



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士 (医学)
学位記番号	第 1015 号
氏名	濱川 隆
授与年月日	平成 26 年 3 月 25 日
学位論文の題名	<p>Interleukin-18 may lead to benign prostatic hyperplasia via thrombospondin-1 production in prostatic smooth muscle cells (インターロイキン 18 は前立腺平滑筋細胞におけるトロンボスポンディン 1 の産生を介して前立腺肥大症を誘導しうる)</p> <p>The Prostate. (Accepted for publication)</p>
論文審査担当者	<p>主査： 橋谷 光 副査： 高橋 智, 郡 健二郎</p>

論文内容の要旨

【背景】前立腺肥大症（BPH）は腺性成分と間質成分の2つの過形成により発症する疾患と考えられている。腺の過形成はテストステロンが関与していることがわかっているが、間質の過形成の原因については未だ明らかではない。また BPH の発症には炎症が重要な役割を担っていると言われているが、その詳細な機序もはっきりとは解明されていない。そこで BPH 発症機序における炎症の関与を明らかにするため、ヒト BPH に組織学的に類似した間質優位なモデルラットを用いてマイクロアレイ解析を行い、BPH に強く発現している炎症性サイトカインとして Interleukin-18 (IL-18) を同定した。IL-18 は多様な作用をもつサイトカインで、IFN- γ の誘導因子として知られる他に、細胞増殖や、過形成、線維化などにも関与する。これらの点に着目し、IL-18 が間質の過形成の発症に関与する可能性を推察し、研究を行った。

【対象と方法】《研究1：BPH 発症の責任遺伝子の同定》：妊娠 SD ラットの胎生 20 日齢の雄胎仔を用い、顕微鏡下に胎仔の泌尿生殖洞（UGS）を摘出した。7 週齢の雄 SD ラットのの前立腺被膜下に、摘出した UGS を移植することにより、その移植片が BPH となるモデルラットを作成した。その BPH 組織と、正常前立腺組織との間で cDNA マイクロアレイ解析を行った。《研究2：前立腺組織における IL-18 の発現と局在》：モデルラット正常前立腺組織と BPH 組織における IL-18 の発現を、定量 RT-PCR、ウエスタンブロッティングによって検討した。さらに、ヒト正常前立腺組織と BPH 組織を用いて、IL-18、IL-18 受容体の発現を免疫組織化学染色にて検討した。《研究3：前立腺平滑筋細胞における IL-18 の機能解析》：ヒト正常前立腺平滑筋細胞 (PrSMC) を用いて、IL-18 投与による細胞内シグナル伝達経路、各種増殖因子、細胞外マトリックスの変化を定量 RT-PCR、ウエスタンブロッティングを用いて検討した。《研究4：前立腺培養細胞の増殖能の検討》：研究3で同定された Thrombospondin-1 (TSP-1) と IL-18 の直接的な作用を検討するため、PrSMC、ヒト正常前立腺間質細胞 (PrSC) を用いて WST assay により細胞増殖能を評価した。

【結果】《研究1》：ラット正常前立腺組織と比較して、BPH 組織で発現が 2 倍以上増強している遺伝子は 426 あり、そのうち炎症にかかわるものは 7 遺伝子あった。これらの中で炎症性サイトカインでは IL-18 の発現が最も強かった。《研究2》：ラット BPH 組織ではラット正常前立腺組織と比較して、IL-18 の mRNA、タンパク質の発現が有意に増強していた。免疫組織化学染色によるヒト前立腺組織の検討では、BPH 組織においてのみ腺上皮細胞と一部の間質細胞に IL-18 の発現がみられた。一方 IL-18 受容体は BPH 組織、正常前立腺組織の両方で平滑筋細胞に発現がみられた。《研究3》：PrSMC への IL-18 の投与で、TSP-1 の mRNA、タンパク質の発現が有意に増加した。また IL-18 の投与で PrSMC における Akt のリン酸化が促進された。《研究4》IL-18 の投与により、PrSMC、PrSC とともに細胞増殖能は変化しなかった。一方 TSP-1 の投与により、PrSC の細胞増殖能の亢進がみられたが、PrSMC については変化しなかった。

【考察】BPH モデルラットから間質肥大の原因物質として IL-18 を同定した。IL-18 はラット BPH 組織で有意に発現し、BPH 発症への関与が示唆された。ヒト BPH においては、腺上皮細胞や一部の間質細胞に発現した IL-18 は、前立腺平滑筋細胞に作用し、PI3K/Akt 経路の活性化を介して TSP-1 の発現を亢進させると考えられた。TSP-1 は、PrSC に直接的に作用し、その増殖能を亢進させた。以上の結果から、IL-18 は前立腺平滑筋細胞での TSP-1 の発現を亢進し、間質細胞の増殖能を亢進させることで、間質優位の前立腺肥大症の発症を誘導すると考えられた。

論文審査の結果の要旨

【背景】前立腺肥大症（BPH）は腺性成分および間質成分の過形成により発症すると考えられる。腺過形成にはテストステロンが関与すると考えられているが、間質過形成の原因は明らかでない。また BPH 発症における炎症の関与が示唆されているが、詳細な機序には解明されていない。本研究ではヒト BPH に組織学的に類似した間質過形成優位なモデルラットを用いてマイクロアレイ解析を行い、BPH に強く発現している炎症性サイトカインとして Interleukin-18（IL-18）を同定した。IL-18 は IFN- γ の誘導因子としての作用の他に、細胞増殖、過形成、線維化などにも関与することから、IL-18 が間質過形成の発症に関与するという仮説を検証した。

【対象と方法】《研究 1：責任遺伝子の同定》：妊娠 SD ラットの胎生 20 日齢雄胎仔から泌尿生殖洞（UGS）を摘出、7 週齢の雄 SD ラットのの前立腺被膜下に移植して移植片が BPH となるモデルラットを作成した。BPH 組織と正常前立腺組織との間で cDNA マイクロアレイ解析を行った。

《研究 2：IL-18 の発現と局在》：モデルラットの正常前立腺及び BPH 組織における IL-18 発現を、定量 RT-PCR、ウエスタンブロッティングにより検討した。ヒト正常前立腺及び BPH 組織を用いて、IL-18、IL-18 受容体の発現を免疫組織化学染色にて検討した。《研究 3：IL-18 の機能解析》：ヒト正常前立腺平滑筋細胞（PrSMC）を用いて、IL-18 投与による細胞内シグナル伝達経路、各種増殖因子、細胞外マトリックスの変化を定量 RT-PCR、ウエスタンブロッティングを用いて検討した。《研究 4：前立腺培養細胞の増殖作用》：研究 3 で同定された

Thrombospondin-1（TSP-1）と IL-18 の細胞増殖能を、PrSMC、ヒト正常前立腺間質細胞（PrSC）を用いて WST assay により評価した。

【結果】《研究 1》：正常前立腺組織と比較して BPH 組織で発現が 2 倍以上増強している遺伝子は 426、炎症関連のものは 7 遺伝子あり、炎症性サイトカインでは IL-18 の発現が最も強かった。《研究 2》：ラット BPH 組織では IL-18 の mRNA、タンパク質の発現が増強していた。ヒト前立腺組織においても BPH 組織においてのみ腺上皮細胞と一部の間質細胞に IL-18 の発現を認めた。IL-18 受容体は BPH 及び正常前立腺組織の両方で平滑筋細胞に発現を認めた。《研究 3》：PrSMC において IL-18 により TSP-1 の mRNA、タンパク質の発現が増加し、Akt のリン酸化が促進された。《研究 4》IL-18 により PrSMC、PrSC ともに細胞増殖能は変化しなかった。TSP-1 により PrSC の細胞増殖能の亢進がみられたが、PrSMC については変化しなかった。

【考察】BPH モデルラットから間質肥大の原因物質として IL-18 を同定した。IL-18 はラット BPH 組織で発現し、BPH 発症への関与が示唆された。ヒト BPH においては、腺上皮細胞や一部の間質細胞に発現した IL-18 は、前立腺平滑筋細胞に作用し、PI3K/Akt 経路の活性化を介して TSP-1 の発現を亢進させると考えられた。TSP-1 は、PrSC に直接的に作用し、その増殖能を亢進させた。以上の結果から、IL-18 は前立腺平滑筋細胞での TSP-1 の発現を亢進し、間質細胞の増殖能を亢進させることで、間質優位の前立腺肥大症の発症を誘導すると考えられた。

【審査の内容】第 1 副査の高橋教授から、ヒト BPH では平滑筋過形成が主体ではないか、前立腺の領域間で IL-18 発現に差を認めるか、炎症細胞の同定は行っているかなど 9 項目の質問があった。第 2 副査の郡教授からは専門領域と関連して、BPH の治療法、尿失禁の治療法、本研究の発展性と臨床的意義についてなど 4 項目の質問があった。主査の橋谷からは、泌尿生殖洞を移植されたホストの前立腺組織に変化は認められるか、前立腺炎では間質過形成を生じないのはなぜか、細胞内情報伝達系の抑制実験は行っているか、など 10 項目の質問を行った。これらの質問におおむね満足すべき回答が得られ、学位論文の主旨を十分理解していると判断した。

従来のモデルでは再現出来なかった間質過形成を主体とする BPH モデルを作成し、炎症性サイトカインに着目して間質過形成が生じる機序を解明することを目的とした。正常前立腺ではほとんど発現していない IL-18 が前立腺上皮細胞および間質の炎症細胞から遊離され、平滑筋細胞の IL-18 受容体に作用することにより TSP-1 産生を促進、TSP-1 が間質細胞の過形成を生じる過程を明らかにした。本論文の筆者には博士（医学）の称号を与えるに値すると判断した。

論文審査担当者 主査 橋谷 光 副査 高橋 智、 郡 健二郎