

癌化学療法 of ラット前立腺におよぼす影響

—重量変化, 組織学的所見, 5α -水素添加酵素活性の検討—

横浜市立大学医学部泌尿器科学教室

武田 光正・穂坂 正彦・北島 直登

野口 和美・藤井 浩・大島 博幸

神奈川県立衛生短期大学病理学教室

原 田 昌 興

EFFECT OF ANTICANCER AGENTS ON RAT PROSTATE —EVALUATION OF ORGAN WEIGHT, HISTOLOGICAL FINDING AND 5α -REDUCTASE ACTIVITIES—

Mitsumasa TAKEDA, Masahiko HOSAKA,

Naoto KITAJIMA, Kazumi NOGUCHI,

Hiroshi FUJII and Hiroyuki OSHIMA

From the Department of Urology, School of Medicine, Yokohama City University

Masaoki HARADA

From the Department of Pathology, Kanagawa Prefecture Nurse and Medical Technology College

To evaluate the effect of anticancer chemotherapeutic agents on rat prostate, ten kinds of anticancer agents corresponding to the dose generally used for humans were intraperitoneally injected to 63-day-old Wistar rats. The anticancer agents were administered as follows: Cyclophosphamide (CPM) was used at the dose of 8 mg/kg for 7 days. Methotrexate (MTX), actinomycin-D (ACD) and cis-platinum (CDDP), 163 μ g/kg, 8 μ g/kg and 833 μ g/kg for 5 days, respectively. Nitrogen mustard (NM), bleomycin (BLM), peplomycin (PLM), adriamycin (ADM), vincristine (VCR), and vinblastine (VBL), 500 μ g/kg, 250 μ g/kg, 170 μ g/kg, 2.5 mg/kg, 33 μ g/kg and 83 μ g/kg, twice in a week, respectively. The rats were killed on the fifth day after completion of the schedule. Then, the weight of the body, the prostate, the epididymis and the adrenal gland were measured. In addition, 5α -reductase activities and histological findings in the prostate were examined. For determination of 5α -reductase activities, cell-free homogenate obtained from the rat ventral prostate was incubated with C^{14} -testosterone at 37°C for 30 minutes in an atmosphere of 95% of O_2 and 5% of CO_2 . Subsequently, the metabolites from testosterone were separated and purified with thin layer chromatography using the solvent system with benzene acetone, 4:1 (v/v). 5α -Reductase activity was determined with the sum of dihydrotestosterone (DHT) and androstanediol converted from testosterone and indicated as pmol product/mg protein. The 5α -reductase activity was employed as a biological marker for the degree of androgenic dependency in the prostate.

The results were summarized as follows. 1) CDDP significantly reduced the weight of the body ($p < 0.001$, $n = 7$), but not the activity of 5α -reductase. 2) NM and VBL had a specific action to reduce the weight of the prostate ($p < 0.01$, $n = 8$) without causing loss of body weight.

NM and VBL showed no influence on 5 α -reductase activities. 3) The activity of 5 α -reductase was markedly damaged by BLM ($p < 0.05$, $n = 6$) and PLM ($p < 0.05$, $n = 5$). However no significant reduction was recognized in the weight of the body and the prostate. 4) CPM, MTX, ACD, ADM and VCR were ineffectual on the body and the prostate weight and 5 α -reductase activities. 5) In the histological examination, atrophy and degeneration of the glandular epithelium were revealed in the prostate treated with NM, VBL and CDDP.

The results of the present study suggested that CDDP, NM and VBL may become a suitable chemotherapeutic agent for the reactivation of prostatic cancer. Furthermore, it was clearly demonstrated that BLM and PLM have a specific action on 5 α -reductase in the prostate.

Key words: Rat prostate, Anticancer agent, 5 α -reductase

緒 言

男性ホルモン依存性前立腺癌は、内分泌学的療法により寛解するが、この治療中のいずれかの時期に、男性ホルモン依存性を喪失しふたたび増悪する例が多い。この現象は一般的に前立腺癌の再燃現象と呼ばれ、その発生機序についてはいまだにあまりにされていない。いずれにしても、現在、基礎的にも、臨床的にも前立腺癌再燃の治療法の確立が泌尿器科領域の重要な課題のひとつとなっている。われわれはその糸口をえるため、正常雄ラットを用いて、各種抗癌剤の前立腺への効果についての検討を試みた。

対象ならびに方法

実験方法

1 抗癌剤の投与方法 (Table 1)

Wistar 系雄ラット、63日齢、体重 170~230 g を用い、一群 3~8 匹とした。抗癌剤は各種作用機序のなかから、アルキル化剤: Cyclophosphamide (CPM), Nitrogen mustard (NM), 代謝拮抗剤: Methotrexate (MTX), 抗生物質: Bleomycin (BLM), Peplomycin (PLM), Actinomycin-D (ACD), Adriamycin (ADM), 植物成分: Vincristine sulfate (VCR), Vinblastine (VBL), その他 Cis-platinum (CDDP) の計10種を用いた。投与量は、体重当りのヒトの治療量に相当する量を、経腹的に投与した。7日間を1クールとし、投与回数は臨床的に用いられている方法に準じた。Control 群は無処置とし、5日間の休止期をおいた後、屠殺した。

2 前立腺組織中 5 α -reductase 活性の測定

1) Enzyme preparation

屠殺後、摘出した ventral prostate を glass homogenizer を用い、水冷した 0.25 M sucrose 中

で homogenize し、800×g、15分間冷却遠心後の上清 cell free homogenate を用いた。

2) Incubation

1.56 n mol の testosterone (10⁶ dpm の ¹⁴C-testosterone を含む) を基質として incubation tube にとり、窒素ガスを用いて乾固し、2滴の propylene glycol を加えた。補酵素としては、200 μ M の NADPH を用い、incubation medium は 17 mM tris buffer (pH 7.4), 1.7 mM MgCl₂ を含む 0.25 M sucrose 3 ml に統一した。incubation は 37°C, 30分, 95% O₂: 5% CO₂ の気流下で一定速度に振盪しつつおこなった。

3) 代謝物の抽出, 分離, 測定

methylene dichloride を加え酵素反応を止め、carrier として各種 steroid 100 μ g を加え、methylene dichloride 10 ml で3回抽出した。これを Na₂SO₄ で脱水し、減圧下 40°C で濃縮乾固した。chromatography は Silica gel G と GF 254 を 4:1 に配合して作製された thin layer chromatography (TLC) が用いられ、各種 steroid の分離には、solvent system, benzene: acetone (4:1, v/v) を使用し、TLC 上に展開された放射性代謝物の位置は、autoradiogram によって検出した。さらに、⁴ β -3-hydroxysteroid の位置は、ヨード蒸気中で、⁴ α -3-oxosteroid の位置は、253 m μ の紫外線下で検出した。各種代謝産物は、再度 TLC により精製され、dioxane scintillator を加え、liquid scintillation spectrometer により測定された。

4) 蛋白質の測定

enzyme preparation として用いた cell free homogenate 中の蛋白質の測定は、Lowry の方法¹⁾にておこなった。

5) 酵素活性の表現

Table 1. Administration program of anticancer agents

Anticancer agent		Single dosis ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Administration date (for 7days)
Alkylating agent	Cyclophosphamide (CPM)	8×10^3	1 to 7
	Nitrogen mustard (NM)	500	1,2
Antimetabolite	Methotrexate (MTX)	163	1 to 5
Antibiotic agent	Bleomycin (BLM)	250	3,6
	Peplomycin (PLM)	170	3,6
	Actinomycin-D (ACD)	8	1 to 5
	Adriamycin (ADM)	2500	3,6
Mitotic spindle inhibitor	Vincristine (VCR)	33	3,6
	Vinblastine (VBL)	83	3,6
Miscellaneous	Cis-platinum (CDDP)	833	1 to 5

63-day-old rats were used. Killed on the 5th date after completion of administration program

前立腺 5α -reductase 活性は, testosterone を基質として, 生成された, DHT, 5α -androstane- 3α , 17β -diol の総和を, 蛋白量 mg 当たりに換算し, nmol product/mg protein/30 min で表現した.

3 組織学的検討

屠殺により得られた前立腺組織を10%ホルマリン液にて固定後, パラフィン包埋, ヘマトキシリン-エオジン染色をおこなった. 組織学的には, 前立腺組織の嚢胞性変化, 分泌液の濃縮, 吸収の程度, 腺上皮の萎縮・変性, 末梢の腺組織の変化, さらに間質の状態について分析をおこなった.

材料および装置

1. Radioactive steroid: testosterone- 4 - ^{14}C (58.0 mCi/m mol), New England Nuclear Cop., Boston, USA.
2. Authentic steroid および Coenzyme: testosterone. 5α -dihydrotestosterone (DHT). 5α -androstane- 3α , 17β -diol. 4-androstendione. NADPH, Sigma Chemical Corp., St. Louis, USA.
3. Silica gel G, GF 354: E. Merk, Germany
4. 各種有機溶媒: 和光純薬 (特級)
5. 各種抗癌剤: Cyclophosphamide (エンドキサン, 塩野義製薬), Nitrogen mustard-N-oxide HCl (ナイトロミン, 吉富), Methotrexate (メソトレキセート, 日本ダリ-), Bleomycin hydrochloride (ブレオ, 日本化薬), Peplomycin sulfate (ペブレオ, 日本化薬), Actinomycin-D (コスメゲン, メルク萬有), Adriamycin (アドリアシン, 協和発酵), Vincristine sulfate (オンコビン, 塩野義製薬), Vinblastine sulfate (エクザール, 塩野義製薬), Cis platinum (プリプラチン, 日本化薬)
6. Liquid Scintillation Spectrometer: Packard

Model 544

結 果

1. 実験-1

1) 体重および各種臓器重量 (Table 2)

GPM, MTX, BLM, ACD, VCR, VBL および CDDP の計7種の抗癌剤を用い, 体重, 精巢, 精巢上体, 前立腺および副腎の重量への影響を検討した. CDDP 投与群では有意に体重の減少を認めたが, ほかの抗癌剤投与群にはあきらかな体重への影響はなかった. すなわち, CDDP 投与群は, 投与前体重 238 ± 4.3 g (Mean \pm SD, $n=4$) に対し, 投与後体重 230 ± 41.2 g (Mean \pm SD, $n=4$) であり, 体重増減率 [(投与後体重-投与前体重)/投与前体重 $\times 100$] でみると control $21.1 \pm 5.7\%$ (Mean \pm SD, $n=3$), CDDP 投与群 $-3.2 \pm 16.6\%$ (Mean \pm SD, $n=4$) と有意 ($P < 0.05$) の減少がみられた. 他方, 前立腺重量は, GPM, MTX, ACD 投与群では control 群と著明な差は認めなかったが, BLM, VCR, VBL および CDDP 投与群では低下傾向がみられ, CDDP 投与群では control 群に比べ, 有意差が認められた. すなわち, control 群 448 ± 95 mg (Mean \pm SD, $n=3$) に対し, CDDP 投与群は 229 ± 101 mg (Mean \pm SD, $n=3$) とあきらかに減少していた ($P < 0.05$). 精巢重量は, ACD, VCR 投与群において, 有意に減少がみられた ($P < 0.05$). 精巢上体重量は, CDDP 投与群においてのみ有意に減少がみられたが ($P < 0.05$), ほかの群では有意な変化は認めなかった. いっぽう, 副腎重量は, いずれの投与群においても増加がみられ, CPM, CDDP 投与群では, 有意差 ($P < 0.05 - 0.01$) を認めた.

2) 前立腺組織中の 5α -reductase 活性

Table 2. Effect of anticancer agents on the weight of several organs

Compound	Number of case	Organ weight			
		Prostate (mg)	Testis (g)	Epididymis (mg)	Adrenal gland(mg)
Control	3	448 ± 95	1.7 ± 0.10	556 ± 21	26.0 ± 3.6
CPM	3	402 ± 62	1.6 ± 0.05	583 ± 42	39.3 ± 1.3 ^{##}
MTX	3	426 ± 70	1.5 ± 0.07 [#]	512 ± 42	32.8 ± 5.0
BLM	2	345 ± 85	1.7 ± 0.10	550 ± 21	42.5 ± 5.5
ACD	3	507 ± 114	1.4 ± 0.22	533 ± 43	32.7 ± 0.5
VCR	3	398 ± 92	1.5 ± 0.09	529 ± 62	45.3 ± 10.7
VBL	4	371 ± 47	1.5 ± 0.07 [#]	578 ± 94	35.0 ± 6.7
CDDP	4	229 ± 101 [#]	1.4 ± 0.20	451 ± 74 [#]	38.0 ± 3.7 [#]

M ± SD, #: P < 0.05, ##: P < 0.001

Table 3. Effect of anticancer agents on the weight of body and prostate

Compound	Number of case	Weight discrepancy (%)	Prostate (mg)	Prostate Body weight (x10)
Control	8	15.3 ± 2.4	252 ± 33	1.10 ± 0.15
BLM	8	12.6 ± 4.4	229 ± 46	1.08 ± 0.25
PLM	7	14.4 ± 1.8	227 ± 54	1.06 ± 0.29
NM	8	13.9 ± 3.5	189 ± 44 ^{##}	0.87 ± 0.19 [#]
VBL	8	14.4 ± 4.0	191 ± 43 ^{##}	0.88 ± 0.21 [#]
CDDP	7	-0.31 ± 5.8 ^{###}	150 ± 29 ^{###}	0.79 ± 0.11 ^{##}

M ± SD, #: P < 0.05, ##: P < 0.01, ###: P < 0.001

VCR を除く 6 種の薬剤および control のそれぞれ 1 例について、前立腺 5 α -reductase 活性の測定をおこなった。control 12.3 pmol product/mg protein に対し、BLM 投与例では 4.5 pmol product/mg protein と著明な活性の低下が、また VBL 投与例では 8.7 pmol product/mg protein と軽度の低下が認められた。

実験-1 により、CDDP, VBL, VCR, BLM がラット前立腺になんらかの影響を与えることが判明した。そこでさらに、CDDP, VBL, BLM に加えあらたに NM, PLM を加えた 5 種を選定し、一群のラット数を 7~8 匹に増やし、実験-2 をおこなった。

2. 実験-2

1) 体重および前立腺重量におよぼす影響 (Table 3)

BLM, PLM, CDDP, NM および VBL の 5 種の薬剤のうち、体重に影響を認めたのは CDDP のみであった。すなわち、体重増加率において control 群 15.3 ± 2.4% (Mean ± SD, n=8) であるのに対し、CDDP 投与群では -0.31 ± 5.8% (Mean ± SD, n=7) と有意に (P < 0.001) 体重減少が認められた。前

立腺重量に関しては、有意に減少が認められたのは、CDDP, NM, VBL 投与群の 3 群であった。すなわち、control 群 252 ± 33 mg (Mean ± SD, n=8) に対して、CDDP 投与群は 150 ± 29 mg (Mean ± SD, n=7) と高度に有意の (P < 0.001), また NM 投与群 189 ± 44 mg (Mean ± SD, n=8), VBL 投与群 191 ± 43 mg (Mean ± SD, n=8) と有意の (P < 0.01) 減少がみられた。

2) 前立腺組織中の 5 α -reductase 活性 (Fig. 1)

BLM, PLM は、5 α -reductase 活性をあきらかに低下させた。すなわち、control 群 13.8 ± 1.5 pmol product/mg protein (Mean ± SD, n=6) に対し、BLM, PLM 投与群は、それぞれ、8.58 ± 0.48 pmol product/mg protein (Mean ± SD, n=6), 8.80 ± 1.60 pmol product/mg protein (Mean ± SD, n=5) と有意差 (P < 0.05) をもって低下を認めた。いっぽう、VBL, NM, CDDP 投与群では、有意の変化はみられなかったが VBL, NM は、それぞれ 10.6 ± 1.2 pmol product/mg protein (Mean ± SD, n=6), 10.8 ± 1.3 pmol product/mg protein (Mean ± SD,

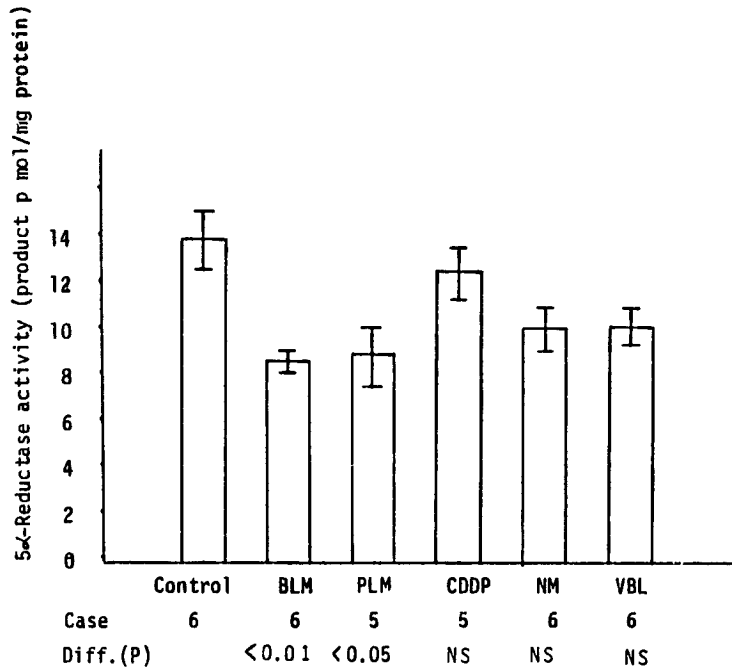


Fig. 1. Effect of anticancer agent on 5 α -reductase activity in rat prostate. Cell-free homogenate obtained from rat prostate was incubated with ¹⁴C-testosterone for 30 minutes at 37°C in an atmosphere of 95% O₂ and 5% CO₂. Dihydrotestosterone (DHT), androstenediol and 4-androstenedione converted from testosterone were separated on thin layer chromatography (solvent system, benzen: acetone=4:1). The 5 α -reductase activity was determined by the sum of DHT and 3 α -androstenediol produced from testosterone.

Table 4. Histological findings of the rat prostate following anticancer agents administration.

Compound	Secretory material	Glandular epithelium	
		Atrophy	Degeneration
Control		±	±
NM	+	+	±
BLM	±	+~++	+
PLM		±	+
VBL	+	++	±
CDDP	+	++	+

The effective degree of anticancer agents on histological changes in rat prostate indicated from - to ++

n=6) と、軽度の低下傾向を認めた。

3. 組織学的検討 (Table 4)

前立腺組織の嚢胞性変化、分泌顆粒の量および染色性、腺上皮の萎縮・変性の有無、間質の変化について

検討をおこなったが、嚢胞性変化、間質の軽度の浮腫は、control 群および、各薬剤投与群で多少みられるものの、これらの組織学的所見は特異的变化ではなかった。NM, VBL, CDDP 投与群において、分泌顆

Table 5. Summary in the present studies.

Anticancer agents		Degree of reduction in			Histology	
		Body weight	Weight ratio (P/BW)	Androgen dependency (5 α -RA)	Atrophy	Degeneration
Alkylating agent	Cyclophosphamide (CPM)				*	*
	Nitrogen mustard (NM)		+		+	±
Antimetabolite	Methotrexate (MTX)			*	*	*
Antibiotic agent	Bleomycin (BLM)			++	±~++	+
	Peplomycin (PLM)			+		+
	Actinomycin-D (ACD)				*	*
	Adriamycin (ADM)				*	*
Mitotic spindle inhibitor	Vincristine (VCR)			*	*	*
	Vinblastine (VBL)		+		++	±
Miscellaneous	Cis-platinum (CDDP)	+++	++		++	+

P:prostate, BW:body weight, 5 α -RA:5 α -reductase activity, *:not determined

The effective degree of anticancer agents on the weight of the body and the prostate, 5 α -reductase activity and histological findings in rat prostate indicated from - to +++

粒の消失するもの、好酸性に濃染する顆粒を含有する腺組織が目立った。また、VBL, CDDP, NM, BLM 投与群では、腺組織の萎縮が認められた。とくに VBL 投与群では 8 例中 7 例、CDDP 投与群では 7 例中 7 例に腺組織の萎縮が著明であった。さらに、BLM, PLM, CDDP 投与群において腺上皮のあきらかな変性が、BLM 群 8 例中 4 例に、PLM および CDDP 投与群それぞれ 7 例中 3 例に認めた。

考 察

前立腺癌の85%以上は男性ホルモン依存性癌であり初期治療としてはエストロゲン剤を中心とした内分泌学的療法により、いったんは寛解を得る例が多い。しかし、前立腺癌はその治療経路中に男性ホルモン依存性を喪失し、いわゆる癌再燃現象 (relapse, reactivation) をきたし、死の転機をとるのが特徴である。近年、初期治療法はほぼ確立されたものとし、癌再燃に対する治療が重要な課題となっている。その主体は癌化学療法であることはいうまでもないが、現在、臨床に用いられている抗癌剤は多種にわたっているにもかかわらず、前立腺癌に対しては、その基礎実験と臨床応用が試みはじめられた段階にすぎず、前立腺再燃癌の治療法はいまだ確立されていないのが現状である。

Drago JR らは、Nobel rat (Nb rat)²³ にヒト前立腺癌を移植し、各種抗癌剤の腫瘍縮小効果を検討した一連の研究を報告しているが³⁻¹²、Nb rat の腫瘍縮小効果を有する抗癌剤は、単剤としては、Cyclo-

phosphamide (GPM), Methotrexate (MTX), 5-Fluorouracil (5FU), 1,3-bis(2-chloroethyl)-1-nitrosourea (BCNU) であり、多剤併用例としては、GPM+Cisplatin (CDDP)+Adriamycin (ADM), GPM+CDDP, GPM+ADM であったと報告している。彼らの用いている実験腫瘍には男性ホルモン依存性癌と非依存性の性質をもった2種のものがあるがとくに男性ホルモン非依存性癌に有効な抗癌剤は GPM であり、多剤併用においても、GPM を含む組み合わせが腫瘍縮小効果が著明であったことから、前立腺再燃癌の key drug は GPM であろうと推定している¹²。しかし、Okada ら¹³は、nude mouse のヒト前立腺癌の移植実験結果から、テストステロンに反応性のない癌に対して、GPM は無効であったとしこの種の癌には、Vincristine (VCR), CDDP, ADM, MTX, Peplomycin (PLM) が単剤として、多剤併用としては、CDDP+GPM+5-FU が有効であったと述べている。前立腺癌 cell line による実験では、Lieber ら¹⁴は、GPM に、Metealfe ら¹⁵は CDDP, MTX および多剤併用として、CDDP+MTX, MTX + 4-(9-acridinylamino)methanesulphonem-anisidide (m-AMSA)+CDDP に、細胞数減少作用を認めている。さらに、Block ら¹⁶⁻¹⁷は、Dunning 腫瘍を用いた結果、GPM, MTX, GPM+ADM, CPM+ADM+5-FU に抗腫瘍効果があったと結論している。これらの報告はそれぞれ実験方法も、前立腺癌としての性質も異なるため、かなら

ずしも統一された見解は得られていないが、現在までの *in vitro* の基礎実験を総合的に判断すると、CPM, CDDP, MTX が男性ホルモン非依存性前立腺癌に治療効果が期待される。また、現在、実験上では単剤以上に効果がある多剤併用例はみいだされていない点では、各研究者の意見はほぼ一致しているといえる。

実際の臨床応用では、主として CPM, CDDP, ADM, PLM, Estramustine phosphate が検討されている。河合ら¹⁸⁾は、1973年から1983年にいたる各抗癌剤の前立腺癌に対する治療効果を集計している。その有効率は、CPM 14~61.5%, 5-FU 23~48%, CDDP 21~36.5%, ADM 23~26%である。しかし、この場合、癌の staging, 悪性度, 臨床経過が明確に分別されての集計ではないため、再燃癌に対する治療評価は不明である。Tori ら¹⁹⁻²²⁾の集計では、CPM を136例の再燃癌に使用し、52例(38%)に stable disease (SD) 以上の効果を得ている。ほかの抗癌剤の再燃癌における臨床効果は、CDDP が²³⁻²⁵⁾PR 12~31.5%, ADM¹⁹⁾が PR 23%, 5-FU¹⁹⁾が PR 10%, SD 42%である。Estramustine と PLM は広く臨床に適応されつつある薬剤であるが、再燃癌に対して Estramustine は、主として National Prostatic Cancer Project (NPCP)²⁶⁾が30%に PR 以上の有効例を、高安ら²⁹⁾は34%に、そのほかの報告²⁸⁻³⁴⁾を集計すると、多くは25%程度に有効例を認めている。これに対して、Koiso ら³⁵⁾は、PLM について、PR 11例中1例(9%), SD 11例中9例(82%)の結果を報告している。すなわち、*in vitro* の実験ですぐれた成績を示している CPM も、SD を含めてもたかだか38%の有効率であり、CDDP もまた最高の成績が PR 31.5%に止まっており²³⁾、現在いずれの抗癌剤も complete remission (CR) はきわめて少ない。したがって、前立腺再燃癌の化学療法に対するなお一層の基礎的、臨床的研究が要求される。

われわれは、63日齢ウイスター系雄ラットに、臨床的使用量に準じて体重換算し、1クールに相当する実験計画で抗癌剤を経腹的に投与し、5日間の休止期をおいた後屠殺し、体重、前立腺、精巣、精巣上体、副腎の重量変化と前立腺組織中の 5 α -水素添加酵素(5 α -reductase)の活性の測定、および組織学的所見を検討した。実験に用いた抗癌剤は、CPM, nitrogen mustard (NM), MTX, bleomycin (BLM), PLM, ACD, VCR, vinblastine (VBL), CDDP の10種である。本研究で得られた結果は以下のごとく要約される。1) 体重と前立腺重量が著明に減少し組織学的

に萎縮ないし変性を示し、5 α -reductase 障害をとまなわないもの—CDDP、2) 体重に影響なく前立腺重量のみを減少させ、かつ前立腺組織の萎縮ないし変性をきたすが、5 α -reductase 障害のないもの—NM, VBL、3) 体重、前立腺重量に変化なく、5 α -reductase 障害とともに前立腺組織の変性をきたすもの—BLM, PLM、4) 体重、前立腺重量にまったく変化を認めないもの—CPM, MTX, ACD, ADM, VCR。すなわち、ラット前立腺重量を統計学的に有意に縮小させる抗癌剤は10種のうち NM, VBL, CDDP の3種である。さらに3種の薬剤は5 α -reductase を障害しない (Table 5)。

5 α -reductase は男性ホルモン標的臓器において testosterone を 5 α -dihydrotestosterone (DHT) に代謝する酵素で、前立腺をはじめとする男性ホルモン標的臓器は DHT の作用によりその機能を発現維持する。したがって、5 α -reductase 活性は臓器の男性ホルモン依存性の有無を表現するひとつの marker となる。事実、男性ホルモン依存性前立腺癌における内分泌療法は、視床下部—下垂体—精巣—標的臓器系を遮断することにより癌組織を萎縮させる。このことから、本実験では受容体については検討していないが DHT にもっとも依存性の強い精巣上体³⁶⁾になんらの変化を与えていないことから考察して、5 α -reductase 障害をきたさずに前立腺重量を減少させ、かつ組織の変性ないし萎縮をまねく現象は、内分泌系とは無関係な機序による抗前立腺作用であると解釈される。NM, VBL, CDDP はこの現象により前立腺重量を低下させるものと推定される。

いっぽう、BLM, PLM は5 α -reductase を障害し、組織の変性を認めるが、前立腺重量は対照と比べて有意の変化はない。この抗癌剤は男性ホルモン保存系を遮断する作用を有するが、本実験条件下では重量減少までにはいたらない酵素障害の程度に止まっているものと考えられる。いずれにしても、BLM, PLM の5 α -reductase の阻害作用はほかの8種の抗癌剤にはみられない特異的な作用である。

本実験はあくまで正常ラットを用いての結果でありこの成績をもって前立腺癌とくに再燃癌の治療に適用できるものではないが、今までに報告されている基礎実験から考察し、CDDP の有効性が示唆されることにおいては一致した結果が得られているが、CPM は本実験条件下では、前立腺への影響はなく、Okada ら¹³⁾以外の多くの研究者^{3-12), 14-17)} とに見解の相異がある。さらに、VCR もラット前立腺の重量を減少していない。Estramustine は NM を含む抗癌剤である

が、NM 単独での基礎実験および臨床応用例の報告は数少なく、同様に VBL にいたっては現在ほとんど注目されていない。CPM, NM は alkylating agent であり、VCR, VBL は mitotic spindle inhibitor であるが、同一系統の薬剤がラット前立腺に対して異なった作用を示している。投与量の差あるいは time dependency の差が関与している可能性は否定できないが、少なくとも正常ラットにおける臨床的投与量に相当する条件下で、前立腺に特異的作用を有し、しかも体重減少の面からみて副作用の少ない NM, VBL については、CDDP とあわせて、前立腺癌の化学療法への応用が示唆される。今後、われわれはさらに、本実験で得られた結果にもとづき、有効と思われる抗癌剤の time dependency およびこれらの組み合わせによる多剤併用効果について、前立腺癌の化学療法の応用を含めて検討を重ねていく予定である。

結 語

63日齢ウイスター系雄ラットに、臨床的使用量に準じて1クールに相当する抗癌剤、cyclophosphamide (CPM), nitrogen mustard (NM), methotrexate (MTX), bleomycin (BLM), peplomycin (PLM), actinomycin-D (ACD), adriamycin (ADM), vincristine (VCR), vinblastine (VBL), cis-platinum (CDDP) の10種を経腹的に投与し、体重、前立腺、精巣、精巣上体、副腎の重量変化、前立腺組織中の 5 α -水素添加酵素 (5 α -reductase) の活性測定、および組織学的所見を検討した。

結果は以下のごとくである。

- 1) CDDP—体重、前立腺重量ともに有意に減少し、前立腺組織の萎縮、変性をきたす。5 α -reductase の障害はない。
- 2) NM, VBL—前立腺重量のみ有意に減少、体重は変化せず、前立腺組織の萎縮、変性をきたす。5 α -reductase の障害はない。
- 3) BLM, PLM—体重、前立腺重量ともに減少せず、有意の 5 α -reductase 障害をきたす。前立腺組織は一部に変性をきたす。
- 4) CPM, MTX, ACD, ADM, VCR—体重、前立腺重量、5 α -reductase 活性にまったく影響をきたさない。

以上の結果から、正常ラットの前立腺を縮小させる抗癌剤は本実験で使用した10種のうち NM, VBL, CDDP の3種で、これらは 5 α -reductase 障害をともしないことから、男性ホルモン依存系とは無関係な抗前立腺作用を有するものと考えられ、前立腺再燃

癌の治療への応用が示唆された。また、BLM, PLM は 5 α -reductase を障害し、男性ホルモン依存性を遮断する特有の作用を持つことがあきらかとなった。

本研究は文部省科学研究費、課題番号58480332の補助によるものである。

文 献

- 1) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL and Randall RJ: Protein measurement with folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265~275, 1951
- 2) Nobel RL: The development of prostatic adenocarcinoma in the Nb rats following prolonged sex hormone administration. *Cancer Res* 37: 1929~1933, 1977
- 3) Drago JR, Goldman LB, Maurer RE, Gershwin ME and Eckels DD: Therapeutic manipulation of NB rat prostatic adenocarcinoma; chemotherapeutic evaluation of autonomous tumors. *Invest Urol* 17: 203~206, 1979
- 4) Drago JR and Worgul T: Treatment of an Nb-Pr-A, I-3 (autonomous) tumor with combination chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 5: 163~167, 1981
- 5) Drago JR, Ikeda RM, Mauter RE, Goldman LB and Tesluk H: The Nb rat prostatic adenocarcinoma model. *Invest Urol* 16: 353~359, 1979
- 6) Drago JR, Maurer RE, Gershwin ME, Eckels D and Palmer JM: The effect of 5-fluorouracil and adriamycin on heterotransplantation of Noble rat prostatic tumors in congenitally athymic (nude) mice. *Cancer* 44: 424~430, 1979
- 7) Drago JR, Goldman LB and Gershwin ME: Evaluation of non hormonal cytotoxic chemotherapy in the Nb rat prostatic adenocarcinoma. Autonomous tumor (18-Pr and 13-Pr). *Cancer* 46: 273~278, 1980
- 8) Drago JR and Worgul T: Treatment of an Nb-Pr-A, I-3 (autonomous) tumor with combination chemotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 5: 163~167, 1981
- 9) Drago JR: Chemotherapeutic of the Nb rat

- adenocarcinoma androgen-insensitive tumor. *J Surg Oncolgy* **21**: 264~266, 1982
- 10) Drago JR, Gershwin ME, Maurer RE, Ikeda RM and Eckels DD: Immunobiology and therapeutic manipulation of heterotransplanted Nb rat prostatic adenocarcinoma into congenitally athymic (nude) mice. I. hormone dependency and histopathology. *J Natl Cancer Inst* **62**: 1057~1066, 1979
- 11) Drago JR, Goldman L and Gershwin ME: Chemotherapy and radiation of Nb rat prostatic adenocarcinoma. *Nb Pr-A. I. -1. J Sur Res* **28**: 492~496, 1980
- 12) Drago JR, Wogul tand gershwin ME : Combination chemotherapy in prostatic tumor model. *J Surg Oncol* **16**: 353~363, 1981
- 13) K Okada, T Yamauchi, K Oishi and O Yoshida: Evaluation of chemotherapy of prostatic cancer in nude mice. *Prostate Supplement 1*: 85~93, 1981
- 14) Lieber MM, Ames MM, Powis G and Kovach JS : Anticancer drug testing in vitro, use of an activating system with the human tumor stem cell assay. *Life Sci* **28**: 287~293, 1981
- 15) Metcalfe SA, Whelan RDH, Masters JRW and Hill BT: In vitro responses of human prostatic tumor cell lines to a range of antitumor agents. *Int J cancer* **32**: 351~358, 1983
- 16) Smolev J, Heston W, Scott W and Coffey DS: Characterization of the Dunning R-3327-h prostatic adenocarcinoma, An appropriate animal model for prostatic cancer. *Cancer Treat Rep* **61**: 273~287, 1977
- 17) Block NL, Camuzzi F, Stover B and Claffin A, Troner M and Politano VA: Further experience with chemotherapy in the Dunning prostatic adenocarcinoma. *Trans Amer Ass Gen-Urin Surg* **70**: 57~59, 1979
- 18) 河合恒雄・鷲塚 誠：前立腺癌の化学療法. *臨泌* **38**: 471~477, 1984
- 19) Tori FM: Prostatic cancer chemotherapy, *Urologic Cancer; Chemotherapeutic Principles and Manegement*, Tori FM (ed), pp58-69, Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo, 1983
- 20) Scott W, Johnson DE and Schmidt JE : chemotherapy of advanced prostatic carcinoma with cyclophosphamide or 5-fluorouracil: results of first national randomized study. *J Urol* **114**: 909~911, 1976
- 21) Scott W, Gibbons RP and Johnson DE: Comparison of 5-fluorouracil (NSC-019893) and cyclophosphamide (NSC-026271) in patients with advanced carcinoma of the prostate. *Cancer chemother Rep* **59**: 195~201, 1975
- 22) Scott W, Gibbons RP and Johnson DE: The continued evaluation of the effects of chemotherapy in patients with advanced carcinoma of prostate. *J Urol* **116**: 211~213, 1976
- 23) Merrin C: Treatment of advanced adenocarcinoma of the prostate with cisplatin, Cisplatin, Prestayko AW, Crooke ST and Carter SK, 375~381, New York, 1980
- 24) Cis-DDP 泌尿器科研究グループ (新島端夫・ほか) : 共同研究による Cis-diaminedichloroplatinum (II) の phase II study. *癌と化学療法* **9**: 46~54, 1982
- 25) Yagoda A, Watson RC and Natale PB: A critical analysis of response criteria in patients with prostatic cancer treated with cis-diaminedichloride platinum II. *Cancer* **44**: 1553~1562, 1979
- 26) Murphy GP, Gibbons RP and Johnson DE: A comparison of estramustine phosphate and streptozotocin in patients with advanced prostatic carcinoma who have had extensive irradiation. *J Urol* **118**: 288~291, 1977
- 27) Estracyt 研究グループ (高安久雄・ほか) : Estracyt の前立腺癌に対する治療 効果に関する臨床的検討. *西日泌尿* **39**: 1940~1948, 1977
- 28) Andersson L, Edsmyr F, Jonsson G and Konyves I: Estramustine phosphate therapy in carcinoma of the prostate, *Tumors of the male genital system*, Grundmann E, Vahlensieck W (eds) pp 73~77, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 1977

- 29) Fossa SD and Miller A: Treatment of advanced carcinoma of the prostate with estramustine phosphate. *J Urol* 115: 406~408, 1976
- 30) Lindberg B: Treatment of rapidly progressing prostatic carcinoma with estracyt. *J Urol* 108: 303~306, 1972
- 31) Mittelman A, Shukla SK, Welvaar TK and Murphy GP: Oral estramustine phosphate in the treatment of advanced stage D carcinoma of the prostate. *Cancer Chemother Rep* 59: 219~223, 1975
- 32) Mittelman A and Shukla Skand Murphy GP: Extended therapy of stage D carcinoma of the prostate with oral estramustine phosphate. *J Urol* 115: 409~412, 1976
- 33) Nagel R and Kollin SP: Treatment of advanced carcinoma of the prostate with estracyt, *Prostatic disease*, Marberger H (ed) pp267~283, Liss, New York, 1976
- 34) Nagel R and Kollin SP: Treatment of advanced carcinoma of the prostate with estramustine phosphate. *Br J Urol* 49: 73~79, 1977
- 35) Koiso K and Nijima T: Chemotherapy of advanced prostatic cancer with peplomycin. *The Prostate Supplement* 1: 103~110, 1981
- 36) Kinoshita Y, Hosaka M, Nishimura R and Takai S Partial characterization of 5 α -reductase in the human epididymis. *Endocrinol Japan* 27: 277~284, 1980

(1984年8月21日迅速掲載受付)