

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K09421

研究課題名（和文）腸内細菌叢が前立腺癌の進展に与える影響とそのメカニズムの解明

研究課題名（英文）Influence of gut microbiota on prostate cancer progression

研究代表者

松下 慎（Matsushita, Makoto）

大阪大学・大学院医学系研究科・招へい教員

研究者番号：40824785

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では食生活などの生活習慣による腸内細菌叢の変化が前立腺癌の進展に与える影響と、そのメカニズムの解明を目的として行った。まずは高脂肪食を摂取した前立腺癌モデルマウスで実験を行い、腸内細菌代謝産物の短鎖脂肪酸や腸内細菌叢の多様性の低下がそれぞれ異なるメカニズムで前立腺癌の増殖を促進することを明らかにした。さらに、ヒト腸内細菌叢を解析し、高悪性度前立腺癌を有する患者では *Alistips* などの菌種が有意に増加していること、腸内細菌叢の構成から算出される index は前立腺癌の予測マーカーとなりうることを示した。これらの結果から、腸内細菌叢が前立腺癌の病態に密接に関与していることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、腸内細菌叢が腸管局所の疾患のみならず、糖尿病や肝硬変などの全身の疾患に影響を与えることが、明らかになってきている。生活習慣がリスク因子になる前立腺癌においても腸内細菌叢の影響を受けることが疑われたが、両者の関係性は不明であった。しかし、本研究により腸内細菌代謝産物が前立腺癌の病態に関与することが示唆された。さらに、腸内細菌叢は前立腺癌の有用なマーカーになり、高リスク群への生活指導やプロ/プレバイオティクスによる腸内細菌叢への介入がリスク軽減に役立つ可能性がある。増加傾向にある前立腺癌に対する新たな予防戦略として、腸内細菌叢に関連する研究の更なる発展および臨床応用が期待される。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study was to elucidate the effects of changes in the intestinal microbiota caused by lifestyle habits, such as diet, on the progression of prostate cancer and the mechanisms underlying these. First, we conducted experiments with prostate cancer model mice fed a high-fat diet and found that short-chain fatty acids, a metabolite of intestinal bacteria, and decreased diversity of the gut microbiota promoted prostate cancer growth through different mechanisms. Furthermore, we analyzed the human gut microbiota and showed that bacterial such as *Alistips* and *Lachnospira* were significantly increased in patients with high-grade prostate cancer, and that index calculated from the composition of the gut microbiota could be a predictive marker for prostate cancer. These results suggest that the intestinal microbiota is closely involved in the pathogenesis of prostate cancer.

研究分野：前立腺癌

キーワード：前立腺癌 腸内細菌叢

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

前立腺癌は遺伝的素因のみならず、外的要因である生活習慣がリスクに強く関与する悪性腫瘍である。現在の我が国の急激な前立腺癌罹患率の増加は、食生活の欧米化がその一因であると考えられている。食生活の欧米化は脂質摂取量の増加から肥満をきたし、メタボリック症候群や癌を引き起こす。疫学研究では肥満以外にも乳製品の摂取など、様々な食生活が高悪性度前立腺癌のリスク因子になることも示唆されているが、その詳細な機序は不明であった。

ヒトの腸には約 100 兆の細菌が生息しており、食事や薬剤などによる腸内細菌叢の変化は宿主であるヒトの健康に影響を及ぼす。近年は細菌ゲノムシーケンシング技術の進歩により細菌叢の網羅的解析が可能となり、人体と腸内細菌叢の関係について急速に研究が進んでいる。その結果、腸疾患のみならず糖尿病などの全身の疾患に腸内細菌叢が関与することが明らかになってきた。悪性腫瘍についても研究されており、大腸癌や肝細胞癌に腸内細菌が影響を及ぼすことが報告されている。前立腺癌患者の腸内細菌叢が非癌患者と異なることが報告されており、両者の関連が示唆されているが、メカニズムは解明されていなかった。

腸内細菌叢が生活習慣で変化することは広く知られている。また、腸内細菌代謝産物が我々の健康に及ぼす影響の解明も進んできた。例えば、フェニル硫酸は基底膜の障害作用により腎不全の原因になる。そこで、生活習慣の影響下にある腸内細菌叢は何らかの代謝産物を介して前立腺癌の進展に影響すると仮説を立てた。仮説に基づき、我々は腸内細菌叢と前立腺癌の関係についての検討を本研究で行った。

2. 研究の目的

本研究では食生活などの生活習慣による腸内細菌叢の変化が前立腺癌の進展に与える影響と、そのメカニズムの解明を目的とした。以前に我々は前立腺癌マウスモデルを用いた検討において、高脂肪食による腸内細菌叢の変化が癌進展に関与することを示唆する知見を得ていた。そのため、本研究においてはマウスモデルを用いて、細菌代謝産物を介した腸内細菌叢による前立腺癌進展メカニズムの解明を試みた。一方で、腸内細菌叢の構成は動物種によって異なることが知られている。そこで、ヒト検体を用いて動物実験で得た知見の検証を行い、腸内細菌叢と前立腺癌の関係を臨床応用につなげることを第 2 の目的とした。

3. 研究の方法

(1) 細菌代謝産物が前立腺癌に影響を及ぼすメカニズムの解明

本研究では、前立腺癌発症マウスモデルとして前立腺特異的 Pten ノックアウトマウス [Pb-Cre⁺;Pten(f1/f1)] を用いた。通常食もしくは高脂肪食を摂取し、抗生剤投与群では抗生剤の投与を開始する。前立腺癌の増殖を有意にとらえることができる 22 週齢にて評価を行った。前立腺を採取し、重量と Ki-67 陽性率で癌の増殖・進展への影響を評価した。さらに、マイクロアレイやフローサイトメトリーで前立腺癌組織の遺伝子発現と免疫プロファイルを食餌や抗生剤の有無で比較した。便から細菌 DNA を抽出し、16S リボソーム RNA 遺伝子シーケンシングで腸内細菌叢を解析した。便検体を質量分析にかけて、腸内細菌代謝産物である短鎖脂肪酸を測定した。腸内細菌叢と遺伝子発現、免疫プロファイルの群間比較を行いマウス前立腺癌の進展に関与する細菌や代謝産物を同定した。

同定した代謝産物を前立腺癌マウスモデルに投与して癌への影響を評価した。代謝産物はその特性に合わせて飲水投与や腹腔内投与を行った。代謝産物の投与が前立腺癌に与える影響を、前立腺重量や Ki-67 陽性率、遺伝子発現の評価を行った。得られた結果から、腸内細菌叢や細菌代謝産物を介した前立腺癌進展メカニズムを解明した。

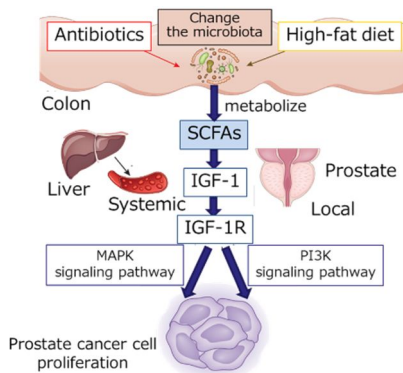
(2) 前立腺癌患者検体を用いた腸内細菌叢と前立腺癌の関係の解明

前立腺生検を受ける男性の便検体を用いて 16S リボソーム RNA 遺伝子シーケンシングで腸内細菌叢の解析を行った。大阪大学医学部附属病院と連携病院にて検体を収集した。高悪性度前立腺癌が検出された患者において、腸内細菌叢の多様性の変化や、増減する菌種を明らかにした。前立腺癌に関与しうる因子として、テストステロン値と細菌叢の相関を解析した。さらに、腸内細菌叢が前立腺癌のマーカーになりうるかを検証した。

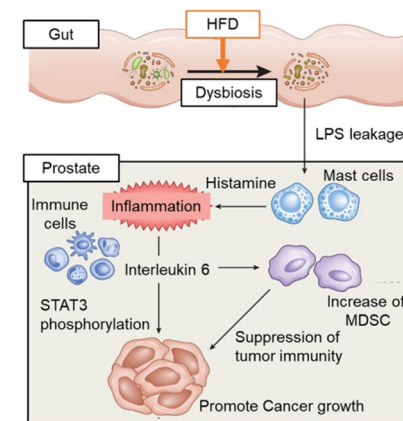
4. 研究成果

(1) 高脂肪食マウスでは抗生剤により前立腺重量及び癌細胞の Ki-67 陽性率は有意に低下した。一方で通常食マウスでは抗生剤による前立腺重量、Ki-67 陽性率の有意な変化は認められなかった。いずれの群でも前立腺癌の組織学的悪性度に差は認めなかった。抗生剤を投与された高脂肪食マウスは他と大きく異なる腸内細菌叢を有していた。高脂肪食マウスでは抗生剤投与により前立腺癌における Igf1 の発現が低下していた。そこで、Insulin like growth factor-1 (IGF-1) に関して詳細に評価すると、血中の IGF-1 濃度は抗生剤により有意に低下していた。さらに、IGF-1 シグナルの刺激を受ける IGF-1 受容体、AKT、ERK のリン酸化タンパクの癌細胞に

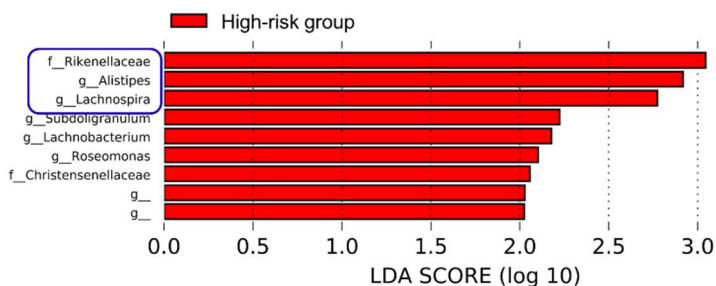
おける発現はいずれも抗生剤で低下し、高脂肪食の腸内細菌叢が IGF-1 シグナルを介して前立腺癌増殖を促進することが明らかになった。抗生剤投与マウスの腸内細菌叢では、数種類の短鎖脂肪酸産生菌の減少が認められた。IGF-1 産生促進作用を持つ短鎖脂肪酸の便中濃度を質量分析で測定すると、抗生剤投与マウスで有意に低下していた。そこで、抗生剤投与高脂肪食マウスに短鎖脂肪酸を経口補充したところ、血中 IGF-1 濃度は有意に上昇し、前立腺癌は増大した。これらの結果から、腸内細菌代謝産物の短鎖脂肪酸が宿主の IGF-1 産生を促進し、前立腺癌の増殖を促進することが明らかになった。



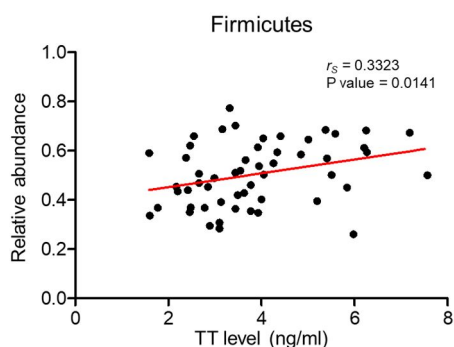
(2) 前立腺癌増殖を促進する高脂肪食摂取は前立腺組織中でヒスタミン産生に関与する Hdc の発現を上昇させた。高脂肪食摂取マウスの前立腺癌組織ではヒスタミン濃度が有意に上昇し、マスト細胞数も増加した。ヒスタミン受容体阻害剤であるフェキソフェナジンは前立腺癌の増殖を抑制した。同薬剤は、高脂肪食マウスの前立腺癌における MSDC 数や IL6/STAT3 シグナルを抑制したため、これらが高脂肪食による前立腺癌増悪の一因と考えられた。高脂肪食により、腸内細菌叢の多様性が低下した。その結果、腸管のバリア機能の低下、血中 LPS の増加を招いた。LPS を投与すると前立腺組織の Hdc 発現は上昇する、一方で LPS 阻害剤は前立腺癌の増殖を阻害した。これらの結果から、腸内細菌由来の物質である LPS はヒスタミンシグナルを介した前立腺癌増殖の原因となることが明らかになった。



(3) 前立腺生検を受ける男性 152 名(生検陽性 96 名、陰性 56 名)を 114 名の Discovery cohort と 38 名の独立した Test cohort に分けて腸内細菌叢の比較を行った。Discovery cohort において Rikenellaceae、Alistipes、Lachnospira が生検陰性及び Gleason score (GS) 6 の男性と比較し GS7 以上の高悪性度前立腺癌患者の腸内細菌叢で有意に増加していた。細菌叢多様性は癌の有無、悪性度による差を認めなかった。また、Lasso 回帰モデルを用いて選定された 18 種の細菌の量に基づく、独自の高悪性度癌予測 index を作成し、その診断能について ROC カーブ解析を行った。Discovery cohort では AUC が 0.85 であり、PSA 値 (AUC0.74) よりも優れた診断能を示した。Test cohort による検証では AUC が 0.81 となり、PSA 値の診断能を上回ることが確認された。



(4) 生検にて前立腺癌陰性であった男性を血中テストステロン値 3.5ng/ml で層別化したところ、高値群の腸内細菌叢では Firmicutes に属する Clostridiales、Turicibacter や Gemella が増加していた。Firmicutes の割合はテストステロン値と正の相関を示し、年齢や BMI に対して独立したテストステロン関連因子となった。



本研究により、腸内細菌叢はその代謝産物を介して前立腺癌の病態に関与することが示唆された。さらに、腸内細菌叢は前立腺癌の有用なマーカーになり、高リスク群への生活指導やプロ/プレバイオティクスによる腸内細菌叢への介入がリスク軽減に役立つ可能性がある。本邦において増加傾向にある前立腺癌に対する新たな予防戦略として、腸内細菌叢に関連する研究の更なる発展および臨床応用が期待される。

本邦において増加傾向にある前立腺癌に対する新たな予防戦略として、腸内細菌叢に関連する研究の更なる発展および臨床応用が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Matsushita Makoto, Fujita Kazutoshi	4. 巻 151
2. 論文標題 High fat diet promotes prostate cancer growth through histamine signaling	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 International Journal of Cancer	6. 最初と最後の頁 623 ~ 636
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ijc.34028	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 該当する
1. 著者名 Matsushita Makoto, Fujita Kazutoshi, Hatano Koji, De Velasco Marco A., Uemura Hirotsugu, Nonomura Norio	4. 巻 13
2. 論文標題 Connecting the Dots Between the Gut IGF-1 Prostate Axis: A Role of IGF-1 in Prostate Carcinogenesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Endocrinology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fendo.2022.852382	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 Matsushita Makoto, Fujita Kazutoshi	4. 巻 112
2. 論文標題 The gut microbiota associated with high Gleason prostate cancer	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Science	6. 最初と最後の頁 3125 ~ 3135
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cas.14998	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 Matsushita Makoto, Fujita Kazutoshi	4. 巻 81
2. 論文標題 Gut Microbiota Derived Short-Chain Fatty Acids Promote Prostate Cancer Growth via IGF1 Signaling	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Cancer Research	6. 最初と最後の頁 4014 ~ 4026
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1158/0008-5472.CAN-20-4090	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 該当する

1. 著者名 Matsushita Makoto, Fujita Kazutoshi, Hatano Koji, De Velasco Marco A., Tsujimura Akira, Uemura Hirotsugu, Nonomura Norio	4. 巻 41
2. 論文標題 Emerging Relationship between the Gut Microbiome and Prostate Cancer	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 The World Journal of Men's Health	6. 最初と最後の頁 759 ~ 759
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5534/wjmh.220202	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 Matsushita Makoto, Fujita Kazutoshi, Motooka Daisuke, Hatano Koji, Hata Junya, Nishimoto Mitsuhiro, Banno Eri, Takezawa Kentaro, Fukuhara Shinichiro, Kiuchi Hiroshi, Pan Yue, Takao Toshifumi, Tsujimura Akira, Yachida Shinichi, Nakamura Shota, Obara Wataru, Uemura Hirotsugu, Nonomura Norio	4. 巻 40
2. 論文標題 Firmicutes in Gut Microbiota Correlate with Blood Testosterone Levels in Elderly Men	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The World Journal of Men's Health	6. 最初と最後の頁 517 ~ 517
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5534/wjmh.210190	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 -

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 松下 慎
2. 発表標題 腸内細菌代謝産物の短鎖脂肪酸による前立腺癌増殖制御メカニズムの解明
3. 学会等名 第31回泌尿器科分子・細胞研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松下 慎
2. 発表標題 Lipopolysaccharide from dysbiotic gut microbiota due to high-fat diet promotes inflammatory prostate cancer growth through histamine H1 receptor signaling.
3. 学会等名 AUA 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松下 慎
2. 発表標題 Investigation of the role of gut-prostate axis in prostate cancer development and progression
3. 学会等名 AUA 2022 (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 松下 慎
2. 発表標題 腸内細菌が産生する短鎖脂肪酸はIGF-1を介して肥満マウスの前立腺癌の増殖を促進する
3. 学会等名 第80回 日本癌学会学術総会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松下 慎
2. 発表標題 高脂肪食摂取前立腺癌マウスモデルを用いた腸内細菌による代謝産物を介した癌増殖メカニズムの解明
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会 第40回学術大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松下 慎
2. 発表標題 日本人の高悪性度前立腺癌に関連する腸内細菌叢の解明
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会 第42回学術大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松下 慎
2. 発表標題 Lipopolysaccharide from high-fat diet-induced dysbiotic gut microbiota promotes inflammatory prostate cancer growth
3. 学会等名 第110回 日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 松下 慎
2. 発表標題 The relationship between gut microbiota and prostate cancer
3. 学会等名 第110回 日本泌尿器科学会総会
4. 発表年 2023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
研究 分 担 者	藤田 和利 (Fujita Kazutoshi) (50636181)	近畿大学・医学部・教授 (34419)	

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
---------	---------