

令和 6 年 6 月 13 日現在

機関番号：24701

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06822

研究課題名（和文）微細血管系としての海綿体の恒常性と異常に関する包括的解析

研究課題名（英文）Analyses on the penile erectile system as the micro-vasculature

研究代表者

山田 源（Yamada, Gen）

和歌山県立医科大学・医学部・特別研究員

研究者番号：80174712

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）：申請者は、海綿体血管洞シヌソイドの機能と病態解明のために培養系を樹立し、収縮/弛緩過程を解析した（Front Cell Dev Bio 2022）。海綿体の収縮/弛緩過程について血液の流入/流出解析系を樹立し（RMB 2024）、持続勃起症マウスも発表し（RMB 2022）血液の排出異常を示した。さらにシヌソイドのリンパ系マーカーLyve1発現を報告した。鳥類ではリンパ液による勃起制御が知られる。この知見は体液による勃起制御の観点から興味深い。また陰茎癌においては会陰部リンパ節転移が、予後に重要である。この様にリンパ系因子発現の意義は、さらに解析が重要と考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

海綿体は、微細な洞様血管（シヌソイド）を含み、血液の充満により弛緩/収縮を行い勃起・非勃起状態に対応した種々のストレス及び損傷を受けると推察されるが、その詳細は未解明である。海綿体は、加齢や糖尿病等によって内皮、平滑筋、血管周辺細胞等が障害され、その疾患の勃起機能障害（ED）は、高齢化した日本に高頻度である。海綿体の恒常性維持、再生機構の解明は、男性ホルモンによる内分泌学、血管内皮・平滑筋等の組織形成、加齢、男性医学等の医科学的視点で重要である。今回の海綿体微細血管系に対する解析結果は、申請者による独自の解析系によるものであり今後の海綿体疾患解明に大きく寄与すると期待される。

研究成果の概要（英文）：The applicant established a culture system to elucidate the function and pathology of the vascular sinusoids of the corpus cavernosum, and analyzed its contraction/relaxation (Front Cell Dev Bio 2022). Furthermore, we established a system to analyze the inflow/outflow of blood in the lumen during the contraction/relaxation process of the corpus cavernosum, and visualized the process of blood drainage from the vascular sinus (RMB 2024). We found the mice with priapism (RMB 2022) and the above visualization showed that abnormal blood drainage as the cause of persistent erection. We also reported the vascular sinus expresses the lymphatic marker Lyve1. It is known that erections are caused by lymphatic fluids in birds. The findings are interesting from the perspective of erectile control by body fluids. In addition, in penile cancer, metastasis to the perineal lymph nodes is important for prognosis. Thus it is important to further analyze the significance of lymphatic marker expression.

研究分野：生殖医学

キーワード：陰茎 海綿体 勃起 ED 血管 持続勃起 可視化 リンパ管

## 1. 研究開始当初の背景

陰茎の大部分を占める海綿体は、微細な洞様血管(シヌソイド)を含み、血液の充満により弛緩/収縮を行って勃起・非勃起状態に対応したストレス及び損傷を受けると推察されるが、その詳細は未解明である。

海綿体は、加齢や糖尿病等によって内皮、平滑筋、血管周辺細胞等が障害され、主要疾患の勃起機能障害(ED)は、高齢化した日本に高頻度であり重要な基礎臨床課題を多く含んでいる。しかしながら、これまでの電気生理学的実験などでは陰茎内圧 ICP 測定や in vivo モデルを主体とする勃起時間の計測などの比較的限定した研究モデルしか存在しなかった。

## 2. 研究の目的

本研究では、申請者が樹立した海綿体シヌソイドの収縮/弛緩モデルを応用して血液貯留の制御機構やストレスを受ける海綿体を解析する。その結果海綿体-間葉細胞に対する NO 系を含むアンドロゲン(男性ホルモン) Wnt 信号系の解析も行う。

海綿体の勃起について生理学的実験などにより解析されていたが、単離したマウス組織片(explant)でタイムラプス撮影を行う系を樹立して各種外部因子(PE:フェニルレフリン、NO ドナー等)に加えて多数因子で誘導性の収縮/弛緩反応を解析する。さらに収縮/弛緩に関わる因子、薬剤を組み合わせる実験系を進展させ、in vitro で収縮/弛緩が観察できる“人工的勃起システム”を樹立し報告する。

このような研究推進によって ED(勃起不全)の革新的治療への応用を目指す。

## 3. 研究の方法

海綿体の勃起については生理学的実験などにより主として解析されていたが、単離した組織片(explant)でタイムラプス撮影を行う系を樹立した。この系で外部因子(PE:フェニルレフリン、NO ドナー等多数)で誘導性の収縮/弛緩反応が解析可能となった。

今回の系を活かして勃起持続時間に作用する因子を探索する。持続時間は、シヌソイド(内皮、平滑筋)のアンドロゲン応答を介して制御されるか、去勢による影響についての解析を行う。

さらに持続勃起症に注目し、独自に確立した発症マウスの原因遺伝子を 2022 年に報告した。シヌソイドからの血液の排出過程(勃起の弛緩時に対応)の解析系が存在しない情勢であるので、はじめに樹立し解析する。

正常マウス陰茎血流を遮断し蛍光標識デキストランを注入して結索(ligation model)人工的に勃起させるモデルにより血液貯留-排出状態を解析する。勃起持続マウス海綿体に於いて血液貯留状態を解析する。

組織からの体液リンパ液の排出には、一般的にリンパ管系が深く関与すると脈管系で知られている。実際眼球においての房水の排出と眼圧の制御に関わるシュレム管は、興味あることにリンパ系の Lyve1 を発現する。

排出機構研究の一端として、リンパ系マーカー発現やその挙動を解析する。リンパ系マーカーは、生殖組織での感染や衛生状態にも関係するので、それらについても調べる。

#### 4. 研究成果

申請者は、血管洞シヌソイドの機能と病態解明のために in vitro の培養系を樹立し、海綿体の収縮/弛緩過程を解析する事に成功した (Front Cell Dev Bio. 2022)。樹立した培養系を生かし、Wnt 信号系が、海綿体シヌソイド形成に重要であることを発見した。

未分化間葉細胞が、さらに転写因子 Sox9 を発現することも見出した。よって Sox9 陽性細胞において Sox9 Cre ドライバーマウスを駆使して、条件的に Wnt 信号系を亢進または低下操作するマウスモデルの解析から、海綿体間葉での Wnt 系の重要性を初めて証明した (Cong Anom. 2022)。

このことにより間葉細胞の操作や状況によって投与する観点から、今後の陰茎における各種疾患 (小陰茎、ED 等) に対して、未分化細胞 (MSC など) の応用に向けて重要な知見を提供できた。

さらに海綿体の収縮/弛緩過程について、内腔の流体(血液)の流入/流出解析を可能にする蛍光可視化モニター実験系を樹立し、樹立した器官培養系を生かし、シヌソイドからの血液の排出過程(勃起の弛緩時に対応)を初めて可視化した (RMB 2024)。

持続勃起症マウスも発表し (RMB 2022) 可視化によってシヌソイドからの血液排出異常が、持続勃起の要因である事を示した。

加えてシヌソイドが、リンパ系マーカー Lyve1 を発現することを報告した (RMB 2024)。鳥類のリンパ液による勃起制御が、半世紀ほど以前から知られるがこれまで注目されていなかった。今回の知見は、体液(リンパ液)による原理的な交接勃起制御の観点から興味深いと考えられる。

またヒト陰茎癌においては陰茎から会陰部リンパ節への転移が、その予後に重要とされる。さらに陰茎では交尾時の異物 (感染源) との接触や感染症 (STD) が頻発する器官である。

今回見出した Lyve1 発現は、興味あることに実験にて感染状態をマウスで再現する LPS 投与で亢進するので、今後このような感染時での機能についても解析が必要である。今回の生物種間のリンパ系による勃起制御から ヒト病態における癌転移制御まで、リンパ系マーカー発現の意義は、さらなる解析が重要と考えられた。

以上のように海綿体微細血管系に対する解析を順調に推進した。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 7件／うちオープンアクセス 11件）

1. 著者名 Fujimoto Kota, Hashimoto Daiki, Kashimada Kenichi, Kumegawa Shinji, Ueda Yuko, Hyuga Taiju, Hirashima Tsuyoshi, Inoue Norimitsu, Suzuki Kentaro, Hara Isao, Asamura Shinichi, Yamada Gen	4. 巻 10
2. 論文標題 A visualization system for erectile vascular dynamics	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Cell and Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcell.2022.1000342	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Hashimoto Daiki, Fujimoto Kota, Morioka Shin, Ayabe Shinya, Kataoka Tomoya, Fukumura Ryutaro, Ueda Yuko, Kajimoto Mizuki, Hyuga Taiju, Suzuki Kentaro, Hara Isao, Asamura Shinichi, Wakana Shigeharu, Yoshiki Atsushi, Gondo Yoichi, Tamura Masaru, Sasaki Takehiko, Yamada Gen	4. 巻 21
2. 論文標題 Establishment of mouse line showing inducible priapism like phenotypes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rmb2.12472	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Alcantara Mellissa C., Suzuki Kentaro, Acebedo Alvin R., Kajioka Daiki, Hirohata Satoshi, Kaisho Tsuneyasu, Hatano Yu, Yamagata Kazuo, Takahashi Satoru, Yamada Gen	4. 巻 25
2. 論文標題 Androgen-regulated MafB drives cell migration via MMP11-dependent extracellular matrix remodeling in mice	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 105609 ~ 105609
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.isci.2022.105609	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する
1. 著者名 Ogino Yukiko et al Yamada Gen ( last から3番目)、Baker Michael E., Iguchi Taisen	4. 巻 14
2. 論文標題 Evolutionary differentiation of androgen receptor is responsible for sexual characteristic development in a teleost fish	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-023-37026-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Marianna Rita Stancampiano, Kentaro Suzuki, Stuart O' Toole, Gianni Russo, Gen Yamada, Syed Faisal Ahmed	4. 巻 6(2)
2. 論文標題 Congenital Micropenis: Etiology And Management	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J Endocr Soc.	6. 最初と最後の頁 1-16
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1210/jendso/bvab172	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kumegawa Shinji, Yamada Gen, Hashimoto Daiki, Hirashima Tsuyoshi, Kajimoto Mizuki, Isono Kyoichi, Fujimoto Kota, Suzuki Kentaro, Uemura Kazuhisa, Ema Masatsugu, Asamura Shinichi	4. 巻 23
2. 論文標題 Development of Surgical and Visualization Procedures to Analyze Vasculatures by Mouse Tail Edema Model	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biological Procedures Online	6. 最初と最後の頁 760
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12575-021-00159-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mellissa C Alcantara, Kentaro Suzuki, Alvin R Acebedo, Yuki Sakamoto, Michiru Nishita, Yasuhiro Minami, Akira Kikuchi, Gen Yamada	4. 巻 61(6)
2. 論文標題 Stage-dependent function of Wnt5a during male external genitalia development	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Congenit Anom	6. 最初と最後の頁 212-219
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cga.12438	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Mizuki Kajimoto, Kentaro Suzuki, Yuko Ueda, Kota Fujimoto, Toru Takeo, Naomi Nakagata, Taiju Hyuga, Kyoichi Isono, Gen Yamada	4. 巻 62(3)
2. 論文標題 Androgen/Wnt/ -catenin signal axis augments cell proliferation of the mouse erectile tissue, corpus cavernosum	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Congenit Anom	6. 最初と最後の頁 123-133
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/cga.12465	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yuko Ueda, Kentaro Suzuki, Mizuki Kajimoto, Kota Fujimoto, Mala Mahendroo, Masatsugu Ema, Gen Yamada, Isao Hara	4. 巻 in press
2. 論文標題 Possible testosterone redundancy for 5 $\alpha$ -dihydrotestosterone in the masculinization of mouse external genitalia.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Exp Animals	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 該当する

1. 著者名 Hyuga Taiju, Fujimoto Kota, Hashimoto Daiki, Tanabe Kazuya, Kubo Taro, Nakamura Shigeru, Ueda Yuko, Fujita-Jimbo Eriko, Muramatsu Kazuhiro, Suzuki Kentaro, Osaka Hitoshi, Asamura Shinichi, Moriya Kimihiko, Nakai Hideo, Yamada Gen	4. 巻 13
2. 論文標題 Wound healing responses of urinary extravasation after urethral injury	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-023-37610-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hashimoto Daiki, Fujimoto Kota, Kim Sang Woon, Lee Yong Seung, Nakata Masanori, Suzuki Kentaro, Wada Yoshitaka, Asamura Shinichi, Yamada Gen	4. 巻 22
2. 論文標題 Emerging structural and pathological analyses on the erectile organ, corpus cavernos containing sinusoids	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rmb2.12539	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Fujimoto Kota, Hashimoto Daiki, Kim Sang Woon, Lee Yong Seung, Suzuki Takuya, Nakata Masanori, Kumegawa Shinji, Asamura Shinichi, Yamada Gen	4. 巻 23
2. 論文標題 Novel erectile analyses revealed augmentable penile Lyve 1, the lymphatic marker, expression	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rmb2.12570	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山田源
2. 発表標題 外生殖器形成の謎；モデル動物研究のフロントライン
3. 学会等名 先天異常学会（招待講演）
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<a href="https://www.researchgate.net/profile/Gen-Yamada">https://www.researchgate.net/profile/Gen-Yamada</a>
---

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
---------	---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------