ヒトの膀胱と前立腺のエンドセリン-1受容体 濃度に及ぼす前立腺肥大症の影響

秋田大学医学部第二生化学, *東京医科歯科大学医学部泌尿器科

近 藤 俊 森 田 隆*

EFFECT OF BENIGN PROSTATIC HYPERTROPHY ON THE ENDOTHELIN-1 RECEPTOR DENSITY IN HUMAN URINARY BLADDER AND PROSTATE

Shun Kondo and Takashi Morita*

Second Department of Biochemistry Akita University School of Medicine

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

We measured the amount of binding sites for endothelin-1 (ET-1) in the bladder and prostate in patients with and without benign prostatic hypertrophy (PH and NPH group) using ^{125}I -ET-1. Also the localization of ET-1 binding sites in hypertrophied adenoma was studied using autoradiography. Saturation experiments with ^{125}I -ET-1 revealed that there were single class of saturable high affinity binding sites for ^{125}I -ET-1 in the homogenate of the bladder (dome and base) and prostate (adenoma and capsule). The K_D values to the bladder and prostate were not different between PH and NPH group. The B_{max} values in the bladder (base and dome) were significantly lower in the PH group. While those in the prostate (adenoma and capsule) were significantly higher in the PH group. Autoradiograms of hypertrophied adenoma showed that ET-1 binding sites were localized to the stromal smooth muscles as well as to the glandular epithelium. These data suggest that ETs affect the pathophysiology of BPH through the changes in receptor density in both the bladder and prostate.

Key words: ^{125}I -endothelin-1, benign prostatic hypertrophy, bladder and prostate

要旨: 前立腺肥大症のある患者とない患者(前立腺肥大症群(PH)と非前立腺肥大症群(NPH))とて, 膀胱(体部, 低部)と前立腺(腺腫, 被膜)のエンドセリン-1(ET-1)の結合部位を ^{125}I -ET-1を用いて定量した。また, 前立腺肥大症腺腫の切片におけるET-1結合部位の局在をautoradiographyを用いて検討した。 ^{125}I -ET-1を用いた飽和結合実験から, 膀胱(体部, 底部)と前立腺(腺腫, 被膜)の細胞膜には, ^{125}I -ET-1に対する飽和可能な単一の結合部位が存在することが判明した。膀胱と前立腺での解離定数(K_D)にはPH群とNPH群とで有意差は見られなかった。膀胱(体部, 底部)での最大結合部位数(B_{max})はPH群で有意な減少が見られた。一方, 前立腺(腺腫, 被膜)での B_{max} はPH群で有意な上昇が見られた。前立腺肥大症腺腫でのautoradiogramから, ^{125}I -ET-1の結合部位は, 間質の平滑筋や腺上皮に存在することが判明した。以上のことから, エンドセリンが膀胱や前立腺のエンドセリン受容体濃度の変動を介して, 前立腺肥大症の病態生理に影響を及ぼしていることが考えられた。

キーワード: ^{125}I -endothelin-1, 前立腺肥大症, 膀胱と前立腺

緒 言

エンドセリン(ET)は内皮細胞由来の強力な血管収縮作用を有する peptide である¹⁾。当初は主として循環系に作用する物質であると考えられたが, 循環系以外にも種々の臓器組織で, 血管収縮の他に多様な生理作

用を有することが明らかにされている。尿路組織では, ヒト, ウサギの膀胱平滑筋切片を濃度依存性に収縮させることが報告されている²⁾³⁾。ETはこの物質と特異的に結合する受容体を介してその作用を発揮する⁴⁾。この受容体は ^{125}I で放射能ラベルされたETを用いた

実験により、多くの臓器組織での存在が報告されている⁵⁾。現在、エンドセリン受容体 (ET-R) には2種のサブタイプが存在することが判明しており、分子生物学的検討もなされている⁶⁾。一方、種々の病態などの条件によって、ET-R は影響を受け、受容体濃度の変化が起こることが報告されている⁷⁾。しかし、尿路系組織での ET-R の変動についての検討はなされていない。そこで、今回、私達は、前立腺肥大症のある患者とない患者とで膀胱 (体部、底部) と前立腺 (腺腫、被膜) のエンドセリン-1受容体 (ET-1-R) を定量し、前立腺肥大症がエンドセリン-1受容体の濃度に及ぼす影響について検討したのでその結果を報告する。また、前立腺腺腫については autoradiography を行って、腺腫のどの組織に ET-1-R が存在するかを検討した。

実験方法

膀胱平滑筋と前立腺腺腫の標本は膀胱癌で膀胱全摘手術を受けた男性患者から得た。術前の抗癌剤による化学療法や放射線療法を受けていない症例である。手術標本の膀胱と前立腺の肉眼的に腫瘍の浸潤の見られない部分から膀胱頂部と前立腺腺腫を採取した。採取が可能な場合は膀胱底部と前立腺被膜の部分も採取した。標本を得た症例については、膀胱腫瘍の組織学的検討の他に、前立腺腺腫についても組織学的検討を行った。そして、nodular hyperplasia や fibromuscular hyperplasia と言った前立腺肥大症の病理所見が認められた症例を、前立腺肥大症群 (PH 群) とし、それらの所見が認められない症例を非前立腺肥大症群 (NPH 群) として区別し比較の対象とした。採取した膀胱や前立腺から粘膜や結合組織を除いて、膀胱平滑筋標本と前立腺腺腫標本 (前立腺被膜の場合は、被膜の平滑筋標本) とし、液体窒素中で瞬間凍結した後、PH 群と NPH 群とに分けて実験に使用するまで -80°C で保存した。

細胞膜の調整:凍結標本は buffer A (20mM NaHCO_3 , 0.1mM phenyl-methyl-sulfonyl fluoride (PMSF), pH 7.4) 中で Polytron (Polytron PT35, probe generator PT10/35) を用いて homogenize した(generator の速度を6とし、10秒間の冷却間隔をおいて、20秒間の作動を2回行った)。得られた homogenate を $1,000\times g$, 4°C で10分間遠心して上清を回収した。上清を、 $48,000\times g$ 4°C で15分間遠心して得られた沈渣に buffer B (50mM Tris-HCl, 0.1mM PMSF, pH 7.4) を加えて、homogenize し、 100μ pore nylon mesh で濾過してから、再度 $48,000\times g$ で遠心し

て、最終的に沈渣を回収した。この沈渣に buffer B を加えて、蛋白含有量が、約 $0.05\sim 0.1\text{mg/ml}$ となるように希釈して実験に使用する細胞膜とした。蛋白含有量の測定は牛血清 albumin を標準として Lowry の方法⁸⁾で行った。

飽和結合実験:飽和結合実験を行って、 ^{125}I -endothelin-1の、ヒトの膀胱と前立腺の細胞膜に対する結合特性(解離定数(K_D), 最大結合部位数(B_{max}))を求めた。調整した一定量の細胞膜と低濃度から高濃度 ($0.005\sim 0.1\text{nM}$) までの ligand とを総量で 0.25ml とし、 37°C で60分間反応させた。加えた ligand の各濃度について、反応液に、放射能ラベルされていない ET-1の 10^{-6}M を加えた場合と加えない場合との差を特異的結合とした。反応60分後に氷冷した filtering buffer (10mM Tris-HCl, 0.1% dextran-700, pH 7.4) を 2ml 加えて反応を停止させた。Brandel 製 cell harvester を用いて、反応液を真空で吸引して、Whatman GF/C filter paper で濾過し、filter を 10ml の buffer C で洗浄した。filter を乾燥させた後、附着した放射能を gamma counter で測定した。

得られた飽和結合曲線は Rosenthal の方法⁹⁾で、X 軸を bound, Y 軸 bound/free とする直線に変換して、直線の X 軸切片から最大結合部位数 (B_{max}) を、傾きの負の逆数から解離定数 (K_D) を求めた。

結果の統計的解析には non-paired Student's t-test を使用し、 $p<0.05$ を有意差ありと判定した。

Autoradiography: 適当な大きさに切り出した標本を OCT-compound に包埋して、液体窒素中で凍結した。凍結した包埋標本からクリオスタットを用いて、 -20°C で $10\mu\text{m}$ の厚さの切片を作成し、slide glass に貼り付けた。切片は buffer B に溶解した ^{125}I -ET-1 (0.1nM) と 37°C で60分間反応させ、反応後、buffer C で洗浄した。非特異的結合は、連続して薄切した切片を、同様にして ^{125}I -ET-1 10^{-6}M の存在下に反応させて確認した。室温で乾燥させた切片を載せたスライドグラスを 46°C に暖めた乳剤 (Konica NR-M2) 内に浸漬させ、室温で暗箱内で3日間露光させてから、現像を行った。その後切片にヘマトキシリン・エオジン染色を行って検鏡した。

使用薬剤: ($3\text{-}[^{125}\text{I}] \text{iodotyrosyl}$)-Endothelin-1 porcine ($2,000\text{Ci/mmol}$) は Amersham Japan より購入した。Endothelin-1はペプチド研究所(大阪)より購入した。乳剤 (Konica NR-M2) や、現像液 (Konidol-X, Konifix-X) は Konica 製を用いた。その他の試薬は通

常の市販品を使用した。Endothelin-1の溶解には0.1%酢酸溶液を用いた。

実験結果

症例について：PH群の6症例（平均年齢66歳）とNPH群の6症例（平均年齢63歳）の計12例からの標本を実験に使用した。臨床症状からみると、PH群に分類した症例でも、排尿困難などの前立腺肥大症の症状を自覚しない場合が見られた。しかし、PH群の6例のうち、5例について得られた尿流量測定の結果では、5例とも、尿流量率は10ml/sec以下であった。これに対して、NPH群では、測定した5例中、5例とも、尿流量率は10ml/sec以上であった。前立腺腺腫の大きさについては、手術標本の関係上、腺腫部分のみの重量測定が正確さを欠くと考えられたため検討しなかった。

飽和結合実験：ヒトの膀胱平滑筋及び前立腺腺腫には 125 I-ET-1に対する、飽和可能な単一の結合部位が存在することが判明した。図1と図2に、それぞれ膀胱体部平滑筋と前立腺腺腫に対する 125 I-ET-1の代表的な特異的結合の飽和結合曲線とそのRosenthal plot

図1 125 I-ET-1のヒト膀胱体部平滑筋に対する特異的結合の飽和曲線とRosenthal plotの代表例。上段に飽和曲線、下段にRosenthal plotを示す。前立腺肥大症（PH）では、 B_{max} が低いことが分かる。直線の傾きはほぼ同様であり、 K_D に差がないことが分かる。

図2 125 I-ET-1のヒト前立腺腺腫に対する特異的結合の飽和曲線とRosenthal plotの代表例。上段に飽和曲線、下段にRosenthal plotを示す。前立腺肥大症（PH）では、 B_{max} が高いことが分かる。直線の傾きはほぼ同様であり、 K_D に差がないことが分かる。

を示した。図1において、膀胱平滑筋に対する 125 I-ET-1の最大結合部位数（ B_{max} ）は前立腺肥大症群（PH）で、非前立腺肥大症群（NPH）より少なくなっている。また、図1のRosenthal plotの直線の傾きは、両群でほぼ同様であり、解離定数（ K_D ）が両群で差異がないことが分かる。一方、図2では、前立腺腺腫に対する 125 I-ET-1の最大結合部位数（ B_{max} ）は前立腺肥大症群（PH）で、非前立腺肥大症群（NPH）より大きくなっている。前立腺腺腫においても、Rosenthal plotの直線の傾きは、両群で同様であり、解離定数（ K_D ）が両群で差異がないことが分かる。表1に、膀胱平滑筋の体部と底部、および、前立腺の腺腫と被膜に対する、 125 I-ET-1の結合特性を示した。数値は6名の患者についての平均値±標準偏差を示す。膀胱体部での解離定数（ K_D ）（nM）は、前立腺肥大症群で 0.020 ± 0.010 、非前立腺肥大症群で 0.028 ± 0.010 であり、両群で有意差は見られなかった。膀胱体部での最大結合部位数（ B_{max} ）（fmol/mg protein）は、前立腺肥大症群で 53.92 ± 9.05 、非前立腺肥大症群で 199.36 ± 35.24 であり、前立腺肥大症群で有意に低下していた。膀胱底部での解離定数（ K_D ）は、前立腺肥大症群で $0.021 \pm$

表1 ヒト膀胱(体部, 底部)および前立腺(腺腫, 被膜)に対する ^{125}I -ET-1の結合特性。K_Dには, 両群での比較, あるいは組織での比較で有意差は認められない。Bmaxについてみると, 前立腺肥大症群(PH)では非前立腺肥大症群(NPH)に比較して, 膀胱では減少, 前立腺では増加している。

Tissue	Pts.	n	K _D (nM)	Bmax(fmol/mg protein)
Bladder Dome	PH	6	0.020 ± 0.010	53.92 ± 9.05*
	NPH	6	0.028 ± 0.010	199.36 ± 35.24
Bladder Base	PH	6	0.021 ± 0.012	3.26 ± 1.02*
	NPH	6	0.020 ± 0.011	7.32 ± 2.01
Prostatic Adenoma	PH	6	0.035 ± 0.012	85.66 ± 20.65*
	NPH	6	0.033 ± 0.012	32.18 ± 3.69
Prostatic Capsule	PH	6	0.032 ± 0.010	51.15 ± 9.15*
	NPH	6	0.035 ± 0.014	26.10 ± 4.93

*: significantly different between PH and NPH groups

0.012, 非前立腺肥大症群で 0.020 ± 0.011 であり, 両群で有意差は見られなかった。膀胱底部と膀胱体部では解離定数に有意差は認められなかった。膀胱底部での最大結合部位数(Bmax)は, 前立腺肥大症群で 3.26 ± 1.02 , 非前立腺肥大症群で 7.32 ± 2.01 であり, 前立腺肥大症群で有意な低下が見られた。膀胱底部での最大結合部位数は両群とも膀胱体部でのそれに比して有意に低いものであった。前立腺腺腫での解離定数(K_D)は, 前立腺肥大症群で 0.035 ± 0.012 , 非前立腺肥大症群で 0.033 ± 0.012 であり, 両群で有意差は見られなかった。前立腺腺腫での最大結合部位数(Bmax)は, 前立腺肥大症群で 85.66 ± 20.65 , 非前立腺肥大症群で 32.18 ± 3.69 であり, 前立腺肥大症群で有意に上昇していた。前立腺被膜での解離定数(K_D)は, 前立腺肥大症群で 0.032 ± 0.010 , 非前立腺肥大症群で 0.035 ± 0.014 であり, 両群で有意差は見られなかった。前立腺の腺腫と被膜では解離定数に有意差は認められなかった。前立腺被膜での最大結合部位数(Bmax)は, 前立腺肥大症群で 51.15 ± 9.15 , 非前立腺肥大症群で 26.10 ± 4.93 であり, 腺腫の場合と同様に前立腺肥大症群で有意な上昇が見られた。前立腺被膜と腺腫の最大結合部位数を比較すると, 両群とも被膜で腺腫より小さい傾向があるものの, 統計的な有意差は認められなかった。図3に膀胱(体部と底部)と前立腺(腺腫と被膜)での ^{125}I -ET-1の最大結合部位数(Bmax)を前立腺肥大症群(PH)と非前立腺肥大症群(NPH)とで比較したグラフを示した。

図3 ヒト膀胱(体部, 底部)および前立腺(腺腫, 被膜)での ^{125}I -ET-1のBmax。 ^{125}I -ET-1の結合部位の分布の特徴として, 膀胱体部では, 底部より著明に多く存在すること, 前立腺腺腫と被膜では同様な濃度が存在することが分かる。前立腺肥大症では, Bmaxは膀胱では減少するが, 前立腺では上昇している。

Autoradiography: 図4に, 前立腺肥大症腺腫のスライドガラス切片を ^{125}I -ET-1と反応させて得られたautoradiogramを示した(上: total binding, 下: non-specific binding)。両者とも銀粒子は, 間質部分の平滑筋細胞と, 腺組織の腺上皮は認められる。non-specific bindingでも, 多くの銀粒子が, 間質と腺組織の両者に認められるが, total bindingに比べて, 平滑筋細胞及び腺上皮の両者とも, 銀粒子が疎になっていることが観察される。従って, 前立腺肥大症腺腫では ^{125}I -ET-1の特異的結合部位は間質の平滑筋細胞及び腺上皮にも存在することが判明した。

考 察

今回の実験では, ^{125}I -ET-1を用いた飽和結合実験により, ヒトの膀胱平滑筋には有意な濃度のET-1-Rが存在することが判明した。膀胱の部位による比較では, ET-1-Rは体部で多く, 底部で有意に少ないという結果が得られた。この結果は, 膀胱の自律神経受容体の分布が体部と底部で異なっていること¹⁰⁾との共通点が見られる。自律神経受容体の中でも, 副交感神経ムス

図4 前立腺肥大症腺腫の autoradiogram. 上段に total binding, 下段に non-specific binding を示す. 両者とも銀粒子は, 間質部分の平滑筋細胞と, 腺組織の腺上皮に認められる. non-specific binding でも, 多くの銀粒子が, 間質と腺組織の両者に認められるが, total binding に比べて, 平滑筋細胞及び腺上皮の両者とも, 銀粒子が疎になっていることが観察される. 従って, 前立腺肥大症腺腫では ^{125}I -ET-1 の特異的結合部位は間質の平滑筋細胞及び腺上皮にも存在することが分かる.

カルシン受容体は膀胱体部に多く, 底部に少なく分布しており¹⁰⁾, これは, ET-1-R の膀胱での分布の形式と同様である. このことは, ET が膀胱のコリン作動性神経伝達を制御していることと²⁾, 何らかの関連があるのかもしれない. 膀胱底部に ET-R が少ないとすれば, 膀胱底部の ET に対する反応は弱いと考えられるが, Traish ら¹¹⁾はウサギ膀胱平滑筋切片の ET-1, -2, -3 の isopeptide に対する反応には, 膀胱体部と底部とで差異は見られなかったと報告している. この報告が今回の私達の結果と不一致なことの原因としては動物の種

差など実験条件の違いが考えられるが詳細は不明である. 膀胱体部と底部との ET-R の subtype の分布の違いなども関係するかもしれない.

膀胱では, 前立腺肥大症群において, 体部, 底部とも ET-1-R の有意な減少が観察された. 前立腺肥大症患者の膀胱で, ET-1-R の減少が起こる機序については不明である. しかし, 膀胱の ET-R の濃度に影響を与える要因の一つとして, 前立腺肥大症での肥大した腺腫によって惹起される排尿抵抗の増大の問題が考えられる. 尿路閉塞などの排尿抵抗の増大によって, 膀

膀胱平滑筋の hypertrophy や hyperplasia あるいは collagen deposition などによって膀胱壁の肥厚が起こることが知られている¹²⁾。膀胱では膀胱壁のほとんどすべての構成成分で ET の合成や局在が認められ、ET は膀胱機能を autocrine & paracrine mechanism によって制御していることが報告されている²⁾。従って、尿路閉塞の際に見られるような膀胱壁の組織学的変化によって、ET の膀胱機能制御機構が影響を受け、受容体濃度が変化することは十分に考えられる。膀胱平滑筋のムスカリン受容体は、平滑筋の肥大で濃度が増加すると報告されている¹³⁾。そして、その原因としては一種の denervation supersensitivity が考えられている¹⁴⁾。しかし、ET-R の modulation に影響を与える要因については未だ明らかにされていない。排尿抵抗の増大が膀胱の ET-R 濃度に影響を与えるとしても、排尿抵抗の程度の強さや期間の長さとの関連など検討すべき点が多いと思われる。今回の実験では、原疾患が前立腺肥大症でない症例から標本を得て、組織学的所見によって前立腺肥大症群として分類する結果になった。従って、臨床症状や前立腺肥大症の程度と言った条件と ET-R 濃度の変動との関連については検討できなかった。

今回の実験では、ヒトの前立腺（腺腫、被膜）についても、ET-1-R が豊富に存在することが判明した。また、腺腫と被膜では ET-1-R の濃度がほぼ同様なことが分かった。ET-1-R が腺腫のどの組織に存在するかについては、autoradiography の結果から、腺腫の間質の平滑筋細胞や腺上皮にも存在することが判明した。膀胱では、粘膜や平滑筋などのほとんどすべての組織で ET が存在することが報告されている²⁾。前立腺についても、平滑筋やそれ以外の組織にも ET-R が存在するという所見は、膀胱の場合と共通するよう思える。また、前立腺被膜については、膀胱平滑筋や前立腺平滑筋の場合と同様に、ET-1-R が、被膜の平滑筋に存在することが推測される。今回の実験結果の、膀胱と前立腺とでの¹²⁵I-ET-1の結合特性がほぼ同様であったことや、前立腺の平滑筋や腺上皮にも ET-1-R が存在することなどから勘案すると、ET-1-R は膀胱、前立腺と言った下部尿路の平滑筋やその他の組織に広く分布していることが考えられる。

前立腺の ET-1-R の濃度は腺腫、被膜とも、前立腺肥大症群で増加することが判明した。前立腺の ET-R の濃度が変動する機序については明らかではない。ヒトの前立腺肥大症は、間質の変化が優位であるという報

告¹⁵⁾や、前立腺腺腫の ET-1-R が間質の平滑筋に存在するという今回の結果を勘案すると、前立腺肥大症での腺腫の ET-R の濃度の変化には、間質の変化が重要な役割を果たしていることが考えられる。そして、間質ばかりでなく腺上皮に存在する ET-R についても、glandular hypertrophy に伴ってその濃度が変動することが考えられる。前立腺肥大症では、腺腫や被膜で交感神経 α 受容体が増加し、 α 受容体によって仲介される腺腫や被膜の収縮が亢進して排尿抵抗が上昇する¹⁶⁾。この α 受容体の増加には、一種の denervation supersensitivity が関与すると考えられている¹⁷⁾¹⁸⁾。前立腺肥大症での腺腫の ET-R の増加という結果は、 α 受容体の増加と共通点があるように思われる。両者とも同様な機序が関与しているのかもしれない。ET-1 はヒト前立腺腺腫に対して、 α 刺激剤の作用と同様な収縮作用を有することが報告されている¹⁹⁾。ET の前立腺肥大症の病態への関与について興味を持たれる。

文 献

- 1) Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S., Tomobe, Y., Kobayashi, M., Mitsui, Y., Yazaki, Y., Goto, K. and Masaki, T.: A potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature*, 332, 411–415, 1988.
- 2) Saenz De Tejada, I., Mueller, J.D., De Las Morenas, A., Machado, M., Moreland, R.B., Krane, R.J., Wolfe, H.J. and Traish, A.M.: Endothelin in the urinary bladder. I. Synthesis of endothelin-1 by epithelia, smooth muscle and fibroblasts suggests autocrine and paracrine cellular regulation. *J. Urol.*, 148, 1290–1298, 1992.
- 3) Maggi, C.A., Giuliani, S., Patacchini, R., Santicioli, P., Turini, D., Barbanti, G. and Meli, A.: A potent contractile activity of endothelin on the human isolated bladder. *Br. J. Pharmacol.*, 96, 755–757, 1989.
- 4) Arai, H., Hori, S., Aramori, I., Ohkubo, H. and Nakanishi, S.: Cloning and expression of a cDNA encoding an endothelin receptor. *Nature*, 348, 730–732, 1990.
- 5) Gu, X.H., Casley, D.J. and Nayler, W.G.: Characterization of ¹²⁵I-endothelin binding sites in rat cardiac membrane fragments. *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 13, S171–S173, 1989.
- 6) Sakurai, T., Yanagisawa, M., Takuwa, Y., Miyazaki, H., Kimura, S., Goto, K. and Masaki, T.: Cloning of a cDNA encoding a non-isopeptide-selective subtype of the endothelin

- receptor. *Nature*, 348, 732—735, 1990.
- 7) Liu, J., Chen, R., Casley, D.J. and Nayler, W.G.: Ischemia and reperfusion increase ^{125}I -labeled endothelin-1 binding in rat cardiac membrane. *Am. J. Physiol.*, 258, H829—H835, 1990.
 - 8) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J.: Protein measurement with Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265—274, 1951.
 - 9) Rosenthal, H.E.: Graphic method for the determination and presentation of binding parameters in a complex system. *Anal. Biochem.*, 20, 525—532, 1967.
 - 10) Latifpour, J., Kondo, S., O'Hollaren, B., Morita, T. and Weiss, R.M.: Autonomic receptors in urinary tract: Sex age differences. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 253, 661—667, 1990.
 - 11) Traish, A., Moran, E., Krane, R.J. and Saenz De Tejada, I.: Endothelin in the urinary bladder. II. Characterization of endothelin receptor subtypes. *J. Urol.*, 148, 1299—1306, 1992.
 - 12) Ghoniem, G.M., Regnier, C.H., Biancani, P., Johnson, L. and Susset, J.G.: Effect of vesical outlet obstruction on detrusor contractility and passive properties in rabbits. *J. Urol.*, 135, 1284—1289, 1986.
 - 13) Nilvebrant, L., Ekstrom, J. and Malmberg, L.: Muscarinic receptor density in the rat urinary bladder after denervation, hypertrophy and urinary diversion. *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 59, 306—314, 1986.
 - 14) Speakman, M.J., Brading, A.F., Gilpin, C.J., Dixon, J.S., Gilpin, S.A. and Gosling, J.A.: Bladder outflow obstruction—A cause of denervation supersensitivity. *J. Urol.*, 138, 1461—1466, 1987.
 - 15) Bartsch, G., Bruengger, A., De Klerk, D.P., Coffey, D.S. and Rohr, H.P.: Light-microscopic stereologic analysis of spontaneous and steroid-induced prostatic hyperplasia. *J. Urol.*, 137, 552—558, 1987.
 - 16) 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*, 83, 328—333, 1992.
 - 17) 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.
 - 18) 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.
 - 19) 森田 隆, 安藤正夫, 木原和徳, 松村 剛, 釜井隆男, 大島博幸, 土谷順彦, 近藤 俊: ヒト下部尿路性器平滑筋収縮に対するエンドセリン-1の作用. *日泌尿会誌*, 投稿中, 1993.

(1993年2月12日受付, 6月2日受理)