

令和 元年 5 月 30 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K11052

研究課題名(和文) 海綿体神経損傷モデルに対する急性期骨髄幹細胞移植の有効性～勃起機能は回復するか～

研究課題名(英文) Intravenous infusion of mesenchymal stem cells reduces erectile dysfunction following cavernous nerve injury in rats

研究代表者

松田 洋平 (MATSUDA, YOHEI)

札幌医科大学・医学部・研究員

研究者番号：30740071

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：前立腺全摘除術後の勃起障害を想定した陰茎海綿体神経電気損傷ラットモデルを作製した。神経損傷3時間後に骨髄幹細胞もしくは培養液をラットに投与した。投与4週後に勃起機能を陰茎海綿体内圧で評価した。骨髄幹細胞投与群は培養液投与群と比較して勃起機能が良好であった。また、生理学的評価に加えて病理組織学的に両者の違いを比較し、いずれも骨髄幹細胞投与群で良好な結果であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在、前立腺全摘除術後の勃起障害に対する治療は限定的で効果は不十分である。本研究では陰茎海綿体神経電気損傷ラットモデルに対して間葉系骨髄幹細胞を移植し、勃起機能の温存・回復を生理学的・病理学的に確認することができた。本研究結果より骨髄幹細胞移植は前立腺全摘除術後の勃起障害に対する新規治療となり得ることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Rats were randomized into two groups after electric CN injury. Intravenous infusion of mesenchymal stem cells (MSCs) or vehicle was performed three hours after electric CN injury. To assess erectile function, we measured the intracavernous pressure (ICP) at 4 weeks after MSC or vehicle infusion. Histological examinations were performed to investigate neuronal innervation and inhibition of smooth muscle atrophy. To investigate mRNA expression levels of neurotrophins in the major pelvic ganglia (MPG), real-time PCR was carried out. The reduction of ICP in the MSC group was significantly lower than in the vehicle group four weeks after infusions. The smooth muscle to collagen ratio in the MSC group was significantly higher than that in the vehicle group. GFP-MSCs were detected in the MPG and injured CN indicating homing of the cells to the MPG and injured CNS. BDNF and GDNF had expression levels in MPG significantly higher in the MSC group than in the vehicle group.

研究分野：性機能

キーワード：勃起障害 骨髄幹細胞 電気損傷モデル 陰茎海綿体神経 移植

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

前立腺全摘除術後の勃起障害は QOL の低下をきたす重大な合併症の一つである。術後の勃起機能を保持する目的に神経血管束の温存、PDE5 阻害薬による陰茎リハビリテーションが経験的に行われているが効果は不十分であり、本邦では毎年 1 万人の術後勃起障害患者が発生している。

2. 研究の目的

我々はこれまでに陰茎海綿体神経挫滅ラットモデルに対して神経損傷前に間葉系骨髄幹細胞 (MSC) を静脈投与することで勃起能低下を防ぐことを報告してきた。本研究では神経損傷レベルを強く、より臨床像に近い陰茎海綿体神経電気損傷ラットモデルを作製し、神経損傷後 MSC 静脈内投与の勃起機能に対する効果を検討した。

3. 研究の方法

(1) 陰茎海綿体神経電気損傷モデルの作成

8 週齢の雄性 SD ラットに対し、麻酔下にて下腹部正中切開を置き、両側陰茎海綿体神経を露出した後にバイポーラにて 0.5 秒間の電気凝固を加える。

(2) MSC 投与

神経損傷 3 時間後に MSC 投与群に MSC (1.0×10^6 個) を、対象群に培養液 (DMEM) を経静脈的に投与する。

(3) 勃起機能の評価

神経損傷 4 週後に麻酔下にて陰茎海綿体神経に電気刺激を与え、陰茎海綿体内圧 (ICP) を圧モニターで測定する。ICP は動脈圧 (AP) に依存するため、ICP を AP で割った値 (ICP/AP) を用いて勃起機能の評価を行う。

(4) 組織学的解析

a. フルオロゴールド (FG) ラベル法

神経損傷 3 週後に神経逆行性トレーサーである FG を陰茎海綿体に注入する。神経損傷 4 週後に骨盤神経節の FG 陽性細胞数をカウントし、陰茎海綿体神経の活動性を評価する。

b. 陰茎海綿体の smooth muscle-collagen 比

神経損傷 4 週後に陰茎を摘出する。摘出した陰茎を $12\mu\text{m}$ に薄切し、マッソントリクローム染色を加える。smooth muscle-collagen 比を用いて陰茎海綿体の線維化を評価する。

c. MSC の陰茎海綿体神経、骨盤神経節の homing の評価

GFP 遺伝子発現 MSC を経静脈投与し、48 時間後に陰茎海綿体神経、骨盤神経節を摘出する。摘出した陰茎海綿体神経、骨盤神経節に GFP 免疫染色を加えて MSC の homing を評価する。

(5) 神経栄養因子の発現

神経損傷 24 時間後に骨盤神経節を摘出する。骨盤神経節における神経栄養因子 (BDNF、GDNF) を real-time PCR 法にて評価する

4 . 研究成果

陰茎海綿体神経損傷 4 週後の ICP/AP は MSC 投与群において有意に高値(Fig.1)であり、MSC による勃起機能の保護が確認された。また骨盤神経節の FG 陽性細胞数、陰茎海綿体における smooth muscle-collagen 比(Fig.2)、神経栄養因子の発現(Fig.3)は MSC 投与群で有意に高値であった。また、陰茎海綿体神経、骨盤神経節にて MSC の homing(Fig.4)が確認された。陰茎海綿体電気損傷モデルに対する MSC 投与が勃起機能の保護に寄与することが確認され、MSC 投与が前立腺全摘除術後の勃起障害に対する新規治療となり得ることが示唆された。

Figure 1 ICP/AP

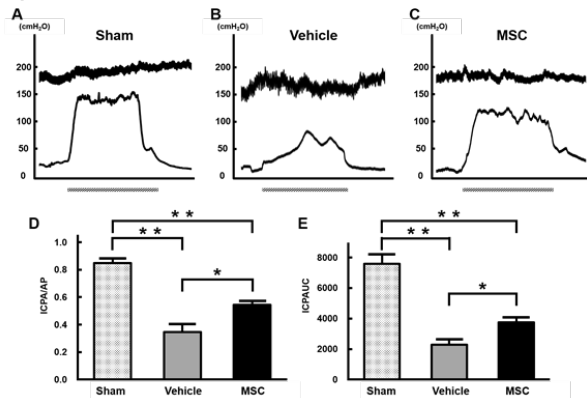


Fig. 2 Smooth muscle to collagen ratio

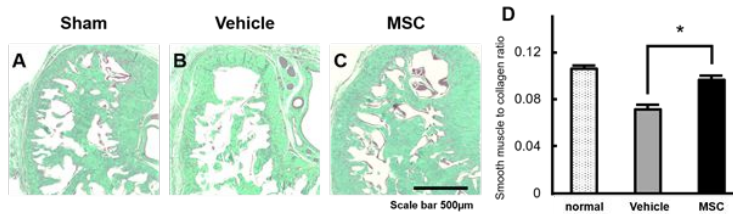


Fig. 3 Neurotrophic factor_BDNF & GDNF

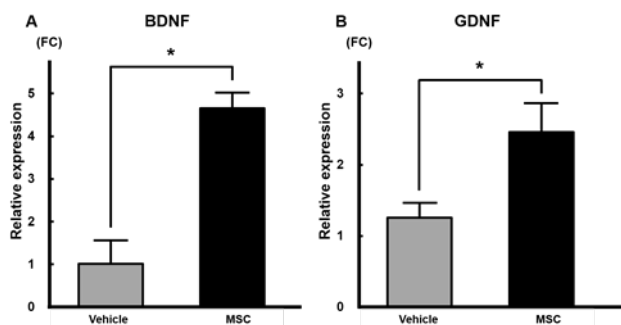
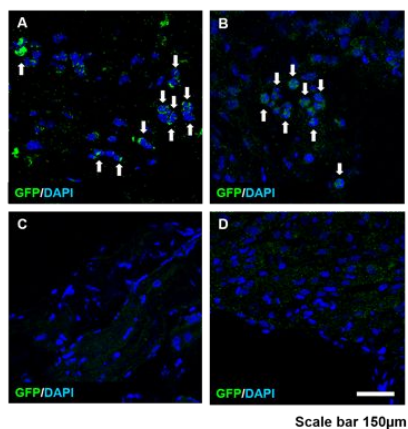


Fig. 4 GFP-MSC homing



5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

Matsuda Y, Sasaki M, Kataoka-Sasaki Y, Takayanagi A, Kobayashi K, Oka S, et al.
Intravenous Infusion of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells Reduces Erectile Dysfunction Following Cavernous Nerve Injury in Rats. Sex Med. 2018;6(1):49-57.

〔学会発表〕(計3件)

Yohei Matsuda, Akio Takayanagi, Ko Kobayashi, Naoya Masumori

Intravenous infusion of mesenchymal stem cells reduces erectile dysfunction following cavernous nerve injury in rats

16th Urological Association of Asia Congress 2018、Kyoto、2018

Yohei Matsuda, Akio Takayanagi, Ko Kobayashi, Naoya Masumori

Intravenous infusion of mesenchymal stem cells reduces erectile dysfunction following cavernous nerve injury in rats

第106回日本泌尿器科学会総会 京都府、2018年

松田洋平、小林皇、高柳明夫、舛森直哉、佐々木祐典、本望修

陰茎海綿体神経電気損傷ラットモデルの勃起障害に対する骨髄幹細胞移植の有効性

第405回日本泌尿器科学会北海道地方会、札幌市、2018年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：舛森 直哉

ローマ字氏名：Masumori Naoya

所属研究機関名：札幌医科大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号（8桁）：20295356

研究分担者氏名：佐々木 祐典

ローマ字氏名：Sasaki Masanori

所属研究機関名：札幌医科大学

部局名：医学部

職名：講師

研究者番号（8桁）：20538136

研究分担者氏名：小林 皇

ローマ字氏名：Kobayashi Ko

所属研究機関名：札幌医科大学

部局名：医学部

職名：講師

研究者番号（8桁）：30404669

研究分担者氏名：本望 修

ローマ字氏名：Honmou Osamu

所属研究機関名：札幌医科大学

部局名：医学部

職名：教授

研究者番号（8桁）：90285007

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。