

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：13802

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2019～2021

課題番号：19K09669

研究課題名（和文）間質性膀胱炎の診断に有用な尿中バイオマーカーの探索

研究課題名（英文）The exploration of urinary biomarkers in patients with interstitial cystitis

研究代表者

大塚 篤史（Otsuka, Atsushi）

浜松医科大学・医学部・准教授

研究者番号：90362201

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,100,000 円

研究成果の概要（和文）： 間質性膀胱炎/膀胱痛症候群の診療において、非侵襲的な特異的診断法は確立されていないことを踏まえ、間質性膀胱炎/膀胱痛症候群に特異的な尿中バイオマーカーを同定することが本研究の目的である。間質性膀胱炎/膀胱痛症候群と診断された患者と健康成人ボランティアから得られた尿を試料とし、液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）を用いて診断に有用な尿中バイオマーカーを探索した。結果として、間質性膀胱炎/膀胱痛症候群の診断に有用な尿中バイオマーカーを数種類同定することができた。なお、これらの物質名等の詳細は、知的財産権の取得申請に向けて準備中であるため、今はそれらについて報告することはできない。

研究成果の学術的意義や社会的意義

間質性膀胱炎/膀胱痛症候群は未だ原因不明の慢性進行性疾患であり、その症状により患者の生活の質（QOL）は著しく低下する。また、診断は容易でなく、疾患に精通した泌尿器科医による経験則に基づくことが多い。そのため、間質性膀胱炎/膀胱痛症候群に特異的なバイオマーカーを同定することが急務である。今回我々は、低侵襲に採取可能な尿を用いて、診断に有用なバイオマーカーを数種類同定することができた。これらを用いた診断技術の確立を目指すとともに、今後の診療に用いることができるよう研究を継続する。

研究成果の概要（英文）：Based on the fact that a non-invasive specific diagnostic method has not been established in the medical care of patients with interstitial cystitis/bladder pain syndrome, the purpose of this study is to identify urinary biomarkers specific to interstitial cystitis/bladder pain syndrome. Urinary samples obtained from patients diagnosed with interstitial cystitis/bladder pain syndrome and healthy adult volunteers were used. We searched urinary biomarkers useful for diagnosing interstitial cystitis/bladder pain syndrome using liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). As a result, we were able to identify some urinary biomarkers useful for diagnosing interstitial cystitis/bladder pain syndrome. Details of these substance names, etc. cannot be reported at this time because they are being prepared for the application for acquisition of intellectual property rights.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：間質性膀胱炎 診断 バイオマーカー 尿 質量分析

## 1. 研究開始当初の背景

間質性膀胱炎/膀胱痛症候群は、頻尿・夜間頻尿・尿意亢進・膀胱痛などの諸症状を呈する慢性進行性疾患であり、重症例においてはその症状により著しくその生活の質(QOL)が低下する。本邦における潜在患者数は20~40万人にもものぼるとの推測もあり、泌尿器科日常診療においてこの疾患の存在は無視できないものとなってきた。

しかしながら、間質性膀胱炎/膀胱痛症候群患者の診療において、非侵襲的な特異的診断法は確立されていない。間質性膀胱炎/膀胱痛症候群患者では、尿検査、血液検査、腹部超音波検査、CTやMRIによる画像診断において異常所見を認めることはほとんどない。外来診療の一環として行われる膀胱鏡検査でも、間質性膀胱炎/膀胱痛症候群を意識して診断する視点を持ち合わせていなければ、その診断は容易ではない。そのため、間質性膀胱炎/膀胱痛症候群に精通した泌尿器科医による経験則に基づいた診断を経た後に、麻酔下膀胱水圧拡張術の所見と合わせて確定診断に至っているのが現状であると推測される。そのため、診断や治療の機会を逸している患者も少なくないと想定され、これらの潜在患者をいかに効率良く診断・治療に誘導するかが重要な課題である。

さて、そのような状況において、我々が解決すべき最優先課題は、泌尿器科医のみならず非泌尿器科医(特に内科医や産婦人科医)にも簡便に利用できる非侵襲的な疾患特異的なバイオマーカーの開発である。これにより、潜在患者のより効果的な発掘と、適正・適切な治療への誘導が可能となる。

## 2. 研究の目的

本研究の最重要課題は、間質性膀胱炎/膀胱痛症候群に特異的な尿中バイオマーカーを同定することである。バイオマーカーの候補として、尿検査により診断可能な特異的物質(代謝中間体、ホルモン、シグナル伝達関連分子、二次代謝産物などを含む生体中の全ての分子)が想定される。過去には、antiproliferative factor (APF)、epidermal growth factor (EGF)、nerve growth factor (NGF)、interleukin (IL)、tumor necrosis factor- (TNF-)などの多くの尿中バイオマーカー候補物質が報告されている。しかしながら、これらはいずれも過活動膀胱(Overactive Bladder)などの類縁疾患でも報告されており、疾患特異性に欠けている。一方、ここ数年来、質量分析法を用いたプロテオミクス解析により、Erythronic acid、Histidine、Tartaric acid(以上、Kind T, et al. Sci Rep 2016.)、Etiocholanolone( Parker KS, et al. EBioMedicine 2016.)、Tyramine、2-oxoglutarate、Trigonelline(以上、When H, et al. J Proteome Res 2015.)といった尿中バイオマーカーの候補物質が同定されてきた。ただし、これらの物質と間質性膀胱炎/膀胱痛症候群の病態や病勢との関連性についてはどの報告も明らかにしておらず、バイオマーカーを決定するにはその疾患の病態や病勢も踏まえて論理的に評価すべきである。

今回我々が間質性膀胱炎/膀胱痛症候群の尿中バイオマーカーを探索するにあたり、特に「尿中脂質」に着目している。その理由は、間質性膀胱炎/膀胱痛症候群の主たる病態の首座が、グリコサミノグリカン(GAG)層の損傷であると想定されているからである。GAG層には多くのリン脂質が存在していることが知られており、当然これらが尿中に排泄されてくれば、これらをバイオマーカーとして利用することが可能となる。現在まで、間質性膀胱炎/膀胱痛症候群の尿中バイオマーカー探索において、尿中脂質に着目した報告は認められない。そこで我々は、尿中脂質に主に着目して有用な尿中バイオマーカーを探索するとともに、その他の特異的物質(代謝中間体、ホルモン、シグナル伝達関連分子、二次代謝産物などを含む生体中の全ての分子)に関しても探索を実施する。

## 3. 研究の方法

間質性膀胱炎/膀胱痛症候群と確定診断された患者と健常成人ボランティアから得られた尿を試料として、吸光度計を用いた比色定量法や液体クロマトグラフィー質量分析(LC-MS)を実施し、その診断に有用となりうる候補化合物から疾患特異的な尿中バイオマーカーを同定する。候補物質が同定された場合には、重症度判定あるいは治療効果予測因子(膀胱水圧拡張術や膀胱内薬液注入療法前後の変化の検討)として利用可能かどうか評価する。

### a. 研究用試料の収集

間質性膀胱炎/膀胱痛症候群の患者から血液・尿・組織の研究用試料の収集を行うとともに、健常成人ボランティアからの尿の収集も同時に行う。なお、本研究課題はすでに当院倫理委員会の承認を得ている。倫理委員会にて承認された同意説明文書を用いて、血液・尿・膀胱組織(対象患者)ないし尿(健常成人ボランティア)を採取することをヘルシンキ宣言に基づき十分にイ

ンフォームドコンセントを行った上で書面にて同意を得る。また、すでに倫理委員会で承認されている別途研究において収集された間質性膀胱炎患者/膀胱痛症候群の試料（血液・尿・組織）保存も行っており、二次利用についての同意も得ている。そのため、これらの試料もあわせて用いることとする。

b. 比色定量法や液体クロマトグラフィー質量分析による尿中バイオマーカーの同定

間質性膀胱炎/膀胱痛症候群患者から得られた尿を、健常成人ボランティアから得られた尿をコントロールとして比色定量法や液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）を実施する。

比色定量法

吸光光度計を用いた比色定量法を行う。得られた測定値を三群間で統計学的に比較するとともに、尿中クレアチニン排泄量で補正した測定値についても比較検討する。

液体クロマトグラフィー質量分析

今回研究に用いる尿検体は液体性かつ不揮発性であるため、そのオミックス解析に適切な方法を用いて抽出・調製する。得られた産物を、高速液体クロマトグラフィー法を用いて分離する。液体クロマトグラフィー質量分析を用いて、尿中物質を網羅的に検出する。質量や電荷（ $m/z$ ）に基づいて得られたデータから質量スペクトルを作製し、データベースを用いてそれぞれの物質の同定を行う。

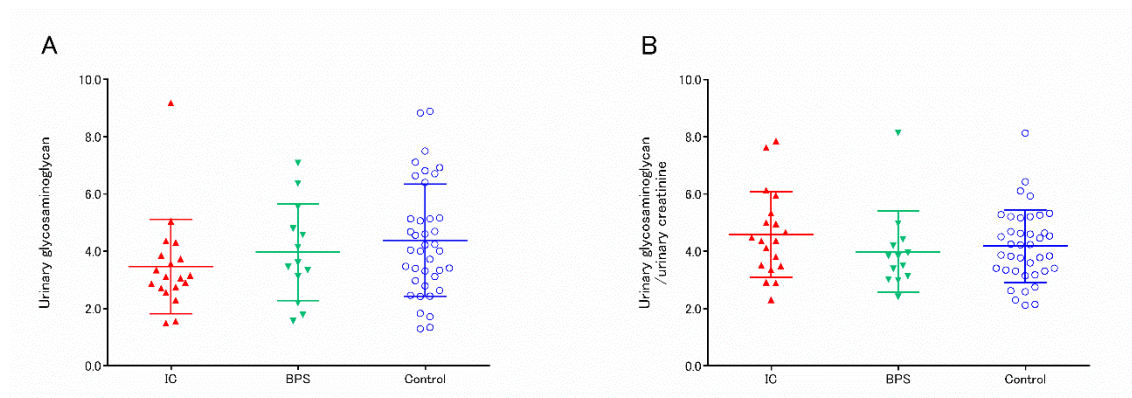
統計学的解析

間質性膀胱炎/膀胱痛症候群患者とコントロール（健常成人ボランティア）との間で、統計学的に有意な差を得られた物質が尿中バイオマーカーの候補となる。それぞれの物質において、Receiver operating curve（ROC）曲線から Area under the curve（AUC）を求めてカットオフ値を設定し、感度・特異度・陽性的中率・陰性的中率などを算出する。この結果から、臨床応用が可能なバイオマーカーが否かについて、尤度比を利用して評価する。さらに、尿中バイオマーカー候補物質の病勢反映因子あるいは治療効果予測因子としての検討を追加し、同定された尿中バイオマーカーが、重症度判定あるいは治療効果予測因子（膀胱水圧拡張術や膀胱内薬液注入療法の治療前後の検討）として利用可能か検討する。

## 4. 研究成果

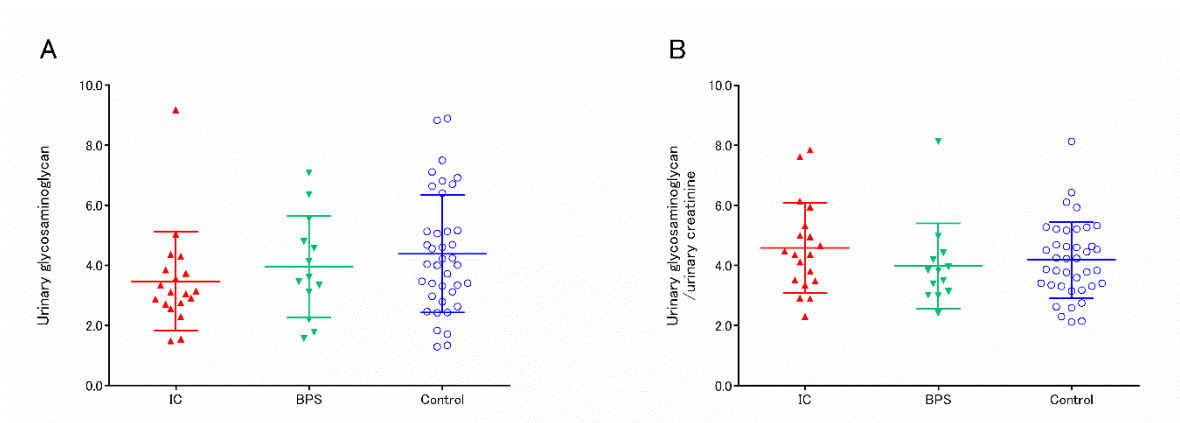
### グリコサミノグリカン（GAG）

間質性膀胱炎/膀胱痛症候群の主たる病態の首座がグリコサミノグリカン（GAG）層の損傷であると想定されていることから、尿中グリコサミノグリカン排泄量が増加しているか検討した。女性間質性膀胱炎患者（IC, 19例）、女性膀胱痛症候群患者（BPS, 13例）と健常女性成人ボランティア（Control, 39例）から得られた尿を用いて、尿中硫酸化グリコサミノグリカン量を測定した。尿中硫酸化グリコサミノグリカン排泄量（A）ならびに、尿中クレアチニン排泄量で補正した尿中グリコサミノグリカン排泄量（B）は、三群間で有意な差を認めなかった。なお、間質性膀胱炎患者と膀胱痛症候群患者において、尿中硫酸化グリコサミノグリカン排泄量（尿中クレアチニン補正後）と症状重症度（間質性膀胱炎症状スコア）との間に相関は認められなかったが、年齢との間ではそれぞれ正の相関を認めた（データは示さず）。



### アデノシン三リン酸（ATP）

間質性膀胱炎患者の膀胱上皮においてアデノシン三リン酸の放出量が増加しているとの報告を参考に、女性間質性膀胱炎患者（IC, 22 例） 女性膀胱痛症候群患者（BPS, 9 例）と健常女性成人ボランティア（Control, 37 例）から得られた尿を用いて、尿中 ATP 量を測定した。尿中 ATP 排泄量（A） ならびに、尿中クレアチニン排泄量で補正した尿中 ATP 排泄量（B）は、三群間で有意な差を認めなかった。



### 質量分析により同定された診断に有用と思われる尿中物質

女性間質性膀胱炎患者、膀胱痛症候群患者、ならびに健常女性成人ボランティアから得られた尿を用いて、液体クロマトグラフィー質量分析（LC-MS）を実施し、間質性膀胱炎の診断に有用と期待される数種類の尿中バイオマーカーの同定を行い得た。これらのうちのいくつかの物質は、計算された尤度比（感度/[1-特異度]）から尿中バイオマーカーとして十分診断に有用なものと判断された。これらに関する実験方法、物質名、解析結果等の詳細は、事情により今は開示できない。知的財産権の取得申請に向けて準備中であり、現在、更なる追加実験を実施中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8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 2件）

1. 著者名 Yoshimura N, Homma Y, Tomoe H, Otsuka A, Kitta T, Masumori N, Akiyama Y, Niimi A, Mitsui T, Nanri, M, Namima T, Takei M, Yamaguchi A, Sekiguchi Y, Kajiwara M, Kobayashi S, Ameda K, Ohashi Y, Sakamoto S, Muraki O, Shishido T, Kageyama S, Kokura K, Okazoe H, Yamanishi T, Watanabe T, Uno T, Ohinata A, Ueda T	4. 巻 28
2. 論文標題 Efficacy and safety of intravesical instillation of KRP 116D (50% dimethyl sulfoxide solution) for interstitial cystitis/bladder pain syndrome in Japanese patients: A multicenter, randomized, double blind, placebo controlled, clinical study	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Int J Urol	6. 最初と最後の頁 545～553
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/iju.14505	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 大塚篤史, 三宅秀明	4. 巻 75
2. 論文標題 【前立腺肥大症(BPH)薬物治療のニューノーマル-"とりあえず"ではなくベストな処方を目指して】 併用療法 新たな併用療法	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 臨床泌尿器科	6. 最初と最後の頁 510～513
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 無
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 大塚篤史, 三宅秀明	4. 巻 75
2. 論文標題 【泌尿器科当直医マニュアル】 急性尿閉	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 臨床泌尿器科	6. 最初と最後の頁 67～70
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 無
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 Otsuka A, Watanabe K, Matsushita Y, Watanabe H, Tamura K, Motoyama D, Ito T, Sugiyama T, Miyake H.	4. 巻 12
2. 論文標題 Predictive factors for persistence of preoperative overactive bladder symptoms after transvaginal mesh surgery in women with pelvic organ prolapse.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Low Urin Tract Symptoms	6. 最初と最後の頁 167-172
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/luts.12299.	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 大塚篤史, 三宅秀明	4. 巻 74
2. 論文標題 【泌尿器科診療の再診スタンダード 平成の常識は令和の非常識】 前立腺肥大症-薬物治療	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 臨床泌尿器科	6. 最初と最後の頁 184 ~ 187
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 無
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 Otsuka A, Suzuki T, Aki R, Matsushita Y, Tamura K, Motoyama D, Ito T, Sugiyama T, Miyake H.	4. 巻 11
2. 論文標題 Clinical characteristics of self-reported nocturia in patients with interstitial cystitis, and an impact of bladder hydrodistention (with fulguration for Hunner lesions) on nocturia.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Low Urin Tract Symptoms	6. 最初と最後の頁 0141-0146
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 Otsuka A, Suzuki T, Matsushita Y, Watanabe H, Tamura K, Motoyama D, Ito T, Sugiyama T, Miyake H.	4. 巻 23
2. 論文標題 Therapeutic endoscopic treatment plus maintenance dimethyl Sulfoxide therapy prolongs recurrence-free time in patients with hunner type interstitial cystitis: A pilot study.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int Neurourol J	6. 最初と最後の頁 327-333
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5213/inj.1938110.055.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 大塚篤史	4. 巻 24
2. 論文標題 指定難病の間質性膀胱炎における診断と治療.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Uro-Lo: 泌尿器Care & Cure	6. 最初と最後の頁 353-360
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 無
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4件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 0件）

1．発表者名 大塚篤史，三宅秀明
2．発表標題 間質性膀胱炎に対するジメチルスルホキシド膀胱内注入療法 ～当科における治療経験と私のTips～
3．学会等名 第21回日本間質性膀胱炎研究会（招待講演）
4．発表年 2022年

1．発表者名 大塚篤史
2．発表標題 最新のエビデンスに基づいた男性下部尿路症状・前立腺肥大症の診断と治療
3．学会等名 第28回日本排尿機能学会（招待講演）
4．発表年 2021年

1．発表者名 大塚篤史
2．発表標題 間質性膀胱炎診療と病診連携
3．学会等名 日本臨床泌尿器科医会 第17回臨床検討会（招待講演）
4．発表年 2021年

1．発表者名 大塚篤史，渡邊恭平，松下雄登，渡邊弘充，田村啓多，本山大輔，伊藤寿樹，杉山貴之，三宅秀明．
2．発表標題 当院における間質性膀胱炎に対する膀胱水圧拡張術の治療成績．
3．学会等名 第26回日本排尿機能学会
4．発表年 2019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
--	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------