

令和 5 年 6 月 14 日現在

機関番号：32525

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K09563

研究課題名（和文）抗がん剤に伴う難治性勃起障害の新規治療ターゲットの探求

研究課題名（英文）Investigation of new targets for the erectile dysfunction caused by anti-cancer drugs.

研究代表者

片岡 智哉（Kataoka, Tomoya）

千葉科学大学・薬学部・准教授

研究者番号：20737928

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：医療技術の向上に伴い抗がん剤の治療成績も向上しているが、抗がん剤による晩期合併症の対策が課題である。先行研究により、勃起障害（ED）を発症する抗がん剤を導出することができ、休薬後も遷延することが明らかとなった。そこで本研究では難治性EDに対する新規の治療ターゲットを明らかにすることを目的とした。

抗がん剤のビンクリスチンに伴うEDに対しては、2種類の物質XとYにより血管機能の改善を介した勃起機能の改善が観察された。一方、抗がん剤のドキソルビシンに伴うEDに対しても、2種類の物質ZとTにより有意な勃起機能の改善が観察された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、抗がん剤治療後の勃起障害（ED）に対する新規治療ターゲットを導出することができ、治療のシーズを発見することができた。引き続き、詳細なメカニズムの解明が必要であるが、将来の治療への応用が期待される。

現在、がん治療成績が向上しており、抗がん剤治療後も生存し続けるがんサバイバーが増加しているが、晩期合併症の対策は遅れているとされている。本研究により、抗がん剤治療後のEDを含めた性機能障害の改善効果が得られれば、がんサバイバーの生命の質（QOL）の向上が期待される。

研究成果の概要（英文）：With the development of medical technology, the results of treatment with anti-cancer drugs have improved, but countermeasures against late complications due to anti-cancer drugs remain a challenge. Our previous research has revealed that anti-cancer drugs that cause erectile dysfunction (ED) can be derived and that it persists even after drug withdrawal. Therefore, the purpose of this research was to clarify a novel therapeutic target for refractory ED caused by anti-cancer drugs.

For ED caused by the anti-cancer drug vincristine, we have found that two substances X and Y were observed to improve erectile function through improvement of vascular function. On the other hand, we also have found that two substances Z and T significantly improved erectile function in ED caused by the anticancer drug doxorubicin.

研究分野：泌尿器科薬理学

キーワード：勃起障害 抗がん剤 晩期合併症 性機能障害 平滑筋 性ホルモン

## 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ほど、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。世界規模でもがんサバイバーは年々増加しており、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重要視されている。

抗がん剤による男性性機能への影響を明らかにした報告はなく、我々は世界に先駆けて、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した。先行研究として、米国食品医薬品局 (FDA) が公開している大規模副作用報告データベース (FAERS) を用いて勃起障害 (ED) を発症させる可能性のある抗がん剤を導出したところ、上市されている殺細胞性抗がん剤 38 種類のうち、Docetaxel、Doxorubicin、Melphalan、Methotrexate、Vincristine の 5 種類の抗がん剤でシグナルが検出された。

FEARS 解析の結果を裏付けるため、これらの抗がん剤をラットに投与して検討したところ、いずれの抗がん剤でも勃起機能を低下させることを明らかにした。これらの抗がん剤のうち、Melphalan と Methotrexate においては、抗がん剤投与後に一定期間経過すると勃起機能が改善することが示唆された。しかし、Doxorubicin、Docetaxel および Vincristine に関しては、休薬後も ED が遷延することも明らかとなった。これらの薬剤は前立腺がん治療や白血病治療のキー・ドラッグとなる薬剤であり、がんサバイバーの QOL 向上のために予防法の構築や治療法の開発など、効果的な対策が求められる。

### 2. 研究の目的

ED が遷延した難治性の ED を発症する可能性がある抗がん剤 (Vincristine: VCR、Docetaxel: DTX および Doxorubicin: DOX) 投与に伴う勃起機能低下のメカニズムを陰茎海綿体および海綿体神経への作用に着目して明らかにすることで、治療ターゲットの導出に結び付け、大規模データベース解析を応用した予防策を構築することを目的とした。

### 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、抗がん剤投与群と vehicle のみ投与する Control 群の各 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。抗がん剤投与群は VCR (0.1 mg/kg, iv.)、DTX (5 mg/kg, iv.) および DOX (3mg/kg, iv.) は毎週投与した。4 週間の観察期間を設け、安楽死させたラットより陰茎海綿体を摘出した。摘出した陰茎海綿体より mRNA を抽出した後、cDNA を合成した。生成した cDNA を用いてリアルタイム PCR 法を用いて各種勃起機能関連因子の発現変動を測定した。

変動がみられた因子を治療ターゲットとし、VCR 投与群には物質 X および物質 Y を毎週 1 回、経口投与し、VCR+X 群と VCR+Y 群を作成した。また、DOX 投与群に対しては、物質 Z を DOX 投与の 30 分前に尾静脈投与し、DOX+Z 群を作成した。さらに、DOX 投与群に対しては、物質 T を第 1 回目の DOX 投与後に皮下投与し、DOX+T 群を作成した。4 週間の観察期間を設け、ラットの勃起機能を評価した。

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。

また、ラットの陰茎海綿体を摘出し、等尺性張力測定を行った。4°C に冷却したクレブス液内で尿道や陰茎背側神経を除去し、陰茎海綿体のみを単離した。陰茎海綿体をマグナス装置に留置し、ノルアドレナリン (NA) による収縮力の変化を観察した。また、NA により前収縮させ、アセチルコリン (ACh) およびソディウムニトロプルシッド (SNP) による弛緩反応の変化を観察し、ラットの血管内皮機能を評価した。

#### 4. 研究成果

##### 4-1. VCR 投与群に対する物質 X および物質 Y 投与の検討

VCR を投与したラットでは、神経型一酸化窒素合成酵素 (nNOS) および内皮型一酸化窒素合成酵素 (eNOS) 発現の低下が観察された。そのため、VCR 投与による ED の発症には血管内皮機能の低下に加え、神経障害が関与する可能性が示唆された。そこで、血管新生および神経機能の改善効果が報告されている物質の投与を試みた。現在、上市されている薬剤のうち勃起機能の改善を目指した陰茎リハビリとしての有用性を鑑み、1週間に1度の内服で治療可能な同効薬2種類の物質 X と物質 Y の投与を実施した。

4週間の投与後、ラットの勃起機能を ICP 測定法により検討したところ、物質 X を投与したラットでは VCR 群に比べて有意な ICP/MAP の上昇が観察された (図 1)。一方、物質 Y を投与したラットでは上昇傾向が観察されたものの、有意な増加は観察されなかった。

ラットの陰茎海綿体を摘出し、リアルタイム PCR 法により、勃起関連因子を検討したところ、物質 X および物質 Y を投与したラットでは、増殖因子である VEGF や MCP-1 遺伝子の有意な増加が観察されるなど、ほとんどすべての因子において同様の発現変動が観察された。一方、物質 X を投与したラットでは nNOS の有意な増加が観察されたものの、物質 Y を投与したラットでは有意な変化が観察されなかった。そのため、同効薬である物質 X と物質 Y の効果の違いは神経機能の改善に差がある可能性が示唆された。

4週間の投与では有意な効果が観察されなかった物質 Y を継続して投与して検討したところ、8週間投与したラットでは ICP/MAP の有意な上昇が観察され、勃起機能の改善が期待されることが示唆された。

以上の結果より、同効薬の物質 X および物質 Y の投与が VCR 投与に伴う ED に対して有用である可能性が示唆された。

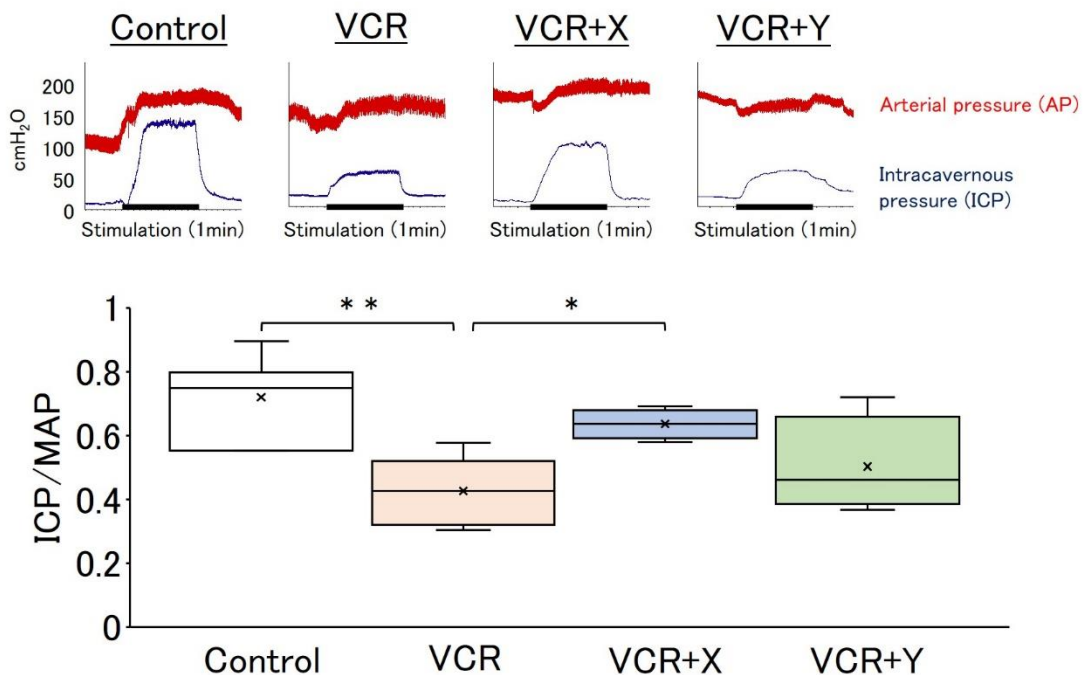


図 1. ビンクリスチン投与に伴う勃起障害に対する物質 X および物質 Y 投与の効果

##### 4-2. DOX 投与群に対する物質 Z 投与の検討

DOX は用量依存的に心毒性の副作用が引き起こされることが知られている。この DOX に伴う心毒性への対策として様々な試みが行われている。そこで、DOX 投与に伴う心毒性に対して効果がみられたと報告されている物質 Z 投与による効果を検討した。先行論文の方法を参考に、DOX 投与の 30 分前に物質 Z を投与し、DOX を投与して検討した。

4週間の観察期間終了後、ICP 測定によりラットの勃起機能を評価したところ、物質 Z を投与したラットでは DOX 群に比べて有意に ICP/MAP が上昇し、勃起機能が改善することが示唆された (図 2)。

物質 Z は DOX の投与に伴う心毒性に対してキレートを形成し、毒性を低下することで作用すると考えられている。また、物質 Z は毒性物質の作用を抑制するだけで、DOX による抗がん作用については阻害しないと報告されている。そのため、物質 Z の投与は心毒性だけでなく、勃起機能への影響についても副作用を軽減する効果が期待される。

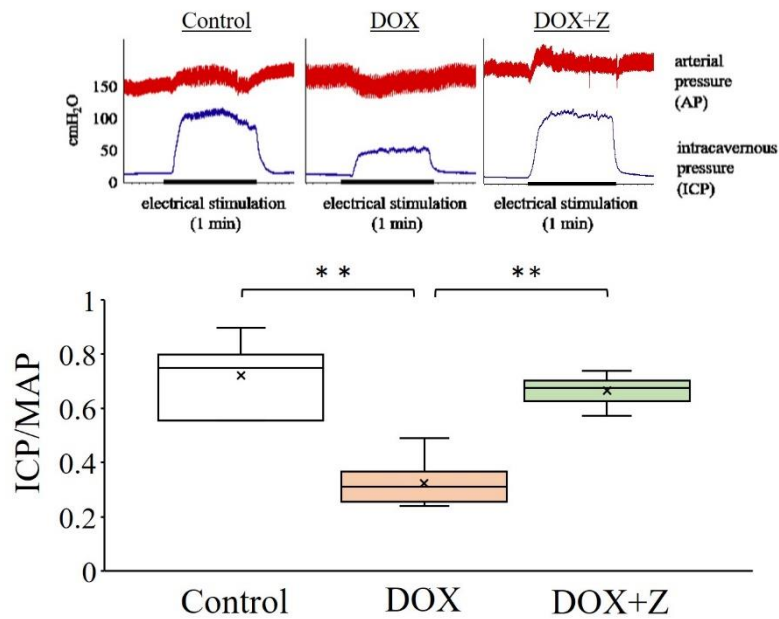


図2. ドキソルビシン投与に伴う勃起障害に対する物質Zおよび物質Y投与の効果

#### 4-3. DOX 投与群に対する物質T投与の検討

DOX 投与により、陰茎海綿体において酸化ストレスの増加と炎症性サイトカインの増加が観察された。また、DOX を投与したラットでは内因性の物質Tの有意な低下が観察された。物質Tが低下すると炎症性サイトカインの増加がみられ、血管内皮機能を低下させるとの先行研究の結果より、DOX 投与に伴うEDに対して、物質Tの投与を試みた。

4週間の観察期間終了後、ICP測定によりラットの勃起機能を評価したところ、物質Tを投与したラットではDOX群に比べて有意にICP/MAPが増加し、勃起機能の改善が観察された(図3)。

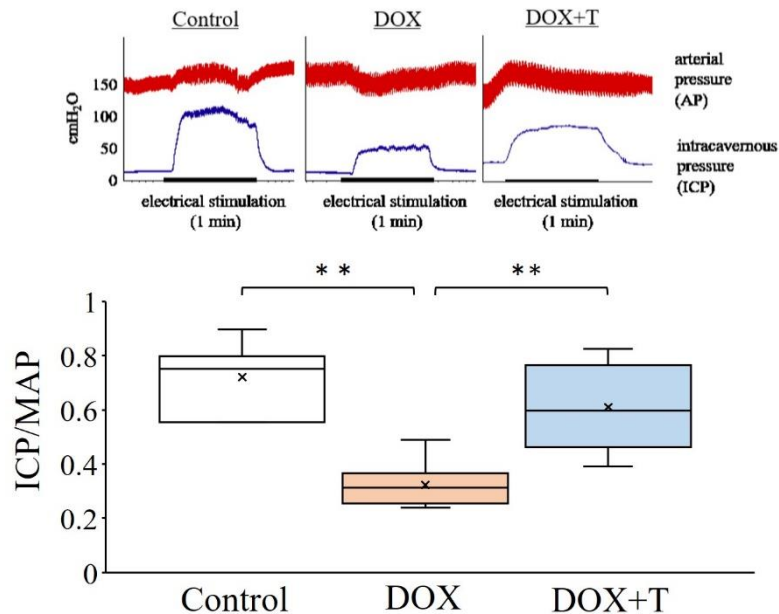


図3. ドキソルビシン投与に伴う勃起障害に対する物質T投与の効果

ラットより陰茎海綿体を摘出し、等尺性張力測定による血管内皮機能を評価したところ、物質Tを投与したラットではDOX群に比べて有意にAChに対する反応性が改善した。一方、SNPに対する反応性は3群間で変化がみられなかったことから、物質Tの投与により血管内皮機能が改善する可能性が示唆された。

さらに抽出した陰茎海綿体組織を用いてリアルタイム PCR 法による mRNA の発現変動を評価したところ、物質 T を投与したラットでは NADPH oxidase-1 の発現を有意に低下させた。また、IL-6 の発現も同様に低下させており、物質 T の投与により陰茎海綿体における酸化ストレスや炎症性サイトカインの低下をもたらす可能性が示唆された。一方、陰茎海綿体構造の形成への関与が示唆されている Cavin-1 および Cavin-2 について検討したところ、物質 T を投与したラットでは有意な発現上昇が観察された。さらに、Cavin-1 との関連性が示唆されている  $\alpha$ -SMA の発現も同様に物質 T の投与により有意な上昇が観察された。

以上の結果から、DOX 投与に伴う勃起機能の低下に対しては内因性の物質 T を補充することにより、ED の発症を予防することが可能であることが示唆された。今後は低下した勃起機能への物質 T の効果を検討する予定である。

## 5. まとめ

以上の研究成果により、抗がん剤投与に伴う ED に対する新規治療法の可能性が示唆された。本研究においてその効果が示唆された物質については、引き続き、詳細なメカニズムを明らかにし、臨床への応用を目指したい。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kataoka Tomoya, Sanagawa Akimasa, Suzuki Jun, Muto Tatsuya, Hotta Yuji, Kawade Yoshihiro, Maeda Yasuhiro, Tohkin Masahiro, Kimura Kazunori	4. 巻 10
2. 論文標題 Influence of anticancer agents on sexual function: An in vivo study based on the US FDA Adverse Event Reporting System	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Andrology	6. 最初と最後の頁 166 ~ 178
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/andr.13094	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kataoka Tomoya, Kawaki Yuto, Kito Yohei, Suzuki Jun, Mori Taiki, Hotta Yuji, Sanagawa Akimasa, Kawade Yoshihiro, Maeda Yasuhiro, Furukawa-Hibi Yoko, Kimura Kazunori	4. 巻 10
2. 論文標題 Gosha-Jinki-Gan Improved Erectile Dysfunction Caused by Anti-Cancer Agent Oxaliplatin by Decreasing Transcriptional Expression of Phosphodiesterase-5 in Rats	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Sexual Medicine	6. 最初と最後の頁 100484 ~ 100484
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.esxm.2021.100484	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kataoka Tomoya, Mori Taiki, Suzuki Jun, Kawaki Yuto, Kito Yohei, Hotta Yuji, Kawade Yoshihiro, Maeda Yasuhiro, Kimura Kazunori	4. 巻 18
2. 論文標題 Oxaliplatin, an Anticancer Agent, Causes Erectile Dysfunction in Rats due to Endothelial Dysfunction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Sexual Medicine	6. 最初と最後の頁 1337 ~ 1345
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsxm.2021.06.004	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔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	木村 和哲  (Kimura Kazunori)  (00423848)	名古屋市立大学・医薬学総合研究院 (医学)・教授    (23903)	

6. 研究組織（つづき）

	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	前田 康博  (Maeda Yasuhiro)  (60275146)	藤田医科大学・オープンファシリティセンター・准教授    (33916)	
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)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関