

## 喫煙は陰茎勃起不全の誘発に関与する？

東 洋\*

### はじめに

陰茎勃起不全に関する最初の記載は紀元前2000年、エジプトのパピルスに見られると言う。その後、医聖 Hippocrates は、当時黒海・カスピ海北部に位置していたスキチアに住む富裕階級の人々には多数の陰茎勃起不全患者がおり、乗馬が原因だと考えていたようである。何故なら、下層階級の貧しい人々にとって馬を移動手段にすることするなど論外で、専ら徒歩に頼っていたので陰茎勃起不全が認められないからだとして推察していた。Aristotle (紀元前384 - 322) は、3つの神経分枝を介して陰茎内に“spirit”と“energy”が輸送されており、空気が充満することによって勃起が惹起されると考えた。この考えは長期にわたって受け継がれたが、1504年 Leonard da Vinci の観察によって否定されるに至った。すなわち、絞首刑に処され、勃起した陰茎には空気では無く多量の血液が充満していることを見出した為であるが、この観察結果は20世紀後半(1994年)に至るまで何故か広く公表されることはなかった。一方、1585年フランスの外科医、Ambroise Pare は陰茎勃起の機序について現在の礎を築いた。

1998年、Furchgott、Ignarro ならびに Murad 3 科学者のノーベル医学生理学賞受賞が契機となって、陰茎勃起・勃起鎮止機序の解釈について新時代が到来した。すなわち、一酸化窒素(NO)の登場である。NOは陰茎海綿体弛緩とそれに基づいて陰茎勃起を惹起するので、NO産生能が障害されると陰茎勃起不全を招くという<sup>1)-7)</sup>。

本稿では陰茎勃起不全とNOの生理的役割について考察するとともに、喫煙と陰茎勃起不全との関わりについて筆者らの研究成果を含めて紹介する。

### 陰茎勃起不全とNOの生理的役割

L-arginine を基質とし、NO合成酵素(NOS)の媒介によってNOとL-citrulline が産生される。海綿体平滑筋細胞に局在する soluble guanylyl cyclase がNOによって活性化されると guanosine triphosphate (GTP) を基質として cyclic GMP が産生される。cyclic GMP によって cyclic GMP-dependent protein kinase (PKG) が活性化されて、結果的に平滑筋細胞内遊離 calcium 濃度は低下し、平滑筋は弛緩する。

NO産生は種々の要因によって制御されている(図-1)。その一つにNOS活性とNOS蛋白発現量が関与している。糖尿病患者の陰茎海綿体<sup>8)</sup>や加齢ラット大動脈<sup>9)</sup>においてNOS活性は低下しており、また、ラット陰茎海綿体のNOS活性ならびに神経型NOS(nNOS)蛋白発現は喫煙によって低下し、NO産生障害を来すと報告されている<sup>10)</sup>。一方、尿素サイクルの律速酵素である arginase とNOSとはL-arginine を共通の基質として利用する。従って、何らかの原因によって arginase 活性が上昇し、L-arginine が消費されるとNOSに利用されるL-arginine が減少し、そのためにNO産生は低下する<sup>11)12)</sup>。このように、arginase がNO産生制御系において重要な生理的役割を担っていることが次第に明らかになってきた。事実、陰茎海綿体における arginase 活性が加齢によって上昇するのでNO産生低下を招くとの報告がある<sup>7)8)</sup>。

\* 東京医科歯科大学生体材料工学研究所

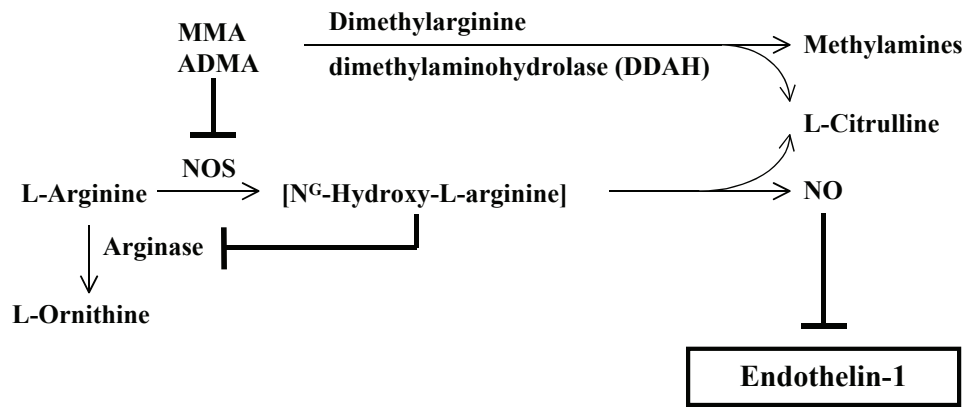


図-1 Schematic overview of factors affecting NO generation pathway

L-arginine から NOS の媒介によって NO と L-citrulline が生合成される際の間代謝物として N<sup>G</sup>-hydroxy-L-arginine (NOHA) が知られている。NOHA は arginase の内因性阻害因子でもある<sup>13)</sup>。従って、NO が正常に産生されている場合には arginase 活性は抑制状態であるので尿素サイクルへの L-arginine 利用は抑制されている。一方、何らかの原因で NO 産生が抑制されると NOHA 産生も抑制されるので、arginase に対する抑制が解除され arginase 活性は亢進する。その為に L-arginine 消費の増加を招き NO 産生能は一層低下することになる。すなわち、NO 産生系は悪循環に陥る。

NO 産生制御系における内因性 NOS 阻害因子の重要性が指摘されている<sup>14)15)</sup>。monomethyl-arginine (MMA) ならびに asymmetric dimethylarginine (ADMA) が内因性 NOS 阻害因子として知られており、これらの methyl-arginines は NOS の競合的阻害因子として NO 産生制御系において重要な生理的役割を担っている。ADMA 増加に伴う NO 産生障害が、高脂血症<sup>16)</sup>、腎不全<sup>14)</sup>、高血圧<sup>17)</sup>、糖尿病<sup>18)</sup> などの発症・進展と密接に関連することもすでに報告されている。虚血 2 週後の陰茎海綿体において MMA と ADMA とが著しく増加する結果、NO 産生低下を来し、陰茎勃起不全に至る可能性について筆者らは報告した<sup>19)</sup>。MMA と ADMA は dimethyl-arginine dimethylaminohydrolase (DDAH) によって L-citrulline と mono(di)methylamine とに

代謝され不活性化される<sup>20)</sup>。従って、何らかの原因で DDAH 活性が低下すると MMA と ADMA が蓄積し、NO 産生低下を来す<sup>21)22)</sup>。

NO は endothelin-1 産生の制御因子としても重要であり、転写因子 NFκB 活性制御を介して endothelin-1 産生制御に関わっている。NFκB は IκB と複合体を形成しておりこの複合体は不活性である。一因として NO が IκB リン酸化酵素を不活性化しているからである。NO 産生が障害されると IκB リン酸化が進行する結果、活性状態の NFκB が解離し、prepro endothelin-1 転写が促進されることも判ってきた。NO 産生障害によって endothelin-1 産生は亢進するので<sup>23)</sup>、陰茎海綿体の収縮亢進ひいては勃起不全に関与する可能性が示唆される。

### 喫煙と陰茎勃起不全

McVary ら<sup>24)</sup>によれば、喫煙は冠動脈疾患、動脈硬化ならびに陰茎勃起不全の共通の危険因子であるという。たばこ煙由来の free radicals やある種の芳香族化合物によって内皮細胞における NO 産生は低下し、内皮依存性弛緩反応が障害されることが臨床的には陰茎勃起不全の最も初期に惹起されるようである<sup>25)</sup>。しかしながら、喫煙による陰茎勃起不全誘発の詳細な機序は不明である。

喫煙の広範な影響について検討するために、ニコチンとタール成分を除去したたばこ煙水抽出液 cigarette smoke extract (CSE) が頻繁に

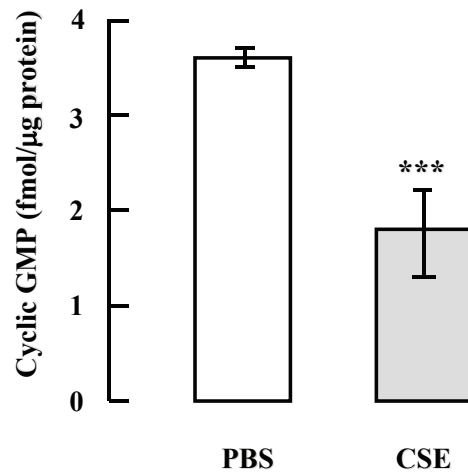


図-2 Effect of cigarette smoke extract (CSE) on cyclic GMP production under stimulation with carbachol in the rabbit cavernous specimens.

Net production of cyclic GMP was expressed as the difference between production with phenylephrine plus carbachol and that with phenylephrine plus carbachol plus nitroarginine. CSE or phosphate buffer (PBS) as a control was injected subcutaneously once a day for 5 weeks. \*\*\*Significant difference vs. corresponding value in the control at  $p < 0.005$ .

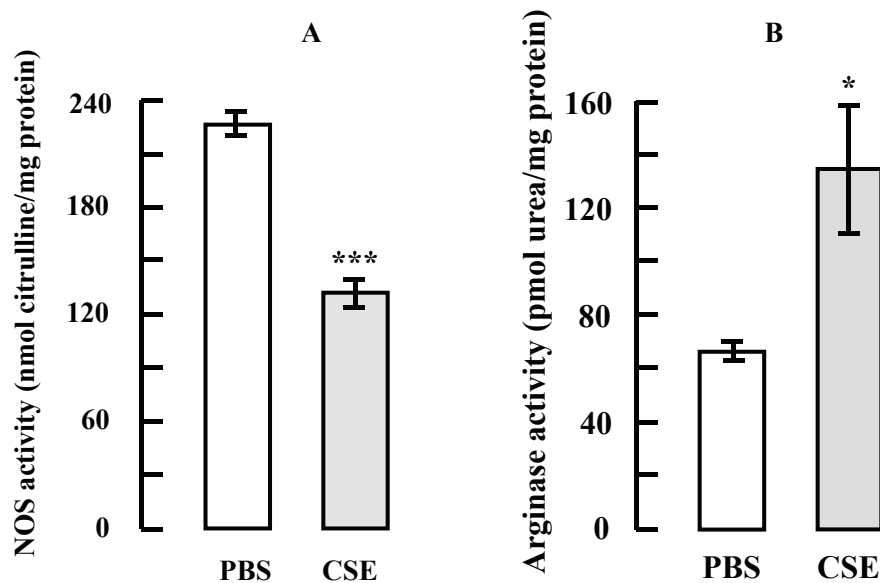


図-3 Effects of cigarette smoke extract (CSE) on nitric oxide synthase (NOS) (A) and arginase (B) activities in the rabbit cavernous specimens.

\*, \*\*\*Significantly difference vs. corresponding value in the control (PBS) at  $p < 0.05$  and  $p < 0.005$ , respectively.

用いられている<sup>26)-29)</sup>。そこで本項では、CSEを1日1回(1日当たりフロンティアライト9本分)5週間にわたり皮下注射した後のウサギ陰茎海綿体において得られた結果を紹介し、喫煙と陰茎勃起不全誘発との関連について考察する。海綿体内皮細胞でのcarbachol刺激によるNO

産生はCSE群で顕著に抑制される(図-2)。陰茎海綿体標本におけるcarbachol誘発弛緩は、saponin処理後には消失するが、NO donor誘発の内皮非依存性弛緩ならびに神経原性弛緩には影響しないので<sup>19)30)</sup>、carbachol刺激によるNO産生は専ら内皮型NOS(eNOS)の活性化を介し

ているものと考えられる。一方、総 NOS 活性 (図-3) と神経型 NOS (nNOS) 蛋白発現は CSE 群において有意に低下していたが、eNOS 蛋白発現は影響されなかった。同様の成績が Xie ら<sup>10)</sup>によっても報告されている。すなわち、ラット陰茎海綿体での NOS 活性と nNOS 蛋白発現はともに喫煙によって抑制されるが、eNOS 蛋白発現は影響されない。従って、CSE 群での総 NOS 活性低下は少なくとも一部 nNOS 蛋白発現低下に起因すると考えられる。eNOS と nNOS はともに陰茎勃起誘発において重要な役割を演じており、両酵素は役割を分担しているらしい<sup>31)</sup>。すなわち、nNOS は勃起の誘発に、一方 eNOS はその維持にそれぞれ関与しているという。従って、CSE によって勃起の誘発が抑制または阻止される可能性がある。

前項に記載したように、NO 産生障害に影響する要因として arginase 活性亢進と内因性 NOS 阻害因子蓄積の有無について考慮する必要がある。CSE 群において arginase 活性は著しく亢進しており (図-3)、そのために NOS による L-arginine 利用が低下し、NO 産生障害を来した可能性が示唆される。この推測は Berkowitz ら<sup>9)</sup>の報告によって裏付けられる。すなわち、加

齢ラット大動脈における arginase 活性亢進が内皮細胞での NO 産生障害を来たすという。

先に筆者らは、虚血 2 週後の陰茎海綿体において MMA と ADMA とが著しく増加する結果、NO 産生低下を来し、陰茎勃起不全に至る可能性について報告した<sup>19)</sup>。免疫組織学的検討の結果、CSE 群の陰茎海綿体動脈における ADMA 抗体 (筆者らが独自に調製した単クローン抗体<sup>32)</sup>) 陽性内皮細胞数は著明に増加しており (図-4)、また、液体クロマトグラフィーによる解析<sup>15)</sup>でも MMA と ADMA はともに増加していた (少数例のため統計解析は未完)。従って、CSE による NO 産生障害は陰茎海綿体における内因性 NOS 阻害因子の蓄積増加に少なくとも一部起因する可能性がある。また、内因性 NOS 阻害因子の分解酵素、DDAH 活性 (図-4) と DDAH1 ならびに DDAH2 蛋白発現量は何れも CSE 群で著明に低下していたので、このことが内因性 NOS 阻害因子の蓄積増加をもたらしたのであろう。NO 産生障害によって endothelin-1 産生は亢進するので<sup>23)</sup>、陰茎海綿体の収縮亢進ひいては勃起不全に関与する可能性が示唆される。図-5 は以上の結果をまとめたものである。

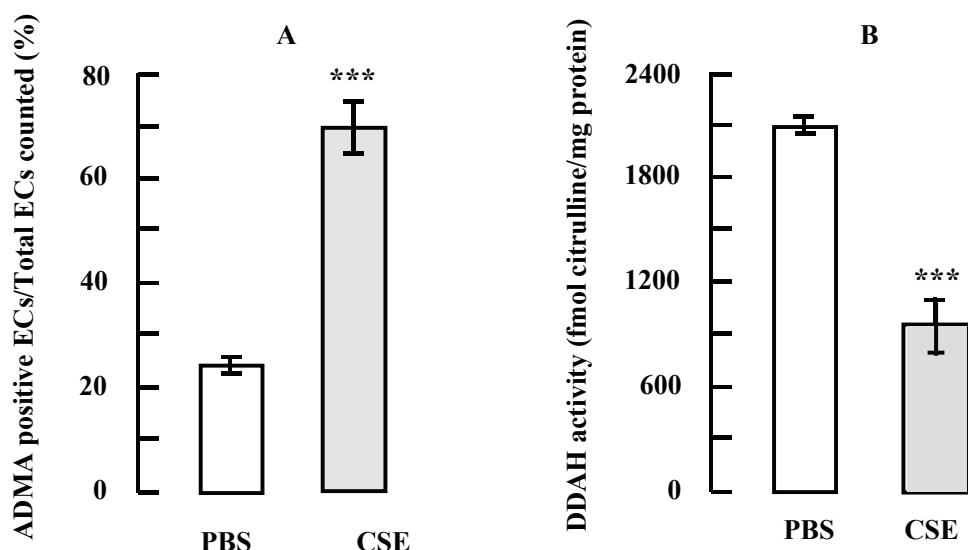


図-4 Effects of cigarette smoke extract (CSE) on the appearance of asymmetric dimethylarginine (ADMA)-positive endothelial cells (A) and dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) activity (B) in the rabbit cavernous specimens.

\*\*\*Significant difference vs. corresponding value in the control (PBS) at  $p < 0.005$ .

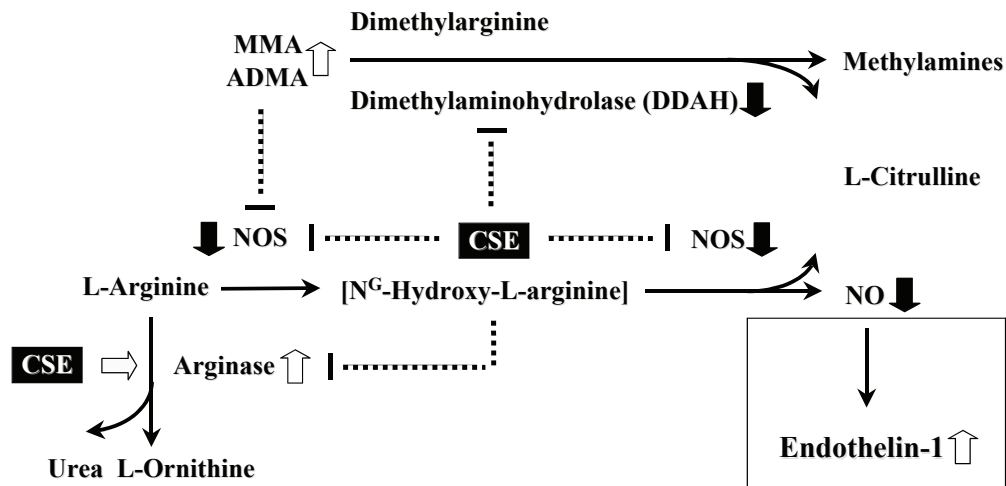


図-5 Schematic overview of suggested mechanisms of cigarette smoke extract (CSE) in impairing NO production from L-arginine in the rabbit cavernous specimens.

The impaired NO production would result from blunted NOS activity due to accumulated endogenous NOS inhibitors and accelerated arginase activity in cavernous tissue following CSE administration. The impaired DDAH activity resulting from the decreased expression of DDAH1 and DDAH2 proteins as metabolizing enzymes of MMA and ADMA possibly increases an accumulation of the methylarginines. In addition to these changes, the decreased expression of neuronal NOS protein in concert with accelerated arginase activity and accumulation of endogenous NOS inhibitors would lead to further impairment of NO production.

- 1) CSE 群の陰茎海綿体において認められる NO 産生障害は NOS 活性低下に起因する。
- 2) NOS 活性低下には神経型 NOS 蛋白の発現低下、内因性 NOS 阻害因子の蓄積ならびに arginase 活性亢進が関与する。
- 3) 内因性 NOS 阻害因子の蓄積は DDAH1 ならびに DDAH2 蛋白発現低下に伴う DDAH 活性低下に起因する。
- 4) 上記 1)-3) の事実は何れも喫煙が陰茎勃起不全誘発の危険因子である可能性を強く示唆する。

一方、Green と Rodgman (1996) は、たばこ煙中には 4800 種の異なる成分が同定されたと報告している。たばこ煙は揮発成分と微粒子成分とによって構成されており、前者の揮発成分はケンブリッジフィルターを通過する。上記の研究において使用した CSE は、ケンブリッジフィルター通過後、リン酸緩衝液に溶けた揮発成分（水可溶性の揮発成分）を含有している。このようにして調製した CSE は、喫煙後血液中に検出されるであろうたばこ煙由来の水溶性

成分の影響を検討するためのモデルにおいて用いられ、様々な生理機能に多彩な影響を及ぼすことが報告されている<sup>26)-29)</sup>。しかしながら、喫煙後の血液中に検出される水溶性成分の種類と濃度は今のところ不明である。この点に留意した上で得られた結果を解釈しなければならないのは言うまでもない。

#### 謝 辞

本研究の一部は(財)喫煙科学研究財団の援助により行なわれた。御援助に対して深甚の謝意を表す。

#### 文 献

- 1) Saenz de Tejada I, Goldstein I, Azadzoi K, Krane RJ, Cohen RA. Impaired neurogenic and endothelium-mediated relaxation of penile smooth muscle from diabetic men with impotence. *N Engl J Med* 1989; 320: 1025-30.
- 2) Ignarro LJ, Bush PA, Buga GM, Wood KS, Fukuto JM, Rajfer J. Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 31:



- 843-50.
- 3) Kim N, Azadzoï KM, Goldstein I, Saenz de Tejada I. A nitric oxide-like factor mediates nonadrenergic-noncholinergic neurogenic relaxation of penile corpus cavernosum smooth muscle. *J Clin Invest* 1991; 88: 112-8.
  - 4) Burnett AL, Lowenstein CJ, Bredt DS, Chang TS, Snyder SH. Nitric oxide: a physiological mediator of penile erection. *Science* 1992; 257: 401-3.
  - 5) Rajfer J, Aronson WJ, Bush PA, Dorey FJ, Ignarro LJ. Nitric oxide as a mediator of relaxation of the corpus cavernosum in response to nonadrenergic, noncholinergic neurotransmission. *N Engl J Med* 1992; 326: 90-4.
  - 6) Azadzoï KM, Kim N, Brown ML, Goldstein I, Cohen RA, Saenz de Tejada I. Endothelium-derived nitric oxide and cyclooxygenase products modulate corpus cavernosum smooth muscle tone. *J Urol* 1992; 147: 220-5.
  - 7) Sakai Y, Masuda H, Kihara K, Kurosaki E, Yamauchi Y, Azuma H. Involvement of increased arginase activity in impaired cavernous relaxation with aging in the rabbit. *J Urol* 2004; 172: 369-73.
  - 8) Bivalacqua TJ, Hellstrom WJ, Kadowitz PJ, Champion HC. Increased expression of arginase II in human diabetic corpus cavernosum: in diabetic-associated erectile dysfunction. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 283: 923-7.
  - 9) Berkowitz DE, White R, Li D, Minhas KM, Cernetich A, Kim S, Burke S, Shoukas AA, Nyhan D, Champion HC, Hare JM. Arginase reciprocally regulates nitric oxide synthase activity and contributes to endothelial dysfunction in aging blood vessels. *Circulation* 2003; 108: 2000-6.
  - 10) Xie Y, Garban H, Ng C, Rajfer J, Gonzalez-Cadavid NF. Effect of long-term passive smoking on erectile function and penile nitric oxide synthase in the rat. *J Urol* 1997; 157: 1121-6.
  - 11) Boucher JL, Moali C, Tenu JP. Nitric oxide biosynthesis, nitric oxide synthase inhibitors and arginase competition for L-arginine utilization. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55: 1015-28.
  - 12) Mori M, Gotoh T. Regulation of nitric oxide production by arginine metabolic enzymes. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 275: 715-9.
  - 13) Buga GM, Singh R, Pervin S, Rogers NE, Schmitz DA, Jenkinson CP, Cederbaum SD, Ignarro LJ. Arginase activity in endothelial cells: inhibition by N<sup>G</sup>-hydroxy-L-arginine during high-output NO production. *Am J Physiol* 1996; 271: H1988-98.
  - 14) Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339: 572-5.
  - 15) Azuma H, Sato J, Hamasaki H, Sugimoto A, Isotani E, Obayashi S. Accumulation of endogenous inhibitor for nitric oxide synthesis and decreased content of L-arginine in regenerated endothelial cells. *Br J Pharmacol* 1995; 115: 1001-4.
  - 16) Boger RH, Bode-Boger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, Blachke TF, Cooke JP. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. *Circulation* 1998; 98: 1842-7.
  - 17) Surdacki A, Nowicki M, Sandmann J, Tsikas D, Boeger RH, Bode-Boeger SM, Kruszelnicka-Kwiatkowska O, Kokot F, Dubiel JS, Groelich JC. Reduced urinary excretion of nitric oxide metabolites and increased plasma level of asymmetric dimethylarginine in men with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 33: 652-8.
  - 18) Masuda H, Goto M, Tamaoki S, Azuma H. Accelerated intimal hyperplasia and increased endogenous inhibitors for NO synthesis in rabbits with alloxan-induced hyperglycaemia. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 211-8.
  - 19) Masuda H, Tsujii T, Okuno T, Kihara K, Goto M, Azuma H. Involvement of accumulated endogenous NOS inhibitors and decreased NOS activity in the impaired cavernosal relaxation with ischemia. *Am J Physiol* 2002; 282: R1730-8.
  - 20) Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K. Purification and properties of a new enzyme, N<sup>G</sup>, N<sup>G</sup>-dimethyl-arginine dimethylaminohydrolase, from rat kidney. *J Biol Chem* 1989; 264: 10205-9.
  - 21) MacAllister RJ, Parry H, Kimoto M, Ogawa T, Russel RJ, Hodson H, Whitley GS, Vallance P. Regulation of nitric oxide synthesis by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Br J Pharmacol* 1996; 119: 1533-40.
  - 22) Loyaga-Rendon RY, Sakamoto S, Beppu M, Aso T, Ishizaka M, Takahashi R, Azuma H. Accumulated endogenous nitric oxide synthase inhibitors, enhanced arginase activity, attenuated dimethylarginine dimethylaminohydrolase activity and intimal hyperplasia in premenopausal human uterine arteries. *Atherosclerosis* 2005; 178: 231-9.
  - 23) Momohara Y, Sakamoto S, Obayashi S, Aso T, Goto M, Azuma H. Roles of endogenous nitric oxide synthase inhibitors and endothelin-1 for

- regulating myometrial contractions during gestation in rat. *Molec Human Reproduct* 2004; 10: 505-12.
- 24) McVary KT, Carrier S, Wessells H; Subcommittee on Smoking and Erectile Dysfunction Socioeconomic Committee, Sexual Medicine Society of North America. Smoking and erectile dysfunction: evidence based analysis. *J Urol* 2001; 1624-32.
  - 25) Powell JT. Vascular damage from smoking: disease mechanism at the arterial wall. *Vasc Med* 1998; 3: 21-8.
  - 26) Yokode M, Kita T, Arai H, Kawai C, Narumiya S, Fujiwara M. Cholesteryl ester accumulation in macrophages incubated with low density lipoprotein pretreated with cigarette smoke extract. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 2344-8.
  - 27) Yamaguchi Y, Matsuno S, Kagota S, Haginaka J, Kunitomo M. Fluvastatin reduces modification of low-density lipoprotein in hyperlipidemic rabbit loaded with oxidative stress. *Eur J Pharmacol* 2002; 436: 97-105.
  - 28) Kim NN, Cox JD, Baggio RF, Eming FA, Mistry SK, Harper SL, Speicher DW, Morris SM Jr, Ash DE, Traish A, Christianson DW. Probing erectile function: S-(2-boronoethyl)-L-cysteine binds to arginase as a transition state analogue and enhances smooth muscle relaxation in human penile corpus cavernosum. *Biochemistry* 2001; 40: 2678-88.
  - 29) Hoshino S, Yoshida M, Inoue K, Yano Y, Yanagita M, Mawatari H, Yamane H, Kijima T, Kumagai T, Osaki T, Tachiba I, Kawase I. Cigarette smoke extract induces endothelial cell injury *via* JNK pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 329: 58-63.
  - 30) Okamura T, Ayajiki K, Fujioka H, Toda M, Fujimiya M, Toda N. Effects of endothelial impairment by saponin on the responses to vasodilators and nitrenergic nerve stimulation in isolated canine corpus cavernosum. *Br J Pharmacol* 1999; 127: 802-8.
  - 31) Burnett AL. Novel nitric oxide signaling mechanisms regulate the erectile response. *Int J Impot Res* 2004; 16: S15-9.
  - 32) Ishibashi T, Obayashi S, Sakamoto S, Aso T, Ishizaka M, Azuma H. Estrogen replacement improves the accelerated intimal hyperplasia following balloon injury of carotid artery in the ovariectomized rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2006; 47: 37-45.