

様 式 C - 1 9、F - 1 9、Z - 1 9 ( 共通 )

## 科学研究費助成事業

## 研究成果報告書



平成 2 7 年 6 月 1 5 日現在

機関番号：1 6 4 0 1

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012 ~ 2014

課題番号：2 4 5 9 0 4 1 2

研究課題名 ( 和文 ) 前立腺癌感受性遺伝子座の S N P が影響する癌関連遺伝子発現の検討と病理診断への応用

研究課題名 ( 英文 ) Genomic loci analysis associated with prostate cancer susceptibility using a genome-wide association study for the pathological diagnosis

研究代表者

降幡 睦夫 ( FURIHATA, Mutsuo )

高知大学・教育研究部医学系・教授

研究者番号：1 0 2 0 9 1 5 8

交付決定額 ( 研究期間全体 ) : ( 直接経費 ) 4,200,000 円

研究成果の概要 ( 和文 ) : 日本人前立腺癌患者のゲノムワイド関連解析及び再現解析を行い、欧米と比較し11q12、10q26、3p11の3箇所の新規前立腺癌感受性遺伝子座を同定することができた。既に報告した前立腺癌抑制遺伝子NKX3.1発現への抑制的関与以外にも前立腺癌感受性遺伝子座に認めるSNPに影響される近傍の前立腺癌関連遺伝子としてIRX4を検索し、機能的には前立腺癌に対して抑制的に関与していることを示した。前立腺癌のPSA以外の腫瘍マーカーとしてのneuropeptide-Yを同定後、臨床応用への可能性を検討し、Terrestrosin Dが前立腺癌増生及び血管新生に対して抑制的に関与することを明らかにした。

研究成果の概要 ( 英文 ) : We performed a genome-wide association study (GWAS) of multiple loci associated with prostate cancer susceptibility in a Japanese population and identified additional three new loci reached genome-wide significance on chromosomes 11q12, 10q26 and 3p11.2. We also identified that IRX4 (Iroquois homeobox 4) is a causative gene of the PC susceptibility locus at 5p15. Knockdown of IRX4 in prostate cancer cells enhanced their growth and IRX4 overexpression suppressed their growth, indicating the functional association of IRX4 with PC and its tumor suppressive effect. In prostate cancer diagnosis, neurotransmitter polypeptide neuropeptide-Y (NPY) had a potential as a prostate cancer biomarker polypeptide. We also found Terrestrosin D, a steroidal saponin from Tribulus terrestris L., inhibited growth and angiogenesis of prostate cancer in vitro and in vivo.

研究分野：基礎医学・人体病理学

キーワード：前立腺癌 がん感受性遺伝子座 ゲノムワイド関連解析 SNP 免疫組織化学

## 1. 研究開始当初の背景

前立腺癌は増加の一途をたどり、通常の病理診断においては特に前立腺癌検診を目的とする前立腺生検材料の病理検体全体に占める割合が急増していた。前立腺生検材料に基づく病理診断を行うにあたり、臨床から病理診断への新たな要求として、認められた癌症例における腫瘍動態の病理組織学的評価を挙げることが出来る。現在の前立腺癌生検材料の病理診断報告においては、癌の分化度、Gleason 分類、そして可能な範囲での神経周囲浸潤及び脈管侵襲の有無を記載するよう努めており、これら診断情報は各々の前立腺癌症例における腫瘍動態の評価として重要である。これら評価項目に加え実践的に有効な診断情報として要求されるものは、診断を下した前立腺癌がホルモン依存性に進行するのか否かの判断である。ホルモン依存性前立腺癌に対してはアンドロゲン遮断療法が奏功するが、非依存性癌に対してはほとんど無効であり、これらは悪性度が高く再燃癌となりうる可能性が高く、よって早期診断に基づく的確な治療方針の決定が患者の予後に影響を与えうる。しかし、これら非依存性癌を診断するための有用な腫瘍マーカーは、ほとんど同定されていないのが現状であった。

## 2. 研究の目的

前立腺癌感受性遺伝子座（既に同定された5つと、連携研究者の中川らが日本人で同定し得た5つ）を中心に SNP の解析をし、その遺伝子座での SNP に影響され得る近傍の前立腺癌関連遺伝子の発現異常を明らかにする。これら遺伝子産物に対する抗体を用いて、前立腺生検組織材料を基に、主として非腫瘍性前立腺から PIN そして前立腺癌へ至る段階で、これら SNP に影響され得る前立腺癌関連遺伝子産物の発現状態を比較検討し、その症例が前立腺癌に移行するか否かを免疫組織化学的に判定可能な産物候補を決定する。さらにはホルモン抵抗性前立腺癌での抵抗性獲得過程へのこれら産物の関与の有無も検討し、前立腺癌の病態解析及び治療方針決定に対応可能な病理診断の確立を目的とする。

## 3. 研究の方法

10 箇所の前立腺癌感受性遺伝子座である *5p15*, *GPRC6A/RFX6*, *13q22*, *C2orf43*, *FOXP4* (以上中川らが日本人で同定)、*3p12*, *8p21*, *8q24*, *MSMB*, *HNF1B* を中心に、これら前立腺癌感受性遺伝子座における SNP の存在を解析し、認められた SNP に伴う近傍の前立腺癌関連遺伝子発現への影響を検討する。そして前立腺癌抑制遺伝子 *NKX3.1* を筆頭に、非腫瘍性前立腺→PIN→癌化に至るまでの多段階変化に関して、同定し得た前立腺癌関連遺伝子産物の発現レベルもしくは異常発現につい

て解析する。さらに前立腺生検組織材料を基に、非腫瘍性前立腺や PIN 病変の段階で、これら遺伝子産物発現異常を免疫組織学的に検出することで、その症例が前立腺癌に移行するか否かを判定することが可能であるか検討する。さらにはホルモン抵抗性前立腺癌での抵抗性獲得過程へのこれら産物の関与の有無も検討する。

## 4. 研究成果

一般に癌に関しての腫瘍動態及び病理形態学的多様性に対応する発癌過程の全体像は、癌遺伝子及び癌抑制遺伝子の発現異常が、癌化との関連において重要な役割を担うことが知られている。前立腺癌に関しては、多くの癌遺伝子及び癌抑制遺伝子異常の検討がなされてきたが、前立腺癌感受性遺伝子座における SNP と、その癌化への影響に関しての研究報告は極めて僅かである。研究代表者は日本人前立腺癌患者のゲノムワイド関連解析及び再現解析を行い、欧米との比較において更に *11q12*, *10q26*, *3p11* の3箇所の新規前立腺癌感受性遺伝子座を同定することができた。更に、既に報告した前立腺癌抑制遺伝子 *NKX3.1* 発現への抑制的関与以外にも、前立腺癌感受性遺伝子座に認める SNP に影響される近傍の前立腺癌関連遺伝子として *IRX4* (*5p15*) を検索し、機能的には前立腺癌に対して抑制的に関与していることを明らかにした。*IRX4* 遺伝子産物に対する抗体を用いた免疫組織化学的検討では、前立腺での正常から癌化に至る発癌過程におけるそれら産物の発現異常は、特に正常組織→PIN では陽性所見を認め、PIN→癌へ移行する部位を組織学的に同定し、その染色パターンを比較したが、癌部での陰性所見はみとめず、両部位とも陽性を呈した。前立腺癌症例では約半数に陰性所見を認めたが、その発現と臨床病理学的因子との関連に有意差は無く、さらにはホルモン抵抗性前立腺癌の組織材料に関しても、これら遺伝子産物の発現異常を解析し、既に研究代表者らが同定し得たホルモン抵抗性前立腺癌に特異的に発現する癌遺伝子産物発現異常との比較検討を行うも、それらに関しての有意差は認めなかった。更に前立腺癌に関しては、PSA 以外の腫瘍マーカーとしての *neuropeptide-Y* を同定後、臨床応用への可能性を検討し、更に *Terrestrosin D* が前立腺癌増生及び血管新生に対して抑制的に関与することを明らかにした。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 14 件)

Wei S, Fukuhara H, Chen G, Kawada C, Kurabayashi A, Furihata M, Inoue K, Shuin T: *Terrestrosin D*, a Steroidal Saponin from *Tribulus terrestris* L.,

Inhibits Growth and Angiogenesis of Human Prostate Cancer in vitro and in vivo.

**Pathobiology.** 査読有,81(3):123-132, 2014 DOI:10.1159/000357622.

Taniuchi K, Furihata M, Iwasaki S, Tanaka K, Shimizu T, Saito M, Saibara T : RUVBL1 directly binds actin filaments and induces formation of cell protrusions to promote pancreatic cancer cell invasion.

**Int J Oncol.** 査読有,44(6):1945-1954, 2014 DOI:10.3892/ijo.2014.2380.

Kakinuma Y, Noguchi T, Okazaki K, Oikawa S, Iketani M, Kurabayashi M, Furihata M, Sato T : Antimuscle atrophy effect of nicotine targets muscle satellite cells partly through an  $\alpha 7$  nicotinic receptor in a murine hindlimb ischemia model.

**Transl Res.** 査読有, 164(1):32-45, 2014

DOI:10.1016/j.trsl.2014.02.005.

Taniuchi K, Furihata M, Hanazaki K, Saito M, Saibara T : IGF2BP3-mediated translation in cell protrusions promotes cell invasiveness and metastasis of pancreatic cancer.

**Oncotarget.** 査読有,5(16):6832-6845, 2014

<http://www.impactjournals.com/oncotarget/index.php?journal=oncotarget>

Taniuchi K, Furihata M, Saibara T : KIF20A-mediated RNA granule transport system promotes the invasiveness of pancreatic cancer cells.

**Neoplasia.** 査読有, 16(12):1082-93, 2014 DOI:10.1016/j.neo.2014.10.007. Nishioka C, Ikezoe T, Furihata M, Yang J, Serada S, Naka T, Nobumoto A, Kataoka S, Tsuda M, Ueda K, Yokoyama A : CD34(+) /CD38(-) acute myelogenous leukemia cells aberrantly express CD82 which regulates adhesion and survival of leukemia stem cells.

**Int J Cancer.** 査読有,132(9):2006-2019, 2013 DOI:10.1002/ijc.27904.

Inoue K, Fukuhara H, Kurabayashi A, Furihata M, Tsuda M, Nagakawa K, Fujita H, Utsumi K, Shuin T : Photodynamic therapy involves an antiangiogenic mechanism and is enhanced by ferrochelatase inhibitor in urothelial carcinoma.

**Cancer Sci.** 査読有, 104(6):765-772, 2013 DOI:10.1111/cas.12147.

Ueda K, Tatsuguchi A, Saichi N, Toyama A, Tamura K, Furihata M, Takata R, Akamatsu S, Igarashi M, Nakayama M, Sato TA, Ogawa O, Fujioka T, Shuin T,

Nakamura Y, Nakagawa H : Plasma low-molecular-weight proteome profiling identified neuropeptide-y as a prostate cancer biomarker polypeptide.

**J Proteome Res.** 査読有, 12(10):4497-4506, 2013 DOI:10.1021/pr400547s.

Inoue K, Ashida S, Fukuhara H, Iiyama T, Miyamura M, Kurabayashi A, Furihata M, Shuin T : Application of 5-aminolevulinic acid-mediated photodynamic diagnosis to robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy.

**Urology.** 査読有,82(5):1175-1178, 2013

DOI: 10.1016/j.j.urology.2013.06.051

Fukuhara H, Inoue K, Kurabayashi A, Furihata M, Fujita H, Utsumi K, Sasaki J, Shuin T : The inhibition of ferrochelatase enhances 5-aminolevulinic acid-based photodynamic action for prostate cancer.

**Photodiagnosis Photodyn Ther.** 査読有,10(4):399-409, 2013

DOI:10.1016/j.pdpdt.

Sakai H, Furihata M, Matsuda C, Takahashi M, Miyazaki H, Konakahara T, Imamura T, Okada T : Augmented autocrine bone morphogenic protein (BMP) 7 signaling increases the metastatic potential of mouse breast cancer cells. **Clin Exp Metastas.** 査読有,29(4):327-338, 2012

DOI:10.1007/s10585-012-9453-9.

Ha Nguyen H, Takata R, Akamatsu S, Shigemizu D, Tsunoda T, Furihata M, Takahashi A, Kubo M, Kamatani N, Ogawa O, Fujioka T, Nakamura Y, Nakagawa H : IRX4 at 5p15 suppresses prostate cancer growth through the interaction with vitamin D receptor, conferring prostate cancer susceptibility.

**Hum Mol Genet.** 査読有,21(9):2076-2085, 2012 DOI:10.1093/hmg/dds025.

Akamatsu S, Takata R, Haiman CA, Takahashi A, Inoue T, Kubo M, Furihata M, Kamatani N, Inazawa J, Chen GK, Le Marchand L, Kolonel LN, Katoh T, Yamano Y, Yamakado M, Takahashi H, Yamada H, Egawa S, Fujioka T, Henderson BE, Habuchi T, Ogawa O, Nakamura Y, Nakagawa H : Common variants at 11q12, 10q26 and 3p11.2 are associated with prostate cancer susceptibility in Japanese.

**Nat Genet.** 査読有,44(4):426-429, 2012 DOI:10.1038/ng.1104.

Ikezoe T, Yang J, Nishioka C, Honda G,

Furihata M, Yokoyama A :  
Thrombomodulin protects endothelial  
cells from a calcineurin  
inhibitor-induced cytotoxicity by  
upregulation of extracellular  
signal-regulated kinase/myeloid  
leukemia cell-1 signaling.  
*Arterioscl Thromb Vas.* 査 読  
有, 32:2259-2270, 2012  
DOI:10.1161/ATVBAHA.112.251157.

〔学会発表〕(計 14 件)

黒江崇史, 倉林 睦, 降幡睦夫: 肝糖新生のコントロールと糖代謝異常の治療への展開, 第 103 回日本病理学会総会, 2014 年 4 月 26 日, 広島国際会議場, ANA クラウンプラザホテル (広島県広島市)  
谷内恵介, 降幡睦夫: 細胞内ストレス顆粒に局在する CD24 の膵癌転移抑制機序の解析, 第 73 回日本癌学会学術総会, 2014 年 9 月 26 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)  
坪井麻記子, 谷内恵介, 降幡睦夫: RUVBL1 はアクチンとの結合を介して膵癌細胞の運動・浸潤を亢進させる, 第 73 回日本癌学会学術総会, 2014 年 9 月 26 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)  
田内亜紀, 谷内恵介, 降幡睦夫: Prdx1 は p38 MAPK の活性制御を介して膵癌細胞の運動・浸潤を亢進させる, 第 73 回日本癌学会学術総会, 2014 年 9 月 26 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)  
岡田知子, 降幡睦夫, 倉林 睦, 今村 亨: 新規骨髓高転移性マウス乳癌モデルにおけるカドヘリン 17 の役割, 第 73 回日本癌学会学術総会, 2014 年 9 月 26 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)  
鬼頭勇輔, 後藤尚絵, 倉林 睦, 降幡睦夫, 大舘 祐治, 竹内 保, : 皮膚付属器腫瘍モデルマウスを用いた付属器腫瘍起源細胞の考察, 第 102 回日本病理学会総会, 2013 年 6 月 7 日, ロイトン札幌、さっぽろ芸文館 (北海道札幌市)  
倉林 睦, 黒江崇史, 降幡睦夫: VHL ノックアウトマウスにおける糖代謝メカニズムの検討, 第 102 回日本病理学会総会, 2013 年 6 月 8 日, ロイトン札幌、さっぽろ芸文館 (北海道札幌市)  
降幡睦夫: がんにおける cDNA マイクロアレイ解析とゲノムワイド関連解析の実例, 第 31 回 日本眼腫瘍学会, 2013 年 9 月 14 日, 高知市総合あんしんセンター (高知県高知市)  
岡田知子, 降幡睦夫, 今村 亨: 皮下移植で骨髓に高転移性の新規マウス乳癌細胞の樹立, 第 72 回日本癌学会学術総会, 2013 年 10 月 4 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)  
田内亜紀, 降幡睦夫, 谷内恵介: B0031 は ANXA2 との結合を介し膵癌細胞を浸潤亢

進させる, 第 72 回日本癌学会学術総会, 2013 年 10 月 4 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)  
庵地孝嗣, 田村賢司, 降幡睦夫, 佐竹宏文, 蘆田真吾, 山崎一郎, 井上啓史, 執印太郎: High-grade 前立腺癌で高発現する SHISA2 の同定と機能解析, 第 72 回日本癌学会学術総会, 2013 年 10 月 5 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)  
田内亜紀, 降幡睦夫, 谷内恵介: B0031 による膵癌細胞の浸潤亢進機序の解析, 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012 年 9 月 19 日, ロイトン札幌 (北海道札幌市)  
岡田知子, 酒井弘文, 降幡睦夫, 小中原猛雄, 今村 亨: 骨形成蛋白質 BMP7 によるマウス乳癌細胞の転移能の促進, 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012 年 9 月 21 日, ロイトン札幌 (北海道札幌市)  
田村賢司, 降幡睦夫, 佐竹宏文, 庵地孝嗣, 蘆田真吾, 山崎一郎, 井上啓史, 執印太郎: high-grade 前立腺癌で高発現する SHISA2 の同定と機能解析, 第 71 回日本癌学会学術総会, 2012 年 9 月 21 日, ロイトン札幌 (北海道札幌市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

降幡 睦夫 (FURIHATA, Mutsuo)  
高知大学・教育研究部医療学系・教授  
研究者番号: 10209158