

博士論文（要約）

ハンナ型間質性膀胱炎に関する基礎的・臨床的研究
—動物モデルの作成、臨床像の特徴、尿中バイオマーカー
の探索

新美文彩

論文の内容の要旨

論文題目

ハンナ型間質性膀胱炎に関する基礎的・臨床的研究 —動物モデルの作成、臨床像の特徴、尿中バイオマーカーの探索

氏名 新美 文彩

【目的】

間質性膀胱炎 (Interstitial Cystitis : IC) は、高度の膀胱痛および、頻尿をはじめとした下部尿路症状を呈する比較的まれな原因不明の疾患で、主に疼痛により生活の質が大きく損なわれる。一般的な検査では異常所見に乏しいため泌尿器科専門医であっても診断に難渋することが多く、ICの診療経験が豊富な医師の判断に頼るところが大きい。確立された治療法もいまだなく、一部の病型は2015年に泌尿器科領域では初の指定難病となった。

近年の研究で、ICの病態は慢性炎症が主体で膀胱粘膜にハンナ病変と呼ばれる粘膜糜爛を伴うハンナ型間質性膀胱炎 (HIC) と炎症所見や粘膜病変を伴わない非ハンナ型間質性膀胱炎 (NHIC) 、の2つの病型に大別されることが明らかとなってきた。

そこで本研究ではこの2病型のうち泌尿器科領域で唯一の指定難病として認定されているHICに注目し、まず病態解明や創薬研究に供するために、HICと類似した慢性炎症および頻尿を呈する動物モデルの作成を試みた。また、病型分類に基づき患者背景や長期予後について臨床的検討を行い、両病型の違いを明確にしたうえで、診断および経過観察に用いることができるHICに特徴的な尿中バイオマーカーの探索を行った。これらの基礎的・臨床的研究を通して、HICの診断精度および診療成績を向上させることを本研究の目的とした。

1) 慢性膀胱炎モデルラット作成の試み

【方法】

10週齢の雌性SDラットを用い、プロタミン硫酸塩 (PS) または同量の偽薬を膀胱内に注入した。そのまま1時間保持させた後、PSを排出させ、続いてリポポリサッカライド (LPS) または同量の偽薬を膀胱内に注入し、同じく1時間保持した。この処置を1日1回、5日間連日行った。初回投与の前日 (Day 0) およびDay 10、Day 17に、メタボリックケージを用いて排尿行動を評価した。Day 17の測定終了後に膀胱を摘出して、病理学的評価を行った。

【結果】

PSとLPSの併用群とLPS単独投与群では、Day 10で投与前と比較して排尿回数が増加したが、Day 17では排尿回数が投薬前と同等に戻っており、症状が持続しないことが明らかとなった。PS単独投与群ではDay17で多尿に伴う頻尿を呈したが、ICの特徴である「1回排尿

量の減少を伴う頻尿」を呈するモデルとはならなかった。また、Day 17で採取した膀胱の病理組織学的所見では粘膜下層の浮腫は認めるものの、ヒトのHIC組織で認められる高度の炎症所見や上皮の剥離は明らかでなかった。

【考察】

既存の膀胱炎動物モデルは急性から亜急性の炎症を示すのみで、慢性的に持続する膀胱炎モデル動物は未だ開発されていない。本研究ではDay 10で一過性の頻尿が観察されたものの、Day 17ではそれらの変化は消失し病理組織学的にも炎症所見の残存はなかった。本研究では既報告と比較し、より高頻度に膀胱炎を惹起する薬剤2種を併用投与しているにも関わらず慢性的な炎症を構築することができなかった。これまでの報告を鑑みても、外因性の物質で頻尿を伴う慢性的な膀胱炎をラットに誘導することは困難なことが想定された。

2) 間質性膀胱炎の臨床像についての研究

【方法】

2007年1月から2013年12月の間にICの診断とされた患者を対象に、患者背景、自覚症状質問票（OSSI, OSPI, NRS, QOL index）、1日排尿回数、1回排尿量および膀胱水圧拡張術時の最大膀胱容量、尿流測定、膀胱鏡所見の後方視的検討を行った。治療効果の持続期間（非再発期間）は、膀胱水圧拡張術の再手術時または強オピオイドの導入時を「再発」とし、両群間での治療効果の差について評価を行った。更に治療効果に影響を与える因子についての多変量解析を行った。

【結果】

191例（HIC126例、NHIC65例）を解析対象とした。HICでは排尿回数が有意に多く、1回排尿量が有意に少なかった。OSSIおよびOSPIのスコアもHICで有意に高値であった。しかし、疼痛のNRSやQOLスコアでは両群間で有意差を認めなかった。併存疾患では、NHICで有意に合併が多い疾患として、LCS、骨盤内手術の既往があった。

膀胱水圧拡張術による非再発期間は全体で27.5ヶ月であり、両群間に有意差はなかった。しかし、初期にはHICの治療反応性が良好であり、17.3ヶ月で交差し、それ以降はNHICで良好であった。12ヶ月目の非再発率はHICで有意に高く[HIC82.6、NHIC67.9%]、60ヶ月では逆転していた[HIC23.7%、NHIC44.5%]。非再発期間に影響を与える患者背景については、多変量解析では、HICとNHICの両群において、腰部脊柱管狭窄症の合併が再発のリスク因子であり、NHICのみにおいて過敏性腸症候群もリスク因子であった。

【考察】

患者の背景因子と膀胱水圧拡張術の治療効果を比較したところ、明らかにHICのほうが重症で、膀胱水圧拡張術およびハンナ病変に対する焼灼術は短期的にはHICにおいて有意に良好な治療反応性を示したが、長期的には病型間の差は見られなくなった。また、神経

障害性疼痛や神経可塑性と関連性のあるLCSまたはIBSを合併する症例は治療抵抗性の予測因子であったことも明らかとなり、特にNHICにおいて顕著であった。

以上より、HICとNHICは、背景因子は類似するが、その病態や治療経過は大きく異なることが示唆され、ICの診療においては、ハンナ病変を膀胱鏡で的確に検出しHICとNHICを峻別する重要性が改めて明らかとなった。しかし、膀胱鏡での診断には経験に頼るところが大きいと、医師の経験に左右されず、数値での判断が可能であるバイオマーカーのような客観的な診断方法が開発されれば、適切な診断と治療が広く普及すると期待される。そこで非侵襲的マーカーとして尿中バイオマーカーの探索を行うこととした。

3) 尿中バイオマーカーの探索

【方法】

初回治療前のIC症例および健常対照群から中間尿を採取した。さらに、OSSI, OSPI, NRSを用いて自覚症状の評価を行った。各種キットを用いてELISA法でCXCL9, CXCL10, CXCL11, TNFSF14, PGE2, IL-6, MCP1, MIP1 α , NGF, HB-EGFを測定し、尿中クレアチニン濃度で補正した。各病型群の検出量を比較し、さらに症状スコアとの相関性の有無について検討を行った。症状と相関性があったマーカーについては、治療前と治療後12週目に比較を行った。

【結果】

1) HIC, NHICおよび対象の尿中バイオマーカーの比較

対象はHIC41例、NHIC25例、健常対照群32例。NGFとCXCL10のみで、3群間に有意差を認めた。NGFは、HIC群、NHIC群とも対照群と比較して有意な上昇を認めた(HIC; $P < 0.001$, NHIC; $P < 0.008$)。HIC群とNHIC群間の比較ではHIC群で有意な上昇を認めた($P < 0.042$)。CXCL10についても、HIC群は対照群およびNHIC群に比べて有意に上昇していた($P = 0.004$, $P = 0.005$)。一方でNHIC群では対照群に比べCXCL10が有意に低下していた($P = 0.013$)。

2) 尿中バイオマーカーのカットオフ値

CXCL10とNGFについてROC曲線での解析を行った。対照群とHICの鑑別については、CXCL10は2.41 pg/mg Cr、NGFは0.55 pg/mg Crをカットオフ値とすると、AUC (Area under the curve) 0.86、感度80.5%、特異度83.4%、陽性適中率 (PPV) 86.8%、陰性適中率 (NPV) 75.8%と良好な結果であった。HIC群とNHIC群の鑑別では、CXCL10のAUCは0.78、カットオフ値が53.2 pg/mg Crの場合にPPVは97.7%であり、NPVは60.0%であった。特異度は93.7%、感度は46.1%であった。

3) 尿中マーカーと自覚症状との相関

尿中CXCL10は、自覚症状の指標であるOSSIとOSPIと相関を示した。OSSIとは $R^2 = 0.082$, $P = 0.02$ 、OSPIとは $R^2 = 0.016$, $P = 0.039$ であった。一方尿中NGFは、OSPIとは相関を示す

も ($R^2=0.016$, $P < 0.039$)、OSSIとの相関は認めなかった ($R^2=0.012$, $P = 0.614$)。他の尿中物質では相関を認めなかった。

4) 治療前後の尿中マーカーの変化

17例の患者を対象として治療前後での尿中CXCL10の評価を行った。治療前CXCL10は 144.3 ± 215.6 pg/mg Cr、治療後 26.5 ± 30.0 と有意に低下していた ($P = 0.033$)。OSSI、NRSともに治療により有意な改善を認めた。[OSSI治療前 14.8 ± 4.23 、治療後 9.3 ± 4.8 、 $P < 0.001$; NRS治療前 7.4 ± 2.3 、治療後 2.9 ± 3.6 、 $P < 0.001$]

【考察】

本研究では、HICとNHICの鑑別診断に用いる尿中マーカーとして10種類の炎症関連物質を検索した。その結果、尿中CXCL10がHICで有意に上昇しており、HICとNHICの鑑別に関するROC曲線でのAUCは0.78と高値であり、診断の有用なマーカーであることが明らかとなった。先行研究で、HICではCXCR3陽性形質細胞を中心とした高度な炎症細胞浸潤が見られるのに対し、NHICでは炎症所見が殆どないことが明らかとなっている。CXCL10はこのCXCR3のリガンドであり、本研究で認められたHIC症例における尿中CXCL10上昇は、先行研究で報告したHIC患者の膀胱上皮へのCXCR3陽性細胞浸潤に対応すると考えられる。

尿中CXCL10値とNGF値は、HICとNHICの比較では相反する結果であった。即ち、NGFはHIC、NHICともに上昇していたのに対し、CXCL10はHICのみで上昇していた。その結果、この2つを組み合わせることでHICとNHICの鑑別の精度がより高まった。NGFとCXCL10がHICとNHICでは相反する所見は、病態を反映したものとも考えられる。即ち、異常な尿意亢進、疼痛および頻尿はHICとNHICに共通する過知覚症状であり、NGFの両者における上昇はこの知覚神経の過敏性を反映したものと考えられる。一方で炎症はHICのみで観察され、CXCL10の上昇がHICに限られたことと呼応する。HICは炎症性疼痛、NHICは非炎症性の神経障害性疼痛が膀胱痛の原因と推察される。

尿中CXCL10は、これまで侵襲的な検査でしか診断できなかったHICを非侵襲的に診断する有用なツールとなりうることを示唆され、更に自覚症状とも良好に相関し、治療に連動し尿中濃度も変化していた。本研究は尿中CXCL10が診断および病勢の評価に有用なマーカーとなり得ることを示した初の報告である。

【結論】

本研究では、まずHICに類似した動物モデルの作成を試みたが、急性炎症は誘導できたものの慢性炎症モデルを作成することは困難であった。次いで、これまでの報告で最大規模での症例数を用いて、HICでは膀胱痛に加えて頻尿が特徴的で、膀胱水圧拡張術とハンナ病変焼灼術との併用で早期から症状の改善がみられることを明示した。更に、非侵襲的なバイオマーカーを求めて尿中物質の解析を行い、尿中CXCL10がHICの診断と治療反応性を評価する指標となりうることを見出した。