

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 12 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791475

研究課題名（和文）ヒト末梢血 CD133 陽性細胞移植とアルギン酸シートによる新たな陰茎海綿体神経再生

研究課題名（英文）Regeneration of cavernous nerve after transplantation of CD 133⁺ cells derived from human peripheral blood and placement of biodegradable gel sponge sheet.

研究代表者

井上 省吾（SHOGO INOUE）

広島大学・病院・病院助教

研究者番号：90457177

研究成果の概要（和文）：前立腺全摘除術における神経合併切除後の神経再生を目的として、ヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞をヌードラット陰茎海綿体神経欠損モデルに移植し、神経再生の効果を検討した。骨盤神経叢を電気刺激した後に、陰茎海綿体内圧と平均動脈圧を同時測定し、陰茎海綿体内圧/平均動脈圧比を算出し機能的評価とした。神経切除群に比較してアルギン酸ゲルシートを貼付した群は有意な改善を認めなかったが($p=0.74$)、貼付したシートに CD133 陽性細胞を移植した群は有意な改善を認めた($p=0.01$)。

研究成果の概要（英文）：The aim of this study was to develop an easier nerve-regenerating technique without sutures by applying an alginate gel sponge sheet and investigate acceleration of axonal regeneration induced by the transplantation of the human peripheral blood-derived CD133⁺ cells into a rat cavernous nerve defect model. The intracavernous pressure (ICP) response elicited by elemental stimulation of the major pelvic ganglion (MPG) was evaluated. The MPG was exposed, and a needle was into the corpus cavernosum and the femoral artery, respectively, to monitor the ICP and mean arterial pressure (MAP). There is no significant difference in ICP/MAP ratio between the alginate sheet group and the cavernous nerve dissection group ($p=0.74$). In contrast, ICP/MAP ratio is significantly higher in the CD133⁺ cells transplantation group than the cavernous nerve dissection group ($p=0.01$).

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,700,000	810,000	3,510,000
2011 年度	500,000	150,000	650,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：神経再生

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

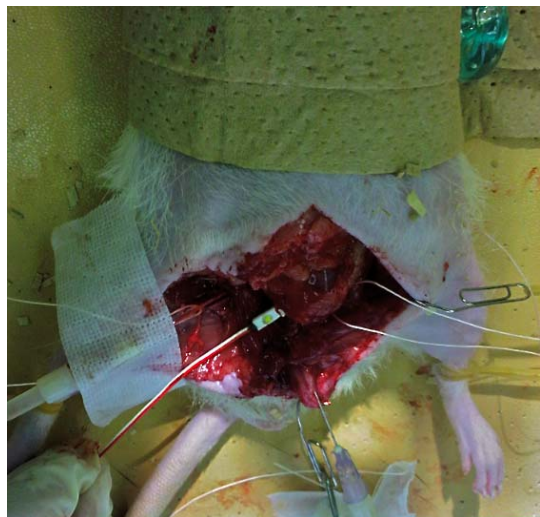
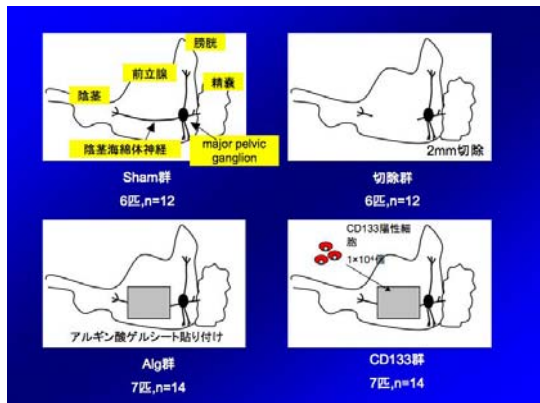
キーワード：前立腺癌・神経再生・陰茎海綿体神経・アルギン酸ゲルシート・CD133 陽性細胞

1. 研究開始当初の背景
前立腺全摘除術は限局性前立腺癌における

最も有効な治療法の 1 つであるが、術後の勃起機能不全などの課題も多い。

2. 研究の目的

本研究では、前立腺全摘除術における神経合併切除後の神経再生を目的として、ヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞をヌードラット陰茎海綿体神経欠損モデルに移植し、神経再生の効果を検討した。



3. 研究の方法

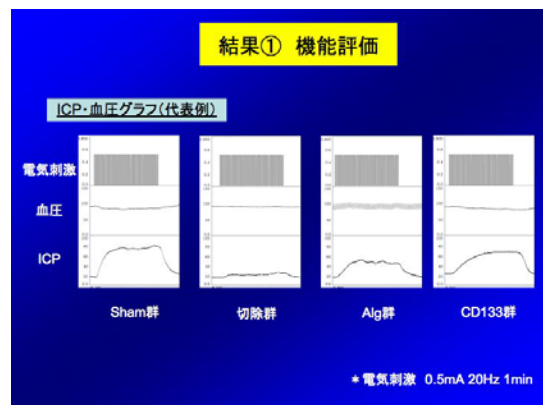
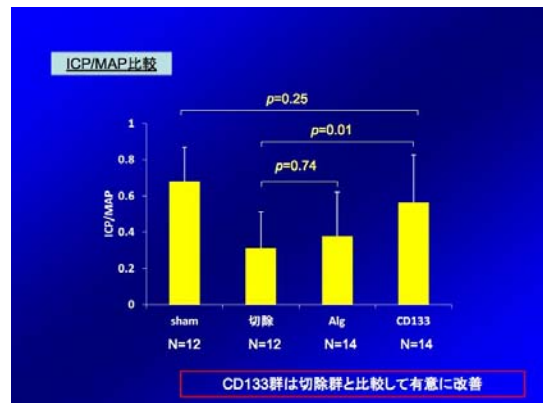
ラットの下腹部を切開し陰茎海綿体を露出し、神経を 2mm 切除したのみの群(切除群)、切除部位にアルギン酸ゲルシートを貼付した群 (Alg 群)、貼付したシートに CD133 陽性細胞を移植した群 (CD133 群)、sham 群

の 4 群に分けて解析した。12 週後に切除部位より中枢側の骨盤神経叢を電気刺激した後に、陰茎海綿体内圧(ICP)と平均動脈圧(MAP)を同時測定し、陰茎海綿体内圧/平均動脈圧比(ICP/MAP)を算出し機能的評価とした。

また HE 染色にて形態評価を施行し、神経の比較のため neuronal nitric oxide synthase (nNOS)で Alg 群と CD133 群について染色し陽性面積を比較し、血管の比較のため von Willebrand factor (vWF)で Alg 群と CD133 群について染色し、アルギン酸ゲルシート内に認める血管の最大径を比較した。なお、神経再生の機序を解明するため、CD133 群で細胞分化を観察し、ヒト特異的抗核抗体として human nuclear antigen(HNA)、血管内皮マーカーとして vWF、神経マーカーとして S100、核染色に DAPI をそれぞれ用いて染色した。

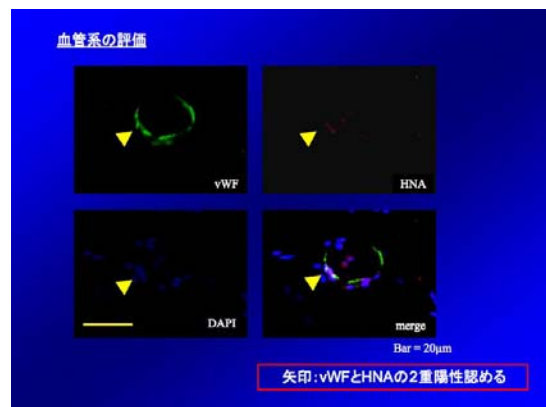
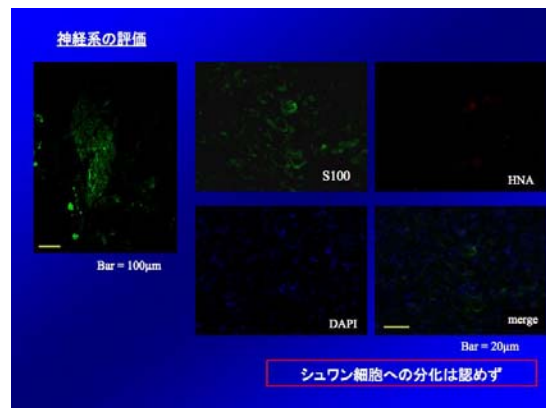
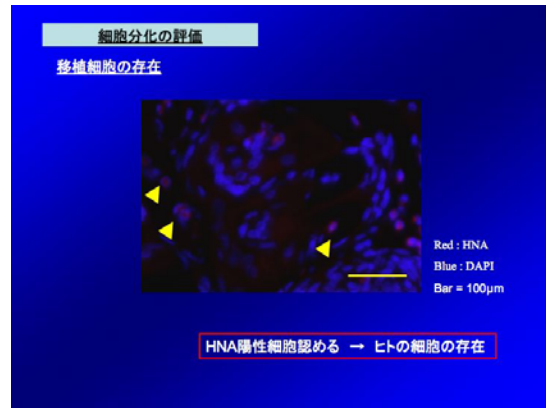
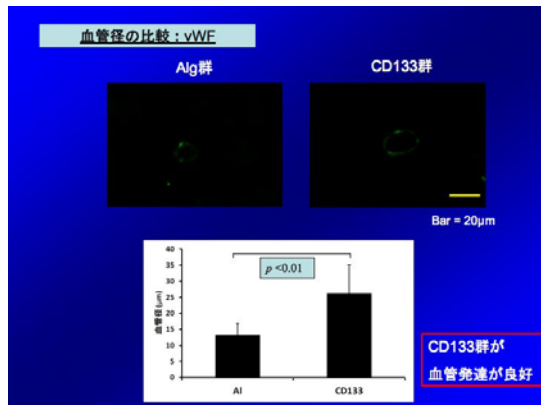
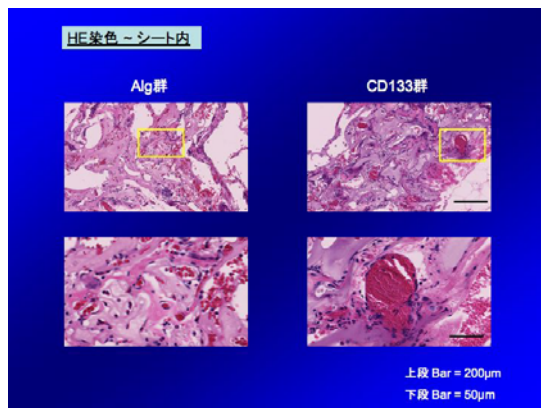
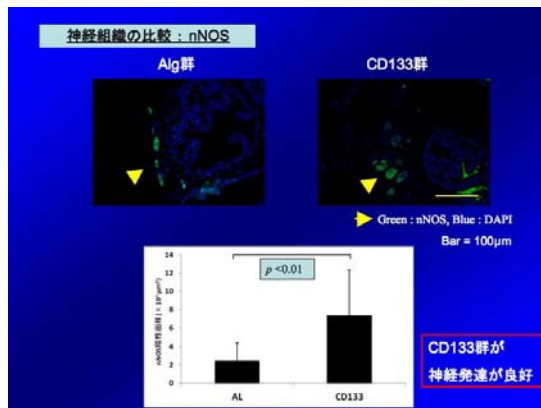
4. 研究成果

切除群に比較して Alg 群は有意な改善を認めなかったが(p=0.74)、CD133 群は有意な改善を認めた(p=0.01)。



測定後、前立腺を摘出して組織学的評価を施行した。HE 染色では Alg 群および CD133 群において前立腺外側に神経様の組織を認めた。ヒト特異的マーカーである HNA と血管内皮マーカーの vWF または神経マーカーの S100 と二重染色を行い蛍光顕微鏡で観察した。HNA

と vWF は二重陽性細胞を認めたが、S100 陽性細胞は認めず、移植細胞は血管へ分化することで神経再生を促進させていると考えられた。



以上の結果より、陰茎海綿体神経損傷においてヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞移植は、神経再生に有効な治療法になる可能性がある。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 2 件)

1. 宮本克利, 井上省吾, 池田健一郎, 稗田圭介, 正路晃一, 小林加直, 梶原 充, 亭島 淳, 松原昭郎. ヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞を用いたラット陰茎海綿体神経の再生. 第9回泌尿器科再建再生研究会. 2012年6月16日.

大分県由布市.

2. 宮本克利, 柴田昌紀, 池田健一郎, 稗田圭介, 正路晃一, 増本弘史, 井上省吾, 小林加直, 林 哲太郎, 梶原 充, 亭島 淳, 松原昭郎. ヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞を用いたラット陰茎海綿体神経の再生. 第 100 回日本泌尿器科学会総会. 2012 年 4 月 23 日. 神奈川県横浜市.

[その他]

ホームページ等

<http://home.hiroshima-u.ac.jp/urology/11-kenkyu.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

井上 省吾 (SHOGO INOUE)
広島大学・病院・病院助教
研究者番号 : 90457177

(2) 研究分担者

()

研究者番号 :

(3) 連携研究者

()

研究者番号 :