

原著論文

多段階クローン増殖モデルと乳がん：モデル推定と 日本人女性の出生コホートとの比較

渡辺 雅彦^{1,2)}*, 阿蘇 寛明¹⁾, 吉川 弥里¹⁾, 末丸 克矢^{1,2)}

¹⁾ 就実大学薬学部公衆衛生学教室, ²⁾ 就実大学大学院医療薬学研究科

A multistage clonal expansion model and breast cancer: comparison of the model-based estimation with the birth cohorts of Japanese women

Masahiko Watanabe^{1,2)}*, Hiroaki Aso¹⁾, Misato Yoshikawa¹⁾, Katsuya Suemaru^{1,2)}

¹⁾ *Department of Public Health, School of Pharmacy, Shujitsu University*

²⁾ *Graduate School of Clinical Pharmacy, Shujitsu University*

(Received 17 October 2018; accepted 28 November 2018)

Abstract: Breast cancer incidence risk rapidly increases from a relatively young ages and is considerably high level before menopause; however, the increase in the risk is apparently low after menopause. This phenomenon has been explained by the 2-stage clonal expansion model, which takes into account both clonal expansion ("promotion") of the initiated cells and malignant transformation processes, in addition to the "initiation" process. Currently, a multistage clonal expansion model such as that involving three stages has been proposed and applied to evaluate the incidence of several cancers. In this study, 2- and 3-stage clonal expansion models were used to predict the incidence and the mortality of birth cohorts of Japanese women. The two-stage model roughly expressed the age-dependent change in the cancer risks of the cohorts; however, it hardly explained age-dependent re-occurrence of higher risks in the elderly, as has been observed in the recent birth cohorts. When the 3-stage model with higher expansion rate was adopted, the model fitted better to the actual risks including the re-acceleration. In addition, the model was consistent with the somatic mutation prevalence in breast cancers. Validity and perspective of the models were also discussed.

Keywords: breast cancer, multistage, clonal expansion, mutation, malignant transformation.

緒言

がんは細胞増殖や浸潤と転移などに関わる多くの形質異常を獲得することによって生じる¹⁾.

がんの発生頻度を数学的に表した古典的多段階発がんモデルが Armitage-Doll multistage model である²⁾. 本モデルは、k 段階発がんにより、年齢

別がん発生頻度が年齢の $k-1$ 乗に比例することをあらわしており、6段階程度の発がん過程を想定すると多くのがんの発生頻度をよく近似する。一方、がんの多くは前がん病変に伴う細胞増殖後の更なる悪性形質獲得によってがん化することが知られているため、発がん段階の中間過程にある、いわゆるイニシエーション細胞の増殖を考慮したクローン増殖モデル (MVK model) も昔から提案されている^{3,4)}。

乳がんは他の多くのがんと異なり、比較的若年のうちに発症数が増加する一方、閉経後はその増加が緩やかになる特徴的な傾向がある。これはホルモンの影響により、閉経後乳腺細胞の増殖率が下がることが主な原因であるため、前述のクローン増殖モデルにおいて、年齢による細胞増殖率の変化を含めることで、この現象を近似する試みがなされている⁵⁾。MVK モデルは当初イニシエーション、プロモーション後のトランスフォーメーションによる2段階モデルとして提案され、乳がんへの適用も2段階モデルで行われているが、わずか1段階の遺伝子変異等で細胞増殖が起こり、2段階で悪性形質転換が起こることに対する疑問や、実際の突然変異率と発がん率の不一致、実際の発がんリスクとモデルによる値の違いなどから、2段階を超える多段階クローン増殖モデルが提案され、多くのがんのリスク説明に用いられている⁶⁻⁹⁾。

本研究では、2段階クローン増殖モデルに加え、多くのがん発生頻度をよく近似する3段階クローン増殖モデルを用いて、日本人女性の乳がん年

齢別罹患率と死亡率の説明を試み、さらに近年明らかにされているがん組織の体細胞変異率等との比較を行い考察した。

方法

乳がんの罹患率および死亡率は、地域がん登録全国推計によるがん罹患データ¹⁰⁾と人口動態統計によるがん死亡データ¹¹⁾を用い、連続する5年間の出生年別コホートをまとめ、これを10年の出生年ごとに作成して得られた各コホートにおける、1年あたりの乳がん発生率および死亡率 (罹患率 incidence・死亡率 mortality) を、5歳区分で推定して得た (解析追補)。なお、データが不完全な場合は、該当する5歳区分の罹患率・死亡率を当該コホートの中央出生年を基準に直接集計して推定した。

3段階クローン増殖モデルを図1に示す。本モデルにおいて、 μ_0, μ_1, μ_2 は発がん過程における1, 2, 3段階目への年あたり進展率、 α は年あたり細胞増殖率、 β は年あたりの細胞死または分化率を表す。2段階モデルの場合は、 μ_0 がないモデルとなる。なお、進展率は基本的には driver 変異に基づくものと解釈されるが、epigenetic な変化など、発がん過程の進行に寄与する変化であれば、突然変異に限らない。また、発がんに必要な形質は一般に3つより多いと考えられているため、このモデルにおいては、モデル上で最終段階に到達した形質転換細胞は、さらに他の形質を獲得して最終的な臨床がんになることになる。

6カ所の国または都市の乳がん罹患率を2段階

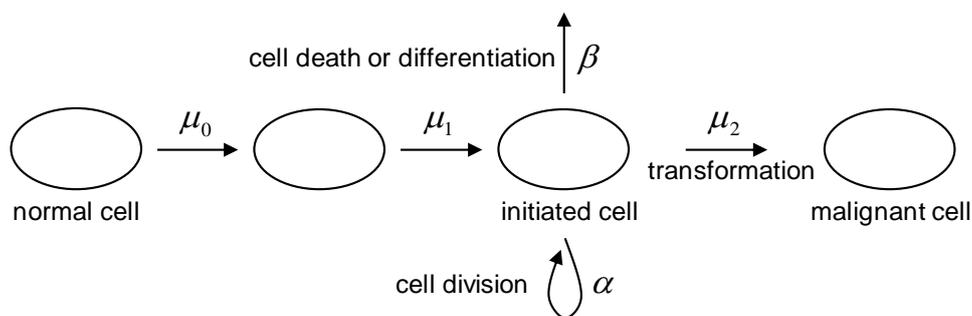


図1. Multistage clonal expansion (3-stage) model.

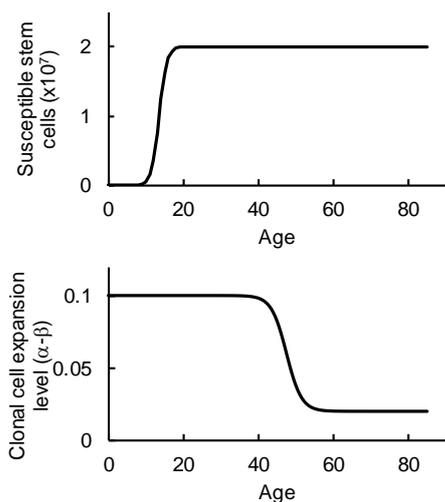


図2. 発がん可能性を有する幹細胞数と前がん細胞の増殖レベルの、年齢による変化. 幹細胞数は初経前後に 10 から 2×10^7 に増加し、前がん細胞の増殖パラメーター ($\alpha-\beta$) は閉経からその5年前を中心にして、 0.1 から 0.02 に低下している.

モデルで説明した文献⁵⁾では、発がん可能性を有する幹細胞数の変化は、初経年齢の age 15 を変曲点とする増加率 $0.797 \sim 0.913$ のロジスティック曲線に従い 10 から 2×10^7 に増加し、中間段階の前がん細胞の増殖に関わるパラメーター ($\alpha-\beta$) は、閉経年齢の5年前の age 42.5 から閉経時の5年間で $0.091 \sim 0.103$ から $0.014 \sim 0.034$ に変化するとしている. なお $\mu_1 \mu_2 = 5 \times 10^{-14}$ である. これらのパラメーターを参考に、日本人に2段階モデルを適用するために、以下のとおり改変した. 初経年齢は age 13.5¹²⁾, 幹細胞数増加率は、罹患率・死亡率データを用いた近似を行わずに設定するため初経年齢が低下していることをあわせて考慮して1に固定した. 閉経年齢は age 50¹³⁾, 細胞増殖に関わるパラメーターは、各個人においては閉経前の5年間で低下すると仮定しても、閉経年齢には個人差があることを考慮し、より緩やかな増加率 0.5 の逆ロジスティック曲線に従い 0.1 から 0.02 への変化を基本とした. 年齢依存的幹細胞増加曲線と増殖能低下曲線を図2に示す. 中間段階の前がん細胞が発がん過程から排除されずに残存する確率 (probability of nonextinction, $1-\beta/\alpha$) も、これまでの解析報告を参考に 0.2 と仮定した. 発がん過程における第1, 第2段階への

進展率 μ_1, μ_2 は、今回モデルとの比較を行った出生期別コホートのうち、若年から老齢までのデータが概ねそろっており、かつ現在の年齢別の変化をある程度反映している1935年~1939年(高齢者は1925~29年も参考)出生コホートの罹患率・死亡率を解析結果が反映するように、実データに合わせて改変し、 $\mu_1 \mu_2 = 1.2 \times 10^{-13}$ とした. ここで、第1段階と第2段階への進展に必要な driver 変異は、異なる性質を付与する一連のがん関連遺伝子のいずれかであり、標的部位数は同じ、突然変異は報告されているモデルに従い細胞分裂回数ではなく時間に依存すると仮定すると、 $\mu_1 = \mu_2 = 3.464 \times 10^{-7}$ となる. ここではこの仮定に沿って解析したが、今回の条件下では、発がん過程における第1, 第2段階への進展率 μ_1, μ_2 はどちらも発がん頻度にほぼ直線的に影響するため、 $\mu_1 \mu_2 = 1.2 \times 10^{-13}$ であれば μ_1 と μ_2 の値が異なっても解析結果はほぼ同じである. なお、突然変異は細胞分裂過程におけるDNA複製に伴って発生することがあり、塩基あたりの突然変異率も報告されているが、個体においては、正常細胞における突然変異の蓄積は、細胞分裂速度が異なってもおおむね年齢に比例して上昇することが報告されている^{14,15)}. さらに、がん組織であっても、年齢に比例して経時的に蓄積する変異が多くのがん組織で認められている¹⁶⁾ため、時間経過の影響を主と考え、今回のモデルにおいては進展率を経過時間あたりとした.

3段階モデルにおいても、 $\alpha-\beta$ および μ 以外は2段階モデルと同一とした. 3段階クローン増殖モデルの場合、1段階目と2段階目の driver 変異の順番は関係ないため、2段階モデルと同じ仮定によれば $1/2 \times \mu_0 = \mu_1 = \mu_2$ となる.

罹患率として診断・同定される時期は一般に形質転換時期より後となるが、今回は特に考慮しなかった. 一方、地域がん登録によるがん生存率データ^{17,18)}によると、1993-1996年・2003-2005年診断例の5年相対生存率は $84.4\% \cdot 89.1\%$, 1993-2006年診断例の10年相対生存率は 79.3% である. こ

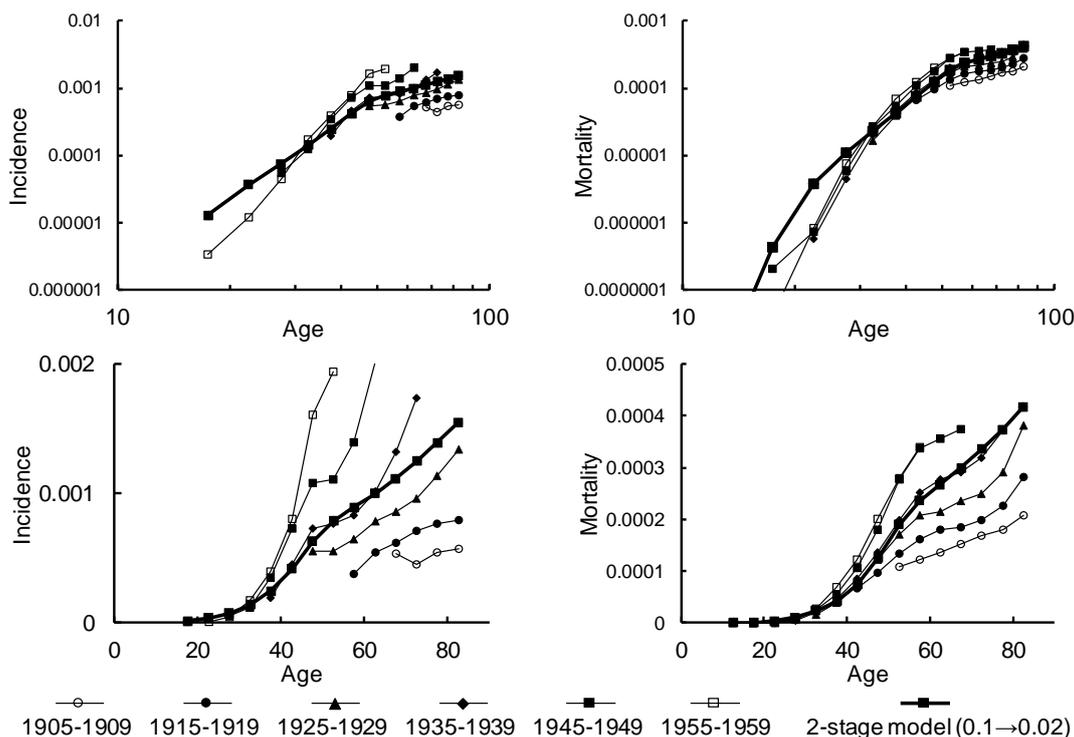


図 3. 出生期別コホートの年齢別乳がん罹患率・死亡率に、2段階クローン増殖モデルで推定した罹患率・死亡率を重ねて表示した図. 上下とも左の図が罹患率, 右の図が死亡率である. 罹患率・死亡率とも上の図は対数グラフである. 1905-1909 は 1905 年～1909 年の出生コホートの年齢別罹患率・死亡率を示しており, 以下 1955-1959 まで同様である. モデルにおいて, 幹細胞数と増殖に関わるパラメーターの推移は図 2 に示したとおりであり, 0.1→0.02 は閉経前の $\alpha-\beta$ が 0.1, 閉経後の $\alpha-\beta$ が 0.02 であることを意味する. $\mu_1\mu_2=1.2\times 10^{-13}$ ($\mu_1=\mu_2=3.464\times 10^{-7}$) である.

これからこの時期に診断された罹患者の最終的な生存率および診断から死亡までの平均期間を約 75% および 5 年, 1990 年以前の生存率を 70% またはそれ以下と推察し, 解析を単純化するため致命率 case fatality rate を 30%, その場合の生存期間を, 個体差を考慮せず一律に 5 年とした. なお, 初経前の細胞増殖に関わるパラメーターと, 閉経後の幹細胞数については, 解析結果への影響が少ないために一定とした. モデル推定値は, 複雑な計算を伴う厳密式の解を求めず, 前がん細胞の発生数, 細胞増殖による各クローンの細胞数および形質転換の確率を, 1 年間隔の数値計算で求め, これを年齢まで積算して求めた (解析追補).

結果・考察

出生期別コホートの年齢別乳がん罹患率・死亡率と, 2段階クローン増殖モデルで推定した罹患率・死亡率を図 3 に示した. 出生期別コホートの

変化からわかるとおり, 各年代とも世代が進むとともに罹患率は急速に上昇しており, 死亡率も上昇しているが, 1945 年～1949 年出生コホートと, 1955 年～1959 年出生コホートについては, 45 歳までの罹患率と, 全年齢 (55～59 歳まで) の死亡率は大きな差がなく, 上昇傾向が弱まった可能性がある. この 2 つの出生コホートにおいて, 45 歳以上の罹患率にはなお大きな差が見られるが, このこと, すなわち罹患率と比較して相対的に死亡率が上昇していないことは, 他の出生コホート・年齢でも共通の現象であり, その理由は, 診断技術や検診率の向上に伴う早期発見に基づく見掛けの罹患年齢の低下や診断数の増加, 治療成績の向上に伴う死亡率の低下が寄与しているものと思われる. 一方, 出生が後になるほど罹患・死亡率は高いものの, 加齢に伴う罹患・死亡率の変化傾向は各年代とも大体共通しており, 閉経期まで急速に上昇した後, いったんその上昇が緩やかに

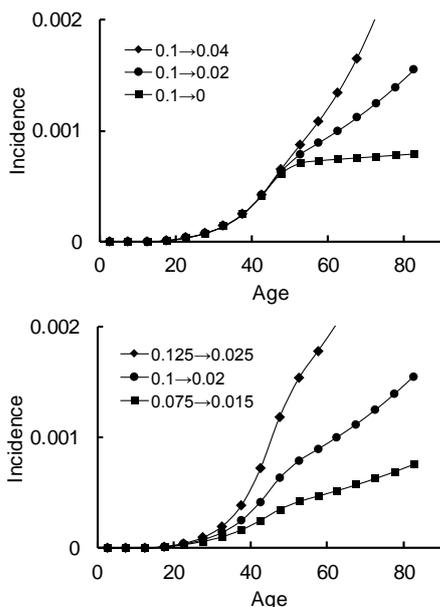


図 4. 2 段階モデルにおける，増殖率の変化と罹患率との関係．図内に示してある 0.1→0.02 などの数字は全て閉経前と閉経後の $\alpha-\beta$ を示す． $\mu_1\mu_2=1.2\times 10^{-13}$ ($\mu_1=\mu_2=3.464\times 10^{-7}$) ．

なり，その後，特に出生年代が新しくなるにつれて，高齢期に再度上昇していく傾向が強くなっている．今回設定した条件における 2 段階モデルで罹患率・死亡率を推定したところ，閉経期までの急上昇とその後の緩やかな上昇を大まかには再現していた．これは，すでに報告されている結果と同様である．しかし，より新しい世代に顕著に見られる，閉経後一度上昇が抑えられ，加齢とともに再度上昇している結果は再現されていなかった．方法に記述したとおり，今回設定した条件における 2 段階モデルでは，罹患・死亡率にほぼ比例する次段階への進展率について， $\mu_1\mu_2=1.2\times 10^{-13}$ を，以前報告されている $\mu_1\mu_2=5\times 10^{-14}$ に変更すると，加齢に伴う急激な上昇のない 1905 年～1909 年出生コホートの罹患率・死亡率に，年齢別の形状，絶対率ともおおむね一致する（図略）．すなわち，以前報告されている 2 段階モデル解析では，日本人においても当時解析された 1900 年前後の出生コホートではよい一致が見られるものの，近年の傾向には合わないことがわかる．

細胞増殖に関わるパラメーターを変化させた場合の推定罹患率を図 4 に示した．閉経前後に関

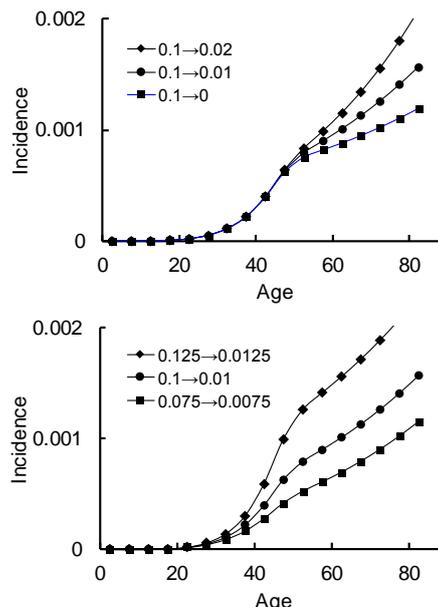


図 5. 3 段階モデルにおける，増殖率の変化と罹患率との関係．図の構成は図 4 と同様である． $1/2\times\mu_0=\mu_1=\mu_2=1.9\times 10^{-5}$ ．

わらず増殖能を一律に変化させると，それに応じて全年齢の罹患率が大きく変化し，閉経後に限定して変化させると，閉経後の罹患率が変化することがわかるが，閉経直後と高齢期の傾向について本質的な変化はないため，2 段階モデルでは近年の傾向は再現できない．そこで 3 段階モデルを用いて同様に解析を行った．

進展率のみを変更し，他のパラメーターを同一とした場合，閉経後も急速に罹患率が増加していた（図 5）．これは，3 段階を想定するために，2 段階と比較して進展率 μ が大幅に高く想定されたことにより，3 段階への形質転換率が高くなったためである．これは，閉経後の細胞増殖速度を低く見積もることにより解消されるが，年齢と罹患率の関係は 2 段階モデルと同様であり，近年の傾向は再現できないことが予想された．

乳がんの場合は，細胞増殖が促進されている期間は，生涯にわたる他の多くのがんと異なり，閉経までと限られているため，より短期間で前がん細胞の増殖が促進されると考えることにより，大腸がん・膀胱がんにおける 3,4 段階モデル⁸⁾と同様，若年期に発生した前がん細胞集団は高齢期にかけて全て発がんすることになる（図 6）．この考え

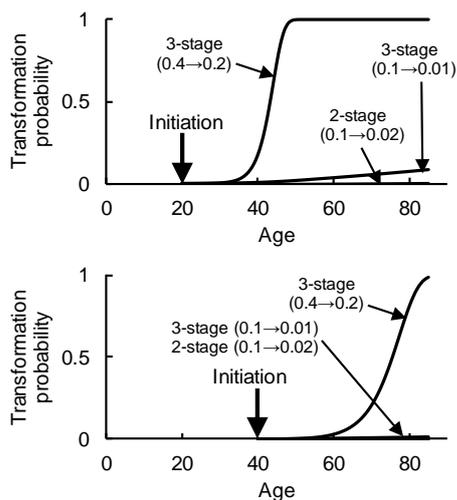


図 6. 各モデルにおける前がん細胞の形質転換率. 上図は 20 歳時に生じた前がん細胞, 下図は 40 歳時に生じた前がん細胞を示す. 増殖速度を早く仮定すると, 前がん細胞はいずれ全て形質転換することになる.

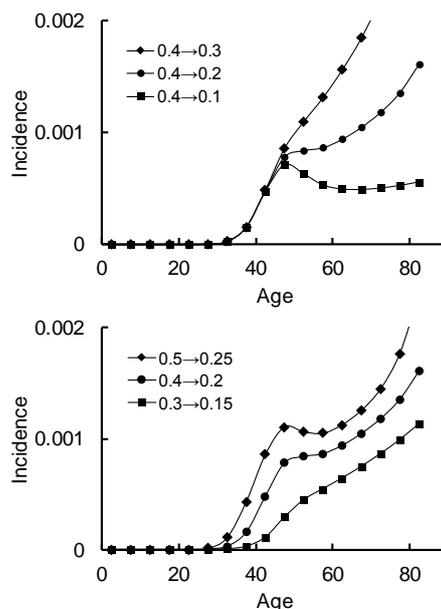


図 7. 増殖率を高く仮定した 3 段階モデルにおける, 増殖率の変化と罹患率との関係. 図の構成は図 4.5 と同様である. $1/2 \times \mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = 3.4 \times 10^{-6}$.

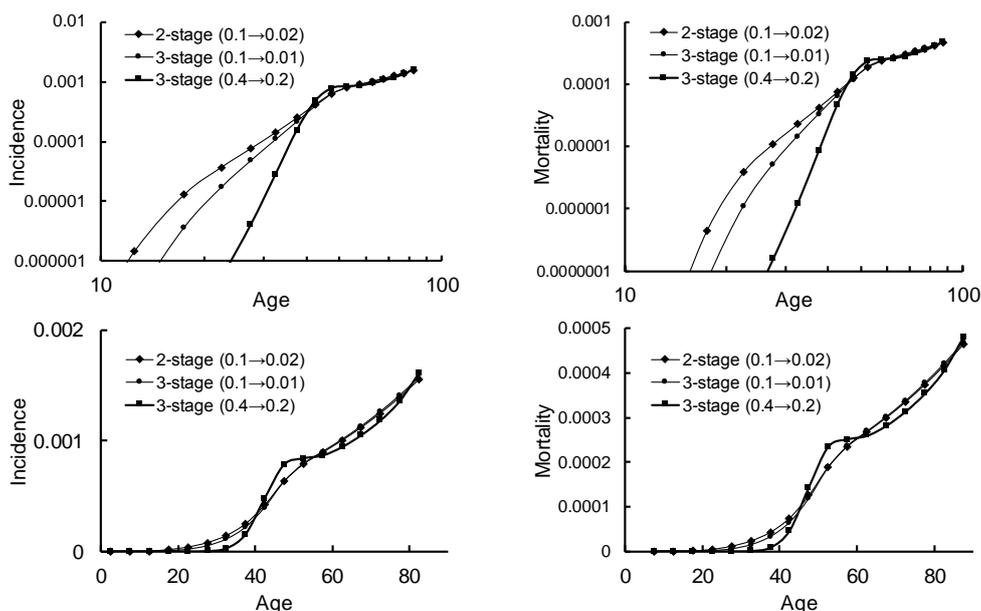


図 8. 2 段階モデル・3 段階モデル・増殖率を高く仮定した 3 段階モデルにおける年齢別乳がん罹患率 (左)・死亡率 (右). 罹患率・死亡率とも上の図は対数グラフである. $\mu, \alpha-\beta$ 以外は 3 モデルとも同一である. $\alpha-\beta$ は図内に示した. 例えば 2 段階モデルにおける 0.1→0.02 は閉経前の $\alpha-\beta$ が 0.1, 閉経後の $\alpha-\beta$ が 0.02 であることを意味する. 2 段階モデルにおいて, $\mu_1 \mu_2 = 1.2 \times 10^{-13}$ ($\mu_1 = \mu_2 = 3.464 \times 10^{-7}$) である. 閉経前の増殖率を 2 段階モデルと合わせた 3 段階モデルにおいては, $1/2 \times \mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = 1.9 \times 10^{-5}$, 増殖率を高く仮定した 3 段階モデルでは, $1/2 \times \mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = 3.4 \times 10^{-6}$ である.

に基づき閉経前の $(\alpha-\beta)$ を 0.4 と仮定すると, 閉経後の罹患率・死亡率の上昇抑制と, 高齢者の再上昇がよく再現できる (図 7). また, $\alpha-\beta$ は罹患・死亡率の加齢による相対的な推移に大きな影

響を与えることもわかる.

これまでのモデルにおける罹患率・死亡率の年齢別変化を図 8 に示した. また, 前がん細胞の増殖の速い 3 段階モデルで推定した罹患率・死亡率

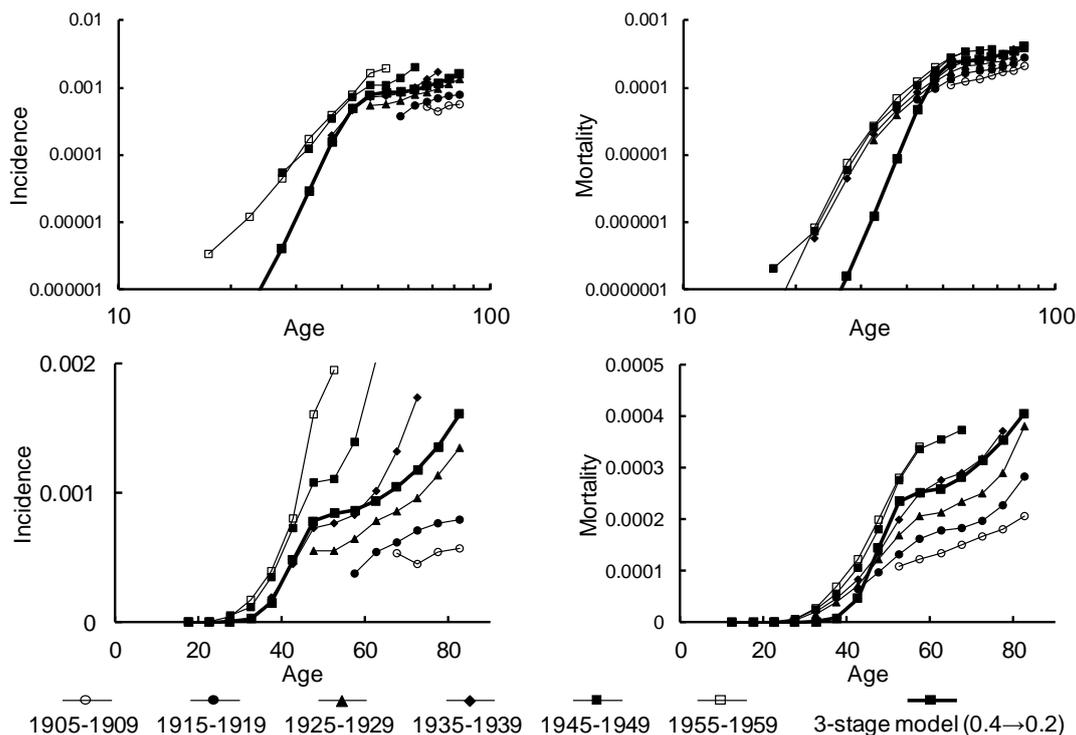


図9. 出生期別コホートの年齢別乳がん罹患率・死亡率に、増殖率を高く仮定した3段階クローン増殖モデルで推定した罹患率・死亡率を重ねて表示した図。上下とも左の図が罹患率、右の図が死亡率である。罹患率・死亡率とも上の図は対数グラフである。1905-1909は1905年～1909年の出生コホートの年齢別罹患率・死亡率を示しており、以下1955-1959まで同様である。0.4→0.2は閉経前の $\alpha-\beta$ が0.4、閉経後の $\alpha-\beta$ が0.2であることを意味する。 $1/2 \times \mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = 3.4 \times 10^{-6}$ である。

を、出生期別コホートの結果と重ね、図9に示した。2段階モデルと、閉経前の増殖を2段階と同程度とした3段階モデルは、加齢に従いほぼ同様の経過を示したが、増殖を早く想定すると、上述のとおり閉経後の上昇抑制と高齢者の再上昇が明らかである。また、出生期別コホートとの比較においても、2段階モデル(図3)より加齢に伴う相対的な変化をよく再現している。しかし若年期については実際より大幅に低い罹患・死亡率を推定していた。

クローン増殖モデルは、前がん細胞の細胞増殖と悪性形質転換過程を想定したモデルであり、実際の発がん機構を基本的には説明しているが、前がん細胞に至る過程に必要な段階数またはdriver変異数や、細胞増殖速度など、現実には明確になっていない点も多い。さらに、遺伝的不安定性や腫瘍微小環境などさまざまな要因を考慮した発がんモデルが提案される一方、個体差など宿主要

因からのアプローチもなされているが¹⁹⁻²⁴⁾、多岐にわたる発がん過程を統合的にモデル化して計算するには高度な数的取り扱いを必要とするうえ、各種パラメーターの推定に困難が伴うため、満足のいくモデルは現時点でも構築されていない。ここではまず、近年明らかになってきたがん組織および幹細胞の体細胞変異率^{15,25)}との比較を行い、モデルの妥当性について検討した(解析追補)。2段階モデル($\mu_1 = \mu_2 = 3.464 \times 10^{-7}$)に概算推定した表現型と突然変異の関係を当てはめると、仮に50歳のがんの場合、 $50 \times 3.464 \times 10^{-7} \times 1/120 = 1.4 \times 10^{-7}$ となった。これは、 1×10^{-6} 程度と報告されている乳がん組織の体細胞変異率より低く、50歳時点でヒト正常幹細胞に蓄積している体細胞変異率 $3 \sim 4 \times 10^{-7}$ と比較しても低い。このことは、2段階発がん、あるいは1段階で増殖能を獲得した前がん段階と考えるのは、段階数として少なすぎることを示唆している。一方、増

殖能を2段階と同じと仮定した3段階モデルでは、進展率を $1/2 \times \mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = 1.9 \times 10^{-5}$ とするとほぼ同じ罹患・死亡率となる(図8)。この場合の変異率は 7.9×10^{-6} となり、今度は報告されている値より大幅に高い。増殖率を高く仮定した場合は $1/2 \times \mu_0 = \mu_1 = \mu_2 = 3.4 \times 10^{-6}$ と想定しているため、同様に変異率を推定すると 1.4×10^{-6} となり、実際のがん組織の変異率にかなり近い値となり、観察されるがん組織の体細胞変異率と矛盾しない結果になった。

乳がんのリスク要因として、初経および閉経年齢、妊娠・出産の有無などに加えて、ホルモン補充療法が知られている²⁶⁻²⁹⁾。モデル解析においても、閉経後の細胞増殖レベルを高くとることにより、発がんリスクが高まることが示されている(図4.5,7上)。一方、ホルモン補充療法を中止すると、比較的短期間のうちに発がんリスクが低下するが、モデル解析においては、増殖率を高く仮定した3段階モデルのみこの現象が再現され(解析追補)、この点からも増殖率の高い3段階モデルの妥当性が示された。肥満による閉経後の高リスクも、アロマターゼを介した細胞増殖作用で同様に説明できる。また、初経・閉経年齢を変えることによってもリスク変化が再現された。しかし、出生年次の早いコホートのリスクが低いことについては、生活習慣の変化を含むいくつかの要因が指摘されているが、モデルのパラメーターとの関係は初経・閉経年齢以外はっきりしない。このことを含め、解析の仮定条件には多くの不確実性があり、また、実際に生じている発がん機構を明らかにしない限り、このモデルによるリスク推定はあくまで推測の域にとどまることは明らかである。なお、乳がんにおける体細胞変異率は、他の臓器のがんと比較しても比較的広範囲に分布しており、特に 2×10^{-6} 以上の変異を有する乳がんの多くは、*BRCA1/2* の変異に基づき、高い変異率を示すことが報告されている²⁵⁾。また、560例の乳がん全ゲノム解析により、クローン優位性を与える推定93遺伝子がさまざまな割合で変異し

ており、さらに変異 signature 解析から、突然変異誘発に関与する内外のさまざまな因子が示されていること³⁰⁾など、全ての乳がんの発がん機構を単純化された単一のモデルに帰結させることは、困難であると考えられる。

増殖の速い3段階モデルを仮定した場合、若年性乳がんの発生率が事実より大幅に低く推定されている。このことについては、乳がんの一部が家族性に生じていることによる乖離で基本的には説明できるが、詳細は*BRCA* など家族性乳がんにおける germline 変異をモデルに組み込んで検証する必要がある。

今回、日本人の女性乳がんにおける罹患率・死亡率の出生期別コホートを、2段階および3段階クローン増殖モデルと比較し、がん組織の体細胞変異率との比較考察を行ったところ、前がん細胞の増殖速度を高く設定した3段階モデルが実データをよく説明していた。前がん病変に driver 変異が存在することは以前から知られていたが、近年では発がん過程のクローン選択と進化がゲノムレベルで説明されるようになってきている³¹⁾。さらに、単一細胞塩基配列解析による乳がんのクローン進化および薬剤耐性獲得進化が報告されている^{32,33)}。クローン増殖モデルに直接影響する、発がん過程の初期の変異については、例えば皮膚がんのイニシエーションに至るクローン動態と関係する細胞種³⁴⁾、ならびに太陽光を浴びた正常皮膚組織に、driver 変異を持つとともに高い変異率を示すクローン性の細胞集団が存在する³⁵⁾ことや、健康なヒト末梢血の driver 変異頻度がその後の急性骨髄性白血病の発症リスクにつながる³⁶⁾ことが報告されている。さらに、1人の膵がん患者の異なる部位に存在する体細胞性バリエーション解析により、イニシエーション後、膵管内を移動しながらクローン増殖および更なる変異を起し、浸潤性の高いがんになっていることが最近報告された³⁷⁾。今後、正常組織に存在する前がん病変の同定と経時的な追跡が可能になれば、モデルの構築に直接的な証拠となる。一方、外的要因

による突然変異の誘発はがんの発生原因となるが、発がんモデルの違い、すなわち発がん機構が違えば、突然変異誘発と発がん率の関係は当然違ってくる。したがって、外的要因による突然変異レベルの推定は、外的要因による発がんとの因果関係を明らかにするだけでなく、発がん機構の推定と発がんモデルの構築にも重要な証拠となる。例えば、喫煙による突然変異率と喫煙・禁煙による発がんリスクの関係から、喫煙による突然変異と発がんプロモーションの相対的な関係が推定できる^{38,39)}。また、職業性胆管がんが存在する高頻度の突然変異は、突然変異と発がんプロモーションの関係性を示唆している^{40,41)}。driver変異を有する細胞の性質や増殖性を検討する基礎的研究や、広範囲の全ゲノム解析から導かれる遺伝学的情報を含め、今後の発展が期待される。

利益相反：なし。

引用文献

- 1) Hanahan, D., Weinberg, R.A.: Hallmarks of cancer: the next generation., *Cell*, 144, 646-674 (2011).
- 2) Armitage, P., Doll, R.: The age distribution of cancer and a multi-stage theory of carcinogenesis., *Br. J. Cancer*, 8, 1-12 (1954).
- 3) Moolgavkar, S.H., Venzon, D.J.: Two-event models for carcinogenesis: incidence curves for childhood and adult tumors., *Math. Biosci.*, 47, 55-77 (1979).
- 4) Moolgavkar, S.H., Knudson, A.G.Jr.: Mutation and cancer: a model for human carcinogenesis., *J. Natl. Cancer Inst.*, 66, 1037-1052 (1981).
- 5) Moolgavkar S.H., Day, N.E., Stevens R.G.: Two-stage model for carcinogenesis: epidemiology of breast cancer in females., *J. Natl. Cancer Inst.*, 65, 559-569 (1980).
- 6) Moolgavkar S.H., Luebeck, E.G.: Multistage carcinogenesis: population-based model for colon cancer., *J. Natl. Cancer Inst.*, 84, 610-618 (1992).
- 7) Luebeck, E.G., Moolgavkar S.H.: Multistage carcinogenesis and the incidence of colorectal cancer., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 99, 15095-15100 (2002).
- 8) Meza, R., Jeon, J., Moolgavkar S.H., Luebeck, E.G.: Age-specific incidence of cancer: phases, transitions, and biological implications., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 105, 16284-16289 (2008).
- 9) Luebeck, E.G., Curtius, K., Jeon, J., Hazelton, W.D.: Impact of tumor progression on cancer incidence curves., *Cancer Res.*, 73, 1086-1096 (2013).
- 10) 地域がん登録全国推計によるがん罹患データ (1975年～2014年), 国立がん研究センターがん情報サービス「がん登録・統計」.
- 11) 人口動態統計によるがん死亡データ (1958年～2016年), 国立がん研究センターがん情報サービス「がん登録・統計」.
- 12) 守山正樹, 柏崎 浩, 鈴木継美: 日本における初潮年齢の推移, 民族衛生, 46, 22-32 (1980).
- 13) 高松 潔, 小川真里子: 華麗なる加齢のために—ホルモン補充療法によって閉経後女性のQOLは向上する—, 歯科学報, 113, 223-232 (2013).
- 14) Curry, J., Karnaoukhova, L., Guenette, G.C., Glickman, B.W.: Influence of sex, smoking and age on human *hprt* mutation frequencies and spectra., *Genetics*, 152, 1065-1077 (1999).
- 15) Blokzijl, F., de Ligt, J., Jager, M., Sasselli, V., Roerink, S., Sasaki, N., Huch, M., Boymans, S., Kuijk, E., Prins, P., Nijman, I.J., Martincorena, I., Mokry, M., Wiegerinck, C.L., Middendorp, S., Sato, T., Schwank, G., Nieuwenhuis, E.E., Verstegen, M.M., van der Laan, L.J., de Jonge, J., IJzermans, J.N., Vries, R.G., van de Wetering, M., Stratton, M.R., Clevers, H., Cuppen, E., van Boxtel, R.: Tissue-specific mutation accumulation in human adult stem cells during life., *Nature*, 538, 260-264 (2016).
- 16) Alexandrov, L.B., Jones, P.H., Wedge, D.C., Sale, J.E., Campbell, P.J., Nik-Zainal, S., Stratton, M.R.: Clock-like mutational processes in human somatic cells., *Nature Genet.*, 47, 1402-1407 (2015).
- 17) 地域がん登録によるがん生存率データ : 5年

- 相対生存率 (1993年～2008年診断例), 全国がん罹患モニタリング集計 2006-2008年生存率報告 (国立研究開発法人国立がん研究センターがん対策情報センター, 2016)・独立行政法人国立がん研究センターがん研究開発費「地域がん登録精度向上と活用に関する研究」平成22年度報告書.
- 18) 地域がん登録によるがん生存率データ: 10年相対生存率およびサバイバー5年相対生存率 (2002年～2006年追跡例), Ito, Y., Miyashiro, I., Ito, H., Hosono, S., Chihara, D., Nakata-Yamada, K., Nakayama, M., Matsuzaka, M., Hattori, M., Sugiyama, H., Oze, I., Tanaka, R., Nomura, E., Nishino, Y., Matsuda, T., Ioka, A., Tsukuma, H., Nakayama, T.; the J-CANSIS Research Group.: Long-term survival and conditional survival of cancer patients in Japan using population-based cancer registry data., *Cancer Sci.*, 105, 1480-1486 (2014).
- 19) Tomlinson, I.P.M., Novelli, M.R., Bodmer, W.F.: The mutation rate and cancer., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 93, 14800-14803 (1996).
- 20) Little, M.P.: Cancer models, genomic instability and somatic cellular Darwinian evolution., *Biol. Direct.*, 5, 19 (2010).
- 21) Nowak, M.A., Michor, R., Iwasa, Y.: The linear process of somatic evolution., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 100, 14966-14969 (2003).
- 22) Bozic, I., Antal, T., Ohtsuki, H., Carter, H., Kim, D., Chen, S., Karchin, R., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., Nowak, M.A.: Accumulation of driver and passenger mutations during tumor progression., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 107, 18545-18550 (2010).
- 23) Altrock, P.M., Liu, L.L., Michor, F.: The mathematics of cancer: integrating quantitative models., *Nat. Rev. Cancer*, 15, 730-745 (2015).
- 24) Izumi, S., Ohtaki, M.: Incorporation of inter-individual heterogeneity into the multistage carcinogenesis model: approach to the analysis of cancer incidence data., *Biometrical J.*, 49, 539-550 (2007).
- 25) Alexandrov, L.B., Nik-Zainal, S., Wedge, D.C., Aparicio, S.A., Behjati, S., Biankin, A.V., Bignell, G.R., Bolli, N., Borg, A., Børresen-Dale, A.L., Boyault, S., Burkhardt, B., Butler, A.P., Caldas, C., Davies, H.R., Desmedt, C., Eils, R., Eyfjörd, J.E., Foekens, J.A., Greaves, M., Hosoda, F., Hutter, B., Ilicic, T., Imbeaud, S., Imielinski, M., Jäger, N., Jones, D.T., Jones, D., Knappskog, S., Kool, M., Lakhani, S.R., López-Otín, C., Martin, S., Munshi, N.C., Nakamura, H., Northcott, P.A., Pajic, M., Papaemmanuil, E., Paradiso, A., Pearson, J.V., Puente, X.S., Raine, K., Ramakrishna, M., Richardson, A.L., Richter, J., Rosenstiel, P., Schlesner, M., Schumacher, T.N., Span, P.N., Teague, J.W., Totoki, Y., Tutt, A.N., Valdés-Mas, R., van Buuren, M.M., van't Veer, L., Vincent-Salomon, A., Waddell, N., Yates, L.R.; Australian Pancreatic Cancer Genome Initiative; ICGC Breast Cancer Consortium; ICGC MML-Seq Consortium; ICGC PedBrain, Zucman-Rossi, J., Futreal, P.A., McDermott, U., Lichter, P., Meyerson, M., Grimmond, S.M., Siebert, R., Campo, E., Shibata, T., Pfister, S.M., Campbell, P.J., Stratton, M.R.: Signatures of mutational processes in human cancer., *Nature*, 500, 415-421 (2013).
- 26) Trichopoulos, D., Adami, H.O., Ekblom, A., Hsieh, C.C., Lagiou, P.: Early life events and conditions and breast cancer risk: from epidemiology to etiology., *Int. J. Cancer*, 122, 481-485 (2008).
- 27) Iwasaki, M., Tsugane, S.: Risk factors for breast cancer: epidemiological evidence from Japanese studies., *Cancer Sci.*, 102, 1607-1614 (2011).
- 28) Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52,705 women with breast cancer and 108,411 women without breast cancer. Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer., *Lancet*, 350, 1047-1059 (1997).
- 29) Narod, S.A.: Hormone replacement therapy and the risk of breast cancer., *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, 669-

- 676, (2011).
- 30) Nik-Zainal, S., Davies, H, Staaf, J., Ramakrishna, M., Glodzik, D., Zou, X., Martincorena, I., Alexandrov, L.B., Martin, S., Wedge, D.C., Van Loo, P., Ju, Y.S., Smid, M., Brinkman, A.B., Morganella, S., Aure, M.R., Lingjærde, O.C., Langerød, A., Ringnér, M., Ahn, S.M., Boyault, S., Brock, J.E., Broeks, A., Butler, A., Desmedt, C., Dirix, L., Dronov, S., Fatima, A., Foekens, J.A., Gerstung, M., Hooijer, G.K., Jang, S.J., Jones, D.R., Kim, H.Y., King, T.A., Krishnamurthy, S., Lee, H.J., Lee, J.Y., Li, Y., McLaren, S., Menzies, A., Mustonen, V., O'Meara, S., Pauporté, I., Pivot, X., Purdie, C.A., Raine, K., Ramakrishnan, K., Rodríguez-González, F.G., Romieu, G., Sieuwerts, A.M., Simpson, P.T., Shepherd, R., Stebbings, L., Stefansson, O.A., Teague, J., Tommasi, S., Treilleux, I., Van den Eynden, G.G., Vermeulen, P., Vincent-Salomon, A., Yates, L., Caldas, C., van't Veer, L., Tutt, A., Knappskog, S., Tan, B.K., Jonkers, J., Borg, Å., Ueno, N.T., Sotiriou, C., Viari, A., Futreal, P.A., Campbell, P.J., Span, P.N., Van Laere, S., Lakhani, S.R., Eyfjord, J.E., Thompson, A.M., Birney, E., Stunnenberg, H.G., van de Vijver, M.J., Martens, J.W., Børresen-Dale, A.L., Richardson, A.L., Kong, G., Thomas, G., Stratton, M.R.: Landscape of somatic mutations in 560 breast cancer whole-genome sequences., *Nature*, 534, 47-54 (2016).
- 31) Yates, L.R., Campbell, P.J.: Evolution of the cancer genome., *Nat. Rev. Genet.*, 13, 795-806 (2012).
- 32) Wang, Y., Waters, J., Leung, M.L., Unruh, A., Roh, W., Shi, X., Chen, K., Scheet, P., Vattathil, S., Liang H, Multani A, Zhang H, Zhao R, Michor, F., Meric-Bernstam, F., Navin, N.E.: Clonal evolution in breast cancer revealed by single nucleus genome sequencing., *Nature*, 512, 155-160 (2014).
- 33) Kim, C., Gao, R., Sei, E., Brandt, R., Hartman, J., Hatschek, T., Crosetto, N., Foukakis, T., Navin, N.E.: Chemoresistance evolution in triple-negative breast cancer delineated by single-cell sequencing., *Cell*, 173, 879-893 (2018).
- 34) Sánchez-Danés, A., Hannezo, E., Larsimont, J.C., Liagre, M., Youssef, K.K., Simons, B.D., Blanpain, C.: Defining the clonal dynamics leading to mouse skin tumour initiation., *Nature*, 536, 298-303 (2016).
- 35) Martincorena, I., Roshan, A., Gerstung, M., Ellis, P., Van Loo, P., McLaren, S., Wedge, D.C., Fullam, A., Alexandrov, L.B., Tubio, J.M., Stebbings, L., Menzies, A., Widaa, S., Stratton, M.R., Jones, P.H., Campbell, P.J.: High burden and pervasive positive selection of somatic mutations in normal human skin., *Science*, 348, 880-886 (2015).
- 36) Abelson, S., Collord, G., Ng, S.W.K., Weissbrod, O., Mendelson Cohen, N., Niemeyer, E., Barda, N., Zuzarte, P.C., Heisler, L., Sundaravadanam, Y., Luben, R, Hayat, S., Wang, T.T., Zhao, Z., Cirlan, I., Pugh, T.J., Soave, D., Ng, K., Latimer, C., Hardy, C., Raine, K., Jones, D., Hoult, D., Britten, A., McPherson, J.D., Johansson, M., Mbabaali, F., Eagles, J., Miller, J.K., Pasternack, D., Timms, L., Krzyzanowski, P., Awadalla, P., Costa, R., Segal, E., Bratman, S.V., Beer, P., Behjati, S., Martincorena, I., Wang, J.C.Y., Bowles, K.M., Quirós, J.R., Karakatsani, A., La Vecchia, C., Trichopoulou, A., Salamanca-Fernández, E., Huerta, J.M., Barricarte, A., Travis, R.C., Tumino, R., Masala, G., Boeing, H., Panico, S., Kaaks, R., Krämer, A., Sieri, S., Riboli, E., Vineis, P., Foll, M., McKay, J., Polidoro, S., Sala, N., Khaw, K.T., Vermeulen, R., Campbell, P.J., Papaemmanuil, E., Minden, M.D., Tanay, A., Balicer, R.D., Wareham, N.J., Gerstung, M., Dick, J.E., Brennan, P., Vassiliou, G.S., Shlush, L.I.: Prediction of acute myeloid leukaemia risk in healthy individuals., *Nature*, 559, 400-404 (2018).
- 37) Makohon-Moore, A.P., Matsukuma, K., Zhang, M., Reiter, J.G., Gerold, J.M., Jiao, Y., Sikkema, L., Attiyeh, M.A., Yachida, S., Sandone, C., Hruban, R.H., Klimstra, D.S., Papadopoulos, N., Nowak, M.A., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., Iacobuzio-Donahue, C.A.: Precancerous neoplastic cells can move through

the pancreatic ductal system., *Nature*, 561, 201-205 (2018).

38) Watanabe, M.: Smoking: additional burden on aging and death., *Genes. Environ.*, 38, 3 (2016).

39) 渡辺雅彦, 吉川弥里, 阿藤寛明, 末丸克矢: 喫煙による突然変異と多段階発がん機構—がん組織における比較—日本環境変異原学会第46回大会要旨集, p94 (2017)

40) Mimaki S, Totsuka Y, Suzuki Y, Nakai C, Goto M, Kojima M, Arakawa H, Takemura S, Tanaka S, Marubashi S, Kinoshita M, Matsuda T, Shibata T, Nakagama H, Ochiai A, Kubo S, Nakamori S, Esumi H, Tsuchihara K.: Hypermutation and unique mutational signatures of occupational

cholangiocarcinoma in printing workers exposed to haloalkanes., *Carcinogenesis*, 37, 817-826 (2016).

41) Watanabe, M., Mimaki, S., Kubo, S., Yoshikawa, M., Aso, H., Suemaru, K. and Tsuchihara, K.: Multistage carcinogenesis in multicentric occupational cholangiocarcinoma cases - contribution of mutations and clonal cell growth., *12th International Conference and 5th Asian Congress on Environmental Mutagens* (Abstr.), Korea (2017).

42) Kinzler, K.W., Vogelstein, B.: Lessons from hereditary colorectal cancer., *Cell*, 87, 159-170 (1996).

43) Scally, A., Durbin, R.: Revising the human mutation rate: implications for understanding human evolution., *Nat. Rev. Genet.*, 13, 745-753 (2012).

解析追補

コホート: 解析した出生期別コホートは 1905-09, 1915-19, 1925-29, 1935-39, 1945-49, 1955-59 年出生の6つである。年次別の5歳区分の罹患率・死亡率からコホート別の5歳区分推定罹患率・死亡率は, 1935-39年出生コホートの55-59歳罹患率を例として, 以下のとおり推定した。1935年に生まれた人は1990年に55歳となり, 1995年に60歳となるため, この出生年の55歳~59歳の罹患は1990年~1995年の間に起こることになるが, ここで1990年と1995年は年度の途中で区分の移動があるため, それぞれ1/2の寄与として, 各年次の罹患率から1935年出生における55-59歳罹患率(5年あたり)を次の式 [1990年/2+1991年+1992年+1993年+1994年+1995年/2)/5] で推定した。同様に, 1936年出生~1939年出生までの罹患率を推定した後, 1935-39年出生の平均を求めて最終的な1935-39年出生コホートの55-59歳罹患率を推定した。

この方法では, 各年次における5歳ごとの罹患率・死亡率が, 解析前後5年間から予測される加齢に伴う変化で説明できない年齢間のばらつき, および年齢別の人口が異なることによって生じ

るわずかな誤差に加え, 出生コホートにおける経時的な変化がある場合は推定値に正のバイアスが生じる可能性があるが, その値は年あたり5%, すなわち出生年が10年異なる隣接コホート間で65%の変化があっても0.6%程度であり, 加えて加齢に伴う変化は出生年によるバイアスを打ち消す影響がある。さらに, 変曲点近傍にあたる1935-39年出生コホートの45-49歳罹患率について, 1975年~1995年の45-49歳罹患率から出生年トレンドを $\exp(0.0409)$, 1985年~1994年の40-54歳罹患率から年齢に基づく変曲を $-0.4796x^2 + 46.374x - 1047.2$ に比例する2次式であると仮定すると, これらの変化を考慮した場合の推定罹患率は73.5となり, 変化を考慮しない単純推定値73.3との違いは0.3%であった。以上より, 若年期を除き多くの場合誤差は1%以下であると推察した。

データが不完全な場合は, 当該コホートの中央出生年を基準に, 各出生年別の推定値をデータが得られる範囲で集計する予定であったが, 該当はなかった。中央出生年の推定値も得られない場合は, 該当する5歳区分の罹患率・死亡率を当該コホートの中央出生年を基準に直接集計して推定

した. 具体的には, 1945-49 年出生コホートの 10-14 歳推定死亡率は, 1958 年~1961 年の 10-14 歳死亡率の平均値である. 同様に, 1935-39 年出生 20-24 歳から順に 1905-09 年出生 50-54 歳死亡率も 1958 年~1961 年の当該死亡率の平均値である. さらに, 1955-59 年出生 55-59 歳から順に 1935-39 年出生 75-79 歳死亡率は 2013 年~2016 年死亡率の平均値, 1955-59 年出生 15-19 歳から順に 1905-09 年出生 65-69 歳罹患率は 1975 年の罹患率をそのまま推定値とした. したがって, これらの推定値の誤差はデータが完全にそろっている場合よりは大きく, 特に 1975 年の年齢階級別罹患率をそのまま推定値とした該当罹患率にはかなり (10%以上) の誤差が予想される.

数値計算: 発がん過程における次段階への伸展は

$$\mu \int N(t) dt$$

で表される. 発がんまでの全段階を 1 年間隔で数値計算することにより, 罹患率と死亡率を推定した.

計算に用いたパラメーターは以下のとおりである.

$p(\text{pheno})$: 細胞が 1 年にひとつの発がん形質を獲得する確率

$\alpha-\beta(\text{pre})$: 閉経前の $\alpha-\beta$

$\alpha-\beta(\text{post})$: 閉経後の $\alpha-\beta$

$t(\text{meno})$: 細胞増殖速度低下の中央年 (47.5)

$r(\text{meno})$: 細胞増殖に関わる逆ロジスティック係数 (0.5)

$1-\beta/\alpha$: probability of nonextinction (0.2)

$Ns(\text{max})$: 初経後の幹細胞数 (2×10^7)

$t(\text{mena})$: 初経年齢 (13.5)

$r(\text{mena})$: 幹細胞数増加に関わるロジスティック係数 (1)

数値計算は Microsoft Excel 2016 を用いて行った. セルの入力式に沿って記述する.

出生時を $t=0$ として, 各満年齢 (t) 時点のあたり幹細胞数 $Ns = Ns(\text{max}) / (1 + \exp(r(\text{mena}) \times (t(\text{mena}) - t)))$

ロジスティック式における最小値を 0 としても出生時の幹細胞数は 27.4 となったため, 最小値は 10 ではなく上記式のとおり 0 とした. この変更の解析への影響は無視できる.

$p(\text{pheno}) = \mu_1 = \mu_2$ (2 段階モデル)

$p(\text{pheno}) = \mu_1 = \mu_2, \mu_0 = 2 \times p(\text{pheno})$ (3 段階モデル)

2 段階モデルにおいて, 各満年齢までの 1 年間の間に生じる前がん細胞クローン数 $Ni(t) = (Ns(t_1) + Ns(t))/2 \times \mu_1 \times (1 - \beta/\alpha)$

幹細胞数平均は差分の 1 次近似を行っている.

$1 - \beta/\alpha$ はこの前がん細胞のクローンの歩留まり率にあたる. extinction は前がん細胞のクローン増殖の初期にほぼ完結するため, この近似による解析への影響は無視できる.

3 段階モデルにおける各満年齢までの 1 年間の間に生じる pre 前がん細胞数 $Npi(t) = (Ns(t_1) + Ns(t))/2 \times \mu_0$

その年までに生じる累積 pre 前がん細胞数 $\text{cum.Npi}(t) = \text{cum.Npi}(t_1) + (Ns(t_1) + Ns(t))/2 \times \mu_0$

3 段階モデルにおける $Ni(t) = (\text{cum.Npi}(t_1) + \text{cum.Npi}(t))/2 \times \mu_1 \times (1 - \beta/\alpha)$

pre 前がん細胞数平均も差分近似.

各満年齢 (t) における 1 年前の細胞増殖速度 $(\alpha-\beta) \alpha-\beta(t) = (\alpha-\beta(\text{pre})) - ((\alpha-\beta(\text{pre})) - (\alpha-\beta(\text{post}))) / (1 + \exp(r(\text{meno}) \times (t(\text{meno}) + 1 - t)))$

出生時からの累積細胞増殖レベル $\text{cum.}\alpha-\beta(t) = \text{cum.}\alpha-\beta(t_1) + \alpha-\beta(t)$

細胞増殖レベルは前がん細胞各クローンの年間平均細胞数に基づく形質転換率に必要なため, 0.5 年前の年度中央までの 1 年間累積の平均値として, 上記式による 1 年前の細胞増殖速度の加算でよい.

満年齢 (t) までの 1 年間に生じた前がん細胞各クローンの, 満年齢 (T) までの 1 年間における細胞数平均 (extinction 含む) $Nclone(T,t) = \exp(\text{cum.}\alpha-\beta(T) - \text{cum.}\alpha-\beta(t))$ ($T > t$); 0.5 ($T = t$)

増殖期間の差に基づく細胞数は前後とも年間中央の点推定値で近似.

T=t の場合は年度の途中に発生した細胞が増殖していないと仮定。

年齢 T までに、年齢 t までの 1 年間に生じた前がん細胞各クローンが悪性形質転換している累積確率 $P(T,t) = P(T_{-1},t) + N_{clone}(T,t) \times \mu_2 / (1 - \beta / \alpha)$

$1 / (1 - \beta / \alpha)$ は extinction しなかった残存細胞クローンの形質転換確率対 extinction を考慮しない全発生前がん細胞クローンの形質転換確率の比 (細胞数に比例)。

共通のクローンから発生したがんは通常 1 つの病変となることに基づく、重複補正後の形質転換クローン率 $P_{corr}(T,t) = 1 - 1 / \exp(P(T,t))$

年齢 T までに、年齢 t までの 1 年間に生じた前がん細胞中の悪性形質転換数 $C(T,t) = Ni(t) \times P_{corr}(T,t)$

年齢 T までの累積悪性形質転換病変数 (発がん確率) $C(T) = \sum(C(T,0) \sim C(T,t))$

年齢 T までの 1 年間の発がん数 $= C(T) - C(T_{-1})$

年齢 T までの 1 年間のがん死亡リスク (期間内の重複補正なし) $= 0.3 \times (C(T_{-6}) - C(T_{-5}))$

差分および中央推定値による近似に基づく数値計算の誤差について、2.5 年間隔および 5 年間隔の近似計算から推定したところ、罹患率の場合 2 段階モデルでは 20 歳以上、3 段階モデルでは 40 歳以上は誤差 0.1% 以下と推定された。

表現型と突然変異の関係 (概算)

286 tumor suppressor genes \times 114 position = 32,604 (\equiv recessive); 91 oncogenes \times 14 position = 1,274 (\equiv dominant) ²²⁾.

各遺伝子・変異部位の存在率に大きな偏りあり
 →有効遺伝子・変異部位は上記より大幅に少ない
 →effective numbers of genes and positions: 24,10

(dominant); 12,100 (recessive) と推定。

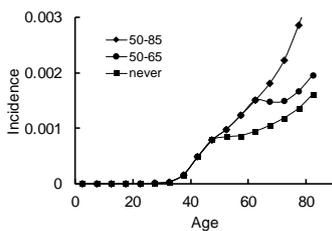
これらの driver 変異のターゲットが 6 段階発がん過程に均等に分布し、2 または 3 段階モデルにおける前がん細胞への進展と形質転換に必要なターゲットはそれぞれ必要な形質が異なることと、発がん過程において獲得する driver 変異には大まかな順番がある ⁴²⁾ ことから、形質転換後に獲得する変異を含めて、相互に置き換わらないと仮定。

germline に存在する劣性変異率: ヒト塩基多様度 8×10^{-4} , ⁴³⁾ 世代あたり変異率 1.2×10^{-8} として、選択圧がない場合 8×10^{-4} , 致死遺伝子の場合 1.1×10^{-4} , ここでは淘汰係数 0.2 と仮定 → $(1.2 \times 10^{-8} / 0.2)^{0.5} = 2.4 \times 10^{-4}$ と推定。

がんにおいては多くの場合 LOH (ヘテロ接合性の消失) が観察されるため、劣性遺伝子の変異による表現型変化に LOH が関与することを想定して、LOH と点突然変異率の比 (7:1) ²²⁾ から遺伝子変異率と劣性変異率の関係を推定 (遺伝子不安定性の獲得など LOH の生じる時期の影響を受けるが、ここでは考慮しない)。

突然変異に対する表現型獲得効率 = $24 \times 10 \times 2 / 6 + (0.00024 + \lambda) \times 100 \times (7+1) \times 12 \times 100 / 6 > 118.4$ (変異頻度 $\lambda = 10^{-5}$ の場合 120)

ホルモン補充療法



3 段階モデルにおける罹患率
 $\alpha - \beta : 0.4 \rightarrow 0.2, 0.3$
 (HRT)