

令和元年6月14日現在

機関番号：13601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11045

研究課題名(和文) 遺伝子解析に基づいた間質性膀胱炎に対する新規治療法の開発

研究課題名(英文) The development of new agents for the interstitial cystitis / bladder pain syndrome base on gene profile

研究代表者

小川 輝之(Ogawa, Teruyuki)

信州大学・学術研究院医学系・准教授

研究者番号：90467142

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：難治性疾患のひとつ、病態が不明の頻尿、膀胱痛をおこす潰瘍型間質性膀胱炎については治療も難渋する疾患のひとつである。この膀胱組織内では免疫応答炎症に関わる遺伝子(CXCR3関連ケモカイン)が増加していることを報告している。これと同様の遺伝子発現をおこす動物モデルの作成は今後の間質性膀胱炎の治療を検討するうえでの有用な材料となると思われる。今回の検討で放射線照射を行ったラット動物モデルはヒト潰瘍型間質性膀胱炎と類似した遺伝子の発現を起こしており、今後の研究に有用であると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒト間質性膀胱炎の遺伝子発現と類似した動物モデルを作成することができた。

今後はそのモデルにおいて薬物治療を行うことで、病態を改善することが可能か、排尿機能ならびに組織学的に検討することで、今後の治療の基礎になると思われる

研究成果の概要(英文)：Interstitial cystitis/bladder pain syndrome (IC/BPS) is one of the refractory diseases, which induces urinary frequency and bladder pain. The pathophysiology is unknown, therefore it is difficult to treat. We previously reported that genes related to inflammation and immune mechanism are highly associated with the pathogenesis of IC/BPS, therefore we planned to establish the rat cystitis models which express the same gene profile in the bladder. It is considered that the models are important to evaluate the efficacy of agents for treatment of IC/BPS. We found that rats which were locally irradiated to the bladder express the almost same gene profile as that of the human IC/BPS. In conclusion, the models are useful for the future research for the treatment of IC/BPS.

研究分野：排尿生理学

キーワード：間質性膀胱炎 ケモカイン

1. 研究開始当初の背景

間質性膀胱炎 (interstitial cystitis ;IC) とは耐え難い恥骨上部痛や昼夜を問わない頻尿、尿意切迫感を生じる QOL を著しく損なう疾患である。多くは中高年の女性に好発する疾患で、本邦における健康調査では間質性膀胱炎の主訴の一つである膀胱痛が週 1 回以上起こる頻度は 2.2%あるとされ、潜在的な間質性膀胱炎患者が多いと考えられる。

その病態として膀胱の barrier の役割をはたす尿路上皮の働きの低下が考えられている。それにより尿内の刺激物質であるカリウムなどが膀胱壁内に浸み込んで激しい痛みを生じるとされている。

その治療方法として、尿路上皮が正常に再生し脆弱な膀胱壁が修復されることができれば理想的であるが、消化器疾患におけるクローン病や潰瘍性大腸炎のような内腔を障害する疾患の治療が難渋しているのと同様に、現在に至るまで確立された治療方法はまだ存在していない。

現在本邦で行われている間質性膀胱炎の治療は膀胱水圧拡張術で、膀胱過伸展を起こすことで膀胱内の神経や受容体損傷による痛みの緩和を得るといった治療法であるが、治療効果が短く (3 - 6 ヶ月) ほかの治療法の開発が待たれる状況である。

我々は過去の研究で Hunner 潰瘍を有する間質性膀胱炎に有意に発現する 564 遺伝子を特定し、間質性膀胱炎のバイオマーカーとして CXCR3 遺伝子関連ケモカインが関わっていることを報告した¹⁾。そのなかの CXCL10 (IP-10) は尿中で確認され間質性膀胱炎患者で増加していることを確認した。すなわち有意変動を起こした遺伝子ならびに関連蛋白は間質性膀胱炎の有効な治療方法となる可能性がある

1) **Ogawa T, Homma T, Igawa Y, et al. CXCR3 binding chemokine and TNFSF14 over expression in bladder urothelium of patients with ulcerative interstitial cystitis. J Urol. 2010; 183(3): 1206-12.**

2. 研究の目的

当院で行った間質性膀胱炎患者の遺伝子解析の結果より、現在まで行われていない新規治療薬の開発を行い動物実験により新規知見を得る。

3. 研究の方法

- a. 潰瘍型間質性膀胱炎の遺伝子パターンに近い間質性膀胱炎モデルの作成
- b. 間質性膀胱炎の新規治療薬の有効性について動物実験 (膀胱内圧測定、RT-PCR) で検討

4. 研究成果

方法 a をまず行い達成することにより、次の方法 b に進むことが可能である。また膀胱内圧測定の安定した結果を効率よく得るため、powerlab system を導入した。当院における基礎実験のデータ採集は効率化がすすみ、国際学会を含む学会発表の件数を増やすことに成功した²⁾⁻⁴⁾。

2) . Nagai T, Imamura T, Saito T, **Ogawa T**, Minagawa T, Domen T, Suzuki T, Ogawa N, Ishizuka O: The hypoxic environment decreases both aquaporin3 and uroplakin expressions and bladder storage functions in spontaneous hypertensive rats. The 47th Annual Meeting of the International Continence Society, Florence, 2017/9/12-15

3). Saito T, Imamura T, Minagawa T, Nagai T, **Ogawa T**, Ishizuka O: Impact of Dai-ken-chu-tou on urinary frequency induced by cold stress in rats. American Urological Association Annual Meeting 2017, Boston, 2017/5/13

4). Saito T, Imamura T, Nagai T, Suzuki T, Minagawa T, **Ogawa T**, Ishizuka O: Impairment of micro blood flow in the bladder mucosa and dermis up-regulates TRPM8 channels and induce cold stress related frequency in ovariectomized rats. American Urological Association Annual Meeting 2017, Boston, 2017/5/16

間質性膀胱炎についてはモデルの作成にとても苦慮した。

シクロフォスファミドの投与による膀胱炎モデルは他施設でもしばしば用いられている手法であり多数の論文でも用いられているため、有効性は短期であり、慢性的な経過をとる間質性膀胱炎とは異なる背景があるものの、遺伝子が同様な変動をしているようならば病態モデルとして妥当ではないかと判断しまずはこの薬剤を使用することより始めた。

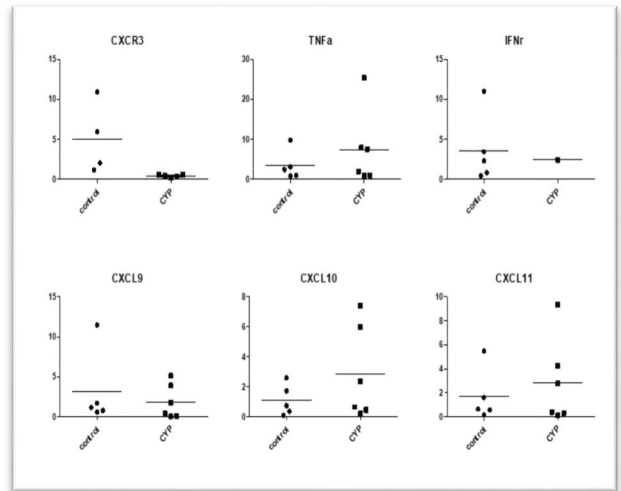
シクロフォスファミドの投与後 48 時間で膀胱を採取し、組織学的変化と遺伝子変動を検討した。組織学的には尿路上皮の被薄化と充血所見があり、間質性膀胱炎と考えて矛盾しない所見であった (図 1)。

しかしながら、RT-PCRによる遺伝子の発現をみると、CXCL10, CXCL11, TNF は増加しているものの明らかな有意差をもって上昇しているとは言えず、また CXCR3 はあきらかに低値となっており、潰瘍型間質性膀胱炎の遺伝子発現とは違う所見であった【図2】。

【図1】ラット膀胱炎モデルの膀胱(HE染色)



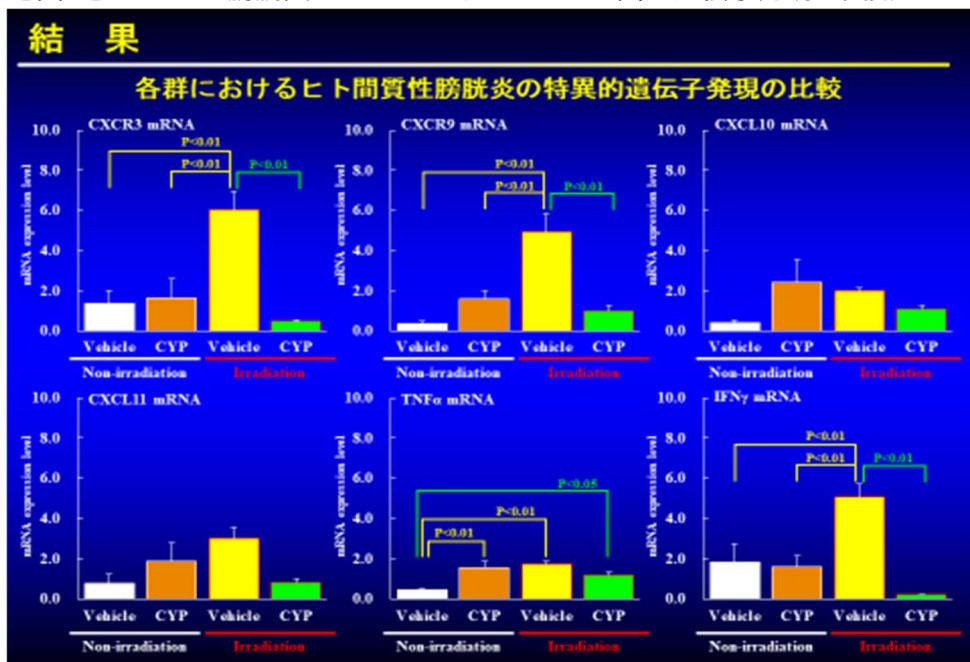
【図2】ヒト間質性膀胱炎の膀胱 RT-PCR



試行錯誤のうえ、当院で行っている放射線性膀胱炎モデルについて検討を行うこととした。また局所炎症を起こすために放射線照射にシクロフォスファミドを組み合わせることで、遺伝子の変動をみることにした。

放射線照射を 10Gy 膀胱に照射し 4 週おいたのちに膀胱を採取したものと、シクロフォスファミドを追加投与し 48 時間後に膀胱を採取したものの遺伝子発現を検討したところ、放射線照射を行った群で CXCR3 関連ケモカインの CXCL9-11、TNF、IFN の上昇を認められた。有意差がついたものとつかないものを認められたが、ヒト膀胱炎とかなり似通った発現形態であり膀胱炎モデルとして有効であると考えられた。なおシクロフォスファミドを用いると発現はやはり低下するため、シクロフォスファミドはあまり有効なモデルとはならないと考えられた(図3)。

【図3】ラット膀胱炎モデルにおける CXCR3 関連遺伝子発現の変動



以上より膀胱への局所放射線照射が現在ヒト潰瘍型間質性膀胱炎のモデルとして有用であると考えられ、今後はこのモデルに対して有効な薬剤（CXCR3拮抗薬）を投与、その効能について検討していく予定である。なおこれらのデータより免疫応答における遺伝子の異常発現が間質性膀胱炎の一病態であることを確認し、免疫抑制剤の間質性膀胱炎への有用性について論文を上梓した。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1) Ogawa T, Ishizuka O, Ueda T, et al. Pharmacological management of interstitial cystitis /bladder pain syndrome and the role cyclosporine and other immunomodulating drugs play. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2018; **11**(5): 495-505. (査読あり)

〔学会発表〕(計 1 件)

1) 今村哲也, 小川輝之, 鈴木都史郎, 上野 学, 鈴木 中, 原 寛彰, 井上貴浩, 永井崇, 皆川倫範, 石塚 修. シクロホスファミドと放射線照射によって誘発したラット膀胱炎におけるヒト間質性膀胱炎の特異的遺伝子発現との類似性の検討. 第 107 回日本泌尿器科学会総会

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6．研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：今村 哲也

ローマ字氏名：IMAMURA Tetsuya

所属研究機関名：信州大学

部局名：学術研究院医学系

職名：助教

研究者番号(8桁): 00476143

研究分担者氏名：石塚 修

ローマ字氏名：ISHIZUKA Osamu

所属研究機関名：信州大学
部局名：学術研究院医学系
職名：教授
研究者番号（8桁）：20184541

研究分担者氏名：永井 崇
ローマ字氏名：NAGAI Takashi
所属研究機関名：信州大学
部局名：学術研究院医学系（医学部附属病院）
職名：助教
研究者番号（8桁）：50514353

研究分担者氏名：平形志朗
ローマ字氏名：HIRAGATA Shiro
所属研究機関名：信州大学
部局名：学術研究院医学系
職名：助教
研究者番号（8桁）：90749475
2017年3月31日 退職について削除

(2)研究協力者
研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。