

令和元年5月24日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11003

研究課題名(和文) 臨床応用を目指した前立腺癌の発生・進展に対する環境因子の影響に関する研究

研究課題名(英文) Study of environmental factors affecting the initiation and the progression of prostate cancer for the clinical application.

研究代表者

野々村 祝夫 (Nonomura, Norio)

大阪大学・医学系研究科・教授

研究者番号：30263263

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：遺伝子改変前立腺癌自然発症モデルマウスに高脂肪食およびセレコキシブを投与し、癌の進展について前立腺重量とHE染色、Ki67染色で、局所の免疫細胞についてはフローサイトメトリーで評価した高脂肪食によりマウスの前立腺癌重量は有意に増加し、Ki67陽性細胞の有意な増加を認めた。前立腺癌モデルマウスにおいて、高脂肪食は局所のマクロファージからのIL6分泌を増加させ、癌細胞への直接的なシグナル伝達と周囲の免疫細胞であるMDSC増加を介して癌の進展を促進した。またセレコキシブやIL6受容体阻害剤はその進展を抑制し、炎症を伴う前立腺癌の進展に対する有効な治療法であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前立腺癌の近年の発症増加は食生活の欧米化が原因と考えられているが、その機序は未だ明らかになっていない。慢性炎症がメタボリック症候群や癌の基礎的病態となっていることが明らかになりつつあり、前立腺癌の発症進展に食生活の変化による全身性慢性炎症が重要な役割を果たしている可能性がある。本研究ではこれらが明らかになり、日常生活の生活習慣を変えることにより前立腺癌の進展を抑えることができる可能性が示唆された。また、炎症が重要な役割を果たしていることが明らかになり、それらをターゲットとした新規予防法、治療法の確立につながる可能性が高いと考える。

研究成果の概要(英文)：Inflammation and immune responses play important roles in tumor progression. High-fat diet (HFD) causes obesity and systemic inflammation. In this study, HFD accelerated tumor growth and increased local myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) in autochthonous model mice for prostate cancer, both of which were suppressed by celecoxib. HFD-induced tumor growth was associated with IL6 secreted by prostatic macrophages. Inhibition of IL6 signaling also suppressed tumor growth and decreased MDSCs in HFD-fed mice. In human prostatectomy specimens, the tumor-infiltrating MDSCs of obese patients with prostate cancer were also higher than those of non-obese patients. Our results suggest that HFD-induced prostate cancer growth via IL6 signaling could also exist in obese human. Anti-inflammatory drugs, such as celecoxib, have potential clinical benefits for obese patients with prostate cancer.

研究分野：前立腺癌

キーワード：前立腺癌 高脂肪食

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

前立腺癌は我が国でも急激な増加傾向にあるが、その背景には食生活の欧米化が大いに関連していると考えられている。前立腺癌の発生機序や進展の機序を理解することは、発癌予防の観点から非常に重要であると考えられる。食事などの環境因子や生活習慣と前立腺癌の発生や進展との関連については以下のような報告がある。

- 肥満と前立腺の発癌に関する疫学研究では、肥満は悪性度の高い前立腺癌の発生に関しては危険因子である。
- 最近、2型糖尿病の治療薬である metformin の前立腺癌発症予防効果に関しては否定的ではあるが、前立腺癌患者の予後を改善する。

このように、食事や栄養状態に関連した宿主の体内環境と前立腺癌の増殖・進展に関しては様々な疫学的報告はあるものの、いずれも直接的な因果関係を証明するものではない。前立腺癌の発生や癌の進展には、炎症や食事などによって引き起こされる様々な周囲環境の変化が大きく影響していると考えられる。申請者らは、heterocyclic amine の一つである 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b] pyridine (PhIP) によるラットの前立腺発癌モデルを用いて以下のことを明らかにした。

- 前立腺発癌初期にはマスト細胞やマクロファージなどの自然免疫細胞の浸潤を特徴とした炎症が誘発され、proliferative inflammatory atrophy (PIA), prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) という前癌病変を経て前立腺癌になるという段階的発癌を来す。
- PhIP 投与ラットに Lipopolysaccharide による前立腺炎を誘発すると、上皮再生の亢進と PIN 様病変の増加が見られる。

さらに、申請者らはこれらの自然免疫細胞の浸潤は前立腺癌の予後とも密接に関連していることをヒトの前立腺全摘除術標本を用いた臨床病理学的な検討によって明らかにした。これらの知見を背景として、前立腺癌の発生・進展・転移の機序を解明することは予防医学にも直結し、非常に重要な課題であると考えられる。

2. 研究の目的

前立腺癌の近年の発症増加は食生活の欧米化が原因と考えられているが、その機序は未だ明らかになっていない。慢性炎症がメタボリック症候群や癌の基礎的病態となっていることが明らかになりつつあり、前立腺癌の発症進展に食生活の変化による全身性慢性炎症が重要な役割を果たしている可能性がある。本研究では以下の2点について研究を行う。

- (1) 前立腺発癌モデルマウスを用いて、前立腺癌の発生・増殖・進展と食餌の関係を慢性炎症の観点から検討する。
- (2) 得られた知見を元に、前立腺癌発症進展の予防法の基礎的研究を行う。

3. 研究の方法

(1) Pten を前立腺特異的ノックアウトマウス ($Pten^{fl/fl}$ マウス) において、高炭水化物食・高脂肪食が前立腺発癌・進展に及ぼす影響を検討し、メカニズムの解明を行う。

(2) 前立腺癌患者において、メタボリックシンドロームと摘除前立腺内の炎症細胞浸潤、血清中の炎症性マーカー (Na, CRP, IL-6 など) の値と臨床病理学的所見との関連を検討する。

4. 研究成果

遺伝子改変前立腺癌自然発症モデルマウス ($<Pb-Cre^{+};Pten^{fl/fl}>$) に高脂肪食およびセレコキシブを投与し、癌の進展について前立腺重量とHE染色、Ki67染色で、局所の免疫細胞についてはフローサイトメトリーで評価した。局所での発現が癌の進展と関連しているサイトカインを探索同定し、その阻害剤をモデルマウスに投与して癌の進展と局

所の免疫細胞の変化を評価した。その結果、高脂肪食によりマウスの前立腺癌重量は有意に増加し、Ki67陽性細胞の有意な増加を認めた。また高脂肪食は局所でのMyeloid-derived suppressor cells (MDSC)とM2/M1マクロファージ比を有意に増加させた。セレコキシブはこれらの高脂肪食による癌の進展と局所での免疫細胞の変化を有意に抑制した。局所での*Il6*と*Il13*の遺伝子発現の変化が高脂肪食による癌の進展およびセレコキシブによる癌の進展抑制と有意に関連していた。免疫組織化学染色の結果よりIL6は局所のマクロファージから分泌されており、IL6シグナル伝達を介するリン酸化STAT3の癌細胞での発現が高脂肪食による癌の進展およびセレコキシブによる癌の進展抑制と有意に関連していた。IL6受容体阻害剤をモデルマウスに投与すると、高脂肪食による癌の進展と局所でのMDSC増加を有意に抑制した。前立腺癌モデルマウスにおいて、高脂肪食は局所のマクロファージからのIL6分泌を増加させ、癌細胞への直接的なシグナル伝達と周囲の免疫細胞であるMDSC増加を介して癌の進展を促進した。またセレコキシブやIL6受容体阻害剤はその進展を抑制し、炎症を伴う前立腺癌の進展に対する有効な治療法であると考えられた。

また前立腺生検を施行した966例を対象とし、年齢・PSA値・前立腺体積・白血球数・白血球の各分画(好中球・リンパ球・単球・好酸球・好塩基球)・CRP値と生検結果との関連を検討し、グリソンスコアが7以上と関連する因子を検討した。その結果、553例(57.2%)が前立腺癌と診断され、そのうちの421例がグリソンスコア 7以上であった。年齢・PSA値・PSAD(PSA値/前立腺体積)・単球分画・MLR(単球/リンパ球比)・CRP値が高グリソンと有意に関連しており、多変量解析では年齢・PSA値・PSAD・単球分画が高グリソンと有意に関連していた。この4因子での高グリソンの予測モデルでは、AUCは0.841(95%信頼区間は0.814-0.865)であった。またPSA値が10ng/ml未満であった571例で同様の検討を行ったところ、年齢・PSA値・PSAD・白血球数・好中球分画・単球分画・MLRが高グリソンと有意に関連しており、多変量解析では年齢・PSAD・単球分画が高グリソンと有意に関連していた。この3因子での高グリソンの予測モデルでは、AUCは0.778(95%信頼区間は0.738-0.818)であった。一方PSA値のみでの高グリソンの予測モデルでは、AUCは0.586(95%信頼区間は0.535-0.634)であった。高グリソンスコアの前立腺癌患者では末梢血中の単球分画が上昇しており、PSA値が10ng/mlという比較的低値の群でも同様であった。末梢血中単球分画は高グリソンスコアの前立腺癌のバイオマーカーの1つとなる可能性があるとともに、局所前立腺癌の悪性度と末梢血中の単球との関連が示唆された。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 4 件)

1. Hayashi T, Fujita K, Matsushita M, Hayashi Y, Uemura M, Nonomura N. Metformin inhibits prostate cancer growth induced by a high-fat diet in Pten-deficient model mice. *Int J Urol*. 2019 Feb;26(2):307-309. 査読あり
2. Hayashi T, Fujita K, Nojima S, Hayashi Y, Nakano K, Ishizuya Y, Wang C, Yamamoto Y, Kinouchi T, Matsuzaki K, Jingushi K, Kato T, Kawashima A, Nagahara A, Ujike T, Uemura M, Rodriguez Pena MDC, Gordetsky JB, Morii E, Tsujikawa K, Netto GJ, Nonomura N. High-Fat Diet-Induced Inflammation Accelerates Prostate Cancer Growth via IL6 Signaling. *Clin Cancer Res*. 2018 Sep 1;24(17):4309-4318. 査読あり

3. Hayashi T, Fujita K, Nojima S, Hayashi Y, Nakano K, Ishizuya Y, Wang C, Yamamoto Y, Kinouchi T, Matsuzaki K, Kawamura N, Jingushi K, Kawashima A, Nagahara A, Ujike T, Uemura M, Imamura R, Morii E, Nonomura N. Peripheral blood monocyte count reflecting tumor-infiltrating macrophages is a predictive factor of adverse pathology in radical prostatectomy specimens. Prostate. 2017 Oct;77(14):1383-1388. 査読あり
4. Hayashi T, Fujita K*, Tanigawa G, Kawashima A, Nagahara A, Ujike T, Uemura M, Takao T, Yamaguchi S, Nonomura N. Serum monocyte fraction of white blood cells is increased in patients with high Gleason score prostate cancer. Oncotarget. 2017 May 23;8(21):35255-35261. 査読あり

〔学会発表〕(計 3 件)

発表者：松下慎、藤田和利、林拓白、洪陽子、中野剛佑、林裕次郎、石津谷裕、加藤大悟、河嶋厚成、氏家剛、永原啓、植村元秀、野々村祝夫
演題名：前立腺癌発症モデルマウスにおける、高脂肪食による腫瘍増殖に対するメトホルミンの抑制効果の検討
学会名：第 107 回日本泌尿器科学会
発表年：2019 年

発表者：林 拓白、藤田和利、野島 聡、林裕次郎、神宮司健太郎、加藤大悟、河嶋厚成、氏家 剛、永原 啓、植村元秀、森井英一、辻川和丈、野々村祝夫
演題名：前立腺癌モデルマウスにおいて、高脂肪食による局所での炎症・免疫反応は IL6 シグナルを介して癌の進展を促進する
学会名：第 106 回日本泌尿器科学会
発表年：2018 年

発表者：林 拓白、藤田和利、石津谷祐、王聡、山本致之、木内利郎、松崎恭介、川村 憲彦、河嶋厚成、氏家剛、永原啓、植村元秀、野々村祝夫
演題名：前立腺癌モデルマウスにおいて、高脂肪食は癌の進展と前立腺組織内免疫細胞の腫瘍促進性変化を起こす
学会名：第 105 回日本泌尿器科学会
発表年：2017 年

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：藤田 和利

ローマ字氏名：Kazutoshi Fujita

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：講師

研究者番号（8桁）：50636181

研究分担者氏名：植村 元秀

ローマ字氏名：Motohide Uemura

所属研究機関名：大阪大学

部局名：医学系研究科

職名：特任准教授（常勤）

研究者番号（8桁）：40631015

(2)研究協力者

研究協力者氏名：林 拓自

ローマ字氏名：Takuji Hayashi

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。