ラット前立腺における3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase 活性についての研究 (第2報)

金沢大学医学部泌尿器科学教室 田 近 栄 司
(主任: 黒田恭一教授)

A STUDY OF 3-HYDROXY-3-METHYLGLUTARYL COENZYME A REDUCTASE ACTIVITY IN RAT PROSTATE (REPORT 2)

Eiji Tajika

Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University
(Director: Prof. K. Kuroda)

Department of Urology, Toyama Prefectural Central Hospital
(Director: Dr. T. Nakamura)

The activity of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase was measured in rat ventral prostate on the three conditions: castration, insulin administrated, and cholesterol rich diet feeding.

3 days after castration, the activity of prostatic HMG CoA reductase extremely fell down, but 5 days after, its activity was increased to the level equal to the control. Previously the influence of testosterone administration on the activity of prostatic HMG-CoA reductase was reported. The influence of testosterone to prostatic HMG-CoA reductase activity was completely transient.

In rat liver, the activity of HMG-CoA reductase was increased 2 hours after insulin injection. But in rat prostate, its activity was not increased after insulin administration. Therefore, probably insulin did not regulate the activity of prostatic HMG-CoA reductase.

It was well known that the cholesterol rich diet suppresses the hepatic HMG-CoA reductase activity. But prostatic HMG-CoA reductase activity was not suppressed by 1% cholesterol diet during 2 weeks. Exogenous cholesterol did not reveal a negative feed back for prostatic HMG-CoA reductase activity.

要旨: ラット前立腺 (ventral prostate) において, HMG-CoA reductase 活性の調節機序を解明する目的で, 去勢早期の活性値の変化, インスリン投与時における変化, 高コレステロール飼料投与時における変化について検討を加えた。

去勢早期の変化では, 3日後には HMG-CoA reductase 活性値の著明な低下がみられたが5日後には対照群と変らない値に復していた。これは前報においてテストステロン投与においては一過性の変化しかみられなかつたことと同じ傾向であり, テストステロンはその値が変化する時のみ前立腺でのコレステロール合成能に影響をおよぼすものと考えられた。

インスリン投与においては, 肝臓では他の報告と同じく2時間後には HMG-CoA reductase 活性値が投与前の約2倍に上昇していた。しかし前立腺においては上昇がみられず, インスリンは前立腺におけるコレステロール合成の調節ホルモンである可能性は小さいと考えられた。

高コレステロール飼料 (1%含有) 投与においては, 24時間後, 2週間後ともに前立腺 HMG-CoA reductase 活性値の変化はみられず, 肝臓と異なり外因性のコレステロールによる negative feed back はうけないものと考えられた。

緒 言

深瀬¹⁾、桐沢²⁾がヒト前立腺におけるエステル型コレステロールの存在を報告し、1942年 Swyer³⁾ はヒト前立腺肥大症組織が正常より多くのコレステロールを含有することを報告した。その後 Scott⁴⁾、津ヶ谷ら⁵⁾も同様の報告を行つている。しかし前立腺におけるコレステロール代謝についての研究は現在まで数少ない^{6)~9)}。

前報において著者¹⁰⁾はコレステロール生合成の律速酵素である3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase (HMG-CoA reductase と略す)をラット前立腺において測定し、1) ラット前立腺においても肝臓と同程度の活性があること、2) 夜間-昼間移行時に最高値をもつ日内変動があること、3) 去勢とテストステロン投与実験においてテストステロンの本酵素に対する促進効果は一過性であること、などを報告した。

今回は去勢早期の酵素活性の測定、インスリン投与における影響、およびコレステロール含有飼料投与時における変化について、ラット前立腺 (ventral prostate) において検討を加え、若干の知見を得たので報告する。

実験材料および実験方法

1) 実験動物および飼育方法

前報と同様に、200~300g のウィスター系成熟雄性ラットを用いた。飼育は金沢大学医学部付属動物実験施設において行つた。

2) ミクロゾーム分画の調製方法 および HMG-CoA reductase 活性測定法

前報¹⁰⁾と同じ方法を用いた。実験はすべて昼間の中間時間で行つた。

3) 去勢実験

去勢術はエーテル麻酔下に陰のう部切開により行い、3日後、5日後に前立腺 (ventral prostate) を摘出し、酵素活性の測定を各群6匹ずつ行つた。

4) インスリン投与実験

Lakshmanan ら¹¹⁾の方法に準じてラット皮下にレギュラーインスリン (清水、イスジリン®) を3単位/100g 投与し、2時間後、4時間後、6時間後に前立腺および肝臓の一部を摘出してそれぞれ HMG-CoA reductase 活性の測定を各群6匹ずつ行つた。

5) 高コレステロール飼料投与実験

1%コレステロール含有ラット固型飼料 (オリエンタル社) を用いた。ラットは自由に摂食できるようにし、24時間後および2週間後に前立腺を摘出して HMG-CoA reductase 活性の測定を各群6匹ずつ行つた。

6) 血中コレステロール値の測定

普通固型飼料 (コレステロールを含まない) と1%コレステロール含有飼料を与えたラットにおいて、2週間後に下大静脈より採血して測定した。測定方法は O-フタルアルデヒド法に基づいた総コレステロール測定キット® (和光) を使用した。

結 果

1) 去勢早期における HMG-CoA reductase 活性値

Fig. 1 のごとく、前立腺重量は去勢前 215 ± 74 mg であつたが、去勢3日後には 152 ± 31 mg、去勢5日後には 56 ± 11 mg と減少を示した。一方 HMG-CoA reductase 活性値は、Fig. 2 のごとく、去勢前 244.9 ± 101.0 pM/mg protein/hr であつたが、去勢3日後には 65.7 ± 14.5 pM/mg protein/hr と著明な低下を示した。しかし去勢後5日目には前立腺重量はさらに減少しているにもかかわらず、HMG-CoA reductase 活性は 299.0 ± 58.0 pM/mg protein/hr と上昇し、去勢前とほぼ同じ数値になつていた。去勢5日後の値は前報で報告した去勢7日後の値と近似していた。

2) インスリン投与による HMG-CoA reductase 活性値

Fig. 3 に示したように、肝臓においては Lakshmanan ら¹¹⁾、Huber ら¹²⁾の報告と同様に、2時間後には投与前 185.3 ± 81.7 pM/mg protein/hr であつた値が約2倍の 331.8 ± 76.6 pM/mg protein/hr に上昇、6時間後には投与前値よりは高いが 270.3 ± 82.1 pM/mg protein/hr と低下傾向が認められた。一方前立腺においては、インスリン投与後2時間、4時間ではそれぞれ、 171.4 ± 38.1 pM/

Fig. 1 Prostate weight in castrated state

Fig. 2 Prostatic HMG-CoA reductase activity in a few days after castration

Fig. 3 Effect of insulin on HMG-CoA reductase activity

mg protein/hr, 188.4 ± 69.9 pM/mg protein/hr であり、投与前の値 155.4 ± 64.2 pM/mg protein/hr との間に有意差はみられず、逆に6時間後には投与前の値より低下傾向を示した。

3) 高コレステロール飼料投与によるラット前立腺 HMG-CoA reductase 活性値

1%コレステロール含有飼料を与えた群と普通飼料(コレステロールを含まない)を与えた群について検討した。Fig. 4 のごとく、対照群では 155.4 ± 64.2 pM/mg

Fig. 4 Effect of cholesterol rich diet on HMG-CoA reductase activity

protein/hr であつたが、高コレステロール飼料投与1日後では 168.8 ± 56.0 pM/mg protein/hr、2週後では 157.1 ± 18.9 pM/mg protein/hr であり、この3群の間には有意差がみられなかつた。

同時に測定した血中コレステロール値も Table 1 のごとく、対照群と2週間高コレステロール飼料を与えた群との間には有意差がみられなかつた。また、前立腺重量も高コレステロール飼料2週間投与群では 265 ± 14 mg、普通飼料2週間投与群 278 ± 20 mg と差がみられなかつた。

Table 1 Difference of total serum cholesterol values between two groups

ordinary diet 2 weeks	1% cholesterol diet 2 weeks
122.2 ± 11.4 mg/dl	128.4 ± 16.6 mg/dl
(mean $\pm$ SD)	

考 察

1) ラット前立腺 HMG-CoA reductase 活性に対するテストステロンの調節について

前立腺肥大症組織においては、コレステロールが多量に含まれているとの Swyer の報告以後に、Gordon ら¹³⁾は polyene macrolide を犬の自然発生前立腺肥大症に投与し、血中コレステロール値の低下および肥大前立腺の縮小を報告し、Wang ら¹⁴⁾は candidin, colestipol

を前立腺肥大症自然発生ハムスターに投与し、血中コレステロール値の低下および肥大前立腺の縮小を報告した。その中で彼らは、前立腺のコレステロール総量の著明な減少はみられたが組織重量あたりでは減少はみられず、組織のコレステロール量の減少だけでは前立腺重量の減少は説明できず、コレステロールの減少が何らかの二次的な細胞変化を起すのではないかと推論している。

前立腺のコレステロール合成能と薬剤との関係については、Singhal らはコレステロール合成能阻害作用を有し、肝臓におけるコレステロール含有量を低下させる clofibrate をラットに投与し、血中コレステロール値の低下と前立腺における腺構造の萎縮およびコレステロール合成能の低下を報告した。彼らはこの作用について、テストステロンにより促進される前立腺のコレステロール合成を clofibrate が阻害するためであると述べている。

このように前立腺組織および前立腺肥大症組織とコレステロール代謝についての報告が散見されるが、その代謝の律速酵素である HMG-CoA reductase 活性の前立腺における調節機序に関する報告は少ない。前回著者は第1報として本酵素の日内変動と、去勢およびテストステロン投与における変化について報告した。前立腺においてはテストステロンは重要なホルモンであり、その腺構造の維持や分泌能に重要な役割を果たしていることから、テストステロンが前立腺におけるコレステロール合成能に与える影響は充分考えられることであり、長船ら、Singhal らにより報告され、著者も第1報においてテストステロン投与の HMG-CoA reductase 活性に与える影響につき検討し、一過性の変化を起すにすぎないことを報告した。今日は去勢早期の3日目、5日目について検討を加えたが、単位蛋白量当りの活性値は長船らの報告と同じく、3日目には著しく低下を示したが5日目には去勢前と差がみられなくなっていた。前立腺全体のコレステロール合応能という面で考えてみると、3日目では明らかに前立腺全体の microsomal protein の低下に比して HMG-CoA reductase 活性の著明な低下があり、第1報においても述べたように、去勢後5日目では前立腺全体としてのコレステロール合成能の低下はあるが、microsome 分画の蛋白量あたりの HMG-CoA reductase 活性の低下はみられなかつた。前立腺重量が著明な低下を示しているにもかかわらず、コレステロール合成の律速酵素である HMG-CoA reductase 活性値が一過性にしか低下していないのは、前立腺においてはコ

レステロールの合成がテストステロン欠乏により一過性の影響しか受けないことを示している。このことは第1報で報告したように、去勢後のテストステロン長期間投与実験において、前立腺重量が増加しているにもかかわらず、本酵素活性は1週間目に最高を示し、2週間目には対照と変わらない程度に下降していたことと考え合えると、テストステロンの HMG-CoA reductase 活性によらず影響はその値が変化した時に一過性にみられるにすぎないと考えられる。これは Singhal らが述べているように、テストステロンがコレステロール代謝に対して促進的にも抑制的にも働くことによるかどうかは不明であり、細胞内で合成されたコレステロールの増減による feed back が働くのかもしれない。いずれにしてもこの変化の意味付けは今後検討されるべき問題であろう。

2) インスリン投与による HMG-CoA reductase 活性の変化

肝臓におけるコレステロール合成に対するホルモンの調節については種々の報告があるが、その内でもインスリンの影響については、その日内変動と HMG-CoA reductase 活性の日内変動とが平行しており、インスリン投与において急速な HMG-CoA reductase 活性値の上昇がみられること、および糖尿病状態において消失する日内変動がインスリン投与により再度出現すること¹¹⁾¹²⁾¹³⁾から、調節ホルモンとして重要視されている。

しかし前立腺においては、インスリンによるコレステロール合成の調節についての報告はみられない。今回の著者の実験では、肝臓においては Lakshmanan ら、Huber ら、Nepokroeff らの報告と同じく、2時間後にはインスリン投与前の約2倍に活性値が上昇しており、インスリンが肝臓においてコレステロール合成を促進する作用があることは間違いない。活性値が2倍にしか上昇しないのは、Nepokroeff らのいうように、昼間はグルカゴン、グルココルチコイドが高い時点であり、これらの作用がインスリンと拮抗することが知られており、そのためと考えられる。前立腺においては肝臓と異なり、HMG-CoA reductase 活性値はインスリン投与においては上昇を示さなかつた。

インスリンがコレステロール合成を促進する機序については、Siperstein ら¹⁴⁾がグルコース代謝との関係で研究している。それによると、グルコース代謝のうちでも還元型補酵素である還元型トリフォスホピリジヌクレオチド (TPNH) の重要な供給源である Hexosemon-

ophosphate shunt (ホスホグルコン酸酸化経路) によりグルコースが代謝されるとコレステロール合成が促進される。これは HMG-CoA reductase が働く時は TPNH が必要であるためであろうと考えられている。肝臓では以上のようにインスリンの影響について詳しく研究されているが、前立腺ではまだ報告は全くみられず今後の研究課題である。しかしインスリンによる影響が今回の著者の実験ではみられなかったことより、前立腺においてはグルコース代謝と関係のないところからの TPNH の供給があるのかもしれない。

3) 高コレステロール食と HMG-CoA reductase 活性値

肝臓においては、Gould ら¹⁷⁾、Frantz ら¹⁸⁾、Rodwell ら¹⁹⁾ の報告にみられるように、高コレステロール食を投与することによりコレステロール合成能が低下し、同時に HMG-CoA reductase 活性値も低下することから、コレステロールは negative feed back を示すとされている。この feed back が前立腺においても存在するかどうかを調べる目的で実験を行つたが、1%コレステロール食1日および2週間投与後では普通食を与えた群との間に差はみられなかつた。コレステロールによる negative feed back はほかに小腸において Bochenek ら²⁰⁾が報告しているが、Gould ら¹⁷⁾はこれを否定しており皮膚にもみられなかつたと述べている。Gould らは肝臓以外にコレステロールによる negative feed back がみられないことは、肝臓が体内で最大のコレステロールの供給場所であることによるものであると述べている。Rodwell らによればこのコレステロールによる抑制には2つの型があり、1つは急速におこる活性の抑制であり、もう1つは緩徐におこる HMG-CoA reductase 蛋白の量の減少であると Higgins らが報告していると述べている。いずれにしても前立腺は体内におけるコレステロール代謝の major site ではなく、また肝臓や小腸のように消化器系臓器でないことより、直接外因性のコレステロールによる調節機序がなくても何ら不思議はないと考えられる。

なお高コレステロール投与2週目に血中濃度が上昇しないことについては、肝臓における調節機序が働くために2週間程度の投与期間では変化がおきなかつたのではないかと考えている。Franz¹⁸⁾ らも正常ラットでは極く軽度しか上昇しないと述べており、彼は血中コレステロール値に変化を与えるためには高コレステロール飼料投与と同時に甲状腺機能低下をおこすことが必要であると

述べている。今回の実験では血中コレステロール値に変化がみられなかつたために、血中コレステロールの変化による影響については検討できなかつた。今後さらに血中コレステロール値の変化による前立腺 HMG-CoA reductase 活性の変化につき検討する予定である。

結 語

ラット前立腺における HMG-CoA reductase 活性の調節機序について検討を加え、次の結果を得た。

1) ラット前立腺においては、去勢3日目に活性値の著明な低下をみたが、5日目では対照と変らない値に復していた。このことよりテストステロン欠乏の状態は前立腺におけるコレステロール代謝に一過性の影響しか与えないと考えられた。

2) ラット肝臓においてはインスリン投与により約2倍の活性値の上昇がみられたが、前立腺においては活性値の上昇はみられず、インスリンは前立腺におけるコレステロール代謝の調節ホルモンである可能性は少ないと考えられた。

3) 高コレステロール飼料投与により、前立腺 HMG-CoA reductase 活性値は2週間後まで変化を示さなかつた。この成績から、前立腺におけるコレステロール合成には外因性コレステロールによる negative feed back はないと考えられた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜わった恩師黒田恭一教授に深く感謝の意を表します。ならびに終始多大な御協力をいただいた勝見哲郎講師を班長とする金沢大学泌尿器科学教室下部尿路研究班の諸兄、田中耕一文部技官に謝意を表します。

なお本論文の一部は第30回ならびに第31回泌尿器科中部連合総会において発表した。

文 献

- 1) 深瀬信之：摂護腺の分泌に就て。十全医会誌，31，947—973，1926.
- 2) 桐沢金重：睾丸及び精路の病理補遺，第2。睾丸及び輸精路並に摂護腺の研究。日外会誌，28，93—145，1927.
- 3) Swyer, G.I.M.: The cholesterol content of normal and enlarged prostate. Cancer Res., 2, 372—375, 1942.
- 4) Scott, W.W.: The lipid of the prostatic fluid, seminal plasma and enlarged prostate gland of man. J. Urol., 53, 712—718, 1945.
- 5) 津ヶ谷正行，杉浦 式，大田黒和生：前立腺組織の脂質に関する生化学的研究。日泌尿会誌，70，1049—1054，1979.
- 6) Singhal, A.K., Bonner, D.P. and Schaffner,

- C.P.: Kinetics of testosterone induced-cholesterol synthesis in rat ventral prostate. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **159**, 1—5, 1978.
- 7) Singhal, A.K., Brill, D.R. and Schaffner, C.P.: Effect of clofibrate on cholesterol and DNA synthesis in rat ventral prostate. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **160**, 405—409, 1979.
 - 8) 遠藤 章：脂質代謝研究法, 10) コレステロールの合成. 代謝, **10**, 1757—1766, 1979.
 - 9) 長船匡男, 宇佐美道之, 三木恒次, 中野悦次, 松田 稔, 古武敏彦, 園田孝夫, 和田文雄：ラット前立腺におけるコレステロール合成とその調節. 日泌尿会誌, **71**, 437—448, 1980.
 - 10) 田近栄司：ラット前立腺における 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase 活性についての研究 (第1報). 日泌尿会誌, **72**, 212—220, 1981.
 - 11) Lakshmanan, M.R., Nepokroeff, C.M., Ness, G.C., Dugan, R.E. and Porter, J.W.: Stimulation by insulin of rat liver β -hydroxy- β -methylglutaryl coenzyme A reductase and cholesterol-synthesizing activities. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **50**, 704—710, 1973.
 - 12) Huber, J., Guder, W., Latzin, S. and Hanprecht, B.: The influence of insulin and glucagon on hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase activity in rat liver. *Hoppe-seyler's Z. Physiol. Chem.*, **354**, 795—798, 1973.
 - 13) Gordon, H.W. and Schaffner, C.P.: The effect of polyene macrolides on the prostate gland and canine prostatic hyperplasia. *Applied Biology*, **60**, 1201—1208, 1968.
 - 14) Wang, G.M. and Schaffner, C.P.: Effect of candididin and colestipol on the testis and prostate glands of BIO 87.20 hamsters. *Invest. Urol.*, **14**, 66—71, 1976.
 - 15) Nepokroeff, C.M., Lakshmanan, M.R., Ness, G.C., Dugan, R.E. and Porter, J.W.: Regulation of the diurnal rhythm of rat liver β -hydroxy- β -methylglutaryl coenzyme A reductase activity by insulin, glucagon, cyclic AMP, and hydrocortisone. *Arch. Biochem. and Biophys.*, **160**, 387—393, 1974.
 - 16) Siperstein, M.D. and Fagan, V.M.: Studies on the relationship between glucose oxidation and intermediary metabolism. I. The influence of glycolysis on the synthesis of cholesterol and fatty acid in normal liver. *J. Clin. Invest.*, **37**, 1185—1195, 1958.
 - 17) Gould, R.G., Tayler, C.B., Hagerman, J.S., Warner, I. and Campbell, D.J.: Cholesterol metabolism. I. Effect of dietary cholesterol on the synthesis of cholesterol in dog tissue in vitro. *J. Biol. Chem.*, **201**, 519—528, 1953.
 - 18) Frantz, I.D. Jr., Schneider, H.S. and Hinkelman, B.T.: Suppression of hepatic cholesterol synthesis in the rat by cholesterol feeding. *J. Biol. Chem.*, **206**, 465—469, 1954.
 - 19) Rodwell, V.W., Nordstrom, J.L. and Mitschelen, J.J.: Regulation of HMG-CoA reductase. *Advance in Lipid Res.*, **14**, 1—70, 1976.
 - 20) Bochenek, W.J. and Rodgers, J.B.: Dietary regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase from rat intestine. *Biochem. Biophys. Acta.*, **575**, 57—62, 1979.

(1981年7月25日受付, 特別掲載)