

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 8 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2016

課題番号：26861285

研究課題名(和文)胎生期前立腺発生因子であるGDNF-RET系を介した前立腺肥大症発生機序の解明

研究課題名(英文)The role of GDNF-RET cascade for the development of benign prostate hyperplasia

研究代表者

柴田 泰宏 (SHIBATA, Yasuhiro)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：10534745

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：私たちはこれまでに胎児ラットの前立腺原器である泌尿生殖洞を成体雄ラットの前立腺被膜下に移植することで得られる間質増生主体の前立腺肥大症モデルを作成し研究してきた。その結果、GDNF (glial cell-derived neurotrophic factor) が正常前立腺に比較して前立腺肥大モデルに高発現していることが確認された。ヒト前立腺由来の細胞株へGDNFを投与した結果、間質由来成分の増殖能が増大した。また、ヒト前立腺肥大症組織において、前立腺体積とRETの発現が相関する傾向が見られた。これらより、前立腺肥大の発生機序の1つにGDNFシグナル系が関与していることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Although benign prostate hyperplasia (BPH) is common disease, the cause of BPH is still unclear. To investigate the mechanism of BPH development, we use the novel BPH model which was made by implanting the urogenital sinus of neonatal rats to sub-capsule of the prostate of adult male rats. Using this model we discovered the glial cell derived neurotrophic factor (GDNF) expresses in interstitial cell. And we demonstrate that GDNF increase the growth rate of human prostate interstitial cell-line, and RET signal cascade was related with prostate volume positively in human BPH tissue.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：前立腺肥大症 GDNF

## 1. 研究開始当初の背景

前立腺肥大症は男性に固有の生殖器官である前立腺の体積が増大することにより排尿困難、残尿、頻尿などの症状を引き起こす疾患である。基本的には良性疾患であるが、排尿症状はQOLやADLを低下させるだけでなく、前立腺肥大症が重症となった場合には慢性尿路感染や腎後性腎不全などの深刻な合併症をもたらす可能性もある。近年の急速な高齢化に伴い、前立腺肥大症は罹患率、患者数が増加傾向にあり、社会的に対策の必要性が増している。

現在、前立腺肥大症に対する内服治療には1ブロッカー、広義の抗アンドロゲン薬などが用いられる。しかし、1ブロッカーには前立腺体積を直接減少させる作用は無く、また、抗アンドロゲン薬を用いても、前立腺の上皮細胞数は減少するが、間質細胞数は影響を受けない。前立腺肥大症の病理組織は間質成分が70%を占めるため、抗アンドロゲン薬による前立腺体積の減少は限定的である。このため、間質成分を標的とした新しい治療薬の開発が求められているが、間質有意の増殖が起こるメカニズムは未だ明瞭ではない。

病態の解明のためには、優れた病態モデルが必要である。これまで前立腺肥大の動物モデルは、ラットへのテストステロン負荷モデルが汎用されてきた。しかし、同モデルの前立腺の組織変化をみると、上皮成分が大部分を占めており、ヒトの前立腺肥大症の病理組織とかけ離れていた。このように、ヒトの前立腺肥大症の病理組織像を再現した動物モデルが今までに無かったため、間質主体の前立腺肥大の発生機序の解明は困難であった。

近年、私たちは前立腺の原器である胎児泌尿生殖洞 (urogenital sinus; UGS) を成体ラットのの前立腺皮膜下に移植することで、病理学的にヒト類似の間質増生主体の前立腺肥大症モデルを作成した。このモデルは形態がヒト前立腺肥大症と似ているだけでなく、アンドロゲン受容体の発現など、ヒト前立腺肥大症に近い性質を持つ。

一般に、臓器は加齢とともに衰え、体積は萎縮に伴って減少する傾向を持つ。これに反し、前立腺肥大症は加齢とともに過形成性の増殖能を示す特異な疾患である。前立腺肥大発生についてのこのような特異な病態を説明する仮説の一つに、一度失われた初期分化能と増殖能を再獲得すること、つまり、間質細胞の先祖返りが前立腺肥大の発生に寄与するという仮説 (reawakening theory) がある。分化の完成していない泌尿生殖洞を移植することで間質主体の肥大症モデルができるという事実は、この仮説を支持するものと考えられる。私たちは上記仮説とモデルの成り立ちに前立腺の間質増生の仕組みを解く鍵があるのではないかと考えた。

これらの経緯を踏まえ、私たちは胎生期特異的に前立腺原器に発現している成長因子

の一つである GDNF (glial cell-derived neurotrophic factor) に着目し、研究を開始した。

## 2. 研究の目的

GDNF (glial cell-derived neurotrophic factor) は胎生期および新生時期早期の前立腺原器に発現している成長因子の一つで、その後減少する。これまでに泌尿器科学会総会において正常前立腺と比較して間質優位前立腺肥大モデルに GDNF が高発現していることを報告している。

本研究ではさらに、GDNF が前立腺細胞に与える影響やそのシグナル伝達の詳細を検討することで、前立腺肥大症発生の機序を解明することを目的とした。

## 3. 研究の方法

GDNF は受容体に結合後、RET 癌原遺伝子を介して MAPK などのリン酸化経路を活性化させることが報告されている。本研究では間質優位前立腺肥大症モデルとヒト前立腺由来の培養細胞系における GDNF とその受容体の発現量、前記リン酸化経路や、GDNF の誘導遺伝子の発現変化を検討した。間質優位肥大症モデルとヒト前立腺由来細胞株に対する GDNF の投与が、肥大症モデルの形成に与える影響や、前立腺由来の培養細胞 (上皮由来細胞、間質由来細胞、平滑筋由来細胞) の増殖能にどのような影響をおよぼすか検討する。また、RET 経路の下流で誘導される遺伝子について、その発現量を定量することにより、GDNF-RET 受容体系の活性化を確かめる。

## 4. 研究成果

ヒト由来前立腺細胞株である Pr-SC、Pr-EC、Pr-SMC は、それぞれヒト前立腺の間質、上皮、平滑筋細胞から分離された細胞である。これらを培養し、栄養因子除去培地へ置換した後 GDNF 含有培地へ交換すると、Pr-EC、PrSMC では増殖能に変化は見られないが、Pr-SC 細胞株において増殖能が増大する傾向が見られた。次に、これらが RET 系を活性化した反応経路によって得られた結果であるかどうかを判断することとした。GDNF は GFR 1 と結合して膜貫通型受容体チロシンキナーゼである RET 蛋白と相互作用し、下流のリン酸化経路を活性化することが知られている。そこで、MAP キナーゼのリン酸化の程度を GDNF 投与前後でウエスタンブロッティングを用いて比較した結果、リン酸化 MAP キナーゼの割合が増加する傾向が得られた。

過去の報告より、GDNF のリン酸化経路によって誘導される分子として GZF が知られている。ヒト前立腺肥大症組織中の RET 遺伝子、GFR、GZF のそれぞれについて発現量と前立腺体積との相関 qPCR 法を用いて検討したところ、これらが正の相関を得た。これらより、前立腺肥大症の間質増生には GDNF-RET シグナル伝達系が関与している可能性が示唆さ

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 4 件)

1. Takashi Ueda, Mariko Hoshikawa, Yasuhiro Shibata, Natsuko Kumamoto, Shinya Ugawa. Basal cells express functional TRPV4 channels in the mouse nasal epithelium: *Biochemistry and Biophysics Reports*, vol.4:169-174, 2015 (10.1016/j.bbrep.2015.09.008) 査読有り
2. Watanabe Masaya, Ueda Takashi, Shibata Yasuhiro, Kumamoto Natsuko, Ugawa Shinya: The role of TRPV1 channels in carrageenan-induced mechanical hyperalgesia in mice. *Neuroreport*. 26(3):173-8. 2015 (doi: 10.1097/WNR.0000000000000322.) 査読有り
3. Watanabe Masaya, Ueda Takashi, Shibata Yasuhiro, Kumamoto Natsuko, Shimada Shoichi, Ugawa Shinya: Expression and Regulation of Cav3.2 T-Type Calcium Channels during Inflammatory Hyperalgesia in Mouse Dorsal Root Ganglion Neurons. *PLoS One*. 10(5):e0127572. 2015 (doi: 10.1371/journal.pone.0127572.) 査読有り
4. 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*. 74(6):590-601. 2014 (doi: 10.1002/pros.22773.) 査読有り

[学会発表](計 9 件)

1. 柴田泰宏 星川真理子 熊本奈都子 植田高史 鶴川眞也：マウス前庭系におけるASIC1bの発現と分布。第17回ORIGIN神経科学研究会、2016/8/27-8/28、あわら温泉まつや千千(福井県あわら市)

2. 柴田泰宏 星川真理子 熊本奈都子 植田高史 鶴川眞也：マウス前庭系有毛細胞におけるASIC1bの発現と分布。第121回日本解剖学会総会・全国学術集会、2016/3/28-3/30、ビッグパレットふくしま(福島県郡山市)
3. 柴田泰宏 星川真理子 熊本奈都子 植田高史 鶴川眞也：マウス脳におけるASIC4の分布と機能解析。日本解剖学会第75回中部支部学術集会、2015/10/3-10/4、福井大学松岡キャンパス 白翁会ホール(福井県吉田郡)
4. Takashi Ueda, Natsuko Kumamoto, Mariko Hoshikawa, Masaya Watanabe, Yasuhiro Shibata, Shinya Ugawa: Functional expression of TRPV4 receptor in mouse nasal epithelium. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会 第92回日本生理学会大会、2015/3/21-3/23、神戸国際会議場・展示場(兵庫県神戸市)
5. Natsuko Kumamoto, Mariko Hoshikawa, Masaya Watanabe, Yasuhiro Shibata, Takashi Ueda, Shinya Ugawa: Gene expression analysis of ASIC subtypes in adult-born hippocampal neurons in mice. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会 第92回日本生理学会大会、2015/3/21-3/23、神戸国際会議場・展示場(兵庫県神戸市)
6. Yasuhiro Shibata, Masaya Watanabe, Mariko Hoshikawa, Natsuko Kumamoto, Takashi Ueda, Shinya Ugawa: mASIC4 is a Zn<sup>2+</sup>-sensitive constitutively active channel. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会 第92回日本生理学会大会、2015/3/21-3/23、神戸国際会議場・展示場(兵庫県神戸市)
7. Mariko Hoshikawa, Yasuhiro Shibata, Natsuko Kumamoto, Takashi Ueda, Shinya Ugawa: Distribution of ASIC4 channel in the mouse brain. 第120回日本解剖学会総会・全国学術集会 第92回日本生理学会大会、2015/3/21-3/23、神戸国際会議場・展示場(兵庫県神戸市)
8. Yasuhiro Shibata, Masaya Watanabe, Mariko Hoshikawa, Natsuko Kumamoto, Takashi Ueda, Shinya Ugawa: mASIC4 is a Zn<sup>2+</sup>-sensitive constitutively active channel. 第36回日本生物学的精神医学会 第57回日本神経化学会大会 合同年会、2014/9/29-10/1、奈良県文化会館(奈良県 奈良市)
9. 柴田泰宏：マウス ASIC4 は亜鉛感受性の

常時活性型チャンネルである。第 15 回  
ORIGIN 神経科学研究会 夏のワークショップ、2014/8/31-9/1、浅間温泉地本屋  
(長野県 松本市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等  
無し

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

柴田 泰宏 (SHIBATA, Yasuhiro)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号：10534745

### (2)研究分担者

無し

### (3)連携研究者

無し

### (4)研究協力者

佐々木 昌一 (SASAKI, Shoichi)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：50225869

鵜川 眞也 (UGAWA, Shinya)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・教授

研究者番号：20326135