

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24592423

研究課題名(和文) 海綿体再生治療における皮下脂肪幹細胞産生パラクライン因子の機能的解析

研究課題名(英文) Functional analysis for the cytokines produced by ASC and ASC-induced restoration of erectile function.

研究代表者

西松 寛明 (Nishimatsu, Hiroaki)

東京大学・医学部附属病院・登録研究医

研究者番号：60251295

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：我々はSTZ尾静脈注射により作成した糖尿病ラットのペニスに皮下脂肪由来幹細胞(ASC)を注射して勃起機能と海綿体組織を評価した。ASCは勃起能を改善するとともに陰茎海綿体の海綿体組織の再生を有意に促進する事を示した。また我々はASCが様々なサイトカインを分泌する事により勃起能を改善し、海綿体構造を再生する事を発見し、サイトカインの候補としてadrenomedullin(AM)、angiopoietin-1(Ang1)を同定した

研究成果の概要(英文)：The aim of this study is to explore a better treatment for ED, we examined whether combination of AM and angiopoietin-1 (Ang-1) was more effective to treat ED than treatment with AM alone or Ang-1 alone. We also compared the effect of the combination therapy with that of treatment with vascular endothelial growth factor-A (VEGF-A). Combination therapy with AM and Ang-1 potentially restored erectile function and normal morphology of the cavernous body compared with VEGF-A administration. This combination therapy will be useful to treat ED patients with a severely damaged cavernous body.

研究分野：泌尿器外科学

キーワード：脂肪幹細胞 勃起不全治療

1. 研究開始当初の背景

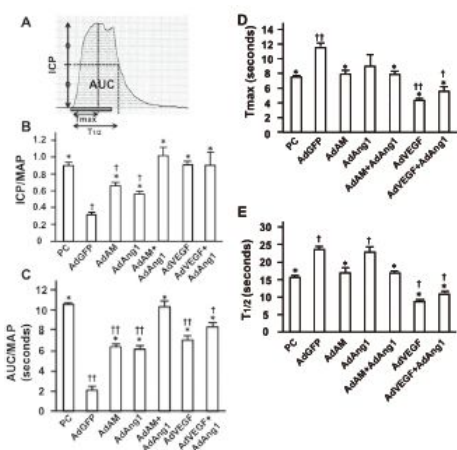
急速に高齢化社会に構造転換している日本において、男性の生活の質を向上させる取り組みが医学的にも重要である。メタボリック症候群の初期症状として勃起不全 (Erectile Dysfunction, 以下 ED と略す。) が認められ、逆に ED 男性の 90% は糖尿、高血圧、高脂血症、肥満を有しており、陰茎海綿体内での海綿体平滑筋・内皮、神経の異常が全身の心臓血管系異常に先立って現れてくる。ED に対する治療は、現状では実質的に、勃起改善治療薬の処方のみであり、糖尿病、動脈硬化症例での機能回復は限定的であり、再生医療が期待される。

2. 研究の目的

我々はラットから皮下脂肪由来幹細胞 ; adipose tissue-derived stem cells (ASC) を安定的に誘導することに成功し、ASC が血管再生、海綿体構造再構築、勃起機能改善に有効であることを見出して特許を申請も行った。本研究ではこれを延長し、以下を目的とする。ASC の作用機序の更なる解明のためにパラクライン因子を網羅的に解析し、Adrenomedullin 以外の血管新生ならびに神経再生を効率的に促進するサイトカインを同定する。

3. 研究の方法

ASC が分泌するパラクライン因子の網羅的・機能的解析 : ASC が分泌するパラクライン因子として AM が重要であることを発見した

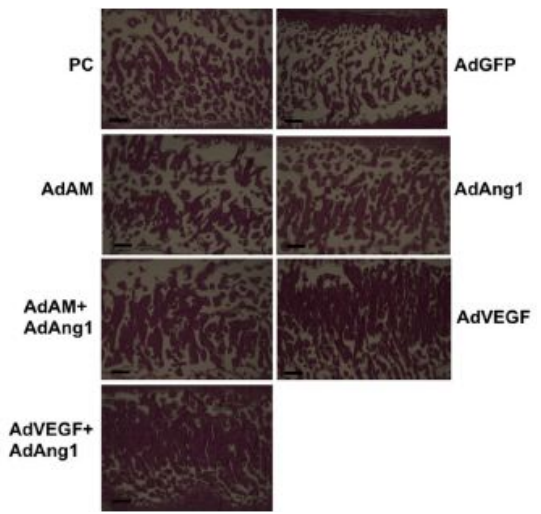


が、他のパラクライン因子をもっと網羅的に解析する必要があります。

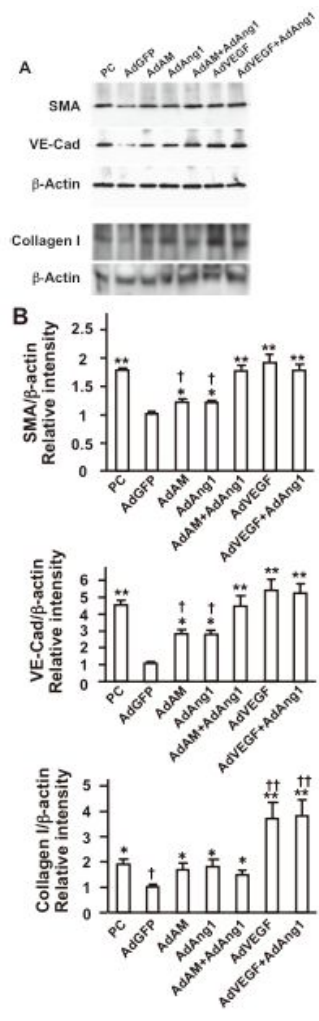
DNA microarray の結果、EGM で培養すると、EBM 培養に比べて発現が 2 倍以上増加するもの、逆に 0.5 倍以下に抑制されるものが多数見つかった。AM 以外に Angiopoietin-1 などがあり、血管新生のみならず神経再生にも関与する可能性が出てきた。これらの因子をアデノウイルスベクターに組み込み勃起機能を評価した。

4. 研究成果

ASC の作用機序の更なる解明のためにパラクライン因子を網羅的に解析したが、Adrenomedullin 以外の血管新生ならびに神経再生を効率的に促進するサイトカインを選定した。1. 既存勃起障害モデルでの勃起機能解析 VEGF、Ang1、AM 各アデノベクター



の組み合わせ、microRNA の投与による勃起機能や臓器再生機能の評価を開始。各種アデノウイルスベクターの作成を行い、糖尿病ラットモデルの陰茎海綿体に感染させた。また二剤同時の感染モデルも作成して海綿体構造の再生様式、内皮機能の改善効果について海綿体内圧の測定を行い、組織の回復状況を評価した。



2. 幹細胞による分化誘導細胞の機能的解析 VE-cadherin、Total eNOS、phospho eNOS の Western blot による定量比較。GC 活性・cGMP 産生の評価のみならず、海綿体柱を構成する Type コラーゲンの生成などにも注目して評価した。eNOS, bNOS 蛋白レベルでの評価 3. 幹細胞の paracrine effect の解析 - Microarray 結果からの網羅的解析-ASC 上清より分析した、EGM、EBM 添加の有無により増加・抑制を認められたサイトカインの

機能的解析をおこない、神経再生因子についても脂肪幹細胞で発現の多いものを数種類抽出することに成功した。

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)

1 . Adrenomedullin mediates adipose tissue-derived stem cell-induced restoration of erectile function in diabetic rats.

Nishimatsu H, Suzuki E, Kumano S, Nomiya A, Liu M, Kume H, Homma Y.

J Sex Med. 2012 Feb;9(2):482-93.

2 . Adrenomedullin and angiopoietin-1 additively restore erectile function in diabetic rats: comparison with the combination therapy of vascular endothelial growth factor and angiopoietin-1.

Nishimatsu H, Suzuki E, Nomiya A, Niimi A, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Homma Y.

J Sex Med. 2013 Jul;10(7):1707-19

3 . Chronic kidney disease and erectile dysfunction.

Suzuki E, Nishimatsu H, Oba S, Takahashi M1, Homma Y.

World J Nephrol. 2014 Nov 6;3(4):220-9.

4 . Improvement of symptoms of aging in males by a preparation LEOPIN ROYAL containing aged garlic extract and other five of natural medicines - comparison with traditional herbal medicines (Kampo).

Nishimatsu H, Kitamura T, Yamada D, Nomiya A, Niimi A, Suzuki M, Fujimura T, Fukuhara H, Nakagawa T, Enomoto Y, Kume H, Igawa Y, Homma Y.

Aging Male. 2014 Jun;17(2):112-6.

5 . Adipose-derived stem cells stimulate reendothelialization in stented rat abdominal aorta.

Sato T, Takahashi M, Fujita D, Oba S, Nishimatsu H, Nagano T, Suzuki E.

Circ J. 2014;78(7):1762-9

〔雑誌論文〕(計5件)

〔学会発表〕(計2件)

国外

1 . Adrenomedullin mediates adipose tissue derived stem cells induced

restoration of erectile function in diabetic rats

Nishimatsu H.1, Suzuki E.2, Kumano S.1, Nomiya A.1, Niimi A.1, Suzuki M.1, Fujimura T.1, Fukuhara H.1, Enomoto Y.1, Ishikawa A.1, Kume H.1, Igawa Y.3, Hirata Y.4, Homma Y.1
1University of Tokyo, Dept. of Urology, Tokyo, Japan, 2St. Marianna University, Institute of Medical Science, Tokyo, Japan, 3University of Tokyo, Dept. of Continence Medicine, Tokyo, Japan, 4University of Tokyo, Dept. of Internal Medicine, Tokyo, Japan
27th EAU Annual Congress, Paris, 2012/2/26

2 . Intrinsic peptides mediates adipose tissue-derived stem cell-induced restoration of erectile function in diabetes rats

Hiroaki Nishimatsu*, Etsu Suzuki, S. Kumano, A. Nomiya, M. Suzuki, T.Fujimura, H. Fukuhara, Y. Enomoto, A. Ishikawa, H. Kume, Y. Igawa, Y. Hirata, Y. Homma,
Tokyo, Japan
AUA Annual Meeting, Atlanta GA,USA
2012/5/21

3 . 28th European Association of Urology (EAU) Annual Congress
March 16, 2013
Milano, Italy

4 . Adrenomedullin and Angiopoietin-1 have a integrated restoration activity on Erectile Function in Diabetic Rats: Comparison with the Combination Therapy with Vascular Endothelial Growth Factor and Angiopoietin-1

Nishimatsu, Hiroaki; Niimi, Aya; Suzuki, Etsu; Nomiya, Akira; Fukuhara, Hiroshi; Fujimura, Tetsuya; Suzuki, Motofumi; Nakagawa, Tohru; Enomoto, Yutaka; Kume, Haruki; Homma, Yukio

May 6, 2013
San Diego

国内

1 . 西松寛明, 鈴木 越、本間之夫
シンポジウム 2-9 泌尿器における再生医療
皮下脂肪由来幹細胞を用いた勃起不全治療
法開発の試み
第 100 回日本泌尿器科学会総会、横浜、
2012.4.22 (シンポジウム)

2. 西松寛明、鈴木 越、本間之夫
皮下脂肪由来幹細胞を用いた ED 治療法開発
の試み
第 23 回日本性機能学会西部総会
徳島、2012 . 2.2 (特別講演)

3. 西松寛明、本間之夫
シンポジウム 8 泌尿器科領域における幹細胞
治療のフロントライン

平成 26 年 4 月 26 日(土) 第 102 回日本泌尿
器科学会総会 8:00-10:00 会場：神戸国際
会議場

4. 西松寛明、鈴木 越
記念講演 『男性の性の不思議』、脂肪幹細胞
の ED 治療への応用
第 4 回 性の健康医学財団 財団賞授賞式なら
びに記念講演会
日 時 平成 26 年 10 月 22 日(水)16:00 より 場
所 学士会館 302 号室
17:00~18:00
〔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：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者
西松 寛明 (NISHIMATSU HIROAKI)
東京大学医学系研究科臓器病態外科学 (泌
尿器外科学)・登録研究医
研究者番号：60251295

(2)研究分担者
鈴木 越 (SUZUKI ETSU)
聖マリアンナ医科大学・医学系研究科・講
師

研究者番号：40313134

高橋 政夫 (TAKAHASHI MASAO)
東京大学医学部附属病院・循環器内科・助
教

研究者番号：00447418

野宮 明 (NOMIYA AKIRA)
東京大学医学部附属病院・泌尿器外科学・
助教

研究者番号：30372379

平田 恭信 (HIRATA YASUNOBU)
東京大学医学部附属病院・循環器内科・准
教授 (申請当時)

研究者番号：00447418

(3)連携研究者
()

研究者番号：