

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：33303

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K16783

研究課題名（和文）膵癌における抗酸化酵素ペルオキシレドキシン(PRX)4の役割

研究課題名（英文）The role of peroxiredoxin (PRDX) 4 in the progression of pancreatic cancer

研究代表者

郭 シン (GUO, Xin)

金沢医科大学・医学部・助教

研究者番号：40816328

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：膵癌は5年生存率が最も低い難治性癌である。有効な抗癌剤は強い毒性の副作用が認められ、副作用の少ない予防・効果的治療的な薬剤を探すことは急務である。本研究では、PRDX4と悪性腫瘍の関連性に着目し、膵癌におけるPRDX4の生体内での重要な役割を検討した。ヒト膵癌組織における解析では、PRDX4の高発現が腫瘍の浸潤・進展を促進し、悪い予後が示唆された。ヒト膵癌細胞株にPRDX4 geneのplasmid DNAを挿入し、細胞の増殖・移動の能力を増強した。最終的にはPRDX4の発現を抑えるのは膵癌治療に向けた臨床応用の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

酸化ストレスを抑制することは、メタボリックシンドロームを予防することに繋がり、ひいては悪性腫瘍の発生・進展の抑制にも作用することが示唆される。最近、我々はPRDX4と悪性腫瘍の関連性に着目し、さらなるターゲットとして悪性腫瘍動物実験モデルを敷衍させ、PRDX4が肝細胞癌の増殖・進展や予後等と密接な関連性のあることを明らかにし、さらに、PRDX4の過剰発現が肺癌の発生において、重要な促進因子であることも報告し得た。しかし、PRDX4が膵癌との関連性はまだ報告されていない。本研究では初めて膵癌において、抗酸化酵素PRDX4の役割及びそのメカニズムを検討した。

研究成果の概要（英文）：Pancreatic cancer is the most refractory cancer with the lowest 5-year survival rate. Due to effective anticancer agents with strong toxic side effects, it is urgent to find preventive and effective therapeutic agents with few side effects. In this study, we focused on the relationship between prdx4 and malignant tumors, and investigated the important role of PRDX4 in pancreatic cancer. Analysis in human pancreatic cancer showed that the high expression of prdx4 promoted tumor invasion and progression with a poor prognosis. The plasmid DNAs of PRDX4 gene was inserted into human pancreatic cancer cell lines to enhance the ability of cell proliferation and migration. Finally, the inhibition of PRDX4 expression implies the possibility of clinical application in the treatment of pancreatic cancer.

研究分野：実験病理

キーワード：膵癌 Peroxiredoxin 4 生存率 浸潤 増殖

## 1. 研究開始当初の背景

(1) 膵癌は5年生存率が最も低い難治性癌である。また3年以内の再発率も70%から90%と非常に高い数字になっている。膵癌患者の死亡数はこの30年で8倍以上に増加した。抗癌剤治療が優先される膵癌の治療方針も年々進歩している。しかし、承認された抗癌剤は様々な副作用が認められた。したがって副作用の少ないの予防効果的治療的な薬剤を探すことは急務である。

(2) 酸化ストレスは癌との関連性が良く知られている。ペルオキシレドキシシン(以下 PRDX)は抗酸化作用を有する一酵素群であり、抗酸化酵素 PRDX ファミリーでは、数種類の癌に様々な防御的役割が見出されていた。最近、我々は PRDX4 と悪性腫瘍の関連性に着目し、さらなるターゲットとして悪性腫瘍動物実験モデルを敷かせ、PRDX4 が肝細胞癌の増殖進展や予後等と密接な関連性のあることを明らかにし、さらに、PRDX4 の発現が Stage I 肺癌において、重要な術後予後予測因子であることも報告し得た。

(3) PRDX ファミリーの中では、PRDX4 の発現のみが全身諸臓器と比較して、膵臓で非常に高いことが認められており、膵臓における PRDX4 の重要な抗酸化作用が示唆された。さらに、1型と2型糖尿病に対する PRDX4 の保護防御的機構および抑制効果を有していることを明らかにしてきた。以上より、PRDX4 の膵臓での重要な役割が認められた。今回我々は、膵癌における PRDX4 の生体内での重要な役割を検討する。最終的には PRDX4 は膵癌治療に向けた臨床応用が可能になると考えられた。

## 2. 研究の目的

膵癌の発生と進展を抑制するメカニズムに対する検討を進め、PRDX4 を含む抗酸化酵素の治療応用を模索することが本課題の目的である。

## 3. 研究の方法

### (1) 膵癌細胞株における検討

ヒト膵癌細胞株に、PRDX4 gene の plasmid DNA の transfection を施行し、増殖および移動能力やアポトーシスを含めた細胞動態の変化を観察した。また、細胞を回収し、遺伝子の変化を検討した。さらに、mRNA および蛋白を抽出し、Real-time PCR、Western blotting、immunofluorescence などの方法にて、抗酸化酵素、腫瘍増殖と浸潤、アポトーシスなど様々な因子の発現を評価した。さらに、ELISA より、培養上清中の酸化ストレスや炎症性サイトカイン因子等の発現も測定した。

### (2) ヒト膵癌組織における解析

ヒト患者由来の病理組織標本は、3つの医療機関で切除された膵癌組織(138例)を使用した。患者の年齢、性別、予後および病期などの臨床病理データが収集されている。免疫組織化学的評価は、それぞれのパラフィン包埋切片を PRDX4 特異一次抗体にて免疫染色し、複数の病理医が腫瘍細胞の陽性率を数値化した。ROC 曲線を描出し、PRDX4 陽性のカットオフ値を30%以上とした。PRDX4 の高発現腫瘍と低発現腫瘍の進展度の違い、または癌周囲組織での PRDX4 の腫瘍悪性進展の影響を検討した。

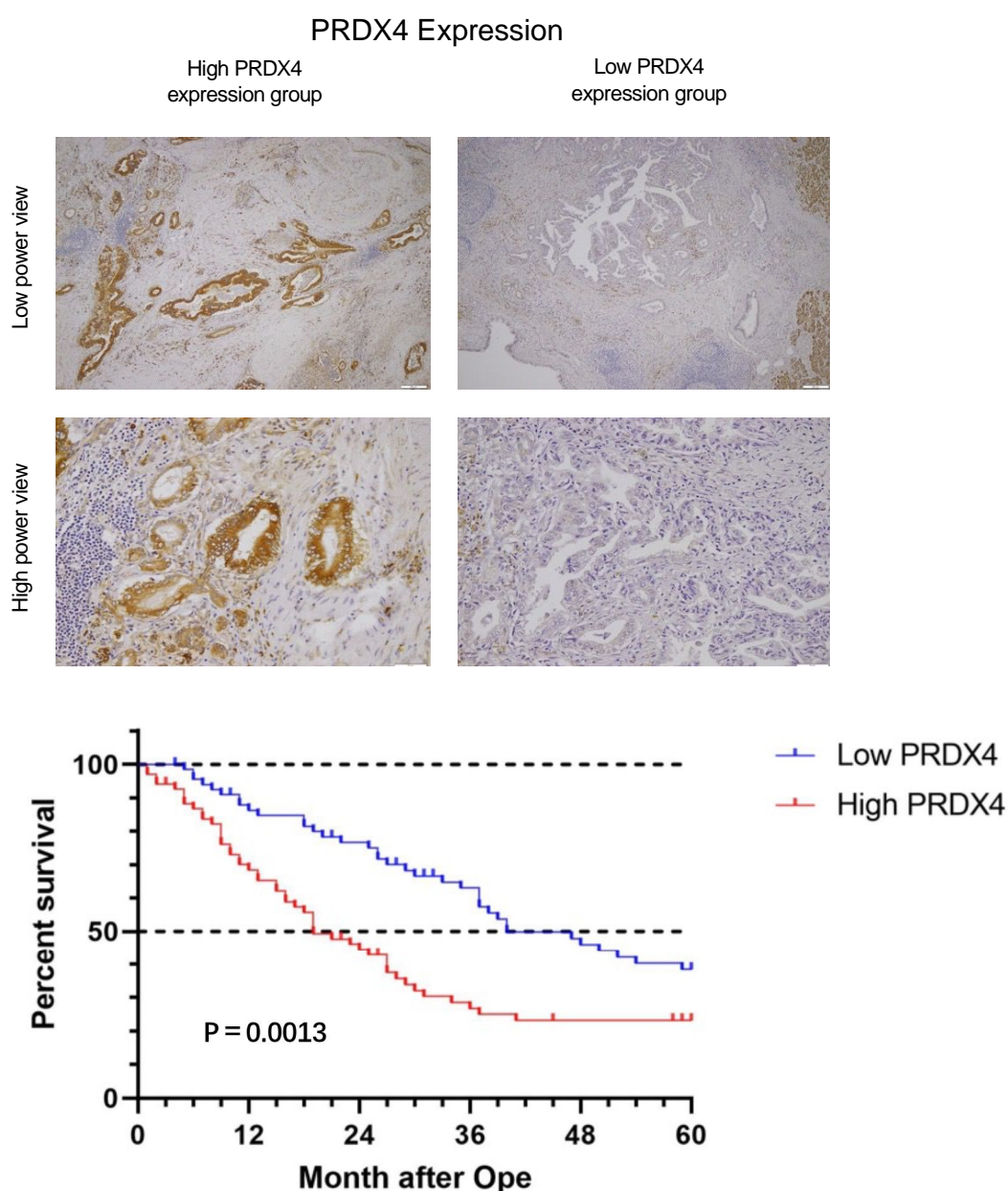
#### 4. 研究成果

##### (1) ヒト HB 手術症例の臨床的特徴について

本研究では、138 例の膵癌症例の中で、脈管浸潤が 121 例で、リンパ節転移が 82 例で、遠隔転移が 8 例を占めた。ステージ 0-II の症例が 100 例で、ステージ III -IV の症例が 38 例である。全症例の 5 年生存率は 30% 未満である。

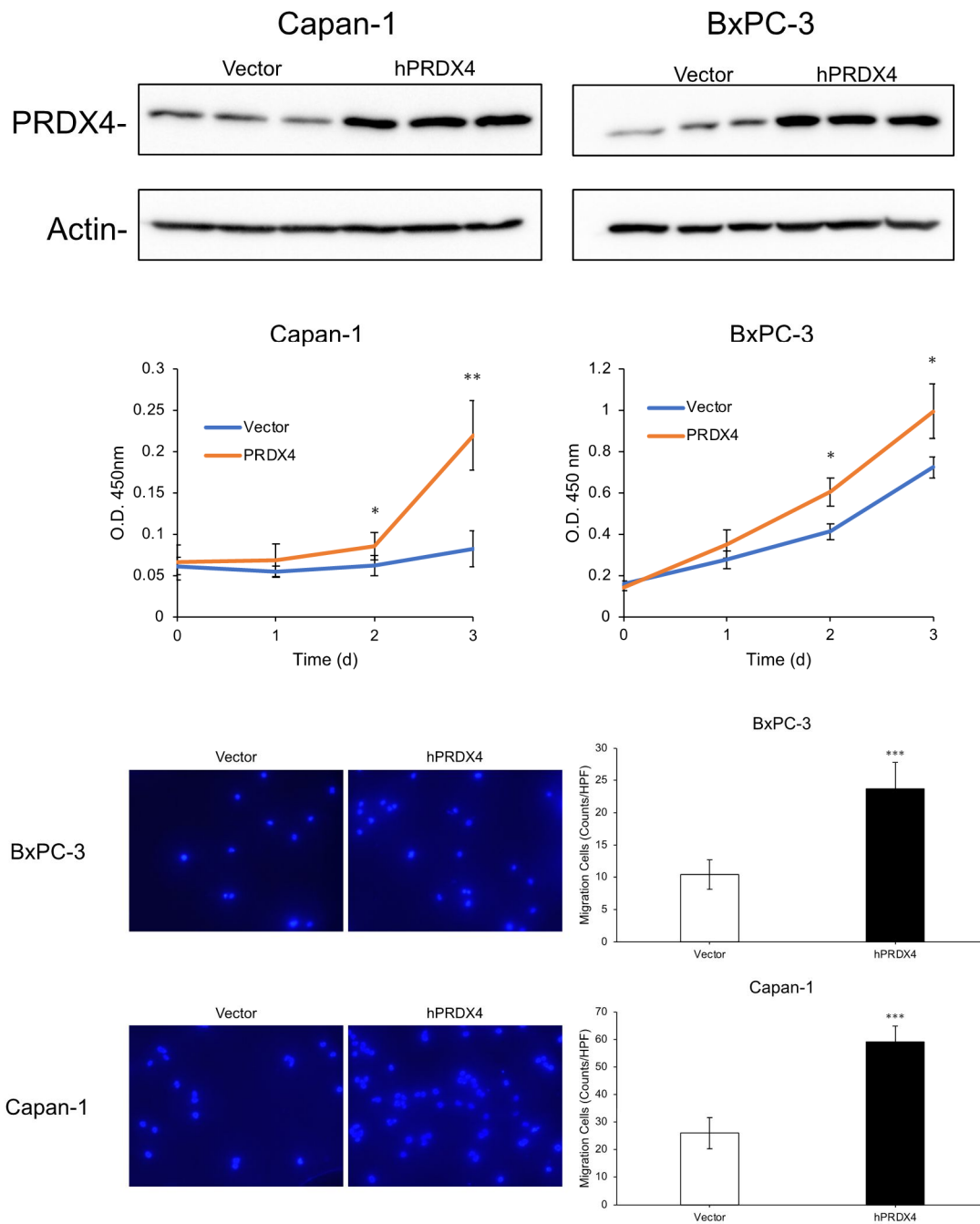
##### (2) PRDX4 高発現は、転移を含む腫瘍進展を促進し、低生存率と関与する

免疫組織化学的評価のカットオフ値にもとづき、PRDX4 低/高発現群に分けた (69 例 VS. 69 例)。PRDX4 高発現群は、低発現群より転移症例の割合が有意に高かった。病期に関しては、PRDX4 高発現が、ステージ II B -IV 症例 (57 例) で有意に認められた。Kaplan-Meier 法による生存曲線分析では、PRDX4 高/低発現群の生存率に有意差があることを認めた。PRDX4 の発現と組織型の関連性はなかった。



##### (3) PRDX4 過剰発現は、膵癌細胞株の増殖及び遊走を促進する。

In vitro 実験結果では、膵癌細胞株 (Capan-1 と BxPC-3) における PRDX4 の basal な発現が高かった。PRDX4 プラスミド DNA をそれぞれの細胞株に挿入し、PRDX4 の発現は各々5倍以上に上昇した。2種類細胞では、PRDX4 過剰発現後に増殖能が共に有意に増加した。さらに、遊走能も約2倍有意に増加した。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Yamaguchi R, Guo X, Zheng J, Zhang J, Han J, Shioya A, Uramoto H, Mochizuki T, Yamada S.	4. 巻 141(11)
2. 論文標題 PRDX4 Improved Aging-Related Delayed Wound Healing in Mice.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 J Invest Dermatol.	6. 最初と最後の頁 2720-2729.
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.jid.2021.04.015.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Zheng J, Guo X, Nakamura Y, Zhou X, Yamaguchi R, Zhang J, Ishigaki Y, Uramoto H, Yamada S.	4. 巻 2020
2. 論文標題 Overexpression of PRDX4 Modulates Tumor Microenvironment and Promotes Urethane-Induced Lung Tumorigenesis.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Oxid Med Cell Longev.	6. 最初と最後の頁 8262730
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1155/2020/8262730.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Zheng J, Guo X, Shioya A, Yoshioka T, Matsumoto K, Hiraki T, Kusano H, Oyama T, Kurose N, Yamaguchi R, Uramoto H, Ieiri S, Okajima H, Kohno M, Yamada S.	4. 巻 12
2. 論文標題 Peroxiredoxin 4 promotes embryonal hepatoblastoma cell migration but induces fetal cell differentiation.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Am J Transl Res	6. 最初と最後の頁 2726-2737
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Han J, Guo X*, Koyama T, Kawai D, Zhang J, Yamaguchi R, Zhou X, Motoo Y, Satoh T, Yamada S.	4. 巻 13
2. 論文標題 Zonarol Protected Liver from Methionine- and Choline-Deficient Diet-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a Mouse Model.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nutrients.	6. 最初と最後の頁 3455
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/nu13103455.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Han J, Guo X*, Meng XJ, Zhang J, Yamaguchi R, Motoo Y, Yamada S.	4. 巻 26
2. 論文標題 Acupuncture improved lipid metabolism by regulating intestinal absorption in mice.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 World J Gastroenterol.	6. 最初と最後の頁 5118-5129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3748/wjg.v26.i34.5118.	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 郭 シン
2. 発表標題 The Association Between Peroxiredoxin 4 (PRDX4) and Pancreatic Cancer
3. 学会等名 日本病理学会総会
4. 発表年 2019年 ~ 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------