

令和 4 年 6 月 23 日現在

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2020～2021

課題番号：20K22976

研究課題名（和文）前立腺肥大症の発症における慢性炎症とギャップ結合タンパクの関与の解明

研究課題名（英文）Involvement of chronic inflammation and gap junction proteins in the pathogenesis of benign prostatic hyperplasia

研究代表者

河野 仁 (Kono, Jin)

京都大学・医学研究科・助教

研究者番号：10880015

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,200,000円

研究成果の概要（和文）：ギャップ結合・ヘミチャネル構成タンパクとして知られているConnexin 43(Cx43)が、前立腺炎症・前立腺肥大症との関連について検討した。ヒト前立腺上皮細胞由来であるRWPE-1と前立腺間質由来であるWPMY-1において、Cx43の上流にあると思われるBmal1をノックダウンすると細胞増殖の低下を認めた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

前立腺の炎症は前立腺肥大症の進行に関与する重要な因子と考えられているが、炎症をターゲットとした既存薬による治療効果は限定的とされており、新たな着想の病態解明研究ならびにその成果に基づいた新規治療薬シーズの創製が必要である。本研究により、炎症が前立腺肥大症を引き起こすメカニズムへCx43が関与し、新たな治療ターゲットとなりうる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：We investigated the association of Connexin 43 (Cx43), a known gap junction and hemichannel component protein, with prostate inflammation and benign prostatic hyperplasia. Knockdown of Bmal1, which appears to be upstream of Cx43, resulted in decreased cell proliferation in RWPE-1, derived from human prostate epithelial cells, and in WPMY-1, derived from the prostatic stroma.

研究分野：排尿障害

キーワード：前立腺肥大症 Connexin 43

1. 研究開始当初の背景

前立腺肥大症は高齢男性において高頻度にみられる疾患であり、重症例では薬物治療の効果は乏しく外科治療は侵襲性のため適応とならずに、カテーテル留置を余儀なくされる場合もある。前立腺肥大の進行を抑制する本質的な治療が望まれる。前立腺肥大症の発症機序として、アンドロゲンを介した経路以外に、近年はメタボリックシンドロームおよびそれに関連した慢性炎症が前立腺肥大の発症や進行に関与することが多数報告されている (Eur Urol.2012;61:560) が、その発症機序の詳細は依然不明である。ギャップ結合・ヘミチャネル構成タンパクとして知られている Connexin 43(Cx43)が、細胞間伝達によって炎症の伝播・増幅に重要な役割を果たしていることが、グリア細胞を用いた神経炎症や皮膚炎症に関する研究で報告されており、炎症性疾患に対する新たな治療ターゲットとなりうる可能性が示唆されている(Orellana, J.A et al, 2009, YinanZhao, et al., 2020)。我々は、これまでの研究で、膀胱における Cx43 が、膀胱容量や尿意知覚の調節において密接な関連があることを報告してきた (2009、今村ら、2012、根来ら、2018、千菊ら)。ただし、我々が調べ得る限りにおいて、前立腺に関しては Cx43 と癌やアポトーシスと関連した報告はあるものの、前立腺炎症・前立腺肥大症と Cx43 に関して検討した報告はない。一方、近年、ポリメトキシフラボノイド (PMF) という、抗酸化・抗炎症・糖代謝・脂質代謝改善効果など多数の生理活性を持つ天然物に着目が集まっている。我々は代表的な PMF であるノビレチン・タンゲレチンの抗炎症効果に着目し、膀胱炎症マウスモデルにノビレチン・タンゲレチンを予防投与したところ、頻尿の抑制効果、抗炎症効果、および尿路上皮 Cx43 発現抑制を見出した。このような知見から、応募者は以下の「学術的問い」を得るに至った。

前立腺における炎症が Cx43 ギャップ結合・ヘミチャネルの機能を介して伝播・増幅することで、前立腺肥大症の成因となるのではないか。Cx43 は前立腺肥大症の新たな治療ターゲットとなり、フラボノイド系化合物がその Cx43 を作用機序とする有効な治療シーズとなるのではないか。

2. 研究の目的

前立腺の炎症は前立腺肥大症の進行に関与する重要な因子と考えられているが、炎症をターゲットとした既存薬による治療効果は限定的とされており、新たな着想の病態解明研究ならびにその成果に基づいた新規治療薬シーズの創製が必要である。本研究の目的は、炎症が前立腺肥大症を引き起こすメカニズムへの Cx43 の関与を解明し、新たな治療ターゲットとなりうるかどうかを検証することにある。

3. 研究の方法

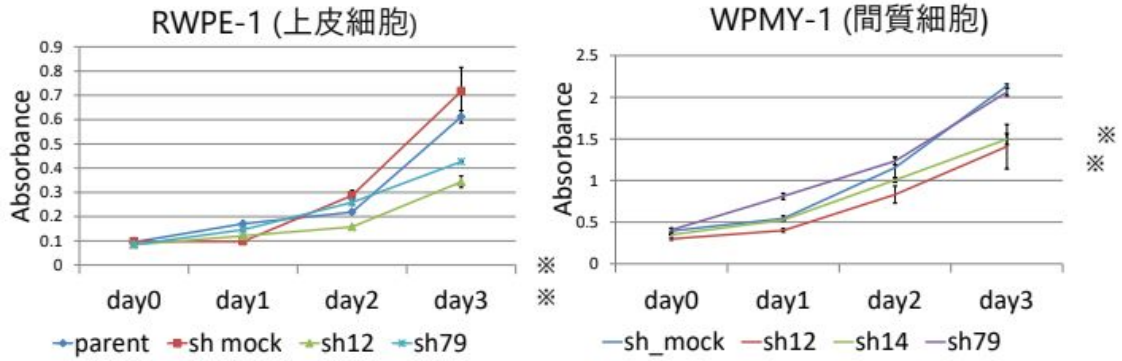
(1) ヒト前立腺上皮細胞由来である BPH-1 および RWPE-1 と前立腺間質由来である WPMY-1 を用いて、Cx43 ノックダウン細胞株、強制発現株を作成し、細胞増殖や細胞内シグナルの検討を行う。また炎症性サイトカイン添加条件下で、Cx43 の発現状態による細胞増殖や細胞内シグナルへの影響を検証する。

(2) 前立腺特異的 Cx43 ノックアウトマウスを作成し、自己免疫性慢性前立腺炎モデル化を行う。コントロール群と比較し、炎症が前立腺肥大症を引き起こすメカニズムへの Cx43 関与を分子生物学的・生理学的に解明する。具体的には、前立腺重量や HE 標本での上皮、間質細胞の差異、増殖シグナルに関与する遺伝子発現、タンパク発現の変化、排尿行動測定を行う。

(3) 自己免疫性慢性前立腺炎モデルマウスにフラボノイド系化合物を摂取させ、フラボノイド系化合物の前立腺炎、前立腺肥大症に対する治療効果を、(2)と同様に詳細に検証する。

4. 研究成果

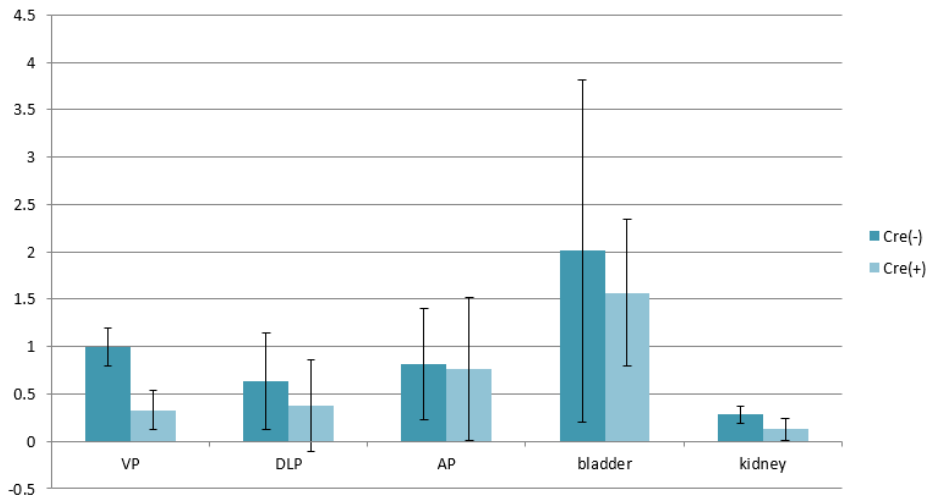
(1) Cx43 の遺伝子編集を行った変異株が準備できずに目的とした、Cx43KD 株、強制発現下での実験が完遂できなかった。Cx43 の上流にあると思われる Bmal1 の KD 株では細胞増殖の低下を認めていた。今後も引き続き同実験は継続していく予定である。



両細胞でBMAL1 KDにより増殖能の低下を認めた。

※sh mockと比較; P<0.05, One-way ANOVA with Turkey's post hoc test

Bmal1 KOマウスにおけるCx43の発現 (qPCR)



Bmal1↓ -> Cx43↓ となる可能性あり

(2)前立腺特異的 Cx43 ノックアウトマウスの作成を目的に PbsnCre マウスと Cx43floxed マウスを交配し、目的の Cx43floxed;PbsnCre+の雄マウスを作成。20 週令で犠牲死させ、前立腺サイズおよび体重を計測した。コントロールは Cx43floxed;PbsnCre-の 20 週令雄マウスで、両者の前立腺サイズを比較したものの有意な差を認めなかった。マウスの作成、成長に時間を要しているが、今後はより週令が経過した段階での評価および炎症やテストステロン負荷など刺激下での差が出るかどうかを実験予定としている。

(3)自己免疫性慢性前立腺炎モデルマウスは Preliminary でのモデル作成は段階であるが、前述(1)(2)の実験成果が出れば速やかに行う準備段階にある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------