

機関番号：24402

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009年度～2010年度

課題番号：21791524

研究課題名（和文） 前立腺癌発癌機序における活性酸素関連遺伝子の多型解析

研究課題名（英文） Analysis of the association between the polymorphism of the oxidative stress related gene and prostate carcinogenesis: an autopsy study

研究代表者

井口 太郎 (IGUCHI TARO)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師

研究者番号：80529206

研究成果の概要（和文）：Significant PCa の insignificant PCa に対する *MnSOD-AA* 型相対危険度は 71 歳以上の群において、5.04 (sensitivity=0.58; positive predictive value=0.79) と高く、*MnSOD* 遺伝子多型は前立腺癌の臨床的悪性度と強く相関している。このことから前立腺癌の progression に酸化ストレスが関与していると考えられる。*MnSOD* 遺伝子多型は前立腺癌の臨床的悪性度を予測する有用な指標となり得る。

研究成果の概要（英文）：The predictive OR of *MnSOD AA* for significant versus insignificant cancers was 5.04 (sensitivity=0.58; positive predictive value=0.79) in men >70 years old. *MnSOD* polymorphism is strongly associated with the clinical significance of prostate cancer suggesting that oxidative stress may be involved in the progression of the disease. *MnSOD* may be a clinically useful marker to predict the potential of progression from clinically insignificant to significant cancers.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	2,100,000	630,000	2,730,000
2010年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：泌尿器科

キーワード：腫瘍学，前立腺潜在癌，遺伝子多型，酸化ストレス

## 1. 研究開始当初の背景

前立腺癌は皮膚悪性疾患を除くと最も有病率の高い疾患でアメリカでは成人男性の6人に1人が進行性前立腺癌に罹患する。また、臨床症状を呈さないいわゆる潜在癌を含めると50歳で30%、80歳以上60-70%に前立腺癌が存在する。その発生原因は多岐にわたると考えられているが、近年、炎症により発生する酸化ストレスと癌化の関連が明らかになりつつある。酸化ストレスは炎症の起点となるだけでなく、憎悪因子としても注目され、その量と質を制御することが課題と考えられている。これまでに酸化ストレスに関連するいくつかの遺伝子多型が発癌のリスクであることが報告されている。例えば、MnSOD遺伝子にはコドン16に遺伝子多型 (V16A, rs1799725) があり、MnSOD酵素活性が異なることが知られている。この多型は多くの悪性腫瘍の発生において危険因子とされており、前立腺癌においてもいくつかのCase Control研究において危険因子である可能性が示唆されているが、その可能性を否定する結果も報告されており、一定の見解は得られていない。

この原因の一つにControl群における潜在癌の存在 (60歳以上では約30-40%) が挙げられる。このバイアスを統計学的手法により除外することは不可能であり、前立腺癌のCase Control研究において、唯一、潜在癌を完全除外する方法はControl群として剖検前立腺を用いる手法 (剖検Case Control研究) であることを我々は報告した。また、我々はこの手法によりMnSOD遺伝子多型が前立腺癌の危険因子である可能性を報告した。

また、我々はこの手法によりMnSOD遺伝子多型が前立腺癌の危険因子である可能性を報告した。さらに喫煙およびNAT遺伝子多型とMnSOD遺伝子多型とのinteraction について解析し報告した。また、臨床的悪性度を伴った潜在PCa (aggressive PCa) と臨床的悪性度を伴わない潜在PCa (non-aggressive PCa) におけるMnSOD遺伝子多型のリスクを検討し、aggressive PCa は70歳以下でPCaの29%、71歳以上でPCaの58%を占め

ており、PCa全体でOR=1.90 (95%CI=0.97-3.71) であったが、aggressive PCaでは OR=2.86 (95%CI=1.10-7.40) であった。更に71歳以上のaggressive PCaでは OR=4.89 (95%CI=1.74-25.7) と強い相関を認めたが、70歳以下では相関を認めなかった。non-aggressive PCaでは年齢によらず、MnSOD-AA型と相関を認めなかった。MnSOD-AA型はaggressive PCaのrisk factor (OR=2.86, 95%CI:1.10-7.20) で、更に潜在癌が増える71歳以上ではOR=4.89 (95%CI:1.74-25.7) と強い相関を認めた。

以上の研究より酸化ストレス遺伝子多型が前立腺癌発癌の3段階のうち、promotionに関わっている可能性が高いと考えられる。また、酸化ストレス遺伝子多型リスクが年齢により異なることを示すことにより、promotionに関わっている事を証明するためには加齢による前立腺癌の発赤頻度と酸化ストレス遺伝子多型との関連を剖検Case Control研究の手を用いて検討することが必要である。

## 2. 研究の目的

本研究では我々は剖検Case Control研究の手法を用いて、日本人前立腺癌の酸化ストレス関連遺伝子多型のリスクを検討し、前立腺癌発癌機序における遺伝子多型のリスクを検討することを目的とする。これまでの研究から酸化ストレス遺伝子多型が前立腺癌発癌の3段階のうち、promotionに関わっている可能性が高いと考えられ、酸化ストレス遺伝子多型リスクが年齢により異なることを示すことにより、promotionに関わっている事を証明する。また、前立腺癌Case Control研究において、潜在癌がControl群に含まれるというVerification Biasが重要であることの実証することを目的とする。

## 3. 研究の方法

日本人剖検前立腺組織 (臨床的前立腺癌患者を除く) 約400検体をサンプルとして用いる。これらの前立腺組織より genomic DNA を抽出し、PCRにて標的遺伝子を増幅し、制

限酵素法 (PCR restriction fragment length polymorphism; PCR-RFLP) もしくは Sequencing により遺伝子多型を決定する. 剖検前立腺組織は全例に step section による病理学的検索を行い, 潜在癌の有無を確認し, 潜在癌の含まれない Control 群と潜在癌群とにグループ化を行い, 遺伝子多型によるリスクの統計学的解析を行う. 本研究において統計解析される項目は病理学的検索結果 (腫瘍, 分化度, 腫瘍容積), 年齢および遺伝子多型のみであり, 個人が特定される項目の検討は行わない. よって, 倫理的に問題はないと考えられる. また, Dr. Gabriel Hass (SUNY Upstate Medical University, Syracuse, NY) から供与された米国人剖検前立腺 (250 検体) においても同様の遺伝子多型解析を行った. また, 全例の Sequencing が必要となる遺伝子を中心とした遺伝子多型解析を中心に行い, つつ, PCR-RFLP 法で解析された遺伝子多型解析結果を統計学的に検討し, その結果から酸化ストレスが前立腺癌発癌の 3 段階 (Initiation, Promotion, Progression) のうち Promotion に関わる分野での詳細な検討を行い, 前立腺癌発癌機序における活性酸素の役割を明らかにする. また, 前立腺癌における剖検 Case Control 研究の有効性をあらゆる前立腺疫学のスタンダードに適応するために検証を行う.

#### 4. 研究成果

Clinically significant cancer consisted of 29% and 58% of the cancers in men <70 and >70 years, respectively. MnSOD AA as compared to other genotypes (VA and VV together) was nearly associated with prostate cancer in all ages, odds ratio (OR)=1.901; 95% confidence interval (CI)=0.973-3.719, and in men > 70 (OR= 2.644; 95% CI=0.951-7.349). Stratified for clinical significance, MnSOD AA was associated with clinically significant cancer (OR, 2.858; 95% CI=1.104-7.394), especially in men >70 years (OR, 4.889; 95% CI=1.747-25.649) but not in

men <70. It was not associated with clinically insignificant cancer regardless of the age. The predictive OR of MnSOD AA for significant versus insignificant cancers was 5.04 (sensitivity=0.58; positive predictive value=0.79) in men >70 years old. In conclusions, MnSOD polymorphism is strongly associated with the clinical significance of prostate cancer suggesting that oxidative stress may be involved in the progression of the disease. MnSOD may be a clinically useful marker to predict the potential of progression from clinically insignificant to significant cancers.

#### 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 3 件)

- ① Shibano S, Iguchi T, Nakatani T. A Case of Scrotal Neurofibroma Originated from Subcutaneous Neural Tissue. *Int J Urol*, 2010; 17 (4): 387-8 (査読:有)
- ② Yamasaki T, Naganuma T, Iguchi T, et al. Investigation of Chronic Kidney Disease in Benign Prostatic Hyperplasia; *Nephron*, 2010; 16 (3): 335-9 (査読:有)
- ③ Iguchi T, Sugita S, Wang C, et al. MnSOD genotype and prostate cancer risk as a function of NAT genotype and smoking status; *in vivo*, 2009; 23 (1): 7-12 (査読:有)

[学会発表] (計 7 件)

- ① 井口太郎, Delongchamps N, Wang C, et al. 前立腺癌悪性度と MnSOD の遺伝子多型の検討. 第 98 回日本泌尿器科学会総会 (岩手, 日本, 2010/4/27)
- ② Iguchi T, Nishikawa M, Inoue M, et al. Edaravone, a radical scavenger, inhibits cisplatin-induced acute renal injury and chronic renal cyst formation by protecting renal mitochondria. *European Association of*

Urology Annual Congress 2010 (Barcelona, Spain, April 19, 2010)

- ③ Iguchi T, Delongchamps N, Wang C, et al. Pathological characteristics and manganese superoxide dismutase genetic polymorphism of prostate cancer in men 70 years or older: an autopsy study. 5th APSSAM Osaka Conference. (Osaka, Japan, October 19, 2009)
- ④ Wang C, Imaida K, Iguchi T, et al. Role of NF- $\kappa$ B in bladder carcinogenesis in the rat. Northeastern Section AUA 61st Annual Meeting (Montreal, Canada, October 8, 2009)
- ⑤ Iguchi T, Delongchamps N, Wang C, et al. Pathological Characteristics and Manganese Superoxide Dismutase Genetic Polymorphism of Prostate Cancer in Men 70 Years or Older: An Autopsy Study. American Urological Association Annual Meeting 2010 (San Francisco, CA USA, May 30, 2009)
- ⑥ Delongchamps N, Iguchi T, Wang C, et al. Pathological characteristics of prostate cancer in men 70 years or older: an autopsy study. American Urological Association Annual Meeting 2009 (Chicago, IL USA, April 26, 2009)
- ⑦ Wang C, Imaida K, Iguchi T, et al. Role of NF- $\kappa$ B in bladder carcinogenesis in the rat. AACR 100th Annual Meeting 2009 (Denver, CO USA, April 19, 2009)

〔図書〕 (計 1 件)

- ① Iguchi T, Haas GP. Abdominal Masses, The 5-Minute Urology Consult, 2nd edition, Lippincott Williams & Wilkins, ed. Leonard G. Gomella, MD, 2009: 2-3

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

井口 太郎 (IGUCHI TARO)

大阪市立大学・大学院医学研究科・講師  
研究者番号：80529206

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし