

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：32202

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K18150

研究課題名（和文）先天性上部尿路異常の治療に向けての間葉細胞を標的とした再生医学的フロンティア研究

研究課題名（英文）Regenerative medicine frontier research targeting mesenchymal cells for the treatment of congenital upper urinary tract abnormalities.

研究代表者

日向 泰樹（Hyuga, Taiju）

自治医科大学・医学部・講師

研究者番号：50741279

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）：小児泌尿器科領域において、尿路（腎臓、尿管、膀胱、尿道など）の異常の治療に向けて、尿路系に関する様々な再生医学研究を行った。尿路の状態を解析するための評価系が必要なため、世界で初めてマウスの尿路の評価系を作成した。造影剤などを用いて、マウスの尿道の解剖について報告した。その評価系を用いて、管腔臓器特有の病態としての尿漏出後の上皮、間葉の炎症性変化、引き続き間葉の線維化を引き起こす病態について解明を行いつつある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

小児泌尿器科領域において、尿路の異常の基礎的なメカニズムの解明についてはエビデンスが不足している状況であり、未だわかっていないことが多い。それを解明するために動物実験を行い、情報を蓄積していく必要がある。本研究では、今まで不明であったマウスの尿路の解剖、評価系を開発した(Scientific Reports 2020 Hyuga et al. 及び投稿中)。加えて、手術後合併症の発症機序としての病態予後の解明を行った。管腔臓器特有の病態としての尿漏出後の病態について解明を行いつつある。

研究成果の概要（英文）：In the field of pediatric urology, we performed various regenerative studies to treat abnormalities of the kidney and urinary tracts (kidney, ureter, bladder, urethra, etc.). Since an assay system for analyzing the condition of the urinary tract is necessary, we established the assay system for the urinary tract in mice for the first time in the world. Utilizing contrast agent and other techniques, we reported on the anatomy of the mouse urethra. Utilizing the assay system, we are now elucidating the pathology that causes inflammatory changes in the epithelium and mesenchyme after urinary extravasation and subsequent fibrosis of the mesenchyme to the ductal organs.

研究分野：泌尿器

キーワード：尿路 間葉

1. 研究開始当初の背景

尿路に重大な異常を示す先天性疾患の治療方法の確立に、多くの困難が伴っている。尿路の低形成に対して、手術治療の効果は限定的であり、根本的に術後の間葉層、平滑筋層を再建することが求められている。加えて、手術治療を行うような疾患に関しても、尿路の手術後の病態についても基礎医学的な評価がなされていない。以前より小児泌尿器科領域は基礎医学的なエビデンスが欠如していることは危惧されてきた。尿道下裂は近年頻度が増加している疾患の一つであり、手術治療が主な治療法である。比較的合併症の発生率が高く、様々な術式や手術手技が検討されてきたが、手術成績の向上に十分に寄与しているとは言い難い。

2. 研究の目的

小児泌尿器科領域において、CAKUT (Congenital anomalies of kidney and urinary tract: 先天性腎尿路異常) を含む尿路異常の根本的治療に向けて、尿管の 間葉、平滑筋層の分子発生メカニズムの解析に基づいた、尿路系に関する様々な再生医学研究を行う。

3. 研究の方法

まず世界で初めてマウスモデルの尿路を操作する基盤を樹立する。次年度に向けて細胞増殖因子の信号系を操作する準備を行う。マウスの尿路異常は、視診のみでは判定することができない。ゆえに、in vivo で尿路を形態的に評価する必要がある。したがって、マウスの尿路を評価するためのアッセイ系を樹立する。ヒト尿路系の根本的な治療のためには in vivo のマウス尿路の評価系が強く望まれる。そのために in vivo の尿路系を評価するための可視化技術の確立をマウスモデルにおいて試みた。加えて、尿路異常のマウスモデルを作成し、in vivo のマウス尿路可視化モデルにおいて評価を試みた。

4. 研究成果

先端的外科治療を行う前に、尿路の状態を解析するための assay 系が必要となり、in vivo で尿路を評価するために、2020 年度に世界で初めてマウスの尿路の評価系を作成した。尿路の評価方法としてインドシアニングリーン (ICG) ならびに造影剤を用いて、尿路を描出した (図 1)。尿路異常の手術モデルとして、尿道下裂手術モデル (尿道皮膚ろうモデル) ならびに尿道狭窄モデルを作成し、尿路の assay 系で評価した (Scientific Reports; Hyuga et.al, 2020)。さらに現在別に一報を用意中である。このようにユニークなマウスモデル系の作成に成功した。

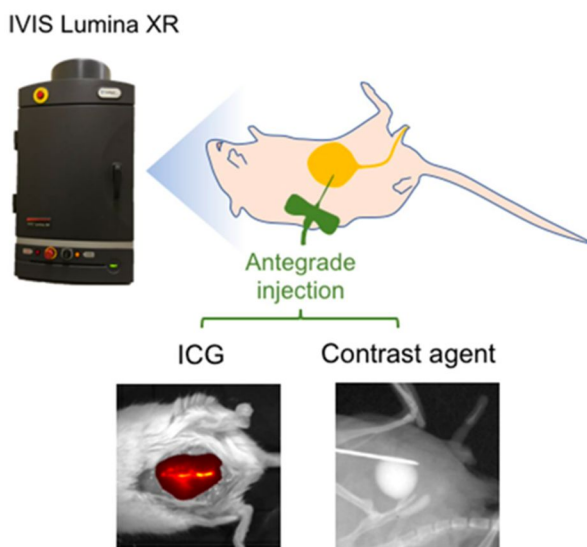


図1 尿道の可視化の方法

尿道の状態を可視化するために、造影剤を注入し、IVIS LUMINA XR イメージングシステムを用いて X 線を用いた尿道形態の分析を行った（図 2）。図 2A は膀胱に翼状針を穿刺し、造影剤を入れる前の画像である。黄矢印は翼状針を、黄矢頭はマウスの陰茎骨を表している。造影剤を膀胱（黒矢頭）に注入することで、尿道の状態を生体内で確認することができた（図 2B）。尿道口からの逆行性注入では、このような構造を検出することはできなかった。後方尿道の口径は前方尿道の口径より明らかに広がった（図 2B；黒矢印、白矢印）。尿道憩室の周囲には、後尿道と前尿道の境界が示されていた。

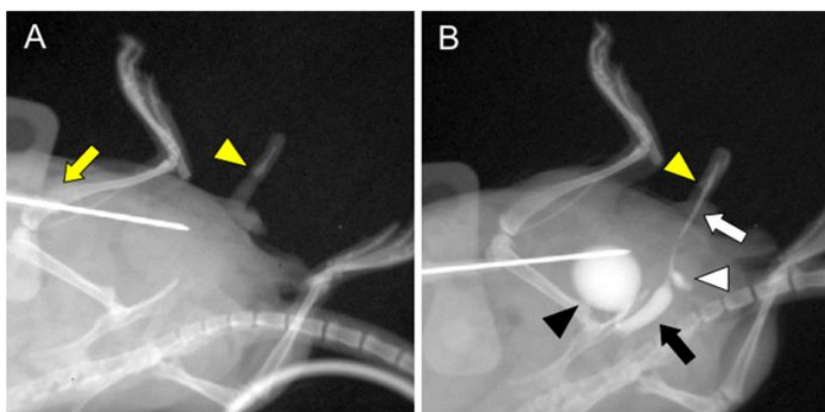


図2 マウス尿道の構造

マウス尿道下裂手術（尿道皮膚ろう）モデルを示す。全身麻酔後、眼科用ハサミで陰茎の背側包皮に 3mm の垂直皮膚切開を行った。これにより亀頭が外部に露出し、吸収性縫合糸（7-0 PDS）を挿入して牽引した。腹側尿道を外尿道口から陰茎基部まで垂直方向に全厚（長さ約 10mm）切開した（図 3A）。外尿道口は近位に配置した。尿道閉鎖には上皮下縫合糸を使用した（図 3B、C）。尿道形成術は、約 1.5mm 間隔で 3 本の縫合糸（7-0 PDS）により尿道を一層で閉鎖した（図 3D、E；白矢頭）。

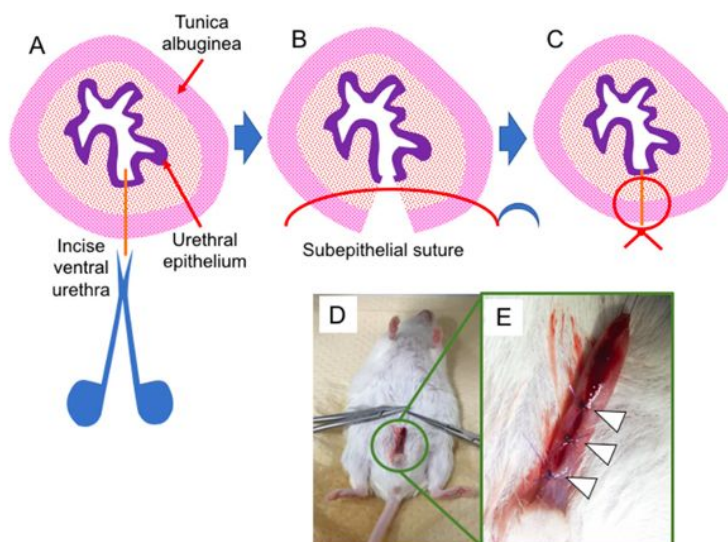


図3 マウス尿道下裂手術モデル

術後2日後の尿道の可視化と創部からの造影剤の漏出(尿道皮膚ろう)を示した。黒矢頭で示された領域から尿が漏出している様子が確認できた(図5A,B;Bの黒矢頭)。組織学的解析により、瘻孔部位の上皮化が明らかになった(図5C-E)。H.E.染色により、瘻孔部の上皮化が確認された(図5D;黒矢印)。E-Cadherinは、本来の尿道(図5E;白矢頭)および尿が漏出した瘻孔領域(図5E;白矢印)で発現していた。

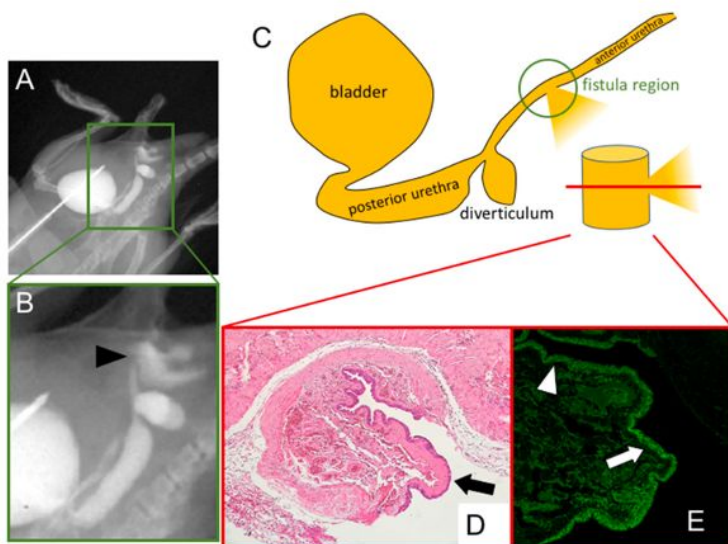


図4 マウス尿道下裂(尿道皮膚ろう)モデルにおける造影剤を用いた尿道可視化と病理組織学的評価

治療の評価系としての assay 系として尿道周辺組織の損傷の評価、尿の漏出による組織の損傷状態について、尿道損傷後の尿道狭窄についても解析した。尿道には vascular rich な尿道海綿体という特徴的な構造が存在することが知られており、病態としても未知な spongio-fibrosis という概念がある。その概念を樹立したマウス尿道損傷モデルを用いて、再現、評価した。上皮の細胞増殖について、並びに間葉の線維化について評価した。現在論文投稿を用意中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Hashimoto Daiki, Hirashima Tsuyoshi, Yamamura Hisao, Kataoka Tomoya, Fujimoto Kota, Hyuga Taiju, Yoshiaki Atsushi, Kimura Kazunori, Kuroki Shunsuke, Tachibana Makoto, Suzuki Kentaro, Yamamoto Nobuhiko, Morioka Shin, Sasaki Takehiko, Yamada Gen	4. 巻 104
2. 論文標題 Dynamic erectile responses of a novel penile organ model utilizing TPem†	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biology of Reproduction	6. 最初と最後の頁 875 ~ 886
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/biolre/ioab011	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 -
1. 著者名 Hashimoto Daiki, Kajimoto Mizuki, Ueda Yuko, Hyuga Taiju, Fujimoto Kota, Inoue Saaya, Suzuki Kentaro, Kataoka Tomoya, Kimura Kazunori, Yamada Gen	4. 巻 20
2. 論文標題 3D reconstruction and histopathological analyses on murine corporal body	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 199 ~ 207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rmb2.12369	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 -
1. 著者名 Hashimoto Daiki, Colet Jose Gabriel R., Murashima Aki, Fujimoto Kota, Ueda Yuko, Suzuki Kentaro, Hyuga Taiju, Hemmi Hiroaki, Kaisho Tsuneyasu, Takahashi Satoru, Takahama Yousuke, Yamada Gen	4. 巻 11
2. 論文標題 Radiation inducible MafB gene is required for thymic regeneration	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10439
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-89836-7	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 -
1. 著者名 Hyuga Taiju, Hashimoto Daiki, Matsumaru Daisuke, Kumegawa Shinji, Asamura Shinichi, Suzuki Kentaro, Katayama Kei-ichi, Nakamura Shigeru, Nakai Hideo, Yamada Gen	4. 巻 10
2. 論文標題 Evaluation of surgical procedures of mouse urethra by visualization and the formation of fistula	5. 発行年 2020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/s41598-020-75184-5	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 -

1. 著者名 Hashimoto Daiki, Hirashima Tsuyoshi, Yamamura Hisao, Kataoka Tomoya, Fujimoto Kota, Hyuga Taiju, Yoshiki Atsushi, Kimura Kazunori, Kuroki Shunsuke, Tachibana Makoto, Suzuki Kentaro, Yamamoto Nobuhiko, Morioka Shin, Sasaki Takehiko, Yamada Gen	4. 巻 104
2. 論文標題 Dynamic erectile responses of a novel penile organ model utilizing TPEM†	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biology of Reproduction	6. 最初と最後の頁 875 ~ 886
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/biolre/iaab011	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 -

1. 著者名 Hashimoto Daiki, Kajimoto Mizuki, Ueda Yuko, Hyuga Taiju, Fujimoto Kota, Inoue Saaya, Suzuki Kentaro, Kataoka Tomoya, Kimura Kazunori, Yamada Gen	4. 巻 20
2. 論文標題 3D reconstruction and histopathological analyses on murine corporal body	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Reproductive Medicine and Biology	6. 最初と最後の頁 199 ~ 207
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/rmb2.12369	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 -

1. 著者名 Hashimoto Daiki, Colet Jose Gabriel R., Murashima Aki, Fujimoto Kota, Ueda Yuko, Suzuki Kentaro, Hyuga Taiju, Hemmi Hiroaki, Kaisho Tsuneyasu, Takahashi Satoru, Takahama Yousuke, Yamada Gen	4. 巻 11
2. 論文標題 Radiation inducible MafB gene is required for thymic regeneration	5. 発行年 2021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/s41598-021-89836-7	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 -

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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kajimoto Mizuki, Suzuki Kentaro, Ueda Yuko, Fujimoto Kota, Takeo Toru, Nakagata Naomi, Hyuga Taiju, Isono Kyoichi, Yamada Gen	4. 巻 62
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 Congenital Anomalies	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 オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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