

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 10 日現在

機関番号：15401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25861426

研究課題名(和文) ヒト末梢血CD133陽性細胞移植を用いた新たな勃起不全治療アプローチの開発

研究課題名(英文) Regeneration of rat corpus cavernosa tissue after transplantation of CD 133+ cells derived from human bone marrow and placement of biodegradable gel sponge sheet.

研究代表者

井上 省吾 (INOUE, SHOGO)

広島大学・大学病院・病院助教

研究者番号：90457177

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：重症勃起不全患者への治療応用を目的に、ヒト骨髄由来CD133陽性細胞移植による陰茎海綿体組織の再生効果を検討した。ヌードラットの片側陰茎海綿体を切除し、切除群、アルギン酸ゲルシート貼付群(シート群)、貼付シートにCD133陽性細胞を移植した群(CD133群)、sham手術(対照)群を設定した。各群で陰茎海綿体内圧/平均動脈圧を測定し、CD133群(p=0.02)および対照群(p=0.03)で切除群と比較し有意に高値であった。CD133群では対照群と同等の血管および神経再生を認め、さらにCD133群はシート群と比較して、有意にVEGF(p<0.01)、NGF(p=0.03)の発現を認めた。

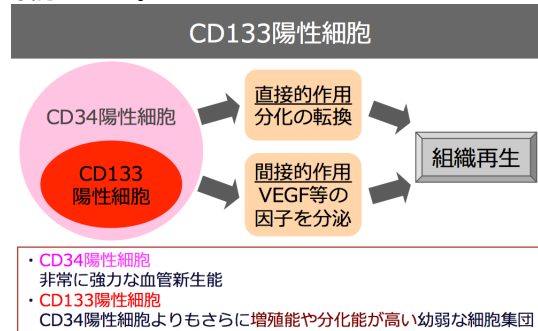
研究成果の概要(英文)：Our objective is to develop an easier regenerating technique of corpus cavernosa through transplanting human bone-marrow-derived CD133+ cells. The right corpus cavernosa of nude rats were excised. Alginate gel sheets supplemented with 1×10^4 CD133+ cells derived from human bone marrow were then placed over the gaps on both sides (CD group). The same experiments were conducted on sham-operated rats, rats with only corpus cavernosa excision (EX group), and rats with alginate gel sheet placed on the injured corpus cavernosa (AL group). The mean intracavernous pressure/mean arterial pressure of the CD group was significantly higher than that of the EX group. Immunohistochemical analysis revealed venous structures and neuron tissues were regenerated in the CD group. Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction helped in determining the amounts of mRNA for rat nerve growth factor and rat vascular endothelial growth factor to be significantly higher than those in the AL group.

研究分野：再生医学

キーワード：勃起不全 陰茎再生 CD133陽性細胞 アルギン酸ゲルシート

1. 研究開始当初の背景

勃起不全 (erectile dysfunction; ED) 患者は急激に増加しており、有効な治療がないため再生医療による新たな治療が期待されている。CD133 陽性細胞は従来用いられていた CD34 陽性細胞よりもさらに増殖能や分化能が高く幼弱な細胞集団であり、神経再生や血管再生に対して非常に重要な役割を持つ。神経や血管の再生における分化転換による直接的な作用だけでなく、血管内皮増殖因子 (Vascular endothelial growth factor; VEGF) や神経成長因子 (Neural growth factor; NGF) を分泌する間接的な作用により再生を促進し、より強力な神経・血管再生が可能となる。

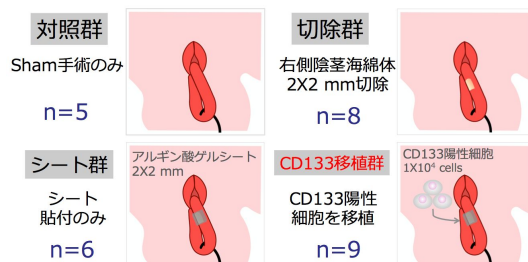


2. 研究の目的

本研究では、薬剤抵抗性重症 ED への治療応用を目指し、ヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞移植による陰茎海綿体組織の再生効果を機能的、組織学的に評価し、その再生機序について検討した。

3. 研究の方法

・実験動物 8週齢 オス ヌードラット (BW 210-250g)



8 週齢雄ヌードラットの片側陰茎白膜 (2X2 mm) を陰茎海綿体と併せて切除、陰茎海綿体損傷モデルを作成し、切除したのみの群 (切除群、n=8) 切除部位に足場としてアルギン酸ゲルシートを貼付した群 (シート群、n=6)、貼付したシートにヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞を移植した群 (CD133 移植群、n=9) および sham 手術を施行した群 (対照群、n=5) を設定した。

各群において、12 週後に major pelvic ganglion の電気刺激下に陰茎海綿体内圧 (intracavernous pressure; ICP) / 平均動脈圧 (mean arterial pressure; MAP) 比を測定し、陰茎海綿体再生の程度を機能的に評価した。組織再生評価目的に HE 染色および血管新生評価のため SMA、神経再生評価の

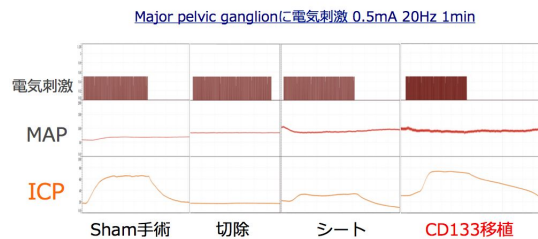
ため S100 による免疫染色をそれぞれ施行した。そして、再生機序の解明のため、CD133 群および Alg 群においてアルギン酸ゲルシートを 4 日目に摘出、定量リアルタイム PCR 法によりラット由来 VEGF および NGF を測定した。

4. 研究成果

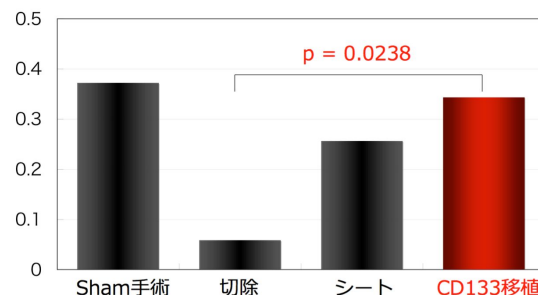
(1) 機能的評価

ICP/MAP の平均値は、切除群が 0.0580 ± 0.0831 、シート群が 0.25640 ± 0.0960 、CD133 群が 0.34258 ± 0.0831 、対照群が 0.37228 ± 0.1051 であった。シート群の ICP/MAP は切除群と比較して有意な改善を認めなかったが ($p=0.1318$)、CD133 移植群および対照群の ICP/MAP は切除群と比較して有意に高く (CD133 移植群 $p=0.0238$ 、対照群 $p=0.0280$)、CD133 陽性細胞移植による機能的再生効果を認めた。

機能評価 - 各群代表例 -

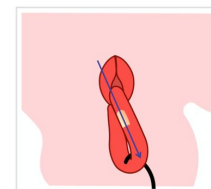


結果 - ICP/MAP -



陰茎組織再生の評価方法

- ・対象
 - Sham手術
 - 切除
 - シート
 - CD133移植
- ・方法
 - H.E.
 - αSMA 血管内皮再生
 - S100 神経再生

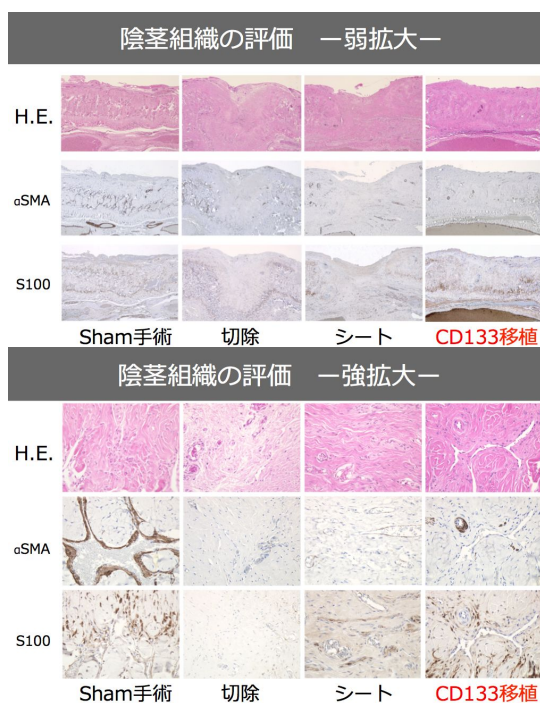


陰茎長軸方向に組織再生を評価

(2) 組織学的評価

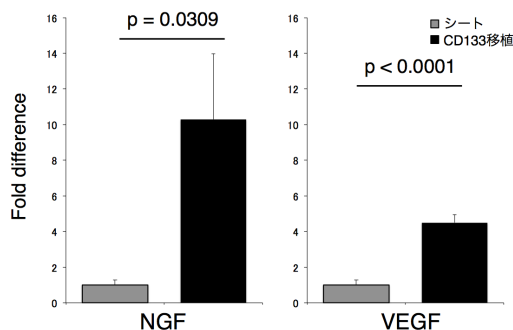
切除群およびシート群においては切除組織に血管新生や神経再生など陰茎海綿体組織

の再生を認めなかったが、CD133 移植群では対照群と同等の血管および神経再生を認めた。



(3)再生機序の解明

CD133 移植群はシート群と比較して、有意に VEGF ($p < 0.001$) および NGF ($p = 0.031$) を発現しており、ラット由来内因性 growth factor の upregulation を認めた。



これらの結果から CD133 移植陽性細胞移植による陰茎海綿体組織再生は、陰茎海綿体の再生手段として新たな選択肢になりうることを示した。

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 1 件)

1. Miyamoto K, Inoue S, Kobayashi K, Kajiwara M, Teishima J, Matsubara A. Rat cavernous nerve reconstruction with CD133⁺ cells derived from human bone marrow. J Sex Med. 2014; 11: 1148-58. doi: 10.1111/jsm.12485.

〔学会発表〕(計 8 件)

1. Inoue S, Miyamoto K, Shinmei S, Shoji K, Hayashi T, Kajiwara M, Teishima J, Matsubara A. Regeneration of rat corpus cavernosa tissue after transplantation of CD 133⁺ cells derived from human bone marrow and placement of biodegradable gel sponge sheet, AUA 2015 annual meeting, 15-19 May 2015, New Orleans USA

2. Inoue S, Miyamoto K, Goriki A, Shinmei S, Shoji K, Hayashi T, Kajiwara M, Teishima J, Matsubara A. Regeneration of rat corpus cavernosa tissue after transplantation of CD 133⁺ cells derived from human bone marrow and placement of biodegradable gel sponge sheet, 30th Annual EAU Congress, 20-24 March 2015, Madrid Spain

3. 井上省吾, 宮本克利, 松原昭郎. ヒト末梢血 CD133 陽性細胞移植による新たな陰茎海綿体神経再生-前立腺全摘除術後における勃起不全治療への応用-第 30 回前立腺癌シンポジウム, 2014 年 12 月 14 日, 東京都

4. 井上省吾, 馬場崎隆志, 小島浩平, 重松慶紀, 関野陽平, 北野弘之, 永松弘孝, 稗田圭介, 正路晃一, 梶原 充, 亭島 淳, 松原昭郎. アドバンスセミナー: 勃起障害治療への新テクノロジーの応用 低強度体外衝撃波 (ED1000) による ED 治療の初期経験, 日本性機能学会第 25 回学術総会, 2014 年 9 月 6 日, 宮城県仙台市

5. 井上省吾, 馬場崎隆志, 小島浩平, 重松慶紀, 関野陽平, 北野弘之, 永松弘孝, 稗田圭介, 正路晃一, 梶原 充, 亭島 淳, 松原昭郎. ヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞移植によるラット陰茎再生. 日本性機能学会第 25 回学術総会, 2014 年 9 月 6 日, 宮城県仙台市

6. 井上省吾, 宮本克利, 北野弘之, 永松弘孝, 稗田圭介, 正路晃一, 梶原 充, 亭島 淳, 松原昭郎. ヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞移植によるラット陰茎再生. 第 11 回泌尿器科再建再生研究会, 2014 年 7 月 5 日, 青森県青森市

7. 井上省吾. ED 治療について, 第 155 回日本泌尿器科学会広島地方会, 2014 年 6 月 21 日, 広島県広島市

8. 井上省吾, 宮本克利, 藤井照護, 西田健介, 北野弘之, 稗田圭介, 正路晃一, 大原慎也, 小林加直, 梶原 充, 亭島 淳, 松原昭郎. ヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞移植によるラット陰茎再生の試み, 第 102 回日本泌尿器科学会総会, 2014 年 4 月 25 日, 兵庫県神戸市

〔その他〕

ホームページ

<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