

令和 4 年 6 月 20 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2021

課題番号：18K09175

研究課題名（和文）前立腺肥大症の発生におけるTSP-1が関わる上皮間葉転換メカニズムの解明と臨床応用

研究課題名（英文）Involvement of EMT via TSP-1 in the development of benign prostatic hyperplasia

研究代表者

濱川 隆（Hamakawa, Takashi）

名古屋市立大学・医薬学総合研究院（医学）・講師

研究者番号：40595394

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：前立腺肥大症における間質肥大を反映したモデルラットを用いた検討では、前立腺肥大症においてEMTマーカーの発現が見られた。また、ヒト前立腺肥大組織を用いた検討では、EMTを誘導するTGF β の活性化因子であるTSP-1の発現が、前立腺肥大症の進行と相関すること、症状との関連があることが見いだされた。これらのことから、TSP-1は前立腺肥大症に対しての新たな治療ターゲットとしてのみならず、前立腺肥大症の進行予測マーカーとしての可能性が示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、前立腺肥大症に対する治療として、薬物療法がおこなわれている。薬物療法は、前立腺の弛緩と腺腫の縮小、血流改善によって症状を改善するが、必ずしもその効果は十分でない。前立腺肥大症の病理組織において間質成分が約70%を占めており、間質をターゲットとした治療薬の開発が求められている。また適切なタイミングで薬物療法から手術療法へと切り替える指標があれば、医療経済への負担を軽減することができる。本研究成果によって、TSP-1が新たな治療標的となる可能性、前立腺肥大症の進行を予測するマーカーの候補となる可能性が示された。

研究成果の概要（英文）：In a study using benign prostatic hyperplasia (BPH) rat model reflecting human stromal hyperplasia, we found that the expression of EMT markers in rat BPH tissues. Next, in the examination using human BPH tissues, the expression of thrombospondin 1(TSP-1), which is known as an activator of transforming growth factor beta related with epithelial-mesenchymal transition, positively correlated with prostate volume and the increased prostate volume per month, and negatively correlated with BPH symptoms. These results suggested that TSP-1 may not only be a new therapeutic target for BPH, but also be a potential biomarker for predicting the development of BPH.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：前立腺肥大症 間質肥大 TSP-1 EMT

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

高齢人口の増加に伴い、前立腺肥大症の発症率が増加している。前立腺肥大症の発症には加齢、性ホルモン、慢性炎症などの関与が報告されているが、その詳細は明らかにされていない。前立腺肥大症の病理組織像は間質成分が 70% を占め、間質の増生が強いものほど下部尿路症状が強く、薬物療法に抵抗することが報告されている。前立腺間質に着目した研究が必要となるが、以前から用いられてきたモデル動物では腺の過形成のみを呈するため、ヒト前立腺肥大症の組織像を正確に反映していないことが問題であった。そこで私たちは、間質優位なモデルラットを新たに作成し、炎症性サイトカイン interleukin-18 (IL-18) によって誘導された thrombospondin-1 (TSP-1) が前立腺間質の過形成に関与することを解明した。

TSP-1 は間質の構成要素である細胞外マトリックスの一つであり、組織の線維化、細胞増殖に関与し transforming growth factor-beta (TGF- β) の活性因子として機能する。また最近では、TSP-1 が血管新生の阻害や疾患の活動性に関与するとされている。TGF- β は、炎症によって産生され、間質細胞の増殖や細胞外マトリックスの産生を増加させる。また、上皮細胞の形質を線維芽細胞、筋線維芽細胞へと転換する上皮間葉転換 (epithelial-mesenchymal transition; EMT) を誘導する。EMT は組織の線維化や創傷治癒に重要役割を果たす。

2. 研究の目的

これまでに、私たちは前立腺における IL-18 の役割と細胞内シグナル伝達経路の関与を明らかにし、TSP-1 による間質細胞の増殖能亢進という直接的な作用を発見した。これをさらに発展させ、本研究では、TSP-1 による TGF- β の活性化を介した EMT の誘導による前立腺肥大症の発症メカニズムを検討する。また、TSP-1、TGF- β を介した EMT による間質過形成が、ヒト前立腺肥大症において度のような影響を及ぼすのかを解明しこれらを用いた前立腺の診断や進行を予測しうるバイオマーカーや、間質をターゲットとした新規治療薬を確立することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 間質優位型前立腺肥大症モデルラットの作成

ヒト前立腺肥大症に病理組織学的に非常に類似した間質肥大優位のモデルラットを以下の方法で作成し、以降の実験に用いた。

妊娠 20 日目の雌 SD ラットから雄胎仔を採取し、胎仔の泌尿生殖洞 (UGS) を摘除。

摘出した UGS を 7 週齢の雄 SD ラットの前立腺腹側被膜下に移植。

約 3 週間後に sacrifice し、前立腺肥大組織を摘出。

(2) TSP-1 による TGF- β の活性化を介した前立腺組織での EMT、筋線維芽細胞の発現の検討

EMT マーカーである、E-cadherin、Snail、vimentin、 α -SMA、CK5/8 の発現と局在
TGF- β とその下流である Smad の発現、リン酸化

(3) ヒト正常前立腺培養細胞における EMT、細胞間相互作用の検討

ヒト正常前立腺培養細胞に対して、TSP-1、TGF- β を投与する。EMT のマーカーの発現、細胞内シグナル伝達の変動、細胞増殖能の変化を定量 RT-PCR、Western blotting、免疫染色、WST assay などで検討する。また共培養により、細胞間の相互作用を検討する。

(4) ヒト前立腺肥大症患者での TSP-1 の発現と EMT の誘導の検討

TSP-1 の発現と、前立腺組織中の間質における EMT の誘導との相関を検討する。さらに、それによる間質組織の比率変化を検討し、ヒト前立腺肥大症発症における EMT の関与を明らかにする。

4. 研究成果

(1) 7 週齢雄 SD ラットに、泌尿生殖洞 (UGS) を移植し、ヒト前立腺肥大症に組織学的に類似した間質肥大優位のモデルラットを作成することが、安定して可能になった。

(2) モデルラットの前立腺組織を用いて、EMT マーカーである E-cadherin、vimentin、 α -SMA の発現と局在を免疫染色で確認すると、E-cadherin は正常部の腺上皮細胞表面に発現が見られ、前立腺肥大部では一部の腺管で発現が低下していた。vimentin は正常部、前立腺肥大部とも間質に発現が見られた。 α -SMA は正常部、前立腺肥大部とも腺管周囲の平滑筋に発現がみられたが、前立腺肥大部では腺管周囲の平滑筋の厚みが大きくなっていった (図 1)。次に、TGF- β 、p-Smad2/3 による免疫染色を行ったところ、TGF- β は間質の一部に発現が見られ、p-Smad2/3 は間質の一部

の細胞の細胞質、核内に発現が見られた（図2）。

図1 モデルラット前立腺でのEMTマーカーの発現

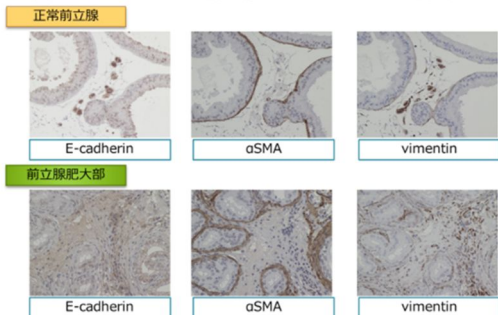
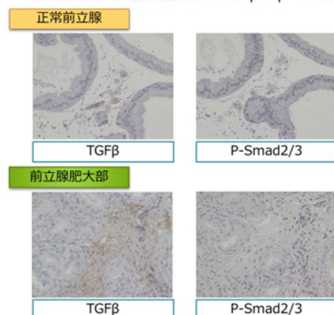


図2 モデルラット前立腺でのTGFβ、p-Smad2/3の発現



(3) ヒト正常前立腺培養細胞に対して、TSP-1、TGF- β の投与を行ったところ、TSP-1 の投与でヒト前立腺間質細胞の増殖能の亢進が見られた。TSP-1、TGF- β の投与で前立腺平滑筋細胞の増殖能の変化は見られなかった。培養細胞での EMT マーカーの検討はコロナ禍の影響もあり、施行できなかった。

(4) ヒト前立腺組織における IL-18、TSP-1、TGF- β の mRNA の発現を、前立腺組織中の平滑筋、膠原線維、腺上皮の割合との相関を検討すると、IL-18 の発現と腺上皮の割合に正の相関を認め、TSP-1、TGF- β の発現と平滑筋の面積の間に正の相関を認めた（図3）。また、前立腺体積と1か月あたりの増加量、IL-18、TSP-1 の発現との相関を検討したところ、TSP-1 の発現は、前立腺体積と有意な正の相関を認めた（図4）。また、1か月あたりの前立腺体積の増加量と TSP-1 の発現との間にも、有意な正の相関を認めた。

図3 組織構成とmRNAの発現との相関

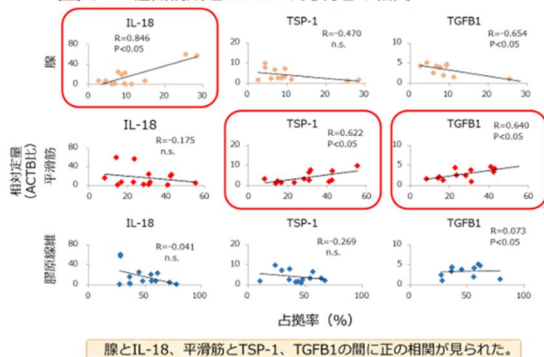
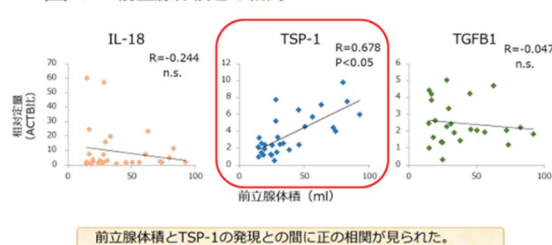


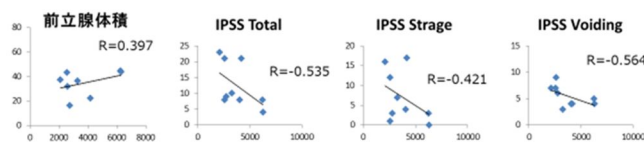
図4 前立腺体積との相関



前立腺体積とTSP-1の発現との間に正の相関が見られた。

また、前立腺肥大症患者の血中、尿中 TSP-1 の発現を ELISA で検討したところ、血中の TSP-1 濃度と前立腺体積との間に正の相関が、国際前立腺症状スコアとの間に負の相関がみられた（図5）。

図5 血中TSP-1タンパク量との相関



血中TSP-1タンパク量と前立腺体積との間に正の相関が、国際前立腺症状スコア (IPSS) との間に負の相関が見られた。

以上のことから、前立腺肥大症における TSP-1 は前立腺平滑筋に発現し、前立腺間質組織の線維化に関与すること、また、TSP-1 によって活性化される TGF- β が前立腺肥大症の発症における EMT に関与する可能性が示唆された。また、TSP-1 の発現がヒト前立腺肥大症の進行と相関すること、症状との関連があることが明らかになった。これらのことから、TSP-1 は前立腺肥大症に対しての新たな治療ターゲットとしてのみならず、前立腺肥大症の進行予測マーカーとしての可能性が示された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

| | |
|--|------------------------|
| 1. 著者名 Ota Yuya, Kubota Yasue, Hotta Yuji, Matsumoto Mami, Matsuyama Nayuka, Kato Taiki, Hamakawa Takashi, Kataoka Tomoya, Kimura Kazunori, Sawamoto Kazunobu, Yasui Takahiro | 4. 巻 16 |
| 2. 論文標題 Change in the central control of the bladder function of rats with focal cerebral infarction induced by photochemically-induced thrombosis | 5. 発行年 2021年 |
| 3. 雑誌名 PLOS ONE | 6. 最初と最後の頁 e0255200 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0255200 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|--|---------------------------|
| 1. 著者名 Hotta Yuji, Takahashi Sena, Tokoro Misato, Naiki Ito Aya, Maeda Kotomi, Kawata Ryoya, Kataoka Tomoya, Ohta Yuya, Hamakawa Takashi, Takahashi Satoru, Yasui Takahiro, Kimura Kazunori | 4. 巻 39 |
| 2. 論文標題 Anagliptin, a dipeptidyl peptidase 4 inhibitor, improved bladder function and hemodynamics in rats with bilateral internal iliac artery ligation | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 Neurourology and Urodynamics | 6. 最初と最後の頁 1922 ~ 1929 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/nau.24449 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Hattori Tatsuya, Ikegami Yosuke, Matsuyama Nayuka, Hamakawa Takashi, Maryama Tetsuji, Naiki-Ito Aya, Yasui Takahiro | 4. 巻 3 |
| 2. 論文標題 Microscopic pulmonary tumor embolism from adenocarcinoma of the prostate | 5. 発行年 2020年 |
| 3. 雑誌名 IJU Case Reports | 6. 最初と最後の頁 161-165 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

| | |
|---|---------------------------|
| 1. 著者名 Kubota Yasue, Hamakawa Takashi, Osaga Satoshi, Okada Atsushi, Hamamoto Shuzo, Kawai Noriyasu, Kohri Kenjiro, Yasui Takahiro | 4. 巻 37 |
| 2. 論文標題 A kit ligand, stem cell factor as a possible mediator inducing overactive bladder | 5. 発行年 2018年 |
| 3. 雑誌名 Neurourology and Urodynamics | 6. 最初と最後の頁 1258 ~ 1265 |
| 掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/nau.23449 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

| |
|------------------------------|
| 1. 発表者名 濱川 隆 |
| 2. 発表標題 前立腺がんにおける陽子線治療の実際 |
| 3. 学会等名 第71回日本泌尿器科学会中部総会 |
| 4. 発表年 2021年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 濱川 隆、窪田 泰江、青木 マリア、鳥居 孝英、松山 奈有佳、太田 裕也、加藤 大貴、池上 要介、安井 孝周 |
| 2. 発表標題 腹腔鏡下仙骨固定術における術後腹圧性尿失禁とCTによる骨格筋量測定との関係 |
| 3. 学会等名 第27回日本排尿機能学会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 濱川 隆、窪田 泰江、服部 竜也、松山 奈有佳、太田 裕也、池上 要介、丸山 哲史、安井 孝周 |
| 2. 発表標題 骨盤臓器脱の発症における骨格筋量測定の意義 |
| 3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 濱川 隆、窪田 泰江、太田 裕也、安井 孝周 |
| 2. 発表標題 炎症と前立腺増殖に関する基礎的検討。 |
| 3. 学会等名 第107回日本泌尿器科学会総会（招待講演） |
| 4. 発表年 2019年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 濱川 隆、窪田 泰江、太田 裕也、加藤 大貴、安井 孝周 |
| 2. 発表標題 泌尿生殖洞移植による前立腺肥大症モデルラットを用いた前立腺肥大症の病態解明 |
| 3. 学会等名 第5回前立腺生物学シンポジウム |
| 4. 発表年 2018年 |

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-------|---|---|----|
| 研究分担者 | 安井 孝周 (Yasui Takahiro) (40326153) | 名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授 (23903) | |
| 研究分担者 | 窪田 泰江 (Kubota Yasue) (00381830) | 名古屋市立大学・大学院看護学研究科・教授 (23903) | |
| 研究分担者 | 太田 裕也 (Ota Yuya) (20814255) | 名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・臨床研究医 (23903) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| | |
|---------|---------|
| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|