

平成 22 年 3 月 15 日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19590153  
 研究課題名（和文） 外傷による動脈性勃起障害の病態解明－新しい薬物療法の確立をめざして－  
 研究課題名（英文） Clarification of erectile function in injured men with arteriogenic erectile dysfunction. – The establishment of a new drug therapy –  
 研究代表者  
 木村 和哲 (KIMURA KAZUNORI)  
 名古屋市立大学・大学院薬学研究科・教授  
 研究者番号：00423848

研究成果の概要：我々はラットの動脈性 ED (erectile dysfunction) モデルを用いて、  
 vardenafil 慢性投与による ED 改善メカニズムを血流動態学および組織学面から検討した。勃  
 起機能の評価は海綿体神経刺激による海綿体内圧変化を調べた。その結果、vardenafil 投与に  
 よって陰茎海綿体への側副血行路の発達と海綿体平滑筋の構造保持が確認され、動脈性 ED ラッ  
 トの勃起機能が改善された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2008 年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,300,000	690,000	2,990,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・医療系薬学

キーワード：nitric oxide、erectile dysfunction、陰茎海綿体、phosphodiesterase-5 阻害剤、  
動脈性 ED

## 1. 研究開始当初の背景

限局性の動脈血管病変により、どの程度陰  
 茎海綿体平滑筋が影響を受けているかは不  
 明な部分が多くある。これらを解明するこ  
 とで、外科的治療法や海綿体トレーニングに代  
 わる新しい治療法の基盤となるエビデンス  
 を発掘する。受傷直後から連続的に陰茎海綿  
 体を拡張、虚血状態から開放してやれば、低  
 酸素状態による陰茎海綿体のダメージを最  
 小限に抑えることができ、動脈性 ED を非侵  
 襲的に治療できる可能性がある。

## 2. 研究の目的

(1)限局的な動脈閉塞に伴う動脈性 ED の病  
 態解明を目指し、内腸骨動脈を結紮して陰茎  
 への血液流入を制限したウサギを用いて海  
 綿体の弛緩反応を解析する。

(2) 内腸骨動脈結紮による動脈性 ED モデル  
 ラットを作成し vardenafil の「連続」投与の  
 有効性とその作用機序について明らかにす  
 る。

### 3. 研究の方法

(1) 雄性 NZW ウサギを pentobarbital sodium 30 mg/kg で麻酔後、両側の内腸骨動脈を総腸骨動脈および静脈と剥離し、総腸骨動脈との分岐部にて縫合糸を用いて結紮を行った。結紮 3 日後、1 週間後、4 週間後に陰茎を摘出した。

#### ①陰茎長測定による陰茎勃起試験

覚醒状態のウサギにおいて薬物投与前の陰茎長を測定し、vardenafil 3 mg/kg を経口投与して 60 分間放置した。60 分後、sodium nitroprusside (SNP) 0.2 mg/kg を耳介静脈から静注し、2 分おきに陰茎長を測定した。薬物投与後の最大陰茎長を薬物投与前の陰茎長で除した値を最大陰茎伸長率として算出した。

#### ②陰茎海綿体張力測定

張力測定は isometric tension study にて行った。Acetylcholine (ACh, 内皮細胞を介する弛緩)、SNP (NO/cGMP 経路を介する弛緩) および electrical field stimulation (EFS, NO 作動性神経を介する弛緩) による弛緩反応を測定した。

#### ③海綿体内 NOS mRNA 発現

RT-PCR 法を用いて、各種 NOS mRNA の発現変動について検討した。

#### ④海綿体組織染色

Azan 染色を行い、平滑筋、コラーゲンおよび空洞構造 (シヌソイド) の面積比を算出した。

(2) 8 週齢雄性 Wistar-ST ラットを用いた。動脈性 ED モデルラットは両側の内腸骨動脈を結紮することで作成した。コントロールには、下腹部を開腹、縫合のみの sham 手術を施したラットを用いた。

#### ①勃起機能評価のため海綿体内圧測定

手術から、3 日間、1 週間、4 週間後に、海綿体神経刺激による海綿体内圧 (ICP) の変動を測定した。刺激後の ICP の最大値 (max ICP) を平均血圧 (MAP) で除した max ICP / MAP により勃起機能の評価した。

また、vardenafil 投与群は、低用量群と高用量群の 2 群作成した。投与は結紮手術の 1 週間後から 20 日間、強制経口投与した。投与後、休薬期間を 1 日設け ICP を測定した。

#### ②各種 NOS mRNA の定量

ICP 測定後、ラットから陰茎を摘出した。3 日間後、1 週間後の各群の組織は各種 NOS mRNA の定量 (real-time PCR 法) に用いた。また、4 週間後の各群の組織は各種 NOS mRNA の定量と組織学的検討 (HE 染色・免疫染色) に用いた。

### ③骨盤内血管造影

手術から 4 週間後の各群のラットに骨盤内血管造影 (Digital Substraction Angiography; DSA) を施行した。

### 4. 研究成果

#### (1) ウサギを用いた実験

##### ①陰茎勃起試験

結紮 1 週間後に最大陰茎伸長率の低下傾向が見られたが、結紮 4 週間後には結紮手術前とほぼ同程度にまで回復した (図 1)。

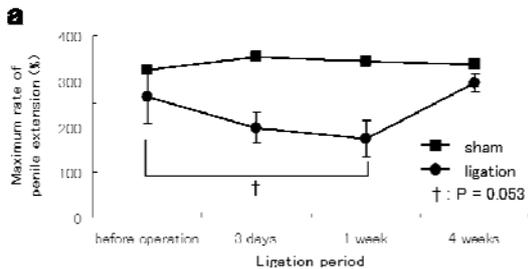


図 1 ウサギの陰茎勃起試験

##### ②ACh による弛緩反応

結紮後 1 週間有意に減少したため、結紮後早期に内皮機能障害が生じる可能性が示された。このことは、内皮型 NOS (eNOS) mRNA 発現が結紮 1 週間後の組織において確認できなかったことから示唆される。しかし、陰茎勃起試験と同様に結紮 4 週間後には、ACh による弛緩反応および eNOS mRNA 発現の回復が見られた (図 2)。これら結紮後 4 週間での弛緩機構の回復には側副血行路の発達が疑われ、これは陰茎勃起試験の回復も説明するかもしれない。

d : comparison with three ligation groups

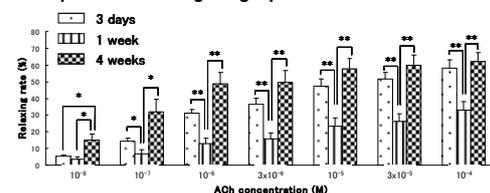


図 2 ウサギ陰茎海綿体の収縮弛緩

##### ③陰茎海綿体における NOS mRNA 発現の変化

nNOS mRNA の発現においては、normal 群と各結紮群を比較しても明らかな変動は見られなかった。しかし、eNOS においては結紮 3 日後の組織でかろうじて発現が確認できたものの、結紮 1 週間後の組織ではほとんど発

現を確認出来ないまでに減少していた。さらに結紮が4週間に及ぶと、再びeNOS mRNAの発現が確認された(図3)。

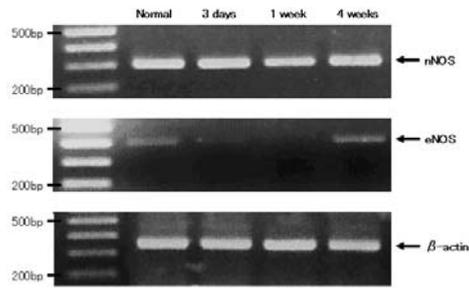


図3 各種 NOS mRNA

#### ④陰茎海綿体における組織学的変化

組織染色により全ての結紮群において海綿体内の平滑筋/コラーゲン比が減少していた。このことから結紮後すぐに線維化が進行し始める可能性が示された。線維化が進行すると海綿体平滑筋の弾性が失われるだけでなく、勃起に必要な静脈閉鎖機構が十分に働かなくなる可能性もある。

以上のウサギを用いた実験結果から、結紮に伴う虚血早期からの海綿体内皮障害と組織の線維化が明らかとなった。しかし生体内の代替機構による内皮機能の回復が確かめられたため、このことが外傷性動脈性 ED 患者の新たな治療法の足がかりとなることを期待する。

#### (2) ラットを用いた実験

##### ①海綿体内圧 (ICP) の変動

ICP 測定の結果から、コントロール群に比べ結紮群では、手術から3日間後に勃起機能の低下が見られ4週間後も低下していた(図4)。

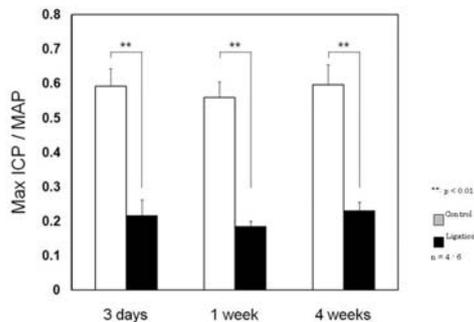


図4 ICP 測定

Vardenafil 低用量群(VL)、高用量群(VH)共に勃起機能の回復傾向が見られた(図5)。投与量は、低用量群では0.4 mg vardenafil HCl / kg、高用量群では4.0 mg vardenafil HCl / kgとした。

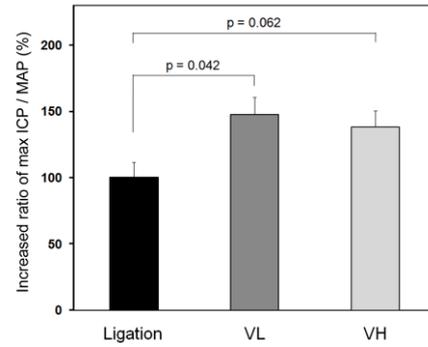


図5 Vardenafil による勃起機能の回復

##### ②Real-time PCR 解析と免疫染色

コントロール群に比べ、結紮群では eNOS mRNA 量は変化が見られなかったが、nNOS mRNA 量は減少していた。また、vardenafil 低用量群、高用量群の eNOS、nNOS mRNA 量は結紮群と同様だった。免疫染色の結果、4週間後のコントロール群、結紮群、vardenafil 低用量群、高用量群の間に平滑筋含量に著名な差は見られなかった。結紮から4週間後では変化がなかったが、虚血状態がより長期間に渡ると平滑筋含量は減少するかもしれない。

##### ③DSA の結果

結紮群、vardenafil 低用量群、高用量群では内腸骨動脈への血流の遮断が確認された。Vardenafil 低用量群、高用量群で正中仙骨動脈の発達が見られた。Vardenafil により内皮の回復や血管新生に関わる内皮前駆細胞が増加することから陰茎周囲の末梢血管も発達していると考えられる。

##### ④TGF β 含量

結紮群で上昇したが、vardenafil 高用量群で有意な低下が見られた。

ラットの実験結果から、vardenafil 連続投与により勃起機能は回復傾向を示すことが明らかになった。また、vardenafil 連続投与による今回の勃起機能の回復には、陰茎周囲の血行動態の改善と、それに伴う陰茎海綿体の線維化抑制が大きく寄与していると考えられる。

#### 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計8件)

1. 木村和哲、陰茎虚血モデルを用いた動脈性 ED の病態解明、第60回名古屋市立大学医学会総会 特別講演、2009年12月6日、名古屋
2. Yuji Hotta, The mechanisms of the

improvement of arteriogenic erectile dysfunction by chronic vardenafil treatment, 12<sup>th</sup> ヨーロッパ性機能学会, 2009年11月16日, リヨン.

3. Yuji Hotta, The probability of chronic vardenafil administration as a new therapy for arteriogenic ED, 第13回 ISSM, 2008年11月7日, ブリュッセル.

4. Abe Yuko, changes of endothelial function followed by Focal arterial occlusion in isolated rabbit penile erectile tissue, 第13回 ISSM, 2008年11月7日, ブリュッセル.

5. 木村和哲, 陰茎虚血モデルを用いた動脈性 ED の病態解明 教育講演、第20回日本性機能学会、2008年9月5日、秋田.

6. 木村和哲、内腸骨動脈結紮による陰茎海綿体の各種 NOS 遺伝子の発現変動と勃起機能への影響、第18回日本性機能学会中部総会、2008年7月26日、神戸.

7. 阿部裕子、陰茎における虚血がもたらす影響、日本薬学会第128年会、2008年3月28日、横浜.

8. 堀田祐志、ラットの内腸骨動脈結紮による陰茎海綿体への影響、日本薬学会第128年会、2008年3月28日、横浜.

[その他]

ホームページ等

[http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/research\\_course/res\\_course19.html](http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/research_course/res_course19.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

木村 和哲 (KIMURA KAZUNORI)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号：00423848

### (2) 研究分担者

大矢 進 (OHYA SUSUMU)

名古屋市立大学・大学院薬学研究科・准教授

研究者番号：70275147