 0.006$ in the recessive model) が ER陽性乳癌リスクと関連した (表12)。

閉経後女性においては TOX3-rs3803662 ($P = 0.031$ in the recessive model) および ESR1-rs2046210 ($P = 0.001$ in the dominant model) が ER陽性乳癌リスクと関連した (表13)。

表 12. ER 陽性乳癌リスクと関連した遺伝子多型：症例群（ER 陽性乳癌患者）と対照群との比較（閉経前女性）

			症例群 (%)		対照群 (%)		OR (95% CI)		P値*
rs3803662 (C>T)	Co-dominant	CC	9	(8.7%)	69	(22.8%)	1	(ref.)	0.005**
		CT	57	(55.3%)	157	(51.8%)	3.27	(1.50-7.16)	
		TT	37	(35.9%)	77	(25.4%)	3.86	(1.69-8.81)	
	Dominant	CC	9	(8.7%)	69	(22.8%)	1	(ref.)	0.001**
		CT+TT	94	(91.3%)	234	(77.2%)	3.48	(1.63-7.44)	
	Recessive	CC+CT	66	(64.1%)	226	(74.6%)	1	(ref.)	0.09
		TT	37	(35.9%)	77	(25.4%)	1.48	(0.90-2.44)	
rs2046210 (C>T)	Co-dominant	CC	34	(33.0%)	161	(53.1%)	1	(ref.)	0.002**
		CT	48	(46.6%)	114	(37.6%)	1.89	(1.13-3.17)	
		TT	21	(20.4%)	28	(9.2%)	3.22	(1.59-6.53)	
	Dominant	CC	34	(33.0%)	161	(53.1%)	1	(ref.)	0.002**
		CT+TT	69	(67.0%)	142	(46.9%)	2.16	(1.33-3.49)	
	Recessive	CC+CT	82	(79.6%)	275	(90.8%)	1	(ref.)	0.011**
		TT	21	(20.4%)	28	(9.2%)	2.34	(1.22-4.48)	
rs13281615 (A>G)	Co-dominant	AA	18	(17.5%)	60	(19.8%)	1	(ref.)	0.07
		AG	42	(40.8%)	148	(48.8%)	0.77	(0.41-1.46)	
		GG	43	(41.7%)	95	(31.4%)	1.46	(0.76-2.80)	
	Dominant	AA	18	(17.5%)	60	(19.8%)	1	(ref.)	0.80
		AG+GG	85	(82.5%)	243	(80.2%)	1.02	(0.57-1.84)	
	Recessive	AA+AG	60	(58.3%)	208	(68.6%)	1	(ref.)	0.025**
		GG	43	(41.7%)	95	(31.4%)	1.74	(1.07-2.81)	
rs4973768 (C>T)	Co-dominant	CC	61	(59.2%)	201	(66.3%)	1	(ref.)	0.018**
		CT	35	(34.0%)	96	(31.7%)	1.21	(0.74-2.00)	
		TT	7	(6.8%)	6	(2.0%)	5.83	(1.71-19.88)	
	Dominant	CC	61	(59.2%)	201	(66.3%)	1	(ref.)	0.16
		CT+TT	42	(40.8%)	102	(33.7%)	1.41	(0.88-2.27)	
	Recessive	CC+CT	96	(93.2%)	297	(98.0%)	1	(ref.)	0.006**
		TT	7	(6.8%)	6	(2.0%)	5.46	(1.62-18.35)	

*ロジスティック回帰分析

**P値 < 0.05 を有意差ありとした

表 13. ER 陽性乳癌リスクと関連した遺伝子多型：症例群（ER 陽性乳癌患者）と対照群との比較（閉経後女性）

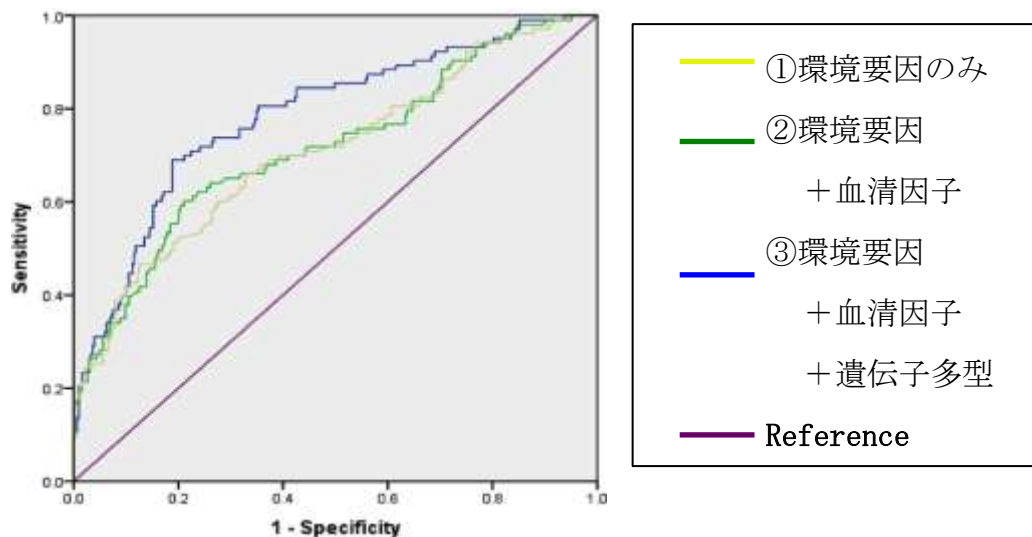
			症例群 (%)		対照群 (%)		OR (95% CI)		P値*
rs3803662 (C>T)	Co-dominant	CC	24	(16.0%)	135	(22.4%)	1	(ref.)	0.05
		CT	73	(48.7%)	306	(50.8%)	1.38	(0.82-2.30)	
		TT	53	(35.3%)	161	(26.7%)	1.94	(1.12-3.35)	
	Dominant	CC	24	(16.0%)	135	(22.4%)	1	(ref.)	0.08
		CT+TT	126	(84.0%)	467	(77.6%)	1.57	(0.96-2.54)	
	Recessive	CC+CT	97	(64.7%)	441	(73.3%)	1	(ref.)	0.031**
		TT	53	(35.3%)	161	(26.7%)	1.53	(1.04-2.26)	
rs2046210 (C>T)	Co-dominant	CC	50	(33.3%)	293	(48.7%)	1	(ref.)	<0.001**
		CT	66	(44.0%)	256	(42.5%)	1.55	(1.03-2.34)	
		TT	34	(22.7%)	53	(8.8%)	4.01	(2.33-6.89)	
	Dominant	CC	50	(33.3%)	293	(48.7%)	1	(ref.)	0.001**
		CT+TT	100	(66.7%)	309	(51.3%)	1.96	(1.33-2.87)	
	Recessive	CC+CT	116	(77.3%)	549	(91.2%)	1	(ref.)	<0.001**
		TT	34	(22.7%)	53	(8.8%)	3.20	(1.96-5.23)	

*ロジスティック回帰分析

**P値 < 0.05 を有意差ありとした

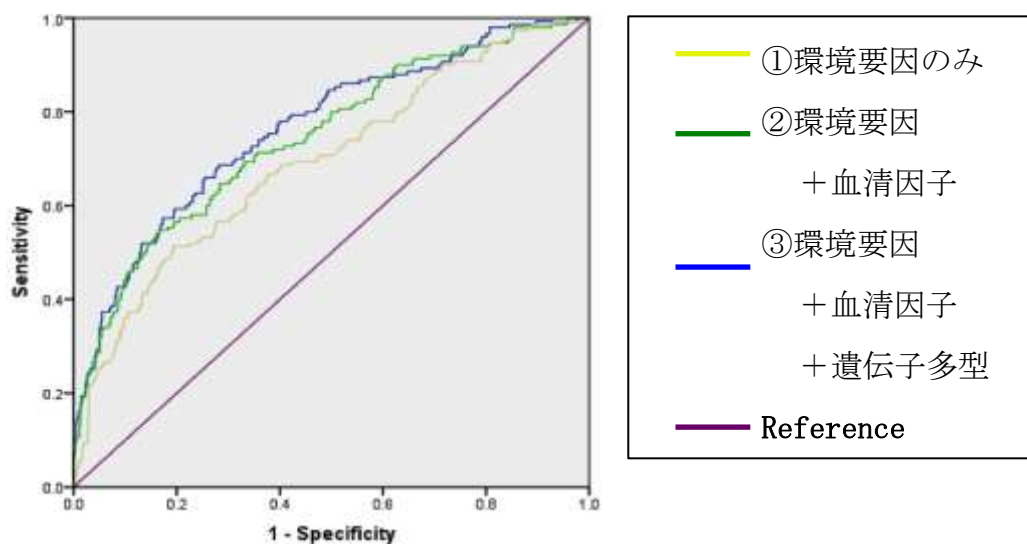
5-2-4. ER 陽性乳癌罹患リスク予測モデルの構築

閉経前および閉経後女性において、ロジスティック回帰分析を用いて ①環境要因のみ、②環境要因＋血清因子、③環境要因＋血清因子＋遺伝子多型を含んだ 3 種類のリスクモデルを作成した（図 5、図 6）。閉経前女性において、AUC は ①環境要因のみを含むモデルが最も小さく（0.708、黄色線）、②環境要因＋血清因子を含むモデルが①より大きく（0.716、緑色線）、③環境要因＋血清因子＋遺伝子多型を含むモデルが最も大きかった（0.785、青色線）（図 5）。閉経後女性においても、AUC は ①環境要因のみを含むモデルが最も小さく（0.693、黄色線）、②環境要因＋血清因子を含むモデルが①より大きく（0.745、緑色線）、③環境要因＋血清因子＋遺伝子多型を含むモデルが最も大きかった（0.764、青色線）（図 6）。



Reference である紫色線は 50%の AUC を示す。黄色線は①環境要因のみ (AUC = 0.708)、緑色線は②環境要因+血清因子 (AUC = 0.716)、青色線は③環境要因+血清因子+遺伝子多型 (AUC = 0.785) である。

図 5. 閉経前女性における 3 種類のリスクモデルの ROC 曲線



Reference である紫色線は 50%の AUC を示す。黄色線は①環境要因のみ (AUC = 0.693)、緑色線は②環境要因+血清因子 (AUC = 0.745)、青色線は③環境要因+血清因子+遺伝子多型 (AUC = 0.764) である。

図 6. 閉経後女性における 3 種類のリスクモデルの ROC 曲線

最後に、backward stepwise selection method を用いて最も有意な危険因子を含む ER 陽性乳癌罹患リスク予測のベストモデルを作成した。最終的に罹患リスク予測モデルに含まれた危険因子は、閉経前女性においては若い年齢、授乳歴なし、良性乳腺疾患の既往あり、TOX3-rs3803662 (CT+TT)、ESR1-rs2046210 (CT+TT)、8q24-rs13281615 (GG) および SLC4A7-rs4973768 (TT) であった (表 14)。一方、閉経後女性においては高齢、高い BMI、授乳歴なし、高脂血症の合併あり、血清テストステロン濃度高値、血清 25-OH ビタミンD濃度低値、TOX3-rs3803662 (TT) および rs2046210 (CT+TT) であった (表 15)。算出された AUC は閉経前女性では 0.762 (図 7)、閉経後女性では 0.757 であった (図 8)。

表 14. 乳癌罹患リスク予測のベストモデルに含まれた危険因子（閉経前女性）

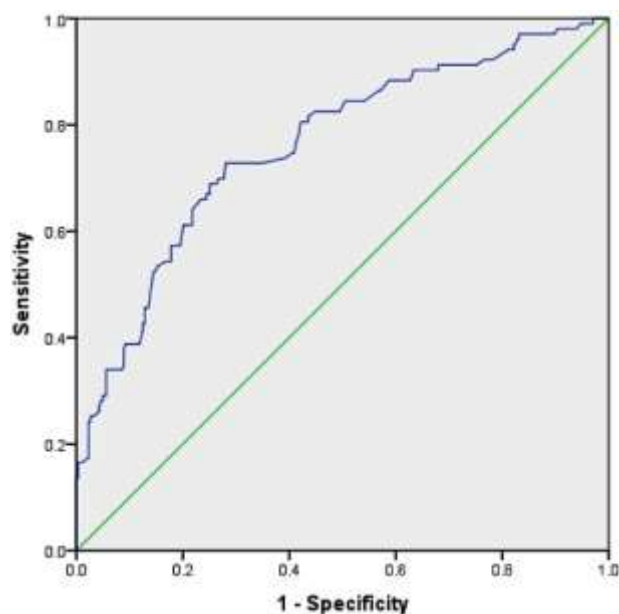
	OR	95% CI		<i>P</i> 値*
		Lower	Upper	
年齢（高い）	0.80	0.73	0.88	<0.001
授乳歴（あり）	0.48	0.29	0.81	0.006
良性乳腺疾患既往歴（あり）	2.37	1.13	4.99	0.023
rs3803662（CT+TT）	4.25	1.86	9.71	0.001
rs2046210（CT+TT）	2.00	1.20	3.34	0.008
rs13281615（GG）	1.82	1.09	3.04	0.022
rs4973768（TT）	6.83	1.93	24.16	0.003

*ロジスティック回帰分析

表 15. 乳癌罹患リスク予測のベストモデルに含まれた危険因子（閉経後女性）

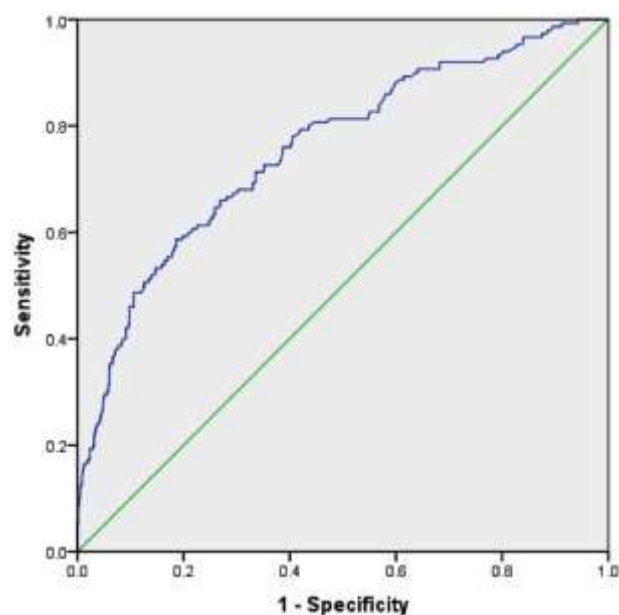
	OR	95% CI		<i>P</i> 値*
		Lower	Lower	
年齢（高い）	1.08	1.05	1.11	<0.001
BMI（ ≥ 25 kg/m ² ）	1.83	1.17	2.86	0.009
授乳歴（あり）	0.47	0.30	0.73	0.001
高脂血症の合併（あり）	2.07	1.19	3.61	0.010
血清テストステロン（ ≥ 0.13 ng/ml）	1.83	1.22	2.75	0.003
血清 25-OH ビタミンD（ ≥ 20 ng/ml）	0.29	0.19	0.44	<0.001
rs3803662（TT）	1.74	1.14	2.64	0.010
rs2046210（CT+TT）	1.90	1.26	2.87	0.002

*ロジスティック回帰分析



緑色線は reference で 50%の AUC を示す。罹患リスク予測のベストモデルの ROC 曲線（青色線）の AUC は 0.762 である。

図 7. 閉経前女性における ER 陽性乳癌罹患リスク予測のベストモデルの ROC 曲線



緑色線は reference で 50%の AUC を示す。罹患リスク予測のベストモデルの ROC 曲線（青色線）の AUC は 0.757 である。

図 8. 閉経後女性における ER 陽性乳癌罹患リスク予測のベストモデルの ROC 曲線

6. 考察

本研究では、日本人女性において、これまでの報告と同様に過去 10年間で ER陽性 HER2陰性乳癌のみ増加していることを確認した。欧米で行われた乳癌発症予防の臨床試験において、乳癌罹患高危険群女性における内分泌療法剤（タモキシフェンおよびアロマターゼ阻害剤）の予防投与が ER陽性乳癌の発症率を約半分に抑制したことが示されている⁵⁻⁸が、乳癌罹患の危険因子は乳癌のサブタイプおよび人種によって異なると考えられる。一方、日本人女性における ER陽性乳癌の発症予防にも内分泌療法剤の投与が有効であると推測される⁹。日本人女性の乳癌高危険群選別モデルは未だ確立されたものではなく、ER陽性乳癌罹患リスク予測モデルを確立することは急務である。

本研究では、ER 陽性乳癌罹患リスク予測モデルを作成するために 2011～2014 年に新たに乳癌と診断された ER 陽性 HER2 陰性乳癌患者を症例群として、また 2015 年に乳癌検診を受診した健常人女性を対照群として、環境要因、血清因子および遺伝子多型を比較した。過去の研究と比較して、本研究では最近の症例と対照を用いたため日本人女性における最近の ER 陽性乳癌の増加の要因をより反映していると考えている。

乳癌罹患の環境要因の危険因子として、授乳歴は閉経前、閉経後女性ともに、これまで乳癌発症リスクを低下させることが報告されている^{11, 26-30}。本研究においても、閉経前、閉経後女性ともに罹患リスク予測モデルに含まれた。日本人を対象とした症例対照研究のシステマティックレビューでも授乳歴は乳癌発症リスクを低下させることが示されている³⁰。

さらに本研究において、良性乳腺疾患の既往が閉経前女性の罹患リスク予測モデルに含まれた。これまで増殖性良性乳腺疾患と乳癌リスクの有意な関連がメタ解析によって報告されている³¹。本研究では、良性乳腺疾患既往歴の情報は「有/無」しか評価

することができず病名の詳細な検討ができなかった。今後、良性乳腺疾患については病名も調査して検討することにより、より精度の高い罹患リスクの予測が可能となると考えられる。

BMI はこれまで閉経後乳癌罹患の危険因子として確立されている^{9,26}。閉経後女性においては主に脂肪組織でエストロゲンが産生されるため、特にエストロゲン依存性に進展する ER 陽性乳癌の罹患リスクと関連すると考えられている。本研究においても BMI が閉経後女性の罹患リスク予測モデルに含まれた。

高脂血症、主に高コレステロール血症は肥満と共存することが多い。これまで ER 陽性乳癌リスクとの関連が報告されている^{33,34}。本研究でも高脂血症の合併が閉経後女性における罹患リスク予測モデルに含まれた。一方、笹月らが行った日本人を対象としたプール解析では糖尿病と乳癌リスクとの関連が報告されている³⁵。本研究では糖尿病の合併は ER 陽性乳癌患者で有意に多かったが、罹患リスク予測モデルには含まれなかった。

本研究において授乳歴および閉経後女性の肥満と高脂血症が本研究の ER 陽性乳癌罹患リスク予測モデルに含まれたことを見ると、日本人女性においてライフスタイルの変化に伴う最近の出生率の低下や、食生活の欧米化に伴う肥満が ER 陽性乳癌の急激な増加の主な要因となっていると推測される。

血清因子については、本研究において閉経前、閉経後女性ともに対照群と比較して症例群では血清テストステロン濃度が有意に高く、血清 25-OH ビタミンD濃度が有意に低かった。さらに血清テストステロン濃度および血清 25-OH ビタミンD濃度は、閉経後女性の罹患リスク予測モデルに含まれた。これまでの研究においても血清テストステロン濃度と ER 陽性乳癌の罹患との関連が示されている^{11,50}。25-OH ビタミンDは活性型ビタミンDのプールとして血中ビタミンDの状態を反映する最も優れた指標で

ある。これまでの基礎および疫学研究においてビタミンDの抗腫瘍効果が示唆されている⁴⁰⁻⁴⁵。

遺伝子多型については、閉経前女性において TOX3-rs3803662 (T)、ESR1-rs2046210 (T)、8q24-rs13281615 (GG) および SLC4A7-rs4973768 (TT) が、閉経後女性において TOX3-rs3803662 (TT) および ESR1-rs2046210 (T) が本研究の罹患リスク予測モデルに含まれた。これまでヨーロッパ人およびアジア人女性を対象とした研究で、TOX3/TNRC9 の遺伝子多型である rs3803662 の risk allele (T) が乳癌罹患リスクと強く関連することが報告されている^{10, 12, 22, 51}。さらに TOX3/TNRC9 遺伝子が ER 陽性乳癌の発生・進展に関与することが報告されている^{52, 53}。一方、ESR1 遺伝子の上流に位置する遺伝子多型である rs2046210 の risk allele (T) は乳癌罹患リスクと強く関連することが報告されている^{14, 54}。8q24 染色体に位置する遺伝子多型である rs13281615 は、乳癌罹患リスク^{12, 22, 55}、特に ER 陽性乳癌罹患リスク¹⁵と強く関連することが報告されている。また SLC4A7 の遺伝子多型である rs4973768 は乳癌罹患リスクと強く関連することが東アジア人女性において報告されている^{10, 12, 46, 56}。

本研究の ER 陽性乳癌罹患リスク予測のベストモデルでは、閉経前女性において 3 つの環境要因および 4 つの遺伝子多型が含まれ、また閉経後女性においては 4 つの環境要因、2 つの血清因子および 2 つの遺伝子多型が含まれた。40 代で発症する閉経前 ER 陽性乳癌においては遺伝的要因の関与がより強く、閉経後 ER 陽性乳癌の発症においては環境要因の関与がより重要であると推測される。

先行研究と比較して本研究の特長は主に 5 点存在する。1 つ目は、病院に受診した患者ではなく乳癌検診受診者を対照群としたことである。これまでの研究では主訴を持って受診した外来患者で、癌と診断されなかった外来患者を対照群としているのに対して、本研究の対照群はより「健常人女性」に近い集団であると考えられる。次に、

2011 年以後に新たに乳癌と診断された患者を症例群としたことである。最近の症例を用いた本研究は、日本人女性の最近の ER 陽性乳癌の増加をより反映していると考えられる。3 つ目は、症例：対照の比例が閉経前女性において 1：3、閉経後女性において 1：4 としたことである。疫学研究では通常、対照群が症例群の 3～4 倍必要とされる。4 つ目は、血清因子として日常臨床で測定可能な項目を検討したことである。これまで IGF1、IGFBP3 などが乳癌罹患リスクと関連することが報告されているが、日常診療で測定するのは難しい。本研究で検討した血清テストステロンと血清 25-OH ビタミンDは検診の場でも測定できて実用的である。最後に、本研究で検討した遺伝子多型は先行研究に基づいて日本人女性または東アジア人女性において報告された遺伝子多型、および ER 陽性乳癌罹患リスクと関連している遺伝子多型を選択した。乳癌罹患の危険因子としての遺伝子多型は人種および乳癌のサブタイプにより異なると推測されることによる。

一方、本研究は幾つかのリミテーションがある。まず、症例群と対照群で年齢をマッチさせていないことである。症例群は 40 歳以上としたが、対照群は 45 歳以上の健康な女性とした。これは、閉経前女性の対照群として閉経前（通常 50 歳以下）に乳癌に罹患していない女性を対照として選択したかったためである。その結果、症例群女性の年齢が対照群より有意に若くなった。次に、血液検体を異なる時に採取したものを用いたことである。採取・保存方法は同様であったが、症例群の血液検体は 2011～2014 年に採取されたものに対して、対照群の血液検体は 2015 年 1 月～10 月に乳癌検診を受診した時に採取されたものである。血清 25-OH ビタミンD濃度は季節変動があると報告されている。3 つ目は、乳癌罹患リスクと関連すると報告されている喫煙・飲酒歴について評価できなかったことである。質問表が症例群と対照群とで異なり評価基準が統一されなかった。対照群の質問表には喫煙・飲酒の頻度および期間を記載

していたが、症例群においては「有/無」や「機会飲酒」のような不十分または不明確な情報しか獲得できなかった。そのため本検討では喫煙・飲酒歴は検討から除外した。最後に、環境要因で欠損値を含んだ症例については解析の正確度を向上させるため本研究の対象から除外した。

7. 結論

本研究では

- ER 陽性乳癌は過去 10 年間で日本人女性の乳癌罹患増加分のほとんどを占め、ER 陽性 HER2 陰性乳癌は唯一の増加している乳癌サブタイプであることが確認できた。
- 日本人女性における ER 陽性乳癌の罹患リスク予測モデルを作成した。
- 危険因子として遺伝子多型および血清因子を環境要因に加えることにより、罹患リスク予測モデルの精度が向上した。

日本人女性において、ER 陽性乳癌が全乳癌の 8 割以上、そして最近の乳癌罹患増加分のほとんどを占めることを検証したことにより、ER 陽性乳癌の発症予防の重要性を示した。環境要因として授乳歴、および閉経後女性の肥満と高脂血症の合併が ER 陽性乳癌罹患リスク予測モデルに含まれた。日本人女性における ER 陽性乳癌の急激な増加の主な要因として、ライフスタイルの変化に伴う出生率の低下や、食生活の欧米化に伴う肥満が関与していると推測される。

本研究において構築した ER 陽性乳癌の罹患リスク予測モデルは、ER 陽性乳癌の発症予防の対象となる高危険群女性の選別に役立つと考える。さらに、今回同定した危険因子を検討することにより、ER 陽性乳癌の発症メカニズムの解明に繋げていきたい。

8. 謝辞

本研究を行うにあたり、懇篤なる御指導、論文の校閲を賜りました北海道大学病院乳腺外科教授 山下 啓子 先生に感謝申し上げます。

また、血液検体を用いた研究において技術的指導を賜りました北海道大学病院乳腺外科研究助手、佐藤 幹子 様、統計学的解析について懇切丁寧に御指導賜りました北海道大学大学院医学研究科公衆衛生学分野教授 玉腰 暁子 先生、准教授 中村 幸志 先生に厚く御礼申し上げます。

さらに、症例を提供していただきました熊本大学大学院生命科学研究部乳腺・内分泌外科分野教授 岩瀬 弘敬 先生、助教 末田 愛子 先生、名古屋市立大学大学院医学研究科乳腺外科学分野教授 遠山 竜也 先生、吉本 信保 先生、ならびに対照群として乳癌検診受診者の参加に御協力を賜りました北海道対がん協会札幌がん検診センターセンター長 手林 明雄 先生、スタッフの皆様に厚く感謝の意を表します。

最後に、環境要因についてのアンケートの御回答および血液検体を御提供をいただきました研究参加者の皆様に、厚く感謝の意を表します。

9. 引用文献

- 1 Yamashita, H., Iwase, H., Toyama, T., Takahashi, S., Sugiura, H., Yoshimoto, N., Endo, Y., Fujii, Y. & Kobayashi, S. Estrogen receptor-positive breast cancer in Japanese women: trends in incidence, characteristics, and prognosis. *Annals of Oncology* **22**, 1318-1325 (2011).
- 2 Kurebayashi, J., Miyoshi, Y., Ishikawa, T., Saji, S., Sugie, T., Suzuki, T., Takahashi, S., Nozaki, M., Yamashita, H., Tokuda, Y. & Nakamura, S. Clinicopathological characteristics of breast cancer and trends in the management of breast cancer patients in Japan: Based on the Breast Cancer Registry of the Japanese Breast Cancer Society between 2004 and 2011. *Breast Cancer* **22**, 235-244 (2015).
- 3 Gail, M. H., Brinton, L. A., Byar, D. P., Corle, D. K., Green, S. B., Schairer, C. & Mulvihill, J. J. Projecting individualized probabilities of developing breast cancer for white females who are being examined annually. *Journal of the National Cancer Institute* **81**, 1879-1886 (1989).
- 4 Gail, M. H., Costantino, J. P., Pee, D., Bondy, M., Newman, L., Selvan, M., Anderson, G. L., Malone, K. E., Marchbanks, P. A., McCaskill-Stevens, W., Norman, S. A., Simon, M. S., Spirtas, R., Ursin, G. & Bernstein, L. Projecting individualized absolute invasive breast cancer risk in African American women. *Journal of the National Cancer Institute* **99**, 1782-1792 (2007).
- 5 Cuzick, J., Sestak, I., Forbes, J. F., Dowsett, M., Knox, J., Cawthorn, S., Saunders, C., Roche, N., Mansel, R. E., von Minckwitz, G., Bonanni, B., Palva, T., Howell, A. & investigators, I.-I. Anastrozole for prevention of breast cancer in high-risk postmenopausal women (IBIS-II): an international, double-blind, randomised placebo-controlled trial. *Lancet* **383**, 1041-1048 (2014).
- 6 Euhus, D. M. & Diaz, J. Breast cancer prevention. *Breast J* **21**, 76-81 (2015).
- 7 Cuzick, J., Sestak, I., Cawthorn, S., Hamed, H., Holli, K., Howell, A., Forbes, J. F. & Investigators, I.-I. Tamoxifen for prevention of breast cancer: extended long-term follow-up of the IBIS-I breast cancer prevention trial. *Lancet Oncology* **16**, 67-75 (2015).
- 8 Goss, P. E., Ingle, J. N., Ales-Martinez, J. E., Cheung, A. M., Chlebowski, R. T., Wactawski-Wende, J., McTiernan, A., Robbins, J., Johnson, K. C., Martin, L. W., Winqvist, E., Sarto, G. E., Garber, J. E., Fabian, C. J., Pujol, P., Maunsell, E., Farmer, P., Gelmon, K. A., Tu, D., Richardson, H. & Investigators, N. C. M. S. Exemestane for

- breast-cancer prevention in postmenopausal women. *New England Journal of Medicine* **364**, 2381-2391 (2011).
- 9 Taira, N., Arai, M., Ikeda, M., Iwasaki, M., Okamura, H., Takamatsu, K., Nomura, T., Yamamoto, S., Ito, Y. & Mukai, H. The Japanese Breast Cancer Society clinical practice guidelines for epidemiology and prevention of breast cancer, 2015 edition. *Breast Cancer* (2016).
 - 10 Han, W., Woo, J. H., Yu, J. H., Lee, M. J., Moon, H. G., Kang, D. & Noh, D. Y. Common genetic variants associated with breast cancer in Korean women and differential susceptibility according to intrinsic subtype. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* **20**, 793-798 (2011).
 - 11 Yoshimoto, N., Nishiyama, T., Toyama, T., Takahashi, S., Shiraki, N., Sugiura, H., Endo, Y., Iwasa, M., Fujii, Y. & Yamashita, H. Genetic and environmental predictors, endogenous hormones and growth factors, and risk of estrogen receptor-positive breast cancer in Japanese women. *Cancer Science* **102**, 2065-2072 (2011).
 - 12 Sueta, A., Ito, H., Kawase, T., Hirose, K., Hosono, S., Yatabe, Y., Tajima, K., Tanaka, H., Iwata, H., Iwase, H. & Matsuo, K. A genetic risk predictor for breast cancer using a combination of low-penetrance polymorphisms in a Japanese population. *Breast Cancer Research and Treatment* **132**, 711-721 (2012).
 - 13 Low, S. K., Takahashi, A., Ashikawa, K., Inazawa, J., Miki, Y., Kubo, M., Nakamura, Y. & Katagiri, T. Genome-wide association study of breast cancer in the Japanese population. *PloS One* **8**, e76463 (2013).
 - 14 Cai, Q., Wen, W., Qu, S., Li, G., Egan, K. M., Chen, K., Deming, S. L., Shen, H., Shen, C. Y., Gammon, M. D., Blot, W. J., Matsuo, K., Haiman, C. A., Khoo, U. S., Iwasaki, M., Santella, R. M., Zhang, L., Fair, A. M., Hu, Z., Wu, P. E., Signorello, L. B., Titus-Ernstoff, L., Tajima, K., Henderson, B. E., Chan, K. Y., Kasuga, Y., Newcomb, P. A., Zheng, H., Cui, Y., Wang, F., Shieh, Y. L., Iwata, H., Le Marchand, L., Chan, S. Y., Shrubsole, M. J., Trentham-Dietz, A., Tsugane, S., Garcia-Closas, M., Long, J., Li, C., Shi, J., Huang, B., Xiang, Y. B., Gao, Y. T., Lu, W., Shu, X. O. & Zheng, W. Replication and functional genomic analyses of the breast cancer susceptibility locus at 6q25.1 generalize its importance in women of chinese, Japanese, and European ancestry. *Cancer Research* **71**, 1344-1355 (2011).
 - 15 Garcia-Closas, M. *et al.* Heterogeneity of breast cancer associations with five susceptibility loci by clinical and pathological characteristics. *PLoS Genet* **4**, e1000054 (2008).
 - 16 Long, J., Cai, Q., Shu, X. O., Qu, S., Li, C., Zheng, Y., Gu, K., Wang, W., Xiang, Y. B.,

- Cheng, J., Chen, K., Zhang, L., Zheng, H., Shen, C. Y., Huang, C. S., Hou, M. F., Shen, H., Hu, Z., Wang, F., Deming, S. L., Kelley, M. C., Shrubsole, M. J., Khoo, U. S., Chan, K. Y., Chan, S. Y., Haiman, C. A., Henderson, B. E., Le Marchand, L., Iwasaki, M., Kasuga, Y., Tsugane, S., Matsuo, K., Tajima, K., Iwata, H., Huang, B., Shi, J., Li, G., Wen, W., Gao, Y. T., Lu, W. & Zheng, W. Identification of a functional genetic variant at 16q12.1 for breast cancer risk: results from the Asia Breast Cancer Consortium. *PLoS Genet* **6**, e1001002 (2010).
- 17 Yoshimoto, N., Yamashita, H., Takahashi, S., Iwasa, M., Fujii, Y. & Toyama, T. Genetic polymorphism of estrogen metabolizing enzyme CYP17A1 rs743572 impacts on serum testosterone level in Japanese premenopausal women. San Antonio Breast Cancer Symposium (2013).
 - 18 Liu, M., Ingle, J. N., Fridley, B. L., Buzdar, A. U., Robson, M. E., Kubo, M., Wang, L., Batzler, A., Jenkins, G. D., Pietrzak, T. L., Carlson, E. E., Goetz, M. P., Northfelt, D. W., Perez, E. A., Williard, C. V., Schaid, D. J., Nakamura, Y. & Weinshilboum, R. M. TSPYL5 SNPs: association with plasma estradiol concentrations and aromatase expression. *Molecular Endocrinology* **27**, 657-670 (2013).
 - 19 Anderson, W. F., Jatoi, I. & Sherman, M. E. Qualitative age interactions in breast cancer studies: mind the gap. *Journal of Clinical Oncology* **27**, 5308-5311 (2009).
 - 20 Travis, R. C., Reeves, G. K., Green, J., Bull, D., Tipper, S. J., Baker, K., Beral, V., Peto, R., Bell, J., Zelenika, D., Lathrop, M. & Million Women Study, C. Gene-environment interactions in 7610 women with breast cancer: prospective evidence from the Million Women Study. *Lancet* **375**, 2143-2151 (2010).
 - 21 Machiela, M. J., Chen, C. Y., Chen, C., Chanock, S. J., Hunter, D. J. & Kraft, P. Evaluation of polygenic risk scores for predicting breast and prostate cancer risk. *Genetic Epidemiology* **35**, 506-514 (2011).
 - 22 Easton, D. F. *et al.* Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci. *Nature* **447**, 1087-1093 (2007).
 - 23 Zheng, W. *et al.* Common genetic determinants of breast-cancer risk in East Asian women: a collaborative study of 23 637 breast cancer cases and 25 579 controls. *Human Molecular Genetics* **22**, 2539-2550 (2013).
 - 24 Mavaddat, N. *et al.* Prediction of breast cancer risk based on profiling with common genetic variants. *Journal of the National Cancer Institute* **107**, (2015).
 - 25 Dite, G. S., MacInnis, R. J., Bickerstaffe, A., Dowty, J. G., Allman, R., Apicella, C., Milne, R. L., Tsimiklis, H., Phillips, K. A., Giles, G. G., Terry, M. B., Southey, M. C. & Hopper, J. L. Breast Cancer Risk Prediction Using Clinical Models and 77 Independent

- Risk-Associated SNPs for Women Aged Under 50 Years: Australian Breast Cancer Family Registry. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* **25**, 359-365 (2016).
- 26 Wiseman, M. The second World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research expert report. Food, nutrition, physical activity, and the prevention of cancer: a global perspective. *Proceedings of the Nutrition Society* **67**, 253-256 (2008).
 - 27 Kobayashi, S., Sugiura, H., Ando, Y., Shiraki, N., Yanagi, T., Yamashita, H. & Toyama, T. Reproductive history and breast cancer risk. *Breast Cancer* **19**, 302-308 (2012).
 - 28 Eden, J. A. Breast cancer, stem cells and sex hormones. Part 2: the impact of the reproductive years and pregnancy. *Maturitas* **67**, 215-218 (2010).
 - 29 Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast, C. Breast cancer and breastfeeding: collaborative reanalysis of individual data from 47 epidemiological studies in 30 countries, including 50302 women with breast cancer and 96973 women without the disease. *Lancet* **360**, 187-195 (2002).
 - 30 Nagata, C., Mizoue, T., Tanaka, K., Tsuji, I., Tamakoshi, A., Wakai, K., Matsuo, K., Ito, H., Sasazuki, S., Inoue, M., Tsugane, S., Research Group for the, D. & Evaluation of Cancer Prevention Strategies in, J. Breastfeeding and breast cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiologic evidence among the Japanese population. *Japanese Journal of Clinical Oncology* **42**, 124-130 (2012).
 - 31 Dyrstad, S. W., Yan, Y., Fowler, A. M. & Colditz, G. A. Breast cancer risk associated with benign breast disease: systematic review and meta-analysis. *Breast Cancer Research and Treatment* **149**, 569-575 (2015).
 - 32 Pharoah, P. D., Day, N. E., Duffy, S., Easton, D. F. & Ponder, B. A. Family history and the risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *International Journal of Cancer* **71**, 800-809 (1997).
 - 33 Nelson, E. R., Wardell, S. E., Jasper, J. S., Park, S., Suchindran, S., Howe, M. K., Carver, N. J., Pillai, R. V., Sullivan, P. M., Sondhi, V., Umetani, M., Geradts, J. & McDonnell, D. P. 27-Hydroxycholesterol links hypercholesterolemia and breast cancer pathophysiology. *Science* **342**, 1094-1098 (2013).
 - 34 Bhandari, R., Kelley, G. A., Hartley, T. A. & Rockett, I. R. Metabolic syndrome is associated with increased breast cancer risk: a systematic review with meta-analysis. *International Journal of Breast Cancer* **2014**, 189384 (2014).
 - 35 Sasazuki, S., Charvat, H., Hara, A., Wakai, K., Nagata, C., Nakamura, K., Tsuji, I., Sugawara, Y., Tamakoshi, A., Matsuo, K., Oze, I., Mizoue, T., Tanaka, K., Inoue, M., Tsugane, S., Research Group for the, D. & Evaluation of Cancer Prevention Strategies

- in, J. Diabetes mellitus and cancer risk: pooled analysis of eight cohort studies in Japan. *Cancer Science* **104**, 1499-1507 (2013).
- 36 Nagata, C., Mizoue, T., Tanaka, K., Tsuji, I., Wakai, K., Inoue, M., Tsugane, S., Research Group for the, D. & Evaluation of Cancer Prevention Strategies in, J. Tobacco smoking and breast cancer risk: an evaluation based on a systematic review of epidemiological evidence among the Japanese population. *Japanese Journal of Clinical Oncology* **36**, 387-394 (2006).
- 37 World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research. Food, Nutrition, Physical Activity, and the Prevention of Cancer: a Global Perspective. Washington DC: AICR (2007).
- 38 Hankinson, S. E. Endogenous hormones and risk of breast cancer in postmenopausal women. *Breast Disease* **24**, 3-15 (2005).
- 39 Eliassen, A. H., Missmer, S. A., Tworoger, S. S., Spiegelman, D., Barbieri, R. L., Dowsett, M. & Hankinson, S. E. Endogenous steroid hormone concentrations and risk of breast cancer among premenopausal women. *Journal of the National Cancer Institute* **98**, 1406-1415 (2006).
- 40 Kawase, T., Matsuo, K., Suzuki, T., Hirose, K., Hosono, S., Watanabe, M., Inagaki, M., Iwata, H., Tanaka, H. & Tajima, K. Association between vitamin D and calcium intake and breast cancer risk according to menopausal status and receptor status in Japan. *Cancer Science* **101**, 1234-1240 (2010).
- 41 Wang, D., Velez de-la-Paz, O. I., Zhai, J. X. & Liu, D. W. Serum 25-hydroxyvitamin D and breast cancer risk: a meta-analysis of prospective studies. *Tumour Biology* **34**, 3509-3517 (2013).
- 42 Kim, Y. & Je, Y. Vitamin D intake, blood 25(OH)D levels, and breast cancer risk or mortality: a meta-analysis. *British Journal of Cancer* **110**, 2772-2784 (2014).
- 43 Feldman, D., Krishnan, A. V., Swami, S., Giovannucci, E. & Feldman, B. J. The role of vitamin D in reducing cancer risk and progression. *Nature Reviews: Cancer* **14**, 342-357 (2014).
- 44 Matthews, D., LaPorta, E., Zinser, G. M., Narvaez, C. J. & Welsh, J. Genomic vitamin D signaling in breast cancer: Insights from animal models and human cells. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* **121**, 362-367 (2010).
- 45 Goodwin, P. J., Ennis, M., Pritchard, K. I., Koo, J. & Hood, N. Prognostic effects of 25-hydroxyvitamin D levels in early breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* **27**, 3757-3763 (2009).
- 46 Long, J., Shu, X. O., Cai, Q., Gao, Y. T., Zheng, Y., Li, G., Li, C., Gu, K., Wen, W.,

- Xiang, Y. B., Lu, W. & Zheng, W. Evaluation of breast cancer susceptibility loci in Chinese women. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* **19**, 2357-2365 (2010).
- 47 Tanaka, K., Terao, J., Shidoji, Y., Tamai, H., Imai, E. & Okano, T. Dietary Reference Intakes for Japanese 2010: Fat-Soluble Vitamins (vol 59, pg S57, 2013). *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* **59**, 159-159 (2013).
- 48 Holick, M. F., Binkley, N. C., Bischoff-Ferrari, H. A., Gordon, C. M., Hanley, D. A., Heaney, R. P., Murad, M. H., Weaver, C. M. & Endocrine, S. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **96**, 1911-1930 (2011).
- 49 Nakamura, K., Tsugawa, N., Saito, T., Ishikawa, M., Tsuchiya, Y., Hyodo, K., Maruyama, K., Oshiki, R., Kobayashi, R., Nashimoto, M., Yoshihara, A., Ozaki, R., Okano, T. & Yamamoto, M. Vitamin D status, bone mass, and bone metabolism in home-dwelling postmenopausal Japanese women: Yokogoshi Study. *Bone* **42**, 271-277 (2008).
- 50 Tworoger, S. S., Zhang, X., Eliassen, A. H., Qian, J., Colditz, G. A., Willett, W. C., Rosner, B. A., Kraft, P. & Hankinson, S. E. Inclusion of endogenous hormone levels in risk prediction models of postmenopausal breast cancer. *Journal of Clinical Oncology* **32**, 3111-3117 (2014).
- 51 Stacey, S. N. *et al.* Common variants on chromosomes 2q35 and 16q12 confer susceptibility to estrogen receptor-positive breast cancer. *Nature Genetics* **39**, 865-869 (2007).
- 52 Han, C. C., Yue, L. L., Yang, Y., Jian, B. Y., Ma, L. W. & Liu, J. C. TOX3 protein expression is correlated with pathological characteristics in breast cancer. *Oncology Letters* **11**, 1762-1768 (2016).
- 53 Seksenyan, A., Kadavallore, A., Walts, A. E., de la Torre, B., Berel, D., Strom, S. P., Aliahmad, P., Funari, V. A. & Kaye, J. TOX3 is expressed in mammary ER(+) epithelial cells and regulates ER target genes in luminal breast cancer. *BMC Cancer* **15**, 22 (2015).
- 54 Zheng, W., Long, J., Gao, Y. T., Li, C., Zheng, Y., Xiang, Y. B., Wen, W., Levy, S., Deming, S. L., Haines, J. L., Gu, K., Fair, A. M., Cai, Q., Lu, W. & Shu, X. O. Genome-wide association study identifies a new breast cancer susceptibility locus at 6q25.1. *Nature Genetics* **41**, 324-328 (2009).
- 55 McInerney, N., Collieran, G., Rowan, A., Walther, A., Barclay, E., Spain, S., Jones, A. M., Tuohy, S., Curran, C., Miller, N., Kerin, M., Tomlinson, I. & Sawyer, E. Low

penetrance breast cancer predisposition SNPs are site specific. *Breast Cancer Research and Treatment* **117**, 151-159 (2009).

- 56 Ahmed, S. *et al.* Newly discovered breast cancer susceptibility loci on 3p24 and 17q23.2. *Nature Genetics* **41**, 585-590 (2009).