

平成 21 年 4 月 21 日現在

研究種目： 基盤研究（C）  
 研究期間： 2007 ～ 2008  
 課題番号： 19591833  
 研究課題名（和文） 前立腺癌におけるインスリン様成長因子軸の臨床利用に向けた基礎的研究  
 研究課題名（英文） Fundamental research for clinical use of insulin-like growth factor in prostate cancer

研究代表者  
 土谷 順彦 (TSUCHIYA NORIHIKO)  
 秋田大学・医学部・准教授  
 研究者番号： 70282176

## 研究成果の概要：

IGF-I 遺伝子多型の中でも promoter 領域に存在する CA 反復多型、intron 2 に存在する rs12423791、ハプロタイプブロック 3 に存在する rs7136446 と rs6220 は、進行性前立腺癌の癌特異的生存期間と全生存期間との間に有意な関連が認められ、これらが進行性前立腺癌の予後予測マーカーとして臨床応用される可能性が示された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

## 研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：前立腺癌、IGF-I、遺伝子多型

## 1. 研究開始当初の背景

インスリン様成長因子 (insulin-like growth factors) は、インスリンと配列が高度に類似したポリペプチドであり、IGF-I は主に肝臓で成長ホルモン (GH) による刺激の結果分泌され、人体の殆どの細胞、特に筋肉、骨、肝臓、腎臓、神経、皮膚及び肺細胞において細胞 DNA 合成を調節する。最近、IGF-I が前立腺癌や乳癌の増殖を刺激することなどが報告され、IGF 軸が癌の進行に重要な役割を果たしていることが明らかになってきた。

(1) 我々がこれまで行ってきた分子疫学的な研究においても、IGF-I が前立腺癌の発症

や進行性前立腺癌の予後に深く関与していることが示された。すなわち、IGF-I 遺伝子のプロモーター領域に存在する反復多型のうち、長い反復アレルを有する男性は有意に前立腺癌の発症リスクが高く (表 1) (Tsuchiya et al. Int J Oncol, 2005)、一方進行性前立腺癌患者では長い反復アレルを有する症例で有意に癌特異的生存率が低い (Tsuchiya et al. J Clinical Oncol, 2006) ことが示された。

(2) 最近行った我々の研究では、(i) ノードマウス (BALB/c-nu/nu) 皮下での LNCaP 前立腺細胞 xenograft の増殖速度が高脂肪食により増加することが示された。

## 2. 研究の目的

(1) 前立腺癌治療における標的としてのIGF軸の意義を、分子生物学的解析によって検討する。

(2) 前立腺癌診断ならびに予後診断におけるIGF軸の意義を、IGF-I遺伝子多型のハプロタイプ解析やIGF軸上に存在する他の遺伝子多型間の遺伝子-遺伝子相互作用解析によって検討する。

## 3. 研究の方法

(1) マウスに移植した前立腺癌細胞 xenograft における IGF 軸の関与とその抑制による増殖抑制効果をみる。

(2) 前立腺癌臨床検体におけるIGF軸の発現と臨床病理学的因子ならびに予後との関連を検討する。

(3) IGF 軸に関与する遺伝子多型と前立腺癌の発症・進展の関連性を検討する。

## 4. 研究成果

(1) LNCaP xenograft を用いて高脂肪食摂取が癌増殖に与える影響と、それに関与する遺伝子の網羅的発現解析を行った。4-6 週齢 BALB/C マウス 20 匹に LNCaP を皮下移植した。3 週間後に食餌を変更し、高脂肪食群 (56.7Kcal%)、低脂肪食群 (10.2Kcal%) の 2 群 (各群 10 匹) に分けて、経時的に腫瘍の大きさを計測した。15 週後屠殺し、PSA の測定ならびに腫瘍組織からの Total RNA の抽出を行った。Operon 35 k human オリゴヌクレオチドマイクロアレイを用いて 2 群間で発現差のある遺伝子の抽出を行った。またマイクロアレイ解析で抽出した遺伝子について RT-PCR で遺伝子発現を確認した後、Real-Time PCR 法を用いて定量を行った。高脂肪食群において、15 週時の腫瘍体積は有意に大きく (0.68ml vs 1.79ml,  $p < 0.001$ )、血清 PSA は有意に高値を示した (57.9ng/mL vs 144.5ng/mL,  $p = 0.006$ ) (図 1)。マイクロアレイ解析で発現差 2 倍以上、発現量 (強度?) 100 を cut off 値とすると、78 遺伝子が抽出された。そのうち、12 遺伝子に注目し RT-PCR を施行したところ、高脂肪食群で高発現する 8 遺伝子、低発現する 4 遺伝子が確認された。さらに Real-Time PCR で mRNA の発現量を定量したところ、IGF-1R、TNFRSF12A、LPL においてそれぞれ 205 倍、40 倍、11 倍と特に強い発現差を認めた (図 2)。高脂肪食摂取は前立腺癌細胞増殖に関与し、その増殖には種々の遺伝子発現の変化を伴うことが確認された。特に、IGF-1R、TNFRSF12A、LPL は高脂肪食摂取による癌増殖に関連する重要な遺伝子であることが示唆された。

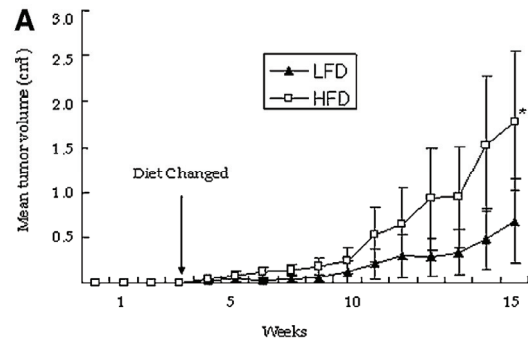


図 1

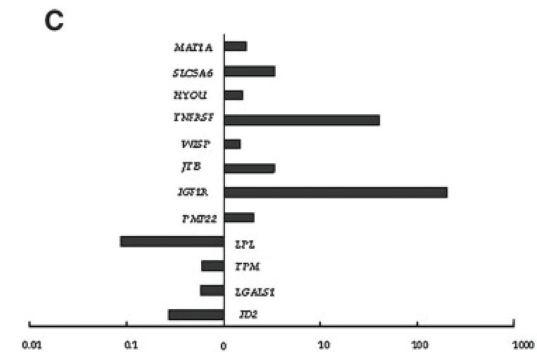
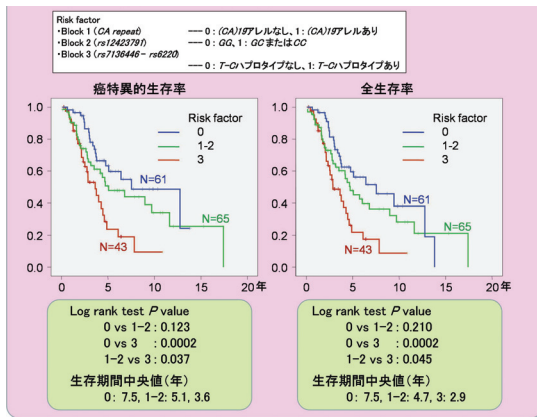


図 2

(2) 進行性前立腺癌の予後は、診断時の進行度や癌の悪性度、種々の分子マーカーなどの指標によってある程度の予測が可能である。一方、ホルモン療法に対する反応性や抵抗性獲得などの患者の個体差も、予後に影響を与えていると考えられる。進行性前立腺癌では、ホルモン療法抵抗性の獲得が治療上の問題点となっており、インスリン様増殖因子 (IGF) やインターロイキン 6 (IL-6) による大きな役割を果たしている可能性が示唆されている。ヒト成長因子 (GH1) と IGF-I、IL-6 とそれらの受容体 (それぞれ、GHR、IGF-IR、IL-6R) の遺伝子多型が前立腺癌のアンドロゲン非依存性増殖を修飾しているという仮説の下に、それらの遺伝子多型と進行性前立腺癌の予後との関連性を検討した。

秋田大学と京都大学で診断時骨転移を有する前立腺癌患者 213 例を対象とした。全例何らかのホルモン療法を施行した。遺伝子多型は末梢血白血球由来 DNA を用いて PCR-RFLP 法で解析した。解析した多型は、GH1(1663T/A)、GHR(5451/L [C/A])、IGF-I(rs12423791 [G/C])、IGF-IR(3174G/A)、IL-6(-636G/C)、IL-6R(358Asp/Ala[A/C]) の 6 種類。IGF-I のハプロタイプ解析を行うため、IGF-I Promoter 領域: CA repeat (block 1)、rs12423791, (block 2)、rs7136446 (block 3)、rs6220 (block 3)を追加した。

IGF-I rs12423791 と癌特異的生存率ならびに全生存率との間に有意な関連が認められたが、その他の遺伝子多型は、生存率との関



連を認めなかった。

IGF-I CA repeat 多型の検討では、(CA)19を有する患者の生存期間は有意に短かった。IGF-I block 3 の tag SNP である rs7136446 と rs6220 のハプロタイプを推定し、

予後との関連を解析したところ、T-C ハプロタイプと癌特異的生存率ならびに全生存率との間に有意な関連を認めた (P=0.0002、0.002)。T-C ハプロタイプを有する患者の生存期間は有意に短かった。

IGF-I の 3 つのハプロタイプブロックにおける、予後不良遺伝子マーカーの個数と予後との関連を検討したところ、3 個の危険因子を有する群は持たない群と 1-2 個の危険因子を持つ群と比較して有意に予後不良であった。

#### 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 8 件)

1. Ma Z, Tsuchiya N, Yuasa T, Inoue T, Kumazawa T, Narita S, Horikawa Y, Tsuruta H, Obara T, Saito M, Satoh S, Ogawa O and Habuchi T: Polymorphisms of fibroblast growth factor receptor 4 have association with the development of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia and the progression of prostate cancer in a Japanese population. *Int J Cancer* 123: 2574-2579, 2008. 査読有
2. Nadaoka J, Horikawa Y, Saito M, Kumazawa T, Inoue T, Narita S, Yuasa T, Satoh S, Nishiyama H, Ogawa O, Tsuchiya N and Habuchi T: Prognostic significance of HIF-1 alpha polymorphisms in transitional cell carcinoma of the bladder. *Int J Cancer* 122: 1297-1302, 2008. 査読有
3. Narita N, Yuasa T, Tsuchiya N, Kumazawa T, Narita S, Inoue T, Ma Z, Saito M, Horikawa Y, Satoh S, Ogawa O and Habuchi T: A genetic polymorphism of the osteoprotegerin gene is associated with an increased risk of advanced prostate cancer.

*BMC Cancer* 8: 224-232, 2008. 査読有

4. Narita S, Tsuchiya N, Saito M, Inoue T, Kumazawa T, Yuasa T, Nakamura A and Habuchi T: Candidate genes involved in enhanced growth of human prostate cancer under high fat feeding identified by microarray analysis. *Prostate* 68: 321-335, 2008. 査読有

5. Terada N, Tsuchiya N, Ma Z, Shimizu Y, Kobayashi T, Nakamura E, Kamoto T, Habuchi T and Ogawa O: Association of genetic polymorphisms at 8q24 with the risk of prostate cancer in a Japanese population. *Prostate* 68: 1689-1695, 2008. 査読有

6. Fukuda H, Tsuchiya N, Narita S, Kumazawa T, Horikawa Y, Inoue T, Saito M, Yuasa T, Matsuura S, Satoh S, Ogawa O and Habuchi T: Clinical implication of vascular endothelial growth factor T-460C polymorphism in the risk and progression of prostate cancer. *Oncol Rep* 18: 1155-1163, 2007. 査読有

7. Kanzaki M, Kakinuma H, Kumazawa T, Inoue T, Saito M, Narita S, Yuasa T, Tsuchiya N and Habuchi T: Low concentrations of the histone deacetylase inhibitor, depsipeptide, enhance the effects of gemcitabine and docetaxel in hormone refractory prostate cancer cells. *Oncol Rep* 17: 761-767, 2007. 査読有

8. 土谷順彦: 前立腺癌の遺伝子多型研究. 前立腺癌—基礎・臨床研究のアップデート—. *日本臨牀* 65, 60-64, 2007. 査読無

[学会発表] (計 4 件)

1. Narita S, Tsuchiya N, Saito M, Inoue T, Kumazawa T, Horikawa Y, Yuasa T, Matsuura S, Satoh S and Habuchi T: Gene expression in response to high-fat feeding in human prostate cancer xenograft model. 2007 AUA annual meeting, Atlanta
2. Tsuchiya N, Fukuda H, Narita S, Kumazawa T, Horikawa Y, Inoue T, Saito M, Yuasa T, Matsuura S, Satoh S, Ogawa O. and Habuchi T.: Clinical implication of vascular endothelial growth factor (VEGF) T-460C polymorphism in the risk and progression of prostate cancer. 2007 AUA annual meeting, Atlanta
3. 土谷順彦, 成田伸太郎, 熊澤光明, 井上高光, 馬 智勇, 齋藤 満, 堀川洋平, 湯浅 健, 松浦 忍, 佐藤 滋, 小川 修, 羽瀨友則: 進行性前立腺癌の予後における hGH、IGF-I ならびに IL-6 遺伝子多型の関与. 2007 日本泌尿器科学会総会, 神戸
4. Narita N, Yuasa T, Tsuchiya N, Kumazawa T, Narita S, Saito M, Horikawa Y,

Inoue T, Satoh S and Habuchi T: A genetic polymorphism of the Osteoprotegerin gene is associated with an increasing risk of advanced prostate cancer. 2007 日本癌学会学術総会, 横浜

〔図書〕(計 1 件)

1. 土谷順彦: 前立腺癌リスクと遺伝子多型. 泌尿器疾患治療の新しいストラテジー 121-128, 2007. メジカルビュー社

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土谷 順彦(TSUCHIYA NORIHIKO)

秋田大学・医学部・准教授

研究者番号: 70282176

(2) 研究分担者

湯浅 健(YUASA TAKESHI)

秋田大学・医学部・講師

研究者番号: 00314162

熊澤 光明(KUMAZAWA TERUAKI)

秋田大学・医学部・助教

研究者番号: 60400488

井上 高光(INOUE TAKAMITSU)

秋田大学・医学部・助教

研究者番号: 60375243

(3) 連携研究者

なし