

機関番号：37116

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21890296

研究課題名（和文）抗酸化ストレスに関連した遺伝子多型と大腸発がん

研究課題名（英文）Genetic polymorphisms of antioxidant enzymes and colorectal carcinogenesis

研究代表者

守田 真基子 (MORITA MAKIKO)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：60530491

研究成果の概要（和文）：酸化ストレスはDNA損傷に起因する遺伝子変異を惹起し、発がんに関与している。酸化ストレスの大腸発がんへの影響を明らかにする目的で、生体内酸化ストレス消去酵素であるスーパーオキシドディスムターゼ、カタラーゼ、グルタチオンペルオキシターゼの機能的遺伝子多型と大腸腺腫および大腸がんリスクとの関連を検討した。これらの多型と大腸腺腫リスクとの関連はみられなかった。一方、カタラーゼの機能的遺伝子多型 CAT-262C>T の T アレルを有する者において、統計学的に有意な大腸がんリスクの減少がみられた。

研究成果の概要（英文）：Oxidative stress causes DNA damage and may be involved in carcinogenesis. Endogenous antioxidant enzymes are known to be defensive against oxidative stress. To clarify the influence of the oxidative stress on colorectal carcinogenesis, we investigated the relation of functional genetic polymorphisms of manganese superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase to colorectal adenomas and cancer. None of the polymorphisms under study showed a measurable association with colorectal adenoma risk. A statistically significant decrease in the risk of colorectal cancer was observed among those with the T allele of CAT-262C>T.

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,070,000	321,000	1,391,000
2010年度	970,000	291,000	1,261,000
総計	2,040,000	612,000	2,652,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：公衆衛生学・健康科学

キーワード：大腸がん、大腸腺腫、酸化ストレス、遺伝子多型、分子疫学

1. 研究開始当初の背景

(1) 大腸がんの疫学的特長：大腸がんはわが国がん死亡の10%余りを占める頻度の多いがんである。日本の大腸がんの罹患率・死亡率は世界的に低率であったが、現在では欧米なみに高率である。人口の高齢化による影響を除いた年齢調整死亡率でも大腸がんの増加は著しい。

(2) 抗酸化ストレス関連酵素：酸化ストレスは、DNA損傷に起因する遺伝子変異を惹起し、発がんに重要な役割を果たしている。生体内には、代表的なものとして、スーパーオキシ

ドディスムターゼ (SOD)、カタラーゼ (CAT)、グルタチオンペルオキシターゼ (GPX) 等の、酸化ストレスを消去する抗酸化システムに関わる酵素や蛋白が存在する。SODは活性酸素を過酸化水素と酸素に分解し、活性酸素を消去する酵素である。CATおよびGPXは、SODの働きによってつくられた過酸化水素を水にし、過酸化水素を消去する酵素である。

(3) 国内外の動向：酸化ストレスを消去する抗酸化システム関連酵素や蛋白の機能的遺伝子多型と疾患との関連を検討した報告は少ない。特に、大腸腺腫および大腸がんとの

関連を検討した研究は国内では報告がなく、国外でもごく少数である。

2. 研究の目的

本研究の目的は、抗酸化ストレス関連酵素の機能的遺伝子多型と大腸前がん病変である大腸腺腫および大腸がんと関連を症例対照研究のDNA試料および調査資料を用いて検討することにより、酸化ストレスの大腸発がんへの影響を明らかにすることである。

3. 研究の方法

(1)大腸腺腫の遺伝子多型解析:DNA試料および調査資料が整備されている大腸腺腫症例対照研究データベース(研究責任者:九州大学大学院医学研究院・古野純典教授)を活用した。

①対象者:1997年1月から2001年3月の期間に、福岡または熊本の自衛隊病院において定年退職前健康診断を受けた男性自衛官である。定年退職前健康診断は自衛隊退職予定者を対象とした総合検診である。組織学的に大腸腺腫と認められた大腸腺腫症例445名と全大腸内視鏡検査でポリープ病変を認めなかった対照1052名を解析対象とした。

②遺伝子型の決定:DNAは -80°C に保存したバッフィーコートから市販キットを用いて抽出した。SODおよびCATの機能的遺伝子多型であるとされているMnSOD 47T>C(rs4880)とCAT-262C>T(rs1001179)、および大腸腺腫との関連が報告されているGPX1 594C>T(rs1050450)について、PCR-RFLP法によって遺伝子型の決定を行った。MnSOD 47T>Cの多型解析で使用したプライマーは5'-ACC AGC AGG CAG CTG GCG CCG G-3'(フォワード)および5'-GCG TTG ATG TGA GGT TCC AG-3'(リバース)である。制限酵素はPdiIを用いた。CAT-262C>Tの多型解析で使用したプライマーは、5'-AGA GCC TCG CCC CGC CGG ACC G-3'(フォワード)および5'-TAA GAG CTG AGA AAG CAT AGC T-3'(リバース)である。制限酵素はSmaIを用いた。GPX1 594C>Tの多型解析で使用したプライマーは5'-TGT GCC CCT ACG CAG GTA CA-3'(フォワード)および5'-CCA AAT GAC AAT GAC ACA GG-3'(リバース)である。制限酵素はApaIを用いた。

③統計解析:MnSOD 47T>CとCAT-262C>T、およびGPX1 594C>T遺伝子多型と大腸腺腫との関連は、ロジスティック回帰分析にもとづくオッズ比および95%信頼区間により評価した。95%信頼区間はロジスティック回帰係数の標準誤差から求めた。統計学的調整は年齢、病院、自衛官階級(低、中、高の3階級)、BMI、喫煙、飲酒、余暇の運動、親の大腸がんの既

往について行った。MnSOD 47T>CとCAT-262C>TおよびMnSOD 47T>CとGPX1 594C>Tとの交互作用は尤度比検定によって評価した。両側P値0.05未満または95%信頼区間が1を含まない場合を統計学的に有意とした。

(2)大腸がんの遺伝子多型解析:DNA試料および調査資料が整備されている大腸がん症例対照研究データベース(研究責任者:九州大学大学院医学研究院・古野純典教授)を活用した。

①対象者:症例群は福岡市と近郊3地域に在住する大腸がん患者であり、対照群は大腸がんあるいは大腸切除術の既往のない地域住民である。家族性大腸腺腫症や炎症性腸疾患の患者は症例群ならびに対照群からは除外されている。生活習慣要因の調査を終えた840例の大腸がん症例と833名の対照のうち、遺伝子解析の同意を受けた大腸がん患者685名と対照778名を解析対象とした。

②遺伝子型の決定:DNAは -80°C 保存のバッフィーコートから市販キットを用いて抽出した。SODおよびCATの機能的遺伝子多型であるとされているMnSOD 47T>CとCAT-262C>T、および大腸腺腫との関連が報告されているGPX1 594C>Tについて、PCR-RFLP法によって遺伝子型の決定を行った。MnSOD 47T>Cの多型解析で使用したプライマーは5'-ACC AGC AGG CAG CTG GCG CCG G-3'(フォワード)および5'-GCG TTG ATG TGA GGT TCC AG-3'(リバース)である。制限酵素はPdiIを用いた。CAT-262C>Tの多型解析で使用したプライマーは、5'-AGA GCC TCG CCC CGC CGG ACC G-3'(フォワード)および5'-TAA GAG CTG AGA AAG CAT AGC T-3'(リバース)である。制限酵素はSmaIを用いた。GPX1 594C>Tの多型解析で使用したプライマーは5'-TGT GCC CCT ACG CAG GTA CA-3'(フォワード)および5'-CCA AAT GAC AAT GAC ACA GG-3'(リバース)である。制限酵素はApaIを用いた。

③統計解析:MnSOD 47T>CとCAT-262C>T、およびGPX1 594C>T遺伝子多型と大腸がんとの関連は、ロジスティック回帰分析にもとづくオッズ比および95%信頼区間により評価した。95%信頼区間はロジスティック回帰係数の標準誤差から求めた。統計学的調整は性別、年齢、居住地、BMI、喫煙、飲酒、仕事の種類、余暇の運動、親の大腸がんの既往について行った。MnSOD 47T>CとCAT-262C>TおよびMnSOD 47T>CとGPX1 594C>Tとの交互作用は尤度比検定によって評価した。両側P値0.05未満または95%信頼区間が1を含まない場合を統計学的に有意とした。

4. 研究成果

(1)大腸腺腫

MnSOD 47T>C と CAT-262C>T、および GPX1 594C>T 遺伝子多型はいずれも大腸腺腫との明らかな関連を示さなかった。統計学的に有意ではなかったが、MnSOD 47T>C の C アレルを有する者で大腸腺腫リスクの低下傾向がみられた (オッズ比 0.87、95%信頼区間 0.67-1.15) (表 1)。大腸腺腫の大きさ別の検討、MnSOD 47T>C と CAT-262C>T および MnSOD 47T>C と GPX1 594C>T との交互作用の検討も行ったが、注目すべき交互作用はみられなかった。

表 1. 抗酸化ストレス関連酵素の遺伝子多型と大腸腺腫

遺伝子型	症例数/対照数	オッズ比 ¹⁾
MnSOD TT	358/799	1.00
TC+CC	97/253	0.87
CAT CC	426/987	1.00
CT+TT	29/65	1.01
GPX1 CC	397/920	1.00
CT+TT	58/132	1.02

注 1) 年齢、病院、自衛官階級、喫煙、飲酒、BMI²⁾、余暇の運動、家族歴を調整

注 2) BMI : 体重(kg) ÷ 身長(m)²

(2)大腸がん

CAT-262C>T の T アレルを有する者において統計学的に有意な大腸がんリスクの減少がみられた (オッズ比 0.57、95%信頼区間 0.35-0.93)。この傾向は男性において顕著であり (オッズ比 0.44、95%信頼区間 0.24-0.82)、女性においては、リスクの減少傾向はみられたが統計学的に有意ではなかった (オッズ比 0.84、95%信頼区間 0.36-1.99) (表 2)。さらに、MnSOD 47T>C と CAT-262C>T および MnSOD 47T>C と GPX1 594C>T との交互作用の検討を行ったところ、女性において統計学的に有意な MnSOD 47T>C と CAT-262C>T との交互作用がみられた (交互作用 P 値=0.02) (表 3)。

表 2. 抗酸化ストレス関連酵素の遺伝子多型と大腸がん

遺伝子型	オッズ比 ¹⁾		
	全体	男性	女性
MnSOD TT	1.00	1.00	1.00
TC+CC	0.82	0.81	0.80
CAT CC	1.00	1.00	1.00
CT+TT	0.57 ³⁾	0.44 ³⁾	0.84
GPX1 CC	1.00	1.00	1.00
CT+TT	0.92	1.02	0.84

注 1) 性別、年齢、居住地、喫煙、飲酒、BMI²⁾、仕事の種類、余暇の運動、家族歴を調整

注 2) BMI : 体重(kg) ÷ 身長(m)²

注 3) P<0.05

表 3. MnSOD および CAT の遺伝子多型の大腸がんリスクに対する交互作用

遺伝子型		オッズ比 ¹⁾		
MnSOD	CAT	全体	男性	女性
TT	CC	1.00	1.00	1.00
TT	CT+TT	0.52 ³⁾	0.48 ³⁾	0.49
TC+CC	CC	0.80	0.82	0.72
TC+CC	CT+TT	0.62	0.21	4.96
交互作用		P=0.51	P=0.46	P=0.02

注 1) 性別、年齢、居住地、喫煙、飲酒、BMI²⁾、仕事の種類、余暇の運動、家族歴を調整

注 2) BMI : 体重(kg) ÷ 身長(m)²

注 3) P<0.05

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者および連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① Pham NM, Wang Z, Morita M, Ohnaka K, Adachi M, Kawate H, Takayanagi R, Kono S. Combined effects of coffee consumption and serum gamma-glutamyltransferase on serum C-reactive protein in middle-aged and elderly Japanese men and women, Clin Chem Lab Med 2011. (印刷中) (査読有)
- ② Yin G, Ohnaka K, Morita M, Tabata S, Tajima O, Kono S. Genetic polymorphisms of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase: Alcohol use and type 2 diabetes in Japanese men. Epidemiol Res Int 2011; Volume 2011: Article ID 583682, doi:10.1155/2011/583682. (査読有)
- ③ Pham NM, Yoshida D, Morita M, Yin G, Toyomura K, Ohnaka K, Takayanagi R, Kono S. The relation of coffee consumption to serum uric acid in Japanese men and women aged 49-76 years. J Nutr Met 2010; Volume 2010: Article ID 930757, doi:10.1155/2010/930757. (査読有)
- ④ Maki T, Ikeda M, Morita M, Ohnaka K, Kawate H, Adachi M, Takayanagi R, Kono S. Relation of cigarette smoking, alcohol use, and coffee consumption to glycated hemoglobin in Japanese men and women. Diab Met Syndr: Clin Res Rev 2010; 4(2): 69-73. (査読有)
- ⑤ Ohnaka K, Kono S, Inoguchi T, Yin G, Morita M, Adachi M, Kawate H, Takayanagi R. Inverse associations of serum bilirubin with high sensitivity C-reactive protein, glycated hemoglobin, and prevalence of type 2 diabetes in middle-aged and elderly Japanese men and women. Diabetes Res Clin Pract 2010; 88(1): 103-110. (査読有)

〔学会発表〕(計2件)

- ①守田真基子、銀光、抗酸化システム関連酵素の遺伝子多型と大腸腺腫：自衛官研究、第69回日本癌学会学術総会、大阪、2010年9月22～24日
- ②銀光、守田真基子、XRCC1 遺伝子多型と大腸がんリスク：福岡大腸がん研究、第69回日本癌学会学術総会、大阪、2010年9月22～24日

〔その他〕

ホームページ等

<http://www2.uoeh-u.ac.jp/research/index.php>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

守田 真基子 (MORITA MAKIKO)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号：60530491