

平成 22 年 5 月 10 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19591884
 研究課題名（和文） ラット射精誘発モデルを用いた機能評価法の確立とその創薬ならびに副作用解析への応用
 研究課題名（英文） Establishment of the evaluation method for the ejaculatory function and its application to pharmacotherapy and side effect analysis
 研究代表者
 米沢 章彦（YONEZAWA AKIHIKO）
 東北薬科大学・薬学部・准教授
 研究者番号：30167738

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、「射精機能の定量的評価モデルの確立とその創薬ならびに副作用解析への応用」である。科学研究費の補助により、「ラットを用いた簡便かつ確実性・再現性の高い機能評価モデルの確立」に成功し、基礎における射精機能解析への道を開いた。更に、本モデルを用いて「セロトニンおよびドパミン受容体同時刺激による射精機能増強効果」を見出し創薬の方向性を決定するとともに、「前立腺肥大症治療薬の射精障害解析および糖尿病の射精障害解析とその予防」に関する研究に応用した。

研究成果の概要（英文）：The purpose of this study is the establishment of quantitative evaluation model for the ejaculatory function and its application to pharmacotherapy and side effect analysis. Obtained results by the support of KAKENHI are as follows. 1) We succeeded for the establishment of rat model for the quantitative evaluation of the ejaculatory function, which is a method with the convenient and high reproducibility. 2) By using this model, we found the very powerful enhancing effect by the simultaneous administration of 5-HT_{2C} receptor agonist and D₂ receptor agonist on ejaculation. 3) In addition, this model was applied to analysis and prevention of ejaculatory disorder induced by the pharmacotherapy for benign prostatic hypertrophy and the diabetes mellitus.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	600,000	180,000	780,000
2008年度	900,000	270,000	1,170,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
総計	2,400,000	720,000	3,120,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：アンドロロジー、射精障害、動物評価モデル、創薬、副作用、前立腺肥大症治療薬、糖尿病

1. 研究開始当初の背景

クエン酸シルデナフィルの登場が勃起不

全（ED）治療を飛躍的に進歩させ、この障害に苦しむ多くの男性に福音をもたらしたこ

とは周知の通りである。ひとつの創薬が治療の進展に大きく寄与した典型的な例である。現在も国内外で、新規 ED 治療薬の開発ならびに難治性 ED の克服に向けた基礎研究が進められており、ED 治療は確実に前進している。

一方、本研究課題である「射精」については未だその障害に対する有効な治療方法は確立されておらず、「The 2nd International Consultation on Sexual Medicine ; 2003 年」の治療指針においてもその明確な治療戦略は示されていない。これは薬物療法を柱とした治療方法が整備された ED とは大きく異なる。では、「どうして射精障害治療が ED のように進展しないのだろうか？」。申請者は、その最大の理由が「実験動物、特に小動物を対象とした機能評価法の欠如」にあると考えた。勃起機能には *in vitro* ならびに *in vivo* 系で実に多様な機能解析ならびに薬効評価法が存在し、臨床応用へのアプローチを容易にしている。クエン酸シルデナフィルを例にとると、海綿体平滑筋の弛緩反応 (*in vitro*) や海綿体神経電気刺激による陰茎海綿体内圧 (*in vivo*) など複数の指標が基礎評価に用いられ、得られた結果をもとに臨床応用へと進展している。これらの事実は基礎における機能評価が創薬において如何に重要かを強く物語っている。しかしながら、射精機能には適切な評価方法、特に小動物を対象とした機能評価モデルは確立されておらず、未だ手探りの治療が続いているのが現状である。

2. 研究の目的

本研究は、(1) 小動物を用いた簡便かつ確実性と再現性の高い射精機能解析・評価モデルの確立、ならびにその応用として(2) 男性性機能において未だ有効な治療方法が確立されていない射精障害における新規治療薬の開発、(3) 近年、副作用として問題となっている前立腺肥大症治療薬の射精障害解析、(4) 糖尿病、特に I 型糖尿病の合併症として高い頻度で発症する射精障害解析とその予防および治療薬の探索を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 小動物を用いた射精機能解析・評価モデルの確立：申請者がすでに見出していた覚醒下(無侵襲・無拘束)ならびに、麻酔下のラットにおける射精誘起法の改良・進展を試み、簡便かつ確実性と再現性の高い射精機能解析・評価モデルの確立を目指した。

では、ラットに特有な自発的射精 (*spontaneous seminal emission* ; SSE) に着目し、その確実性と再現性の高い誘起条件の検討と定量的評価のパラメーター探索を行った。 については、複数パラメーター(精囊・精管・後部尿道および内尿道口の内圧測定、

球海綿体筋・坐骨海綿体筋の筋電図測定)の同時測定ならびに射出された seminal material の量的な変化を通じた総合的な射精機能解析法の確立を目指した。

(2) 射精障害治療薬の探索:(1) で新たに確立された確実性と再現性の高い射精機能の定量的評価モデルを用いて、射精機能増強薬ならびに早漏治療薬の探索・開発を行った。ターゲットは近年、性機能領域で注目を集めている神経伝達物質のセロトニン(5-HT)とドパミン(DA)であり、これら受容体に対するアゴニスト&アンタゴニストを用いた幅広いスクリーニングを行い、創薬の方向性を決定した。

(3) 前立腺肥大症治療薬および I 型糖尿病の射精障害解析とその治療薬探索:(1) で確立した評価モデルを用いて、前立腺肥大症治療薬(α₁-アドレナリン受容体遮断薬)の射精障害を短期および長期的な観点から解析し、また日本排尿機能学会で進めている TAABO 試験を考慮し、ムスカリン受容体遮断薬との併用による影響についても検討を加えた。さらに近年、若年男性で発症率が高く男性不妊症への進展が危惧される I 型糖尿病の射精障害機序の解明とその予防および治療薬の探索を(1)で確立した評価モデルを用いて検討した。本実験では、streptozotocin(STZ)誘発性糖尿病ラットならびに自然発症 type I 糖尿病モデル動物である BB/WOR/Tky ラットを用いた。

4. 研究成果

(1) 小動物を用いた射精機能解析・評価モデルの確立：科学研究費の補助により、目標とした「覚醒ラットにおける簡便かつ確実性と再現性の高い射精誘起方法とこれを応用した射精機能の定量的評価モデルの確立」を達成することができた。その主な研究成果を列挙すると、胸部へのコルセット装着という簡便な操作により genital grooming 行動の発現を阻止することで、自発的な seminal material (SM) の排出現象 (SSE) を覚醒ラットで確実に捉えられること、この誘起方法は安定性と再現性が非常に高く、また麻酔や外科的処置を必要しないことから動物に過度のストレスを与えることなく、短期ならびに長期的観点からの機能解析・薬効評価が可能であること、射出された SM 量は長期間に亘って安定していることから、SM 量をパラメーターとした射精機能の定量的評価が可能であること、基礎の動物実験で汎用されるラットの系統間 (Wistar, Fisher 448, SD 系) では SSE の発現率に差がないこと、臨床的に射精障害を惹起することが知られている薬物 (Ganethidine, Reserpine, Prazosin など) はこの評価モデルにおいて SSE 発現を有意に抑制するとともに、SM 量を著明に減少

させることなどである。この評価モデルの確立は、以後の研究課題の進展に大きく寄与するとともに現在、複数の研究機関において射精機能の評価モデルとして応用され始めている。

一方、麻酔下ラットにおける射精誘起法の改良・進展および複数パラメーター（精囊・精管・後部尿道および内尿道口の内圧測定、球海綿体筋・坐骨海綿体筋の筋電図測定など）の同時測定とSM量の変化を通じた総合的な射精機能解析モデルの確立を目指して検討を進めたが、未だ確実性と再現性のある結果は得られていない。麻酔下ラットでの評価は種々の射精機能解析に応用可能となることから、今後更なる検討を継続し評価モデルを確立しなければならない。

（2）射精障害治療薬の探索：（1）で確立された覚醒ラットを用いた射精機能の定量的評価モデルを用いて、性機能領域で注目を集めている5-HTおよびDA受容体に対するアゴニスト&アンタゴニストの広範囲なスクリーニングを行い、以下のような研究成果を得た。5-HT受容体には15種類以上のsubtypeが存在するが、スクリーニングの結果、5-HT₂受容体アゴニストが著明な射精機能促進効果を発現することを見出した。選択的な5-HT₂受容体 subtype（5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}受容体）アンタゴニストを用いて受容体決定を行ったところ、この射精促進効果は主に5-HT_{2C}受容体刺激が関与することが明らかとなった。また逆に、5-HT_{2B}受容体刺激が射精機能に対して抑制効果を発現することを同時に明らかにした。これらの結果は、5-HT_{2C}受容体と5-HT_{2B}受容体が射精発現に深く関与すること、また両受容体は射精の発現調節において逆の効果を有することを示唆しており、創薬の方法性を導く結果と考えられる。

一方、5種類のsubtypeが報告されているDA受容体についても定量的評価モデルを用いて検討を加えたところ、D₂受容体アゴニストが弱いながら射精促進効果を発現することを確認した。過去の報告から、5-HT₂（5-HT_{2C}）受容体アゴニストおよびD₂受容体アゴニストはともに勃起機能を促進することが明らかにされており、両受容体をターゲットにすることで勃起機能に対して抑制的な影響を与えない射精障害治療薬の開発が可能と考えられる。しかし、何れのアゴニストも射精機能を促進する用量で顕著な行動変容を引き起こす（例えば、自発運動低下やあくび行動）ことが問題となる。そこで、近年注目されている併用療法による治療効果の増大と副作用の軽減を期待し、5-HT₂（5-HT_{2C}）受容体アゴニストとD₂受容体アゴニストの併用投与による効果について検

討を加えた。その結果、両受容体アゴニストとも低用量の併用投与が極めて顕著な射精機能促進効果を発現することを見出し、以後の創薬の方向性を決定する契機となった。現在、5-HT_{2C}受容体とD₂受容体の同時刺激による射精障害治療の可能性について基礎研究を継続しているところである。

（3）前立腺肥大症治療薬の射精障害解析とその治療薬探索：（1）で確立した評価モデルを用いて、前立腺肥大症治療薬（ α_1 -アドレナリン受容体遮断薬）の射精障害解析を行った。最初に、臨床の場で使用されている3種類の α_1 -アドレナリン受容体遮断薬（prazosin, tamsulosin, naftopidil）を用いて各薬物間の射精障害程度を比較検討した。その結果、SSE発現率ならびにSM量を指標とした解析から射精機能の障害強度はtamsulosin > prazosin > naftopidilの順となり、薬物間におけるSSEの抑制程度に大きな差が認められた。特に、tamsulosinとnaftopidilのID₅₀値を比較すると約285倍の差があることが明らかとなった。これは、両薬物の臨床における射精障害発生の頻度とかなり相関する結果と思われる。 α_1 -アドレナリン受容体 subtype（ α_{1A} および α_{1D} ）選択的遮断薬を用いた検討からは、SSEの発現プロセスに α_{1A} 受容体が深く関与しており、tamsulosinおよびprazosinは主に α_{1A} 受容体遮断により射精機能を抑制することを示唆した。更に、各薬物の局所投与による検討からその抑制には末梢性機序が想定され、主にseminal emissionの消失が障害原因であることを示唆した。また、TAABO試験を考慮したムスカリン受容体遮断薬との併用による影響についても検討を加えたが、atropine併用による α_1 -アドレナリン受容体遮断薬のSSE抑制に変化は見られず、この2薬の併用が射精機能障害を増強する可能性は少ないと考えられる。

（4）糖尿病、特にI型糖尿病の合併症として高い頻度で発症する射精機能障害の解析とその治療薬の探索：（1）で確立した評価モデルを用いて、糖尿病により惹起される射精機能障害の発症機序に関する基礎的検討を行った。また併せて、糖尿病の代表的治療薬であるインスリンの補充療法による射精機能障害に対する予防・改善効果について検討を加えた。I型糖尿病モデルラットを用いて射精機能障害の解析を試みたところ、射精機能は糖尿病発症後の早期から障害され、病期の進行とともに増悪することが明らかとなった。さらに、この障害の進行とともに妊孕能が著しく低下することを認め、男性不妊症という観点から糖尿病性射精機能障害の発症機序を解明すること、またその治療方法の確立が重要であることを指摘した。

次に、1) 糖尿病発症後の各段階における射精機能の障害程度とその障害機序との関係について、逆行性射精ならびに seminal emission の消失に焦点をあて検討した。さらに、2) 糖尿病性射精機能障害の治療に関する基礎的検討として、I 型糖尿病モデルラットの射精機能障害を、1) 発症初期、2) 中期、3) 後期の3段階に分け、各時期からのインスリン補充療法による効果を検討した。その結果、射精機能障害が顕著に認められた STZ 投与 5 週、10 週ならびに 15 週後のラット膀胱より採取した尿中に精子は確認されず、逆行性射精による障害の可能性は強く否定された。一方、STZ 投与 5 週、15 週および 30 週後のラット精嚢腺に貯留する精嚢液量は対照群に比べて著明に減少し、その減少程度の時間的推移は SM 量のそれと極めて類似することを認めた。精嚢腺は精管から膨出した嚢状腺であり、分泌される精嚢液は精液成分の 50~80% に相当することが知られている。このことは、STZ 糖尿病ラットにおける射精機能障害が内尿道口の閉鎖不全による精液の逆流現象によるものではなく、主に精嚢液の産生あるいは貯留低下に基づく seminal emission の消失に起因することを示唆している。次に、インスリン補充療法の予防・改善効果について検討を加えたところ、射精機能がまだ障害されていない発症初期 (STZ 投与 1 週後) からインスリン補充療法を行うと、SSE 発現率、SM 量および精嚢液量の減少はほぼ完全に阻止された。しかし、射精機能障害がすでに発生した時点 (中期; STZ 投与 5 週後および後期; STZ 投与 15 週後) からのインスリン投与は、本研究で用いた射精機能のすべての指標を対照群 (正常群) のレベルまでには回復させなかった。この結果は、長期的な高血糖状態が射精機能に対してインスリン抵抗性の非可逆的な障害を惹起する可能性を示唆している。一般に、I 型糖尿病患者はすでにインスリン補充療法を受けており、インスリン抵抗性障害を示した本研究結果は臨床における障害を強く反映すると考えられる。今後、I 型糖尿病による射精機能障害の治療方法を確立するうえで、インスリン抵抗性障害を示した本モデルは有用な実験・評価手段になると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

Akihiko Yonezawa, Masaru Yoshizumi, Shin-nosuke Ise, Chizuko Watanabe, Hirokazu Mizoguchi, Katsuo Furukawa, Hiromichi Tsuru, Yukio Kimura, Masahito Kawatani, Shinobu Sakurada, Synergistic

actions of apomorphine and m-chlorophenyl-piperazine on ejaculation, but not penile erection in rats, *Biomedical Research*, **30**, 71-78, 2009 (査読有)

Akihiko Yonezawa, Manabu Ebiko, Masaru Yoshizumi, Shin-Nosuke Ise, Chizuko Watanabe, Hirokazu Mizoguchi, Yukio Kimura, Shinobu Sakurada, Effects of insulin replacement on ejaculatory dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats, *International Journal of Urology*, **16**, 208-211, 2008 (査読有)
米澤章彦, 伊勢 慎之介, 木村行雄, 櫻田 忍, 男性性機能: 動物実験からの評価と問題点、射精機能評価のための動物実験 *アニテックス*, **20** (1), 13-17, 2008 (依頼総説)

Akihiko Yonezawa, Manabu Ebiko, Masaru Yoshizumi, Shin-Nosuke Ise, Chizuko Watanabe, Hirokazu Mizoguchi, Yukio Kimura, Shinobu Sakurada, Ejaculatory response induced by a 5-HT₂ receptor agonist m-CPP in rats: Differential roles of 5-HT₂ receptor subtypes. *Pharmacology Biochemistry Behavior*, **88**, 367-373, 2008 (査読有)

[学会発表](計11件)

萬谷 優, 米澤 章彦, 善積 克, 渡辺 千

寿子、溝口 広一、木村 行雄、河谷 正仁、櫻田 忍、ラットの spontaneous seminal emission 発現における 5-HT₂ 受容体サブタイプの役割 第 20 回日本性機能学会東部総会、2010

伊勢 慎之介, 米澤 章彦, 萬谷 優, 渡辺 千寿子, 溝口 広一, 木村 行雄, 河谷 正仁, 櫻田 忍、ラットの spontaneous seminal emission に及ぼす α_1 -アドレナリン受容体遮断薬連続投与の影響 第 20 回日本性機能学会東部総会、2010

米澤章彦, 木村行雄, 櫻田 忍 性機能障害の研究と臨床における各分野での連携 第 19 回日本性機能学会東部総会、2009

米澤章彦, 木村行雄, 河谷正仁, 櫻田 忍 ラット射精誘発モデルを用いた α_1 -アドレナリン受容体サブタイプの機能解析 第 19 回日本性機能学会学術総会、2008

伊勢慎之介, 米澤章彦, 善積 克, 蛸子学, 渡辺千寿子, 溝口広一, 木村行雄, 河谷正仁, 櫻田 忍、ラットの spontaneous seminal emission を指標とした α_1 -アドレナリン受容体遮断薬の射精障害解析 -受容体サブタイプの特定- 第 19 回日本性機能学会学術総会、2008

善積克, 米澤章彦, 伊勢慎之介, 蛸子学, 渡辺千寿子, 溝口広一, 木村行雄, 櫻田 忍

Apomorphine および m-CPP 併用投与による
射精機能増強効果 -脳室内および脊髄腔
内投与による解析- 第 19 回日本性機能学
会学術総会、2008

蛭子学、米澤章彦、善積 克、伊勢慎之介、
渡辺千寿子、溝口広一、岩崎雅弘、木村行
雄、櫻田忍、I 型糖尿病モデルラットの射
精機能障害に対するインスリンの効果

第 19 回日本性機能学会学術総会、2008

伊勢慎之介、米澤章彦、善積 克、蛭子 学、
渡辺千寿子、溝口広一、木村行雄、河谷
正仁、櫻田 忍、ラットの spontaneous
seminal emission に及ぼす α_1 -アドレナリン
受容体遮断薬連続投与の影響 第 17 回泌
尿生殖器における信号物質の局在と役割
に関する研究会、2008

伊勢慎之介、米澤章彦、善積 克、蛭子 学、
渡辺千寿子、溝口広一、木村行雄、河谷
正仁、櫻田 忍、ラットの spontaneous
seminal emission を指標とした α_1 -アドレナ
リン受容体遮断薬の射精障害解析 第 18
回日本性機能学会、2007

善積 克、米澤章彦、伊勢慎之介、蛭子学、
渡辺千寿子、溝口広一、木村行雄、櫻田 忍
Apomorphine および m-CPP 併用投与による
射精機能増強効果-ラット精囊での機能評
価- 第 18 回日本性機能学会、2007

Masaru Yoshizumi , Akihiko Yonezawa ,
Manabu Ebiko , Shin-nosuke Ise , Chizuko
Watanabe , Hirokazu Mizoguchi , Yukio
Kimura , Shinobu Sakurada, Synergistic action
of dopamine D₂-like and 5-HT_{2C} receptor
agonists on the ejaculatory receptor in rats.
11th BIENNIAL MEETING OF THE ASIA
PACIFIC SOCIETY FOR SEXUAL
MEDICINE, Korea, 2007

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.tohoku-pharm.ac.jp/new/index.html>

6 . 研究組織

(1)研究代表者

米沢 章彦 (YONEZAWA AKIHIKO)
東北薬科大学・薬学部・準教授
研究者番号：30167738

(2)研究協力者

善積 克 (YOSHIZUMI MASARU)
研究者番号：なし (大学院生)

伊勢慎之介 (SHIN-NOSUKE ISE)
研究者番号：なし (大学院生)

(3)連携研究者

なし