

令和元年6月16日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11051

研究課題名(和文) エストロゲン受容体 からみた慢性非細菌性前立腺炎の病態解明と新規治療法の開発

研究課題名(英文) Effects of Estrogen Receptor Stimulation to Non-Bacterial Prostatic Inflammation

研究代表者

森 健一 (Mori, Kenichi)

大分大学・医学部・客員研究員

研究者番号：00579013

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：エストロゲン受容体(ER)にはER α とER β の2つのサブタイプがある。ER α は細胞増殖、炎症誘発作用、発癌作用を持つのに対し、ER β は抗増殖作用、抗炎症作用、抗腫瘍作用をもつ。これらは相反する作用を持ち生体内におけるその作用はER α とER β の発現比により決定される。前立腺肥大症や下部尿路症状を有する患者の前立腺組織では非細菌性の関与が知られている非細菌性慢性前立腺における前立腺組織においてもER α /ER β の発現比が低下し、ここに選択的ER β アゴニスト(3 β -diol)を投与することでER α /ER β の発現比の増加を認め、ER β による抗炎症反応の活性化を確認することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

非細菌性慢性前立腺炎の患者は非常に多く、会陰部不快感や頻尿などの下部尿路症状が持続しQOLを著しく損なうことが報告されている。治療は1 α -アドレナリン受容体遮断薬を主体として行われるが、十分な効果が得られない症例も少なくなく治療が長期化することも多い。非細菌性慢性前立腺炎の病態は未だ不明なこと多く、有効な炎症性マーカーや治療法の選択肢が非常に少ないのが現状であったが、非細菌性慢性前立腺炎に対する選択的ER β アゴニストの有効性とIL-18の炎症性マーカーとしての有効性を見出したことは、新規治療薬開発の基盤研究となり非常に学術的意義は大きいものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：There is increasing evidence showing that chronic non-bacterial prostatic inflammation is involved in the pathogenesis of benign prostatic hyperplasia (BPH) and male lower urinary tract symptoms (LUTS). It has also been reported that estrogen receptor (ER) could have an immunoprotective role in prostatic tissue. Therefore, we investigated the effect of ER β -activation on not only prostatic inflammation, but also bladder overactive conditions in a rat model with nonbacterial prostatic inflammation. ER β activation by 3 β -Adiol administration, which normalized the ER α /ER β expression ratio in the prostate, can improve not only prostatic inflammation, but also bladder overactivity. Therefore, ER β agonists might be useful for treating irritative bladder symptoms in patients with symptomatic BPH associated with prostatic inflammation.

研究分野：排尿機能

キーワード：前立腺 エストロゲン受容体 炎症 選択的ER β 刺激薬

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

エストロゲン受容体(ER)にはER α とER β の2つのサブタイプがある。ER α は細胞増殖、炎症誘発作用、発癌作用を持つのに対し、ER β は抗増殖作用、抗炎症作用、抗腫瘍作用をもつことが報告されている(Ann. N. Y. Acad. Sci. 2009;1155:174–86.)。ER α とER β は相反する作用を持ち、生体内におけるその作用はER α とER β の発現比により決定される(Physiol. Rev. 2007; 87: 905–31.)。例えば、乳癌、卵巣癌、大腸癌、皮膚癌など多くの癌組織でER α 発現の消失あるいは減弱が確認され、ER α に対するER β の発現比(ER α /ER β)の低下が癌の進展に関与する。一方では、ER β の選択的ER α アゴニストによる抗癌作用が注目されている(Cancer Res 2001;61:632-640., J Clin Invest 2012;122:2771-2773.)。ER β の刺激は細胞増殖を抑制し、アポトーシスを促進することで前立腺癌の進行を抑制する(Cancer Res 2001;61:1919-1926, The Prostate 2003;15:180-186.)。また、上述の如くER β は抗炎症作用も持つため、多発性硬化症やパーキンソン病において選択的ER β アゴニストが新規治療薬として有望視され、動物実験モデルにおいてはその有効性が報告されている(J. Neurosci. Res. 2013;91:901–8.)。ER β は前立腺や膀胱組織にも分布していることが確認されている(Steroids. 2014;90:13–29.)が、非細菌性慢性前立腺炎においてはER β の抗炎症作用についての報告はなく、さらに選択的ER β アゴニストを用いた治療に関する報告もみられない。非細菌性慢性前立腺における前立腺組織においても他の報告と同様にER α /ER β が低下しており、ここに選択的ER β アゴニストを投与することでER β による抗炎症反応の活性化、つまりER α /ER β の増加が期待できるものと考えている。さらに、非細菌性慢性前立腺炎では前立腺組織中のIL-18が上昇しているとの報告もあり(J Inflamm 2015;12:37.)、炎症性マーカーとして有効なのではないかと考えている。

2. 研究の目的

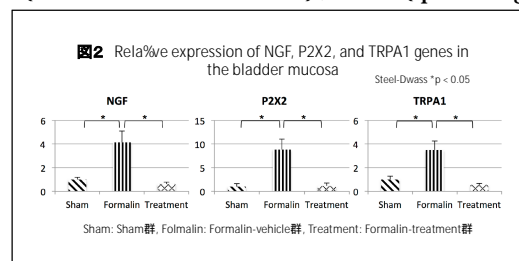
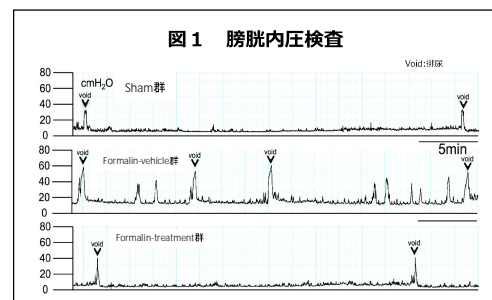
非細菌性慢性前立腺炎患者の新規治療薬として選択的ER β アゴニスト(3 α -diol)を臨床応用へ発展させるため、非細菌性慢性前立腺炎に対する3 α -diolの有効性を明らかにする。

3. 研究の方法

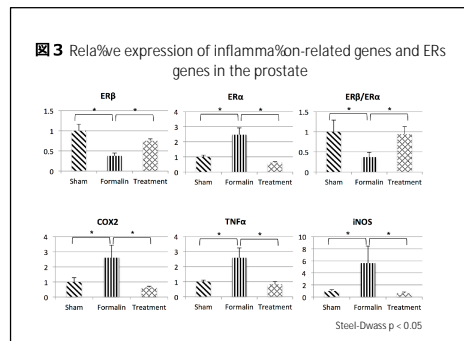
8週齢雄S-Dラットの膀胱前葉被膜下にマイクロシリンジを用いて5%ホルマリン液(50 μ L)を注入しホルマリン誘発性慢性前立腺炎モデルを作成した。同様に生理食塩液50 μ Lを注入したものをShamモデル(Sham群)とした。さらに、非細菌性慢性前立腺炎モデルはER β 刺激薬である3 α -Adiol投与を行ったFormalin-treatment群、溶媒のみを投与するラットをFormalin-vehicle群とし計3群での検討を行った。ER β 刺激薬として3 α -Adiol(3mg/kg/day経口投与)を用い、溶媒にはオリーブオイル1ml/回を使用し胃ゾンデを用いて経口投与を行った。投与開始時期はモデル作製2日前より開始した。それぞれの群は4週間後に膀胱機能評価を行い下部尿路症状の検討を行った後、前立腺組織と膀胱組織を採取した。膀胱組織は顕微鏡下に粘膜と筋層に分けて採取し、それぞれの組織を用いて組織学的評価とmRNAの発現比較解析を行った。

4. 研究成果

膀胱内圧測定検査ではSham群と比較しFormalin-vehicle群において、著明な排尿間隔の短縮(頻尿)と蓄尿時の無抑制収縮(尿意切迫感)を認めた。Formalin-vehicle群は過活動膀胱の状態を呈しており、ER β 刺激薬である3 α -Adiolを投与したFormalin-treatment群では排尿間隔の延長(頻尿改善)と無抑制収縮消失(尿意切迫感消失)を認めた(図1)。各群での最大排尿圧と残尿に有意な変化は見られなかった。前立腺組織のHE染色においてFormalin-vehicle群では、Sham群と比較し、前立腺上皮の変形や萎縮と間質へのリンパ球などの炎症性細胞の浸潤を認めるものの、Formalin-vehicle群では群では、その変化は軽度であった。膀胱組織のHE染色では、各群における明らかな形態的变化や炎症性変化を認めないものの、膀胱粘膜を用いたRT-qPCRによる検討ではNGF(Nerve Growth Factor)、P2X2(purinergic receptor 2)、TRPA1(transient receptor potential ankyrin 1)といった遺伝子の発現がFormalin-vehicle群ではSham群とFormalin-treatment群と比較し有意に増加していた(図2)。P2X2やTRPA1は知覚神経終末に発現しており、炎症などに惹起されたこれらの受容体の発現亢進や、NGFの発現亢進は過活動膀胱の発症に関連している。前立腺の炎症に続いて、腰仙



髄の神経根を介した神経因性の炎症刺激によりこれらの遺伝子の発現が増加し、過活動膀胱の発症に影響したのではないかと考えられた。前立腺組織を用いた RT-qPCR では、Formalin-vehicle 群における ER α 、COX2、TNF α 、iNOS の mRNA の発現が有意に増大していたのに対し、ER β の発現は有意に低下していた。Formalin-vehicle 群では ER β の発現が Sham 群と同等レベルまで回復し COX2 などの炎症性マーカーも低下していた (図 3)。Formalin-treatment 群における前立腺組織の炎症の改善は、これらの炎症に関連した遺伝子群の発現抑制によるものと考えられた。ER β 刺激を行った他の研究でも、ER β 刺激により、ER β の発現が亢進するとともに、抗炎症作用があらわれること報告されており、本件研究でも ER β が刺激された結果、抗炎症作用を示したのではないかと考えられた。ER β の免疫組織染色では、各群における局在変化は認められないものの、Formalin-vehi 群の変形萎縮した腺上皮においては ER β に対する免疫反応性は低下していた。さらに、前立腺組織中の IL-18 の mRNA 発現は Formalin-vehicle 群で有意に増加し、Formalin-treatment 群では Sham 群と同レベルまで低下していた。



非細菌性前立腺炎モデルラットの膀胱では NGF、P2X2、TRPA1 の発現を認め、非細菌性前立腺炎による過活動膀胱の発症に神経因性の炎症の関与が示唆された。ER 刺激薬は前立腺の炎症とともに下部尿路症状を改善させることができ、前立腺の炎症が関与する前立腺肥大症に対する新たな治療標的となる可能性がある。さらに、前立腺組織内の IL-18 は前立腺炎の指標マーカーとなる可能性がある。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計1件)

Shinsuke Mizoguchi, Kenichi Mori, Zhou Wang, Teresa Liu, Yasuhito Funahashi, Fuminori Sato, Donald B. DeFranco, Naoki Yoshimura. Effects of Estrogen Receptor β Stimulation in a Rat Model of Non-Bacterial Prostatic Inflammation. *Prostate*. 2017;77:803-811(DOI: 10.1002/pros.23320.). (査読有り)

[学会発表](計12件)

山中 直行、森 健一、三股 浩光。

発表標題：非細菌性前立腺炎モデルラットにおけるセルニチンポーレンエキス(T60, GBX)投与効果の検討。

学会名：第28回泌尿器科分子・細胞研究会

発表年：2019年

発表場所：海峡メッセ下関(下関市豊前田町)

Naoyuki Y, Kenichi M, Shinsuke M, Hiromitsu M。

発表標題：Cernitin pollen extract can improve overactive bladder condition in a rat model of non-bacterial prostatitis in short term.

学会名：国際尿禁制学会 2018(IC2018)

発表年：2018年

発表場所：ペンシルベニア国際会議場(フィラデルフィア、米国)

山中直行、森 健一、三股浩光。

発表標題：セルニチンポーレンエキス(T60, GBX)は非細菌性前立腺炎モデルラットの前立腺炎症を改善する。

学会名：第25回日本排尿機能学会

発表年：2018年

発表場所：名古屋国際会議場(名古屋市熱田区)

Yamanaka Naoyuki, Mori Kenichi, Mizoguchi Shinsuke, Mimata Hiromitsu。

Prostatic enlargement with chronic inflammation due to alteration of estrogen receptors and fatty acid composition in high fat induced obesity rat model.

アメリカ泌尿器科学会 2018(AUA2018)

発表年：2018年

発表場所：モスコニーセンター(サンフランシスコ、米国)

山中直行、森 健一、三股浩光。

発表標題：食餌誘発性肥満モデルラットにおける前立腺肥大症と前立腺組織の炎症・性腺ホルモン受容体・脂肪酸の解析。

学会名：第106回日本泌尿器科学会総会

発表年：2018年

発表場所：国立京都国際会館（京都市左京区）

Shinsuke Mizoguchi, Ken-ichi Mori, Naoyuki Yamanaka, Fuminori Sato, Naoki Yoshimura, Hiromitsu Mimata.

発表標題：INVOLVEMENT OF TOLL-LIKE RECEPTOR 4 IN NONBACTERIAL BLADDER INFLAMMATION AND FREQUENT URINATION VIA INFLAMMASOME PATHWAYS IN SPONTANEOUSLY HYPERTENSIVE RATS.

学会名：アメリカ泌尿器科学会（AUA2017）

発表年：2017年

発表場所：ボストン会議場（ボストン、米国）

Shinsuke Mizoguchi, Ken-ichi Mori, Fuminori Sato, Naoki Yoshimura, Hiromitsu Mimata

発表標題：Inflammasome is an important mediator of chronic bladder inflammation in spontaneously hypertensive rats.

学会名：ヨーロッパ泌尿器科学会（EAU2017）

発表年：2017年

発表場所：ロンドン、イギリス

山中直行、森 健一、溝口晋輔、三股浩光。

発表標題：食餌誘発性肥満モデルラットの前立腺組織におけるエストロゲンレセプター発現解析。

学会名：第24回日本排尿機能学会

発表年：2017年

発表場所：ビックサイトTFTホール（東京都江東区）

山中直行、森 健一、溝口晋輔、三股浩光。

発表標題：食餌誘発性肥満モデルラットにおける前立腺炎の解析。

学会名：第24回日本排尿機能学会

発表年：2017年

発表場所：ビックサイトTFTホール（東京都江東区）

溝口晋輔、森 健一、吉村直樹、三股浩光

発表標題：ラット非細菌性前立腺炎モデルにおけるエストロゲン受容体 を介した デュタステリド による炎症改善効果

学会名：第23回日本排尿機能学会

発表年：2016年

発表場所：東京国際フォーラム(東京都千代田区)

MIZOGUCHI S, MORI K, YOSHIMURA N, MIMATA H.

SUPPRESSION OF BLADDER OVERACTIVITY BY ESTROGEN RECEPTOR ACTIVATION IN RATS WITH CHRONIC NON-BACTERIAL PROSTATITIS.

学会名：国際禁制学会（ICS2016）

発表年：2016年

発表場所：東京国際フォーラム(東京都千代田区)

MIZOGUCHI S, MORI K, YOSHIMURA N, MIMATA H.

INVOLVEMENT OF INCREASED EXPRESSION OF ESTROGEN RECEPTOR IN THE ANTI-INFLAMMATORY EFFECTS OF DUTASTERIDE IN A RAT MODEL OF NON-BACTERIAL PROSTATIC INFLAMMATION.

学会名：国際禁制学会（ICS2016）

発表年：2016年

発表場所：東京国際フォーラム(東京都千代田区)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔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：三股 浩光

ローマ字氏名：Mimata Hiromitsu

所属研究機関名：大分大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号(8桁)：60219714

(2)研究協力者

研究協力者氏名：吉村 直樹

ローマ字氏名：Yoshimura Naoki

米国ピッツバーグ大学・泌尿器科・教授

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。