

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：15301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17K11184

研究課題名(和文)膀胱再生を目指した排尿平滑筋幹細胞の創出とその応用

研究課題名(英文)Creation and application of micturition smooth muscle stem cells for bladder regeneration

研究代表者

渡邊 豊彦(Watanabe, Toyohiko)

岡山大学・医歯薬学総合研究科・准教授

研究者番号：30432644

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)：我々の研究グループでは従来、臨床応用を念頭に再生医療の基礎研究を進めており、低活動膀胱に対する新しいアプローチとしての膀胱再生を目指した研究を行った。本研究の目的は、膀胱収縮力獲得を目標とした尿路平滑筋幹細胞の創出、さらに得られた平滑筋細胞の移植による膀胱再生であり、各種幹細胞を用いたin vitroでの分化誘導・分離実験を行った。一方で、排尿筋機能改善の観点からのin vivo治療(排尿平滑筋幹細胞の膀胱移植)研究を実施するために、種々の動物モデルを作成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

膀胱収縮力が全く失われ、尿排出ができなくなった臓器としての終末像を呈する低活動膀胱や神経因性膀胱という病態に対して、膀胱収縮力を回復させる有効な薬物治療は存在せず、その治療戦略にパラダイムシフトが求められている。これらの疾患に苦しむ患者にとって、排尿平滑筋幹細胞を用いた再生医療が唯一残された光明である可能性が高く、このことが本研究を実施する大きな社会的意義である。

研究成果の概要(英文)：Our research group has been conducting basic research on regenerative medicine with clinical application in mind, and conducted research aimed at bladder regeneration as a new approach to low-activity bladder. The purpose of this study is to create urinary tract smooth muscle stem cells for the goal of acquiring bladder contractile force, and to regenerate the bladder by transplanting the obtained smooth muscle cells. In vitro differentiation induction / separation experiments using various stem cells were performed. On the other hand, various animal models were created in order to carry out in vivo treatment (bladder transplantation of detrusor smooth muscle stem cells) from the viewpoint of improving detrusor muscle function.

研究分野：泌尿器科

キーワード：排尿平滑筋 幹細胞 動物モデル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本研究者は、これまで尿道括約筋不全による難治性失禁に対し、尿道周囲に自家大腿筋皮弁を巻つける形で移植し、さらに体内ペースメーカーからの電気刺激を介した移植筋皮弁の筋収縮・弛緩による尿禁制調節システムを独自に開発し、動物実験でその有用性を示し、ヒトに臨床応用し報告してきた (Watanabe T et al. J Urol. 1996, Chancellor MB, Watanabe T et al. J Urol. 1997)。その後、岡山大学の我々のグループでは、尿道括約筋機能再生を目指し、尿路平滑筋細胞や尿路上皮細胞等の再生研究で成果を挙げてきた。

従来の再生研究では、各種機能を有する細胞を分化誘導する際に ES 細胞または iPS 細胞からの順行性分化誘導法が利用されている。我々も本研究に到る一連の研究において、ヒト iPS 細胞に Retinoic acid (レチノイン酸) を添加することにより平滑筋細胞への分化を試みる研究を行ない、SMA、Myocardin、Myosin-HC などの細胞表面マーカーの発現を免疫染色で示し、平滑筋への分化誘導を確認した。しかしながら、iPS 細胞またはそれに順行性に派生する細胞を患部に直接移植する方法では、排尿機能を回復させ得る筋収縮力を持った十分量の尿路平滑筋細胞に分化させることができず、その効率性の低さが大きな問題であった。また、万能性幹細胞から尿路平滑筋に至る極めて複雑な発生過程の中で、発生段階のどこに、自律増殖能を有する排尿平滑筋幹細胞 (自律的自己増殖能を持ち、かつ、平滑筋細胞に分化することができる幹細胞) が存在するのか未知であり、いまだ効率よく排尿平滑筋細胞に分化させる手法は確立されていなかった。膀胱収縮力が全く失われ、尿排出ができなくなった臓器としての終末像を呈する低活動膀胱や神経因性膀胱という病態に対して、膀胱収縮力を回復させうる有効な薬物治療は存在せず、その治療戦略にパラダイムシフトが求められている。これらの疾患に苦しむ患者にとって再生医療が唯一残された光明であり、その意味からも、生体内移植により自律性をもって増殖、平滑筋細胞に分化することにより膀胱収縮力を回復し、膀胱再生に寄与することが期待できる排尿平滑筋幹細胞の創出ならびに膀胱への移植方法の確立は喫緊の課題である。

2. 研究の目的

尿の排出障害は生活の質 (QOL) を大きく低下させる病態である。特に、膀胱収縮不全をきたす低活動膀胱、神経障害 (脊髄損傷、脳血管障害、糖尿病、骨盤手術による損傷) に起因する神経因性膀胱は、有効な薬物治療は存在せず、いわば、膀胱機能の終末像を呈し、尿道留置カテーテルを永久に留置されたまま、半ば放置されている患者がいまだ多く存在する。本病態下では、尿路感染、腎機能不全を高頻度に誘発するため、倫理面また、医療経済的にも多くの問題を抱えている。泌尿器科領域においても再生研究は行われているが、幹細胞移植により臨床応用に直結するような排尿平滑筋幹細胞の樹立は未だ成されていない。本研究では、膀胱再生を目指した排尿平滑筋幹細胞の創出と、これを傷害された膀胱組織へ移植する独自の手法を確立するための基盤的研究を行う。

3. 研究の方法

本研究に係る一連の実験において、下記の方法・方向性に基づき実験を遂行した。

組織特異的幹細胞分離法を用いて間葉系幹細胞、排尿平滑筋幹細胞を分離し、これらの幹

細胞としての特性を *in vitro* で検証する。

排尿筋機能改善の観点からの *in vivo* 治療（排尿平滑筋幹細胞の膀胱移植）研究を実施するために、種々の動物モデルを作成する。具体的には、ラットを用いた頻尿モデル、および、低活動膀胱モデルを作成する。また、将来的なイヌを用いた膀胱機能再生医療の研究実施の可能性を模索するべく、内視鏡的にイヌの膀胱に各種の幹細胞が注入可能かどうか、についての手技的な検討を行う。

4．研究成果

我々の研究グループでは従来、臨床応用を念頭に再生医療の基礎研究を進めており、低活動膀胱に対する新しいアプローチとしての膀胱再生を目指した基礎研究もそのひとつである。本研究の目的は、膀胱収縮力獲得を目標とした尿路平滑筋幹細胞の創出、さらに得られた平滑筋細胞の移植による膀胱再生である。具体的な方法としては、組織特異的幹細胞分離法を用いて間葉系幹細胞、排尿平滑筋幹細胞等を分離し、膀胱機能が荒廃した膀胱に移植することにより膀胱収縮、機能改善をはかることである。本年度までの研究実績として排尿平滑筋幹細胞株樹立へ向けた基礎実験を行ない、また、各種幹細胞を用いた尿路平滑筋細胞分化への基礎的な実験を行ってきた。これまでの研究により、間葉系幹細胞系列の幹細胞の人工的誘導、および、組織特異的幹細胞分離法を用いての間葉系幹細胞または排尿平滑筋幹細胞の分離のための基礎研究において、一定の成果が得られた。さらに本年度は、より排尿機能に即した研究、すなわち排尿筋機能改善の観点からの *in vivo* 研究を実施するために、種々の動物モデルの作成に取り組んだ。まずラットを用いた頻尿モデル、および、低活動膀胱モデルを作成するための予備研究を開始した。これらの病的排尿モデルでは経時的に排尿回数をモニターすることが必須であり、そのためにラットの排尿回数を適切に評価する実験系を立ち上げた。また、将来的なイヌを用いた膀胱機能再生医療の研究実施の可能性を模索するべく、内視鏡的にイヌの膀胱頸部、膀胱三角部および膀胱体部に各種の幹細胞が注入可能かどうか、についての手技的な検討を行い、多くの有用な知見を得た。いずれの動物モデルにおいても、今後、低活動膀胱に対する膀胱再生を目指した基礎研究が実施可能であると判断されることから、引き続き、排尿平滑筋幹細胞株樹立に係る研究も実施していく。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
研究分担者	渡部 昌実 (Watanabe Masami) (70444677)	岡山大学・大学病院・教授 (15301)	
研究分担者	植木 英雄 (Ueki Hideo) (90537218)	岡山大学・医学部・技術専門職員 (15301)	

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