

科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 18 日現在

機関番号：11401
 研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2011～2012
 課題番号：23791739
 研究課題名（和文）脂肪組織由来 MCP-1 を介した高脂肪食摂取下の前立腺癌増殖・進展機序の解明
 研究課題名（英文）Mechanisms of high-fat induced prostate cancer progression through Monocyte Chemoattractant Protein-1 secreted by adipose tissue
 研究代表者
 成田 伸太郎 (SHINTARO NARITA)
 秋田大学・医学部・講師
 研究者番号：40396552

研究成果の概要（和文）：食事の違いによる前立腺癌増殖への影響とそれに関与する血清因子の役割を *in vivo* および *ex vivo* で検討した。前立腺癌 LNCaP xenograft モデルにおいて高脂肪食摂取は高炭水化物と control diet 摂取より腫瘍増殖を促進した。同時に高脂肪食摂取群で血清 MCP-1 が有意に上昇した。高脂肪食群では MCP-1 の受容体である CCR2 の腫瘍内発現が亢進し、リン酸化 Akt が増加した。また高脂肪食摂取マウス血清で培養した前立腺癌細胞株は細胞増殖が亢進し、これは CCR2 を低下させることで阻害された。上記は高脂肪食が MCP-1/CCR2 シグナルを介して癌増殖に関与する可能性があることを示唆している。

研究成果の概要（英文）：We investigated the effects of different diets on prostate cancer cell growth and the relevant circulating factors including serum insulin, growth factors, and inflammatory cytokines using the *in vivo* and *ex vivo* model. The tumor growth of prostate cancer LNCaP xenograft was significantly higher in the HFD group than in the HCD and control diet (CD) groups. The mean level of the serum monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) in the HFD group was significantly higher than that in the HCD and CD groups. The mRNA levels of CC chemokine receptor 2 (CCR2), which is an MCP-1 receptor, and the expression of activated Akt were the highest in the HFD group. Furthermore, serum from HFD-fed mice enhanced the proliferation of two PCa cells and CCR2 knockdown inhibited HFD-induced proliferation of LNCaP cells. In conclusion, an HFD enhanced prostate cancer cell growth more strongly than an HCD or CD. MCP-1/CCR2 signaling may be involved in an HFD-induced prostate cancer progression.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|-------|-----------|---------|-----------|
| 交付決定額 | 2,800,000 | 840,000 | 3,640,000 |

研究分野：医歯薬学

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、肥満、高脂肪、Monocyte Chemoattractant Protein-1, MCP-1

1. 研究開始当初の背景
 疫学的研究により高脂肪食および肥満は前立腺癌のリスクファクターと言われているが、その分子生物学的機序は未だ不明である。我々は高脂肪食が前立腺癌 xenograft の増殖を促進し、その中のサイトカインやその受容

体が増殖促進に関与することを報告している。

2. 研究の目的
 その中で特に有望と考えているケモカイン MCP-1 の高脂肪食摂取下前立腺癌増殖・進展における役割を検討するとともに、特にこ

の活性化が脂肪組織由来であることを実験動物、細胞生物学、臨床検体を用いて多角的に検討することが目的である。

3. 研究の方法

①MCP-1/CCR2を介した高脂肪食摂取下の前立腺癌増殖・進展の in vivoでの証明

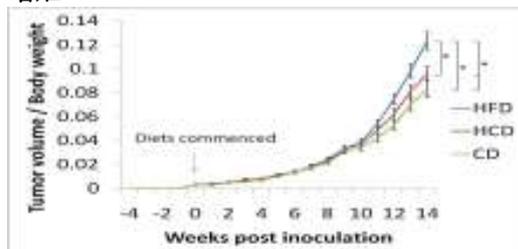
②MCP-1/CCR2を介した高脂肪食摂取下の前立腺癌増殖・進展の in vitro, ex vivoでの証明。

③上記モデルを使用した下流シグナルの解析

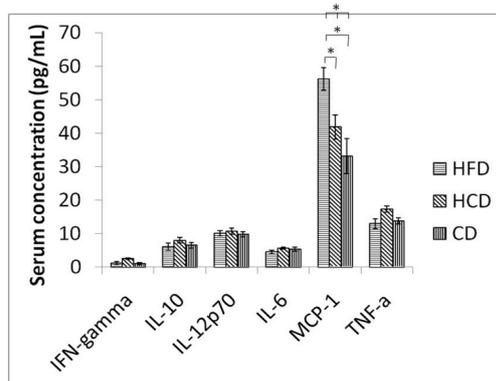
4. 研究成果

(1) 皮下に前立腺癌細胞株 LNCaP を移植した Balb/c マウスに高脂肪食、高炭水化物、高タンパクと高脂肪を兼ねる Western diet の3種類の食餌を与え、腫瘍増殖を計測すると、14週目の腫瘍径がそれぞれ 2569.9 ± 151.1 , 2010.3 ± 120.7 , and 1580.1 ± 140.2 mm³ であり、高脂肪食群でもっとも腫瘍増殖が大きかった (ANOVA, $p = 0.01$; HFD vs. HCD, $p = 0.025$; HFD vs. CD, $p = 0.009$)。また同時に採取したマウス血清のサイトカインプロファイルを測定すると高脂肪食群で血清 MCP-1 が最も高く、腫瘍増殖と同様に高炭水化物、Western diet の順に低下した (ANOVA, $p = 0.024$; HFD vs. HCD, $p = 0.033$; HFD vs. CD, $p = 0.015$)。また腫瘍組織内の MCP-1 受容体 CCR2 の mRNA レベルを測定すると腫瘍増殖、血清 MCP-1 と同様に高脂肪食群で有意に高値を示した ($p = 0.007$)

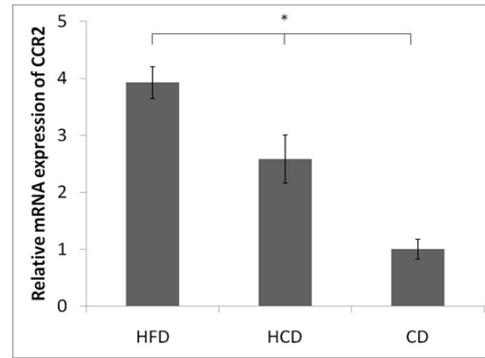
3種類の食餌による LNCaP xenograft の腫瘍増殖



LNCaP xenograft マウスの血清サイトカインプロファイル

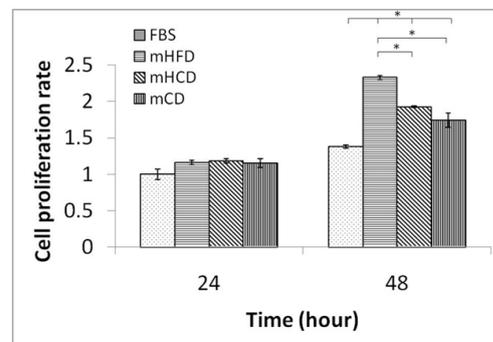


Xenograft 腫瘍内の CCR2 発現

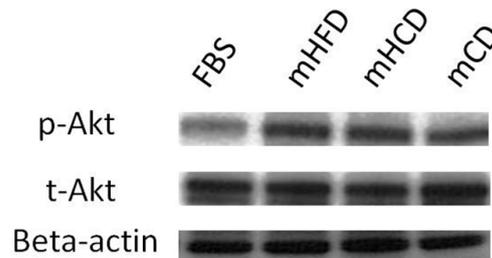


(2) 高脂肪食、高炭水化物、Western diet で飼育したマウスから採取した血清で LNCaP を培養し、MTT アッセイを行うと、培養 48 時間で高脂肪食マウス血清で培養した LNCaP 細胞の増殖が有意に高かった (ANOVA, $p = 0.044$; mHFD vs. FBS, $p = 0.004$; mHCD vs. FBS, $p = 0.006$; mCD vs. FBS, $p = 0.088$)。また細胞内のリン酸化シグナルを Western blot 法で検討するとリン酸化 Akt が高脂肪食マウス血清培養 LNCaP で有意に亢進していた (ANOVA, $p = 0.017$; mHFD vs. mHCD, $p = 0.028$; mHFD vs. mCD, $p = 0.014$)。また高脂肪食マウス血清培養 LNCaP の細胞増殖は siCCR2 で阻害された ($p = 0.003$)。

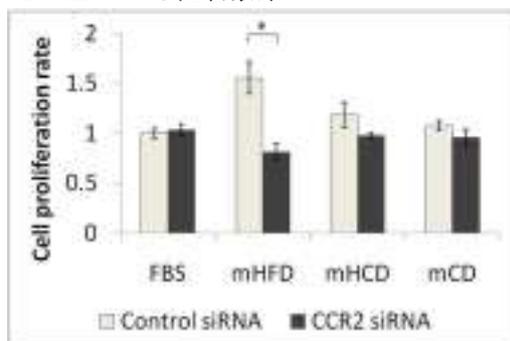
食餌の違うマウス血清培養 LNCaP の細胞増殖



LNCaP 細胞内のリン酸化シグナルの変化



高脂肪マウス血清による LNCaP 細胞増殖の siCCR2 による阻害効果



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 2 件)

- 1) Huang, M., Narita, S., Tsuchiya, N., Ma Z., Numakura, K., Obara, T., Tsuruta, H., Saito, M., Inoue, T., Horikawa, Y., Satoh, S. and Habuchi, T. (2011) Overexpression of Fn14 promotes Androgen independent prostate cancer progression through MMP-9 and correlates with poor treatment outcome. *Carcinogenesis.*, **32**, 1589-96.
- 2) Huang, M., Narita, S., Numakura, K., Tsuruta, H., Saito, M., Inoue, T., Horikawa, Y., Tsuchiya, N. and Habuchi, T. (2012) A high-fat diet enhances proliferation of prostate cancer cells and activates MCP-1/CCR2 signaling. *Prostate*, **72**, 1779-1788.

[学会発表] (計 4 件)

- 1) Huang, M., Narita, S., Numakura, K., Tsuruta, H., Saito, M., Inoue, T., Horikawa, Y., Tsuchiya, N., Habuchi, T. (2011) Prostate cancer progression under high fat diet is

enhanced by the MCP-1/CCR2 signaling. The 106th Annual Meeting of the American Urological Association, May, Washisnton DC, USA

- 2) 成田伸太郎 (2011) サイトカインシグナルを介した高脂肪食摂取下の前立腺癌増殖機序の解明 (ヤングリサーチグラント受賞者記念講演). 第 99 回日本泌尿器科学会総会, 4 月, 名古屋
- 3) Mingguro, H., Narita, S., Maita, S., Numakura, K., Obara, T., Inoue, T., Horikawa, Y., Satoh, S. and Habuchi, T. (2012) Stimulation of macrophage inhibitory cytokine-1 by palmitic acid activates prostate cancer cell invasiveness. The 107th annual meeting of the American Urological Association, May, Atlanta, USA
- 4) 黄明国、成田伸太郎, 井上高光, 土谷順彦, 佐藤滋, 羽瀨友則 (2012) 前立腺癌進展における長鎖脂肪酸パルミチンの役割. 第 71 回日本癌学会・総会, 9 月, 札幌

[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：
 出願年月日：
 国内外の別：

○取得状況 (計 件)

名称：
 発明者：
 権利者：

種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

成田伸太郎 (SHINTARO NARITA)
秋田大学・医学部・講師

研究者番号：40396552

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：