

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：23903

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K20102

研究課題名(和文)細胞外マトリックスを介した前立腺肥大症発症機序の解明と治療への応用

研究課題名(英文)The mechanism of the development of benign prostatic hyperplasia via extracellular matrix.

研究代表者

濱川 隆 (Takashi, Hamakawa)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：40595394

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：これまでにヒト前立腺肥大症と類似した間質肥大型モデルラットを用いて、IL-18がTSP-1の発現を増加させ、前立腺の間質過形成を誘導することを見出した。これを発展させ、モデル動物へIL-18の中和作用をもつIL-18 binding protein(IL-18BP)を投与し、TSP-1の発現と組織構成を検討した。その結果、IL-18BPの投与によりTSP-1の発現は減少し、膠原線維の割合も減少した。また、ヒト前立腺組織において、TSP-1の発現は前立腺平滑筋に見られ、前立腺平滑筋量と相関した。さらに前立腺体積、前立腺体積の増加量とTSP-1とに正の相関が見られた。

研究成果の概要(英文)：Previously, we reported that interleukin-18 (IL-18) may promote stromal hyperplasia in the prostate by inducing production of thrombospondin-1 (TSP-1) using BPH rat model. First, to clarify the role of TSP-1 in the development of BPH, we administered the IL-18-binding protein (IL-18BP), an inhibitor of IL-18, in the model rats. IL-18BP affected the dose-dependent decreases in TSP-1 mRNA expression levels. The collagen fibrils in the BPH tissues were likely decreased by IL-18BP.

Next study, we aimed to determine the expression levels of TSP-1 in human prostate tissue and assess the correlation of these expressions and clinical parameters. Also, we investigated the correlation between the ratio of prostate biopsy tissue component and IL-18 and TSP-1 expression. As a result, TSP-1 was positively correlated with prostate volume. A positive correlation was found between IL-18 expression and the ratio of glandular epithelium, and between TSP-1 expression and the area of smooth muscle.

研究分野：前立腺肥大症

キーワード：前立腺肥大症 TSP-1

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会への移行に伴い、前立腺肥大症の患者数は増加の一途をたどり、排尿障害が腎機能や QOL に及ぼす影響が問題となっている。前立腺肥大症の薬物治療は 1 プロテアーゼによる前立腺の弛緩と、5 還元酵素阻害剤による腺腫の縮小が主であるが、その効果は十分ではなく、前立腺肥大症の発症予防法や新たな治療薬の開発が期待されている。前立腺肥大症の病理組織は間質成分が 70% を占めるが、これらの薬剤は平滑筋機能や上皮成分への作用によって症状を緩和する。そのため、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。

2. 研究の目的

私たちは新規に開発されたヒト前立腺肥大症と組織学的に類似したモデルラットを用いて、炎症性サイトカイン IL-18 が前立腺平滑筋に作用し、細胞外マトリックス TSP-1 の発現を増加させ、前立腺の間質の過形成を誘導することを発見した。これを踏まえて、細胞外マトリックスが前立腺肥大症を誘導する機序を解明し、間質を標的とした治療法の実現を目指すことを本研究の目的とした。

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、ヒト前立腺組織における TSP-1 の発現の検討。

これまでに IL-18 を介して TSP-1 の産生が増加し、前立腺間質肥大が生じることを推察してきた。このことを明らかにするため、モデルラット、ヒト前立腺組織における TSP-1 の発現を検討し組織の変化を検討した。

モデルラット作成後、IL-18 の中和作用を持つ IL-18 binding protein (IL-18BP) を、作成 1, 4, 7 日目に腹腔内投与し、3 週後の移植部の重量、組織形態を評価する。また、IL-18、

TSP-1 発現を定量 RT-PCR で検討する。ヒト前立腺組織における TSP-1 の発現を免疫染色によって検討する。

(3) ヒト正常前立腺培養細胞に対する TSP-1 の作用の検討

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なった。

TSP-1 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、TSP-1 投与群に分けて TSP-1 を投与し WST assay を行う。

(4) ヒト前立腺における IL-18、TSP-1 の発現と組織学的差異の検討、前立腺体積との相関の検討

前立腺生検から得られたヒト前立腺組織を用いて下記検討を行った。

ヒト前立腺における IL-18、TSP-1 の発現を評価し、前立腺組織内の間質、腺上皮の比率との関連を検討した。

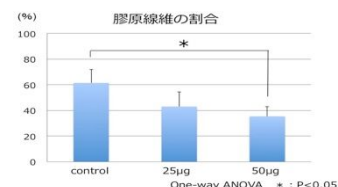
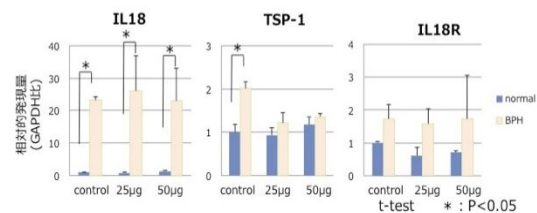
また、経直腸超音波検査にて前立腺体積を測定し、IL-18、TSP-1 の mRNA の発現との相関を検討した。

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) モデルラットに対する IL-18BP の投与によって、IL-18、IL-18 受容体の mRNA 発現は変化しなかったが、TSP-1 の mRNA の発現が減少した。また、IL-18BP の投与によって前立腺肥大組織での膠原線維の割合が減少していた。

IL-18BP 投与による mRNA 発現の変化

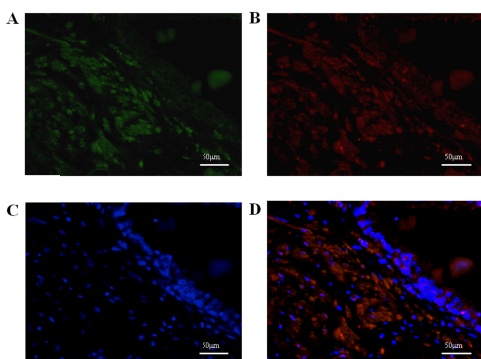


IL-18BP 投与による膠原線維の割合の変化

ヒト前立腺組織の蛍光免疫染色では平滑筋に TSP-1 の発現が見られることが明らかとなった。

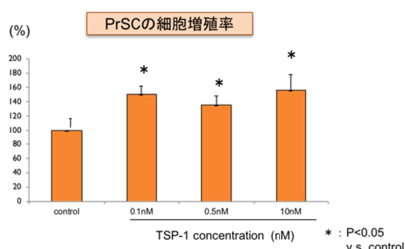
ヒト前立腺組織における TSP-1 の発現

緑： SMA、赤： TSP-1、青 DAPI



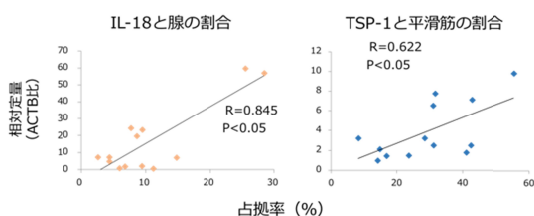
(3) ヒト正常前立腺培養細胞である PrSC(前立腺間質細胞)、PrSMC(前立腺平滑筋細胞)に対して TSP-1 を投与し、WST assay を施行したところ、PrSC の増殖能の増加が認められた。

WST assay による細胞増殖能の評価

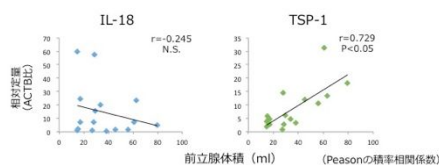


(4) ヒト前立腺組織における IL-18、TSP-1 の発現を前立腺組織中の平滑筋、膠原線維、腺上皮を割合を検討すると、IL-18 の発現と腺上皮の割合に正の相関を認め、TSP-1 の発現と平滑筋の面積の間に正の相関を認めた。また、前立腺体積と 1 か月あたりの増加量、IL-18、TSP-1 の発現との相関を検討したところ、TSP-1 の発現は、前立腺体積と有意な正の相関を認めた。また、1 か月あたりの前立腺体積の増加量と TSP-1 の発現との間にも、有意な正の相関を認めた。

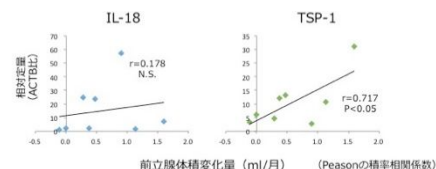
ヒト前立腺組織での mRNA の発現と組織構成



前立腺体積と mRNA 発現との相関



前立腺体積の変化率と mRNA 発現の相関



以上の結果から、前立腺肥大症における TSP-1 は前立腺平滑筋に発現し、前立腺間質組織の線維化に関与すること、また、TSP-1 の発現がヒト前立腺肥大症の進行と相関することが明らかになった。これらのことから、TSP-1 は前立腺肥大症に対しての新たな治療ターゲットとしてのみならず、前立腺肥大症の進行予測マーカーとしての可能性が示された。

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. Sugino Teruaki, Hamamoto Shuzo, Unno Rei, Moritoki Yoshinobu, Hamakawa Takashi, Naiki Taku, Ando Ryosuke, Okada Atsushi, Yasui Takahiro: Two-year-old girl with impacted ureteral stone successfully treated with a single session of combined per-cutaneous nephrostomy and uretero-scopy. International Journal of Urology, 査読有, 24:326-329, 2017
2. Naiki Taku, Iida Keitaro, Kawai Noriyasu, Etani Toshiki, Ando Ryosuke, Nagai Takashi, Tanaka Yutaro, Hamamoto Shuzo, Hamakawa Takashi, Akita Hidetoshi, Sugiyama Yosuke, Yasui Takahiro: A pilot study of gemcitabine and paclitaxel as third-line chemotherapy in metastatic urothelial carcinoma. The Japanese Association of Rural Medicine, 査読有, 12:105-111, 2017

3. 濱川隆、佐々木昌一、窪田泰江、安井孝周：特集2 前立腺肥大症・前立腺炎の動物モデル 5.UGS 移植によるラット間肥大モデル, Prostate Journal, 査読無, 3(2):237-241, 2016
4. Yamamoto Seiji, Hotta Yuji, Maeda Kotomi, Kataoka Tomoya, Maeda Yasuhiro, Hamakawa Takashi, Sasaki Shoichi, Yasui Takahiro, Asai Kiyofumi, Kimura Kazunori: Mineralocorticoid receptor stimulation induces urinary storage dysfunction via upregulation of epithelial sodium channel expression in the rat urinary bladder epithelium. Journal of Pharmacological Sciences, 査読有, 130(4): 219-225, 2016

〔学会発表〕(計8件)

1. Hamakawa Takashi, Sasaki Shoichi, Ota Yuya, Unno Naoko, Banno Rika, Takada Masa, Kubota Yasue, Kohri Kenjiro, Yasui Takahiro: Thrombospondin-1 has a possibility of biomarker predicting the progression of benign prostatic hyperplasia. 112th American Urological Association Annual Meeting, 2017.5.12-16, Boston (USA)
2. Hamakawa Takashi, Sasaki Shoichi, Banno Rika, Shibata Yasuhiro, Takada Masa, Kubota Yasue, Kohri Kenjiro, Yasui Takahiro: Expression of thrombospondin-1 in the prostate as a predictor of the progression of benign prostatic hyperplasia. 第105回日本泌尿器科学会総会 2017.4.21-24, (鹿児島県鹿児島市)
3. 濱川隆、佐々木昌一、高田麻沙、窪田泰江、郡健二郎、山本清司、片岡智哉、堀田祐志、木村和哲、安井孝周：前立腺間質肥大モデルラットにおいて IL-18 は前立腺間質の線維化に關与する. 第23回日本排尿機能学会 2016.12.6-8, 東京国際フォーラム(東京都千代田区)
4. Hamakawa Takashi, Sasaki Shoichi, Shibata Yasuhiro, Hayase Masa, Kubota

Yasue, Kohri Kenjiro, Yasui Takahiro: Thrombospondin-1 as a potential biomarker predicting the developmet of benign prostatic hyperplasia. International Continence Society Annual Meeting 2016, 2016.9.12-16, Tokyo (Japan)

5. 濱川隆、佐々木昌一、岡田淳志、水野健太郎、梅本幸裕、河合憲康、戸澤啓一、郡健二郎、安井孝周：ロボット支援前立腺全摘除術による夜間頻尿改善効果の検討. 第29回日本泌尿器内視鏡学会総会 2015.11.19-21, 京王プラザホテル(東京都新宿区)
 6. 濱川隆、佐々木昌一、高田麻沙、窪田泰江、河合憲康、戸澤啓一、郡健二郎、安井孝周：ロボット支援前立腺全摘除術が及ぼす夜間頻尿への影響. 第22回日本排尿機能学会 2015.9.9-11, 京王プラザホテル札幌(北海道札幌市)
 7. 濱川隆、佐々木昌一、窪田泰江、安井孝周：モデル動物を用いた前立腺肥大症の発症機序の解明と臨床応用. 第23回クリニカルファーマシーシンポジウム医療薬学フォーラム 2015.7.4-5, 名古屋国際会議場(愛知県名古屋市)
 8. Hamakawa Takashi, Sasaki Shoichi, Kubota Yasue, Kohri Kenjiro, Yasui Takahiro: Interleukin 18 may induce changes in the prostatic stromal components via thrombospondin 1 production in a newly developed rat benign prostatic hyperplasia model. International Continence Society Annual Meeting 2015, 2015.10.6-9, Montreal (Canada)
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・研究員
 研究者番号:40595394