前立腺高温度治療の効果発現メカニズムに関する基礎的研究

近畿大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 栗田 孝教授)

朴 英哲 橋本 潔 大西 規夫

江左 篤宣 杉山 高秀 栗田 孝

新明会神原病院泌尿器科

加 藤 良 成

若草第一病院泌尿器科

宮 武 竜一郎 際 本 宏

HOW DOES THERMOTHERAPY EFFECTIVELY WORK ON BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA —An Experimental Study—

Young-Chol Park¹⁾, Kiyoshi Hashimoto¹⁾, Norio Ohnishi¹⁾, Atsunobu Esa¹⁾, Takahide Sugiyama¹⁾,
Takashi Kurita¹⁾, Yoshinari Katoh²⁾, Ryuichiro Miyatake³⁾ and Hiro Kiwamoto³⁾

¹⁾Department of Urology, Kinki University School, of Medicine
(Director: Prof. T. Kurita)

²⁾Department of Urology, Shinmeikai Kanbara Hospital

³⁾Department of Urology, Wakakusa Daiichi Hospital

Isometric contractile force of rabbit prostatic tissue in response to electric field stimulation (EFS), KCl, and phenylephrine were measured at incubation temperature of 37°C, before and after thermal exposure to 42°C, 45°C, 48°C and 50°C for 30 minutes. The contractile force in response to EFS decreased after thermal exposure above 45°C, and the contractile force in response to KCl or phenylephrine decreased after thermal exposure above 48°C. All the contractile response abolished after thermal exposure to 50°C. The results indicate that the nerve is more heat-sensitive than the smooth muscle in the prostate. Histological examination revealed shrinkage of cell body and dark staining of nuclear chromatin of the smooth muscle cells after thermal exposure above 48°C. The same histological change of the smooth muscle as well as degenerative change of the nerve cells was observed on the prostate 3~7 months after clinical thermotherapy. From these results, it is suggested that clinical effect of thermotherapy is brought about from both neural and muscular damage of the prostate. Since the least temperature to cause an irreversible tissue damage ranges from 48°C through 50°C, we believe it is ideal to heat the prostate around 50°C to obtain a good clinical effect of thermotherapy on benign prostatic hyperplasia as a minimum invasive treatment.

Key words: prostate, thermotherapy, heat sensitivity

要旨: 前立腺平滑筋の収縮性が高温度被曝によりどのような影響を受けるかを *in vitro* で検討し、高温度治療の効果発現メカニズムについて考察した。雄家兔の摘出前立腺切片をマグナス管内に懸垂し、経壁電気刺激, KCl, Phenylephrine に対する等尺度性収縮力を測定した。まず37°Cでの収縮力を測定の後、42°C, 45°C, 48°C, 50°Cでそれぞれ30分間灌流加温し、再び37°Cとして30分間冷却の後、刺激に対する収縮力の変化を観察した。加温前の収縮力と比較すると経壁電気刺激による収縮は45°Cでやや抑制、48°Cでほぼ完全に抑制された。一方、Phenylephrine 収縮, KCl 収縮は45°Cでやや増強、48°Cで抑制されたが、その抑制率は、Phenylephrine 収縮が高かった。いずれの収縮も50°Cで完全に抑制された。組織学的変化

をみると、48°C加温後には平滑筋細胞の萎縮や核の濃縮が観察された。臨床の高温度治療3～7カ月後の前立腺標本においても同様の平滑筋変性のほか、神経細胞の退行変性が観察された。以上の結果より、45°Cまでは前立腺に対する直接的影響はないと思われるが、45°C以上で自律神経を障害、48°Cで α 受容体ないしそれに関連した収縮機構を障害、50°Cで細胞膜の分極状態が破壊され、細胞死に至ると思われる。臨床の治療成績が前立腺の縮小を伴わないことから、その効果は熱壊死—吸収による形態的改善ではなく、自律神経、感覚神経の障害や細胞収縮機構の破壊による機能的変化に基づくものであらうと考えられた。

キーワード：前立腺、高温度治療、温度感受性

緒 言

前立腺肥大症に対するマイクロ波を用いた局所加温療法は、1985年のHaradaら¹⁾による経尿道的治療、Yerushalmiら²⁾による経直腸の治療の報告以来、装置の改良と普及の努力がなされ、現在では世界的な規模で臨床応用されている。また、従来の局所加温の意味でのhyperthermia(温熱療法：組織内温度45°C未満)から、高温度加熱による組織壊死を目指したthermotherapy(高温度治療：組織内温度45°C以上)へと治療法の幅も広がっている³⁾。高温度治療に関してはすでに世界で1万例以上の治療が行われ、いくつかの優れた成績が報告されている^{4)~6)}。しかし、いずれにおいても前立腺の縮小は伴わず、頻尿を中心とした自覚症状の改善が強調されている。仮に高温度治療の効果が前立腺組織の壊死、吸収に基づくものであれば、ある程度前立腺容積の減少が観察されるべきであらうが、われわれの施設での治療経験からも、臨床症状の改善に一致した前立腺の縮小はみられず、病理所見においても前立腺組織の壊死像は極めて限局的なものであった。以上のことから、われわれは高温度治療の効果発現のメカニズムには前立腺の熱壊死—吸収による形態的改善以外の作用が絡んでいるのではないかと考えている。前立腺の高温度治療は今後さらに高エネルギー化し、広範囲な組織脱落をもたらす方向に向かっていくようであるが、このような方向が妥当なものであるかどうかを検証する意味でも、本治療法の効果のメカニズムに関する基礎的検討が必要と考え、前立腺平滑筋とその収縮に関与する神経の温度感受性について、薬理的ならびに組織学的検討を行ったので報告する。

対象および方法

1. 収縮実験

雄家兎13羽を脱血屠殺して前立腺を摘出し、長軸方向に切断して2mm×10mmの短冊状切片を作成した。これを容積5mlのマグヌス管内に0.5gの張力を加え

て懸垂し95%O₂ + 5%CO₂で飽和したKrebs液中で37°C、1時間静置した後、経壁電気刺激、KCl, phenylephrineに対する等尺性収縮力を測定した。まず37°Cで実験し、次に高温度灌流(42°C, 45°C, 48°C, 50°C)を30分間行い、再び37°Cに切り替えて30分間冷却してから同じ収縮実験を行い、高温度被曝による収縮力の変化を観察した(Fig. 1)。なお、1検体では2つの温度域(例えば42°C→48°C)までの検討にとどめた。

2. 組織学的検討

収縮実験に使用した標本は最終被曝温度域ごとに10%ホルマリンおよび2%グルタルアルデヒドに浸漬固定し、それぞれH-E染色による光顕、および鉛染色による透過型電顕で、おもに平滑筋細胞の変化について検討した。また、プロスタトロン®による高温度治療(TUMT)後3カ月の症例A(N.M.: 74歳)におけ

Fig. 1 Schema of experiments. The isometric contraction force was measured under incubation temperature of 37°C before and after thermal exposure.

る前立腺針生検標本と、治療後7カ月の症例B(T.T: 82歳)の前立腺核出術標本をH-E染色およびS-100蛋白免疫染色で観察した。

結 果

1. 収縮実験

37°C灌流において、経壁刺激は10Hz, 30V, 15秒間で最大収縮が得られ、この収縮はtetrodotoxin 10^{-4} Mの投与で完全に抑制された。よって経壁刺激による収縮は前立腺内を走行する神経の興奮による収縮と判断し、以後の実験は同条件で5分以上の間隔を開けて繰り返し刺激した。

KClによる収縮は10mMより用量依存的に増強し、90mMでほぼ最大収縮に達した。また、phenylephrineによる収縮は 10^{-7} Mより用量依存的に増強し、 10^{-4} Mで最大収縮に達した。以上の結果より、以後の実験はKCl 90mM, phenylephrine 10^{-4} Mの最大収縮で比較した。つぎに45°C, 48°Cの各高温被曝後のKClおよびphenylephrineの用量作用曲線を37°Cのものと比較すると、45°C加温後では最大収縮力がいずれも増強する傾向が、48°C加温後ではいずれも減弱する傾向が観察された。また、48°C加温後ではKCl, phenylephrine

収縮とも曲線の右方偏位がみられた (Fig. 2)。

収縮実験の典型例をFig. 3に示した。45°C加温後には経壁刺激の収縮は影響を受けず、KClやphenylephrineの収縮はやや増強した。48°C加温後では経壁刺激の収縮は完全に消失し、KClやphenylephrineの収縮は逆に減弱した。さらに50°C加温後ではどの刺激に対してもまったく収縮反応を起こさなくなった。

経壁刺激の収縮とphenylephrine収縮に対する各温度被曝の影響を、37°C対照における収縮張力の百分率

Fig. 2 Dose response curve for KCl and phenylephrine under 37°C, before and after incubation at 45°C or 48°C.

Fig. 3 Actual record of the experiment. EFS induced contraction was completely suppressed while KCl or phenylephrine induced contraction was partially suppressed after incubation at 48°C. No contraction was induced after incubation at 50°C.

Fig. 4 Relative contractile force induced by EFS and phenylephrine after thermal exposure.

Fig. 5 Inhibitory effect of thermal exposure to contractions induced by EFS, phenylephrine and KCl.

として Fig. 4 に表した。42°Cでは経壁刺激の収縮は影響を受けないが、45°C加温後ではやや減弱した。一方、phenylephrine 収縮はこの温度域ではむしろ収縮は増強した。48°C加温後では経壁刺激の収縮は平均5.8%しか残存せずほぼ消失したのに対し、phenylephrine 収縮は65.8%残存し、有意に温度抵抗性が高かった。50°C加温後ではいずれの刺激に対してもまったく反応性は消失した。

37°Cでの収縮張力に対する高温被曝後の抑制率を Fig. 5 に示した。KCl 収縮は経壁刺激や phenylephrine 収縮に比して有意に温度抵抗性が高く、48°C加温後も平均10%抑制されたのみであったが、50°C加温後はこの収縮も完全に消失した。

2. 組織学的検討

最終被曝温度地域毎に H-E 染色標本を観察すると、45°Cまでは前立腺平滑筋に明らかな形態変化はみられ

なかったが、48°Cまで加温後では平滑筋細胞の萎縮、細胞質の濃染、核の萎縮、濃縮、細胞間隙の拡大が観察された。さらに50°C加温後にも同様の変化が観察されたが、その程度は48°C加温後よりも高度であった (Fig. 6)。

電子顕微鏡で平滑筋の微細形態をみると、45°Cまでは細胞膜、筋原繊維に明らかな変化は観察されなかったが、48°C加温後では細胞膜の不鮮明化や細胞間隙の拡大の他、細胞内において筋原繊維の不均質化が観察された (Fig. 7)。50°C加温後も同様の変化が観察された。

TUMT 3 カ月後の症例 A の前立腺針生検標本 (HE 染色) をみると、実験標本で48°C加温後に見られた所見と同様の所見が観察された。ただし、このような変化は前立腺全体に及ぶものではなく、尿道近位側に限局した所見であった (Fig. 8)。

TUMT 7 カ月後の症例 B の摘出前立腺を観察すると実験標本でみられた平滑筋の変性所見は尿道近位側を中心に半径約2cmの範囲で観察された。さらに、S-100蛋白免疫染色で神経を染色したところ、神経繊維内の空胞形成は尿道側より約3cmの深さまで観察された (Fig. 9)。

考 察

前立腺肥大症に対する温熱治療は Devonec らにより45°C以下の hyperthermia (温熱療法) と、45°C以上で組織壊死を目指した thermotherapy (高温治療) に分類されている³⁾。しかしながら前立腺組織は腺上皮、平滑筋、神経の混合した組織であり、それぞれの温度感受性が異なることから、45°Cで一括して線引きをすることには問題があると思われる。また、本来低侵襲性を目指して開発された温熱治療がいたずらに高温に向かい、不必要な組織障害をもたらすことも懸念され、治療効果を得るに必要な十分な至適温度域の決定が必要と思われる。

今回の研究において、45°C以下では平滑筋や神経に対する直接効果は薬理学的にも組織学的にも観察されなかった。よって45°Cまでしか加温されない温熱療法では前立腺組織に対する直接効果は期待できないと考えられた。その臨床効果は、Montorsi ら⁷⁾が指摘するように血管の拡張や増生による二次的効果であろうと思われる。一方、45°C以上の温度域に関しては組織の種類により温度感受性が異なること、さらに50°Cではほぼ致死的な細胞障害を与えることが判明した。神経が最も低温度で障害を受け、48°C加温後には神経刺激に

Fig. 6 Histological change (HE stain) of the rabbit prostatic tissue before (left) and after thermal exposure at 48°C (right).

Fig. 7 Electron microscopic appearance of the rabbit prostatic tissue after thermal exposure at 45°C (left) and at 48°C (right).

×40,000 45°C

×40,000 48°C

Fig. 8 HE stain of human prostatic tissue 3 months after TUMT shows a same histological change as observed in rabbit prostatic tissue after thermal exposure at 48°C. (Fig. 6 right).

Fig. 9 Immunohistochemical stain with anti-S 100 protein monoclonal antibody shows vacuolar degeneration of the nerve fibers in human prostatic tissue 7 months after TUMT.

よる収縮はほぼ完全に抑制されるのに対し, phenylephrine 収縮に代表される α_1 受容体に制御された収縮や, KCl 収縮に代表される膜電位依存性収縮は比較的温度抵抗性が高く, 48°Cではまだ平滑筋自身の収縮力は保たれており組織障害は不十分と考えられた。さらに50°Cまで加温した後では受容体に制御された収縮も膜電位依存性収縮も完全に消失し, 平滑筋細胞の完全な機能喪失がもたらされた。組織学的には, 48°C以上で細胞膜の破壊のみならず細胞内の核や筋原繊維の変性が同時に観察された。これは薬理実験でみられた熱による神経や平滑筋の機能喪失が, α 受容体の変性といった選択的, 可逆的变化ではなく, 細胞全体の非可逆的变化であることを裏づけるものである。以上の検討より, 前立腺の高温度治療は50°Cが必要かつ十分な温度条件であると考えられる。

前立腺肥大症は病理学的には平滑筋の増生といわれ, その症状発現には腺腫の大きさや形態といった解剖学的閉塞の他, 交感神経 α 受容体の増加による機能的閉塞が関与していることはよく知られている⁸⁾⁹⁾。今回の研究結果を踏まえた上で, 臨床の高温度治療の成績が中葉肥大などの解剖学的閉塞が強い症例より両葉肥大において効果が高いこと, 治療後に前立腺の縮小がみられないことを考えあわせると, 高温度治療後における排尿困難の改善や残尿の減少は, 前立腺部尿道の形態改善によるものというよりは, 前立腺平滑筋自律収縮の抑制や交感神経の遮断による機能的尿路閉塞の軽減によるものと解釈することができる。

さらに高温度治療の特徴として膀胱刺激症状の改善が著しいと言われている。これは尿路閉塞の軽減による二次的効果とも考えられるが, 今回の実験で神経の機能障害が48°Cという比較的低温度域で起こること, TUMT 治療後の摘出標本で神経繊維の変性が比較的広範囲に認められたことより, 著者らは尿道からの求心性神経の障害に基づく麻酔様作用がもたらす効果の可能性が高いと考えている。Chalfin らは前立腺肥大症に伴う排尿筋の不随意収縮が前立腺内への局麻剤の注入により消失することを¹⁰⁾, Yokoyama らは尿道粘膜麻酔により前立腺肥大症に伴う排尿筋反射亢進が抑制されることから, 前立腺肥大症に伴う不随意収縮には前立腺部尿道からの求心性インパルスが関与している可能性を示唆している¹¹⁾。前立腺の局所加温が求心性神経の障害をもたらすのであれば, その麻酔様作用が膀胱の不随意収縮を抑制し, 膀胱刺激症状を解消している可能性が考えられる。

以上の研究結果と非侵襲的外来治療という利点を生かし, 今後の前立腺高温度治療の向かうべき方向性を考察すると, その final goal はむしろ薬物療法のそれに近く, volume reduction を目指す外科的治療のそれとは自ずから異なると思われる。こういった意味では, 狭い範囲に高エネルギーを照射して前立腺組織の性急な脱落を期待するのではなく, 前立腺全体が万遍なく50°C程度に加温され, より広い範囲の神経と前立腺平滑筋が機能障害を起こす治療プログラムの作成が期待される。

稿を終えるにあたり, 本研究遂行に際して貴重な御助言を賜りました本学薬理学教室梶本禮義助教授に感謝致します。なお, 本研究の要旨は第7回日本 Endourology-ESWL 学会総会および, 第82回日本泌尿器科学会総会において発表した。

文 献

- 1) Harada, T., Nishizawa, O., Etori, K., Noto, H., Kumazaki, T. and Tsuchida, S.: Microwave surgical treatment of disease of prostate. *Urology*, 26, 572—576, 1985.
- 2) Yerushalmi, A., Fishelovitz, Y., Singer, D., Reiner, I., Arielly, J., Abramovici, Y., Katsnelson, R., Levy, E. and Shani, A.: Localized deep microwave hyperthermia in the treatment of poor operative risk patients with benign prostatic hyperplasia. *J. Urol.*, 133, 873—876, 1985.
- 3) Devonec, M., Berger, N. and Perrin, P.: Transurethral microwave heating of the prostate—Or from hyperthermia to thermotherapy. *J. Endourol.*, 5, 129—135, 1991.
- 4) Carter, S., Patel, A., Reddy, P., Royer, P. and Ramsay, J.: Single session transurethral microwave thermotherapy for treatment of benign prostatic obstruction. *J. Endourol.*, 5, 137—144, 1991.
- 5) 福庭雅洋, 本間之夫, 阿曾佳郎: 前立腺肥大症に対する経尿道的単回高温度治療の治療成績. *日泌尿会誌*, 83, 1410—1416, 1992.
- 6) 馬場志郎, 大東貴志, 橘 政昭, 出口修宏, 実川正道, 畠 亮, 田崎 寛: 経尿道式高温度治療法による前立腺肥大症の単回治療成績. *日泌尿会誌*, 82, 1916—1923, 1991.
- 7) Montorsi, F., Guazzoni, G., Colombo, R., Bulfamante, G., Galli, L., Matozzo, V., Consonni, P. and Rigatti, P.: Transrectal hyperthermia-induced histological and ultrastructural changes of human benign prostatic hyperplasia tissue. *Eur. Urol.*, 22, 74—78, 1992.

- 8) 朴 英哲：前立腺肥大症における交感神経系の関与について—神経性調節と体液性調節。日泌尿会誌, 79, 203—213, 1988.
- 9) 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.
- 10) Chalfin, S.A. and Bradley, W.E.: The etiology of detrusor hyperreflexia in patients with infravesical obstruction. J. Urol., 127, 938—942, 1982.
- 11) Yokoyama, O., Nagano, K., Kawaguchi, K., Ueki, O. and Ohkawa, M.: The influence of prostatic urethral anesthesia in overactive detrusor in patients with benign prostatic hyperplasia. J. Urol., 151, 1554—1556, 1994.

(1994年12月12日受付, 1995年3月27日受理)