

実施計画書

研究課題名 間質性膀胱炎発症・増悪における炎症の役割

実施責任者

琉球大学大学院医学研究科 腎泌尿器外科学講座 教授 斎藤誠一

Ver. 1.0 2015年9月1日作成

I 研究の背景

間質性膀胱炎は、painful bladder syndrome/interstitial cystitis (PBS/IC) とも言われ、疼痛、頻尿、持続性尿意を主体とし、重症例では著しく生活の質が低下する難病である¹⁾。本邦における潜在的患者数は20~40万人にもものぼるといわれる。感染、自己免疫疾患、アレルギー、膀胱上皮の異常、上皮と膀胱粘膜下知覚神経の相互作用の亢進、膀胱知覚路の興奮性の増大などが原因として断片的に言われている²⁾が、どれも病態の流れを連続的/総合的に捉えるものではない。病態的には、尿路上皮の透過性の亢進、血管の易出血性、間質の肥満細胞浸潤、線維化が特徴として報告されており、究極的な炎症性疾患といえる。しかし、間質性膀胱炎の発症、増悪における炎症の役割については十分に解明されていない。

炎症と癌については、近年、分子レベルでの自然免疫応答機構が明らかにされている。病原体関連分子パターン (pathogen-associated molecular patterns: PAMPs) を認識するセンサーとしての細胞膜局在の TLR (Toll-like receptor) および細胞質局在の NLR (Nod-like receptor) などは、病原体の他にも化学物質や生体内有害物質 (danger-associated molecular patterns: DAMPs) も同様に認識し、自然免疫応答を発動する³⁾。その結果、共通の炎症プラットフォーム (inflammasomes) が活性化され、PAMPs や DAMPs を排除するような防御機構が働く。その他にも、TLR, NLR をセンサーとして、IRF, MAPK や NF- κ B をシグナルとし、インターフェロンやサイトカインが産生される経路も判明している。一方で、inflammasomes を介して産生されたサイトカインは、腫瘍増殖にも働く⁴⁾が、炎症のもう一つの側面、すなわち TLR4 を介した「好氣的解糖 (Warburg effect)」の活性化につながる⁵⁾。炎症により epithelial-mesenchymal transition (EMT) も誘発され⁶⁾、この EMT は癌の悪性度を特徴づけている。さらには、炎症を制御する autophagy⁷⁾ と癌との関連も注目されている⁸⁾。このように、炎症は癌と根源において同一の側面を有する。

間質性膀胱炎のような究極的な炎症性疾患も、炎症と癌の増殖進展のようなカスケードが関与している可能性がある。間質性膀胱炎において、炎症関連分子の発現と増殖進展との関連を見出すことによって、間質性膀胱炎の病因解明と新たな治療法を生み出す可能性がある。

II 研究の目的

本研究では、間質性膀胱において TLR, NLR, inflammasomes, IRF, MAPK や NF- κ B 活性化、EMT や autophagy 等のメカニズムを明らかにし、治療標的分子の同定につなげることを目的とする。

III 意義

間質性膀胱炎において炎症に関わる分子を同定することで、新たな治療標的を見いだせる可能性がある。

IV 実施計画

1) PAMPs や DAMPs に対するセンサーとしての TLR, NLR の発現

TLR, NLR 以後のシグナル分子および産生されるサイトカイン
間質性膀胱炎組織、血清または尿における TLR (TLR 1 - 12), NLR (NLRP1, NLRP3, NLRC4, NLRP6, AIM2) の発現 (蛋白、mRNA) を調査する。どの細胞 (マクロファージ、樹状細胞) において、どの種類の TLR, NLR が発現しているかを調査する。IRF, MAPK や NF- κ B、インターフェロンやサイトカインも調査する。

2) 間質性膀胱炎における Inflammasomes の恒常的発現の有無の検討

Inflammasomes が発現しているか否か、発現 (活性化) している場合には、活性化の結果として産生される IL-1 β が培養液中に増加するか否かを検討する。Inflammasomes とネットワークを形成する既知の分子 (SIRT1, SIRT2, AMPK, PGC-1 α , ROS, NAD⁺, etc) のなかで重要なものに関して蛋白レベル、mRNA レベルで解析する。

3) 間質性膀胱炎における Warburg effect の調査

TLR4 を介して活性化される可能性がある uPFK2
(6-phosphofructo-2-kinase-fructose-2,6-bisphosphatase) や Warburg effect の結果として惹起しうる pyruvate kinase M2 isoform 等が活性化されているか否か調査する。

4) 間質性膀胱炎における EMT および autophagy の調査

炎症により誘発される EMT 関連分子の発現、炎症を制御する役割を有する

autophagy の役割を明らかにする。

5) 炎症関連分子と重症度

間質性膀胱炎組織、血清または尿中で発現上昇あるいは減少している炎症関連分子と患者の重症度との関連を調査する。

V 研究対象

間質性膀胱炎の患者 50例

良性疾患（前立腺肥大症、副腎腺腫、尿路結石）の患者 30例

(1) 選択基準

- ①20 歳以上
- ②2000 年以降、間質性膀胱炎または良性疾患で琉球大学医学部附属病院泌尿器科または川原 腎・泌尿器クリニックで生検または手術を行い、病理検体についての包括同意が取得されている患者
- ③本研究について文書による同意が得られた患者

(2) 除外基準

- ①悪性疾患を合併している
- ②担当医が研究対象者として適切でないと判断した場合

*間質性膀胱炎の症例数は少ないため、川原 腎・泌尿器クリニックとの共同研究を行う。

VI 研究期間

倫理審査委員会承認後～平成 30 年 3 月 31 日

VI 研究方法

(1) 検体の採取について

- ①組織：生検により採取されたあるいは手術により摘出された組織標本の一部を使用する
- ②血液：治療前後の採血時に追加で採取する
- ③尿：採尿時に本研究のために追加で採取する

(2) データ収集について

患者カルテより、以下の項目のデータを収集する

- ①患者背景：年齢、性別、合併症
- ②原疾患の情報
- ③治療内容
- ④検査データ

(3) 研究方法

間質性膀胱炎組織、血清または尿中で発現上昇あるいは減少している炎症関連分子と患者の重症度との関連を調査する。

VIII 研究等における医学倫理的配慮について

(1) 研究等の対象となる個人の人権擁護

本研究に参加する全ての研究者は「世界医師会ヘルシンキ宣言（2013年改訂）」および「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に従って本研究を実施する。

プライバシーの保護と患者識別について：

研究に携わる関係者は被験者の個人情報保護に最大限の努力を払う。

琉球大学大学院医学研究科 腎泌尿器科外科講座において、組織サンプルの個人識別情報を連結可能匿名化により保護する。組織サンプルには氏名を記さず、匿名化番号をつけ、個人データは他の一切のコンピュータと切り離れたコンピュータに記録し、厳重に保管する。

カルテの直接閲覧を行った担当者は、そこで得られた情報を外部に漏洩しない。また、研究成果が学術目的のために公表される場合には、個人情報の秘密は厳重に守り、統計処理した結果および個人を特定できない形でのみ公表を行う。連結可能匿名化のための対応表は鍵のかかる部屋内の鍵のかかる金庫内に保管し、他の者が触れることが出来ない体制を取る。

(2) 研究等の対象となる者に理解を求め同意を得る方法

同意説明文書（別紙）を用いて、文書と口頭で説明し、文書で同意を得る

。同意書には、説明した医師、説明を受けた患者、同意を得た日付を記載し、医師、患者各々が署名する。説明書および同意文書のコピーは患者本人に手渡し、原本はカルテに保管する。研究への協力はあくまでも自由意志によるものであり、患者が研究に協力しない場合や同意の撤回があっても、その後の患者の診療には何ら支障をきたすことはない。

(3) 研究等によって生ずる個人への不利益及び危険性

生検により採取されたあるいは手術により摘出された組織および尿の一部を研究材料とするため、本研究により患者が危険にさらされることはない。研究のために血液を採取するが、通常診療での採血時に追加採取するため、本研究のための針刺しによる患者の危険性はない。通常より採血量が多くなるが、約8ccと少量であり、大きなリスクの増加はないと考える。また、研究に関して患者に金銭的な負担は一切ない。

IX 試料の保管・廃棄

この研究で使用した組織、血液、尿については、琉球大学医学部腎泌尿器外科講座で保管する。本研究終了時には、試料・情報を長期保存して将来の新たな研究に使用することに同意している場合を除き、原則として研究の中止または終了後少なくとも5年間、あるいは研究結果発表後3年が経過した日までの間のどちらか遅い期日まで保存する。

X 研究資金

科学研究費または奨学寄付金を研究費に充てる。

XI 研究機関の長への報告

研究終了または中止時には琉球大学長へ報告書を提出する。また、研究期間中は、年に1回本研究の進捗状況を報告する。

XII 研究実施体制

(1) 実施責任者

琉球大学大学院医学研究科 腎泌尿器外科学講座 教授 斎藤誠一

(2) 実施分担者

組織、血清採取・データ収集

琉球大学大学院医学研究科 腎泌尿器科外科講座 准教授 宮里実

琉球大学医学部附属病院 腎泌尿器科外科 講師 呉屋真人

琉球大学大学院医学研究科 腎泌尿器外科学講座 助教 須田哲司

(3) 共同研究者

川原 腎・泌尿器クリニック

院長 川原 和也

X III その他

(1) 本研究の成果として特許権などの知的所有権が生じる可能性があるが、その権利は国、研究機関、共同研究機関および研究遂行者などに属し、試料の提供者である患者には属さない。

(2) 本学委員会承認後、他施設（川原 腎・泌尿器クリニック）でも承認を得る予定である。

XIV 文献

- 1) Diokno AC, Homma Y, Sekiguchi Y, Suzuki Y. Interstitial cystitis, gynecologic pelvic pain, prostatitis, and their epidemiology. *Int J Urol* 10 Suppl:S3-6, 2003.
- 2) Hanno P, Lin A, Nordling J, Nyberg L, van Ophoven A, Ueda T, Wein A; Bladder Pain Syndrome Committee of the International Consultation on Incontinence. Bladder Pain Syndrome Committee of the International Consultation on Incontinence. *Neurourol Urodyn* 29:191-8, 2010.
- 3) Franchi L, Eigenbrod E, Muñoz-Planillo R, Nuñez G: The inflammasome: a caspase-1-activation platform that regulates immune responses and disease pathogenesis. *Nat Immunol* 10: 241-247, 2009.
- 4) Zitvogel L, Kepp O, Galluzzi L, Kroemer G: Inflammasomes in carcinogenesis and anticancer immune responses. *Nat Immunol* 13: 343-251, 2012.
- 5) Wen H, P-Y Ting J, O'Neil LAJ: A role for NLRP3 inflammasome in metabolic diseases—did Warburg miss inflammation? *Nat Immunol* 13: 352-357, 2012.

- 6) Thiery JP, Acloque H, Huang RYJ, Nieto MA: Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 139: 871-890, 2009.
- 7) Deretic V, Saitoh T, Akira S: Autophagy in infection, inflammation and immunity. *Nat Rev Immunol* 13: 722-737, 2013.
- 8) Akalay I, Janji B, Hasmin M, et al: Epithelial-to-mesenchymal transition and autophagy induction in breast carcinoma promote escape from T-cell-mediated lysis. *Cancer Res* 73: 2418-2427, 2013.
- 9) Azuma T, Nagase Y, Oshi M: Pyuria predicts poor prognosis in patients with non-muscle-invasive bladder cancer. *Clin Genitourin Cancer* 11: 331-336, 2013.
- 10) Sakano S, Matsuyama H, Kamiryo Y, et al: Risk group stratification based on preoperative factors to predict survival after nephroureterectomy in patients with upper urinary tract urothelial carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2013, in press.
- 11) Pizzocaro G, Algaba F, Horenblas S, et al: EAU Penile cancer guidelines 2009. *Eur Urol* 57: 1002-1012, 2010.
- 12) Orsted DD, Bojesen SE: The link between benign prostatic hyperplasia and prostate cancer. *Nat Rev Urol* 10: 49-54, 2013.
- 13) Saito K, Tatokoro M, Fujii Y, et al: Impact of C-reactive protein kinetics on survival of patients with metastatic renal cell carcinoma. *Eur Urol* 55: 1145-1154, 2009.