

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：21601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26462448

研究課題名(和文) 前立腺肥大症に対するゲノム薬理学に基づく個別化治療と創薬開発に向けた基礎的研究

研究課題名(英文) Basic research to realize personalized medicine based on pharmacogenomics and drug discovery in benign prostatic hyperplasia

研究代表者

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

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺肥大症は、症状に対する対処療法のみならず、病態を理解することによって疾患そのものへの新しい創薬開発が進められることが期待されている。私たちは、新たに前立腺肥大症モデル動物を作成し、各種サイトカイン、増殖因子、ケモカインが、前立腺の増殖過程において重要であることや、筋線維芽細胞が重要な働きを担っていることを明らかにした。

また、前立腺肥大症はQOL疾患であり、薬剤の効果と副作用を意識して、効率的な薬物の投与が、オーダーメイドに行われることが望まれる。そこで前立腺肥大症患者のゲノムワイド解析を行い、薬物治療の効果との相関を検討し、9つの候補SNPを同定した。

研究成果の概要(英文)：Recently, a rat model of BPH produced by implanting fetal urogenital sinus (UGS) into adult rat ventral prostate was developed. Using this model, we found that genes associated with growth factors, cytokines and chemokines were up-regulated in the BPH specimens compared with those in normal prostate, suggesting that their multiple families act through paracrine signaling to stimulate prostate proliferation. In addition, we found that myofibroblasts differentiation played a significant role in prostate growth in BPH. Genome-wide association studies can link multiple SNPs to drug response. More limited genetic variant studies have been performed within alpha1-AR subtypes SNPs within a biologic pathway implicated in BPH could improve predictive ability. We have found 9 potential candidate SNPs associated with the efficacy of alpha1-AR antagonists, although further study will be needed.

研究分野：泌尿器科

キーワード：前立腺肥大症 細胞増殖 一塩基遺伝子多型 オーダーメイド医療 ゲノム薬理学 筋線維芽細胞 サ
イトカイン 増殖因子

1. 研究開始当初の背景

下部尿路機能疾患の概念の変化とそれに伴う下部尿路症状に対する新薬の開発とともに、前立腺肥大症に対する薬物治療の概念も変化しつつある。前立腺肥大症に対して1遮断薬は効果的で標準的な薬物治療とは言いながら、その薬剤効果には個人差がある。その大きな原因として、薬剤の応答性が遺伝的背景に基づいて個々の症例によって異なる可能性が考えられる。前立腺肥大症はQOL疾患であり、薬剤の効果と副作用を意識して、効率的な薬物の投与が、オーダーメイドに行われることが望まれる。

また、症状に対する対処療法のみならず、病態を理解することによって疾患そのものへの新しい創薬開発が進められることが期待されている。私たちは、前立腺肥大症においても新しい創薬開発を目的とした基礎的研究が必要であると考えた。

2. 研究の目的

ゲノム薬理学とは、薬剤効果に患者個人の遺伝的性質がどのように関与するかを研究する学問領域である。すなわち、薬物療法の至適個別化をし、既存の万人向けの医療ではなくて、患者の個人的体質に合わせた個別化医療(オーダーメイド医療)の実現を目標とする。私たちはこれまで個別化医療の実現を目指して研究を行い、前立腺組織の受容体の発現量により薬剤効果が規定されることを明らかにしてきた。しかし前立腺生検組織を用いた研究は、侵襲を伴うため、良性疾患である前立腺肥大症における患者への実用化は现阶段では難しい。

今日のオーダーメイド医療の中心は、一塩基遺伝子多型(SNP)であり、特に癌領域では臨床応用に至っているものもある。前立腺肥大症においては、これまで薬剤効果とSNPとの関係を検討した報告は散見されるが、1受容体上に存在するSNPをすべて網羅したものではない。今後1遮断薬を投与した際の薬物動態・薬剤効果・副作用の個人差に関与するSNPを同定するためのゲノムワイド解析が必要になると考え、本研究の着想に至った。私たちは、前立腺肥大症薬物治療における適正用量および薬剤効果を服薬前に予測する、より詳細なアルゴリズムを作成し、臨床的実用化に向けた基礎的研究を行いたいと考えた。

一方、前立腺肥大症に伴う下部尿路症状に対する薬剤は、症状を緩和する薬剤として1遮断薬および抗コリン剤、3刺激薬など役者はそろいつつあるが、前立腺の機械的閉塞する薬剤は5還元酵素阻害剤のみである。しかし5還元酵素阻害剤はPSA上昇マスクや前述したハイリスク前立腺癌の問題があり、ホルモン非依存性の前立腺肥大症発症メカニズムの解明とそれに伴う新規治療薬の開発が必要と考え、本研究の着想に至った。

3. 研究の方法

1. 前立腺肥大症患者の全ゲノム解析による薬剤応答性遺伝子の同定

前立腺肥大症による排尿障害を有する患者を対象として、1交感神経遮断薬を投与した際の、薬剤効果の個人差に影響を与える遺伝子多型を全ゲノム解析により同定を試みた。各種1遮断薬投与前後の自覚症状、他所見(尿流量測定、残尿測定)を評価項目として、その有効性と関連するSNPの同定を試みた。解析方法として、MAF(minor allele frequency) < 0.10のSNPを除外し、383,689 SNPs(全体の61.8%)を解析に用いた。

II. 前立腺肥大症モデル動物と用いた網羅的遺伝子解析による新しい創薬開発

(1) 病理学的前立腺肥大症モデル動物を用いた前立腺肥大症の病態解明

雄胎仔の泌尿生殖洞を成人才スラットに移植することにより作成する病理学的前立腺肥大症モデル動物を用いた。妊娠20日目の雌SDラットから胎仔を採取。雄のみを選定し、顕微鏡下に胎仔の泌尿生殖洞を摘除。10% fetal bovine serum入りのRPMI1670溶液中で泌尿生殖洞を十分に洗浄したのち、7週齢の雄SDラットの前立腺腹側被膜下に顕微鏡下に移植。移植後8週間後にラットを屠殺し前立腺を摘除(前立腺肥大症モデルラット)。以下の研究に用いた。

(2) 細胞増殖遺伝子の遺伝子発現プロファイリング

前立腺肥大症モデルラット前立腺を用いてマイクロアレイを行った。Gene ontology解析およびfunctional network解析によりこれまで私たちが得た解析結果をもとに遺伝子発現機能解析を行った。これらのサブ解析として、各種サイトカイン、増殖因子、ケモカインの発現を検討した。

(3) 前立腺における筋線維芽細胞の増加と前立腺肥大のメカニズム

上記組織の前立腺肥大組織、対照として左腹側前立腺をそれぞれ採取し、 α -SMA、vimentin陽性の筋線維芽細胞数を、免疫組織化学染色で評価した。また、TGF- β 、IGFBP3の発現をWestern blotting、免疫組織化学染色で評価した。続いて、移植から2週、3週、8週後の前立腺肥大組織をそれぞれ採取し、経時的に組織学的評価、発現解析を行った。統計学的検定は、un-paired t検定を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

4. 研究成果

< 前立腺肥大症患者の全ゲノム解析による薬剤応答性責任遺伝子の同定 >

ゲノムワイド解析の1次スクリーニングにより得られたSNPのうち α 1受容体上に存在するSNPに着目した。そのうち9つのSNPは、1交感神経遮断薬を投与した際の、薬剤効果に関与する可能性が明らかとなった。これらを現在2次スクリーニングによりそ

の再現性の検討を行っている。

<前立腺肥大症モデルラットの作成と各種増殖因子・サイトカイン・ケモカインの発現>

FGF2, FGF3, FGF7, FGFR1, FGFR2, TGFbeta1, TGFbeta2, TGFbeta2 receptor 2, EGFR, IGF1, IGF2, IGF1 receptor, IGF binding protein 3,5,6,7, VEGFc などの増殖因子, IL1-alpha, IL1-beta, IL-7, IL-12beta, IL-15, IL-16, IL-18 などのサイトカイン, Cxcl1, Cxcl9, Cxcl9, Cxcl10, Cxcl11, Cxcl12, Cxcl16 などのケモカインの前立腺肥大症組織における有意な増加を認めた。前立腺の細胞増殖にこれら因子が重要な役割を果たしていると考えられた。

<前立腺における筋線維芽細胞の増加と前立腺肥大のメカニズム>

前立腺肥大組織(9.2%)では、正常前立腺(4.5%)と比較して、筋線維芽細胞数の優位な増加が認められ、特に線維化の強い領域に豊富に存在していた。また、TGF-、IGFBP3 とともに BPH で優位な発現の増加が認められた。2 週、3 週、8 週の評価では、筋線維芽細胞数、及び TGF-、IGFBP3 発現の経時的な増加が認められ、特に TGF-、IGFBP の発現が筋線維芽細胞数の増加に先行して起こっていた。本研究により、BPH の増殖過程において、筋線維芽細胞への分化が活発に行われており、前立腺の線維化に参与してことが考えられた。またその分化に際しては、fibroblast-myofibroblast differentiation の促進因子としての、TGF-、IGFBP 3 の発現増加が先行して起こっており、これらが BPH 発症に大きく関与していると考えられた。網羅的遺伝子解析により得られた遺伝子解析をさらに詳細に検討することにより、前立腺肥大症発症メカニズムが解明や新規薬物の開発につながることを期待された。

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 7 件)

1. Hata Junya, Satoh Yuichi, Akaihata Hidenori, Hiraki Hiroyuki, Ogawa Soichiro, Haga Nobuhiro, Ishibashi Kei, Aikawa Ken, Kojima Yoshiyuki. Molecular classification of benign prostatic hyperplasia: A gene expression profiling study in a rat model. International Journal of Urology. 23. 7. 599-612, 2016.
2. 秦淳也, 赤井畑秀則, 小島祥敬. 特集 前立腺肥大症の薬物療法-使い分けのポイント サブタイプを考慮した 1 遮断薬の選択. 臨床泌尿器科. 70, 6, 398-403. 2016

3. 小島祥敬, 赤井畑秀則, 松岡香菜子, 胡口智之, 秦淳也. 過活動膀胱診療ガイドラインにおける診療アルゴリズム. Current Therapy. 34. 12. 18-25. 2016.
4. Aikawa Ken, Kataoka Masao, Ogawa Soichiro, Akaihata Hidenori, Sato Yuichi, Yabe Michihiro, Hata Junya, Koguchi Tomoyuki, Kojima Yoshiyuki. Elucidation of the pattern of the onset of male lower urinary tract symptoms using cluster analysis: Efficacy of tamsulosin in each symptom group Urology. 2015 08 ; 86 (2) 349-353.
5. Hamakawa Takashi, Sasaki Shoichi, Shibata Yasuhiko, 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. The Prostate. 590-601, 2014.
6. Kojima Yoshiyuki, Ricardo Gonzalez. Can BPH management tailored to individual patient? International Journal of Urology. 21, 437-438. 21(4). 437-438, 2014.
7. 小島祥敬, 秦淳也, 矢部通弘, 佐藤雄一, 赤井畑秀則, 榎田信博, 相川健. 前立腺肥大症に対する個別化治療と創薬開発に向けての基礎的研究. 泌尿器外科 5(27), 649-650, 2014.

[学会発表](計 30 件)

1. 秦淳也, 松岡香菜子, 胡口智之, 佐藤雄一, 赤井畑秀則, 小川総一郎, 片岡政雄, 羽賀宣博, 榎田信博, 柳田知彦, 石橋啓, 相川健, 小島祥敬. 前立腺筋線維芽細胞の経時変化からみた前立腺肥大症発症のメカニズムの解明. 第 23 回日本排尿機能学会. 東京. 12. 7. 2016.
2. 相川健, 赤井畑秀則, 秦淳也, 佐藤雄一, 片岡政雄, 小川総一郎, 羽賀宣博, 榎田信博, 柳田知彦, 石橋啓, 胡口智之, 松岡香菜子, 小島祥敬. クラスタ解析を用いた男性下部尿路症状の分類とその下部尿路機能の特徴. 第 23 回日本排尿機能学会. 東京. 12. 8. 2016.
3. 小島祥敬: Male LUTS 薬物治療-基礎と臨床-. 第 16 回東名泌尿器科研究会. 名古屋. 2. 7. 2016.
4. 小島祥敬: 前立腺肥大症学-ゲノム薬理学と前立腺細胞増殖機構の解明に向けた基礎的研究-. 第 26 回高知泌尿器科セミナー. 高知. 4. 8. 2016.
5. 小島祥敬: 前立腺疾患と下部尿路機能-疾患制御とQOL-. 第 159 回広島地方学会術集会. 広島. 6. 11. 2016.
6. 小島祥敬: 前立腺肥大症に対する薬物治療におけるトランスレーショナルリサーチ. 第 11 回鹿児島泌尿器科セミナー.

- 鹿児島. 7. 9. 2016.
7. 小島祥敬: 男性下部尿路症状に対する治療戦略. 第 203 回宮崎県泌尿器科医会. 宮崎. 7. 14. 2016.
 8. 秦淳也, 松岡香菜子, 胡口智之, 佐藤雄一, 赤井畑秀則, 小川総一郎, 片岡政雄, 羽賀宣博, 榎田信博, 柳田知彦, 石橋啓, 相川健, 小島祥敬. 前立腺肥大症モデルを用いた遺伝子ネットワーク解析~成因解明と創薬開発に向けた基礎的研究~. 第 23 回日本排尿機能学会. 東京. 12. 6. 2016.
 9. 秦淳也, 佐藤雄一, 赤井畑秀則, 小川総一郎, 羽賀宣博, 榎田信博, 柳田知彦, 石橋啓, 相川健, 小島祥敬. 前立腺肥大症モデルラットの遺伝子発現解析. 第 24 回泌尿器分子・細胞研究会. 東京. 2. 28. 2015.
 10. 高岩正至, 白岩学, 相川健, 小島祥敬, 佐藤泰之. 前立腺肥大症患者へのデュタステリド投与の意義. 第 103 回日本泌尿器科学会総会. 金沢. 4. 20. 2015.
 11. Kojima Yoshiyuki. Selective 3-adrenpceptor agonist for the treatment of BPH/OAB. Asia pacific prostate society. Bali. 11/4-7. 2015.
 12. 小島祥敬: 前立腺肥大症(BPH). 第 9 回下部尿路機能先端教育セミナー. 東京. 7. 4. 2015.
 13. 小島祥敬: 前立腺肥大症に対する薬物治療に関する臨床研究. 第 136 回筑後泌尿器科医会研修会. 福岡. 7. 30. 2015.
 14. 小島祥敬. OAB を合併する BPH に対する薬物治療. 第 80 回日本泌尿器科学会東部総会. 東京. 9. 26. 2015.
 15. 小島祥敬: Evidence に基づいた前立腺肥大症に対する薬物治療. 第 7 回愛媛排尿障害研究会. 愛媛. 10. 3. 2015.
 16. 小島祥敬: 前立腺肥大症薬物治療に関する橋渡し研究. 排尿障害フォーラム. 岩手. 10. 22. 2015.
 17. 小島祥敬: 前立腺肥大症に対する薬物治療-基礎と臨床-. 静岡中部 LUTS 講演会. 静岡. 11. 11. 2015.
 18. Hamakawa Takashi, Sasaki Shoichi, Kubota Yasue, Kojima Yoshiyuki, Khoru Kenjiro. Interleukin-18 may lead to storomal hyperplasia viathrombospondin-1 production in prostaticsmooth muscle cells. American Urological Association 2014 Annual Meeting.Orlando.5,17,2014.
 19. 秦淳也, 矢崎順二, 鶴谷善昭, 矢部通弘, 赤井畑秀則, 熊谷伸, 高橋則雄, 羽賀宣博, 柳田知彦, 石橋啓, 相川健, 小島祥敬. 間質優位前立腺肥大症モデルラットを用いた網羅的遺伝子発現分析による前立腺肥大症発症原因の解明. 第 102 回日本泌尿器科学会総会. 神戸市.4,24. 2014.
 20. 秦淳也, 矢部通弘, 佐藤雄一, 赤井畑秀則, 小川総一郎, 片岡政雄, 熊谷伸, 熊谷研, 羽賀宣博, 榎田信博, 柳田知彦, 石橋啓, 相川健, 小島祥敬. 前立腺肥大症モデルラットを用いた遺伝子ネットワーク解析 - 前立腺肥大症特異発現遺伝子の同定と発生機序解明及び治療開発への展開 -. 第 21 回日本排尿機能学会. 岡山.9.20.2014.
 21. Kojima Yoshiyuki: Future prospects for personalized medicine in the treatment of BPH. The 9th AUA/JUA International Afhliate Meeting in Orlando. Orlando.5.18.2014.
 22. Kojima Yoshiyuki. Translational pharmacology in benign prostatic hyperplasia/lower urinary tract symptoms. 12th Asian Congress of Urology. Kish Island.12.5.2014.
 23. 小島祥敬: 前立腺肥大症に対する薬物療法の新展開. 米沢市医師会講演会. 米沢市. 1.17. 2014.
 24. 小島祥敬: 前立腺肥大症と 1 受容体に関する臨床研究. 第 15 回近畿排尿障害セミナー. 大阪市.2.20.2014.
 25. 小島祥敬: 前立腺肥大症と前立腺癌 -下部尿路機能障害の効率的な改善に向けて -. 第 19 回滋賀県前立腺懇話会. 大津市.3,6.2014.
 26. 小島祥敬: 前立腺肥大症 機能的閉塞と機械的閉塞に対する新たな挑戦 .Urology Forum in Tokai. 名古屋市,7.25.2014.
 27. 小島祥敬: 前立腺肥大症に対する個別化療法と創薬開発に向けた基礎的研究. 第 94 回秋田県泌尿器科集談会. 秋田市.9.13.2014.
 28. 小島祥敬: 前立腺と LUTS に関する基礎研究と臨床研究. 群馬 LUTS フォーラム. 前橋市,9.25.2014.
 29. 小島祥敬: 前立腺肥大症を科学する. 鳥取 Urology Forum2014. 米子市.10.10.2014.
 30. 小島祥敬: 前立腺肥大症 '学' ゲノム医学とトランスレーショナルリサーチ . 第 9 回佐賀泌尿器科集談会. 佐賀市.10.30.2014.
- 〔図書〕(計 0 件)
- 〔産業財産権〕
- 出願状況 (計 0 件)
- 名称:
 発明者:
 権利者:
 種類:
 番号:
 出願年月日:
 国内外の別:

取得状況(計 0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.urology.fmu.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小島 祥敬 (KOJIMA Yoshiyuki)
福島県立医科大学 医学部 泌尿器科学
講座・教授
研究者番号：60305539

(2) 研究分担者

相川 健 (AIKAWA Ken)
福島県立医科大学 医学部 泌尿器科学
講座・病院教授
研究者番号：80295419

石橋 啓 (ISHIBASHI Kei)
福島県立医科大学 医学部 泌尿器科
学講座・准教授
研究者番号：90347211

柳田 知彦 (YANAGITA Tomohiko)
福島県立医科大学 医学部 泌尿器科学
講座・講師
研究者番号：20363765

櫛田 信博 (KUSHIDA Nobuhiro)
福島県立医科大学 医学部 泌尿器科学
講座・博士研究員
研究者番号：30381396

羽賀 宣博 (HAGA Nobuhiro)
福島県立医科大学 医学部 泌尿器科学
講座・講師
研究者番号：50586617

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

片岡 政雄 (KATAOKA Masao)
福島県立医科大学 医学部 泌尿器科学
講座・学内講師
研究者番号：90554204

小川 総一郎 (OGAWA Soichiro)
福島県立医科大学 医学部 泌尿器科学
講座・学内講師
研究者番号：50554200

赤井畑 秀則 (AKAIHATA Hidenori)
福島県立医科大学 医学部 泌尿器科学
講座・助教
研究者番号：70644178

佐藤 雄一 (SATO Yuichi)
福島県立医科大学 医学部 泌尿器科学
講座・助手
研究者番号：00706848

矢部 通弘 (YABE Michihiro)
福島県立医科大学 医学部 泌尿器科学
講座・博士研究員
研究者番号：30745782

秦 淳也 (HATA Junya)
福島県立医科大学 医学部 泌尿器科学
講座・助教
研究者番号：00769606