

## モルモット精管平滑筋の生理活性物質による収縮の温度負荷効果

銚石文彦 坂井朗子\*<sup>1</sup> 吉濱 勲\*<sup>2</sup>  
並木 一典 三木 誠

\*<sup>1</sup>東京医科大学泌尿器科学教室, 同生理学第二講座

\*<sup>2</sup>同電子顕微鏡研究室

**【要旨】** 前立腺肥大症の温熱・高温度療法における温度設定の基礎実験としてモルモット精管をモデルとして用いた。光学および電子顕微鏡学的 autoradiography により輪状筋および縦走筋膜に  $\alpha_1$  および  $\beta$  adrenoceptor の局在が明らかになった。精管平滑筋の収縮に対する温度負荷効果を調べるために、以下の生理活性物質を用いた。すなわち phenylephrine (100  $\mu$ M), ATP (500  $\mu$ M), nicotine (200  $\mu$ M), isoprenaline (200  $\mu$ M), acetyl- $\beta$ -methylcholine (50  $\mu$ M) および KCl (40 mM) である。温度負荷は 43~47°C で、1時間処理をおこなった。全ての薬物は精管平滑筋に対し phasic と tonic の収縮を誘起した。43°C では、いずれの収縮も対象と比較してほとんど変化が見られなかった。45°C では KCl による収縮以外は著明に抑制された。このことはこの温度負荷では収縮系はなお温存されているにもかかわらず、受容体との結合能が減少していることを示唆している。46°C では、ほとんどの収縮は痕跡程度までに抑制された。KCl による収縮は僅かに残り、不規則な収縮を惹起するにとどまった。すなわち、かかる温度負荷では受容体のみならず、細胞内機構および収縮要素も障害を受けることがわかった。ATP は最も温度負荷に耐性を持ち、46°C でもなお 20% 残存していた。47°C では、全ての収縮は消失した。以上の結果から、精管平滑筋の収縮能を抑制させるに必要最低温度は 47°C であると結論した。

### はじめに

近年高齢化に伴い、前立腺肥大症の症例数は増加の傾向を示している。薬物療法では十分な治療効果の得られない前立腺肥大症例に対し、経尿道的前立腺切除術 (Transurethral resection of prostate) がゴールドスタンダードとされている。しかし様々な基礎疾患を合併する症例では、より低侵襲的治療が望まれる。近年低侵襲的治療として、尿道ステント、経尿道的バルーン拡張術、さらに前立腺内平滑筋の弛緩ないし組織損傷を目的とした加温療法が施行されるようになってきた。加温療法では、治療温度 45°C 以下の温熱療法<sup>1-3)</sup> から 45°C 以上に加温するいわゆる高温度治療<sup>4-6)</sup> が行われるようになった。

また、de la Rosette et al<sup>7)</sup> はさらに高い温熱を与える高温度治療を提唱している。すなわち、thermo-coagulation から thermoablation への指向である。しかし高温度治療効果が温熱量依存性である<sup>6)</sup> という報告もあるが、症例によっては必ずしも高温を必要としない場合もある。一方、基礎的研究として肥大した前立腺では  $\alpha_1$  adrenoceptor の数が増加し、前立腺肥大症における排尿障害の一因になり得るとい報告もあり<sup>8)</sup>、この観点から、並木と坂井<sup>9)</sup> は、一つのモデルとしてモルモット精管を用い、 $\alpha_1$  adrenoceptor の <sup>3</sup>H prazosin との結合動態についての温度効果を報告している。

我々はモルモット精管平滑筋膜における  $\alpha_1$  および  $\beta$  adrenoceptor の存在を光学および電子顕微鏡

1998年1月20日受付, 1998年1月27日受理

キーワード: モルモット精管, 収縮性, 温熱処理, autoradiography

(別刷請求先: 〒160-0023 東京都新宿区西新宿 6-7-1 東京医科大学泌尿器科学教室 銚石文彦)

学的 autoradiography により確認するとともに、種々の生理活性物質による収縮の微妙な温度効果を検索し、47°C が平滑筋の収縮性を消失させるに必要な最低温度であることを明らかにしたのでここに報告する。

## 方 法

**標本** モルモット（オス、300～350g）精管を用いた。25% urethane を 1ml/100g の用量で腹腔内麻酔後、背位に固定して標本を切り出した。95%O<sub>2</sub> + 5%CO<sub>2</sub> を添加した Tyrode 液中で、精管全長を約 40mm に伸展固定し、実体顕微鏡下で精管周囲の血管および結合組織を注意深く剥離し、前立腺側より約 25mm で切断し、両端を絹糸でしばり標本とした。

**温度負荷** 左右一対のうち一側の標本を1時間の温度負荷を与えた後実験に供し、他側を4°Cの氷冷 Tyrode 液中に放置して対象とした。温度負荷は 43, 45, 46, 47°C で検討した。

**収縮曲線の記録** 標本を容量 5ml のマグヌス管内に懸垂し、外槽を 36°C の温湯で急速に灌流して内槽の Tyrode 液の温度を 36°C に一定に保った。マグヌス管の下方より小穴を有する直径 0.2mm のビニールチューブを差し込み、95%O<sub>2</sub> + 5%CO<sub>2</sub> の細かい気泡をやや強めに送り、与えた物質が可及的速やかに平衡濃度に達するようにした。

張力の測定は FD ピックアップ（日本光電製、TB-612T 型）にて検出し、キャリアアンプ（日本光電製、AP-621G 型）にて増幅し、5mm/min のスピードで、ペーパーオシログラフで記録した。また同時にコンピューターに取り込み、75msec で digital 化し事後の解析に用いた。標本をマグヌス管に懸垂し、0.5g の張力をかけた後、1時間放置して張力が約 0.10g の平衡状態に達してから実験を行った。

**投与薬物** 生理活性物質は 30分おきに投与した。高濃度の溶液をマイクロピペット（50～100 μl：ATP のみ 500 μl）にてマグヌス管の上部より一気に投与し、急速な気泡によりマグヌス管内の 5ml の Tyrode 液中で可及的速やかに規定の平衡濃度に達するようにした。薬物は 2分 30秒間与え、その後マグヌス管の下端より排液し 5分おきに洗浄した。阻害剤の影響を調べる時は薬物投与の 25分前に与えた。

用いた生理活性物質は l-phenylephrine hydrochloride (PHL, Sigma), adenosine triphosphate disodium salt (ATP, RBI), l-nicotine (NIC, Sigma), dl-isoproterenol hydrochloride (IPR, Sigma), acetyl-β-methylcholine chloride (MCh, Sigma) および KCl (WAKO) である。α<sub>1</sub> 阻害剤として prazosin HCl (RBI) を ATP 阻害剤として suramin hexasodium salt (RBI) および α, β-methylene ATP lithium salt (Sigma) を用いた。PHL, ATP および IPR は投与直前に溶解して用いた。

用いた Tyrode 液の組成 (g/l) は次の通りである。NaCl 8, KCl 0.2, CaCl<sub>2</sub> 0.2, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 0.01, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0.05, glucose 1.0, NaHCO<sub>3</sub> 1.0。

**α<sub>1</sub> および β adrenoceptor の autoradiography** モルモット精管を α<sub>1</sub> adrenoceptor ラベル用として <sup>3</sup>H prazosin (148 KBq/ml, Amersham) または β adrenoceptor ラベル用として <sup>3</sup>H dihydroalprenolol (148 KBq/ml, Amersham) を含む Tyrode 液中に 30°C で 1時間漬して受容体との結合を行わせた。その後室温で 1時間 (10分/回) fresh Tyrode 液で洗浄し、精管のほぼ中央を両刃のカミソリを用いて長さ約 1mm の棒状標本とした。

標本を 3% paraformaldehyde および 2% glutaraldehyde 含有の pH 7.3, 0.05M カコジル緩衝液に 10mM の割合で CaCl<sub>2</sub> を添加した固定液で、4°C, 2時間の前固定を施行後、0.1M の同緩衝液で 2時間洗浄を行ってから (15分/回の液交換), 2%OsO<sub>4</sub> 含有の 0.1M 同緩衝液で 2時間の後固定を行った。

次いで 0.1M 同緩衝液で 1時間の洗浄の後、30%からのエタノール系列脱水 (30·50·60·70·90·100%) を経て propylene oxide に置換後エポキシ樹脂 (Quetol-812 混合液) に包埋した。

包埋された材料は ULTRACUT-J 型マイクローム (Reichert-Jung 社製) を用いて、光学顕微鏡 (光顕) 用には厚さ 1.0 μm に切削し、スライドガラスに貼付してからトルイジンブルー・アズール II 染色液にて加温染色を行い、暗室で乳剤処理を行った。また、透過型電子顕微鏡 (透過電顕) 用には厚さ 0.1 μm に切削し、トリアセチルセルロース支持膜貼付の銅製 150 gridmesh に載せた。ついで 4% 酢酸ウラン水溶液で 10分間の単染色を施行し、真空蒸着装置 (SUPER-MINI HIGH CLEAN VACUUM COATER, SVC-700 TURBO, SANYU DENSHI Co. Ltd) にて厚さ約 50nm にカーボンを蒸着し暗室で乳剤処理

を行った。

顕微鏡は超純水で 1.2 倍に希釈し 45°C に温煎中の SAKURA NR-M2 乳剤に標本を貼付したスライドガラスを浸漬し、乾式法支持膜作製機（日新 EM（株）製、マイクローム MA-1 型）を用いて 600 mm/min の速度で引き上げ乳剤を塗布した。

透過電顕は超純水で 12 倍に希釈し 43°C に温煎中の SAKURA NR-H2 乳剤をタッチ法<sup>10)</sup> で塗布した。

乳剤を塗布し乾燥させた材料は 4°C の暗箱中で 4, 5, 6 週間静置後、コニカドール X 現像液で 20°C 4 分間の現像、および 12% チオ硫酸ナトリウム水溶液で 20°C、5 分間の定着処理を行い乾燥後鏡検処理に移した。顕微鏡は封入剤（エンテランニュー、MERK KGaA）で封入後鏡検し、電顕は水黒鉛<sup>11)</sup> で室温 30 分の脱ゼラチン処理を兼ねた染色を

施してから JEM-1200 EXII 型透過電顕の加速電圧 60 kV で観察した。

### 結 果

#### 1. 生理活性物質投与濃度の決定

今回の実験に際し精管平滑筋の収縮を引き起こす生理活性物質の最適濃度を知るために、先ずそれぞれの生理活性物質の dose-response curve を求め、Fig. 1 の●印に示した。一例をとると PHL では、2 μM で収縮は起こらず、濃度上昇に対して S 字状に張力は増大した。以下 ATP, NIC, IPR, MCh および KCl でも同様に S 字状カーブを示した。ちょうど最高の収縮を引き起こす濃度は、PHL, ATP, NIC, IPR, MCh および KCl でそれぞれ 100, 500, 200, 200, 50 μM および 40 mM であり以下の実験

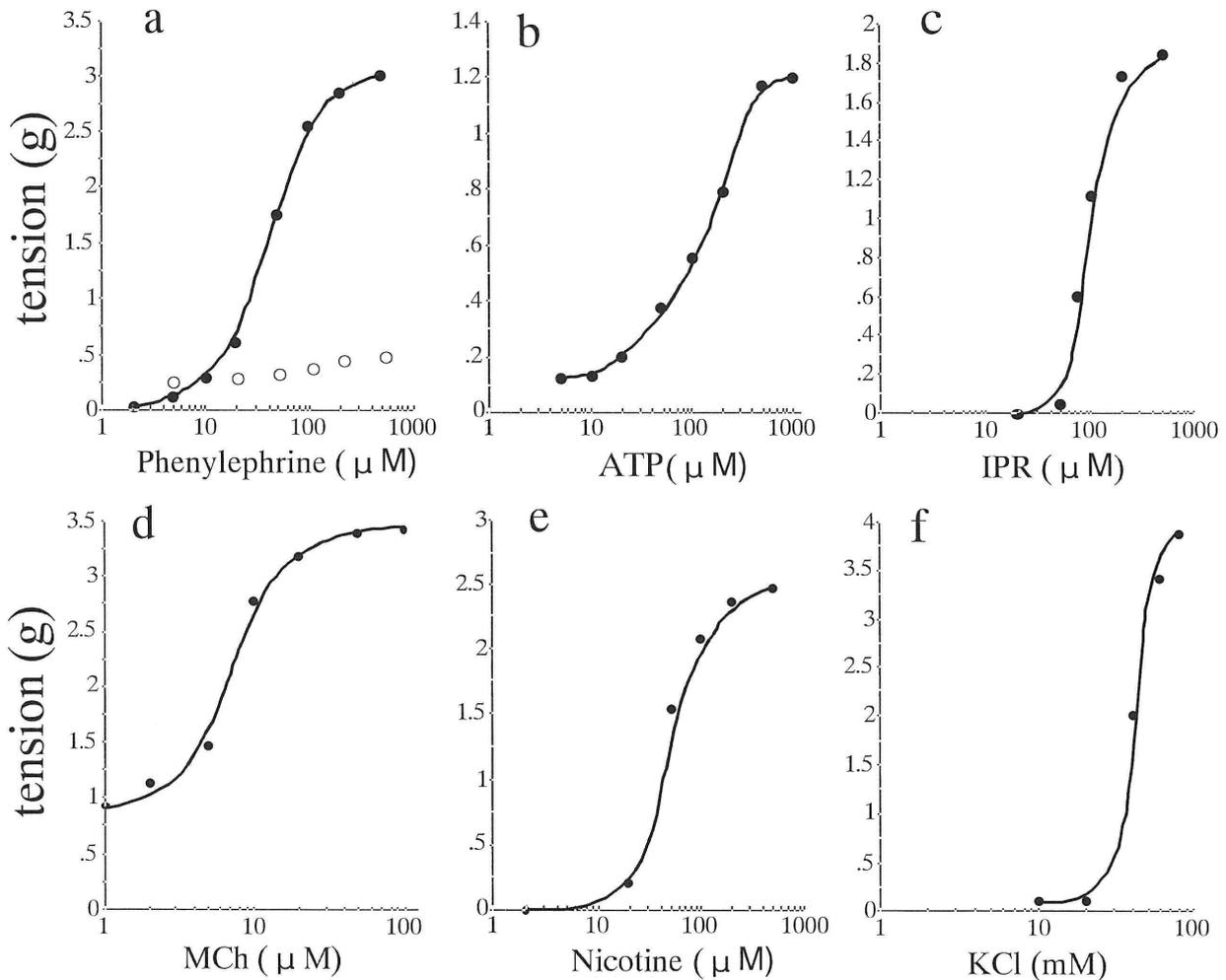
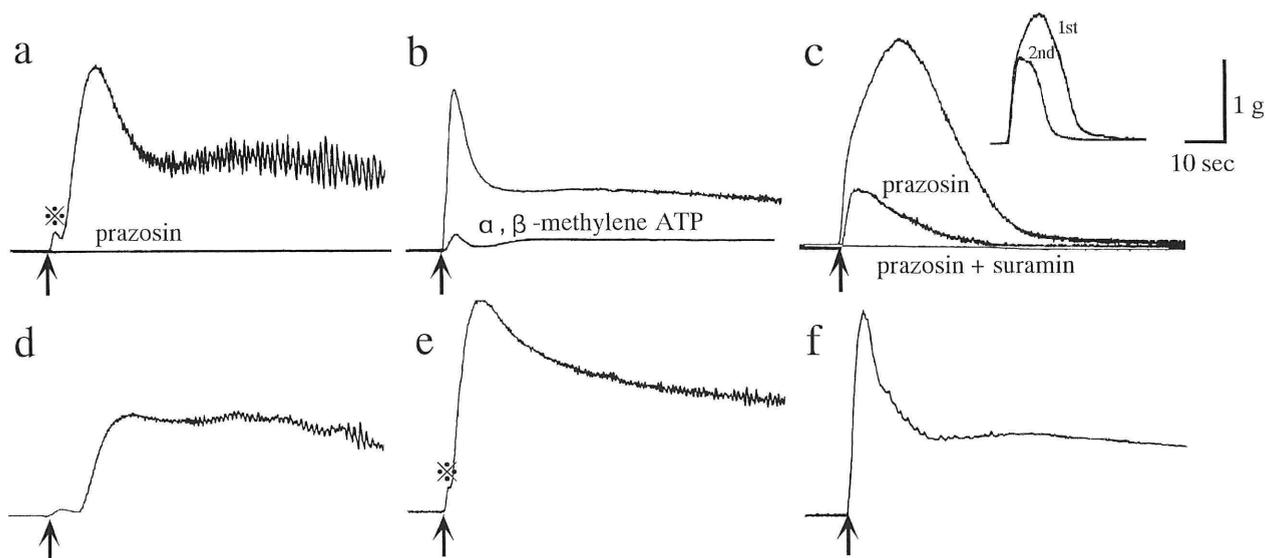


Fig. 1 Dose-response curves of smooth muscles of the guinea-pig vas deferens induced by various biologically active substances. PHL: phenylephrine. IPR: isoprenaline. MCh: acetyl-β-methylcholine. NIC: nicotine. '○' in a denotes transient contraction (\*※' in Fig. 2a). Abbreviations for the drugs are the same in the following figures.



**Fig. 2** Typical examples of the tension developments of the guinea-pig vas deferens evoked by a) 100  $\mu$ M PHL, b) 500  $\mu$ M ATP, c) 200  $\mu$ M NIC, d) 200  $\mu$ M IPR, e) 50  $\mu$ M MCh and f) 40 mM KCl applied at the points indicated by each upward arrow. Contraction by PHL was abolished by 1  $\mu$ M prazosin and that by ATP substantially depressed by desensitization of the receptor in the presence of 10  $\mu$ M  $\alpha$ ,  $\beta$ -methylene ATP but not by 300  $\mu$ M suramin (not shown). The later part of the nicotine-induced contraction was depressed by 1  $\mu$ M prazosin and total contraction was completely abolished by prazosin plus 300  $\mu$ M suramin. The inserted traces in 2c show a comparison of contractions evoked by the first (1st) and the second (2nd) application of nicotine with an interval of 30 min. '※' in a and e denotes transient contraction, as in Fig. 3.

に用いた。

## 2. 各収縮曲線の波形と成分

Fig. 2にコントロールの実験として温度負荷をかけない各物質による収縮曲線を示した。各収縮はおおよそ2つの成分からなる。すなわち急速にピークに達する成分 (phasic component) と、その後緩やかに下降または一時的に張力が増加する成分 (tonic component) である。

PHLによる収縮は1  $\mu$ M prazosinにより完全に抑制された。

ATPによる収縮は Fig. 2bに示すごとく  $\alpha$ ,  $\beta$ -methylene ATP存在下でほとんど抑制されたが, suramin (300  $\mu$ M) 非感受性であった (図には示していない)。

NICによる収縮は Fig. 2cに示すごとく上行脚に notchが見られ, 2成分性であることが示唆された。しかし, この収縮は再現性に乏しく, 右肩の挿入図に見られるごとく, 二回目 (2nd: 約75%に縮尺) の投与では収縮の後半部分が消失し, 前半部分のみが残る傾向が見られた。従って Fig. 3に示す温度負荷の実験では NICの収縮は全て第一回目の投与によるものである。第一回目の投与の後, 1  $\mu$ M

prazosinを与えると収縮の前の部分が残る, さらに, これは suramin (300  $\mu$ M) により完全に消失した。

IPRでは第一回目の投与では全く収縮しないか, あるいは時間経過の極めて緩やかな0.1g以下の小さな収縮を引き起こすのみであった。2回目以降の投与では一定の大きさの再現性のある収縮が得られた。Fig. 2および Fig. 3に示した図は全て第二回目の投与によるものである。第一回目の投与が無効である理由はなお不明であるが, PHL収縮でも多くの場合第二回目の収縮が第一回目の場合よりも大きくなる傾向が見られた。

KCl投与による収縮は図には示していないが1  $\mu$ M prazosinあるいは300  $\mu$ M suraminの影響は全く受けなかった。このことから平滑筋自体に直接作用する単純な収縮系として他の薬物の収縮と比較するために KCl投与による収縮実験を行った。

特異な現象は PHL, IPR および MCh 投与直後に見られる一過性の小さな収縮 (transient contraction; Fig. 2 および Fig. 3 の※印) である。この成分は不安定なもので同じ投与濃度でも大きさが必ずしも一定せず, 明らかな濃度依存性を示さなかった。しかし PHLについて繰り返し調べたところ, 主成

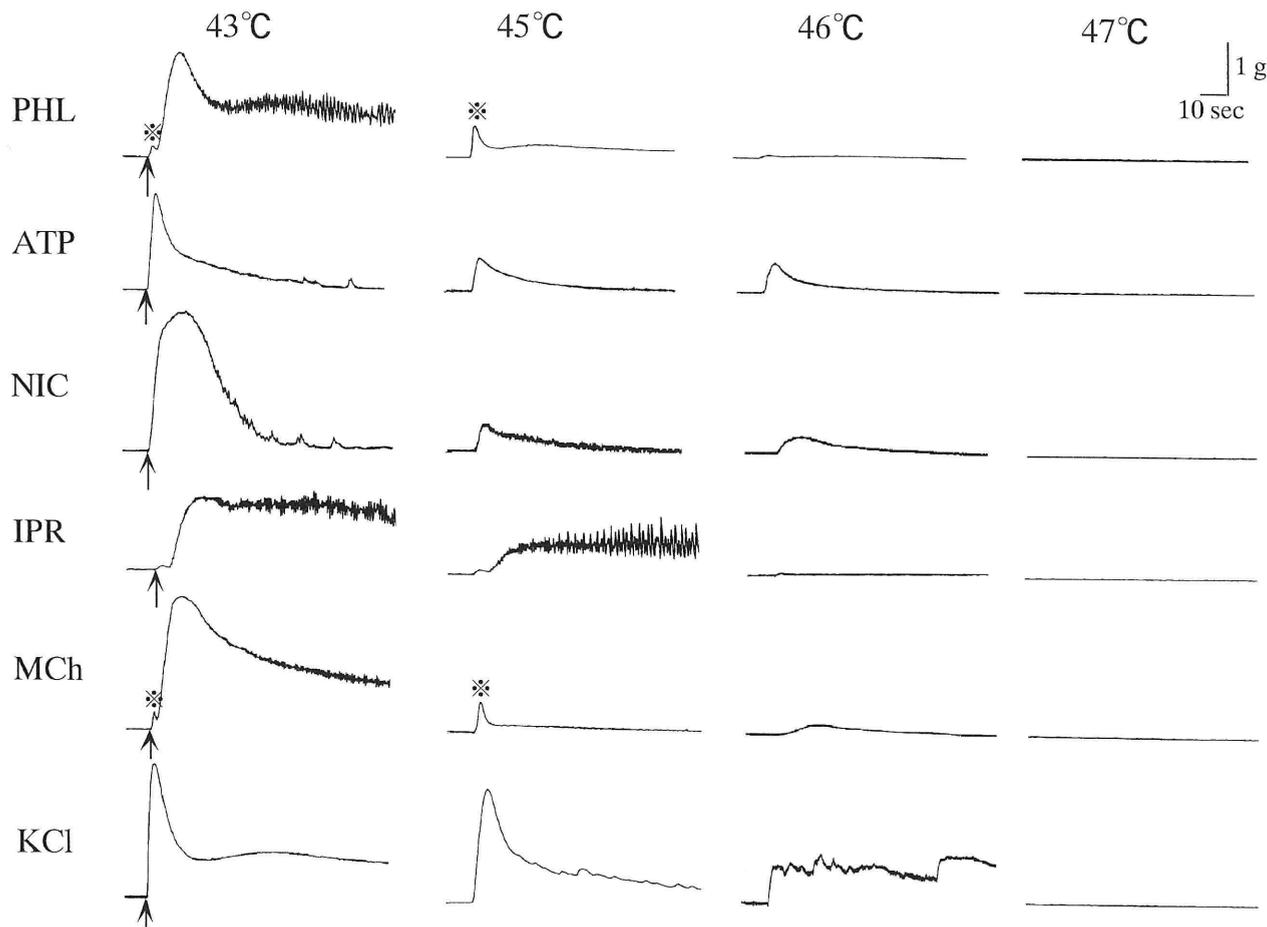


Fig. 3 Effect of various thermal stresses on the contractions of the guinea-pig vas deferens evoked by various drugs. See text for detail.

分とほぼ同じ濃度で飽和する傾向が見られた (Fig. 1aの○印). また IPR と MCh では図に示してないが, PHL の例に見られるごとく主成分の阻害剤により同様に消失した.

活性物質投与後, tonic 成分にしばしば自発収縮が誘起される. 特に PHL で著明であり (Fig. 2a), IPR では収縮のピークから比較的高頻度の自発収縮を繰り返す傾向が見られた (Fig. 2c).

実際の記録例は示していないが, 各活性物質によるいずれの収縮も 1  $\mu$ M tetrodotoxin によって全く阻害されなかった.

### 3. 各種活性物質による収縮に対する温度効果

Fig. 3 に, 43~47°C, 1 時間の温度負荷を行った時の収縮曲線の実際の代表的波形を, Fig. 4 にそれぞれの phasic 成分の収縮高の 3~7 例の平均値とその標準誤差を示した.

極めて特徴的なのは 43°C と 45°C の間で温度効

果の著しい差が見られることである. すなわち, 43°C の温度負荷では, phasic 成分は対象に比していずれも平均値より僅かな低値を示しているが有意差はなく (Fig. 3 および Fig. 4), また tonic 成分は ATP において僅かの抑制が見られるのみで, ほとんど温度の影響は受けなかった. これに反し 45°C では KCl の収縮を除いて全ての収縮は著明に抑制された. Phasic 及び tonic の両成分はほとんど区別ができなくなり, また時間経過が著しく延長し, さらに自発収縮は全く消失していた. 但し, IPR では最大振幅は 26% に抑制されたが, 自発収縮はむしろ対象に比して著明に発生していた. 最大振幅は MCh で 14.5%, PHL で 17% と著しく抑制され, ATP および NIC はいずれも 36% であった. NIC の場合は標本によるばらつきが大きくみられた. KCl の場合は 88% にまで抑制されていたが, 対象に比して有意差はなかった.

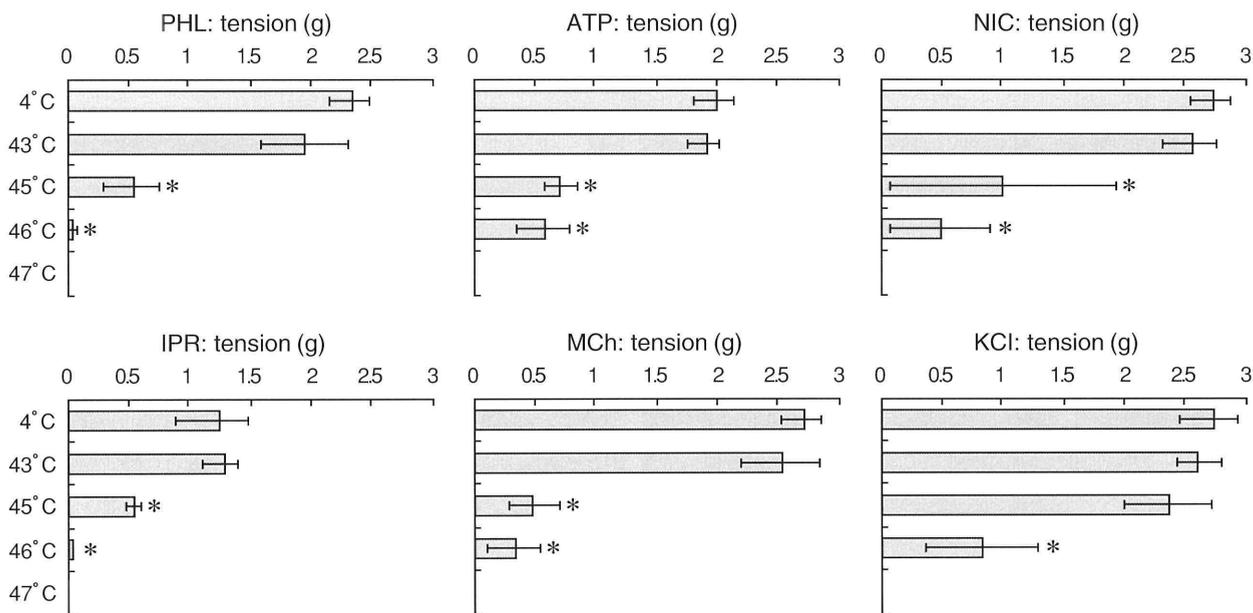


Fig. 4 Histogram showing the heights of the phasic contractions of the guinea-pig vas deferens induced by drugs at 4°C and 43~47°C for 1 h (mean ± SEM, n = 3 to 7). ‘\*’: p < 0.05 for 4°C.

45°Cにおけるもう一つの特徴は PHL および MCh で一見 phasic 成分と思われる比較的大きな速い収縮が残存していることである (Fig. 3 の※印). 両者の潜時は 4°C の対象と変わらなかった. また両者の peak time は 4°C ではそれぞれ 1.8 sec および 1.2 sec で, 45°C 負荷後はそれぞれ 2.4 sec および 2.2 sec と, 対象に比して延長していたが, phasic 成分のそれとは比較にならない程速い成分で, 対象で見られる transient contraction (Fig. 2 の※印) と同一成分であるといえる. これらの成分は 43°C, 45°C と徐々に大きくなり, 46°C では著明に抑制されていた (Fig. 5). Fig. 3 で明らかなごとく IPR の収縮においても時間経過の緩やかな先行する小さな収縮が見られた. この成分は 45°C でも対象とほとんど変化しなかったが 46°C で消失した.

46°C では ATP と KCl を除いて, 時間経過の緩やかな痕跡程度の収縮を見るに過ぎなかった. ATP の場合の振幅は 45°C の場合と差はなかったが, peak time は明らかに延長していた (Fig. 3). KCl の場合も著明に抑制され, 不規則な自発収縮が見られるのみであった.

47°C では, 全ての薬物による収縮は消失した (Fig. 3 および Fig. 4).

#### 4. Autoradiography

Fig. 6 に  $\alpha_1$  (A~D),  $\beta$  (E 及び F) adrenoceptor

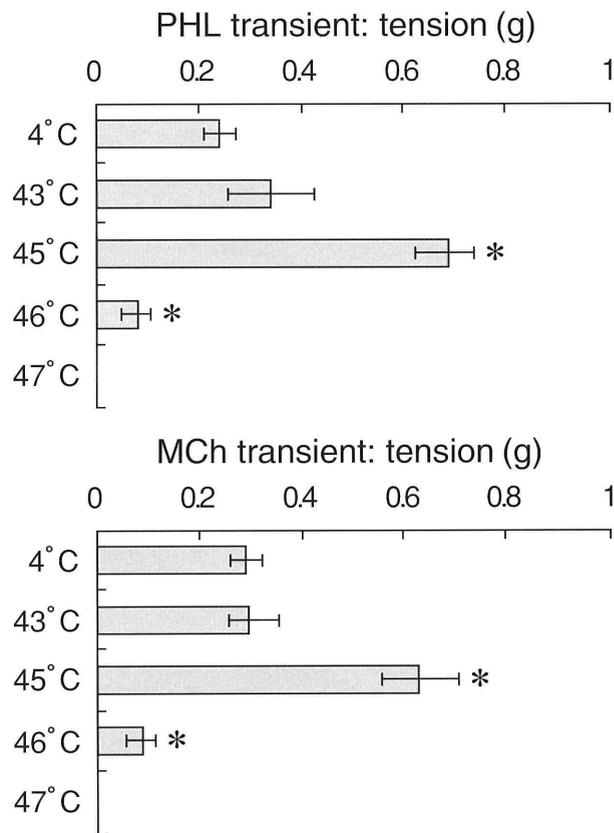
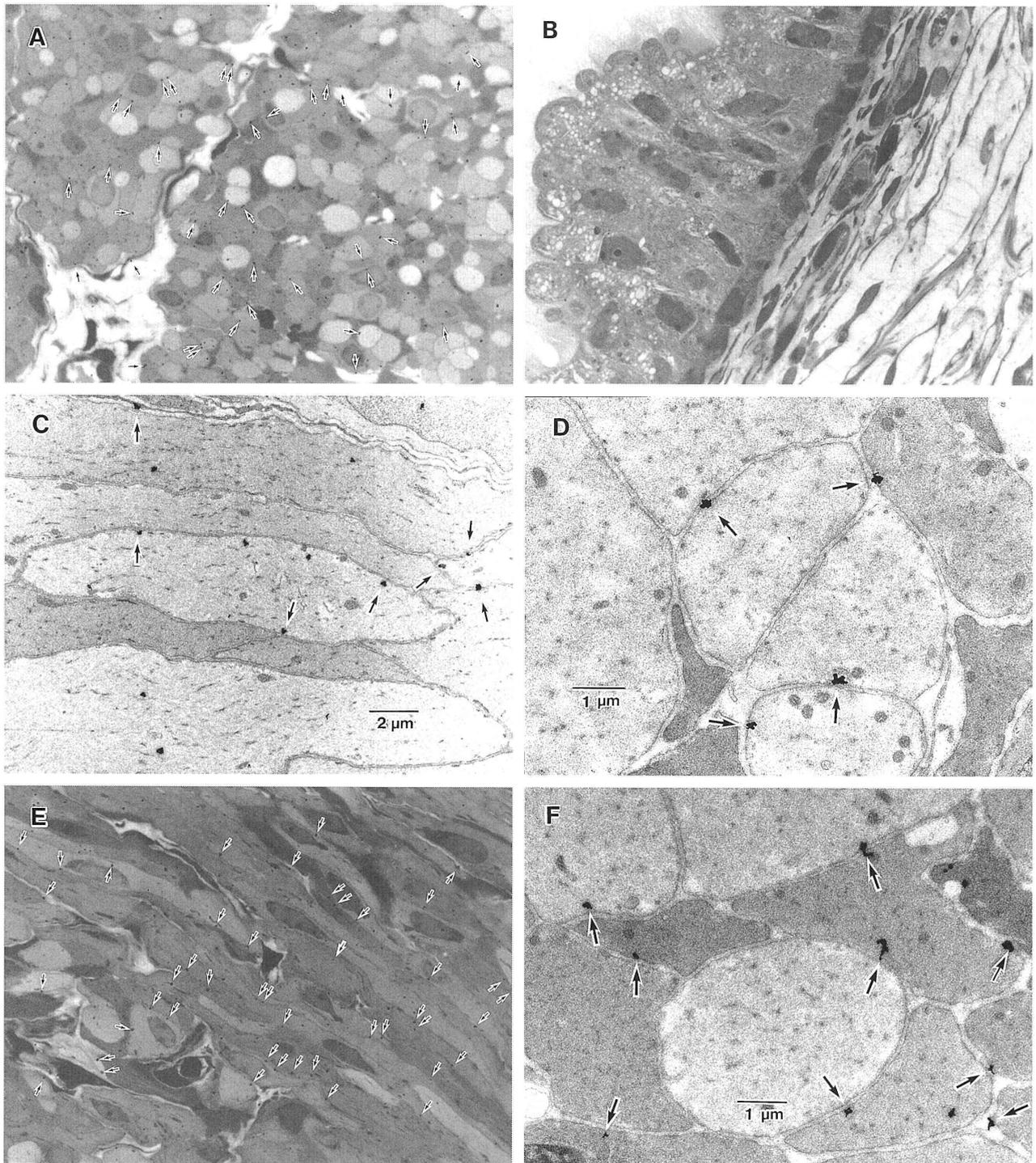


Fig. 5 Histogram showing the heights of transient contractions (‘※’ in Figs. 2 and 3) of the guinea-pig vas deferens at 4°C and 43~47°C for 1 h (mean ± SEM, n = 3). Note that the peaks were increased in height with increases in temperature up to 45°C, in spite of disappearances of most of the main components at such temperatures. ‘\*’: p < 0.05



**Fig. 6** Light (A, B and E) and electron (C, D and F) microscopic autoradiography of  $^3\text{H}$  prazosin (A~D,  $\alpha_1$  receptors) and  $^3\text{H}$  dihydroalprenolol (E and F,  $\beta$  ones) to circular (C and E), longitudinal (A, D and F) muscles of the guinea-pig vas deferens. Arrows show the silver grains localized along the sarcolemma. Note that no silver grain was found in the epithelium (B).

の autoradiography を示した。光学顕微鏡像(AとE)では、矢印に示したように多数の銀粒子が平滑筋膜に沿って観察され、さらに電子顕微鏡により輪状筋(C)および縦走筋(D, F)の筋膜に沿って飛跡が確認された(Fig. 6の矢印)。図には示していないが $\beta$  adrenoceptorの飛跡は輪状筋でも同様に観察された。同図Bは精管内膜の像を対象のため示したもので銀粒子は全く認められなかった。

## 考 察

### 1. 精管平滑筋の交感神経支配と受容体

モルモット精管平滑筋は、最下部胸髄から第3腰椎に亘って発する交感神経が下腹神経を下降して精管の前立腺側の骨盤神経叢でシナプスを作り、短い節後線維の支配を受けている<sup>12)</sup>。その交感神経節後線維の興奮により平滑筋の収縮が引き起こされることは周知の事実である。

精管における交感神経終末から放出される伝達物質は noradrenaline ばかりではなく、ATP も共放出(co-release)される<sup>13-15)</sup>。その後、神経終末よりATPと noradrenaline が共放出されるばかりでなく、ATPは非神経要素からも放出されることが明らかになった<sup>16)</sup>。神経終末における両物質が同一シナプス小胞に含まれているのか、異なった小胞に存在しているのかはなお議論のあるところである<sup>17)</sup>。

ヒトの前立腺<sup>18)</sup>及びイヌの精管<sup>19)</sup>等で、autoradiographyにより adrenoceptorの存在が確認されているが、いずれも銀粒子の局在が明確に示されていない。今回の電子顕微鏡像により飛跡が平滑筋膜と密接な関係にあることが明らかになり、 $\alpha_1$ および $\beta$  adrenoceptorの存在が autoradiographyの面から確認された(Fig. 6)。

### 2. 交感神経終末におけるニコチン性受容体を介する noradrenaline と ATP 放出

交感神経終末には nicotine 性受容体が存在し<sup>20)</sup>、nicotine 投与によって神経終末からATPと noradrenaline が共放出されることが知られている<sup>21)</sup>。このようなシナプス前線維終末における nicotine 性受容体は、海馬の glutamine 酸性シナプスでも知られている<sup>22)</sup>。今回の実験でも、nicotine 投与により2成分性の収縮が観察された。この収縮は prazosin により著明に抑制されるが、前の部分が残る、これは suramin によって完全に消失することなど(Fig. 2c)から、notchの前半部分はATP、後半は nor-

adrenaline によるものであることが推察される。また、30分おきの第二回目の投与で後半部分が割れてしまい、2成分性の収縮のうち前の部分は比較的安定している(Fig. 2cの挿入図)ことから、ATPに比して noradrenaline の補給に時間を要することが推察される。このことから考えると、ATPと noradrenaline が同一の小胞に含まれていると考えよりも、別個であると考えた方が実験結果に忠実な解釈のように思われる。2成分性の収縮の prazosin によって抑制されなかった部分は、ATP成分と考えられるが、prazosin によって $\alpha_1$  adrenoceptorが阻害されたために、その受容体を介して平滑筋からATPが放出されなかった可能性は否定できない<sup>21)</sup>。またその成分はかなり大きいと考えられる。

外因性のATPは suramin 非感受性であることが知られており<sup>23)</sup>、今回もそれを裏づける結果であった。しかし、 $\alpha, \beta$ -methylene ATPによる受容体の脱感作によりほぼ完全に抑制されていることから、内因性のATPとは異なる受容体によるものであるとも考えられるがなお実験の余地が残されている。

### 3. 精管平滑筋に対するムスカリン性支配

骨盤神経叢でニューロンを乗り換えた choline 作動性節後線維が精管平滑筋を支配していることが知られているが、その作用は必ずしも一定していない。イヌ<sup>24)</sup>、ウサギ<sup>25)</sup>、モルモット<sup>26)</sup>等の精管では、choline 作動性ニューロンの興奮により交感神経終末からの伝達物質の放出が抑制されていることが知られている。一方、野ネズミの精管では acetylcholine により強い収縮を引き起こすこと<sup>27)</sup>、またラットの精管輪走筋でも MCh により収縮を誘起する<sup>28)</sup>など choline 作動性支配の生理学的意義は種の違いにより異なっているようである。今回の実験で muscarine 性 agonist である MCh により強い収縮が誘起されることから、モルモットの精管の平滑筋細胞にも興奮性 muscarine 性受容体の存在が示唆された。しかし、その生理学的意義はなお明らかではない。

### 4. 精管平滑筋の Isoprenaline による収縮

Isoprenaline はラット<sup>28)</sup>およびモルモット精管<sup>29)</sup>平滑筋に対し抑制作用を有する一方、神経終末における noradrenaline 放出の増加とATP放出の抑制<sup>30)</sup>等の報告が見られるが、精管平滑筋を収縮させるという報告は見ない。今回の実験では isoprenaline は

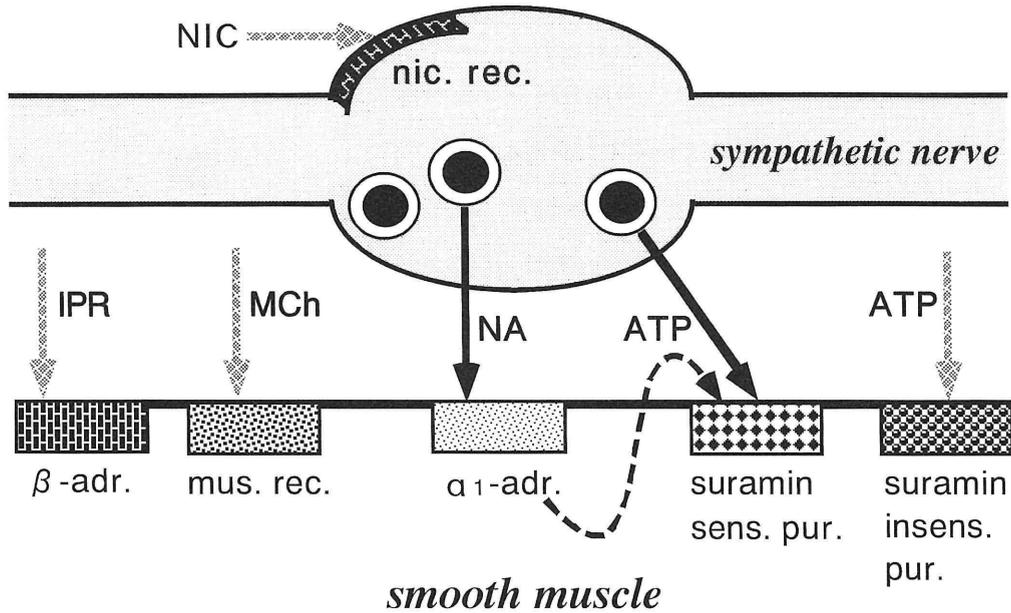


Fig. 7 Schematic drawing for interpreting the experimental results.  $\longrightarrow$  and  $\dashrightarrow$  indicate transmitters and applied substances respectively.  $\dashrightarrow$  shows ATP release from muscle cell via  $\alpha_1$  adrenoceptor. NIC: nicotine, IPR: isoprenaline, MCh: acetyl- $\beta$ -methylcholine, NA: noradrenaline, rec: receptor, adr: adrenoceptor, mus: muscarinic, sens: sensitive, insens: insensitive, pur: purinoceptor. See text for details.

濃度依存性の収縮増大を示し、その時間経過は極めて緩やかでしかも細かい律動性収縮を伴っていた。従ってモルモット精管の  $\beta$  adrenoceptor は少なくとも mM order では興奮性性質を有するものと考えられる。Noradrenaline には軽度であるが  $\beta$  作用も合わせ持っているので、神経終末から放出された noradrenaline による収縮に極くわずかではあるが貢献している可能性は否定できない。

5. 交感神経支配と精管平滑筋の収縮機構

Fig. 7 に、以上の結果を模式的に示した。すなわち、交感神経終末に nicotine 性受容体があり、その興奮により神経終末から noradrenaline と ATP が共放出される。それらは平滑筋膜に存在する  $\alpha_1$  adrenoceptor と suramin-sensitive ATP 受容体と結合してそれぞれ収縮を誘起する。さらに  $\alpha_1$  adrenoceptor を介して平滑筋より ATP が放出され、同じく suramin-sensitive ATP 受容体と結合して収縮を引き起こす。その他に平滑筋膜には  $\beta$  adrenoceptor および muscarine 受容体が存在し、それらの興奮によっても収縮を起こすことができる。

なおこの図には示していないが今回用いた生理活性物質による収縮はいずれも TTX の影響を受けなかったことから、いずれの系も  $\text{Na}^+$ -channel の関与

はないといえる。

6. 生理活性物質による収縮に対する温度負荷

i) 並木と坂井<sup>9)</sup> は 43°C, 1 時間処理によってモルモット精管の  $\alpha_1$  adrenoceptor の親和性, 最大受容体数のいずれも対象群と変化がみられなかったと報告している。今回の収縮の実験もそれを裏付ける結果であった。すなわち PHL のみならず他の生理活性物質による収縮も全く影響を受けなかったことは、受容体のみならず収縮要素および受容体から収縮に至る細胞内系も正常に作動しているといえる。

ii) 45°C, 1 時間処理では電子顕微鏡像より収縮フィラメントの配列の僅かの乱れ, 核の軽度の変性が見られる程度である (小川ら: 未発表データ)。40 mM KCl における収縮が対象とほとんど変化していないことは、組織構造の変化から容易に納得できることである。それに対し、その他の生理活性物質による収縮は極度に抑制されているのは、受容体あるいは収縮を引き起こす細胞内反応の障害によると解される。

PHL, MCh に見られる transient contraction は、主成分のそれぞれの受容体阻害剤により消失していることから、それぞれ  $\alpha_1$ -adrenaline 性および muscarine 性受容体を介することは明らかである。45°C 処理により、主成分が極端に抑制されている

にもかかわらずむしろ増大していることは、主成分とはその細胞内機構あるいは  $Ca^{2+}$ -channel の type が異なっていることが示唆されるが、その解明は今後の研究を待たなければならない。

iii) 46°C では KCl による収縮 (Fig. 3) から見ても収縮要素はかなりの障害を受けていることが示唆されるが、1°C の違いで収縮系に大きな障害を生じることが興味深い。薬物による収縮は痕跡をとどめるか、時間経過が著明に延長していた。しかし、ATP による収縮は約 20% 残存していることは、ATP には G-protein-coupled 受容体と ligand-gated  $Ca^{2+}$ -channel が存在しており<sup>31)</sup>、後者が温度負荷に強いと考えるとある程度は理解できることである。そのことを考えると、nicotine による収縮で 45°C でなお残存している成分は、ATP 成分であることが想像される。

iv) 47°C では全ての収縮性が失われている。このことは、平滑筋細胞の極度の変性に由来することは想像に難くない。50°C における電子顕微鏡所見では、フィラメントの融解、細胞内小器官の消失などが見られる (小川ら：未発表データ) が、おそらく 47°C でも同様の細胞破壊が生じるものと思われる。並木と坂井<sup>9)</sup> は  $\alpha_1$  受容体数は 50°C でもなお 40% 程度残存していると報告しているが、今回の 47°C における収縮の消失は、熱による細胞内破壊に由来するものであるといえる。

#### 7. 前立腺肥大による排尿障害に対する加温療法への応用

以上の結果を直接前立腺内の平滑筋に当てはめる証拠はないが、下腹神経は骨盤神経叢でニューロンをかえ、その節後線維は前立腺および精管両者を支配しており、伝達物質はいずれも、noradrenaline, ATP, Neuropeptide Y であることが知られていることから、精管の結果を前立腺に応用することは可能であろうと考えられる。

前立腺肥大症の排尿障害の薬物治療に  $\alpha_1$  adrenoceptor の阻害剤、すなわち prazosin<sup>32)</sup>, tamsulosin (YM617)<sup>33)</sup> あるいは terazosin<sup>34)</sup> などが用いられ、平滑筋の弛緩ないし麻痺を誘起し自覚症状の改善に役立っている。同じ論理により温熱処理による平滑筋の不可逆的弛緩ないし破壊が排尿障害のより有効な治療手段であると考えられる。今回の結果は、最も侵襲が少なくさらに最も効果的な温度条件は 47°C であることを明らかにした。このこ

とは臨床治療面に一つの示唆を与えるものである。

一般に精管および前立腺ともに ATP に多くの注意が払われていないが、noradrenaline に比して ATP の再供給は速やかであり、さらに熱処理に比較的強い耐性を示すことから、ATP 受容体の阻害もまた、前立腺平滑筋の弛緩に重要な役割を認めるべきであると考えられる。

#### 結 語

前立腺肥大による排尿障害に対する非侵襲的温熱療法において治療効果を発揮する温度負荷必要条件を知る目的で、モルモット精管を実験標本として用いた。光学および電子顕微鏡学的 autoradiography により平滑筋膜に  $\alpha_1$  及び  $\beta$  adrenoceptor の局在を明らかにするとともに、種々の生理活性物質による平滑筋の収縮性を指標としてその温度効果を調べた。43°C, 1時間処理では全く変化なく、46°C で著明に抑制され、47°C では完全に消失した。この結果を前立腺に応用し得る可能性を論じ、前立腺の排尿障害治療に対する必要最低温度は 47°C であると結論した。

謝辞：稿を終えるにあたり、直接ご指導、ご校閲を賜りました東京医科大学生理学第一講座登坂恒夫教授並びに同生理学教室第二講座内野善生教授に深甚なる謝意を表します。

本研究の要旨は、第 85 回日本泌尿器科学会総会、第 20 回日本神経科学大会、第 33 回国際生理学会において発表した。

#### 文 献

- 1) Yershalmi A, Fishelovitz Y, Singer D, Reiner I, Arielly J, Abramovici Y, Catsenelson R, Levy E, Shani A : Localized deep microwave hyperthermia in the treatment of poor operative risk patients with benign prostatic hyperplasia. *J Urol* **133** : 873~876, 1985
- 2) Ito T, Namiki K, Akiyama A, Aizawa T, Matsumoto T, Miki M : New transurethral hyperthermia for benign prostatic hyperplasia. *Jpn J Endourol ESWL* **5** : 36~39, 1992
- 3) Namiki K, Ito T, Aizawa T, Tsuzuki M, Okubo Y, Oyama H, Wei HJ, Miki M : Long-term efficacy of transurethral microwave hyperthermia. *Jap J Endourol ESWL* **7** : 190~193, 1994

- 4) Devonec M, Berger N, Perrin P : Transurethral microwave heating of the prostate- or from hyperthermia to thermotherapy. *J Endourol* **5** : 129~135, 1991
- 5) 馬場志郎, 大東貴志, 橋 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. *日泌誌* **82** : 1916~1923, 1991
- 6) 荒井陽一, 大西裕之, 寺井章人, 大石賢二, 竹内秀雄, 吉田 修 : 前立腺肥大症に対する経尿道の高温度治療—International prostate symtome score (IPSS) による評価—. *泌尿紀要* **39** : 1003~1009, 1993
- 7) De La Rosette, JJMCH, De Wildt MJAM, Hofner K, Carter SSC, Debruyne FMJ, Tubaro A : High energy thermotherapy in the treatment of benign prostatic hyperplasia: results of the european benign prostatic hyperplasia study group. *J Urol* **156** : 97~102, 1996
- 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. *日泌誌*, **79** : 203~213, 1988
- 9) 並木一典, 坂井朗子 : ヒト前立腺及びモルモット精管における加温による  $\alpha_1$ -受容体の変化. *東医大誌* **54** : 151~159, 1996
- 10) 水平敏知 : オートラジオグラフィ—の手技 p43 学術企画 東京 (1979)
- 11) 水平敏知 : オートラジオグラフィ—の手技 50~51 学術企画 東京 (1979)
- 12) Dail WG : Autonomic innervation of male reproductive genitalia. In *Nervous control of the urogenital system* (Ed) Maggi CA, Harwood Acad Publ Switzerland, 69~101, 1993
- 13) Westfall DP, Stitzel RE, Rowe JN : The postjunctional effects and neural release of purine compounds in the guinea-pig vas deferens. *Eur J Pharmacol.* **50** : 27~38, 1978
- 14) Fedan JS, Hogaboom GK, O'Donnell JP, Colby J, Westfall DP : Contribution by purines to the neurogenic response of the vas deferens of the guinea pig. *Eur J Pharmacol* **69** : 41~53, 1981
- 15) Meldrum LA and Burnstock G : Evidence that ATP acts as a co-transmitter with noradrenaline in sympathetic nerves supplying the guinea-pig vas deferens. *Eur J Pharmacol* **92** : 161~163, 1983
- 16) von Kügelgen I, Starke, K : Corelaese of noradrenaline and ATP by brief pulse trains in guinea-pig vas deferens. *Nauyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol* **350** : 123~129, 1994
- 17) Burnstock G : Noradrenaline and ATP as co-transmitters in sympathetic nerves. *Neurochem. Int.* **17** : 357~368, 1990
- 18) 小林真也 : ヒト前立腺におけ  $\alpha_1$ -受容体の同定とその局在の検討—特に前立腺の領域による分布の差異について—. *日泌誌*, **82** : 1241~1249, 1991
- 19) Kondo S, Tashima Y, Morita T : Segmental differences in the density of autonomic receptors in dog vas deferens. *Urol Int* **53** : 62~67, 1994
- 20) Loffelholz K : Release induced by nicotinic agonists. In: Paton DM (Ed) *The release of catecholamines from adrenergic neurons*. Pargamon, Oxford, pp 275~301, 1979
- 21) von Kügelgen I, Starke K : Release of noradrenaline and ATP by electrical stimulation and nicotine in guinea-pig vas deferens. *Nauyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol* **344** : 419~429, 1991
- 22) Gray R, Rajan AS, Radcliffe KA, Yakehiro M, Dani J : Hippocampal synaptic transmission enhanced by low concentrations of nicotine. *Nature* **383** : 713~716, 1996
- 23) Reilly MJ, Hirst GDS : Differences in the responses to purinergic nerve stimulation and applied ATP in the guinea-pig vas deferens. *J Autonomic Nervous System* **57** : 93~100, 1996
- 24) Sjöstrand NO : Inhibition by ganglionic blocking agents of the motor response of the isolated guinea-pig vas deferens to hypogastric nerve stimulation. *Acta Physiol Scand.* **54** : 306~315, 1962
- 25) Grimm U, Fuder H, Moser U, Bäumert HG, Hutschler E, Lambrecht G : Characterization of the prejunctional muscarinic receptors mediating inhibition of evoked release of endogenous noradrenaline in rabbit isolated vas deferens. *Nauyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol* **349** : 1~10, 1994
- 26) Todorov L, Windisch K, Shersen H, Lajtha A, Papisova M, Vizi ES : Prejunctional nicotinic receptors involved in facilitation of stimulation-evoked noradrenaline release from the vas deferens of the guinea-pig. *Br J Pharmacol* **102** : 186~190, 1991
- 27) Bustos E, Miranda H, Paeile C : Cholinergic transmission in vas deferens. *Gen Pharmacol* **14** : 693~696, 1983
- 28) Brito AR, Jurkiewicz A : Some pharmacological properties of the circular smooth muscle layer of the rat vas deferens. *J Pharmacy & Pharmacol* **40** : 781~786, 1988
- 29) Mimata T, Inomata H : Mechanisms of ionic currents involved in suppressive effect isoprenaline on the action potential of guinea-pig vas deferens in normal Krebs solution. *J Smooth Muscle Res* **32** : 255~267, 1996
- 30) Gonocalves J, Bultmann R, Driessen B : Opposite modulation of cotransmitter release in guinea-pig vas deferens: increase of noradrenaline and decrease of

- ATP release by activation of prejunctional  $\beta$ -adrenoceptors. *Nauyn-Schmiedberg's Arch Pharmacol* **353** : 184~192, 1996
- 31) Zimmermann, H : The superfamily of ligand-gated ion channels. In *Synaptic Transmission*. (Ed) Zimmermann H 70~85, Oxford Univ Press, 1993
- 32) Hedolund H, Anderson KE, Ek A : Effects of prazosin in patients with benign prostatic obstruction. *J Urol* **130** : 275~278, 1983
- 33) Kawabe K, Ueno A, Takimoto Y, Aso Y, Katoh H : Use of  $\alpha_1$ -blocker, YM617, in the treatment of benign prostatic hypertrophy. *J Urol* **144** : 908~912, 1990
- 34) Lepor H, Auerbach S, Puras-Baez A, Narayan P, Soloway M, Lowe F, Moon T, Leifer G, Madsen P : A randomized placebo-controlled multicenter study of the efficacy and safety of terazosin in the treatment of benign prostatic hypertrophy. *J Urol* **148** : 1464~1474, 1992

### Thermal effect on smooth muscle contractility of the guinea-pig vas deferens by biologically active substances

Fumihiko HOKOISHI, Saeko SAKAI\*, Isao YOSHIHAMA\*\*, Kazunori NAMIKI  
and Makoto MIKI

Departments of Urology and Physiology\* and Laboratory of Electron Microscopy\*\*,  
Tokyo Medical University

We examined thermal effects on smooth muscles of the guinea-pig vas deferens in order to determine the critical temperature to abolish contractility, as a model of thermotherapy for benign prostatic hyperplasia (BPH). Light and electron microscopic autoradiography revealed the presence of  $\alpha_1$  and  $\beta$  receptors along the sarcolemma of the circular and longitudinal smooth muscle fibers. The contractions, detected by an FD pick up, induced by various biologically active substances, i.e. phenylephrine (100  $\mu$ M), ATP (500  $\mu$ M), nicotine (200  $\mu$ M), isoprenaline (200  $\mu$ M), acetyl- $\beta$ -methylcholine (50  $\mu$ M) and KCl (40 mM) were tested on the vas deferens after exposure at 43–47°C for 1 h, at 4°C as a control. All drugs tested elicited phasic and tonic contractions. At 43°C no significant changes in contractions in response to any substances tested were observed. The thermal exposure of preparations at 45°C resulted in severe damage to their contractility except for that to KCl, indicating that contractile elements may still be intact. Traces of all of the contractions, but with extremely slower time courses were found at 46°C, and contractions in response to ATP and KCl were still relatively retained. At 47°C, all contractions were completely abolished. These results suggest that the minimal temperature for thermotherapy of BPH should be 47°C.

---

〈Key words〉 Guinea-pig vas deferens, Contractility, Thermal stress, Autoradiography

---