



|              |                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|--------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Title        | Vardenafil and Resveratrol Synergistically Enhance the Nitric Oxide/Cyclic Guanosine Monophosphate Pathway in Corpus Cavernosal Smooth Muscle Cells and Its Therapeutic Potential for Erectile Dysfunction in the Streptozotocin-Induced Diabetic Rat : Prelimina |
| Author(s)    | 福原, 慎一郎                                                                                                                                                                                                                                                           |
| Citation     | 大阪大学, 2011, 博士論文                                                                                                                                                                                                                                                  |
| Version Type |                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| URL          | <a href="https://hdl.handle.net/11094/58194">https://hdl.handle.net/11094/58194</a>                                                                                                                                                                               |
| rights       |                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| Note         | 著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について <a href="#">こちら</a> をご参照ください。                                            |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

|               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 【109】         |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 氏 名           | 福 原 慎 一 郎                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 博士の専攻分野の名称    | 博 士 (医 学)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| 学 位 記 番 号     | 第 2 4 4 3 1 号                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 平 成 23 年 3 月 25 日                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学位規則第4条第1項該当<br>医学系研究科外科系臨床医学専攻                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
| 学 位 論 文 名     | Vardenafil and Resveratrol Synergistically Enhance the Nitric Oxide/Cyclic Guanosine Monophosphate Pathway in Corpus Cavernosal Smooth Muscle Cells and Its Therapeutic Potential for Erectile Dysfunction in the Streptozotocin-Induced Diabetic Rat:Preliminary Findings<br>(バルデナフィルとレスベラトロールは陰茎海綿体平滑筋細胞において協調的にNO/cGMP経路を活性化させ、糖尿病ラットの勃起障害の治療の可能性を有している) |
| 論 文 審 査 委 員   | (主査)<br>教 授 野々村祝夫<br>(副査)<br>教 授 木村 正 教 授 下村伊一郎                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |

論 文 内 容 の 要 旨

〔 目 的 〕

現在勃起不全治療薬としてPDE5阻害剤が広く用いられており、良好な治療成績をおさめているが、糖尿病、前立腺手術後など治療に抵抗する症例も存在しており、新たな治療薬が望まれている。これまでわれわれは、初代培養によって得られたヒト陰茎海綿体平滑筋細胞 (CCSMC) がNO合成酵素 (eNOS) を発現し、さらに実際にNOを産生していることを報告してきた。また、ポリフェノールの一種であるレスベラトロールが血管内皮細胞において、近年長寿遺伝子として注目を集めているSIRT1を介してeNOSを活性化させることにより血管拡張に寄与していることが報告されている。そこで、CCSMCにおけるレスベラトロールのNO/cGMP経路の検討、および勃起不全モデルラットとして糖尿病モデルラットを用いて、実際の勃起機能に対する効果を検討した。また、既存の治療薬であるバルデナフィルを併用した際の効果についても検討を行った。

〔 方法ならびに成績 〕

はじめに、初代培養によって得られたCCSMC中にSIRT1が存在していることを免疫染色、およびウェスタンブロッティングにて確認した。次に、CCSMCおよびヒト臍帯静脈内皮細胞 (HUVEC) にレスベラトロールを添加し、細胞内cGMP濃度を測定すると、いずれの細胞においても濃度依存的に細胞名cGMP濃度が上昇した。PDE5が特異的に多く含まれているCCSMCの比較対象として、HUVECを用いた。次にそれぞれの細胞にレスベラトロール、バルデナフィル、および両剤を同時に投与し、cGMPの上昇効果について検討を行った。HUVECではレスベラトロールによるcGMPの上昇効果を認めたが、バルデナフィル、および両剤併用投与の効果は認めなかった。CCSMCではレスベラトロール投与群、バルデナフィル投与群、両剤併用投与群、それぞれ細胞内cGMP濃度が0.445, 0.338, 1.278pg/wellと上昇を示し、両剤併用群では協調的に効果を認めた。CCSMCにおいてレスベラトロールの効果がeNOSおよびSIRT1の活性化を介して

いることを確認するために、eNOS阻害剤であるL-NAMEおよびSIRT1阻害剤であるsirtinolを同時に加えると、いずれの群でも細胞内cGMP濃度の低下を認めた。

in vivoにおける勃起機能に対する効果を検討するために、ストレプトゾトシン（STZ）誘発糖尿病モデルラットを用いて検討した。8週齢のSDラット（雄）にSTZ50mg/kgを腹腔内投与し、1週後の血糖値が250mg/dlを超えたものを糖尿病ラットとし、勃起不全モデルとして使用した。STZ腹腔内投与後4週間、無治療糖尿病状態で飼育し、STZ投与4週後よりレスベラトロール（5mg/kg/day）を4週間内服投与した。また、同時にバルデナフィル内服の効果、およびレスベラトロールおよびバルデナフィル内服群との併用効果を検討するため、バルデナフィル（0.5mg/kg/day）内服群、レスベラトロール+バルデナフィル内服群にわけ、それぞれ4週間各種薬剤を投与した。4週間内服後、1日間薬剤のwash outを行った後、全身麻酔下に海面体神経の電気刺激（0.2ms 15Hz 2.5V）を行い、陰茎海綿体内圧（ICP）、平均動脈圧（MAP）を測定し、ICP/MAPの値により勃起機能の評価をおこなった。無治療糖尿病群ではICP/MAPが31.7%と低下を認めたが、レスベラトロール内服群、バルデナフィル内服群ではそれぞれ41% 47.3%とICP/MAPが有意に回復し、さらに両剤併用群では、69.8%と更なる回復効果を認めた。ICP測定後、陰茎組織を摘出し、Masson's trichrome染色により陰茎海綿体内の平滑筋/コラーゲン比の比較を行ったところ、単剤投与群でもそれぞれ平滑筋量が増加しており、両剤併用群ではさらに強い回復効果を認めていた。

〔 総 括 〕

レスベラトロールとバルデナフィルは陰茎海綿体平滑筋細胞において協調的に細胞内cGMPを増加させた。糖尿病勃起不全モデルラットにおいて、有意に勃起機能回復効果を認めた。今後、レスベラトロール、およびPDE5阻害剤のとの併用はPDE5阻害剤単剤にて治療に難渋する例など、勃起不全の新たな治療薬としての可能性を有しているものと考えられた。

論文審査の結果の要旨

現在、勃起不全治療薬として用いられているPDE5阻害剤は有用な薬剤であるが、治療に難渋する例もしばしば経験し、新たな治療薬の開発が望まれている。新たな治療の可能性を有した薬剤としてポリフェノールの1種でSIRT1活性化作用を持つレスベラトロールおよび、レスベラトロールとバルデナフィルの併用効果について、陰茎海綿体平滑筋細胞（CCSMC）および勃起不全モデルとしてストレプトゾトシン誘発糖尿病モデルラットを用いて検討を行った。CCSMSにおいて、レスベラトロールおよびバルデナフィルは相乗的に細胞内cGMP濃度を上昇させ、実際にラットを用いた勃起機能においても、有意な陰茎内圧回復効果を認めることを始めて証明した。

治療に抵抗する勃起不全に対しても、レスベラトロールおよびレスベラトロールとバルデナフィルの併用は新たな治療の可能性を有していることを示した初めての報告であり、本研究の成果は博士（医学）の学位授与に値すると思われる。