

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 20 日現在

機関番号：24402

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2011～2012

課題番号：23791779

研究課題名（和文）前立腺発癌プロモーションにおける酸化ストレス関連遺伝子の役割と多型

研究課題名（英文）Analysis of the role and the polymorphism of the oxidative stress related gene for the promotion of prostate carcinogenesis

研究代表者

井口 太郎（IGUCHI TARO）

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：80529206

研究成果の概要（和文）：Significant PCa の insignificant PCa に対する *MnSOD-AA* 型相対危険度は 71 歳以上の群において、5.04 (sensitivity=0.58; positive predictive value=0.79) と高く、*MnSOD* 遺伝子多型は前立腺癌の臨床的悪性度と強く相関している。このことから前立腺癌の progression に酸化ストレスが関与していると考えられる。また、PSA スクリーニングとの組み合わせにより、*MnSOD* 遺伝子多型は前立腺癌の臨床的悪性度を予測する有用な指標となり得ることが示唆された。

研究成果の概要（英文）：The predictive OR of *MnSOD AA* for significant versus insignificant cancers was 5.04 (sensitivity=0.58; positive predictive value=0.79) in men >70 years old. *MnSOD* polymorphism is strongly associated with the clinical significance of prostate cancer suggesting that oxidative stress may be involved in the progression of the disease. Our conclusion that *MnSOD* polymorphism may be a biomarker to predict the progression of clinically insignificant into significant cancers and may be useful for predicting PCa in elderly men and may improve screening for PCa by combination of PSA testing.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学，泌尿器科

キーワード：腫瘍学，前立腺癌

## 1. 研究開始当初の背景

前立腺癌は皮膚悪性疾患を除くと最も有病率の高い疾患でアメリカでは成人男性の6人に1人が進行性前立腺癌に罹患する。また、臨床症状を呈さないいわゆる潜在癌を含めると50歳で30%、80歳以上60-70%に前立腺癌が存在する。その発生原因は多岐にわたると考えられているが、近年、炎症により発生する酸化ストレスと癌化の関連が明らかになりつつある。酸化ストレスは炎症の起点となるだけでなく、憎悪因子

としても注目され、その量と質を制御することが課題と考えられている。これまでに酸化ストレスに関連するいくつかの遺伝子多型が発癌のリスクであることが報告されている。例えば、*MnSOD* 遺伝子にはコドン16に遺伝子多型（V16A, rs1799725）があり、*MnSOD* 酵素活性が異なることが知られている。この多型は多くの悪性腫瘍の発生において危険因子とされており、前立腺癌においてもいくつかのCase Control研究において危険因子である可能性が示唆されているが、その可能

性を否定する結果も報告されており、一定の見解は得られていない。

この原因の一つにControl群における潜在癌の存在 (60歳以上では約30-40%) が挙げられる。このバイアスを統計学的手法により除外することは不可能であり、前立腺癌のCase Control 研究において、唯一、潜在癌を完全除外する方法はControl群として剖検前立腺を用いる手法 (剖検Case Control研究) であることを我々は報告した。また、我々はこの手法によりMnSOD遺伝子多型が前立腺癌の危険因子である可能性を報告した。

また、我々はこの手法によりMnSOD遺伝子多型が前立腺癌の危険因子である可能性を報告した。さらに喫煙およびNAT遺伝子多型とMnSOD遺伝子多型とのinteraction について解析し報告した。また、臨床的悪性度を伴った潜在PCa (aggressive PCa) と臨床的悪性度を伴わない潜在PCa (non-aggressive PCa) におけるMnSOD遺伝子多型のリスクを検討し、aggressive PCa は70歳以下でPCaの29%、71歳以上でPCaの58%を占めており、PCa全体でOR=1.90 (95%CI=0.97-3.71) であったが、aggressive PCaでは OR=2.86 (95%CI=1.10-7.40) であった。更に71歳以上のaggressive PCaでは OR=4.89 (95%CI=1.74-25.7) と強い相関を認めたが、70歳以下では相関を認めなかった。non-aggressive PCaでは年齢によらず、MnSOD-AA型と相関を認めなかった。MnSOD-AA型はaggressive PCaのrisk factor (OR=2.86, 95%CI:1.10-7.20) で、更に潜在癌が増える71歳以上ではOR=4.89 (95%CI:1.74-25.7) と強い相関を認めた。

以上の研究より酸化ストレス遺伝子多型が前立腺癌発癌の3段階のうち、promotionに関わっている可能性が高いと考えられる。また、酸化ストレス遺伝子多型リスクが年齢により異なることを示すことにより、promotionに関わっている事を証明するため

には加齢による前立腺癌の発癌頻度と酸化ストレス遺伝子多型との関連を剖検 Case Control 研究の手を用いて検討することが必要である。

## 2. 研究の目的

本研究では我々は剖検Case Control研究の手法を用いて、日本人前立腺癌の酸化ストレス関連遺伝子多型のリスクを検討し、前立腺癌発癌機序における遺伝子多型のリスクを検討することを目的とする。これまでの研究から酸化ストレス遺伝子多型が前立腺癌発癌の3段階のうち、promotionに関わっている可能性が高いと考えられ、酸化ストレス遺伝子多型リスクが年齢により異なることを示すことにより、promotionに関わっている事を証明する。

## 3. 研究の方法

日本人剖検前立腺組織 (臨床的前立腺癌患者を除く) 約 400 検体をサンプルとして用いる。これらの前立腺組織より genomic DNA を抽出し、PCRにて標的遺伝子を増幅し、制限酵素法 (PCR restriction fragment length polymorphism; PCR-RFLP) もしくは Sequencing により遺伝子多型を決定する。剖検前立腺組織は全例に step section による病理学的検索を行い、潜在癌の有無を確認し、潜在癌の含まれない Control 群と潜在癌群とにグループ化を行い、遺伝子多型によるリスクの統計学的解析を行う。本研究において統計解析される項目は病理学的検索結果 (腫瘍、分化度、腫瘍容積)、年齢および遺伝子多型のみであり、個人が特定される項目の検討は行わない。よって、倫理的に問題はないと考えられる。また、Dr. Gabriel Hass (SUNY Upstate Medical University, Syracuse, NY) から供与された米国人剖検前立腺 (250 検体) においても同様の遺伝子多型解析を行った。また、全例の Sequencing が必要となる遺伝子

を中心とした遺伝子多型解析を中心に行い  
つつ、PCR-RFLP法で解析された遺伝子多型解  
析結果を統計学的に検討し、その結果から酸  
化ストレスが前立腺癌発癌の3段階  
(Initiation, Promotion, Progression)のう  
ち Promotionに関わる分野での詳細な検討  
を行い、前立腺癌発癌機序における活性酸素  
の役割を明らかにする。また、前立腺癌にお  
ける剖検 Case Control 研究の有効性をあら  
ゆる前立腺疫学のスタンダードに適応する  
ために検証を行う。

#### 4. 研究成果

一般に発癌の多段階プロセスは広く受け  
入れられている。Significant PCa と  
insignificant PCa の割合は年齢と共に増加  
していくが、insignificant PCa が  
significant PCaに変化すると考えるならば、  
そのことは納得がいく。80歳代では12例の  
前立腺癌患者のうち、1例のみが  
insignificant PCaであったことから、もし  
ヒトが十分に長生きすれば、insignificant  
PCaはsignificant PCaに進行していくと考  
えられる。そして、特定の環境因子の元では  
その進行は加速する。一定以上の高齢者にお  
いて、前立腺癌の罹患率が低下するというこ  
とは前立腺癌の発癌率の低下というよりは  
この年代における underscreening が原因と  
考える。これらの人々が carcinogens に暴露  
されていないもしくは遺伝子学的に前立腺  
癌に抵抗性があるというわけではないだろ  
う。

我々は *MnSOD-AA* 型が *VA* 型もしくは *VV* 型  
と比較して、前立腺癌全体に関しての有意差  
は認めなかったが、*MnSOD-AA* 型は  
significant PCa ではリスクとなり、  
insignificant PCa ではリスクとならなかつ  
た。70歳以上と70歳未満で比較すると、70  
歳未満での significant PCa に *MnSOD-AA* 型

は強く関連していることが判明した。

*MnSOD* はミトコンドリア内に存在し、スー  
パーオキシドラジカルを瞬時に不活性化  
する事により、活性酸素種 (ROS) による DNA  
傷害から DNA を守ることに最も重要な役割を  
果たしている。*MnSOD-AA* 型が significant  
PCa とは関連するものの、insignificant PCa  
とは関連しないことは発癌の initiation の  
段階には関与しないことを意味する。これま  
での報告にも抗酸化状態が弱く、鉄消費の多  
い人では、*MnSOD-AA* 型が前立腺癌と関連する  
とされており、酸化ストレスの軽減は前立腺  
癌の chemoprevention のターゲットの一つで  
ある。

Significant PCa の insignificant PCa に  
対する *MnSOD-AA* 型相対危険度は71歳以上の  
群において、5.04 (sensitivity=0.58;  
positive predictive value=0.79)と高く、  
*MnSOD* 遺伝子多型は前立腺癌の臨床的悪性度  
と強く関連している。現在、PSA スクリーニ  
ングによる over-diagnosis が大きな問題と  
なっており、2011年のThe U.S. Preventive  
Services Task Force (USPSTF)の声明では全  
ての年齢に対して、PSA スクリーニングが不  
要であるとされた。しかし、PSA スクリーニ  
ングとの組み合わせにより、*MnSOD* 遺伝子多  
型は前立腺癌の臨床的悪性度を予測する有  
用な指標となり得ることが示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に  
は下線)

[雑誌論文] (計1件)

- ① Nitta Y, Iguchi T, Nakatani T etc.  
Intermediate oncological outcomes of  
percutaneous radiofrequency ablation  
for small renal tumors: initial

experience. Anticancer Res, 2012; 32:  
615-8 (査読:有)

[学会発表] (計 3 件)

- ① Nishihara C, Iguchi T, Nakatani T etc.  
The efficiency of second- line  
chemotherapy with gemcitabine and  
paclitaxel for advanced urothelial  
carcinoma resistant to cisplatin-  
based chemotherapy. American  
Urological Association Annual Meeting  
2013 (San Diego, CA USA, May 7, 2013)
- ② Nishihara C, Iguchi T, Nakatani T etc.  
Prognostic Factor of Second Biopsy for  
Detection of Prostate Cancer. 32st  
Congress of the Societe  
Internationale d' Urologie (Fukuoka,  
Japan, Oct 2, 2012)
- ③ Iguchi T, Nakatani T etc. Chronic  
Kidney Disease after Urolithiasis  
Treated Successfully by Shock Wave  
Lithtripsy Is Strong Risk Factor for  
Cardiovascular Disease. 32st Congress  
of the Societe Internationale d'  
Urologie (Fukuoka, Japan, Oct 1, 2012)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

井口 太郎 (IGUCHI TARO)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号 : 80529206

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし

