

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（医学）	氏名	井上 省吾
学位授与の条件	学位規則第4条第1・②項該当		
論文題目 Regeneration of rat corpora cavernosa tissue by transplantation of CD133+ cells derived from human bone marrow and placement of biodegradable gel sponge sheet. (ヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞移植とアルギン酸ゲルシートを用いた新たなラット陰茎再生)			
論文審査担当者			
主査	教授	有廣 光司	印
審査委員	教授	工藤 美樹	
審査委員	准教授	仲 一仁	
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>勃起不全（erectile dysfunction; ED）患者は近年増加し、成人男性の5～20%にも達する。現在のところ、ED治療として主にPDE5阻害剤が使用されているが、糖尿病性EDなどでは神経障害と血管障害がともに起こっているため、PDE5阻害剤の治療効果が低く難治性EDとなることが多い。また、薬剤の効果は一時的であり、副作用により心疾患を有する患者には使用できない問題点もある。このようにPDE5阻害剤が無効な神経性および血管性EDに対しては、既存の治療では限界があり、新たな治療戦略が求められている。CD133陽性細胞は、従来用いられていたCD34陽性細胞よりもさらに増殖能や分化能が高く、血管新生や神経再生に対してより高い効果が期待されている。本研究では、薬剤抵抗性重症EDへの治療応用を目指し、ヒト骨髄由来CD133陽性細胞移植による陰茎海綿体の組織再生効果について検討した。</p> <p>8週齢雄ヌードラットの片側陰茎白膜（2×2 mm）を陰茎海綿体と一塊に切除し、陰茎海綿体損傷モデルを作成した。切除したのみの群（切除群、n=8）に加えて、切除部位に足場としてアルギン酸ゲルシートを貼付した群（シート群、n=6）、貼付したシートにCD133陽性細胞を移植した群（CD133移植群、n=9）、およびsham手術を施行した群（対照群、n=5）を設定した。12週後（20週齢）の時点で、major pelvic ganglionの電気刺激を行い、陰茎海綿体内圧（intracavernous pressure; ICP）と平均動脈圧（mean arterial pressure; MAP）の比を測定し、陰茎海綿体再生の程度を機能的に評価した。再生した組織をH.E.染色標本で、抗α-smooth muscle actin（α-SMA）抗体および抗S-100抗体を用いた免疫染色により、血管平滑筋およびシュワン細胞など神経細胞の再生を評価した。再生メカニズムを解明するために、CD133移植群およびシート群において、アルギン酸ゲルシートを移植後4日目に摘出し、定量リアルタイムPCR法により血管内皮増殖因子（Vascular endothelial growth factor; VEGF）や神経成長因子（Neural growth factor; NGF）</p>			

の発現を解析した。

ICP/MAPの平均値は、切除群  $0.0580 \pm 0.0831$ 、シート群  $0.2564 \pm 0.0960$ 、CD133 移植群  $0.3426 \pm 0.0831$ 、対照群  $0.3723 \pm 0.1051$  であった。シート群の ICP/MAP は切除群と比較して有意な改善を認めなかったが ( $P=0.1318$ )、CD133 移植群および対照群の ICP/MAP は切除群に比較して有意に高く (CD133 移植群  $P=0.0238$ 、対照群  $P=0.0280$ )、CD133 陽性細胞移植による機能的再生効果が示唆された。

H.E.染色標本では、切除群とシート群において組織欠損部は線維化組織に置き換えられており、陰茎海綿体の組織再生を認めなかったが、CD133 移植群では対照群と同等の組織再生を認めていた。抗  $\alpha$ -SMA 抗体および抗 S-100 抗体による免疫染色では、切除群において血管平滑筋や神経組織はほとんど認められなかった。シート群では血管平滑筋や神経組織はほとんど再生されておらず、構造も対照群と異なっていた。CD133 移植群においては、血管平滑筋や静脈洞も再生されており、静脈洞の外側に神経組織も再生されていた。NGF および VEGF の定量リアルタイム PCR 法による解析では、CD133 移植群はシート群よりも NGF ( $P=0.0309$ ) および VEGF ( $P<0.0001$ ) の有意な発現上昇を認めた。以上の結果より、ラット内因性の growth factor の upregulation により、陰茎海綿体の組織再生が促進されたことが示唆された。

CD133 移植群は対照群と同等の陰茎海綿体の機能的および組織学的な再生効果を認めた。CD133 陽性細胞は、VEGF や NGF の分泌による間接的な作用により再生を促進し、血管新生や神経再生が実現した可能性が考えられた。

以上の結果から、本論文は、ヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞移植が、陰茎海綿体再生に関する新規的な治療選択肢になりうることを示された。よって審査委員会委員全員は本論文が井上省吾氏に博士 (医学) の学位を授与するに十分な価値あるものと認めた。

学力確認の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士 ( 医学 )	氏名	井上 省吾												
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1・②項該当														
<p>論文題目                  Regeneration of rat corpora cavernosa tissue by transplantation of CD133+ cells derived from human bone marrow and placement of biodegradable gel sponge sheet.                  (ヒト骨髄由来 CD133 陽性細胞移植とアルギン酸ゲルシートを用いた新たなラット陰茎再生)</p>															
<p>試問担当者</p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 20%;">主 査</td> <td style="width: 20%;">教授</td> <td style="width: 40%;">有廣 光司</td> <td style="width: 20%; text-align: right;">印</td> </tr> <tr> <td>審査委員</td> <td>教授</td> <td>工藤 美樹</td> <td></td> </tr> <tr> <td>審査委員</td> <td>准教授</td> <td>仲 一仁</td> <td></td> </tr> </table>				主 査	教授	有廣 光司	印	審査委員	教授	工藤 美樹		審査委員	准教授	仲 一仁	
主 査	教授	有廣 光司	印												
審査委員	教授	工藤 美樹													
審査委員	准教授	仲 一仁													
<p>[学力確認の結果の要旨]</p> <p style="text-align: center;">判 定 合 格</p> <p>上記 3 名の審査委員会委員全員が出席のうえ、平成 29 年 8 月 3 日の第 70 回広島大学研究科発表会 (医学) 及び平成 29 年 7 月 24 日本委員会において最終試験を行い、主として次の試問を行った。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1 CD133 陽性細胞がもたらす陰茎再生の機序、特に直接分化についての検討</li> <li>2 ラット移植後の CD133 陽性細胞の残存個数や日数などの評価</li> <li>3 陰茎再生を促進させる間接的要因における CD133 陽性細胞の関わり</li> <li>4 CD133 陽性細胞移植の検索時期に関する評価および妥当性</li> <li>5 陰茎組織評価のため、免疫染色で使用した抗体や検索の方法</li> </ol> <p>これらに対して極めて適切な解答をなし、本委員会が本人の学位申請論文の内容及び関係事項に関する本人の学識について試問した結果、本学大学院博士課程を修了して学位を授与される者と同様以上の広い学識を有することを全員一致で確認した。</p> <p>なお、本人は平成 28 年 8 月 22 日に施行した学位審査に伴う外国語試験 (英語) に合格している。</p>															