

平成 26 年 5 月 30 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592376

研究課題名(和文) 前立腺肥大症に対する新規分子標的治療法開発のためのKIT陽性間質細胞の機能解明

研究課題名(英文) Functional analysis of KIT-positive interstitial cells for novel strategies of molecular target therapies for benign prostatic hyperplasia

研究代表者

佐々木 昌一 (Sasaki, Shoichi)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：50225869

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：我々は前立腺肥大症(BPH)におけるKIT陽性細胞の役割についてヒト前立腺組織ならびにヒト前立腺間質細胞系(PrSC)を用いて検討した。RT-PCR、ウエスタンブロットで前立腺間質にKITが発現していることを確認した。さらにKITリガンドであるSCFが前立腺の増殖に関与し、KIT阻害剤であるイマチニブがそれを抑制することを確認した。この抑制はJAK2とSTAT1を介する経路を抑制していた。以上の結果から、SCF/KITシグナルを調整することによる、是韻律線肥大症に対する新しい分子標的治療薬の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：We investigated the role of the KIT-mediated mechanism in benign prostatic hyperplasia (BPH), and discuss the pathophysiology of BPH and a candidate target of BPH medical therapy. KIT was expressed in PrSC and human prostate, indicating that these samples are suitable for examining the function of KIT. Immunohistochemical analysis demonstrated that KIT was localized in interstitial cells (ICs) of the stromal component in human prostate. Administration of imatinib mesylate dose-dependently inhibited cell proliferation of PrSC with downregulation of JAK2 and STAT1, which are the main pathways downstream of SCF/KIT signal. SCF promoted cell proliferation of PrSC with upregulation of JAK2 and STAT1. KIT expression and the number of KIT-positive ICs in BPH were found to be significantly larger than in normal prostate.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：前立腺肥大症 KIT陽性間質細胞 SCF

1. 研究開始当初の背景

消化管の自動運動の源は、カハールの間質細胞(interstitial cells of Cajal)であると考えられており、カハールの間質細胞が欠損すると消化管運動が低下すると言われている。最近、自動運動を有する膀胱平滑筋においても、同様の形態学的特徴を持つKit陽性間質細胞が発見され、膀胱における自発活動の発生機序と間質細胞との関係が注目されている。またカハールの介在細胞から生じる消化管間質腫瘍(GIST)はc-kit遺伝子に特徴的な変異が認められており、Kit陽性細胞は消化管において自動運動だけではなく、細胞増殖にも関与していると言われている。

近年、ヒト前立腺の免疫組織染色にてKit陽性細胞が発見された。これらのことから、私たちは消化管同様、前立腺においてもKit陽性細胞が前立腺平滑筋の過緊張と前立腺間質細胞の増殖に関与していることを推察した。本研究では、前立腺肥大症の病態生理におけるKit陽性細胞のメカニズムを明らかにし、 β_1 受容体阻害剤および5 α 還元酵素阻害剤にかかわる新規分子標的薬の開発につなげたいと考えた。

2. 研究の目的

- (1)ヒト、モルモットおよび前立腺培養細胞におけるKit陽性細胞を確認する。
- (2)前立腺自動運動に対するKit陽性細胞の役割を検討する。
- (3)ヒト正常前立腺と前立腺肥大症におけるKit陽性細胞の発現を比較検討する。
- (4)前立腺における細胞増殖機序の解明。

3. 研究の方法

- (1)ヒトおよび前立腺培養細胞の免疫組織化学染色で、PCR、Western blottingにより、Kit陽性細胞を同定した。
- (2)等尺性収縮法を用いてモルモット前立腺の自動運動を確認し、Kitに対する抑制因子であるメシル酸イマチニブが前立腺の自動運動にどのように影響するか観察することにより、KIT陽性細胞の前立腺自発収縮への役割について検討した。
- (3)組免疫組織化学染色および分子生物学的解析(PCR、Western blotting)を用いることにより、ヒト正常前立腺と前立腺肥大症におけるKitの発現を比較検討した。
- (4)ヒト前立腺間質細胞を培養し、Kitに対する抑制因子であるイマチニブを作用させ、MTT assayにより細胞増殖能を検討し、Kit

陽性細胞の前立腺における細胞増殖への関与を検討した。

4. 研究成果

- (1)ヒト、モルモットおよび前立腺培養細胞の免疫組織化学染色で、PCR、Western blottingにより、Kit陽性細胞が確認された。
- (2)等尺性収縮実験により、モルモット前立腺の自動運動が確認された。またKitに対する抑制因子であるメシル酸イマチニブ投与により濃度依存的に前立腺の自動運動が抑制された。さらにKit LigandであるSCFを投与すると濃度依存的に前立腺の自動運動が増強した。
- (3)ヒト前立腺において正常前立腺と前立腺肥大症におけるKit陽性細胞の発現を比較検討したところ、前立腺肥大症においてその発現数は有意に増加していた。
- (4)ヒト前立腺間質細胞の培養において、SCFを投与すると濃度依存的に増加し、メシル酸イマチニブ投与により濃度依存的に抑制された。またSCF投与時にはJAK2、STAT1が濃度依存的に増加し、イマチニブ投与時はそれらが濃度依存的に減少した。
- (5)まとめ
前立腺肥大症の機能的尿道閉塞にはKit陽性細胞が関与していることが示された。また前立腺肥大症の機械的閉塞の発症メカニズムのひとつとして、JAK2、STAT1の経路を介してKit陽性細胞が関与していることが示された。すなわちKit陽性細胞を調節することによって、前立腺肥大症の機械的閉塞並びに機能的閉塞の両者を同時に治療することができる可能性が示唆された。

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 10 件)

佐々木 昌一:尿の悩み 男性の尿もれ。きょうの健康、2014年1月号:62-65、2014(査読なし)

Hamakawa Takashi, Sasaki Shoichi, Shibata Yasuhiro, Imura Makoto, Kubota Yasue, Kojima Yoshiyuki, Kohri Kenjiro: Interleukin-18 may lead to benign prostatic hyperplasia via thrombospondin-1 production in prostatic smooth muscle cells. Prostate Cancer, 74(6):590-601, 2014 (doi: 10.1002/pros.22773) (査読あり)

り)

Takata Ryo, Matsuda Koichi, Sugimura Jun, Obara Wataru, Fujioka Tomoaki, Okihara Koji, Takaha Natsuki, Miki Tsuneharu, Ashida Shingo, Inoue Keiji, Tanikawa Chizu, Shuin Taro, Sasaki Shoichi, Kojima Yoshiyuki, Kohri Kenjiro, Kubo Michiaki, Yamaguchi Masao, Ohnishi Yozo, Nakamura Yusuke: Impact of four loci on serum tamsulosin hydrochloride concentration. *Journal of Human Genetics*, 58:21-26, 2013 (doi: 10.1038/jhg.2012.126) (査読あり)

Kojima Yoshiyuki, Sasaki Shoichi, Imura Makoto, Kubota Yasue, Hayashi Yutaro, Kohri Kenjiro: Tamsulosin reduces nighttime urine production in benign prostatic Hyperplasia patients with nocturnal polyuria: A prospective open-label long-term study using frequency-volume chart. *Neurourology and Urodynamics*, 31:80-85, 2012 (doi: 10.1002/nau.21224.) (査読あり)

Kojima Yoshiyuki, Kubota Yasue, Sasaki Shoichi, Kohri Kenjiro: Molecular basis of α_1 -AR and its clinical application in male LUTS medical therapy. *Current Bladder Dysfunction Reports*, 7:256-259, 2012 (doi:10.1007/s11884-012-0149-4) (査読あり)

Niwa Satomi, Ohya Susumu, Kojima Yoshiyuki, Sasaki Shoichi, Yamamura Hisao, Sakuragi Motomu, Kohri Kenjiro, Imaizumi Yuji: Down-regulation of the large-conductance Ca(2+)-activated K⁺ channel, K(Ca)1.1 in the prostatic stromal cells of benign prostate hyperplasia. *Biol Pharm Bull*. 2012;35(5):737-44.

(<http://dx.doi.org/10.1248/bpb.35.737>) (査読あり)

Imura Makoto, Kojima Yoshiyuki, Kubota Yasue, Hamakawa Takashi, Yasui Takahiro, Sasaki Shoichi, Hayashi Yutaro, Kohri Kenjiro. Regulation of cell proliferation through a KIT-mediated mechanism in benign prostatic hyperplasia. *Prostate*. 2012 Oct 1;72(14):1506-13. (doi:

10.1002/pros.22500.) (査読あり)

小島 祥敬, 佐々木 昌一, 林 祐太郎, 郡 健二郎: ゲノム薬理学からみた前立腺肥大症薬物療法におけるオーダーメイド医療。 *臨床薬理の進歩*2012、90-101、2012 (査読なし)

Kojima Yoshiyuki, Sasaki Shoichi, Imura Makoto, Kubota Yasue, Hayashi Yutaro, Kohri Kenjiro: Correlation between expression of 1-adrenoceptor subtype mRNA and severity of lower urinary tract symptoms or bladder outlet obstruction in benign prostatic hyperplasia patients. *BJU International*, 107:438-442, 2011 (doi: 10.1111/j.1464-410X.2010.09596.x.) (査読あり)

Kojima Yoshiyuki, Sasaki Shoichi, Kubota Yasue, Imura Makoto, Oda Nobuyuki, Kiniwa Mamoru, Hayashi Yutaro, Kohri Kenjiro: Up-regulation of α_{1a} and α_{1d} -adrenoceptors in the prostate by administration of subtype selective α_1 -adrenoceptor antagonist tamsulosin in patients with benign prostatic hyperplasia. *The Journal of Urology*, 186:1530-1536, 2011 (doi: 10.1016/j.juro.2011.05.048.) (査読あり)

[学会発表](計 26 件)

Hamakawa Takashi, Sasaki Shoichi, Kubota Yasue, Kojima Yoshiyuki, Kohri Kenjiro: Interleukin-18 may lead to stromal hyperplasia via thrombospondin-1 production in prostatic smooth muscle cells. *American Urological Association Annual Meeting 2014*, 2014.5.16-21, Orlando, USA

濱川 隆, 佐々木昌一, 柴田 泰宏, 井村 誠, 窪田 泰江, 小島 祥敬, 郡 健二郎: 炎症性サイトカイン IL-18 が前立腺肥大の間質過形成を促す。第 20 回日本排尿機能学会、2013.9.18-21、静岡市 Hamakawa Takashi, Sasaki Shoichi, Shibata Yasuhiro, Imura Makoto, Kubota Yasue, Kojima Yoshiyuki, Kohri Kenjiro : Interleukin-18 may lead to benign prostatic hyperplasia via thrombospondin-1 production in

prostatic smooth muscle cells.
American Urological Association
Annual Meeting 2013, 2013.5.4-8, San
Diego, USA
Kubota Yasue, Kojima Yoshiyuki, Imura
Makoto, Shibata Yasuhiro, Hamakawa
Takashi, Sasaki Shoichi, Kohri
Kenjiro: Urinary stem cell factor
level could be a novel diagnostic
biomarker for benign prostatic
hyperplasia patients with OAB.
American Urological Association
Annual Meeting 2013, 2013.5.4-8, San
Diego, USA
濱川 隆、佐々木 昌一、柴田 泰宏、
井村 誠、窪田 泰江、林 祐太郎、小
島 祥敬、郡 健二郎: 前立腺の間質肥
大の原因物質となる炎症性サイトカイン
IL-18 の同定と作用機序の解明。第
101 回日本泌尿器科学会、2013.4.25-28、
札幌市
井村 誠、佐々木 昌一、窪田 泰江、
濱川 隆、柴田 泰宏、高田 麻沙、小
島 祥敬、郡 健二郎: KIT 陽性間質細
胞を介した前立腺の増殖および収縮機
構の解明。第 101 回日本泌尿器科学会、
2013.4.25-28、札幌市
柴田 泰宏、佐々木 昌一、濱川 隆、
高田 麻沙、井村 誠、水野 健太郎、
岡田 淳志、梅本 幸裕、安井 孝周、
河合 憲康、窪田 泰江、林 祐太郎、
郡 健二郎: 前立腺肥大症の発生誘因物
質としての GDNF の可能性。第 101 回日
本泌尿器科学会、2013.4.25-28、札幌市
Imura Makoto, Kojima Yoshiyuki,
Hamakawa Takashi, Shibata Yasuhiro,
Kubota Yasue, Sasaki Shoichi, Hayashi
Yutaro, Kohri Kenjiro: Tamsulosin
reduces nighttime urine production in
benign prostatic hyperplasia patients
with nocturnal polyuria: a
prospective open-label long-term
study using frequency-volume chart.
第 32 回国際泌尿器科学会 (SIU)
2012.9.30-10.4、福岡市
Imura Makoto, Kojima Yoshiyuki,
Hamakawa Takashi, Shibata Yasuhiro,
Kubota Yasue, Sasaki Shoichi, Hayashi
Yutaro, Kohri Kenjiro: Regulation of
cell proliferation through a
KIT-mediated mechanism in benign
prostatic hyperplasia. 第 32 回国際泌

尿器科学会 (SIU) 2012.9.30-10.4、福
岡市
(Special Lecture) Sasaki Shoichi:
Subtypes of alpha1-adrenoceptors in
BPH-future prospects for personalized
medicine. 1st Innovation Symposium
for Urological Excellence,
2012.9.22-23, Jeju (韓国)
Imura Makoto, Sasaki Shoichi,
Hamakawa Takashi, Shibata Yasuhiro,
Hayase Masa, Kubota Yasue, Kojima
Yoshiyuki, Kohri Kenjiro: Regulation
of cell proliferation through a
KIT-mediated mechanism in benign
prostatic hyperplasia. Nagoya Shinshu
Forum 2012.8.31-9.1, Nagoya
井村 誠、佐々木 昌一、窪田 泰江、
濱川 隆、柴田 泰宏、早瀬 麻沙、小
島 祥敬、郡 健二郎: KIT 陽性間質細
胞による前立腺の自動収縮作用。第 19
回日本排尿機能学会、2012.8.29-31、名
古屋市
柴田 泰宏、佐々木 昌一、窪田 泰江、
濱川 隆、早瀬 麻沙、井村 誠、小島
祥敬、郡 健二郎: 前立腺肥大症の誘因
物質としての GDNF の可能性。第 19 回日
本排尿機能学会、2012.8.29-31、名古屋
市
Kojima Yoshiyuki, Sasaki Shoichi,
Hamakawa Takashi, Shibata Yasuhiro,
Imura Makoto, Kubota Yasue, Tozawa
Keiichi, Hayashi Yutaro, Kohri
Kenjiro: Receptor binding ability of
1-AR antagonists is responsible for
therapeutic efficiency with long-term
use in benign prostatic hyperplasia.
American Urological Association
Annual Meeting 2012, 2012.5.19-24,
Atlanta(USA)
Kojima Yoshiyuki, Sasaki Shoichi,
Imura Makoto, Mizuno Kentaro, Okada
Atsushi, Kubota Yasue, Hayashi Yutaro,
Kohri Kenjiro: Gene expression
profiling and functional network
analysis of benign prostatic
hyperplasia model rat. American
Urological Association Annual Meeting
2012, 2012.5.19-24, Atlanta(USA)
Imura Makoto, Kojima Yoshiyuki,
Hamakawa Takashi, Okada Atsushi,
Kubota Yasue, Umemoto Yukihiro,
Sasaki Shoichi, Hayashi Yutaro, Kohri

Kenjiro: Regulation of cell proliferation through a KIT-mediated mechanism. American Urological Association Annual Meeting 2012, 2012.5.19-24, Atlanta(USA)

井村 誠、小島 祥敬、濱川 隆、柴田 泰宏、早瀬 麻沙、窪田 泰江、佐々木 昌一、林 祐太郎、郡 健二郎: SCF/KIT シグナル伝達系を介した前立腺肥大症 増殖機構の解明。第 100 回日本泌尿器科学会総会、2012.4.21-24、横浜市

小島 祥敬、佐々木 昌一、濱川 隆、柴田 泰宏、井村 誠、窪田 泰江、林 祐太郎、郡 健二郎: 前立腺肥大症における、遮断薬の長期有効性を規定する 因子 薬物動態および薬物受容体相互作用に関する考察。第 100 回日本泌尿器科学会総会、2012.4.21-24、横浜市

柴田 泰宏、濱川 隆、早瀬 麻沙、井村 誠、窪田 泰江、小島 祥敬、佐々木 昌一、林 祐太郎、郡 健二郎: 間質優位前立腺肥大症モデルにおける GDNF の発現。第 100 回日本泌尿器科学会総会、2012.4.21-24、横浜市 (シンポジウム)小島 祥敬、佐々木 昌一、窪田 泰江、林 祐太郎、郡 健二郎: 基礎研究からみた治療戦略 ゲノム薬理学に基づくオーダーメイド医療と創薬開発に向けた基礎的研究。第 18 回日本排尿機能学、2011.9.15-18、福井市

- ⑳ 小島 祥敬、佐々木 昌一、濱川 隆、柴田 泰宏、井村 誠、窪田 泰江、林 祐太郎、郡 健二郎: タムスロシン塩酸塩は夜間多尿を有する前立腺肥大症患者の尿量日内変動を改善する Frequency-volume chart を用いた長期前向き研究。第 18 回日本排尿機能学会、2011.9.15-18、福井市

- ㉑ 井村 誠、小島 祥敬、濱川 隆、柴田 泰宏、早瀬 麻沙、窪田 泰江、佐々木 昌一、郡 健二郎: KIT 陽性間質細胞は前立腺の収縮と増殖に関与している。第 18 回日本排尿機能学会、2011.9.15-18、福井市

- ㉒ Kojima Yoshiyuki, Sasaki Shoichi, Hamakawa Takashi, Shibata Yasuhiro, Imura Makoto, Kubota Yasue, Hayashi Yutaro, Kohri Kenjiro: Tamsulosin improves disturbance of circadian regulation of urine production in benign prostatic hyperplasia patients

with nocturnal polyuria - a prospective open-label long-term study using frequency-volume chart. 41st Annual Meeting of International Continence Society, 2011.8.29-9.2, Glasgow(UK)

- ㉓ Sasaki Shoichi, Kojima Yoshiyuki, Shibata Yasuhiro, Imura Makoto, Kubota Yasue, Kohri Kenjiro: Up-regulation of alpha 1A-and alpha 1D-Adenoceptors in the prostate by administration of subtype-selective alpha 1-adrenoceptor antagonist tamsulosin for benign prostatic hyperplasia patients. 41st Annual Meeting of International Continence Society, 2011.8.29-9.2, Glasgow(UK)

- ㉔ Imura Makoto, Kojima Yoshiyuki, Hamakawa Takashi, Shibata Yasuhiro, Hayase Masa, Kubota Yasue, Sasaki Shoichi, Kohri Kenjiro: Function of kit positive cells in the benign prostatic hyperplasia. 41st Annual Meeting of International Continence Society, 2011.8.29-9.2, Glasgow(UK)

- ㉕ 井村 誠、小島 祥敬、柴田 泰宏、早瀬 麻沙、窪田 泰江、佐々木 昌一、郡 健二郎: KIT 陽性間質細胞は前立腺肥大の収縮と増殖に関与している。第 99 回日本泌尿器科学会総会、2011.4.21-24、名古屋市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 昌一 (SASAKI SHOICHI)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 50225869

(2) 研究分担者

小島 祥敬 (KOJIMA YOSHIYUKI)
福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号: 60305539

窪田 泰江 (KUBOTA YASUE)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号: 00381830

高田 麻沙 (旧姓: 早瀬) (TAKADA MASA)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員
研究者番号: 60468254

郡 健二郎 (KOHRI KENJIRO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授
研究者番号：30122047