

平成 30 年 5 月 30 日現在

機関番号：14401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K10624

研究課題名(和文) 前立腺肥大症における5 還元酵素 type3の機能解析：新たな治療ターゲット

研究課題名(英文) Analysis of 5 reductase type3 in benign prostatic hyperplasia

研究代表者

木内 寛 (KIUCHI, HIROSHI)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号：70403053

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：肥大した前立腺を縮小させるためテストステロンをデヒドロテストステロンに変換する5 還元酵素(SRD5A)を阻害する薬が使われている。SRD5Aにはtype 1と type 2以外に私達がクローニングしたtype 3(SRD5A3)があるが、前立腺肥大症との関連はよくわかっていない。そこで前立腺肥大症の組織、前立腺細胞株を用いて、SRD5A3について検討した。SRD5A3は前立腺上皮、間質の両者に発現しており、臨床症状が軽いほどその発現が高く認められた。細胞株に炎症を抑制させるIFN を添加するとその発現が増強した。SRD5A3の発現を高くすると前立腺肥大症の症状を緩和させる可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Inhibitors of 5 reductase (SRD5A), which converts testosterone to dehydrotestosterone, are clinically used to reduce enlarged prostate. In SRD 5 A, besides type 1 and type 2, there is type 3 (SRD5A3) that we have originally cloned, but the association with benign prostatic hyperplasia is not well understood. Therefore, The association of SRD5A3 with prostate was examined using tissue of prostatic hyperplasia and prostate cell line. SRD5A3 was expressed in both the prostatic epithelium and the stromal cells, and its expression was higher as the clinical symptoms were lighter. IFN , which inhibits inflammation, was enhanced SRD5A3 expression. Those findings suggested that enhancement of SRD5A3 may attenuate symptoms with benign prostatic hypertrophy.

研究分野：泌尿器科

キーワード：5 還元酵素 前立腺肥大症 5 還元酵素type3

1. 研究開始当初の背景

排尿困難や頻尿などの下部尿路症状（LUTS；Lower Urinary Tract Symptoms）は年齢とともに罹患率が上昇し、60歳を超えると約78%に昇り、QOLを著しく低下させる。今後、日本が迎える高齢化時代において、さらに患者数の増加が想定される。男性では前立腺肥大症がLUTSの主要な原因となっており、肥大した前立腺を縮小させる目的で、近年、テストステロンをデヒドロテストステロン（DHT）に変換する酵素、ステロイド5 α 還元酵素（5 α redactase、SRD5A）の阻害剤が使われている。SRD5Aにはtype 1（SRD5A1）とtype 2（SRD5A2）があり、臨床で使用されているデュタステリドは両者の阻害作用がある。デュタステリドは前立腺が縮小する前の早期の段階でLUTSに効果があることから、前立腺縮小以外の作用があることが予想されたが、そのメカニズムはよくわかっていなかった。私達はデュタステリドの前立腺に対する早期効果を検討するために、重度の免疫不全マウスであるsuper-SCID mouseを用いて、ヒト前立腺肥大症 xenograft モデルを新規に確立し、その効果について検討した。その結果、デュタステリドを投与した xenograft モデルにおいて、前立腺細胞のアポトーシスの亢進や増殖抑制作用を認めただけに、前立腺平滑筋の収縮を促進させるRhoAの発現が抑制されていることがわかり、この結果からデュタステリドの早期効果はRhoAの発現低下による前立腺収縮抑制が関与している可能性が示唆された（Tsujiura et al., Urology. 2015）。

一方で、この実験の際にデュタステリドのRhoAの発現抑制も検体によっては認められないことがあり、臨床ではデュタステリドの前立腺縮小効果が認められない症例、LUTSに対して効果がない症例があり、前立腺におけるDHT産生にはその他のpathwayの存在が示唆された。私達は近年、アンドロゲン非依存性前立腺のメカニズムに関する研究で、新たにSRD5A type3（SRD5A3）のクローニングに世界に先駆けて成功し、新たなDHT産生経路を報告した。アンドロゲン抵抗性前立腺癌ではSRD5A3が強発現しており、それがアンドロゲン抵抗性前立腺癌におけるDHTの増加やアンドロゲン経路の活性維持に重要な役割を果たしていることがわかった（Uemura M, et al., Cancer Science 2008）。前立腺肥大症の発症メカニズムやLUTSにSRD5A3の関与が示唆されるが、これらについてはよくわかっていない。そこで今回、前立腺肥大症におけるSRD5A3の役割について検討する。

2. 研究の目的

排尿困難や頻尿などの下部尿路症状（LUTS；Lower Urinary Tract Symptoms）は年齢とともに罹患率が上昇し、60歳を超えると約78%に昇る。ステロイド5 α 還元酵素（5

α redactase、SRD5A）を阻害する薬剤はLUTS緩和に対する効果は高いが、約40%にとどまる。従来SRD5Aにはtype 1、2があることが知られており、現在臨床で使用されているデュタステリドはその両者の阻害作用がある。近年、私達は世界に先駆けてSRD5A type3（SRD5A3）のクローニングに成功し、新たなDHT pathwayを報告した。しかし、このSRD5A3が前立腺肥大症の発症メカニズムやLUTSにどのような関連があるかについてはよくわかっていない。そこで今回、前立腺肥大症におけるSRD5A3の発現とその機能について検討し、将来のLUTS治療ターゲットになりうるかについて検討する。

3. 研究の方法

(1) ヒト前立腺組織サンプルを用いて、免疫組織学的染色でSRD5A1、SRD5A2、SRD5A3の発現を評価する。発現の強度を1-3の3段階で評価した。

(2) これらの発現が年齢、前立腺体積、臨床症状との関連について検討する。同時にアンドロゲンレセプター（AR）、PSAについても免疫染色で評価する。

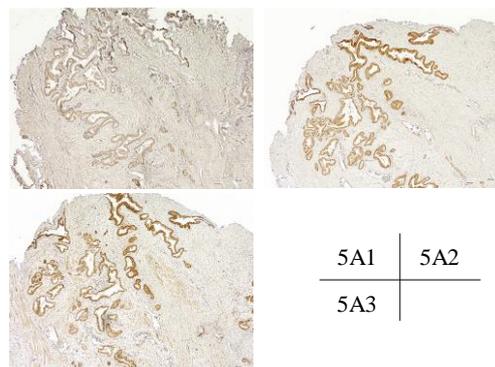
(3) ヒト前立腺サンプルにおけるSRD5A1、SRD5A2、SRD5A3の発現の相関

(4) 良性前立腺細胞株（前立腺上皮細胞株：PNT2）、良性前立腺間質細胞株：WPMY-1）とヒト前立腺細胞株：（ホルモン感受性細胞株：LNCaP；ホルモン非感受性：DU145、PC3）を用いて、SRD5A1、SRD5A2、SRD5A3の発現をreal-time PCRで評価する。

(5) 前述の細胞株を用いて、前立腺肥大症のin vitroのモデルである炎症性サイトカイン添加により、SRD5A1、SRD5A2、SRD5A3の発現の変化を評価する。使用するサイトカインは炎症性サイトカインであるIL-1、IL-17と炎症抑制性のサイトカインであるIFN- γ とした。

4. 研究成果

(1)



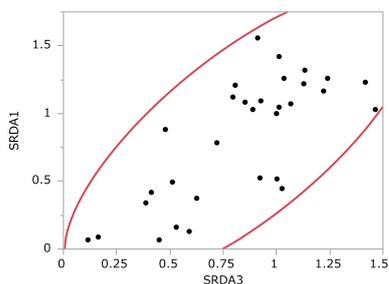
5A1 の発現は前立腺上皮細胞に、5A2 は前立腺上皮細胞、間質細胞、血管内皮細胞に、5A3 は前立腺上皮細胞と間質細胞、血管内皮細胞に認められた。特に間質における発現は 5A3 が最も高かった。

(2) 臨床パラメーターと SRD5 の発現の比較

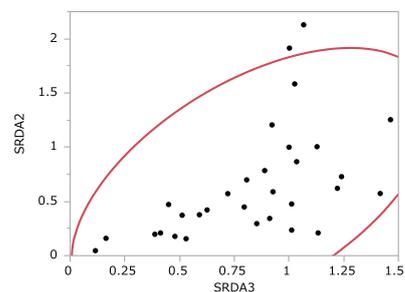
	5A1	5A2	5A3
年齢			
<60	1.0	2.0	1.7
60-70	1.9	2.3	2.3
>70	1.5	1.8	1.6
p trend	0.95	0.47	0.42
前立腺体積			
<35	1.5	2.0	2.3
35-50	1.8	2.4	1.8
>50	1.4	1.8	1.7
p trend	0.68	0.36	0.48
症状			
軽症	1.8	2.4	2.4
中等症	1.4	2.1	1.3
重症	1.2	1.2	1.7
p trend	0.41	0.10	0.32
アボルブ使用			
あり	1.7	2.3	2.0
なし	1.4	1.7	1.7
p value	0.61	0.16	0.52

臨床症状に関しては、症状が重症になるといずれも発現が低くなる傾向が見られた。アボルブを内服している症例では SDR5A1、SDR5A2、SDR5A3 のすべてにおいて、その発現が上昇していた。AR や PSA と 5A1、5A2、5A3 との関連は認められなかった。

(3) mRNA における①SRDA3 と SRDA1、②SRDA3 と SRDA2 との発現の相関



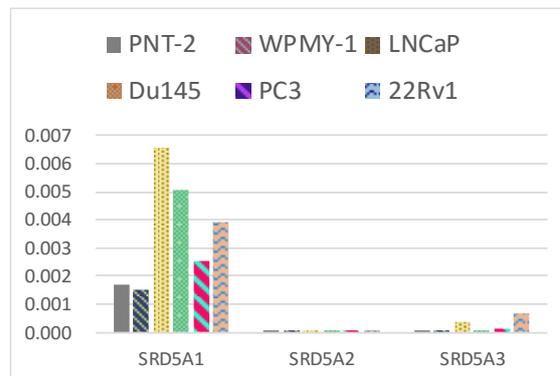
相関係数 0.75 (p value<0.001)



相関係数 0.54 (p value=0.002)

SRDA3 の発現は SRDA1 とも SRDA2 とも相関を認めた。

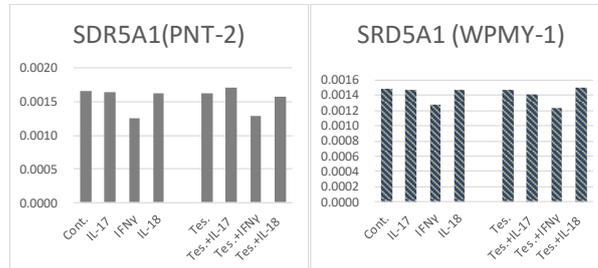
(4) mRNA レベルにおける各細胞株間の発現比



それぞれの細胞株における SRD5A1、SRD5A2、SRD5A3 を qPCR にて発現を比較したところ、正常前立腺細胞株と比較してがん細胞株において発現が高いことがわかった。しかし、正常上皮細胞株と正常間質細胞株では有意差を認めなかった。

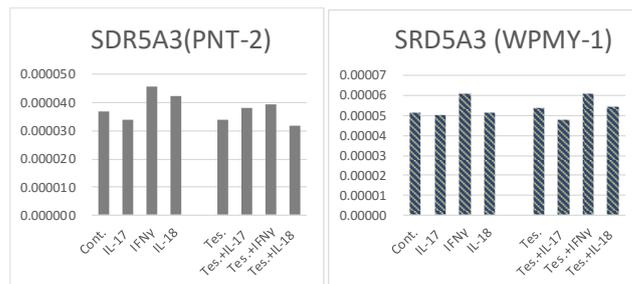
(5)

① PNT-2、WPMY-1 細胞核における各サイトカインを添加した際の SDR5A1 の発現の変化



PNT-1 も WPMY-1 も IL-17,IL-18 を添加しても SDR5A1 に変化を認めなかったが、IFN γ を添加するとその発現が低下した。テストステロンを添加しても同様の結果が得られた。

② PNT-2、WPMY-1 細胞核における各サイトカインを添加した際の SDR5A3 の発現の変化



PNT-2 も WPMY-1 も IL-17,IL-18 を添加して

も SDR5A3 に変化を認めなかったが、IFN γ を添加するとその発現が増加し、SDR5A1 の逆の変化が認められた。テストステロンを添加しても同様の結果が得られた。

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 0 件)

[学会発表] (計 0 件)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 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 0 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

木内 寛 (Kiuchi, Hiroshi)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号 : 70403053

(2)研究分担者

福原 慎一郎 (Fukuhara, Shinichiro)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号 : 20609870

惣田 哲次 (SODA, Tetsuji)

大阪大学・医学系研究科・招へい教員

研究者番号 : 20722656

植村 元秀 (Uemura, Motohide)

大阪大学・医学系研究科・講師

研究者番号 : 40631015

宮川 康 (Miyagawa, Yasushi)

大阪大学・医学系研究科・招へい准教授

研究者番号 : 70362704

竹澤 健太郎 (Takezawa, Kentaro)

大阪大学・医学系研究科・招へい教員

研究者番号 : 90648015

(3)連携研究者

()

研究者番号 :

(4)研究協力者

()