

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791665

研究課題名(和文) 前立腺肥大症発症における炎症性サイトカイン IL - 18 の関与とそのメカニズムの解明

研究課題名(英文) The mechanism of the development of benign prostatic hyperplasia via pro-inflammatory cytokine IL-18.

研究代表者

濱川 隆 (Hamakawa, Takashi)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・臨床研究医

研究者番号：40595394

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)：前立腺肥大症(BPH)の発症に慢性炎症の関与が示唆されている。我々は以前、間質優位な新規BPHモデルラットを用いて、IL-18の発現がBPHで亢進することを見いだした。BPH発症におけるIL-18の機能解析をするため、本研究を行った。モデルラット、ヒトのBPH組織の上皮にIL-18が、ヒト前立腺平滑筋にIL-18受容体が発現していた。ヒト正常前立腺平滑筋細胞へのIL-18投与で、TSP-1の発現が増加し、ヒト正常前立腺間質細胞へのTSP-1投与で、その増殖能が亢進した。以上のことから腺上皮で発現したIL-18が平滑筋細胞に作用し、TSP-1の産生を介して前立腺間質の過形成を促すと考えられた。

研究成果の概要(英文)：Inflammation may play an important role in the development of benign prostatic hyperplasia (BPH). Previously, we used a stromal hyperplasia rat model and analyzed the genomic profile of this model by using cDNA microarray. We focused on the most expressed pro-inflammatory cytokine IL-18 in several cytokine genes related to the inflammatory response.

IL-18 was localized in the epithelial and stromal components in rat and human BPH tissues. IL-18 receptor was strongly localized in smooth muscle cells both normal prostate tissues and BPH tissues. In human cultured prostate smooth muscle cells, IL-18 effected dose-dependent increases in the TSP-1 levels. TSP-1 promoted proliferation of human cultured prostate stromal cells. Our findings suggest IL-18 in which secreted in epithelial cells, stimulates TSP-1 production by smooth muscle cells. TSP-1 then promotes the proliferation of prostatic stromal cells, which in turn leads to the development of prostatic hyperplasia.

研究分野：泌尿器科

キーワード：前立腺肥大症 炎症 IL-18 TSP-1

### 1. 研究開始当初の背景

高齢人口の増加に伴い、前立腺肥大の発症率は増加の一途をたどっている。前立腺肥大の発症機序は未だ解明されておらず、明確な予防法もなく対症的治療が中心となっているのが現状である。医療資源の問題からも、その発症機序を解明し予防も含めた新規治療を開発することが急務である。その一助として前立腺肥大症の病態を正確に反映したモデル動物の作成が必要となる。過去の研究の多くが、アンドロゲン投与による腺上皮優位のモデルラットを用いているが、これはヒトの病態を正確に反映するとは言い難い。

### 2. 研究の目的

私たちは、ヒト前立腺肥大症と類似したモデルラットを作成し、前立腺肥大組織と正常組織についてマイクロアレイ解析をした。その結果、前立腺肥大組織で炎症性サイトカイン IL-18 の発現が増加していることを明らかにした。IL-18 は炎症のみならず、心筋過形成や細胞増殖をもたらすとされている。この点に着目し、IL-18 が前立腺肥大の発症に関与していると考え、前立腺肥大における IL-18 の機能解析を行うこととした。IL-18 を介した前立腺肥大の発症メカニズムを解明し、新規治療薬の開発の可能性を検討することが本研究の目的である。

### 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) モデルラット前立腺肥大組織、ヒト前立腺肥大症における IL-18 の発現の検討

モデルラット前立腺肥大組織を用いて RT-PCR、ウエスタンブロッティングを施行したところ正常前立腺組織と比較し、有意に IL-18 の mRNA、タンパクの発現が亢進していた。この結果を踏まえ下記の実験を計画した。

ヒト前立腺肥大症組織を用いて、定量 RT-PCR、ウエスタンブロッティングを施

行し、IL-18 の発現を確認する。

IL-18、IL-18 受容体の局在を検討するため、ラット前立腺肥大組織、ヒト前立腺肥大症とラット正常前立腺、ヒト正常前立腺を用いて、それぞれに対して、免疫染色を行う。

(3) ヒト正常前立腺培養細胞に対する IL-18 の直接的作用の検討

ヒト前立腺間質細胞 (PrSC)、前立腺平滑筋細胞 (PrSMC) を用いて以下の実験を行った。

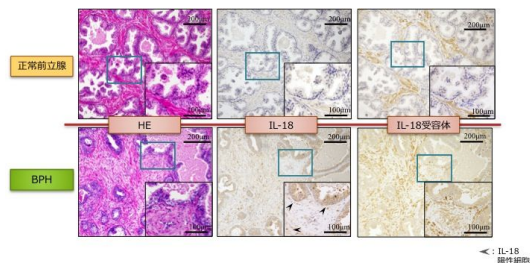
細胞内シグナル伝達経路に対する影響を検討するため、対照群、IL-18 投与群に分け、IL-18 を投与する。投与後に細胞を回収、RNA、タンパク質を抽出し、前述した細胞内シグナル伝達経路について、定量 RT-PCR、ウエスタンブロッティングを行い、その変動とリン酸化活性について検討する。

IL-18 の前立腺細胞の増殖能への影響を検討するために、96well プレートへ細胞を播種した後、対照群、IL-18 投与群に分け IL-18 を投与し WST assay を行う。

### 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。

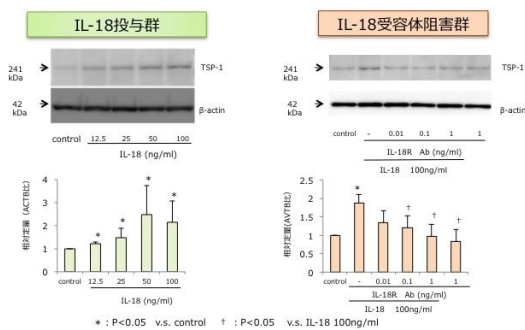
(2) ヒト正常前立腺、BPH 組織を用いて定量 RT-PCR、ウエスタンブロッティングを施行したところ有意差は出なかったが、BPH 組織において IL-18 の発現が強い傾向であった。モデルラット、ヒト前立腺組織で免疫染色を施行したところ、ラット、ヒトともに BPH 組織の腺上皮と一部の間質に IL-18 の発現が認められた。またヒト前立腺組織では、IL-18 受容体が正常前立腺、BPH の両方の間質にのみ発現していた。



ヒト前立腺組織における IL-18、IL-18 受容体の発現

(3) ヒト正常前立腺培養細胞である

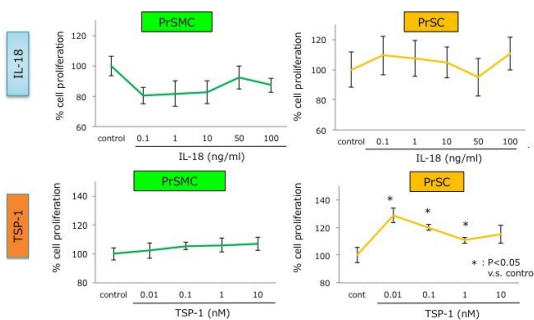
PrSC(前立腺間質細胞)、PrSMC(前立腺平滑筋細胞)に対して IL-18 を投与し、各種増殖因子、細胞外マトリックス、アンドロゲンレセプター等の発現を定量 RT-PCR、ウエスタンブロッティングで検討した。その結果 PrSMC において、IL-18 の濃度依存的に Thrombospondin-1 (TSP-1) という細胞外マトリックスの発現の増加が認められた。これを踏まえ、PrSMC に対して IL-18 を投与し、細胞内シグナル伝達経路の変動を観察するためウエスタンブロッティングを施行したところ、Akt のリン酸化の亢進が認められた。



PrSMC における TSP-1 の発現

左：IL-18 投与群、右：IL-18 受容体阻害群

PrSC、PrSMC に対して IL-18 を投与し、WST assay を施行したところ、各細胞とも有意な増殖能の変化は認めなかった。また TSP-1 を両細胞へ投与し、WST assay を施行したところ、PrSC の増殖能の増加が認められた。



WST assay による細胞増殖能の評価

これらの結果から、腺上皮で発現した IL-18 が平滑筋細胞に作用し、Akt のリン酸化を介した TSP-1 の産生により前立腺間質の増生を誘導しうると考えられた。

## 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1件)

1. 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, 査読有、74(6):590-601, 2014

DOI: 10.1002/pros.22773.

[学会発表](計6件)

1. 濱川隆, 佐々木昌一, 柴田泰宏, 高田麻沙, 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誘導する. 第158回名古屋市立大学医学会例会, 2014.6.16, 名古屋市立大学(愛知県・名古屋市)
2. Takashi Hamakawa, Shoichi Sasaki, Yasue Kubota, Yoshiyuki Kojima, Kenjiro Kohri: Interleukin-18 may lead to stromal hyperplasia via thrombospondin-1 production in prostatic smooth muscle cells. 109th American Urological Association Annual Meeting, 2014.5.16-21, Orlando (USA)
3. Takashi Hamakawa, Shoichi Sasaki, Yasue Kubota, Yasuhiro Shibata, Yoshiyuki Kojima, Kenjiro Kohri: Interleukin-18 may lead to benign prostatic hyperplasia via thrombospondin-1 production in prostatic smooth muscle cells. Nagoya Shinshu Forum 2013, 2013.9.22-23, グランシップ(静岡県・静岡市)
4. 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, 2013.9.19-23, グランシップ(静岡県・静岡市)
5. Takashi Hamakawa, Shoichi Sasaki, Yasuhiro Shibata, Makoto Imura, Yasue Kubota, Yoshiyuki Kojima, Kenjiro Kohri: Interleukin-18 may lead to benign prostatic hyperplasia via thrombospondin-1 production in prostatic smooth muscle cells. 108th American Urological Association Annual Meeting, 2013.5.4-8, San Diego (USA)
6. 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  
会総会 , 2013.4.25-28 , さっぽろ芸術文  
化の館 (北海道・札幌市)

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

濱川 隆 (HAMAKAWA TAKASHI )

名古屋市立大学・大学院医学研究科・臨床  
研究医

研究者番号 : 40595394