

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592373

研究課題名(和文) SNPアレイを用いた前立腺癌の進展関連分子の同定とリスク予測モデルの構築

研究課題名(英文) Identification of molecules involved in progression of prostate cancer and construction of risk prediction model using SNP array

研究代表者

土谷 順彦(Tschiya, Norihiko)

秋田大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：70282176

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)：本研究ではCYP19遺伝子多型の生物学的機能解析を行った。血清エストロン/アンドロステンジオン比はCYP19遺伝子多型と有意に関連しており、CYP19の遺伝子多型はプロモーター活性に影響を与えていた。また、転移性前立腺癌患者の癌特異的生存期間はCYP19遺伝子多型と有意に関連していた。CYP19遺伝子多型は、CYP19遺伝子プロモーター活性に影響をあたえることにより性ホルモン環境に影響を及ぼし、結果として前立腺癌発症リスクおよび予後に関与していると考えられた。

研究成果の概要(英文)：In this study, we evaluated a biological functional of the CYP19 polymorphisms. The ratio of serum estrone/ androstenedione was significantly associated with the CYP19 polymorphisms and the polymorphisms altered the promoter activity of the CYP19 gene. Additionally, the cancer-specific survival of metastatic prostate cancer patients was significantly associated with the CYP19 polymorphisms. Those finding suggest that the CYP19 polymorphisms influence the risk and outcome of prostate cancer through the alteration in sex hormone milieu.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：前立腺癌 遺伝子多型 CYP19

1. 研究開始当初の背景

従来の遺伝子多型を主とする分子疫学研究は、「患者-対象研究」が体勢を占める。この研究の主な目的は、癌に対する感受性(易罹患性)の違いを元に、癌関連遺伝子を突き止めものである。一方、以下に示すように、最近我々が行っている一連の研究においては異なるアプローチから癌の進行における宿主側の遺伝子学的因子を検索する方法をとっている。

(1) 癌の進展や予後を規定する宿主因子としての遺伝子探索

癌の進展や予後には、癌の悪性度や進展度などの癌自体の因子の他に腫瘍微小環境や遺伝子学的素因など宿主側の因子が関与しているが、なかでも、宿主の遺伝学的素因と癌の予後との関連が最近になって注目されてきている。我々は、進行前立腺癌患者を対象として、遺伝子多型を集中的に検索し、IGF-1、CYP19、VEGF、osteoprotegerinなどの遺伝子多型が患者の予後を反映することを示した。(Tsuchiya N, et al, J Clin Oncol, 2006; Fukuda H, et al, Oncol Rep, 2007; Narita N, et al, BMC Cancer, 2008)。しかしながら、前立腺癌の予後に関連する遺伝子学的研究は数少ないのが現状である。

最近我々は、SNP パネルを用いて転移性前立腺癌に関連する6遺伝子(XRCC4, PMS1, GATA3, IL13, CASP8, IGF1)における14 SNPを同定した(下図)。これらのSNPのセットにより前立腺癌の予後を予測できれば、患者毎の進展リスクに合わせた治療法の選択が可能となる。

(2) 癌治療に対する反応性や副作用を規定する宿主因子としての遺伝子探索

癌の予後を規定する因子として、治療に対する反応性を規定する因子が注目されている。前立腺癌での報告はないが、治療に対する効果や副作用の発現に宿主の遺伝学的要因が関与していることが予測される。進行性前立腺癌の予後を規定する因子として我々が同定した、CYP19やVEGFも治療に対する反応性を修飾している可能性が示唆される(Tsuchiya N, et al, J Clin Oncol, 2006)。我々は、尿路上皮癌における抗癌化学療法の副作用の程度がCYP3A5の遺伝子多型に関連していることを示したように(Tsuchiya N, et al, J Urol, 2008)、前立腺癌患者においても、予後を規定する遺伝子として、治療関連遺伝子が同定される可能性がある。

2. 研究の目的

本研究の目的は、癌患者の予後データを含む臨床データに基づいて、患者の予後や癌の進展、治療に対する反応性に深く関わる遺伝子を探索しようとするものである。そして、癌の進展予知や治療反応性予測マーカーとして、さらには癌治療における新たな分子標的として臨床応用に繋がる分子を同定することを目的とする。

また、これらの進展予知マーカーや治療反応性予測マーカーを用いて、予後予測あるいは治療反応予測モデルを構築することによって、治療の個別化を目指すことによる治療成績やQOLの改善を目指すことを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 外部検証

秋田大学と国内国外の共同研究施設から、倫理委員会での承認ならびに患者からのインフォームドコンセントを得た上で収集された前立腺癌患者の血液検体(ゲノムDNA)を収集し、これらの症例に関する臨床情報を網羅したデータベースを構築する。外部検証を行うためには200例以上の症例における予後解析を行う。

(2) 候補遺伝子の機能解析

前立腺癌の進展に関与することが確認された候補遺伝子に関して、SNPパネルで得られた情報を元に、遺伝子多型が遺伝子発現または遺伝子・タンパク機能に与える影響を検討する。SNPがプロモーター領域に存在する場合は、SNPを含むプロモーター領域を挿入したレポーター遺伝子を有するベクターを細胞に導入し、レポーター遺伝子の発現を定量化することによって、SNPの遺伝子発現に対する影響を評価する。

CYP19遺伝子の3か所のSNPが前立腺癌発症リスクに及ぼす影響の検討

前立腺癌患者330名と、健常対照354名の血液からDNAを採取し、3か所のSNPならびにそれらのハプロタイプが前立腺癌の発症に及ぼす影響について症例対照研究を行った。

血清性ホルモンレベルと3か所のSNPとの関連性の検討

血清性ホルモン値を測定した健常男性164例について、性ホルモンレベル(TS、E2、ASD、E1)と3つのSNPとの関連を検討した。

CYP19遺伝子プロモーター活性と遺伝子多型との関連性の検討

SNPがCYP19遺伝子プロモーター活性(エクソン1.6とPII)に及ぼす影響を、rs10459592-rs4775936におけるA-GハプロタイプとC-Aハプロタイプを導入した前立腺癌細胞株PC3とDU145を用いて、ルシフェラーゼレポーターアッセイにより検討した。

3か所のSNPが前立腺癌患者のアンドロゲン除去療法及び癌特異的生存率に及ぼす影響の検討

SNPとアンドロゲン除去療法を受けた転移性前立腺癌患者166人の治療開始後PSA最低値と癌特異的生存との関連性を検討した。

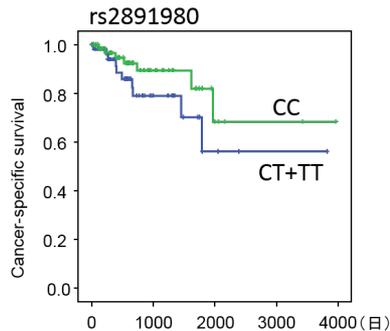
4. 研究成果

(1) これまでの研究で、進行性前立腺癌の生存期間に有意差を有する14個(6遺伝子)のSNPが同定された。これらに関して、国内外10施設での多施設共同臨床試

験 (Analysis of genetic polymorphisms for predicting response to treatment and progression of prostate tumor [UMIN00009785]) を計画し、約 200 例の初診時骨転移を有する前立腺癌症例の集積を行った。

2 年間のエントリー期間が終了した時点での中間解析では XRCC4 (rs2891980) の SNP のみが生存期間と関連していた (図 1)。

図 1



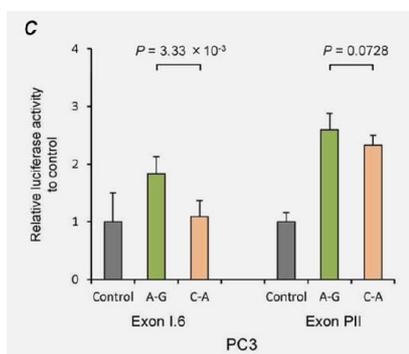
(2) 前立腺癌における CYP19 遺伝子多型の機能解析 Foxp3-F

症例対照研究では、3 か所の SNP (rs10459592, rs4775936, rs2470152) のバリエーションアレル (rs2470152 C アレル、rs10459592 C アレル、rs4775936 A アレル) が、前立腺癌発症リスクの有意な低下と関連していた (それぞれ $P = 0.001$ 、 $P = 0.005$ 、 $P = 0.004$)。ハプロタイプ解析では、rs2470152- rs10459592- rs4775936 における T-A-G ハプロタイプが前立腺癌発症リスクの有意な上昇に、C-C-A ハプロタイプは前立腺癌発症リスクの有意な低下に関連していた (それぞれ $P = 0.001$ 、 $P = 0.016$ であった)。

健常男性における血清 E1 (エストロン) /ASD (アンドロステンジオン) 比は rs2470152 C アレル、rs10459592 C アレル、rs4775936 A アレルの用量依存的に増加していた (それぞれ $P = 0.025$ 、 $P = 9.55 \times 10^{-4}$ 、 $P = 6.23 \times 10^{-5}$)。

エクソン 1.6 プロモーター活性は C-A ハプロタイプと比較して A-G ハプロタイプにより有意に上昇した ($P = 3.33 \times 10^{-3}$) (図 2)。

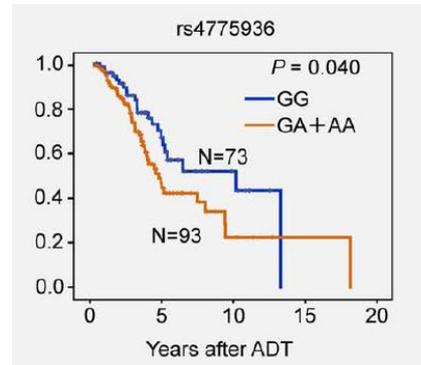
図 2



rs4775936 のバリエーションアレルを有する転移性前立腺癌患者の癌特異的生存期間は、バリエーションアレルを持たない患者と比較して有意に短かった (52.1 vs 118.2 か月、 $P =$

0.040) (図 3)。

図 3



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 4 件)

1. Kanda S, Tsuchiya N, Narita S, et al. Effects of functional genetic polymorphisms in the CYP19A1 gene on prostate cancer risk and survival. *Int J Cancer*. 査読あり, 2015;136:74-82.
2. Tsuchiya N, Narita S, Inoue T, et al. Insulin-like growth factor-1 genotypes and haplotypes influence the survival of prostate cancer patients with bone metastasis at initial diagnosis. *BMC Cancer*. 査読あり, 2013;13:150.
3. Tsuchiya N, Matsui S, Narita S, et al. Distinct cancer-specific survival in metastatic prostate cancer patients classified by a panel of single nucleotide polymorphisms of cancer-associated genes. *Genes Cancer*. 査読あり, 2013;4:54-60.
4. 土谷順彦. 泌尿器がんにおける新規分子マーカーとしての遺伝子多型の臨床応用. 秋田医学. 査読なし, 2014;41:5-15.

[学会発表] (計 5 件)

1. Tsuchiya N: The SNP panel of cancer-associated genes in predicting survival of metastatic prostate cancer (oral presentation): Asan-Michinoku Urology Symposium. Seoul, 2013.
2. 神田壮平, 土谷順彦, 黄明国, 他: 前立腺癌における CYP19 遺伝子多型の臨床的意義. 第 100 回日本泌尿器科学会総会. 横浜, 2012.
3. Kanda S, Tsuchiya N, Huang M, et al.: Functional genetic polymorphisms in the CYP19 gene decrease the risk of prostate cancer and alter the response to androgen deprivation therapy: The 107th annual meeting of the American Urological Association. Atlanta, USA, 2012.

4. Kanda S, Tsuchiya N, Huang M, et al.: Functional genetic polymorphisms in CYP19 decrease the risk of prostate cancer development and alter the response to androgen deprivation therapy: The 32nd Congress of the Societe Internationale d'Urologie. Fukuoka, Japan, 2012.
5. Inoue T, Tsuchiya N, Matsui S, et al.: Prediction of survival in patients with metastatic prostate cancer by single nucleotide polymorphisms of cancer associated genes: 2012 Genitourinary Cancers Symposium. San Fransisco, USA, 2012.

6. 研究組織

(1)研究代表者

土谷順彦 (TSUCHIYA NORIHIKO)

秋田大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：70282176

(2)研究分担者

羽渕友則 (HABUCHI TOMONORI)

秋田大学・大学院医学系研究科・教授

研究者番号：00293861

成田伸太郎 (NARITA SHINTARO)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号：40396552