

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 27 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462522

研究課題名(和文)胎生期成長因子GDNFからみた前立腺肥大症発生機序の解明と新規治療薬の開発

研究課題名(英文)Investigation for the role of GDNF in benign prostate hyperplasia

研究代表者

高田 麻沙 (Takada, Masa)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・研究員

研究者番号：60468254

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：私たちはこれまでに前立腺肥大症の発生機序を解明するために、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病理学的に人に類似した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) が正常前立腺と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。また、GDNFシグナルが前立腺由来の細胞株にどのような影響をもたらしているのか、その増生機能への影響を調べるとともに、GDNFシグナルの下流経路についてその動きを検討した。

研究成果の概要(英文)：Benign prostate hyperplasia is a non-cancerous enlargement of the prostate which cause lower urinary tract symptoms, such as urinary frequency, urinary urgency interrupted urine stream and so on. Aging society increase the BPH prevalence and these symptoms degrade the quality of life. Although BPH is common, 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) plays the important role in interstitial cell proliferation.

In this study, we demonstrate the GDNF increase the growth rate of human prostate interstitial cell line, and in these cell line signal cascade such as RET phosphorylation pathway and GZF1 were activated.

研究分野：泌尿器科学

キーワード：前立腺肥大症 泌尿器科学 GDNF

1. 研究開始当初の背景

前立腺肥大症は高齢化が進むにつれて罹患率、患者数が増加し、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は、1プロロッカーと広義の抗アンドロゲン薬が用いられている。しかし、アンドロゲンの作用を低下させても、前立腺の上皮細胞数は減少するものの、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、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。

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、上皮成分がほとんどを占めており、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、私たちは胎児ラットの前立腺原器である泌尿生殖洞 (urogenital sinus; UGS) を成体雄ラットの前立腺皮膜下に移植することで、病理学的にヒトと類似した間質増生主体の前立腺肥大症モデルを作成した (図1)。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を発現していること、bFGF と TGF- β 1 の発現が亢進していることなど、ヒトの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、萎縮していく。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。

2. 研究の目的

私たちはこれまでに同モデルの検討によって、胎生期特異的に前立腺原器に発現している成長因子として報告のある 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 GDNF が高発現していることを報告した。

このように、間質優位肥大モデルと正常前立腺の比較することによって、ヒト前立腺肥大症の発生機序とその治療法に対する新たな知見が得られると考えた。

3. 研究の方法

GDNF は神経栄養因子として同定され、腎の発生、神経細胞の分化と生存に関わるとともに、胎生期特異的に泌尿生殖洞 (前立腺原器) に発現している。泌尿生殖洞の移植で間質主体の前立腺肥大モデルが得られる事実と、初期分化能の再獲得が前立腺肥大発生に寄与するという仮説 (reawakening theory) から、私たちは GDNF の前立腺における働きに着目した。

GDNF は受容体に結合後、RET 癌原遺伝子を介して RAS、RAF、AKT などの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肥大症組織における 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するとともに、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 と GDNF 拮抗薬の投与が細胞の増殖能に影響するかどうかを検討した。

4. 研究成果

ヒト前立腺由来細胞株のうち、間質由来の細胞において GDNF 投与によって増殖能が増大することが確認された。また、GDNF シグナルの下流経路にはその受容体として GFR 受容体と RET 受容体を介して Akt リン酸化に作用することが報告されており、ヒト前立腺間質由来細胞株を用いて検討したところ Akt のリン酸化が促進される傾向が観察された。

また、泌尿生殖洞移植によって得られるラット前立腺肥大モデルの発症がアンドロゲン依存性かどうかを確認するために、移植後に抗アンドロゲン薬の一種であるフィナステリドを経口投与してその影響を観察した結果、フィナステリドを投与した群では前立腺肥大組織が発生しないことが確認された。これにより同モデルの発症はアンドロゲン依存性であることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計11件)

1. Okada Atsushi, Iida Keitaro, Hamakawa Takashi, Umemoto Yukihiro, Yasui

- Takahiro, Kawai Noriyasu, Tozawa Keiichi, Sasaki Shoichi, Hayashi Yutaro, Kohri Kenjiro: Neuroendocrine carcinoma of the kidney and bladder with loss of heterozygosity and changes in chromosome 3 copy number. *American Journal of Case Report*, 16:611-616, 2015 (doi: 10.12659/AJCR.894274)
 査読有り
2. Yasui Takahiro, Tozawa Keiichi, Ando Ryosuke, Hamakawa Takashi, Iwatsuki Shoichiro, Taguchi Kazumi, Kobayashi Daichi, Naiki Taku, Mizuno Kentaro, Okada Atsushi, Uemoto Yukihiro, Kawai Noriyasu, Sasaki Shoichi, Hayashi Yutaro, Kohri Kenjiro: Laparoscopic versus open radical cystectomy for patients older than 75 years: a single-center comparative analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(15):6353-6358, 2015 (doi:http://dx.doi.org/10.7314/APJCP.2015.16.15.6353)
 査読有り
 3. Hamamoto Shuzo, Yasui Takahiro, Okada Atsushi, Taguchi Kazumi, Kawai Noriyasu, Ando Ryosuke, Mizuno Kentaro, Kubota Yasue, Kamiya Hiroyuki, Tozawa Keiichi, Kohri Kejiro: Endoscopic combined intrarenal surgery for large calculi: Simultaneous use of flexible ureteroscopy and mini-percutaneous nephrolithotomy overcomes the disadvantage of percutaneous nephrolithotomy monotherapy. *Journal of Endourology*, 28(1):28-33, 2014 (doi: 10.1089/end.2013.0361)
 査読有り
 4. Kawai Noriyasu, Yasui Takahiro, Uemoto Yukihiro, Kubota Yasue, Mizuno Kentaro, Okada Atsushi, Ando Ryosuke, Tozawa Keiichi, Hayashi Yutaro, Kohri Kenjiro: Laparoendoscopic single-site partial nephrectomy without hilar clamping using a microwave tissue coagulator. *Journal of Endourology*, 28(2):184-190, 2014 (doi: 10.1089/end.2013.0135)
 査読有り
 5. Ichikawa Jun, Okada Atsushi, Taguchi Kazumi, Fujii Yasuhiro, Li Zuo, Niimi Kazuhiro, Hamamoto Shuzo, Kubota Yasue, Uemoto Yukihiro, Itoh Yasunori, Yasui Takahiro, Kawai Noriyasu, Tozawa Keiichi, Kohri Kenjiro: Increased crystal-cell interaction in vitro under co-culture of renal tubular cells and adipocytes by in vitro co-culture paracrine systems simulating metabolic syndrome. *Urolithiasis*, 42(1):17-28, 2014 (doi: 10.1007/s00240-013-0612-5)
 査読有り
 6. Kojima Yoshiyuki, Hamakawa Takashi, Kubota Yasue, Ogawa Soichiro, Haga Nobuhiro, Tozawa Keiichi, Sasaki Shoichi, Hayashi Yutaro, Kohri Kenjiro: Bladder neck sling suspension during robot-assisted radical prostatectomy to improve early return of urinary continence: A comparative analysis. *Urology*, 83(3):632-640, 2014 (doi: 10.1016/j.urology.2013.09.059)
 査読有り
 7. 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. *The Prostate*, 74(6):590-601, 2014 (doi: 10.1002/pros.22773)
 査読有り
 8. Niimi Kazuhiro, Yasui Takahiro, Okada Atsushi, Hirose Yasuhiko, Kubota Yasue, Uemoto Yukihiro, Kawai Noriyasu, Tozawa Keiichi, Kohri Kenjiro: Novel effect of the inhibitor of mitochondrial cyclophilinD activation, N-methyl-4-isoleucine cyclosporine, on renal calcium crystallization. *International Journal of Urology*, 21(7):707-713, 2014 (doi: 10.1111/iju.12425)
 査読有り
 9. Ando Ryosuke, Nagaya Teruo, Suzuki Sadao, Takahashi Hidekatsu, Kawai Makoto, Okada Atsushi, Yasui Takahiro, Kubota Yasue, Uemoto Yukihiro, Tozawa Keiichi,

Kohri Kenjiro: Kidney stone formation is positively associated with conventional risk factors for coronary heart disease in Japanese men. *The Journal of Urology*, 189:1340-1346, 2013
(doi: 10.1016/j.juro.2012.11.045)
査読有り

10. Fujii Yasuhiro, Okada Atsushi, Yasui Takahiro, Niimi Kazuhiro, Hamamoto Shuzo, Hirose Masahito, Kubota Yasue, Tozawa Keiichi, Hayashi Yutaro, Kohri Kenjiro: Effect of adiponectin on kidney crystal formation in metabolic syndrome model mice via inhibition of inflammation and apoptosis. *PLoS One*, 8(4):e61343, 2013
(doi:10.1371/journal.pone.006134)
査読有り
11. Yasui Takahiro, Okada Atsushi, Urabe Yuji, Usami Masayuki, Mizuno Kentaro, Kubota Yasue, Tozawa Keiichi, Sasaki Shoichi, Higashi Yoshihito, Sato Yoshikazu, Kubo Michiaki, Nakamura Yusuke, Matsuda Koichi, Kohri Kenjiro: A replication study for three nephrolithiasis loci at 5q35.3, 7p14.3 and 13q14.1 in the Japanese population. *Journal of Human Genetics*, 58(9):588-593, 2013
(doi:10.1038/jhg.2013.59)
査読有り

〔学会発表〕(計15件)

1. 窪田 泰江, 濱川 隆, 高田 麻沙, 梅本幸裕, 河合 憲康, 佐々木 昌一, 郡 健二郎, 安井 孝周: 過活動膀胱治療における服薬状況および患者の満足度に関するアンケート調査。第65回日本泌尿器科学会中部総会、2015.10.23-25、長良川国際会議場 他(岐阜県岐阜市)
2. 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)
3. Sasaki Shoichi, Iwatsuki Shoichiro, Kubota Yasue, Kubota Hiroki, Umemoto Yukihiko, Kohri Kenjiro: Accuracy of percutaneous measurement of testicular

volume using caliper in Japanese infertile men. IFFS/JSRM International Meeting 2015, 2015.4.26-29, Yokohama (Japan)

4. 濱川 隆, 佐々木 昌一, 窪田 泰江, 戸澤 啓一, 林 祐太郎, 郡 健二郎: ロボット支援下前立腺全摘除術施行患者における前立腺摘出重量別にみた排尿状態の検討。第103回日本泌尿器科学会総会、2015.4.18-21、石川県立音楽堂 他(石川県金沢市)
5. Hamakawa Takashi, Sasaki Shoichi, Kubota Yasue, Kojima Yoshiyuki, Kohri Kenjiro: Interleukin-18 may lead to stromal hyperplasia via thrombospondin-1 production in prostatic smooth muscle cells. American Urological Association Annual Meeting 2014, 2014.5.16-21, Orlando (USA)
6. 濱川 隆, 佐々木 昌一, 柴田 泰宏, 高田 麻沙, 窪田 泰江, 小島 祥敬, 郡 健二郎: 炎症性サイトカイン IL-18 が前立腺肥大の間質過形成を誘導する。第158回名古屋市立大学医学会例会、2014.6.16、名古屋市立大学(愛知県名古屋市)
7. 新美 和寛, 藤井 泰普, 伊藤 靖彦, 高田 英輝, 広瀬 真仁, 岡田 淳志, 窪田 泰江, 安井 孝周, 戸澤 啓一, 郡 健二郎: ミトコンドリア cyclophilin D をターゲットとした尿路結石に対する新規治療薬と尿中バイオマーカーの開発。第102回日本泌尿器科学会総会、2014.4.24-27、神戸国際会議場 他(兵庫県神戸市)
8. Iwatsuki Shoichiro, Sasaki Shoichi, Kubota Hiroki, Umemoto Yukihiko, Mizuno Kentaro, Kohri Kenjiro: Numb and Numb-like function in rat testes: Analysis using in vivo gene transfer technique. 29th Annual EAU Congress, 2014.4.11-15, Stockholm (Sweden)
9. Hamakawa Takashi, Sasaki Shoichi, Kubota Yasue, Shibata Yasuhiro, Kojima Yoshiyuki, Kohri Kenjiro: Interleukin-18 may lead to benign prostatic hyperplasia via thrombospondin-1 production in prostatic smooth muscle cells. Nagoya Shinshu Forum 2013, 2013.9.21-22、グラシッパ(静岡県静岡市)
10. 濱川 隆, 佐々木 昌一, 柴田 泰宏, 井

村 誠、窪田 泰江、小島 祥敬、郡 健二郎：炎症性サイトカイン IL-18 が前立腺肥大の間質過形成を促す。第 20 回日本排尿機能学会、2013.9.18-21、グランシップ（静岡県静岡市）

11. Kubota Yasue, Kojima Yoshiyuki, Imura Makoto, Shibata Yasuhiro, Hamakawa Takashi, Sasaki Shoichi, Kohri Kenjiro: Urinary stem cell factor level could be a novel diagnostic biomarker for benign prostatic hyperplasia patients with OAB. American Urological Association Annual Meeting 2013, 2013.5.4-8, San Diego (USA)
12. 濱川 隆、佐々木 昌一、柴田 泰宏、井村 誠、窪田 泰江、林 祐太郎、小島 祥敬、郡 健二郎：前立腺の間質肥大の原因物質となる炎症性サイトカイン IL-18 の同定と作用機序の解明。第 101 回日本泌尿器科学会総会、2013.4.25-28、さっぽろ芸術文化の館 他（北海道札幌市）
13. 窪田 泰江、小島 祥敬、戸澤 啓一、安井 孝周、梅本 幸裕、黒川 寛史、佐々木 昌一、郡 健二郎：ロボット支援下前立腺全摘除術後の新たな尿失禁防止術の開発とその尿禁制機序の考案。第 101 回日本泌尿器科学会総会、2013.4.25-28、さっぽろ芸術文化の館 他（北海道札幌市）
14. 井村 誠、佐々木 昌一、窪田 泰江、濱川 隆、柴田 泰宏、高田 麻沙、小島 祥敬、郡 健二郎：KIT 陽性間質細胞を介した前立腺の増殖および収縮機構の解明。第 101 回日本泌尿器科学会総会、2013.4.25-28、さっぽろ芸術文化の館 他（北海道札幌市）
15. 柴田 泰宏、佐々木 昌一、濱川 隆、高田 麻沙、井村 誠、水野 健太郎、岡田 淳志、梅本 幸裕、安井 孝周、河合 憲康、窪田 泰江、林 祐太郎、郡 健二郎：前立腺肥大症の発生誘因物質としての GDNF の可能性。第 101 回日本泌尿器科学会総会、2013.4.25-28、さっぽろ芸術文化の館 他（北海道札幌市）

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高田 麻沙 (TAKADA Masa)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員
研究者番号：60468254

(2) 研究分担者

窪田 泰江 (KUBOTA Yasue)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・講師
研究者番号：00381830

井村 誠 (IMURA Makoto)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員
研究者番号：00551269

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

郡 健二郎 (KOHRI Kenjiro)
名古屋市立大学・学長
研究者番号：30122047

佐々木 昌一 (SASAKI Shoichi)
名古屋市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号：50225869

小島 祥敬 (KOJIMA Yoshiyuki)
福島県立医科大学・医学部・教授
研究者番号：60305539
(平成 27 年 3 月 13 日 削除)