ヒト前立腺肥大症腺腫の α 受容体に対する 各種の α_1 -blocker の効果の比較検討

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

COMPARISON OF SELECTIVE ALPHA-1 BLOCKADES FOR ALPHA-RECEPTORS IN HUMAN HYPERTROPHIED PROSTATIC ADENOMAS

Takashi Morita

Department of Urology, Tokyo Medical and Dental University School of Medicine

(Professor: Hiroyuki Oshima)

Shun Kondo

Department of Second Biochemistry, Akita University School of Medicine

(Professor: Yohtaroh Tashima)

The adrenergic alpha-1 and -2 adrenoceptors in six human hypertrophied prostatic adenomas were measured in the saturation experiment using ^3H -prazosin and ^3H -yohimbine. Not only alpha-1 adrenoceptors but also alpha-2 adrenoceptors were found to exist in large amounts in prostatic adenomas. In the inhibition experiment selective alpha-1 antagonists inhibited the ^3H -prazosin or ^3H -yohimbine bindings to adenomas. The potency of alpha-1 antagonists in the order prazosin>bunazosin>alfuzosin>urapidil>terazosin and that of alpha-2 antagonists is urapidil>alfuzosin>terazosin>bunazosin>prazosin. These data suggest that urapidil, alfuzosin and terazosin may affect the human hypertrophied prostatic adenoma like phenoxybenzamine, nonselective alpha-1 antagonist, which was used for benign prostatic hypertrophy.

Key words: prostatic hypertrophy, α_1 -blockers, inhibition experiment

要旨: 6名の前立腺肥大症患者から摘出した前立腺腫において ^3H -prazosin と ^3H -yohimbine を用いた飽和結合実験により α_1 , α_2 -receptor を定量した。肥大前立腺腫には α_1 -receptor だけでなく α_2 -receptor も相当量含まれていることが判明した。肥大前立腺腫と ^3H -prazosin, ^3H -yohimbine の binding に対する選択的 α_1 -blocker の抑制効果を調べた。 α_1 -blocker としての効果は prazosin>bunazosin>alfuzosin>urapidil>terazosin の順に強く、 α_2 -blocker としての効果は urapidil>alfuzosin>terazosin>bunazosin>prazosin であった。これまで前立腺肥大症に非選択性の α_1 -blocker である phenoxybenzamine が有効であるとの報告があるが、本実験結果は urapidil, alfuzosin および terazosin は phenoxybenzamine のように使用できる可能性を示している。

キーワード: 前立腺肥大症, α_1 ブロッカー, 結合抑制実験

緒 言

1976年 Caine ら¹⁾によって前立腺肥大症 (BPH) と略す) による排尿障害に α -blocker が臨床的に使用されて以来, 同様の有効性が相次いで報告された^{2)~4)}。最近では α 受容体を介するヒト前立腺腫の収縮が主に

α_1 サブタイプを介しているという実験データ⁵⁾⁶⁾を基に, α -blocker である phenoxybenzamine の副作用を回避する目的も加わって, α_1 -blocker を用いた BPH による排尿障害に対する治療が行われつつある^{7)~9)}。私たちは, 前報¹⁰⁾で, BPH の前立腺組織で α_1 , α_2 -受

容体が著明に増えていることを報告した。従ってこれから使われようとする α_1 -blocker がヒト肥大症前立腺腫の α_1 , α_2 -受容体にどのように作用するのかを検討しておくことは、重要な意味を持つと考えられる。そこで、手術時に摘出した肥大症前立腺腫と ^3H -prazosin (^3H -PZ) および ^3H -yohimbine (^3H -YOH) との binding に対する α_1 -blocker の抑制効果を調べた。

実験方法

前立腺組織の採取：65歳から69歳までの BPH 患者 6 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得た。摘出した前立腺腫標本を Krebs 液に浸しながら、200mg 程の細片に切断し、液体窒素に浸して瞬間凍結し、 -80°C で保存した。

組織機械本の調整：凍結標本を解凍し、50倍量の50 mM Tris HCl (pH 8.0, 25°C) 中で homogenize した。4 $^\circ\text{C}$, 49,000 $\times$ 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 μm pore のナイロンメッシュフィルターで濾過した後、同じ条件で遠心した。得られた沈渣を60倍量の25mM glycylglycine buffer (pH 7.4, 25°C) に希釈溶解して assay に使用した。蛋白含有量は Lowry 法¹¹⁾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) および解離定数(equilibrium dissociation constant: K_D) を求めた。即ち、細胞膜の調整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、 25°C で30分間 incubate した。その incubation した混合液を Whatman 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°C)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40~50%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 0.2~3.5mM 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¹²⁾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、直線の傾きの負逆数か

ら K_D を算出した。

結合抑制実験：細胞膜調整試料を0.5nM の ^3H -PZ または1.5nM の ^3H -YOH と異った濃度 (10^{-10} ~ 10^{-4} M) の α_1 -blocker (prazosin, terazosin, alfuzosin, bunazosin, urapidil) の存在下に incubate した。Incubation や filtering の方法は飽和結合実験と同様にした。得られた結果を解析し、loglogit plot を用いて 1C_{50} (^3H -PZ 又は ^3H -YOH の結合を50%抑制するのに必要な blocker の濃度) を算出し、Cheng and Prusoff の式¹³⁾から抑制定数(inhibition constant: K_i : 受容体と放射性 ligand との結合を抑制する強さを表わす。) を求めた。

結合抑制実験では、同一の調整試料において、prazosin, terazosin, alfuzosin, bunazosin, urapidil を用いた実験を行いそれぞれの K_i を算出して比較検討した。

判定は non-paired t-test を用いて行った。

使用薬剤：Phentolamine hydrochloride (Chiba-Geigy), ^3H -prazosin(80.9Ci/mmol, Amersham), ^3H -yohimbine(80.9Ci/mmol, Amersham), prazosin (Sigma), terazosin(三菱化成), alfuzosin(藤沢薬品), bunazosin (エーザイ), urapidil (科研製薬), yohimbine (Sigma) である。

実験成績

飽和結合実験成績：6名の肥大症前立腺の摘出重量は46~75g であった。 ^3H -prazosin (α_1 -receptor) に対する Bmax は 96.2 ± 14.4 fmol/mg protein, K_D は 0.27 ± 0.06 nM であった。 ^3H -yohimbine(α_2 -receptor) に対する Bmax は 92.8 ± 15.6 fmol/mg protein, K_D は 1.26 ± 0.08 nM であった (Table 1)。

結合抑制実験成績： ^3H -prazosin との binding に対する α_1 -blocker の K_i 値は prazosin : 1.50 ± 0.24 (nM), terazosin : 11.02 ± 1.00 (nM), bunazosin : 5.11 ± 0.15 (nM), alfuzosin : 7.53 ± 0.31 (nM), urapidil : 8.14 ± 0.95 (nM) であった。

Table 1 Alpha-adrenergic receptor density: Six human prostate adenomas

Receptor	Ligand	Bmax (fmol/mg protein)	K_D (nM)
Alpha-1	^3H -prazosin	96.2 ± 14.4	0.27 ± 0.06
Alpha-2	^3H -yohimbine	92.8 ± 15.6	1.26 ± 0.08

mean $\pm$ SE

Table 2 Ki values of alpha- blockers to bindings of ³H-prazosin or ³H-yohimbine to six human prostate adenomas

Alpha-blockers	Ki (nM)	
	³ H- prazosin	³ H- yohimbine
Prazosin	1.50 ± 0.24	1970.53 ± 42.03
Terazosin	11.02 ± 1.00	1382.30 ± 54.72
Bunazosin	5.11 ± 0.15	1746.75 ± 62.30
Alfuzosin	7.53 ± 0.31	1350.50 ± 35.30
Urapidil	8.14 ± 0.95	1105.48 ± 72.02
Yohimbine	not done	136.80 ± 11.52

mean ± SE

Table 3 $\frac{\text{Ki value of alpha-blocker to binding of } ^3\text{H-yohimbine}}{\text{Ki value of alpha-blocker to binding of } ^3\text{H-prazosin}}$

Prazosin	1970.53/1.50 = 1313.69
Terazosin	1382.30/11.02 = 125.43
Bunazosin	1746.75/5.11 = 341.82
Alfuzosin	1350.50/7.53 = 179.35
Urapidil	1105.48/8.14 = 135.80

³H-yohimbine との binding に対する α_1 -blocker および yohimbine の Ki 値 は prazosin : 1,970.53 ± 42.03 (nM), terazosin : 1,382.30 ± 54.72 (nM), bunazosin : 1,746.75 ± 62.30 (nM), alfuzosin : 1,350.50 ± 35.30 (nM), urapidil : 1,105.48 ± 72.02(nM), yohimbine : 136.80 ± 11.52(nM)であった (Table 2).

α_1 , α_2 の選択性を示すパラメーターとして (³H-yohimbine に対する Ki 値)/(³H-prazosin に対する Ki 値) を算出すると prazosin : 1,313, terazosin : 125, bunazosin : 341, alfuzosin : 179, urapidil : 136 であった (Table 3).

考 察

飽和結合実験から 6 名の前立腺肥大症患者から摘出した前立腺腫には、ほぼ同量の α_1 , α_2 -receptor が含まれることが判明した。この事実は前報¹⁰⁾において報告した如くであり、Lepor ら⁵⁾の報告と類依していたが、他の α -receptor 測定に関する報告¹⁴⁾¹⁵⁾とは異なっていた。この理由は既に述べた通り¹⁰⁾であるが、測定データを平均値のみでなく個々の症例において記載している Kawabe ら¹⁴⁾の結果を見る限り、肥大前立腺の receptor 測定結果は、個々の症例や標本を採取する部位によって、かなりのバラツキがあると考えられる。私は、

この点には特に留意して、摘出した標本を詳細に観察し、肥大前立腺腫の各部位から均一に組織を採取した。

結合抑制実験結果より、 α_1 -blocker である prazosin, terazosin, bunazosin, alfuzosin, urapidil の抑制の強さは prazosin > bunazosin > alfuzosin > urapidil > terazosin の順であったが terazosin, bunazosin, urapidil の³H-prazosin binding に対する Ki 値が、 prazosin の Ki 値の 3 ~ 8 倍の範囲にあることから、これら 4 剤は肥大前立腺の α_1 -receptor に対しては prazosin とほぼ同等の抑制作用を有すると考えてさしつかえない。一方、³H-yohimbine binding に対する Ki 値から terazosin, alfuzosin は yohimbine の 1/10の α_2 作用を有し、 urapidil は yohimbine の 1/8の α_2 作用を有することが判明した。従って prazosin, terazosin, bunazosin, alfuzosin, urapidil の中で α_2 作用は urapidil > alfuzosin > terazosin > bunazosin > prazosin の順であることが言えるが、いずれの α_2 作用も yohimbine の 1/8~1/14であり、いずれの薬剤も α_1 の選択性が高いことが判明した。

α_1 , α_2 の選択性を α_1 と α_2 に対する抑制定数の比率から調べたところ、最も選択性の高いのは prazosin であり、 terazosin, alfuzosin, urapidil が低いことが判明した。

本実験で調べた α_1 -blocker は、現在、前立腺肥大症による排尿障害の治療薬として臨床応用されているか又は開発中の薬剤である。1976年 Caine ら¹⁾が前立腺肥大症患者に α -blocker を初めて投与して以来、前立腺肥大症の排尿障害に対する治療として α -blocker の投与が普及しつつある。しかし、肥大前立腺腫には本実験でも、前報¹⁰⁾でも明らかになったように、 α_1 -receptor のみならず、 α_2 -receptor も著明に増えており、前立腺肥大症治療薬としての α_1 -blocker 至上主義(?)には疑問を投げかけたい。実際に、前立腺肥大症に伴なう “irritative voiding symptoms” に対しては selective α_1 -blocker の prazosin よりも non-selective α_1 -blocker の phenoxybenzamine の方がより有効であったとする報告¹⁶⁾や、“asymptomatic BPH” に比較して “symptomatic BPH” では α_1 -receptor の量には有意差はないものの α_2 -receptor が有意に多いという報告¹⁷⁾もある。また、犬前立腺に関する実験であるが、clonidine (α_2 -agonist) は in vivo 尿道内圧を有意に (epinephrine の 50%程度) 上昇させ、yohimbine (α_2 -blocker) は clonidine や epinephrine による尿道内圧の上昇を遮断した事が報告されてい

る¹⁸⁾。これらの報告^{16)~18)}と本実験結果を考えあわせると terazosin, alfuzosin, urapidil はどちらかといえば phenoxybenzamine に近い薬剤とも考えられ、今後の基基試験、臨床試験の結果が興味深く待たれるところである。

前立腺肥大症患者の臨床症状は排尿困難だけでなく、頻尿等のいわゆる膀胱刺激症状等があり多彩である。私たちは前立腺に含まれる平滑筋の収縮ということにのみ心を奪われているような気がする。このような私たちの気持ちに対する自戒の意味も含めて、最近開発されようとしている α_1 -blocker が前立腺の α -receptor に関してどのような意味を有するののかを知るために本実験を行った。試薬を快く提供していただいた各社に感謝する。

文 献

- 1) Caine, M., Pfau, A. and Perlberg, S.: The use of alpha-adrenergic blockers in benign prostatic obstruction. *Brit. J. Urol.*, 48, 255—263, 1976.
- 2) Caine, M., Perlberg, S. and Meretyk, S.: A placebo-controlled doubleblind study of the effect of phenoxybenzamine in benign prostatic obstruction. *Brit. J. Urol.*, 50, 551—554, 1978.
- 3) 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.
- 4) 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.
- 5) Lepor, H., Gup, D.I., Baumann, M., Shapiro, E.: Laboratory assessment of terazosin and alpha-1 blockade in prostatic hyperplasia. *Urology Suppl.*, 32, 21—26, 1988.
- 6) Hieble, J.P., Boyce, A.J. and Caine, M.: Comparison of the alphaadrenoceptor characteristics in human and canine prostate. *Fed. Proc.*, 45, 2609—2614, 1986.
- 7) Hedlund, H., Andersson, K.E. and Ek, A.: Effects of prazosin in patients with benign prostatic obstruction. *J. Urol.*, 130, 275—277, 1983.
- 8) 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 placebo-controlled study. *Brit.*

J. Urol., 60, 136—142, 1987.

- 9) 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ミン(ミニプレス®錠)の臨床評価. *医学と薬学*, 19, 411—429, 1988.
- 10) 森田 隆, 近藤 俊: 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—. *日泌尿会誌*, 投稿中.
- 11) 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.
- 12) Rosenthal, H.E.: Graphic methods for the determination and presentation of binding parameters in a complex system. *Anal. Biochem.*, 20, 525—532, 1967.
- 13) Cheng, Y.C. and Prusoff, W.H.: Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50% inhibition (IC_{50}) of an enzyme reaction. *Biochem. Pharmacol.*, 22, 3099—3108, 1973.
- 14) Kawabe, K., Moriyama, N., Hamada, K. and Ishima, T.: Density and localization of alpha 1-adrenoceptors in hypertrophied prostate. *J. Urol.*, 592—595, 1990.
- 15) Chapple, C.R., Aubry, M.L., James, S., Greengrass, 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.
- 16) Caine, M.: The present role of alphaadrenergic blockers in the treatment of benign prostatic hypertrophy. *J. Urol.*, 136, 1—4, 1986.
- 17) Gup, D.I., Shapiro, E., Baumann, M. and Lepor, H.: Autonomic receptors in human prostate adenomas. *J. Urol.*, 143, 179—185, 1990.
- 18) Shapiro, E., Tsitlik, J.E. and Lepor, H.: Alpha-2 adrenergic receptors in canine prostate: Biochemical and functional correlations. *J. Urol.*, 137, 565—570, 1987.

(1991年11月19日受理)