

令和 2 年 6 月 3 日現在

機関番号：23903

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K11205

研究課題名(和文) 抗がん剤ドキシソルビシンによる勃起障害の発症メカニズムとその治療法の探索

研究課題名(英文) Influence of Doxorubicin on Erectile Function of Rats

研究代表者

木村 和哲 (Kimura, Kazunori)

名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・教授

研究者番号：00423848

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：ドキシソルビシンの投与量や回数が増加するにつれ、勃起障害を発症する可能性が示唆された。また、DOX投与群では精巣の萎縮を伴うテストステロン欠乏症を発症することが示された。これに対し、テストステロン補充療法ではラットの勃起機能が改善されなかったことから、テストステロン低下がDOX投与による勃起障害の直接的な原因とはなっていないことが考えられる。一方、本研究ではアントラサイクリン系抗悪性腫瘍剤の血管外漏出に対する治療薬dexrazoxaneを前投与することによりラットの勃起機能を改善させることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまで抗がん剤による男性性機能への影響に関しては研究が皆無であり、学会報告も存在しないのが現状である。また、現時点ではガイドラインが存在せず、申請者が現在進行している研究が世界で初めて実施されるプロジェクトである。

申請者らのドキシソルビシンを用いた研究により、勃起障害およびテストステロン欠乏症の発症の可能性が示唆された。ドキシソルビシンは小児がんや血液腫瘍に対して汎用されており、可及的速やかに詳細な解明が必要である。本研究により、抗がん剤治療後の男性性機能に関するガイドライン作成の発端となることが期待される。

研究成果の概要(英文)：It was suggested that erectile dysfunction (ED) may develop as the dose and frequency of doxorubicin (DOX) increase. In addition, it was also shown that testosterone deficiency with testicular atrophy develops in the DOX group. Testosterone replacement therapy did not improve the erectile function in rats, so it is considered that testosterone decline was not a direct cause of ED caused by DOX administration.

On the other hand, in this study, it was shown that pretreatment with dexrazoxane improves the erectile function in rats.

研究分野：医療薬学

キーワード：抗がん剤 テストステロン ドキシソルビシン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

日本人の2人に1人はがんになると言われる程がんは身近なものであるが、近年の診断技術の発展や治療法の進歩も伴い、今やがんは不治の病ではなくなりつつある。本邦ではがんサバイバーが500万人存在し、現在のがん治療においては、がん罹患後のサバイバーシップにまで視野に入れたケアプランの構築が必要である。

がんサバイバーの性に関するガイドラインは『乳がん患者の妊娠出産および生殖医療に関する診療の手引き(2014年版)』が出版されたが、乳がん以外が対象のガイドラインはない。また、抗がん剤が男性性機能へ及ぼす影響に関する論文もほとんど存在せず、その影響は不明である。

そこで申請者らは、抗がん剤による男性性機能への影響を解明する研究プロジェクトを開始することにした。先行研究として、オキサリプラチンやビンクリスチン、パクリタキセルなどの末梢神経障害を副作用として特徴を有する抗がん剤がラットの男性性機能に及ぼす影響を検討した。興味深いことに、いずれの抗がん剤においても男性性機能障害を発症した。がんサバイバーのQOL向上のため、我々の得意分野を生かして更なる研究プロジェクトの発展が必要である。

抗がん剤の中でもドキソルビシンは男性ホルモン受容体の阻害作用を有し、心筋を老化させることが報告されている⁴⁾。ドキソルビシンは小児がんや血液腫瘍に対して汎用される抗がん剤である。そのため、将来の男性性機能に及ぼす影響が懸念されるが、添付文書に記載されていない。ドキソルビシンが男性ホルモン受容体を介して男性性機能へ及ぼす影響は十分考えられ、がんサバイバーのQOL向上のために詳細な検討が必要である。

2. 研究の目的

小児がんや血液腫瘍に用いられる抗がん剤のドキソルビシンが男性性機能へ及ぼす影響、およびその発症メカニズムを男性ホルモンに着目して解明することを本研究の目的とした。

3. 研究の方法

本研究では性成熟が完了した12週齢の雄性Wistar/STラットを用い、ドキソルビシン(DOX)投与群と生理食塩液(vehicle)のみ投与するControl群の2群を作成し、抗がん剤の勃起機能へ及ぼす影響を評価した。

DOXが性機能へ及ぼす影響を調べるため、1 mg/kg, 2 mg/kg, 3 mg/kgの3段階の濃度を1週間に1度、尾静脈投与し、4週間後の勃起機能を評価した。また、DOXの経時的な影響を調べるため、前述の測定で勃起機能が低下した濃度を用いて、1, 2, 4週間を研究期間とし、各観察期間終了時点においてラットの勃起機能を評価した。

さらにDOX投与群に対し男性ホルモン(T)を投与するDOX+T群を作成し、4週間の時点における勃起機能への効果を検討した。

陰茎海綿体内圧(ICP)測定法を用いてラットの勃起機能をin vivoで評価した。ICP測定法ではイソフルランを用いて麻酔をかけ、麻酔下のラットの左総頸動脈を露出させ血管内に左総頸動脈カニューレを挿入し、二重結紮により固定を行い、動脈圧を測定した。動脈圧の測定には50 U/L heparinで満たしたpolyethylene (PE)-50チューブをカニューレとして用い、圧トランスデューサー(PowerLab 2/26, ADInstruments, CO USA)に接続して動脈圧をモニターした。左側陰茎脚を露出させ、23 G注射針付きカニューレを陰茎脚から挿入し、アロンアルファハイスピードEXで固定し、ICPを測定した。ICPの測定には50 U/L heparinで満たしたPE-50チューブの先端に23G注射針を接続したものをカニューレとして用い、圧トランスデューサーに接続してICPをモニターした。陰茎内の圧力をモニターし、前立腺付近に存在する海綿体神経を5 V, Duration 5 msecの条件にセットしたElectronic Stimulator (Nihon Kohden Co, Tokyo Japan)で双極形鉤電極(Unique Medical Co, Osaka Japan)を用いて1-16 Hzの条件で各1分間電気刺激を行い、ICPの変動をモニターした。動脈圧とICPはChart & Scope (ADInstruments)を用いて記録、解析した。測定されたICPの最大値を動脈圧の平均血圧(mean arterial pressure; MAP)で割ったICP/MAPをラットの勃起機能評価の指標とした。

ラットから陰茎を摘出し、4℃に冷やしたKrebs溶液(mM: NaCl 119, KCl 4.6, CaCl₂ 1.5, MgCl₂ 1.2, NaHCO₃ 15, D-glucose 11 and NaH₂PO₄ 1.2)中で白膜を取り除き、長さ約1 cmの陰茎海綿体だけの標本作製した。陰茎海綿体標本を95% O₂ - 5% CO₂で通気した37℃のKrebs溶液で満たしたマグナス管に固定した。陰茎海綿体標本的一端をセルフインで固定し、他端を圧トランスデューサー(PowerLab 2/25, ADInstruments)の先端に糸で接続して固定し、張力変動をモニターした。陰茎海綿体標本に500 mgの基礎張力を負荷し、張力が定常状態に達するまで1時間以上安定化させた。80 mM high potassium solution (mM: NaCl 36.7, KCl 80, CaCl₂ 2.2, MgCl₂ 1.2, NaHCO₃ 25, D-glucose 14 and KH₂PO₄ 1.2)を用いて収縮力を確認した後、10⁻⁵ M NA (DL-Norepinephrine hydrochloride; Sigma Aldrich, MO USA)で前収縮させた標本にacetylcholine(ACh; Sigma Aldrich)およびsodium nitroprusside (SNP: sodium nitroferricyanide(III) dehydrate; Sigma Aldrich)を10⁻¹⁰ - 10⁻⁴ Mの範囲で累積投与し、その弛緩力を測定した。AChおよびSNPによる弛緩力の測定には、10⁻⁵ M NAで収縮させた張力に対する割合を用いて解析した。

4. 研究成果

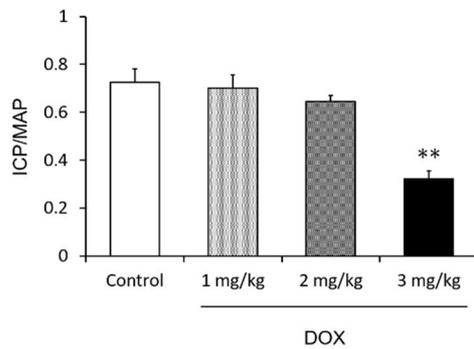


図 1. 投与量毎の勃起機能の変化

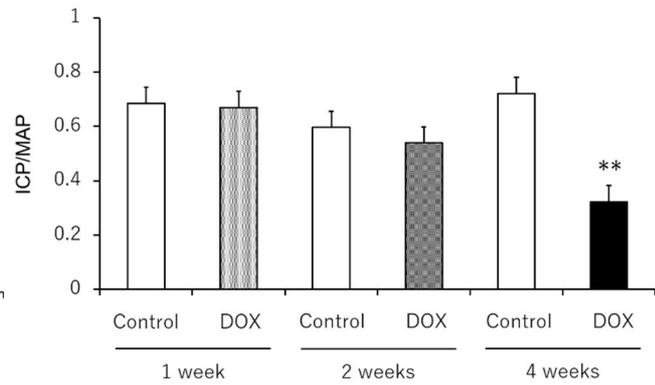


図 2. 投与期間の違いによる勃起機能の変化

DOX の投与量毎におけるラットの勃起機能の変化を図 1 に示した。DOX を 4 週間投与した際、1 mg/kg と 2 mg/kg では ICP/MAP は低下せず、ラットの勃起機能に変化は生じなかった。一方、3 mg/kg 投与した場合、ICP/MAP が有意に低下し、ラットの勃起機能を低下させる可能性が示唆された。

次に図 2 に示すように 3 mg/kg の投与量で経時的なラットの勃起機能の変化を検討したところ、2 週目までは ICP/MAP は変化しなかったが、4 週目に ICP/MAP が有意に低下し、勃起機能が低下する可能性が示唆された。また、4 週間 DOX を 3 mg/kg の投与量で投与したラットより摘出した陰茎海綿体を用いて、等尺性張力を行ったところ、NO ドナーである SNP に対する弛緩反応に変化は見られなかったが、ACh に対する弛緩反応が有意に低下した。これらの結果より、DOX 投与による勃起障害の発症には血管内皮機能障害が関連する可能性が示唆された。

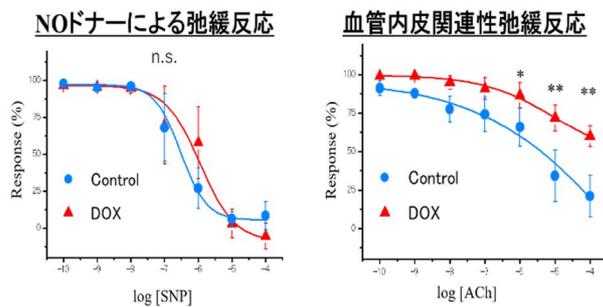


図 3. 陰茎海綿体を用いた等尺性張力測定

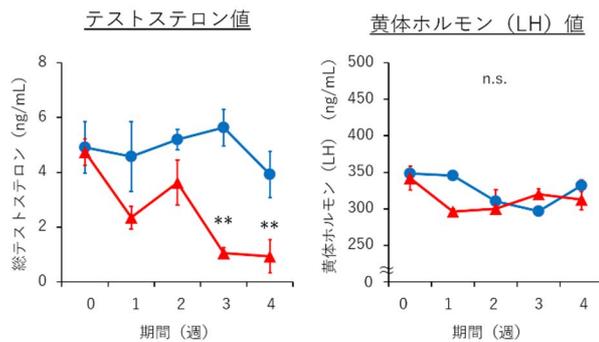


図 4. DOX 投与後の性ホルモン濃度の変化

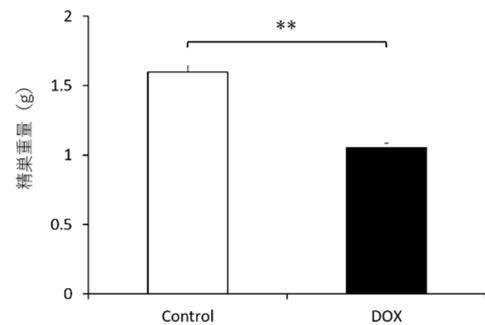


図 5. DOX 投与後の精巣重量

また、DOX 投与後の性ホルモンの濃度の変化 (図 4) と精巣重量の変化 (図 5)、精巣におけるテストステロン産生因子の PCR 結果 (図 6) を示す。DOX 投与後、3 週目以降にテストステロン値の有意な低下が観察された。一方、黄体ホルモン変化が見られなかった。DOX 投与群では有意な精巣重量の低下が観察され、さらに精巣におけるテストステロン産生に参与する酵素類の mRNA 発現量が有意に低下することが示された。これらの結果より、DOX 投与による勃起障害にテストステロン低下が関与することが考えられる。

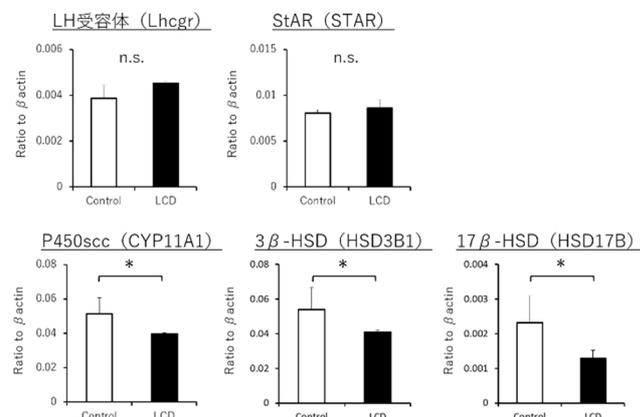


図 6. 精巣中テストステロン産生因子の PCR 測定結果

そこで次に、DOX 投与群に対してテストステロンを投与して勃起機能に与える効果を検討した。テストステロン含有チューブをラットの皮下に埋め込み、4 週間テストステロン補充療法を行った結果を図 7 に示した。ICP 測定の結果、DOX 群に対してテストステロンを投与しても ICP/MAP は変化せず、ラットの勃起機能は低下したままであった。DOX 投与により、テストステロン低下を引き起こすことは前述の結果で示唆されているが、DOX 投与による勃起機能の発症にはテストステロンとは異なった経路が原因であることが示唆される。

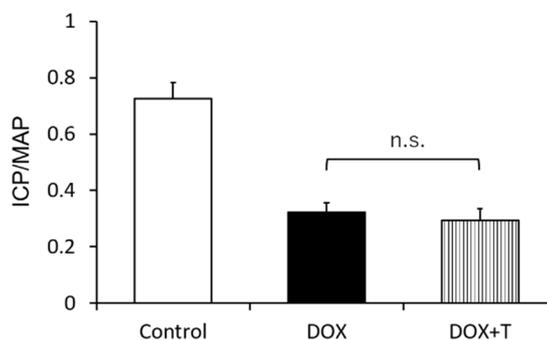


図 7 . テストステロン投与による効果

テストステロン補充療法に代わる新規治療法を見出すため、DOX 投与による心毒性の軽減に有用であると報告されている dexrazoxane (DEX) を検討した。DEX はアントラサイクリン系抗悪性腫瘍剤の血管外漏出治療剤として適応があり、近年では DEX を全投与することで DOX に伴う酸化ストレスを軽減することが報告されている。そこで、DOX 投与の 30 分前に DEX 60 mg/kg を静脈投与した。4 週間の観察期間終了後の ICP 測定結果を図 8 に示した。DOX 投与群に対して DEX を前投与したラットでは ICP/MAP が有意に上昇し、Control 群と同程度までラットの勃起機能が改善することが示唆された。

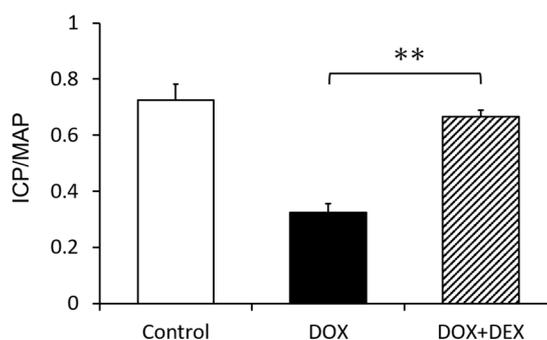


図 8 . DEX 投与による効果

以上の研究成果より、DOX の投与量や回数が増加するにつれ、勃起障害を発症する可能性が示唆された。また、DOX 投与群では精巣の萎縮を伴うテストステロン欠乏症を発症することが示された。これは、テストステロン補充療法ではラットの勃起機能が改善されなかったことから、テストステロン低下が DOX 投与による勃起障害の直接的な原因とはなっていないことが考えられる。しかし、テストステロン低下は精巣における精子産生を低下させるため、将来の不妊症や様々なテストステロン関連疾患の原因になる可能性があるため、DOX 投与に伴うテストステロン低下も予防することが重要である。

一方、本研究では DOX をはじめとするアントラサイクリン系抗悪性腫瘍剤の血管外漏出に対する治療薬である DEX を前投与することで、ラットの勃起機能を改善させることが示された。DEX の予防投与により、将来の性機能障害発症リスクを軽減させる可能性が示唆される。引き続き、DEX の作用メカニズムを詳細に検討し、がんサバイバーの QOL 向上に努めたい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 片岡智哉, 真川明将, 鈴木純, 中島晃, 堀田祐志, 前田康博, 木村和哲
2. 発表標題 ドキシソルピシン投与後の勃起障害発症メカニズムの薬理的検討
3. 学会等名 日本アンドロロジー学会第38回学術大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 片岡智哉, 真川明将, 鈴木純, 中島晃, 堀田祐志, 前田康博, 木村和哲
2. 発表標題 抗がん剤治療がラットの性腺機能へ及ぼす影響-男性性機能低下を及ぼす薬剤投与後の男性ホルモン濃度の検討
3. 学会等名 第29回日本医療薬学会年会
4. 発表年 2019年

〔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	片岡 智哉 (Kataoka Tomoya) (20737928)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(医学)・講師 (23903)	
研究分担者	堀田 祐志 (Hotta Yuji) (90637563)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院(薬学)・講師 (23903)	

6. 研究組織（つづき）

	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	前田 康博 (Maeda Yasuhiro) (60275146)	藤田医科大学・共同利用研究設備サポートセンター・准教授 (33916)	
研究分担者	川出 義浩 (Kawade Yoshihiro) (20738439)	名古屋市立大学・薬学総合研究院（医学）・准教授 (23903)	