前立腺癌における androgen receptor の免疫組織化学的検討

昭和大学藤が丘病院泌尿器科 (主任: 甲斐祥生教授)

吉川 裕康 池内 隆夫 甲斐 祥生

IMMUNOHISTOCHEMICAL STUDY OF ANDROGEN RECEPTOR IN ADENOCARCINOMA OF THE HUMAN PROSTATIC CANCER

Hiroyasu Yoshikawa, Takao Ikeuchi and Yoshio Kai

Department of Urology, Showa University Fujigaoka Hospital

(Director: Prof. Y. Kai, M.D.)

(Background) The anti-androgen therapy usually used to manage prostatic cancer is effective because the growth of adenocarcinoma of the prostate is influenced by androgens. However, some prostatic cancers do not respond to hormone therapy. Many studies have been conducted with the objective being to assess the responsiveness of prostatic cancer tissues by measuring the amount of androgen receptors (AR). The present study investigates the expression of AR in adenocarcinoma and in benign adenoma of the human prostate.

(Methods) Formaline fixed paraffin sections of adenocarcinoma were prepared using 86 patients with primary prostatic cancer, seven patients with relapsed prostatic cancer, and 26 patients with BPH (as the control). Specimens were obtained by needle biopsy and immunohistochemical staining was performed.

(Results) The benign adenoma AR were stained in the nuclei of the glandular epithelial cells. The receptor-positive and receptor-negative cells were intermingled with the malignant prostatic cells. The labelling indexes (LI) of the androgen receptor stain values in adenocarcinoma of the prostate ($57.8 \pm 14.5\%$) in 86 patients were significantly lower than benign adenoma ($86.4 \pm 6.3\%$) ($p=0.0001$). And the LI were decreased with the progress of grades in malignancy: $72.8 \pm 7.5\%$ in well differentiated; $58.7 \pm 7.3\%$ in moderately differentiated; and $41.4 \pm 8.2\%$ in poorly differentiated adenocarcinoma ($p=0.0001$). Moreover, LI in relapsed case, all of which were poorly differentiated ($22.9 \pm 13.6\%$), were significantly lower than the LI values of the primary cancer cases with poorly differentiated adenocarcinoma ($p=0.0004$). Responders to anti-androgen therapy had high AR positive rate ($p=0.0001$) and weakly stained cases had a lower survival rate than strongly stained cases ($p=0.03$).

(Conclusion) These results suggest that the detection of AR with immunohistochemical study is useful for estimating the prognosis of the patients undergone anti-androgen therapy. And prostatic cancer cells are heterogeneously composed of clones of both androgen dependent and independent cancer cells before hormonal therapy is begun. And one reason why these tumors easily relapse with the progress of grades in hormonal therapy.

Key words: prostatic adenocarcinoma, androgen receptor, immunohistochemical study

要旨: (背景と目的) 進行前立腺癌において抗 androgen 療法は有効な治療法であるが, 抗 androgen 療法抵抗性症例を治療前に確認することは治療法の決定や治療効果を予測する上で特に重要である。そこで, 著者らは前立腺組織における androgen receptor (AR) の局在と陽性細胞率を求め, AR の分布によって抗 androgen 療法の効果の予測が可能か否かを検討した。

(対象と方法) 未治療前立腺癌86例と再燃性前立腺癌7例 (全例低分化型腺癌), および前立腺肥大症

26例（コントロール）の針生検によるホルマリン固定パラフィン包埋標本を用いて、免疫組織化学染色を施行した。

（結果）抗 AR 抗体染色は細胞核が染色されるが、染色陽性細胞と染色陰性細胞が混在していた。AR の陽性細胞率は前立腺肥大症（ $86.4 \pm 6.3\%$ ）において高く、腺癌組織（ $57.8 \pm 14.5\%$ ）で低値を示した（ $P=0.0001$ ）。さらに、腺癌組織では分化度が低くなるに従って低値を示し（ $P=0.0001$ ），再燃性前立腺癌組織ではさらに低下を認めた（ $P=0.0004$ ）。また、治療効果の高い群で AR 陽性細胞率は高く（ $p=0.0001$ ）陽性細胞率の低い群で生存率は低下を認めた（ $p=0.03$ ）。

（結論）以上より、免疫組織化学的な AR の測定は抗 androgen 療法の予後を予測する上で重要であると思われた。また、前立腺癌組織には抗 androgen 療法施行前より androgen 非依存性細胞が存在し、分化度が低くなるに従って非依存性細胞の比率が増加することが示唆された。このことは抗 androgen 療法において低分化の腫瘍の方が再燃しやすいことの一つの理由になるのではないと思われる。

キーワード：前立腺癌，Androgen 受容体，免疫組織化学

緒 言

抗 androgen 療法は一般的に前立腺癌に対して有効な治療法とされている。しかし、現状では抗 androgen 療法に抵抗性のある症例を治療前に確認することは困難であり、androgen receptor (AR) の存在は治療法の決定や治療効果を予測する上でも重要である。そこで、われわれは前立腺針生検により得られた組織を免疫組織化学的に染色し、AR の局在分布および抗 AR 抗体染色陽性細胞率を検討したうえで、抗 androgen 療法の効果の予測が可能か否かを検討した。

対象および方法

対象は1989年4月から1994年3月の期間に昭和大学藤が丘病院泌尿器科において、手術適応を認めず抗 androgen 療法が選択された進行性前立腺癌例のうち未治療前立腺癌86例ならびに再燃前立腺癌7例（全例が低分化型腺癌）である。なお、コントロールとして前立腺肥大症26例も検討し比較した。対象症例の平均年齢は 73.3 ± 7.9 歳で、抗 androgen 療法の平均観察期間は 25.8 ± 12.9 カ月であった。臨床病期分類は前立腺癌取り扱い規約¹⁾に従い、分化度と病期は表1に示した。

表1 未治療前立腺癌症例（86例）の分化度と病期

	Stage C	Stage D1	Stage D2	計
高分化型腺癌	11例 (12.8%)	2例 (2.3%)	13例 (15.1%)	26例 (30.2%)
中分化型腺癌	17例 (19.8%)	2例 (2.3%)	15例 (17.5%)	34例 (39.6%)
低分化型腺癌	3例 (3.5%)	2例 (2.3%)	21例 (24.4%)	26例 (30.2%)
計	31例 (36.1%)	6例 (6.9%)	49例 (57.0%)	86例 (100%)

抗 AR 抗体染色は、labelled streptavidin-biotin 法 (LSAB 法) による免疫染色を行った。前立腺癌標本は未治療群では治療開始前に得られたホルマリン固定パラフィン包埋切片（包埋期間；1年～5年）を使用した。4μm に薄切されたパラフィン切片をキシレン系列で型のごとく脱パラフィンし、95℃ 0.01mol クエン酸緩衝液にて30分間処理して抗原を賦活し、0.3%過酸化水素加メタノール溶液で室温にて30分間内因性ペルオキシダーゼ活性を除去した。次に10%正常ヤギ血清（ニチレイ社製；ヒストファイン®）で20分間非特異反応をブロックした。一次抗体として50倍希釈抗ヒト AR ウサギポリクロナール抗体（NOVOCASTRA 社製；AR70）を4℃・18時間、続いて二次抗体としてビオチン標識抗ウサギ・ヤギ血清（ヒストファイン®）を室温で30分間、HRP 標識ストレプトアビジン溶液（ヒストファイン®）を30分間、順次反応させた。これらの切片に DAB (3, 3'-diamino benzidine tetrahydrochloride) 基質液を5分間反応させて発色させた。陰性核染色は2.5%メチルグリーンにて行い、透徹・封入した。positive control は膀胱癌患者の膀胱全摘出術時における正常前立腺部を用い、negative control は一次抗体と同一希釈倍率のウサギ血清を用いた。

判定は光学顕微鏡弱拡大（100倍）にて標本全体を観察し、染色性が最も均一的な視野を選択して強拡大（400倍）にて約1,000個の細胞を対象に labelling index (LI；陽性細胞率) を算出した。

なお、有意差検定には t-test, Wilcoxon test, Kruskal-Wallis test, Cox-Mantel test を用い、5%の棄却率をもって有意差とした。

予備試験として、今回検討に用いたパラフィン包埋切片の染色性を確認する目的で、同一標本の新鮮凍結

図1 新鮮凍結切片とパラフィン包埋切片でのAR染色のlabelling indexの比較. 相関係数 $R=0.960336$ (t-test; $0 < p < 0.002$).

切片でのAR発現を比較検討した。また、パラフィン包埋期間により染色性に差があるか否かを確認する目的で、コントロールとして用いた前立腺肥大症26例において保存期間別に染色性の差を検討した。非特異的染色は隣接臓器である膀胱・尿道組織において施行した。

結 果

(1) 予備試験

a) 新鮮凍結切片とパラフィン包埋切片での染色性の比較

前立腺組織19例（前立腺肥大症5例・前立腺癌14例）のパラフィン包埋切片と新鮮凍結切片での染色性はほぼ同様の傾向を示し、LIでの相関係数は $R=0.960336$ (t-test; $0 < p < 0.002$) であり、両者の染色性に差を認めないことを確認した（図1）。

b) 包埋期間別にみた染色性の比較

今回コントロールとして用いた前立腺肥大症症例26例のパラフィン包埋期間は1年～5年であり、保存期間別に染色性の差を検討したが、明らかな差は認められなかった。今回検討に用いた検体の包埋期間内では包埋時間による染色性の差は認められないことを確認した。

c) 非特異的染色

非特異的染色として隣接臓器である膀胱・尿道組織をAR70にて染色したが、明らかな反応は認められなかった。

(2) 前立腺組織のARの局在

ARの局在は細胞核に認められ、前立腺肥大症組織においては腺管上皮細胞と間質細胞の一部が染色され

た。特に腺管上皮では管腔内側の染色性が強く、基底膜側の細胞では染色は認められるものの、管腔内側に比して染色は弱かった（図2）。

腺癌組織でも同様にARは細胞核に発現していたが、染色が陽性の細胞と陰性の細胞が混在して認められた（図3）。

(3) 前立腺肥大症組織と前立腺癌組織との抗AR抗体染色陽性細胞率の比較

ARのLIは未治療群腺癌組織全体では $57.8 \pm 14.5\%$ (mean $\pm$ SD) であり、前立腺肥大症の $86.4 \pm 6.3\%$ に比べて低値を示した (Wilcoxon test; $p < 0.0001$) (表2)。

(4) 腫瘍分化度と抗AR抗体染色陽性細胞率との

表2 前立腺肥大症組織と前立腺癌組織との抗AR抗体染色陽性細胞率での比較検討

(LI=mean $\pm$ SD%)	
	AR
前立腺肥大症(26例)	$86.4 \pm 6.3\%$
前立腺癌 (86例)	$57.8 \pm 14.5\%$

Wilcoxon test; $p=0.0001$

表3 腫瘍分化度と抗AR抗体染色陽性細胞率との関係

(LI=mean $\pm$ SD%)	
	AR
高分化型腺癌(26例)	$72.8 \pm 7.5\%$
中分化型腺癌(34例)	$58.7 \pm 7.3\%$
低分化型腺癌(26例)	$41.4 \pm 8.2\%$

Kruskal-Wallis test; $p=0.0001$

図2 前立腺肥大症組織における AR 染色所見. (×200, AR-70 PAb)

図3 腺癌組織における AR 染色所見. (低分化型腺癌；×200, AR-70 PAb)

表4 低分化型腺癌(33例)における未治療群と再燃群との抗AR抗体染色陽性細胞率での比較

(LI=mean±SD%)	
	AR
未治療群(26例)	41.4±8.2%
再燃群 (7例)	22.9±13.6%

Wilcoxon test; p=0.0004

関係

腺癌組織におけるARのLIは、高分化型腺癌(26例)72.8±7.5%, 中分化型腺癌(34例)58.7±7.3%, 低分化型腺癌(26例)41.4±8.2%で、腫瘍分化度が高分化型から低分化型になるに従って低下を認めた(Kruskal-Wallis test; p=0.0001)(表3)。

(5) 低分化型腺癌における未治療群と再燃群との抗AR抗体染色陽性細胞率の比較

未治療低分化型腺癌症例(26例)と再燃性癌(7例; 全例低分化)でのLIの比較検討では、未治療群が41.4±8.2%であるのに対して再燃群では22.9±13.6%であり、同じ低分化型腺癌でも再燃群ではLIはさらに低値を示した(Wilcoxon test; p=0.0004)(表4)。

(6) 臨床病期分類と抗AR抗体染色陽性細胞率との関係

Stage C症例(31例)のLIの平均は61.6±13.2%であり、Stage D症例(55例)では55.6±14.8%で、Wilcoxon testで有意差は認められず、遠隔転移を有するか否かでの染色性には明らかな傾向は認めなかった。

(7) 抗androgen療法の治療効果と抗AR抗体染色陽性細胞率との関係

検討症例の全例が抗androgen療法(酢酸クロルマジノン100mg/day単独投与; 15例, 酢酸クロルマジノン100mg/day+LH-RHアナログ併用; 71例)を受けており、前立腺癌取扱い規約¹⁾の治療効果判定基準に準拠し、触診による病巣の変化・CT所見・PSA値・骨シンチグラム所見にて評価した6ヵ月後の腫瘍病巣の治療効果判定では、CR症例は31例(36.1%), PR症例は18例(20.9%), NC症例は15例(17.4%), PD症例は22例(25.6%)であった。

それぞれのLIの平均はCR症例が68.2±10.9%, PR症例が57.8±13.6%, NC症例が54.2±9.0%, PD症例が45.5±12.0%であり、抗androgen療法の治療効果の高い群でAR染色は高値を示した(Kruskal-

表5 前立腺癌86例における抗androgen療法の治療効果と抗AR抗体染色陽性細胞率との関係

(LI=mean±SD%)	
	AR
C R (31例)	68.2±10.9%
P R (18例)	57.8±13.6%
N C (15例)	54.2±9.0%
P D (22例)	45.5±12.0%

Kruskal-Wallis test; p=0.0001

Wallis test; p=0.0001)(表5)。前述のごとく腫瘍分化度とAR陽性率には相関が認められており、治療効果との検討で分化度の影響をより多く受けている可能性もあることから、分化度・病期・AR陽性率を独立変数とし、治療効果を従属変数として重回帰分析(multiple regression)を施行したところ、適合度p<0.0001で、分化度と治療効果の相関がp=0.0595, 病期と治療効果の相関がp=0.0618であったのに対して、AR陽性率と治療効果ではp=0.0410と相関が認められた。

(8) 生存率(予後)と抗AR抗体染色陽性細胞率との関係

未治療群症例において治療前の抗AR抗体の染色性が抗androgen療法後の予後と関係するか否かを検討するため、AR染色のLIが平均値(57.8%)以上をA群(43例; LI=69.4±8.0%), 平均値未満をB群(43例; LI=46.1±9.0%)とし、A群とB群での生存率をKaplan-Meier法にて比較検討した(図4)。その結果、5年生存率はA群で72.7%, B群で41.8%であり、AR染色陽性率の低い群で生存率の低下を認めた(Cox-Mantel test; p=0.03)。

考 察

前立腺癌がandrogen依存性の腫瘍であることから、1941年にHugginsら²⁾³⁾によって抗androgen療法が提唱され、現在でも進行性前立腺癌の有効な治療法となっている。しかしながら、治療初期より抵抗性を示す症例が存在することや初期治療には有効でも後に再燃してくる症例が存在することなどの問題点があげられる。抗androgen療法不応癌の機序についてはLabrieの仮説⁴⁾とIsaacsの仮説⁵⁾がある。Labrieら⁴⁾は前立腺癌細胞はほとんどandrogen依存性であるが、細胞機能を維持するために必要なandrogenの量が細胞によって異なると述べている。一方、Isaacsら⁵⁾はandrogen除去療法で治癒できない主な理由は、androgenの除去が不十分なためではなく、ホルモン療法

図4 抗AR抗体染色の発現による生存率の比較. A群: LI $\geq$ 57.8%, B群: LI<57.8%. (Cox-Mantel test; $p=0.03$)

を開始する以前から前立腺癌細胞の中に androgen に対して依存性の細胞と非依存性の細胞が混在しているためであるとしている。

ステロイドホルモンは標的細胞内に存在するレセプター蛋白と結合することで生理作用を発現するが、AR は1969年に Mainwaring⁶⁾がラット前立腺 cytosol から分離し、ヒト前立腺においても Hasson ら⁷⁾によって存在が報告された。その後の研究で androgen が AR を介する作用機序として、まず血清中の testosterone が細胞内に入り、5 α -dihydrotestosterone (DHT) に変換され、DHT は核内へ移行し、クロマチンとの結合の後に DNA を介して androgen の作用を発現することが解明された⁸⁾。それ以来、前立腺癌組織に対する抗 androgen 療法の効果や予後を推測する目的で、AR の精製と定量が数多く試みられてきた^{9)~11)}。

以前の AR に関する研究はほとんどが生化学的手法により行われている。しかしながら、前立腺癌では組織構築が多様性を示すことが多く、生化学的に一定量の組織を homogenize して測定した AR 量は腺癌細胞の他に正常前立腺細胞や間質などが混在した種々の組織中の AR 量の平均値となるため、腺癌中の AR 量を決定する際に、どうしても不正確にならざるを得ない¹²⁾。そこで、ligand を用いた蛍光染色による検討¹²⁾やオートラジオグラフィ法による検討¹⁴⁾が試みられ、AR の局在が細胞核にあることが示された。また、AR そのものに対する抗体が得られれば、免疫組織化学的に AR の局在や分布を簡便に測定し、同時に細胞構築を検討することも可能となり、臨床的にも有用であると考えられるようになってきた。

モノクローナル抗体は出村ら¹⁵⁾が1986年にマウス免

疫にて作製したのに続き、Chang ら¹⁶⁾がヒト AR cDNA をクローニングし、AN1-15を作製した。Masai ら¹⁷⁾は AN1-15を用いて免疫組織化学的に AR の検討を報告しているが、抗体価が低いことや特異性の点で多少問題が残された¹⁵⁾¹⁸⁾。

1992年に溝上ら¹⁸⁾によって遺伝子工学的に AN1-15よりも抗体価が5倍高いポリクローナル抗体 NH27が作製されたのに続き、抗体価の高い種々のポリクローナル抗体が市販されるにいたった。

今回われわれは NOVOCASTRA 社製抗ヒト AR ウサギポリクローナル抗体 AR70を用いて検討したが、予備試験において同一症例の新鮮凍結切片とパラフィン包埋切片での染色性を比較した結果、両者の染色性に差はなく、包埋期間による染色性にも差が認められなかったことから、ポリクローナル抗体 AR70はパラフィン包埋切片を用いても十分に検討が可能であると結論して、retrospective な検討が実現できた。AR70染色の LI は前立腺肥大症組織に比して腺癌組織では AR の陽性細胞率は有意 ($p=0.0001$) に低下していた。前立腺組織での染色性は諸家¹³⁾¹⁴⁾¹⁷⁾¹⁸⁾の報告と同様に細胞の核のみが染色され、前立腺肥大症組織の腺管では管腔側細胞の核の染色性は基底細胞側に比して濃く染色された。前立腺腺癌組織では様々な染色性を示す細胞が混在し、Masai ら¹⁸⁾の報告と同様に腫瘍の分化度が低くなるに従って陰性細胞の比率が増加していた。

核がまったく染色されていない細胞は androgen 非依存性の細胞と考えられ、低分化度の腫瘍ほど androgen 非依存性の細胞を多く含むことが示唆された。また、今回の検討では再燃群でも AR の存在は認めら

れているが、その理由の一つとして進行前立腺癌組織においてコドン877をはじめとする AR 遺伝子の変異が最近報告されている¹⁹⁾²⁰⁾。この変異は AR のステロイド特異性を変化させるために他のステロイドの存在下にて細胞の増殖が可能になり、そのため AR を持つ癌細胞が androgen を欠いても生存しうるものと考えられている。

乳癌においては腫瘍細胞内の estrogen receptor 量と内分泌療法の治療効果との間に関連があり、receptor 測定が治療方針の決定に臨床応用されてきている。AR 量と抗 androgen 療法の治療効果の関係は、北野²¹⁾が前立腺癌14例を検討し、AR 量と治療効果は相関すると報告し、大野ら²²⁾も19例を検討して同様の結論を得ている。一方、Sadi ら²³⁾は17例の検討で両者は相関しないと報告しており、乳癌における estrogen receptor 量と治療効果の関係とは異なり、いまだに明確な結論が得られていない。

この理由として生化学的手法では試料採取のためには針生検では絶対量が少ないことや、前述のごとく採取組織を homogenize するため組織内の腫瘍細胞と正常細胞の比率によって測定値が変動するなど、AR 測定方法の問題が考えられる。また、免疫組織化学的手法を用いた検討でも、抗 androgen 療法の治療効果を抗 AR 抗体染色陽性細胞率により分析した報告は少ない上に、新鮮凍結切片を必要とするため検討症例数が少ないことも問題と考えられる。

今回の検討では治療効果の高い群で陽性細胞率が高い ($p=0.0001$) に高く、陽性細胞率の低い群で5年生存率が低下 ($p=0.03$) していた。重回帰分析でも陽性細胞率と治療効果の相関が認められ ($p=0.0410$)、AR 陽性率そのものも有意の予後因子であることが示唆された。ポリクロナール抗体 AR70を用いることでパラフィン包埋切片の使用が可能となり、retrospectiveにより多くの検体数が使用できたことで、結果として AR 量が生存率や治療効果と統計学的相関が認められたものと思われる。AR mutationの問題が残されるものの、今後抗 androgen 療法の効果を予測する上で、AR の測定は生化学的に組織全体の AR 量を測定することよりも、個々の細胞が AR を有するか否かを免疫組織化学的に判定していくことの方が臨床的に意義があるように考えられる。しかしながら、免疫組織化学的手法においてもまったく問題がないわけではなく、その一つとして AR 量の定量や cut off 値の決定が困難であることがあげられる。今回の検討では labelling

index を用い、一次抗体の希釈倍率を50倍、感作時間を18時間としたが、前立腺肥大症症例において陰性細胞が10%以上、腺癌症例でも CR 症例で陰性細胞が30%以上認められている。原因として予備実験において抗体の信頼性は得られているとはいえ、顕微鏡下の目視判定のために微弱な陽性染色を陰性と判定している可能性が考えられ、今後 cut off 値を決定するためにも抗体の希釈倍率や感作時間についての検討も必要と思われる。

今回の結果から、抗 AR 抗体染色において腫瘍組織の個々の細胞で様々な染色性を示すことや、治療開始前より染色陰性細胞が存在することは androgen 非依存性の細胞の存在を表し、抗 androgen 療法の限界と再燃性癌の存在を示すものであった。以上のことは Isaacs の仮説⁵⁾を支持する上での裏付けになると思われる。また、分化度が低くなるに従って陰性細胞の比率が増加することは、抗 androgen 療法に関して低分化度の腫瘍のほうが再燃しやすいということの一つの理由になるのではないかと思われた。

結 語

未治療前立腺癌86例と再燃癌7例および前立腺肥大症26例の AR の局在を免疫組織化学的に検討した。AR は細胞核に認められ、腺癌組織では肥大症組織に比して陽性細胞率が低下していた。さらに、腺癌組織では分化度が低くなるに従って低値を示した。低分化型腺癌では再燃組織は未治療組織に比してさらに低下していた。また、抗 androgen 療法の効果の高い群で陽性細胞率は高く、陽性細胞率の低い群で5年生存率は低下を認めた。以上の結果から、抗 androgen 療法の予後を予測する上で免疫組織化学的な AR の測定は有用であると思われた。

稿を終えるにあたり、研究に御協力いただいた昭和大学藤が丘病院泌尿器科：医局員一同ならびに組織化学研究室：鈴木孝夫、岸本浩次、家泉桂一の諸氏に深謝いたします。本論文の要旨は第32回日本癌治療学会総会において発表した。なお、本研究は平成5年度昭和大学共同研究費(II、悪性腫瘍の病態と治療、D 班 No. 52)によったことを付記する。

文 献

- 1) 日本泌尿器科学会, 日本病理学会編: 泌尿器科・病理. 前立腺癌取扱規規約, 第2版, 金原出版, 東京, 1992.
- 2) Huggins, C. and Hodges, C.V.: Studies on prostatic cancer. 1. The effect on castration, of estrogen, and of androgen injection on serum

- phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. *Cancer Res.*, **1**, 293—297, 1941.
- 3) Huggins, C., Stevens, R.E. Jr. and Hodges, C.V.: Studies on prostatic cancer. 2. The effect of castration on advanced carcinoma of the prostate gland. *Arch. Surg.*, **43**, 209—223, 1941.
 - 4) Labrie, F., Dupont, A., Belanger, A., Lacoursiere, Y., Raynaud, J.P., Husson, J.M., Gareau, J., Fazekas, A.T.A., Sandow, J., Monfette, G., Girard, J.G., Emond, J. and Houle, J.G.: New approach in the treatment of prostate cancer: Complete instead of partial withdrawal of androgens. *Prostate*, **4**, 579—594, 1983.
 - 5) Isaacs, J.T.: The timing of androgen ablation therapy and/or chemotherapy in the treatment of prostatic cancer. *Prostate*, **5**, 1—17, 1984.
 - 6) Mainwaring, W.I.P.: A soluble androgen receptor in the cytoplasm of rat prostate. *J. Endocrinol.*, **45**, 531—541, 1969.
 - 7) Hansson, V., Tveter, K.J., Attramadal, A. and Torgersen, O.: Androgenic receptors in human benign nodular prostatic hyperplasia. *Acta Endocrinol.*, **68**, 79—88, 1971.
 - 8) Mainwaring, W.I.P.: The model for the mechanism of action of androgens. The mechanism of action of androgens, Gross, F., Grumbach, M. M., Labhart, A., Lipsett, M.B., Mann, T., Samuels, L.T. and Zander, J.P., p. 8—9, Springer-Verlag, New York, 1977.
 - 9) Snochowski, M., Pousette, A., Ekman, P., Bression, D., Andersson, L., Hogberg, B. and Gustafsson, J.A.: Characterization and measurement of the androgen receptor in human benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **45**, 920—930, 1977.
 - 10) Bradlow, H.L. and Gasparini, F.J.: Current status of prostate androgen receptors. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, **9**, 299—313, 1979.
 - 11) Shimazaki, J., Hikage, T., Sato, R., Kodama, T. and Ito, H.: Measurement of androgen receptor in cytosoles from normal, benign hypertrophic and cancerous human prostates. *Endocrinol. Japon.*, **28**, 725—734, 1981.
 - 12) DeVoogt, H.J. and Rao, B.R.: Present concept of the relevance of steroid receptors for prostatic cancer. *J. Steroid Biochem.*, **19**, 845—849, 1983.
 - 13) Naito, H., Ito, H., Wakisaka, M., Kambegawa, A. and Shimazaki, J.: Histochemical observation of R1881 binding protein in human benign prostatic hypertrophy. *Invest. Urol.*, **18**, 337—340, 1981.
 - 14) 出村孝義, 坂下茂夫, 高村孝夫, 黒田一秀: オートラジオグラフィによる人前立腺組織中 androgen receptor の同定—前立腺肥大症組織について—. *日泌尿会誌*, **73**, 1108—1115, 1982.
 - 15) 出村孝義, 葛巻 暹, 小田 淳, 谷口直之, 小柳知彦: ヒト androgen receptor に対する単クローン抗体の作成. *医学のあゆみ*, **139**, 627—628, 1986.
 - 16) Chang, C., Whelan, C.T., Popovich, T.C., Konkantis, J. and Liao, S.: Fusion protein containing androgen receptor sequences and their use in the production of poly- and monoclonal antiandrogen receptor antibodies. *Endocrinology*, **125**, 1097—1099, 1989.
 - 17) Masai, M., Sumiya, H., Akimoto, S., Yatani, R., Chang, C., Liao, S. and Simazaki, J.: Immunohistochemical study of androgen receptor in benign hyperplastic and cancerous human prostates. *Prostate*, **17**: 293—300, 1990.
 - 18) 溝上 敦, 正井基之, 島崎 淳, 杉田篤生: ヒトアンドロゲンレセプター・ポリクロナール抗体の作成および前立腺組織におけるヒトアンドロゲンレセプターの免疫組織化学的検討. *日泌尿会誌*, **83**, 1801—1807, 1992.
 - 19) Gaddipati, J.P., McLeod, D.G., Heidenberg, H. B., Sesterhenn, I.A., Finger, M.J., Moul, J.W. and Srivastava, S.: Frequent detection of codon 877 mutation in the androgen receptor gene in advanced prostate cancers. *Cancer Res.*, **54**, 2861—2864, 1994.
 - 20) Suzuki, H., Sato, N., Watanabe, Y., Masai, M., Seino, S. and Shimazaki, J.: Androgen receptor gene mutations in human prostate cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.*, **46**, 759—765, 1993.
 - 21) 北野太路: 前立腺細胞内アンドロゲン・レセプターについて. 第2編. 前立腺癌細胞内アンドロゲン・レセプターと抗男性ホルモン療法の治療効果および治療の及ぼす影響について. *日泌尿会誌*, **75**, 1098—1108, 1984.
 - 22) 大野一典, 梅原次男, 熊本悦明: 前立腺癌に対する抗男性ホルモン療法の治療効果と前立腺癌組織内 androgen receptor content との相関性に関する研究. *日泌尿会誌*, **75**, 1212—1224, 1984.
 - 23) Sadi, M.V., Walsh, P.C. and Barrack, E.R.: Immunohistochemical study of androgen receptors in metastatic prostate cancer. Comparison of receptor content and response to hormonal therapy. *Cancer*, **67**, 3057—3064, 1991.

(1995年10月17日受付, 1996年2月26日受理)