

令和 5 年 6 月 2 日現在

機関番号：24601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09566

研究課題名(和文) 間質性膀胱炎の脂質代謝に着目した病態解明と血液バイオマーカー開発

研究課題名(英文) Elucidation of pathophysiology and development of blood biomarkers focusing on lipid metabolism in interstitial cystitis

研究代表者

鳥本 一匡 (Torimoto, Kazumasa)

奈良県立医科大学・医学部・准教授

研究者番号：10382293

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ハンナ型間質性膀胱炎(HIC)患者(20名)、膀胱痛症候群(BPS)患者(20名)、過活動膀胱(OAB)患者(20名)、下部尿路症状のない対照者(15名)を対象に、323種類の代謝物質を標的とし、高速液体クロマトグラフ質量分析を用いてメタボロミクスを行った。アナンダミド、アシルカルニチン(18:2)、リノール酸エタノールアミド、アラキドン酸の相対的面積は、HIC群・BPS群においてはOAB群・対照群と比較して低値であった。とくにアナンダミドの相対面積の差は大きく、IC/BPSをOABから判別する能力としてAUSは0.9321であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

間質性膀胱炎・膀胱痛症候群(IC/BPS)の病態は解明されておらず、診断ならびに治療は確立されていない。診断は、尿意亢進や頻尿などの下部尿路症状を呈する、混同しうる疾患を除外した上で、IC/BPSを疑い、痛みなど強い症状の要因であるハンナ病変の有無を膀胱鏡で確認するという過程である。これには十分な経験が必要で、実臨床では診断が難しい。我々が見出した血清アナンダミドをバイオマーカーとして用いれば、診断における大きな補助となる。また、診断精度の向上は、IC/BPSの病態解明ならびに治療方法開発の促進に寄与する。

研究成果の概要(英文)：We enrolled patients with Hunner-type interstitial cystitis (HIC) (n=20), bladder pain syndrome (BPS) (n=20), and overactive bladder (OAB) (n=20) and without lower urinary tract symptoms (controls, n=15). Metabolomics was performed on 323 serum metabolites using liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry.

The relative areas including anandamide, acylcarnitine (18:2), linoleoyl ethanolamide, and arachidonic acid were smaller in the HIC or BPS group than in the OAB or control group. The differences in the relative areas of anandamide were significant (median: 3.950e-005 and 4.150e-005 vs. 8.300e-005 and 9.800e-005), and the ability to discriminate IC/BPS exhibited an area under the curve of 0.9321.

Serum anandamide may be a feasible diagnostic biomarker for IC/BPS. Low serum anandamide levels might be associated with pain and inflammation initiation and may reflect the pathology of IC/BPS.

研究分野：排尿障害

キーワード：間質性膀胱炎 膀胱痛症候群 血液バイオマーカー

1. 研究開始当初の背景

(1) 間質性膀胱炎・膀胱痛症候群診療 (Interstitial Cystitis/Bladder Pain Syndrome: IC/BPS) ガイドラインが 2019 年に発刊され、その中で IC/BPS は「膀胱に関連する慢性の骨盤部の疼痛、圧迫感または不快感があり、尿意亢進や頻尿などの下部尿路症状を伴い、混同しうる疾患がない状態」の総称であると定義された。IC/BPS は病態が解明されておらず、診断基準および治療が確立されていない難病である。従来の診断基準は、頻尿・膀胱不快感・膀胱痛などの症状に加えて膀胱内にハンナ病変または膀胱水圧拡張術のあと出血が確認され、かつこれらを説明できる他の疾患や状態がないことである。しかし、実臨床では診断に豊富な経験が必要で、確定診断に至るまでに長い期間を要する患者が多い。これは、簡便に測定できる客観的指標がないことが主な原因である。これまで国内外において尿および血液バイオマーカーの研究は報告されているが、いずれも臨床応用につながっていない。

(2) 我々は IC/BPS の血液バイオマーカーを探索するため、下記の先行研究を行った。

研究 (1) 方法 2013 年 1 月より 2014 年 2 月に IC/BPS 患者 25 名 (男 4、女 21) (63.2 ± 17.1 歳)、同年齢健常者 (同年齢群) 10 名 (女 10) (64.7 ± 6.8 歳)、若年齢健常者 (若年齢群) 15 名 (女 15) (35.5 ± 9.5 歳) より採血し、血漿のメタボロミクスで候補物質を網羅的に探索した。結果 メタボロミクスで同定された 678 種の代謝物のうち、同年齢群と若年齢群の間に有意差がなく、同年齢群と若年齢群を合わせた群と IC/BPS 群の間に有意差があった 58 種の代謝物を抽出した。候補物質として 1-linoleoylglycerophosphocholine (1-linoleoyl GPC) (感度 80%、特異度 70%) を選択した。

研究 (2) 方法 2017 年 8 月より 12 月にハンナ型 IC 患者 (HIC 群) 5 名 (女 5) (58.2 ± 19.3 歳) と健常者 (対照群) 5 名 (女 5) (23.4 ± 1.5 歳) より採血し、予備試験として候補物質の血中濃度比較を行い、サンプルサイズを計算した。結果 IC/BPS 群 $20.0 \pm 7.0 \mu\text{g/mL}$ 、対照群 $31.0 \pm 9.8 \mu\text{g/mL}$ から、サンプルサイズ (1 型エラー 5%、検出力 90%) を各群 13 名以上と見積もった。

研究 (3) 方法 2019 年 1 月より 2 月に HIC 群 25 名 (女 25) (70.4 ± 10.9 歳) と対照群 25 名 (女 25) (66.1 ± 8.5 歳) より採血し、前向き検証を行った。結果 IC/BPS 群 (症状/問題スコア $12.8 \pm 3.7/10.6 \pm 2.4$) と対照群 (症状/問題スコア $1.7 \pm 2.3/0.6 \pm 1.0$) の間には有意な差があり (27.9 ± 6.3 vs $40.4 \pm 15.1 \mu\text{g/mL}$, $p < 0.0003$)、カットオフ $28.4 \mu\text{g/mL}$ とすると感度 68%、特異度 84%であった。

以上より、IC/BPS 血液バイオマーカーの候補として 1-linoleoyl GPC が有用であると結論付けた (文献①)。

2. 研究の目的

- ① 血中の脂質代謝関連物質を測定し、脂質代謝と HIC の関係を調べる。
- ② 1-linoleoyl GPC の HIC バイオマーカー候補としての有用性を検証するため、同候補による HIC、BPS と OAB の判別能を検討する。
- ③ HIC、BPS と OAB を判別できる他のバイオマーカーを、脂質を中心にさらに探索する。

3. 研究の方法

① HIC 患者の血液を用いて以下の物質を測定し、HIC の背景にある脂質代謝と肝機能の関係を解析する。比較対照として、非ハンナ型 IC 患者、OAB 患者、下部尿路症状がない被験者から採取した血液を用いる。[肝機能関連物質] 蛋白 (総蛋白・アルブミン・A/G 比)、酵素 (AST・ALT・ALP・LDH・LAP・ γ -GTP・ChE・)、脂質 (T-CHO・F-CHO・E-CHO・E/T 比・TG・LDL-C・HDL-C・TBA)、T-BIL、BIL-F の測定を、オリエンタル酵母工業 (株) に委託する。[ATX] ELISA 法 (ENPP-2/Autotaxin, Human, DuoSet Kit; R&D Systems, Inc.) を用いる。

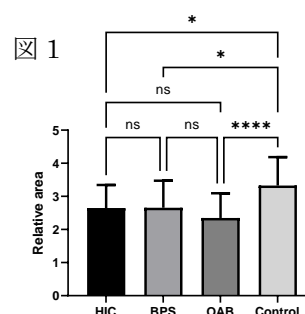
② HIC 群、BPS 群、OAB 群と下部尿路症状がない対照群の間で、1-linoleoyl GPC の血清レベルについて有意差検定を行う。

③ HIC 群、BPS 群、OAB 群と下部尿路症状がない対照群を対象に、先行研究とは異なる代謝物質を標的としてメタボロミクスを行う。

4. 研究成果

① 肝機能関連物質と ATX の血中濃度は、HIC を特徴付けられる群間差はなかった。

② 1-linoleoyl GPC の血清レベルは、HIC 群、BPS 群、OAB 群において対照群に比べて低値であり、HIC 群、BPS 群、OAB 群の 3 群の間に有意差はなかった (図 1)。



③ HIC 群 (20 名)、BPS 群 (20 名)、OAB 群 (20 名)、対照群 (15 名) を対象に、323 種類の代謝物質を標的とし、高速液体クロマトグラフ質量分析を用いてメタボロミクスを行った。アナンダミド、アシルカルニチン (18:2)、リノール酸エタノールアミド、アラキドン酸の相対的面積は、HIC 群・BPS 群において OAB 群・対照群と比較して低値であった。とくにアナンダミドの相対面積の差は大きく (図 2)、IC/BPS を OAB から判別する能力として AUS は 0.9321 であった (図 3)。

図 2

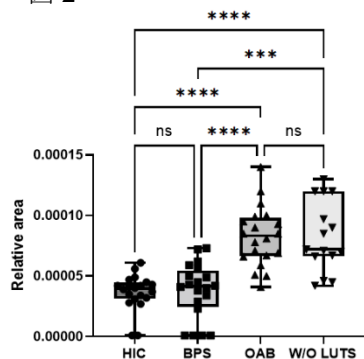
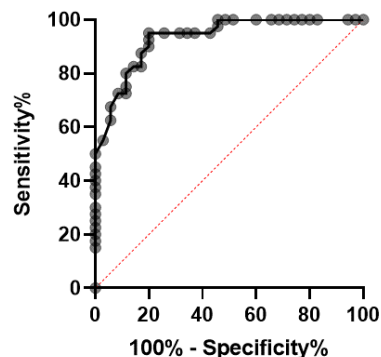


図 3



<引用文献>

① Torimoto K et al. Identification of diagnostic serum biomarkers for Hunner-type interstitial cystitis. *Low Urin Tract Symptoms*. 2022;14:334-340.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

| | |
|---|-----------------------|
| 1. 著者名 Kazumasa Torimoto, Tomohiro Ueda, Masato Kasahara, Akihide Hirayama, Chie Matsushita, Yoshihiro Matsumoto, Daisuke Gotoh, Yasushi Nakai, Makito Miyake, Katsuya Aoki, Kiyohide Fujimoto | 4. 巻 14 |
| 2. 論文標題 Identification of diagnostic serum biomarkers for Hunner-type interstitial cystitis | 5. 発行年 2022年 |
| 3. 雑誌名 Lower Urinary Tract Symptoms | 6. 最初と最後の頁 334-340 |
| 掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/luts.12439 | 査読の有無 有 |
| オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難 | 国際共著 - |

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 2件）

| |
|--|
| 1. 発表者名 Torimoto K, Ueda T, Gotoh D, Kano K, Miyake M, Nakai Y, Horii S, Morizawa Y, Onishi K, Shimizu T, Tomizawa M, Aoki J, Fujimoto K |
| 2. 発表標題 Serum Anandamide and lipids associated with linoleic acid can distinguish interstitial cystitis and bladder pain syndrome from overactive bladder |
| 3. 学会等名 第110回日本泌尿器科学会総会 |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|--|
| 1. 発表者名 Torimoto K, Ueda T, Gotoh D, Kano K, Miyake M, Nakai Y, Horii S, Morizawa Y, Onishi K, Shimizu T, Tomizawa M, Aoki J, Fujimoto K |
| 2. 発表標題 Serum Anandamide and lipids associated with linoleic acid can distinguish interstitial cystitis and bladder pain syndrome from overactive bladder |
| 3. 学会等名 The Annual Meeting 2023 of the American Urological Association（国際学会） |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|-----------------------------------|
| 1. 発表者名 Torimoto K |
| 2. 発表標題 Biomarker Update |
| 3. 学会等名 ESSIC 2023（招待講演）（国際学会） |
| 4. 発表年 2023年 |

| |
|---|
| 1. 発表者名 鳥本一匡、上田朋宏、笠原正登、平山暁秀、松下千枝、松本吉弘、三宅牧人、田中宣道、藤本清秀 |
| 2. 発表標題 間質性膀胱炎・膀胱痛症候群の血液検査診断をめざす研究 |
| 3. 学会等名 第108回日本泌尿器科学会総会 |
| 4. 発表年 2020年 |

〔図書〕 計0件

〔出願〕 計2件

| | | |
|---|--|---------------|
| 産業財産権の名称 Method for Diagnosing Interstitial Cystitis | 発明者 Torimoto K, Fujimoto K, Ueda T | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、TTFP-1093 | 出願年 2021年 | 国内・外国の別 外国 |

| | | |
|---|---------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称 Method for Diagnosing Interstitial Cystitis | 発明者 鳥本一匡、藤本清 秀、上田朋宏 | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、PCT/JP2019/043302 | 出願年 2020年 | 国内・外国の別 外国 |

〔取得〕 計1件

| | | |
|------------------------------------|---------------------------|---------------|
| 産業財産権の名称 間質性膀胱炎の診断方法 (研究者番号) | 発明者 鳥本一匡、藤本清 秀、上田朋宏 | 権利者 同左 |
| 産業財産権の種類、番号 特許、6757870 | 取得年 2020年 | 国内・外国の別 国内 |

〔その他〕

-

6. 研究組織

| | 氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号) | 所属研究機関・部局・職 (機関番号) | 備考 |
|-----------|--|---|----|
| 研究 分担者 | 藤本 清秀 (Fujimoto Kiyohide) (50264867) | 奈良県立医科大学・医学部・教授 (24601) | |
| 研究 分担者 | 可野 邦行 (Kano Kuniyuki) (50636404) | 東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・助教 (12601) | |

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

| 共同研究相手国 | 相手方研究機関 |
|---------|---------|
|---------|---------|