

## Intravenous preload of mesenchymal stem cells rescues erectile function in a rat model of cavernous nerve injury

J Sex Med 2015; 12(8): 1713-1721, doi: 10.1111/jsm.12957

Takayanagi A, Sasaki M, Kataoka-Sasaki Y, Kobayashi K, Matsuda Y, Oka S, Masumori N, Kocsis J.D., Honmou O

**要旨** 骨髄間葉系幹細胞 (MSC) を海綿体神経損傷前に静脈投与することで、神経損傷後の勃起機能が温存された。投与された MSC は骨盤神経節や海綿体神経に分布しており、神経栄養因子の発現が亢進することが神経保護作用を誘導する理由の一つであると推測された。

### 1. 研究の背景

根治的前立腺摘除術後には、海綿体神経障害に伴う勃起障害が一定頻度で発症するが、既存の治療による効果は限定的であるために、新規の治療方法の開発が望まれている。

我々は、脳梗塞や脊髄損傷などの神経疾患に対する骨髄間葉系幹細胞 (MSC) の経静脈投与の有効性を報告し、現在は医師主導治験を遂行中である (脳梗塞: Phase III, 脊髄損傷: Phase II)。これまでの研究で得られた MSC の作用メカニズムは、1 移植細胞の病巣への集積、2 移植細胞による神経栄養因子を介した神経栄養・保護・抗炎症作用、3 脱髄軸索の再有髄化、4 神経再生 (神経系細胞への分化)、損傷軸索の・Sprouting・再生、5 血液脊髄関門の安定化等、と考えられ、治療効果は、時間的にも空間的にも 1 回の投与で多段階に発揮されることが判明している。

今回、我々は、海綿体神経損傷モデルに対する MSC の経静脈的移植が勃起機能の温存に寄与するかを検討した。

### 2. 研究の目的

本研究では、前立腺全摘除術の特性を考慮し、海綿体神経損傷モデルを用いて、神経損傷前に MSC を静脈投与することが勃起機能の温存に寄与するかを検討した。さらに、投与した骨髄間葉系幹細胞 (MSC) の動態を観察し、その作用機序についての検討を行った。

### 3. 研究の方法

SD ラット (雄, 8 週齢) の海綿体神経に機械的な損傷を加え、海綿体神経損傷モデルとした。勃起機能の評価として、海綿体神経を電気刺激して得られる海綿体内圧と動脈圧の比 (ICP/AP) を用いた。

正常ラットに対して、ICP/AP 測定後に、ランダム化

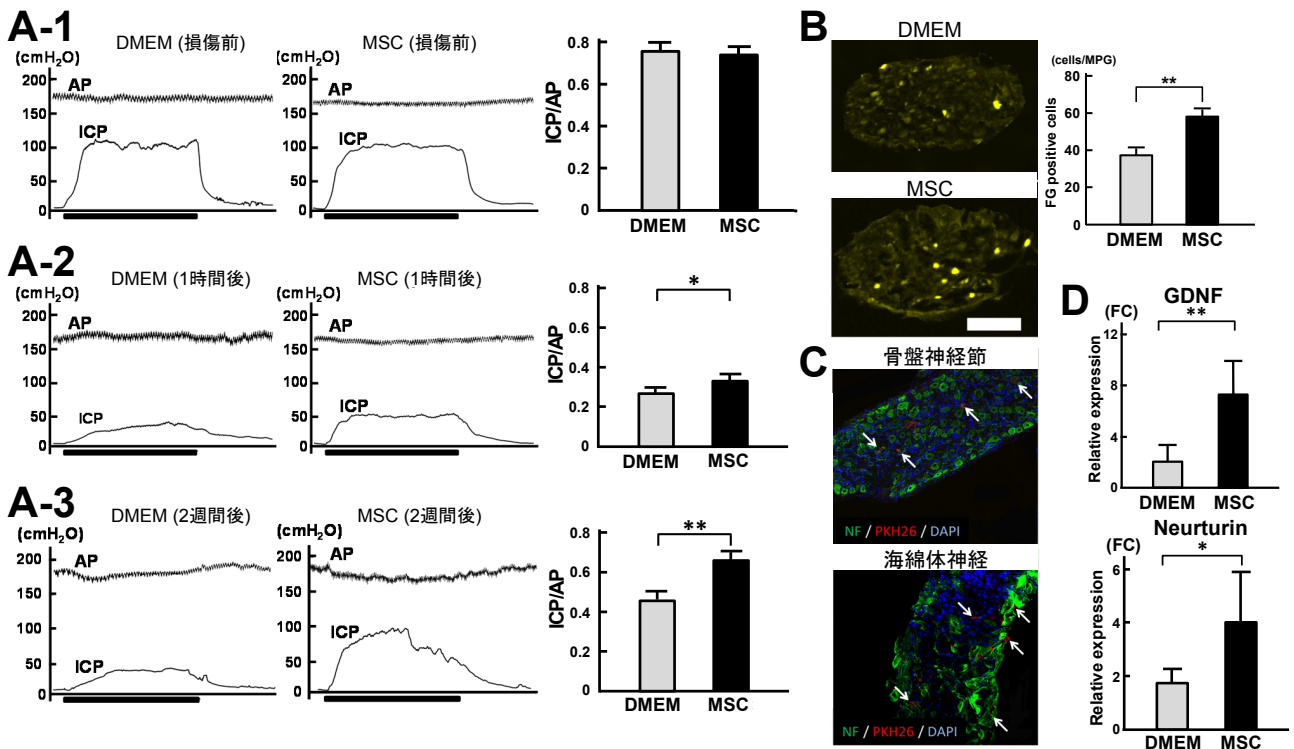
を行った。MSC 群には  $1 \times 10^6$  個 (1 ml) の MSC を、対照群には DMEM (1 ml) を経静脈的に投与し、その直後に海綿体神経へ機械的損傷を加えた。神経損傷の 1 時間後および 2 週後に ICP/AP を測定し、勃起機能の評価を行った。神経損傷 1 週間後に逆行性トレーサーである Fluorogold (FG) を陰茎海綿体内に注入し、さらにその 1 週間後に骨盤神経節を採取して FG 陽性細胞数をカウントした。MSC の投与後の分布を確認するために、別の神経損傷ラットに PKH26 を標識した MSC (PKH26-MSC) を投与し、骨盤神経節や海綿体神経を採取した。GDNF, Neurturin の骨盤神経節中での発現を、定量リアルタイム PCR (qPCR) 法を用いて解析した。

### 4. 結果

神経損傷前の ICP/AP は両群で有意差を認めなかった (図 A-1)。神経損傷 1 時間後の ICP/AP は、両群ともに損傷前の ICP/AP に比べて有意な低下を認め、MSC 群の ICP/AP は対照群に比べて有意に高かった ( $p < 0.05$ ) (図 A-2)。損傷 2 週後の ICP/AP も MSC 群では対照群に比べて有意に高かった ( $p < 0.01$ ) (図 A-3)。MSC 群では骨盤神経節中の FG 陽性細胞数が対照群に比べて有意に多かった ( $p < 0.01$ ) (図 B)。投与した PKH26-MSC は、骨盤神経節、海綿体神経に分布していた (図 C)。qPCR 法では、MSC 群で骨盤神経節中の GDNF, Neurturin の発現が対照群に比べて有意に亢進していた ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ) (図 D)。

### 5. 考察

今回のモデルでは両群において神経損傷後に勃起機能は低下していたが、MSC 群では対照群に比較して勃起機能は有意に優れていた。FG を用いた組織学的な



A: 神経損傷前後での ICP/AP の結果. A-1: 損傷前. A-2: 損傷 1 時間後. A-3: 損傷 2 週間後. 神経損傷 1 時間後, 2 週間後の MSC 群では対照群に比べて ICP/AP が有意に高い結果であった ( $p < 0.05$ ,  $p < 0.01$ ).

B: MSC 群では骨盤神経節中の Fluorogold 陽性細胞数は対照群に比べて有意に多かった ( $p < 0.01$ ).

C: PKH26-MSC は海綿体神経を損傷したラットの骨盤神経節および海綿体神経に分布していた.

D: MSC 群では GDNF, Neurturin の発現が対照群に比べて有意に亢進していた ( $p < 0.01$ ,  $p < 0.05$ ).

検討でも同様の結果であり, 機能評価の結果を支持するものであった. MSC を神経損傷前に投与することにより, 神経損傷後に勃起機能が温存され, 早期に改善することが示唆された.

今回の結果では, 経静脈投与された MSC は神経損傷を加えた海綿体神経のみではなく, 骨盤神経節にも分布が確認された. また, MSC 群の骨盤神経節では海綿体神経の神経栄養因子として知られている GDNF や Neurturin の発現が亢進しており, 神経栄養因子の発現亢進が海綿体神経に対して神経保護作用を誘導したことが推測された. 加藤らは GDNF や Neurturin を神経損傷モデルに投与することにより勃起機能が改善することを報告している<sup>1)</sup>. 今回のモデルで骨盤神経節中の GDNF や Neurturin の発現亢進により勃起機能が改善されることを支持する報告であると考えられる. 最近の研究でも, 投与された MSC は直接神経細胞やグリア細胞に分化するのみでなく, 神経栄養因子を分泌して神経保護, 神経再生を促進することが報告されており<sup>2)</sup>, MSC の作用機序の詳細を解明することが今後の研究課題の一つであると考えられる.

## 6. 結論と今後の展望

MSC を海綿体神経損傷前に静脈投与することで, 神経損傷後の勃起機能が温存された. 投与された MSC は骨盤神経節や海綿体神経に分布しており, 神経栄養因子の発現が亢進することが神経保護作用を誘導する理由の一つであると推測された. この方法は既存の治療との併用も可能であり, 勃起障害への新規治療法の一つとして期待される.

## 7. 参考文献

- 1 Kato, R. et al. Gene Ther. 2008; 16: 26-33.
- 2 Qiu, X. et al. J Sex Med. 2011; 8: 427-436.

札幌医科大学泌尿器科学講座

大学院生 高柳 明夫

略歴

平成 14 年札幌医科大学医学部 卒業

平成 20 年札幌医科大学医学部泌尿器科助教

平成 27 年札幌医科大学大学院医学研究科 博士課程 修了