ヒト前立腺被膜, 腺腫および前立腺部尿道の α 受容体の定量的検討

—肥大症前立腺と正常前立腺との比較—

東京医科歯科大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 大島博幸教授)

森 田 隆

秋田大学医学部第2生化学教室 (主任: 田島陽太郎教授)

近 藤 俊

QUANTITATIVE ANALYSES OF α -ADRENOCEPTORS IN HUMAN PROSTATIC CAPSULE, ADENOMA AND URETHRA

—A Comparison between Normal Prostate and Hypertrophied Prostate—

Takashi Morita

Department of Urology, Tokyo Medical and Dental University School of Medicine
(Professor: Hiroyuki Oshima)

Shun Kondo

Department of Second Biochemistry, Akira University School of Medicine
(Professor: Yohtaroh Tashima)

The adrenergic α -1 and -2 receptors in the three layers of the prostate (capsule, adenoma and urethra) were measured in humans with or without benign prostatic hypertrophy to examine the differences between the hypertrophied and non-hypertrophied (normal) prostate. Both α -1 and -2 receptors were found to exist in similar amounts in prostatic adenoma of both hypertrophied and normal prostate groups. In the prostatic capsule and urethra of both groups α -1 receptors were more abundant than α -2 receptors. Both α -1 and -2 receptors in all three prostatic layers were found to be increased significantly in hypertrophied group compared to normal group. further more the increases in α -1 and -2 receptors of hypertrophied group were most remarkable in prostatic adenoma. These results seems to demonstrate that not only α -1 but also α -2 receptors play some important roles in benign prostatic hypertrophy.

Key words: human prostate, α_1 - and α_2 -adrenergic receptors, prostatic hypertrophy

要旨: ヒト正常前立腺および肥大症前立腺の被膜, 腺腫, 尿道の α_1 , α_2 -receptorを測定した。正常群, 肥大症群いずれにおいても α_1 , α_2 -receptorは共に腺腫で最も多く, 被膜, 尿道の順であった。また, いずれの部位の α_1 , α_2 -receptorでも正常群より肥大症群で多かった。正常群, 肥大症群のいずれにおいても腺腫では α_1 -receptorと α_2 -receptorがほぼ等量に存在したが, 被膜と尿道では α_2 -receptorより α_1 -receptorの方が多く存在した。

これらの事実は, 前立腺には元来 α_1 -receptorだけでなく α_2 -receptorも多く存在し, 肥大症前立腺ではそれらが共に腺腫, 被膜, 尿道のいずれの部位でも有意に増加することを示唆している。

キーワード: ヒト前立腺, α_1 , α_2 受容体, 肥大前立腺

結 言

Caine¹⁾は前立腺肥大症(BPHと略す。)に伴う尿閉の要因を“Dynamic factor”と“Static factor”に分けている。“Dynamic factor”とは, 前立腺に豊富に含まれる平滑筋の張力に関する要因であり, “Static

factor”とは前立腺が増大することによって生ずる解剖学的な圧迫に関係する要因である。従ってBPHによる尿閉や排尿障害を, 薬物で治療することは, 前立腺の平滑筋を弛緩させるか, 又は前立腺を縮小させるか, である。前立腺の平滑筋の緊張は自律神経系によ

り維持されており、前立腺の大きさは性機能系が大きく関与している。

1975年BPHの治療に α -blockerであるphenox-ybenzamineが有効であることが発表²⁾されて以来、同様の報告が相次ぎ、最近では、前立腺を平滑筋臓器として捉え、ヒト前立腺切片や前立腺部尿道平滑筋がnorepinephrine (α -agonist) や phenylephrine (選択的 α_1 -agonist) で収縮する³⁾⁴⁾ことから、 α_1 -blockerを用いたBPHの治療が流行しつつある。肥大前立腺腫に α -receptorが多く含まれることは諸家の報告^{7)~9)}から明らかであり、この事実がまた α -blockerをBPHの治療に用いる大きな根拠となっている。しかし、これまでの報告を検討すると、ヒト前立腺においては α_1 -receptorのみが強調されており、 α_2 -receptorに関する情報が余りにも少なく⁸⁾、また、BPHに伴う排尿障害が肥大した前立腺腫の α -receptorの増加から捉えられており、前立腺部尿道や前立腺被膜の役割がほとんど調べられていない³⁾。

そこで、私たちは、これまで余り調べられていなかったBPHにおける α_2 -receptorの定量と、前立腺部を被膜、腺腫、尿道に分けて、それぞれの部位の α_1 、 α_2 -receptorの量を比較検討した。

実験方法

1. 前立腺組織の採取

65歳から73歳までのBPH患者12名で、恥骨後式あるいは恥骨上式前立腺摘出術を施行した際に標本を採取した。前立腺腫と前立腺部尿道は、手術時に摘出した標本をKrebs液に浸しながら、実体顕微鏡下に腺腫と尿道を確定して採取した。前立腺被膜標本は、恥骨後式前立腺摘出術を行う際、被膜を少し切除して採取した。採取した前立腺の一部を病理に提出し、nodular hyperplasia 又は fibromuscular hyperplasia の返事を得て、BPHの存在を確認した。

正常前立腺は63歳から71歳までの男性膀胱癌患者15名で、尿道に病巣がなく、術前、放射線照射や抗癌剤投与を行わなかった者の膀胱全摘出術の際に採取した。摘出した標本をKrebs液に浸し、血液を洗った後、同液に浸しながら、肉眼的に前立腺被膜、前立腺、尿道を確認して採取した。また、摘出手術標本を病理に提出し、BPHと診断されたもの(15名中4名)は除外した。

前立腺組織の採取に要した時間は、肥大前立腺においては、手術的に摘出してから約20分、正常前立腺においてはそれよりやや多く約30分であったが、受容体

の変性を防ぐため全操作を0℃～4℃のKrebs液で行った。

2. Radioligand 結合実験

採取した前立腺被膜 (Capsule: Cap と略す)、前立腺腫 (Adenoma: Ade と略す)、前立腺部尿道 (Urethra: Ure と略す) の組織を0℃のKrebs液に浸しながら、200～300mgの細片に分け、液体窒素で瞬間凍結し、-80℃で保存した。

組織標本の調整: 凍結標本を解凍し、50倍量の50mM Tris HCl (pH 8.0, 25℃) 中でhomogenizeした。4℃, 49,000×gで15分間遠心し上清を棄てた後、沈渣を回収し、再び50倍量の50mM Tris HCl 中でhomogenizeし、100 μ m poreのナイロンメッシュフィルターで濾過した後、4℃, 49,000×gで15分間遠心した。得られた沈渣を60倍量の25mM glycylglycine buffer (pH 7.4, 25℃) に希釈溶解して assay に使用した (図1)。蛋白含有量はLowry法¹⁰⁾により牛のアルブミンを標準として測定した。

飽和結合実験: 放射性 ligand と細胞膜中の受容体とを飽和状態まで結合させて、最大結合量(maximum number of binding sites: Bmax: 受容体の数を表わす。)および解離実数(equilibrium dissociation constant: K_D : 受容体の遮断薬に対する親和性を表わす。)を求めた。即ち、細胞膜の試料と低濃度から高濃度までの³H-ligand とを 10^{-5} M phentolamine を加えた場合と加えない場合に分けて、23℃で30分間 incubate した。その incubation した混合液を Whatman

図1 Radioligand 結合実験における組織標本の調整方法。

GF/B フィルターで濾過した。濾過したフィルターを 50mM Tris HCl (pH 8.0, 25℃) 8~12ml で洗浄した。洗浄後フィルターを回収し, 10ml のトルエンを基にした scintillation fluid を加えて, フィルターに付着した放射能活性を 40~45% の回収効率で測定した。飽和結合実験は, ^3H -prazosin 0.02~1.0nM および ^3H -yohimbine 0.2~3.5nM の範囲で行った。Bmax および K_D は, 結合実験で得られた飽和結合曲線を, Rosenthal の方法¹¹⁾により, 結合した ligand の量/結合しない ligand の量 (bound/free) を縦軸に, 結合した ligand の量 (bound) を横軸にプロットした直線に変換して, 直線と横軸との交点から Bmax を, 直線の傾きの負の逆数から K_D を算出した (図 2)。統計的な有意差検定は non-paired t-test を用いて行った。

3. 使用薬剤

使用した薬剤およびアイソトープは phentolamine hydrochloride (Ciba-Geigy), ^3H -prazosin (80.9Ci/mmol) (Amersham) および ^3H -yohimbine (80.9Ci/mmol) (Amersham) である。

実験成績

BPH および正常の Cap, Ade, Ure には, ^3H -prazosin, ^3H -yohimbine に対する結合部位が存在することが判明した。BPH と正常の Cap, Ade, Ure の, ^3H -prazosin に対する飽和結合実験の成績を表 1 に, ^3H -yohimbine に対する飽和結合実験の成績を表 2 に示す。 K_D 値には有意差は認められなかった。Bmax 値を比較すると, BPH 群, 正常群いずれも ^3H -prazosin, ^3H -yohimbine 共に Ade>Cap>Ure であった ($p<0.01$)。正常 Ade の ^3H -prazosin の Bmax (平均) を 100 (%) として表すと, 正常群の ^3H -prazosin (α_1) は Ade:Cap:Ure=100:78:56, ^3H -yohimbine(α_2) は Ade:Cap:Ure=95:50:38 であり, BPH 群では,

図 2 飽和結合実験 (Bmax, K_D の求め方)。

α_1 は Ade:Cap:Ure=147:97:72, α_2 は Ade:Cap:Ure=150:62:43 であった (図 3)。BPH 群と正常群を比較すると, Ade, Cap, Ure のいずれの部位でも α_1 , α_2 共に BPH 群>正常群であった。しかし Cap, Ure においては α_1 , α_2 の Bmax が BPH 群で正常群に比べ 16~27% 増加しているのに対し, Ade においては BPH 群で正常群に比べ約 50% 増加しており (図 4), 増加の程度に部位的差異のあることが判明した。また α_1 , α_2 の量を部位的に比較すると BPH 群, 正常群とも Cap, Ure では $\alpha_1>\alpha_2$ ($p<0.01$) であるのに対し, Ade では $\alpha_1=\alpha_2$ であることが判明した (図 5)。

表 1 正常前立腺と肥大症前立腺の各部位 (腺腫: Adenoma, 被膜: Capsule, 尿道: Urethra) の α_1 -receptor. ^3H -PZ の Bmax と K_D を示す。

Area of Tissue	Hypertrophied Prostate	Normal Prostate
	Bmax(fmol/mg protein), K_D (nM)	Bmax(fmol/mg protein), K_D (nM)
Capsule	62.5 ± 1.2 (n = 6), 0.21 ± 0.04	50.5 ± 0.7 (n = 6), 0.22 ± 0.08
Adenoma	94.6 ± 11.8 (n = 8), 0.25 ± 0.04	64.4 ± 3.2 (n = 6), 0.19 ± 0.04
Urethra	46.5 ± 4.0 (n = 4), 0.34 ± 0.08	36.0 ± 2.0 (n = 6), 0.28 ± 0.05

^3H -PZ : ^3H - prazosin Values represent mean ± SE.

表2 正常前立腺と肥大症前立腺の各部位の α_2 -receptor, ^3H -YOH の B_{max} と K_D を示す。

Area of Tissue	Hypertrophied Prostate	Normal Prostate
	B_{max} (fmol/mg protein), K_D (nM)	B_{max} (fmol/mg protein), K_D (nM)
Capsule	40.2 ± 3.4 (n = 6), 0.95 ± 0.08	32.1 ± 0.8 (n = 6), 1.21 ± 0.11
Adenoma	96.4 ± 15.4 (n = 8), 1.20 ± 0.09	61.3 ± 4.0 (n = 6), 1.11 ± 0.25
Urethra	28.1 ± 1.2 (n = 4), 1.14 ± 0.18	24.4 ± 1.0 (n = 6), 1.17 ± 0.17

^3H -YOH : ^3H -yohimbine Values represent mean $\pm$ SE.

図3 正常前立腺（肥大症の無いもの）と肥大症前立腺の各部位(腺腫：Ade、被膜：Cap、尿道：Ure)の α_1 、 α_2 -receptor の量。正常群の Ade の α_1 -receptor 量を100としてそれに対する比で表した。

図4 正常前立腺と肥大症前立腺の同部位における α_1 、 α_2 -receptor 量の比較。正常群の Ade の α_1 -receptor 量を100とした。

図5 α_1 、 α_2 -receptor の割合。

考 察

1975年 Caine ら²⁾が BPH の排尿障害に対する phenoxybenzamine の効用を報告して以来、同様の報告は数多く行われている¹²⁾¹³⁾。 α -blocker を用いた BPH の治療の基本概念は、ヒト前立腺の切片が norepinephrine により収縮するという in vitro の結果に基づいているが、norepinephrine を投与すると前立腺部の尿道内圧が上昇し、 phentolamine 等の α -blocker で低下するという事実³⁾⁴⁾もまた α -blocker を BPH の使用する正当性を支持している。しかし、前立腺部尿道の内圧は、平滑筋性の尿道と、それを囲む前立腺腺腫および前立腺被膜さらには腹圧の総和として規定されるとする考え方もある¹⁴⁾。そこで私たちは BPH に伴う排尿困難の原因、即ち Caine の言う“Dynamic

factor”を, BPH の Adenoma についてのみ求めるのではなく, Urethra および Capsule についても求めるべきであると考えた. このような背景から, BPH 群と正常群の前立腺部の組織を Ade, Cap, Ure に分けて採取し, それぞれの部位の α_1 , α_2 受容体の含量を調べた.

^3H -prazosin, ^3H -yohimbine の K_D が BPH 群, 正常群の各々の部位で有意差が見られなかったことから, α_1 , α_2 受容体はいずれも, BPH 群と正常群の間および各部位の間で質的な変化が見られないと考えられた.

BPH 群も正常群も α_1 受容体, α_2 受容体の含量は Ade で最も多く, Cap, Ure の順であった. また α_1 と α_2 受容体の量的割合を各部位でみると, BPH 群, 正常群とも Cap, Ure では α_2 受容体より α_1 受容体が有意に多いのに対し, Ade では α_1 受容体と α_2 受容体がほぼ等量含まれることが判明した. また, BPH 群では正常群と比較して, Cap, Ade, Ure のいずれの部位でも α_1 受容体, α_2 受容体が共に増えているが, Ade において特に著しく増えていることが判明した.

α_1 受容体が BPH の Ade に多く存在するという私たちの結果は, これまでの報告⁷⁾⁹⁾¹⁵⁾と一致している. しかし, 私たちの結果では, 元来 α_1 受容体は Ade のみならず Ure や Cap にも多量に存在し, BPH では Ade の α_1 受容体だけでなく Ure や Cap の α_1 受容体も有意に増えており, この事実はこれまで余り注目されていなかったと考えられる.

また, 私たちの結果における, 前立腺には元来 α_2 受容体も多量に含まれ, 肥大するにつれ α_2 受容体も α_1 受容体と同じように増加するという事実も, これまでの報告にはほとんど見られない. BPH の Ade から採取した切片に対して norepinephrine の惹起する収縮が, α_1 blocker により抑制され, α_2 blocker ではほとんど抑制されなかったという事実が良く知られている¹⁶⁾ために α_2 受容体が余り注目されなかったためと考えられる.

Gup ら¹⁷⁾は同程度に肥大した BPH 患者の Ade の α_2 受容体量が臨床症状と相関することを報告しており, Kawabe らの報告⁹⁾の中にも BPH の Ade で α_2 受容体はかなり多く含まれるデータも見られる. α_2 受容体と前立腺の収縮の関係がはっきりしないために, α_2 受容体が BPH において如何なる意義を有するのか未だ知られるところではないが, 最近の研究によれば, α_2 受容体にも収縮に参与するものが示唆されており¹⁸⁾, 私たちの実験結果において, BPH の Ade には α_1 受容体と α_2 受容体の量はほぼ同程度に増加してい

る事実は, もっと注目されるべきである.

BPH の発生機序そのものが完全には解明されておらず, BPH でなぜ α_1 , α_2 受容体が増加するのか知られていない. 前立腺が肥大するために一種の Denervation supersensitivity であるという考えもある¹⁵⁾¹⁶⁾が, Denervation を示す組織内の cathecholamine 濃度が減少しているというはっきりとした確証は得られていない²⁰⁾. もしも, α -receptor に対して denervation supersensitivity であるとするれば, β -receptor に対しても同様でなければならないが, β -receptor が増加しているという報告はない. 最近, 私たちは, ウサギ尿道の α_1 受容体量はテストステロン依存性であり, α_2 受容体はエストロゲン依存性であることを明らかにした²⁴⁾²⁵⁾. BPH の発生過程でのエストラジオールの関与は古くから示唆されている^{21)~23)}. 従って, 本実験で明らかになった BPH における α_2 受容体の著明な増加は, BPH の発生過程におけるエストロジェンの関与に関係するのかも知れない.

文 献

- 1) Caine, M.: The present role of alpha-adrenergic blockers in the treatment of benign prostatic hypertrophy. *J. Urol.*, 136, 1—4, 1986.
- 2) Caine, M., Raz, S. and Ziegler, M.: Adrenergic and cholinergic receptors in the human prostate, prostatic capsule and bladder neck. *Brit. J. Urol.*, 27, 193—202, 1975.
- 3) Furuya, S., Kumamoto, Y., Yokoyama, E., Tsukamoto, T., Izumi, T. and Abiko, Y.: Alpha-adrenergic activity and urethral pressure in prostatic zone in benign prostatic hypertrophy. *J. Urol.*, 128, 836—839, 1982.
- 4) 国沢義隆: α_1 遮断薬のヒト膀胱三角部と前立腺部尿道平滑筋に及ぼす基礎的, 臨床的研究. *日泌尿会誌*, 77, 600—611, 1986.
- 5) Kirby, R.S., Coppinger, S.W.C., Corcoran, M.V., Chapple, C.R., Flannigan, M. and Milroy, E.J. G.: Prazosin in the treatment of prostatic obstruction. A placebocontrolled study. *Brit. J. Urol.*, 60, 136—142, 1987.
- 6) 山口 脩, 白岩康夫, 小林正人, 横田 崇, 大日向 充, 青木 光, 続多香子, 大堀 勉, 吉田郁彦, 沼里 進, 鈴木 安, 佐久間芳立, 藤島幹彦, 後藤康文, 安達雅史, 小倉裕幸, 山本利樹, 松井繁和, 菅一徳, 湊 修嗣, 横山 純, 伊達智徳, 平井康夫, 熊川健二郎, 亀岡 浩, 石渡久善, 伊東賢二, 千葉隆一, 坂上善成, 片寄功一, 熊 佳伸, 長沢正人, 高岩正至, 平 則夫: 前立腺肥大症に伴う排尿障害に対する塩酸プラゾシン (ミニプレス®錠) の臨

- 床評価. 医学と薬学, 19, 411—429, 1988.
- 7) Lepor, H. and Shapiro, E.: Characterization of alpha 1 adrenergic receptors in human benign prostatic hyperplasia. *J. Urol.*, 132, 1226—1229, 1984.
 - 8) Shapiro, E. and Lepor, H.: Alpha 2 adrenergic receptors in hyperplastic human prostate: Identification and characterization using [^3H] rauwolscine. *J. Urol.*, 135, 1038—1042, 1986.
 - 9) Kawabe, K., Moriyama, N., Hamada, K. and Ishima, T.: Density and localization of alpha 1-adrenoceptors in hypertrophied prostate. *J. Urol.*, 143, 592—595, 1990.
 - 10) Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.L. and Ranall, R.J.: Protein measurement with folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265—274, 1951.
 - 11) Rosenthal, H.E.: Graphic methods for the determination and presentation of binding parameters in a complex system. *Anal. Biochem.*, 20, 525—532, 1967.
 - 12) Gerstenberg, T., Blaabjerg, J., Nielsen, M.L. and Clausen, S.: Phenoxybenzamine reduces bladder outlet obstruction in benign prostatic hyperplasia. A urodynamic investigation. *Invest. Urol.*, 18, 29—31, 1980.
 - 13) Abrams, P.H., Shah, P.J.R., Stone, R. and Choa, R.G.: Bladder outflow obstruction treated with phenoxybenzamine. *Brit. J. Urol.*, 54, 527—530, 1982.
 - 14) 森田 隆, 佐伯英明, 近藤 俊: 尿道内圧曲線に対する尿道周囲臓器および腹圧の影響について. 臨泌, 35, 1173—1175, 1981.
 - 15) 横山英二, 古屋聖児, 熊本悦明: ヒト前立腺組織中の交感神経受容体に関する研究. 日泌尿会誌, 76, 325—337, 1985.
 - 16) Chapple, C.R., Aubry, M.L., James, S., Green-grass, P.M., Burnstock, G., Turner-Warwick, R. T., Milroy, E.J.G. and Davey, M.J.: Characterization of human prostatic adrenoceptors using pharmacology receptor binding and localization. *Brit. J. Urol.*, 63, 487—496, 1989.
 - 17) Gup, D.I., Shapiro, E., Baumann, M. and Lepor, H.: Autonomic receptors in human prostate adenomas. *J. Urol.*, 143, 179—185, 1990.
 - 18) Ruffolo, R.R. Jr., Waddell, J.E. and Yaden, E. Y.: Postsynaptic alpha adrenergic receptor subtypes differentiated by yohimbine in tissues from the rat. Existence of alpha-2 adrenergic receptors in rat aorta. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 217, 235—240, 1981.
 - 19) Baumgarten, H.G., Falck, B., Holstein, A.F., Owman, Ch. and Owman, T.: Adrenergic innervation of the human testis, epididymis, ductus deferens and prostate: A fluorescence microscopic and fluorimetric study. *Zeitschrift für Zellforschung*, 90, 81—95, 1968.
 - 20) Lepor, H., Shapiro, E., Bowsher, R.R. and Henry, D.P.: Determination of norepinephrine levels in the adult human prostate. *J. Urol.*, 144, 1263—1266, 1990.
 - 21) Prike, K.M. and Doerr, P.: Age related change in free plasma testosterone, dihydrotestosterone and oestradiol. *Acta Endocrinol.*, 80, 171—178, 1975.
 - 22) Rubens, R., Dhont, M. and Vermeulen, A.: Further studies on leydig cell function in old age. *J. Clin. Endocrinol.*, 39, 40—45, 1974.
 - 23) Walsh, P.C. and Wilson, J.D.: The induction of prostatic hypertrophy in the dog with androstenediol. *J. Clin. Invest.*, 57, 1093—1097, 1976.
 - 24) 武弓俊一, 森田 隆, 近藤 俊, 西本 正, 山口 哲, 土谷順彦, 塙 篤美, 宮本勇二, 川原敏行: 下部尿路自律神経受容体の分布に対するテストステロンの影響. 日本平滑筋誌, 26, 401—403, 1990.
 - 25) 土谷順彦, 森田 隆, 近藤 俊, 山口 哲, 武弓俊一, 土田正義: 雄家兎尿道平滑筋の自律神経受容体に対する除脳及びエストロジェンの影響. 日本平滑筋誌, 26, 405—407, 1990.

(1991年11月19日受理)