

平成 30 年 5 月 25 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K20147

研究課題名(和文) 神経内分泌細胞の存在が前立腺を肥大させるか

研究課題名(英文) Can the neuroendocrine cell have an effect on prostatic hypertrophy?

研究代表者

京田 有樹 (Kyoda, Yuki)

札幌医科大学・医学部・助教

研究者番号：90718024

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺肥大症(BPH)は高齢男性において有病率の高い疾患であるが、その明らかな原因はいまだ不明である。今回我々は前立腺組織内にある神経内分泌(NE)細胞のBPHに対する影響を検討した。ヒト前立腺組織を用いた後ろ向き検討とBPHモデルラットを用いた前向き検討のいずれにおいても、NE細胞はBPHの初期段階で豊富に存在しており、傍分泌機能によって組織を肥大させている可能性が示唆された。また、前立腺におけるNE細胞の機能解析の結果、IL-6などの慢性炎症を介した経路と、それ以外にもレプチンなどの食欲や肥満に関連した経路が存在する可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Benign prostatic hyperplasia (BPH) is a common disease that causes lower urinary tract symptoms in elderly men. However, we do not precisely know its etiology. Neuroendocrine (NE) cells may have an impact on the development of BPH.

In the prospective and retrospective study by using Spontaneously hypertensive rat, BPH model rat and human prostatic tissue, NE cells may play an important role in the initial development of BPH by paracrine fashion. And in the functional analysis of NE cells in the prostate, NE cells may have an impact on BPH through the chronic inflammation by IL-6 and so on and the pathway about appetite and obesity by leptin and melanocortin.

研究分野：排尿障害

キーワード：前立腺肥大症 神経内分泌細胞

1. 研究開始当初の背景

前立腺肥大症(BPH)は高齢男性において有病率の高い疾患であり、高齢化社会が進む今後も増加が予測される。その治療は薬物治療が中心であるが治療抵抗性の場合も多い。前立腺が肥大する原因としては性ホルモンや慢性炎症などの影響が報告されてはいるものの、その詳細な機序は未だに不明である。

前立腺上皮内の神経内分泌細胞(NE細胞)は様々なNE因子を分泌することで前立腺内の恒常性を保つ働きをしているとされているが、BPHに関わる可能性もこれまで少ないながら報告されてきた(Cockett et al. Urology 1993;42:512-519)。しかしこのことを裏付ける報告は現在に至るまでほぼ皆無である。

2. 研究の目的

今回我々が注目した前立腺組織内のNE細胞は前立腺肥大を引き起こす可能性が過去に報告されたものの現在に至るまで明確な根拠は示されていない。我々はNE細胞のBPHへの関与を証明しそのメカニズムを解明することで、根本的なBPH発症機序の解明とその治療法の開発へ繋げていくことを考えている。以上が本研究の目的である。

3. 研究の方法

(1) ヒト前立腺組織内(移行領域内)におけるNE細胞の分布に関する検討

2009年から2014年に当院で根治的前立腺摘除術を施行した症例の前立腺病理標本を用いて、前立腺組織内のNE細胞の分布を調査する。評価方法としてはNE細胞で陽性となるChromogranin A免疫染色を用いて、前立腺移行領域内のNE細胞密度を測定する。仮説では前立腺肥大の病理学的所見である良性腺性過形成が発生する前立腺移行領域内において前立腺肥大初期にNE細胞が豊富に存在すると考えられる。よって前立腺体積とNE細胞の分布に関連があるのかを定量的に検討した。

(2) BPHモデルラット前立腺組織内におけるNE細胞の分布に関する検討

良性過形成を起こした前立腺組織内におけるNE細胞の分布について調べるために、ラットの前立腺良性過形成モデル(Spontaneously hypertensive rat, SHR)とコントロール(Wister Kyoto rat, WKY)の前立腺に近接する傍尿道管腔内におけるNE細胞の分布と経時的変化を比較検討する。検討する週齢は生殖可能となる8週齢、良性過形成の初期である12週齢、16週齢、良性過形成の後期である28週齢、56週齢とした。

(3) BPHに関わるNE細胞の機能解析

NE細胞が分泌するNE因子は多数あるが、そのうち何がBPHに関与しているかを調べるために、申請者はNE細胞(NE-CS)の上清をヒ

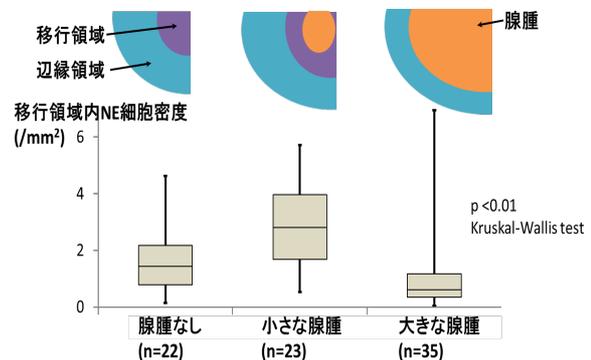
ト正常前立腺上皮細胞(PrEC)と間質細胞(PrSC)の培養液にそれぞれ添加し、3D-Gene発現解析にてmRNA発現量の差を網羅的に解析し、そこで発現量の増加や減少のあった遺伝子に関してNE細胞との関連を検討した。

4. 研究成果

(1) ヒト前立腺組織内(移行領域内)におけるNE細胞の分布に関する検討

BPHの主な発生母地である前立腺移行領域(TZ)内において、NE細胞は良性過形成(腺腫)内よりも腺腫周囲でより高密度に認められた。更にTZ内に腺腫を有さない群や大きな腺腫を有する群よりも、現時点で成長過程と思われる小さな腺腫を有する群でNE細胞がより高密度に存在していた(Adv Urol. 2017;2017:8541697. 図1)。

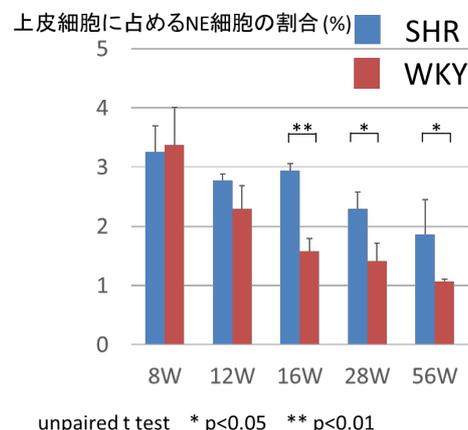
以上よりBPHの発生初期においてNE細胞の傍分泌作用により腺腫が発生、増大している可能性が考えられた。



< 図1 : 移行領域におけるNE細胞密度 >

(2) BPHモデルラット前立腺組織内におけるNE細胞の分布に関する検討

SHRにおいてはControlであるWKYに比べ16週齢で尿道上皮と尿道周囲に存在する前立腺腹葉(ヒト前立腺TZに相当)に通じるduct上皮内+尿道上皮内のNE細胞が特に高密度に存在しており、それが28週齢、56週齢と持続する傾向を認めた(論文投稿中、図2)。

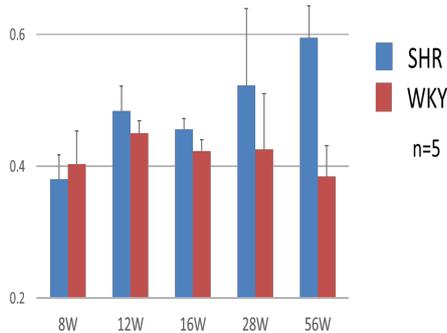


unpaired t test \* p<0.05 \*\* p<0.01

< 図2 : 尿道上皮内のNE細胞の割合 >

また、最も両群間で差が大きかった 16 週は BPH においてどのような時期に当たるのかを調べるために、ラット前立腺の腹葉 (Ventral lobe) における上皮間質成分の比率を画像解析ソフト (Image J) で求め前立腺の全体重量から上皮間質の推定重量を算出し、BPH の進行度と仮定したところ、16 週齢は BPH の初期段階ということが分かった (図 3)。

Ventral lobe 内における上皮+間質の推定重量 (mg)/体重 (g)



< 図 3 : ラットにおける BPH の進行度 >

すなわち先述のヒト組織を用いた検討で考察した通り BPH の発生初期に NE 細胞が関与していることが示唆された。

### (3) BPH に関わる NE 細胞の機能解析

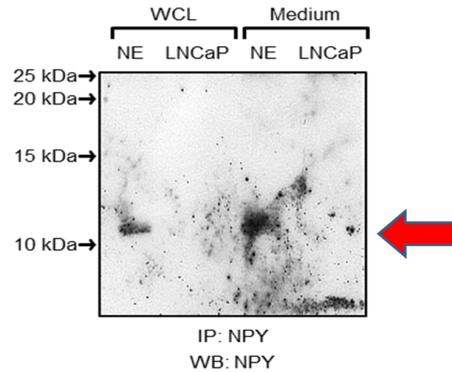
3D-Genome 発現解析にて mRNA 発現量の差を網羅的に解析した結果、NE 上清を添加した PrEC では IL-6 などの炎症系マーカーの mRNA 発現量が増加しており、NE 細胞が BPH の発症機序のひとつである慢性炎症にも関与している可能性があると考えられた (未発表、図 4)。更に NE 特有の遺伝子も候補として挙がっており、その中で現在着目しているのは PrEC で発現量が増加した leptin (LEP) と PrSC で発現量が増加した melanocortin 3 receptor (MC3R) である。これらは視床下部で食欲や脂肪細胞などに関与する leptin-melanocortin pathway を形成しており、最近では LEP はエストロゲン代謝を介して前立腺の成長に寄与しているとの報告も出ており (Habib et al. Life Sci. 2015; 121:10-15)、NE 細胞がこれまで報告のない独自の作用機序で BPH に関わっている可能性があると考えられた。

前立腺上皮細胞		前立腺間質細胞	
symbol	ratio	symbol	ratio
IL6	6.02	AREGB	6.41
KBTBD10	5.60	CTXN2	6.05
RASD2	4.45	MC3R	4.92
CPLX2	4.42	ADAMTS12	4.83
MMP9	4.19	CCR5	4.57
CNN1	4.10		
FILIP1	4.06		
CP	4.06		
LEP	4.02		

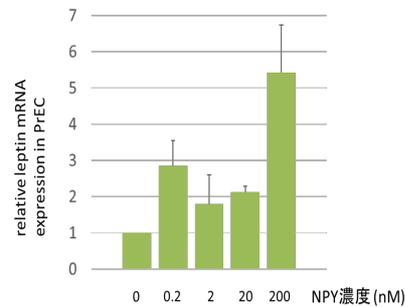
① 炎症と関係  
② 肥満と関係

< 図 4 : NE 因子により高発現した遺伝子 >

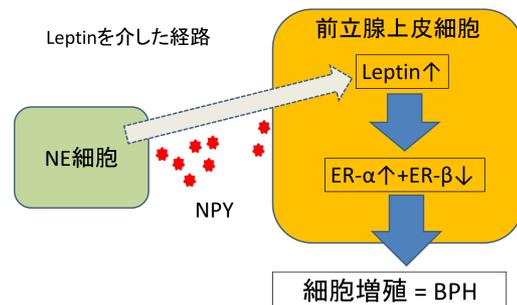
そこで LEP や MC3R と関係する NE 因子を調べたところ、Neuropeptide Y (NPY) という主に視床下部などで食欲などを司っている蛋白が、NE-CS から分泌されていることがわかり (未発表、図 5)、更に市販の NPY を PrEC に添加すると PrEC 内で LEP の mRNA 発現量が濃度依存的に増加しており (未発表、図 6)、前立腺内で LEP を介する細胞増殖の経路に NE 細胞が関与している可能性が示唆された (未発表、図 7)。



< 図 5 : ウェスタンブロットング法による NPY の同定 >



< 図 6 : 市販 NPY を添加した PrEC 内の mRNA 発現レベル >



< 図 7 : NE 細胞による BPH 発症の作用機序 >

今後の展望としては、前立腺組織において上皮細胞と間質細胞がどのように影響を与えあって BPH が進行するのか、またそのときに NE 細胞がどのように作用するのか、に関して更に詳細な研究を行っていきたいと考えている。

## 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2件)

Kyoda Y, Ichihara K, Hashimoto K, Kobayashi K, Fukuta F, Masumori N. Distribution of Neuroendocrine Cells in the Transition Zone of the Prostate. Adv Urol. 2017;2017:8541697. doi: 10.1155/2017/8541697. Epub 2017 Mar 1. 査読あり

京田 有樹、橋本 浩平、舩森 直哉. 神経内分泌細胞移植マウスアログラフトモデル Prostate Journal 2016(3) 249-252

[学会発表](計4件)

Kyoda Y, Ichihara K, Hashimoto K, Kobayashi K, Fukuta F, Masumori N. Neuroendocrine cells have an impact on the initial growth of prostatic hyperplasia in human and rats. 2018年、第33回欧州泌尿器科学会(国際学会)

京田 有樹 神経内分泌細胞は前立腺肥大症の発生に関与するか、2017年、第401回日本泌尿器科学会北海道地方会(特別講演)

京田 有樹、舩森 直哉. 神経内分泌細胞は前立腺肥大症の発生に関与するか、2016年、第23回日本排尿機能学会(シンポジウム)

京田 有樹 高血圧自然発症ラットの前立腺、尿道における神経内分泌細胞の分布、2016年、第104回日本泌尿器科学会総会

## 6. 研究組織

(1)研究代表者

京田 有樹 (KYODA, Yuki)  
札幌医科大学・泌尿器科学講座・助教  
研究者番号：90718024

(2)研究分担者

( )

研究者番号：

(3)連携研究者

舩森 直哉 (MASUMORI, Naoya)  
札幌医科大学・泌尿器科学講座・教授  
研究者番号：20295356