

機関番号：12301

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591851

研究課題名（和文）前立腺癌の発生・生物学的特性・増殖に関する内分泌学的因子の研究

研究課題名（英文）Impact of endocrine environment on the development, biological features and progression of prostate cancer.

研究代表者

伊藤 一人 (ITO KAZUTO)

群馬大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号：00302472

研究成果の概要（和文）：

食習慣の欧米化による血清中コレステロール濃度上昇は、糖質コルチコイド濃度の変化をもたらし、性ホルモン環境の変化をきたす。本研究では性ホルモン環境と前立腺癌発症の関連性を検証した。前立腺癌症例群と対照（非癌）群において、数年前の血清中プレグネノロン(P5)は癌症例において有意に高くなり、エストラジオール(E2)、11-デオキシコルチコステロン(DOC)濃度は対照群で有意に低くなり、CYP11A1による性ホルモンへの変換促進が発癌に関与している可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

Increased serum cholesterol concentration due to westernized diet may affect mineral corticoids concentration and following changes in sex hormone environment in human. In the present study, we investigated correlation between serum sex hormones and promotion of prostate cancer. A case control study demonstrated that patients diagnosed with prostate cancer had significantly higher serum pregnenolone (P5) level and lower both estradiol and 11-deoxycorticosterone levels in the serum taken several years ago compared with men without clinically manifested prostate cancer. An acceleration of converting enzyme, CYP11A1, may play some role to lead such a specific endocrine feature and following cancer development.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2010年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

研究分野：泌尿器腫瘍学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：前立腺癌、性ホルモン、テストステロン、コルチゾール、コルチゾン、前立腺特異抗原

1. 研究開始当初の背景
日本における近年の前立腺癌罹患数・死亡数

増加の一因は食生活の欧米化といわれ、高脂肪食の摂取により引き起こされるコレステ

ロールの血中濃度の上昇は、その後の代謝経路によって、様々な性ホルモンに変換されることより、食環境の変化は、血中の性ホルモン濃度の変化をもたらすと考えられる。将来も、その増加傾向は続き、2000年から2020年にかけて罹患数は3.4倍となり、肺癌に次いで2番目の罹患数になるとの予測がある。また、2000年の死亡数（推定値）に対して2020年の死亡数の予測値は2.8倍となり、男性癌の中でもっとも上昇率が高いと予想されている。また、疫学調査によると本邦における前立腺癌罹患率は欧米諸国の1/5~1/10と報告されているが、日本の前立腺癌スクリーニングにおける初回受診者の癌発見率は欧米諸国の1/2程度であることや、Itoらによるオランダ・エラスムス大学との共同研究によって、前立腺癌が臨床的に疑われない症例の4年間の経過観察中におけるPSA値の異常症例比率の日欧間格差は2倍以下であったことから、現時点においても日本の前立腺癌罹患率は過小評価されている可能性が高い。

これらの背景には、近年の、日本における食習慣の変化により、内分泌環境が変化してきた可能性が示唆され、その変化が前立腺癌の発症の増加に関与している可能性が示唆されることから、日本人の性ホルモン環境と前立腺癌の発症の関連性を検証することが急がれる。また、前立腺癌の予見因子としての性ホルモン環境の意義については、現在人種差を超える前立腺癌罹患危険因子といわれている、PSA基礎値との組み合わせにより、より正確な前立腺癌罹患危険率の予測が可能か否かの検証が重要である。

2. 研究の目的

近年の日本における食環境の変化に伴って変化すると予測される、内分泌環境に注目し、男性ホルモン依存性の臓器である前立腺癌の発症メカニズムの解明に貢献することが本研究の大きな目的である。食生活の欧米化にともなう、血清中の脂質環境の変化は、血清中のコレステロール濃度の変化のみにとどまらず、副腎のコルチゾール、コルチコステロンなどの糖質コルチコイド濃度の変化をもたらし、血清中・精巢中・前立腺組織内の性ホルモン濃度の変化をきたすことは確実であり、個人々々の 3β 水酸化ステロイド脱水素酵素、 21 水酸化酵素、 11β 水酸化酵素、アロマターゼなどの変換酵素の活性の違いにより、最終的な体内の内分泌環境が決定されると考えられる。

今回の研究においては、方法論がすでに確立された血清中のホルモンの一斉分析により12項目のホルモン濃度を測定し、日本人の食生活習慣の変化に加え、性ホルモンの代謝経路の酵素活性には個人差があることか

ら、最終的な個々人の内分泌環境を知ることができ、かつて検討されたことがない、前立腺癌危険因子の分析が可能になると可能性が高い。本研究は、年間10,000~20,000例の登録がある群馬県の前立腺癌検診受診者の凍結保存血清バンク（研究利用への同意取得済み）を用いて理想的な研究計画の立案が可能であり、さらに検診データとのリンクによって、受診者のPSA値、年齢、癌登録情報などの基本的な情報収集が可能であり、癌症例の非癌症例の内分泌環境の相違についてその後ろ向き研究により、前立腺癌の進展に係る性ホルモン環境について知見が得られる可能性が高い。また、前立腺癌罹患危険因子として、男性ホルモン依存性の臓器である前立腺は、内分泌環境が重要であるにもかかわらず、現在までに世界研究が行われたことがなく、本研究でその意義を検証することの学術的意義は大きい。また、PSA値正常症例の将来の前立腺癌予見因子の一つとしてPSA基礎値以外の有用な予見指標が解明されれば、前立腺癌スクリーニングにおける適正な検診受診間隔および外来受診間隔の確立等、世界的な医療経済上の恩恵は大きいと思われる。

前立腺癌スクリーニングの普及により前立腺癌死亡率の低下が認められている欧米においては、その過程で過剰治療を受けている症例が存在することが、スクリーニングを健康管理の一つとしてルーチンに行うべきか否かの重要な焦点になっている。そのため世界の研究機関において、特に悪性度が低く、腫瘍体積が小さいと考えられる前立腺癌症例を対照にした、即時治療を行わずに、PSA値や定期的な前立腺生検によって厳重に監視をする「PSA監視療法」の安全性に関する研究が始まっている。本研究により、前立腺癌の進展と内分泌環境の関連性が明らかになれば、より正確なPSA監視療法の適応症例が同定され、それによって、結果的に過剰治療をされる症例数を減らすことができれば、前立腺癌スクリーニングの意義はさらに高くなることから、本研究の意義は大きい。

3. 研究の方法

群馬大学医学部附属病院泌尿器科で前立腺生検を行った症例、あるいは群馬県の前立腺癌検診受診者の凍結保存血清を用いた、血清中のエストラジオール、テストステロン、ジヒドロテストステロン(DHT)、アンドロステンジオン、プロゲステロン、プレグネノロン、デヒドロエピアンドロステロン(DHEA)、エストロン、コルチゾール、コルチゾン、コルチコステロン、 11 -デオキシコルチコステロンの12項目の一斉分析により、以下のことを検証する。

1) 前立腺癌症例と非癌症例の血清内分泌環

境の比較：群馬県前立腺癌検診を受診し前立腺癌が診断されたあるいは群馬大学医学部附属病院泌尿器科で前立腺癌が診断された症例に対し、癌診断直前の検診時あるいは癌診断の契機となった生検前の保存血清を用いて血清中のホルモン12項目の一斉分析を行う。血清中のホルモンの一斉測定は精度の高い測定法を確立している、帝国臓器メディカルの研究所にて行った。前立腺癌症例60例と、平均年齢を適合させた非癌症例20例を抽出し、血清中のエストラジオール、テストステロン、DHT、アンドロステジオン、プロゲステロン、プレグネノロン、DHEA、エストロン、コルチゾール、コルチゾン、コルチコステロン、11-デオキシコルチコステロンの測定を行い、前立腺癌症例と非癌症例の内分泌環境の比較を行なった。測定法の概略は以下の通りである。ヒト血清 200-500 μ l に、内部標準 (Testosterone-deutrium (d) 3, 5 α -dehydroxytestosterone-d3、Estradiol- $^{13}C_4$ 、Androstenedione-d7、Androstenediol-d4、Dehydroepiandrosterone-d4) を 100 pg ずつ添加し、さらに精製水 750 μ l、エーテル 4 ml を添加し、10 分間振盪後に凍結し、エーテル層を分取する。エーテル層を 40 度のウォーターバス内で蒸発させ、さらに窒素ガスを用いて留去する。続いて、試料を真空乾燥し、誘導体化試薬 (4 ジメチルアミノピリジン 10 mg、2 メチル 6 ニトロ安息香酸無水物 20 mg、ピコリン酸 20 mg をテトラヒドロフラン 1 ml で溶解したもの) 100 μ l、トリエチルアミン 20 μ l を添加後、室温で 30 分放置し、ピコリノイル誘導体化する。1%酢酸 1 ml を添加し、誘導体化反応を停止する。逆相カラム (Bond Elut C18 カラム) に試料を添加する。40%アセトニトリル 3 ml を添加し、カラムを洗浄する。80%アセトニトリル 3 ml を添加し、誘導体化したステロイド分画を溶出する。遠心エバポレーターを 53 度、3 時間かけ、溶出したステロイド分画を留去する。HPLC 溶液に溶解後、LC-MS/MS で測定する。

2) 前立腺癌罹患危険予見因子としての内分泌環境の重要性に関する症例対照研究：対象は、PSA 基礎値が 4.0 ng/ml 以下で、その後の検診にて PSA の上昇を契機に前立腺癌が診断された 20 症例 (症例群) と、初回受診時の年齢 (± 1 歳) と PSA 基礎値 (± 0.2 ng/ml) をマッチさせた非前立腺癌症例 40 例 (対照群) である。本研究での重要点は、対照群の症例抽出において、最終検診受診の時点で見逃された前立腺癌症例のコンタミネーションを避け、さらに将来にわたり、前立腺癌罹患の危険の少ない症例を抽出する、ということに他ならない。そのため今回の対照症例の抽出の際には、年齢と PSA 基礎値をマッチさせた症例の中から、最終検診受診時の PSA 値

が 4.0 ng/ml 以下かつ年較差 PSA 値 (PSAV) が 0.2 ng/ml/年より低い症例を抽出した。これにより、将来の前立腺癌罹患危険の低い症例の抽出が可能になる。癌症例・非癌症例の 60 症例において PSA 基礎値が測定された時点の凍結保存血清 ($-80^{\circ}C$ 保存) を用い、血清中のホルモン 12 項目の一斉分析を行う。測定は帝国臓器メディカルのラボラトリーで行った。

4. 研究成果

1) 前立腺癌症例と非癌症例の血清内分泌環境の比較：癌と非癌症例で、コルチゾン (E) 濃度は有意に癌症例において高くなった。その他、コルチゾール (F) は、非癌症例で高い傾向にあったが有意差はなく、DHT は癌症例高い傾向にあるも有意差はなかった。血清中のホルモンバランスに関しては、F/E 比は F 検定で等分散を示し、非癌症例では 4.13 ± 0.96 と、癌症例の 2.75 ± 0.84 と比較し有意に高くなり、さらには DHT/(F/E) は癌症例で 0.24 ± 0.11 と非癌症例の 0.13 ± 0.07 と比べ有意に高くなった。以上より、性ホルモンの代謝経路のうち、 11β 水酸化酵素の活性が低下によって上記のホルモンバランスの変化が生じて癌の発症危険率が高くなっている可能性が示唆された。

2) 前立腺癌罹患危険予見因子としての内分泌環境の重要性に関する症例対照研究：症例群と対照群における初回受診時の血清中のホルモン環境は、プレグネノロン (P5) 濃度は症例群において平均 153.1 pg/mL と、対照群の平均値である 97.7 pg/mL と比較し有意に高くなった ($p=0.004$)。その他、エストラジオール (E2) と 11-デオキシコルチコステロン (DOC) は、対照群において症例群よりも有意に高値であった。癌の臨床的な発症の数年前の血清中の P5 の有意な上昇は、コレステロールから CYP11A1 (desmolase) による変換が進んでいることによると考えられ、このようなホルモン環境の数年の曝露が前立腺癌の発症につながった可能性が示唆される結果であった。また、血清中の E2 が高値であることは、癌の発症に抑制的に働く可能性も示唆された。

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 15 件)

- ① 伊藤一人、泌尿器系腫瘍、前立腺癌治療のアップデート、癌と化学療法、査読無、38、2011、48-53
- ② Naito S, Ito K、(他 15 名 : 17 番目 : 執筆責任者)、Updated Japanese

- Urological Association Guidelines on prostate-specific antigen-based screening for prostate cancer in 2010, Int J Urol, 査読有、17、2010、830-838
- ③ 伊藤一人、前立腺がん検診：死亡率低下効果のエビデンスと将来展望、臨床泌尿器科、査読無、64、2010、901-910
- ④ 伊藤一人、前立腺癌 PSA スクリーニング：泌尿器科医の視点から見た利益・不利益、泌尿器外科、査読無、23、2010、529-536
- ⑤ 伊藤一人、(他5名：1番目)、高リスク群に対する外照射＋高線量率組織内照射療法の治療成績、泌尿器外科、査読無、23(臨増)、2010、437-439
- ⑥ 伊藤一人、局所進行前立腺癌に対する内分泌療法に至適併用療法、泌尿器外科、査読無、23、2010、1061-1063
- ⑦ Abdulah R, Ito K, (他8名：6番目)、Selenium enrichment of broccoli sprout extract increases chemosensitivity and apoptosis of LNCaP prostate cancer cells, BMC Cancer, 査読有、9、2009、414
- ⑧ Ito K, Prostate-specific antigen-based screening for prostate cancer: evidence, controversies and future perspectives, Int J Urol, 査読有、16、2009、458-464
- ⑨ Miyakubo M, Ito K, (他4名：2番目：執筆責任者)、Prostate-specific antigen: its usefulness in the era of multiple-core prostate biopsy, Int J Urol, 査読有、16、2009、561-565
- ⑩ Cooperberg MR, Ito K, (他5名：4番目)、Risk assessment among prostate cancer patients managed with primary androgen deprivation therapy: a transpacific study, J Clin Oncol, 査読有、27、2009、4306-4313
- ⑪ Ito K, Re: Mortality results from a randomized prostate-cancer screening trial, Eur Urol, 査読有、56、2009、743-744
- ⑫ Ito K, (他3名：1番目)、Japanese Urological Association guidelines on prostate-specific antigen-based screening for prostate cancer and the ongoing cluster cohort study in Japan, Int J Urol, 査読有、15、2008、763-768
- ⑬ Ohi M, Ito K, (他5名：2番目：執筆責任者)、Changes in baseline PSA levels in Japanese men from 1988 to 2003, Urology, 査読有、72、2008、95-98
- ⑭ Yamamoto T, Ito K, (他6名：2番目：執筆責任者)、Nomogram ranking as new objective evaluation method in various treatment strategies for patients with prostate cancer with various clinicopathologic backgrounds. Urology, 査読有、72、2008、892-897
- ⑮ Takechi H, Ito K, (他4名：2番目：執筆責任者)、Prostate-Specific Antigen Kinetics in Screen-Detected Prostate Cancer in Japan, Urology, 査読有、72、2008、1111-1115
- [学会発表] (計43件)
- ① Miyakubo M, Ito K, 他、Diagnostic significance of [-2]proPSA, total and transition zone prostate volume adjusted PSA-related indices in Japanese men with total PSA in the 2.0 to 10.0 ng/ml range, 第26回欧州泌尿器科学会年次総会、2011.3.19、オーストラリアセンター・ウィーン(ウィーン、オーストリア)
- ② Ito K, 他、Diagnostic significance of [-2]proPSA and volume adjusted PSA-related indices in Japanese men with total PSA in the 2.0 to 10.0 ng/mL range, 第105回米国泌尿器科学会年次総会、2010.6.1、モスコウ国際会議場(サンフランシスコ、アメリカ合衆国)
- ③ Ito K, Controversy over prostate-specific antigen screening has shifted from mortality to overtreatment issues, 第105回米国泌尿器科学会年次総会、2010.6.1、モスコウ国際会議場(サンフランシスコ、アメリカ合衆国)
- ④ Ito K, 他、Japanese Prospective Cohort Study of Screening for Prostate Cancer (JPSPC): analyses on compliance, contamination and mortality until 2008 (Gunma section)、第25回欧州泌尿器科学会年次総会、2010.4.19、フィラ・バルセロナ(バルセロナ、スペイン)
- ⑤ Ito K, 他、Japanese Prospective Cohort Study of Screening for Prostate Cancer (JPSPC): analyses on compliance and contamination until 2008 (Gunma section)、3rd World Congress on Controversies in Urology (CURy)、2010.2.26、ヒルトンアテネ(アテネ、ギリシャ)
- ⑥ Ito K, 他、Impact of insulin-like growth factor (IGF) kinetics on the development of prostate cancer: age-adjusted and baseline PSA-adjusted case control study, 第104回米国泌尿器科学会年次総会、2009.4.29、シカゴコンベンションセンター(シカゴ、アメリカ合衆国)
- ⑦ Ito K, 他、Japanese Prospective Cohort

- Study of Screening for Prostate Cancer (JPSPC): analyses on compliance, contamination and mortality until 2007 (Gunma section)、第104回米国泌尿器科学会年次総会、2009.4.29、シカゴコンベンションセンター (シカゴ、アメリカ合衆国)
- ⑧ Ito K、他、Long-term risk of developing clinically manifested prostate cancer in men with negative biopsy results at the initial multiple-core prostate biopsy、第104回米国泌尿器科学会年次総会、2009.4.29、シカゴコンベンションセンター (シカゴ、アメリカ合衆国)
- ⑨ Ito K、他、Impact of exposure rate of prostate specific antigen (PSA) screening on incidence of metastatic prostate cancer in Japan、第104回米国泌尿器科学会年次総会、2009.4.29、シカゴコンベンションセンター (シカゴ、アメリカ合衆国)
- ⑩ Ito K、他、Impact of body mass index on serum PSA levels and PSA velocities in Japanese males、第104回米国泌尿器科学会年次総会、2009.4.26、シカゴコンベンションセンター (シカゴ、アメリカ合衆国)
- ⑪ Ito K、他、Impact of low dose finasteride for the treatment of androgenic alopecia on serum prostate specific antigen (PSA) levels in men participated in population-based screening for prostate cancer、第104回米国泌尿器科学会年次総会、2009.4.26、シカゴコンベンションセンター (シカゴ、アメリカ合衆国)
- ⑫ Ito K、Japanese Prospective Cohort Study of Screening for Prostate Cancer (JPSPC): The Study Concept and the First Analyses on Compliance and Contamination for the PSA test、第24回欧州泌尿器科学会年次総会、2009.3.17、ストックホルム国際会議場 (ストックホルム、スウェーデン)
- ⑬ Ito K、他、Impact of pretreatment factors, biopsy Gleason grade volume index and post treatment nadir PSA on cause-specific and overall survival in patients with stage IV prostate cancer、2nd World Congress on Controversies in Urology (CURy)、2009.2.6、リスボン会議場 (リスボン、ポルトガル)

〔図書〕 (計2件)

- ① 筧 善行、伊藤一人、他、中外医学社、前立腺癌診療:こんなときどうするQ&A、2010、251(pp14-17)
- ② 伊藤一人、他、重粒子線治療 切らずに治すがん治療と医療最前線、(財)群馬健康医学振興会、群馬大学医学部同窓会刀城クラブ編、上毛新聞社、2010、221(pp175-179)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

伊藤 一人 (ITO KAZUTO)

群馬大学・大学院医学系研究科・准教授

研究者番号: 00302472