

前立腺癌に関する研究

III. 抗男性ホルモン療法における血中 testosterone と
testosterone-estradiol binding globulin (TeBG)
の変動について

広島大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 仁平寛巳教授)

碓 井 亜

A STUDY ON CARCINOMA OF THE PROSTATE

III. ANTI-ANDROGEN THERAPY: ITS EFFECTS ON PLASMA
TESTOSTERONE AND TESTOSTERONE-ESTRADIOL
BINDING GLOBULIN LEVELS

Tsuguru Usui

*From the Department of Urology, Hiroshima University School of Medicine**(Chief: Prof. H. Nihira, M. D.)*

For 18 cases of carcinoma of the prostate pathohistologically proved at the Hiroshima University Hospital, castration was performed followed by estrogen therapy or by radiotherapy. Plasma testosterone and testosterone-estradiol binding globulin (TeBG) levels were measured in terms of each treatment. Effects of anti-androgenic agents on the binding of TeBG with testosterone were investigated in *in vitro* system. The following results were obtained.

1) Castration brought a remarkable reduction of plasma levels of testosterone and a rise of TeBG to 120% of the pre-castration level. After 20 days administration of DES-diphosphate 500 mg per day, some cases showed striking reduction of testosterone level plasma to the non-measurable level, whereas TeBG rose to approximately 2.5 times of pre-treatment level.

In the group receiving radiotherapy, plasma testosterone remained at the level of post-castration whereas TeBG also remained at an increased 128% of pre-treatment level, which was almost the same as post-castration level.

2) *In vitro* study demonstrated an effect of cyproterone acetate on binding of TeBG with testosterone, but no effect of DES-diphosphate, stilbesterol or spironolactone.

Therefore, striking rise of TeBG in prostatic cancer patients on DES-diphosphate administration cannot be explained by binding of TeBG with stilbesterol, an active form of DES-diphosphate. Promoted production of TeBG by liver cells is suggested. Its increased part might bind with unbound testosterone in blood and active form of androgen may decrease. This may explain potent antiandrogenic action.

前立腺癌のほとんどは根治手術の適応とならない進行癌で、臨床的には治療の主体として内分泌療法、すなわち両側除睾術（去勢）、女性ホルモン療法、および両者の併用療法などが施行されてきた。前立腺癌に

おける内分泌療法によって血中の androgen 値は急激に低下するとともに、標的臓器である前立腺の細胞レベルにおいても投与した estrogen が作用し、抗男性ホルモン作用をあらわすことが知られている。このよ

うな血中の androgen や estrogen の急激な変動に際して、この変動を防止する作用を有するという血漿結合蛋白が内分泌療法において果たす役割についての検討はきわめて少ない。これは従来行なわれてきた測定法には簡便性や正確性に問題があったためであるが、著者は polyacrylamide gel electrophoresis (以下 PAGE と略) を用いた testosterone estradiol binding globulin (以下 TeBG と略) の測定法を検討し、その有用性についてすでに報告した¹⁰⁾。この TeBG は estrogen 投与によって増加し、androgen 投与によって逆に減少することが知られ^{2,17)}、また前立腺癌の抗男性ホルモン療法により増加するが^{1,3,5,8)}、その詳細については不明な点も多い。そこで著者が第1編で述べた抗男性ホルモン療法において、血中男性ホルモンの変動に伴う TeBG の動態を明らかにするとともに、治療に際しての TeBG の果たす役割について in vitro で検討した成績もあわせて報告する。

検討対象ならびに方法

広島大学医学部附属病院ならびに関連病院泌尿器科を受診、病理組織学的に前立腺癌と診断された18例を対象とした。その内の16例は第1編で施行した治療と

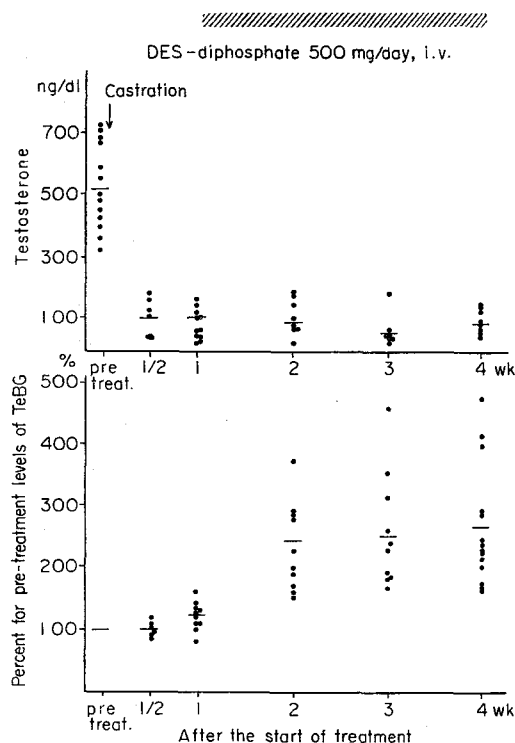


Fig. 1. Weekly changes of testosterone and TeBG levels in patients with prostatic carcinoma (castration+estrogen)

同様な去勢1週間後より diethylstilbestrol diphosphate (DES-diphosphate と略, Honvan®) 1日500mg の静脈内投与を20日間連続し、計10gを投与する抗男性ホルモン療法を行なった。また第2編で述べた骨髄血中酸性フォスファターゼ活性値の測定、全身骨のX線撮影、骨シンチグラフィーなどにより骨転移を有しない、局所的進行癌の2例には去勢と放射線療法を行ない、前者においては治療前および治療開始3日後ならびに1週間より3週間、経過的に採血し、後者においては治療前、治療開始1週間および治療終了時に採血した。採血は原則として午前8時より10時までの間に肘静脈より採取、血清を分離の後 -20°C にて冷凍保存、これらを血中 testosterone および TeBG の測定に供した。

1. 血中 testosterone の測定

血清をエチルエーテルで抽出後 Kieselgel 60 F₂₅₄ を用いた薄層クロマトグラフィーにより testosterone を他のステロイドと分離、radioimmunoassay 法により測定した。回収率は平均61%であった。

2. 血中 TeBG の測定

既知濃度の 1, 2, 6, 7-³H-testosterone (specific activity 93 Ci/mol, Amersham) (以下 ³H-T と略) を加えた 7.5% polyacrylamide を 6×80mm の glass column に充てん、6×60mm のゲルを作製した。つ

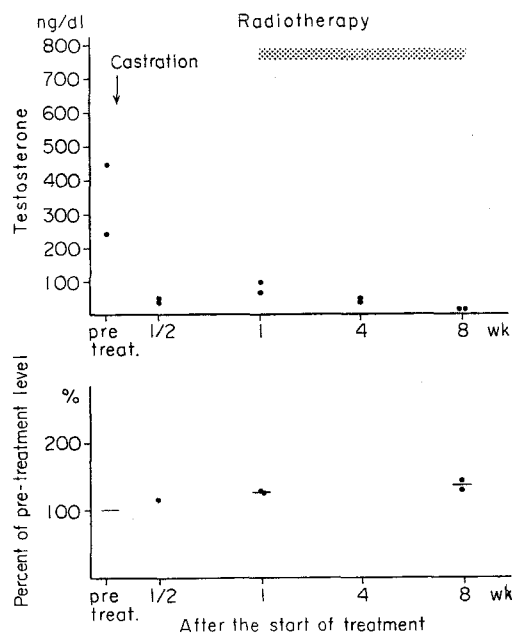


Fig. 2. Weekly changes of testosterone and TeBG levels in patients with prostatic carcinoma (castration+irradiation)

いで採取した血清 5 μ l を十分量の ^3H -T と incubation, PAGE に移した. 泳動は Tris-glycine-HCl buffer にて行なった. 泳動後ゲル中の radioactivity を測定し, Ritzen らの公式にて ^3H -T と結合した血中結合蛋白濃度を算定した¹⁰⁾.

3. 各種抗男性ホルモン剤の testosterone と TeBG の結合に及ぼす影響の測定

cypoterone acetate (以下 CA と略), DES-diphosphate, stilbestrol, spironolactone をそれぞれ生理的食塩水にて 1 μ g, 10ng, 100pg の濃度に希釈し, Dextran coated charcoal 溶液で遊離ステロイドを除去した正常成人男子血清 10 μ l に ^3H -T とともに加え, 4°C, 60分間 incubation の後, ^3H -T と TeBG との結合を測定した. なお ^3H -T と TeBG との結合は上述の steady state PAGE にて行なった.

成 績

1. 前立腺癌患者の抗男性ホルモン療法における血中 testosterone と TeBG の変動について (Fig 1~2)

1) 去勢と女性ホルモン療法 (Fig. 1)

血中 testosterone は去勢3日後で著明に減少し, 1週後では治療前値の 10% 前後の値を示すものが多かった. 女性ホルモン剤の投与によりさらに低下する傾向を示し, 測定範囲以下となる症例も認められた. これに対して TeBG は去勢3日後では治療前値に比し明らかな差は認められなかったが, 去勢1週後では治療前値の 118.2% と軽度の増加が見られた. 女性ホルモン剤投与開始1週後, すなわち去勢2週後では治療前値の 243.7% と著増し, 去勢3週後および4週後でもそれぞれ 251.6%, 265.6%とわずかではあるが経過

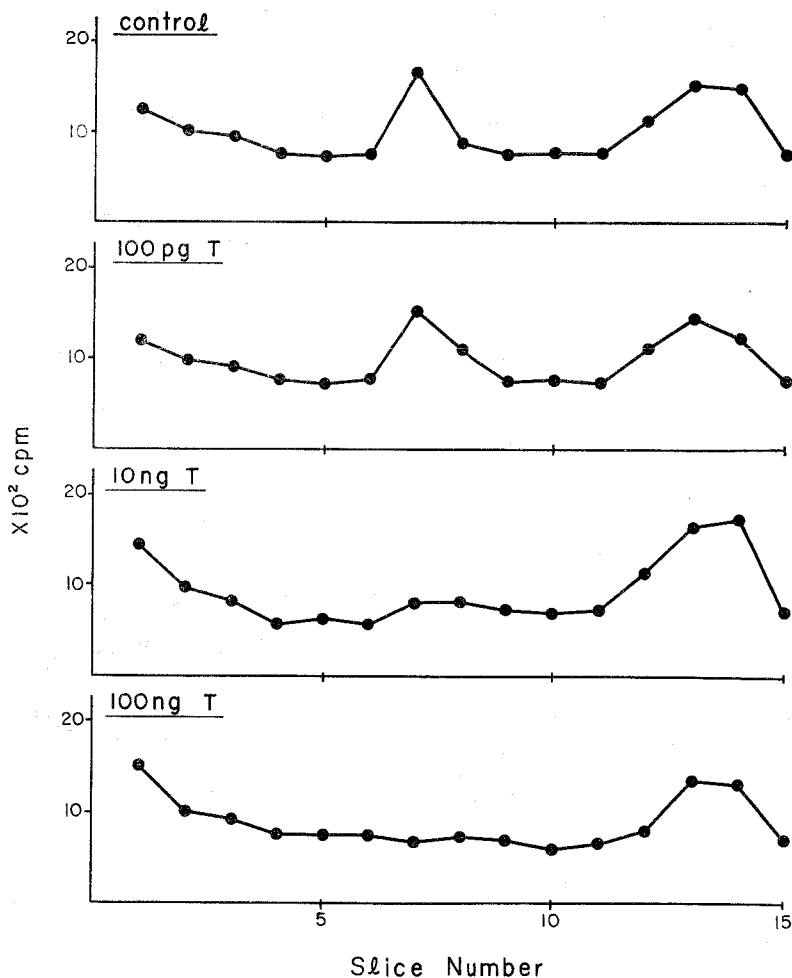


Fig. 3. Influence of testosterone on binding of ^3H -testosterone to TeBG

に増加の傾向が認められた。

2) 去勢と放射線療法 (Fig. 2)

血中 testosterone は去勢 3 日後に著明に減少し、放射線療法によっても大きな変動を認めず、低い値を維持した。TeBG は去勢 1 週後には治療前値の 128.4%、放射線療法終了時でも 129.4% とほとんど去勢 1 週後と差を認めなかった。

以上の去勢と女性ホルモン療法ならびに去勢と放射線療法における TeBG の変動は去勢 1 週後に軽度の上昇を、また DES-diphosphate の投与によって TeBG は著増し、その増加の割合は経過的に大となる傾向を認めた。これに対して血中 testosterone は去勢により著減し、DES-diphosphate の投与によりさらに減少する傾向を認めた。放射線療法では TeBG および血中 testosterone に変化はなく、去勢 1 週後のレベルが治

療終了時にも認められた。

2. 各種抗男性ホルモン剤の testosterone と TeBG との結合に及ぼす影響 (Fig. 3~8).

1) testosterone の影響 (Fig. 3)

testosterone 100ng の添加では TeBG のピークは完全に消失し、10ng では対照の約 10% まで低下したが、100pg では対照の 90% 台で明らかなものではなかった。albumin のピークに対しては、いずれにおいても明らかな変動は認められなかった。

2) estradiol の影響 (Fig. 4)

estradiol 100ng では TeBG のピークは消失し、10ng では対照の約 50% と testosterone の添加に比して TeBG のピークの低下の割合は低かった。100pg の添加では対照の約 90% であった。また albumin のピークに対しては影響は認められなかった。

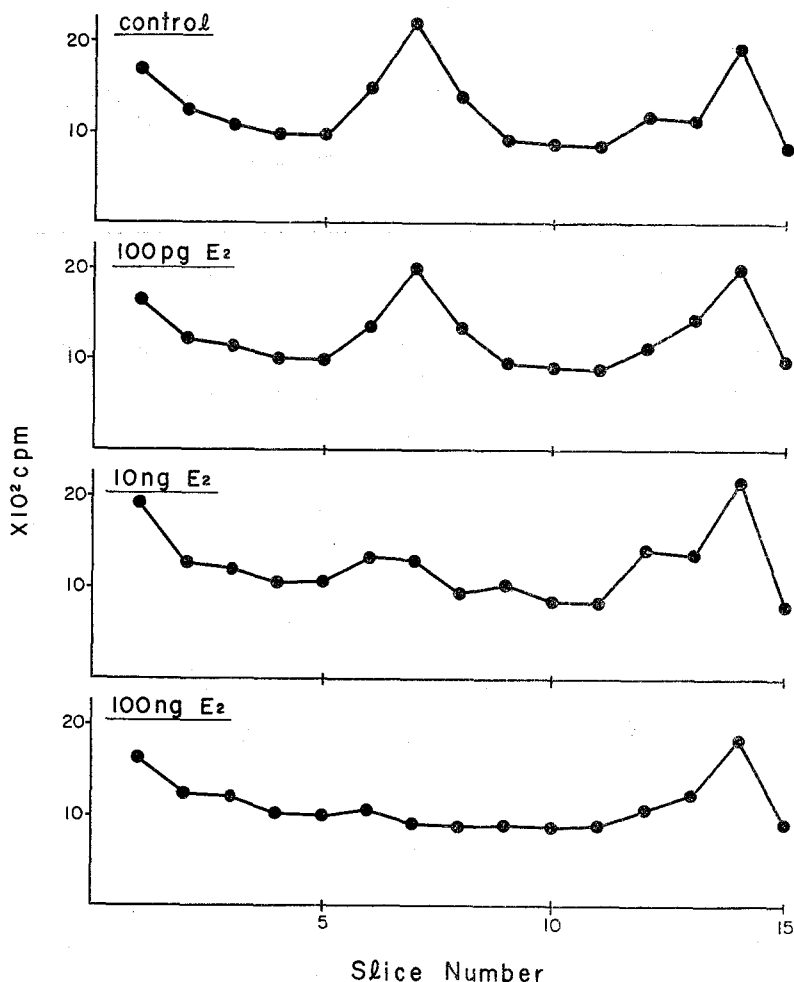


Fig. 4. Influence of estradiol on binding of ^3H -testosterone to TeBG.

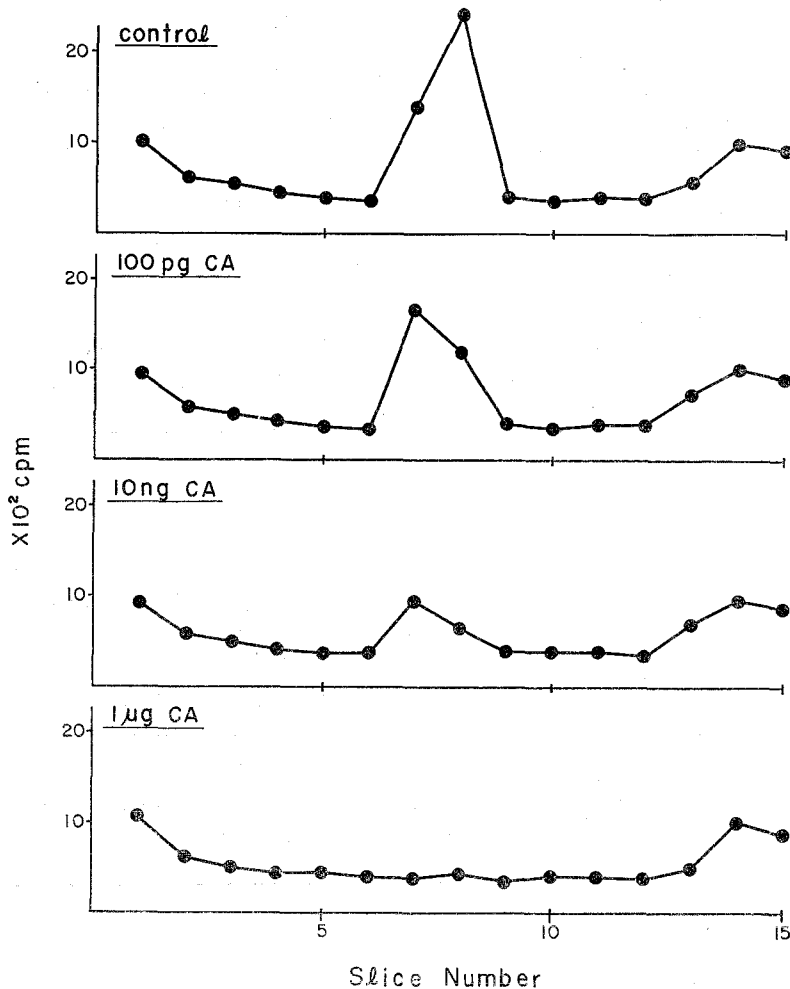


Fig. 5. Influence of cyproterone acetate on binding of ³H-testosterone to TeBG.

3) CA の影響 (Fig. 5)

CA 100pg, 10ng の添加により対照に比し dose response 的にピークが低下し, 1μg の添加では TeBG のピークは消失した. これに対して albumin のピークは各濃度段階の添加でも明らかな変動は認められなかった.

4) DES-diphosphate の影響 (Fig. 6)

DES-diphosphate 100pg, 10ng, 1μg のいずれの濃度においても TeBG および albumin のピークは対照に比して低下の傾向は認められなかった.

5) stilbestrol の影響 (Fig. 7)

DES-diphosphate の生体内における活性型である stilbestrol 100pg, 10ng, 1μg のいずれの濃度においても TeBG および albumin のピークは対照に比して低下しなかった.

6) spironolactone の影響 (Fig. 8)

spironolactone 100pg, 10ng, 1μg では軽度の TeBG のピークの低下傾向が見られたが, いずれの濃度においても明らかなものではなかった. また albumin のピークに対しては影響を認めなかった.

以上より in vitro において CA は性ステロイドと競合して TeBG と結合するが, DES-diphosphate およびその血中における活性型である stilbestrol は TeBG と結合せず, 血中における androgen-estrogen の平衡には直接的な影響を与えないものと考えられた.

考 察

血中の主たる性ホルモンである testosterone と estradiol は2つの型の蛋白に結合する. 1つは結合容量が比較的大 (high capacity) であるが親和度が低い

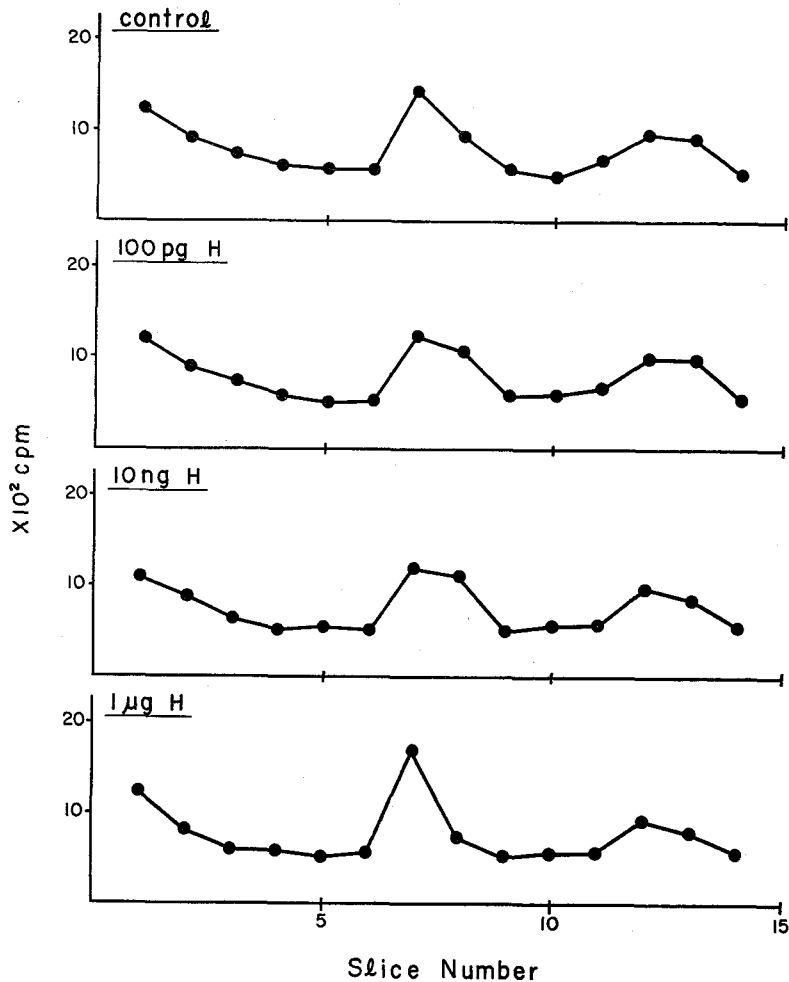


Fig. 6. Influence of DES-diphosphate on binding of ^3H -testosterone to TeBG.

(low affinity) albumin, もう1つは結合容量が比較的小 (low capacity) であるが親和度が高い (high affinity) β -globulin で、体内における androgen と estrogen の平衡がくずれると高親和度の β -globulin 分画の蛋白が増減することが知られている^{5,17)}。この β -globulin 分画に一致する蛋白を TeBG, あるいは sex hormone binding globulin (SHBG) と呼び、肝において産生され^{5,16)}、ステロイドホルモンと結合することにより、(1) 血漿へのホルモンの溶解度の上昇、(2) 標的臓器への必要量のホルモンの運搬、(3) ホルモンの一時的な貯蔵と緩衝、(4) 代謝クリアランスの制限などの作用を示す¹⁷⁾。このような作用を有する TeBG は、種々のホルモン剤投与によって変動することが知られている。すなわち TeBG は androgen, gestagen, corticosteroid などの投与によって減少し^{3,}

^{9,12)} estrogen, thyroxine では逆に増加する^{3,9,11)}。これらの増減に関して種々のステロイドホルモンは同一の親和度で TeBG と結合するのではなく、これらのホルモンはそれぞれ異なった TeBG に対する親和度を有している¹¹⁾。まず testosterone の TeBG に対する親和度を 100 とした場合、estradiol では約60, dihydrotestosterone は 300, cortisol は 2, progesterone 2.5, estrone および estradiol は4となり、dihydrotestosterone, testosterone, estradiol などが主として TeBG と結合する。また男子においては加齢とともに総 testosterone 値が減少するが遊離型 testosterone 値減少はさらに大の傾向にあって、TeBG は逆に増加する¹³⁾。これらのことより生体内において TeBG が高値となると遊離型 testosterone は減少し、逆に testosterone に比し親和度が低い遊離型 estradiol は増加して

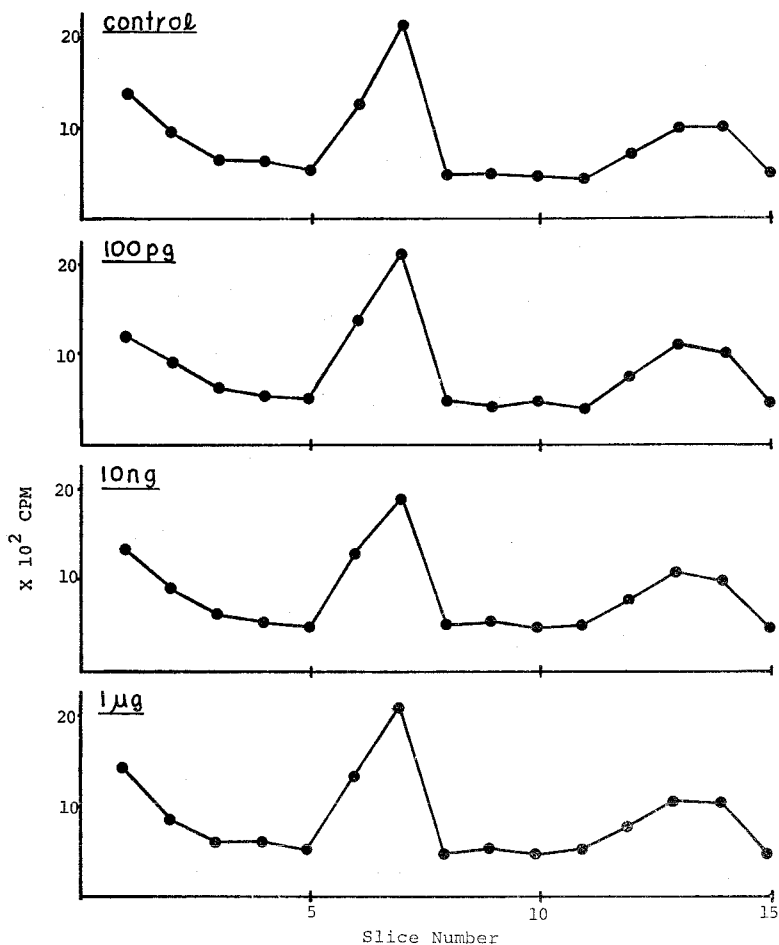


Fig. 7. Influence of stilbestrol on binding of ^3H -testosterone to TeBG.

くる。すなわち estrogen 投与によって生じる TeBG の増加は、estradiol の作用を生理的に増幅する効果を生ぜしめ、かつ遊離型 testosterone の選択的な減少をきたすことになる²⁾。

臨床的に前立腺癌患者の抗男性ホルモン療法における TeBG の治療前値に対する変動について見ると、去勢のみでは変化を認めないか¹⁾あるいは軽度の上昇傾向を示し⁸⁾、去勢と女性ホルモン剤の投与で著増し、投与量が多ければ TeBG はより増加する⁹⁾。著者の成績では、血中 testosterone が去勢によって著明に減少するのに対しては TeBG 治療前値の約 20% の増加と Houghton らの約 21% とする成績⁹⁾に一致した。DES-diphosphate 10g 投与終了時には治療前に比し血中 testosterone はさらに低下する傾向が見られたが、TeBG は治療前値の約 2.5 倍となり Schnorr らの成績¹⁰⁾

と同様の結果を得た。このような TeBG 増加の機序としては、(1) DES-diphosphate の投与による肝細胞からの TeBG の産生促進、(2) あるいは DES-diphosphate そのものが血中において TeBG と結合し、その結果 TeBG の増加をもたらした、などが考えられる。

また CA, spironolactone は DES-diphosphate と同様に抗男性ホルモン作用を有することが知られている。その作用機序として、CA では C₁₉₋₂₁ desmolase の阻害とともに、標的臓器である前立腺細胞内における androgen receptor への dihydrotestosterone との競合阻害によるとされている^{4,14)}。spironolactone についても 17,20-lyase 阻害という副腎性 androgen の阻害¹⁵⁾、androgen receptor の dihydrotestosterone との競合阻害が報告されている⁶⁾。各種の抗男性ホルモン剤が testosterone と TeBG との結合に及ぼす影響を

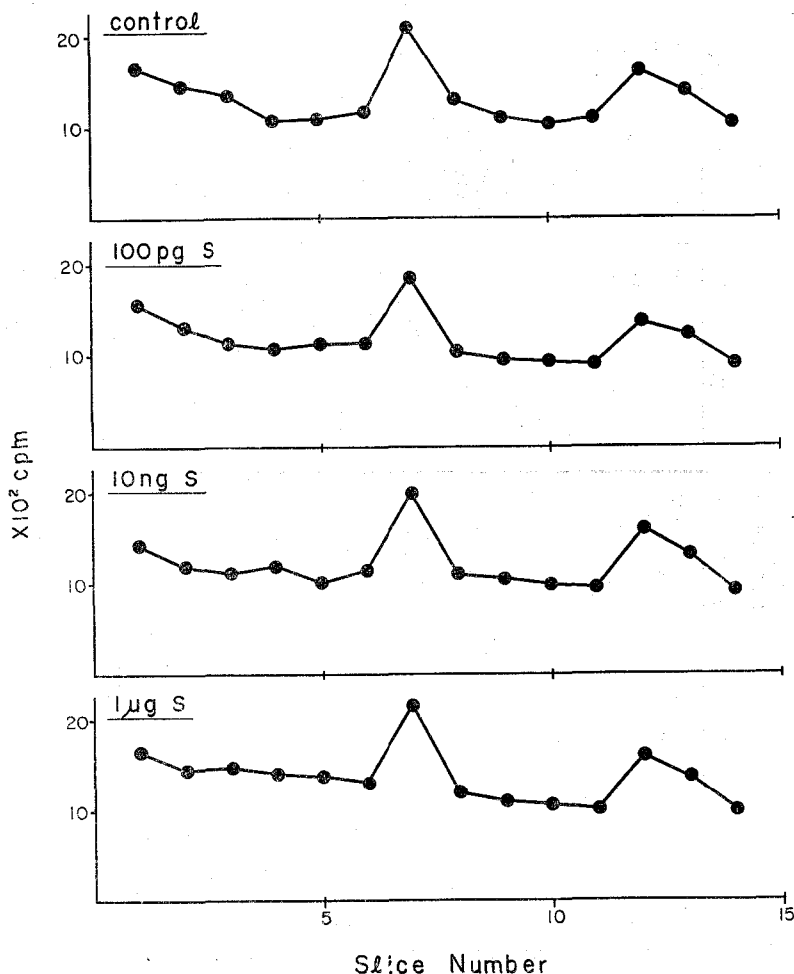


Fig. 8. Influence of spironolactone on binding of ^3H -testosterone to TeBG.

検討した著者の成績において、testosterone, estradiol では 100ng の添加により TeBG のピークは消失し、CA でも TeBG のピークの低下が見られ、これらの成績は gestagen の投与で TeBG が減少するとしての報告^{1,3,7)}を支持するものである。しかし程度の差はあれ臨床的には同様の抗男性ホルモン作用を示す spironolactone, stilbestrol, DES-diphosphate などでは TeBG のピークに明らかな変動を認めなかった。以上の実験成績から、前立腺癌患者に DES-diphosphate を投与した際に認められる TeBG の著明な増加は、DES-diphosphate の活性型である stilbestrol が TeBG と直接結合するために TeBG が増加するのではなく、stilbestrol が肝細胞を刺激して TeBG を産生させるものと考えられる。そしてこのような TeBG の増加が遊離型 testosterone と結合して活性型 androgen の低下

をもたらす、さらにより強い抗男性ホルモン作用を生じさせるものと推定される。

総 括

広島大学医学部附属病院ならびに関連病院泌尿器科で前立腺癌と診断された 18 例に対して去勢と女性ホルモン療法、去勢と放射線療法を施行し、治療における血中 testosterone と TeBG の変動について検討するとともに、in vitro での抗男性ホルモン剤の TeBG と testosterone の結合に及ぼす影響を検討し、以下のごとき成績をえた。

1) 去勢により血中 testosterone は著減し、TeBG は逆に治療前値に比し約 20% 増加した。DES-diphosphate 1 日 500mg, 20 日間の連続投与によって血中 testosterone は測定感度以下となるものも見られたの

に対して、TeBG は治療前値の約 2.5 倍まで増加した。去勢と放射線療法では治療終了時には血中 testosterone は去勢のレベルが持続し、TeBG は治療前値の約 28% の増加のままで去勢のレベルと著変を認めなかった。

2) in vitro において、CA は TeBG と testosterone の結合に影響を認めたが、DES-diphosphate, stilbestrol, spironolactone などは TeBG と testosterone の結合に影響を与えない。したがって前立腺癌患者の DES-diphosphate による女性ホルモン療法における TeBG の著明な増加は、DES-diphosphate の活性型である stilbestrol と TeBG との結合によるものとは考えられない。この場合の TeBG の増加は肝細胞からの産生促進が推定され、この増加が血中遊離型 testosterone との結合により活性型 androgen の減少をもたらすことによって、より強い抗男性ホルモン作用を示すものと考えられる。

恩師仁平寛巳教授の御校閲に深謝するとともに、終始御助力いただいた当院第 3 内科宮地幸隆助教授に厚く御礼申し上げます。なお本論文の要旨は第 25 回および 26 回日本内分泌学会西部部会総会において発表した。

文 献

- 1) Bartsch, W., Horst, H. J., Becker, H. et al.: Sex hormone binding capacity, testosterone, 5 α -dihydrotestosterone, oestradiol and prolactin in plasma of patients with prostatic carcinoma under various types of hormonal treatment. *Acta Endocr.*, **85**: 650, 1977.
- 2) Burke, C. W., Anderson, D. C.: Sex-hormone-binding globulin is an oestrogen amplifier. *Nature*, **240**: 38, 1972.
- 3) Dennis, M., Horst, H. J., Krieg, M. et al.: Plasma sex hormone binding globulin binding capacity in benign prostatic hypertrophy and prostatic carcinoma: Comparison with an age dependent rise in normal human males. *Acta Endocr.*, **84**: 207, 1977.
- 4) Hoffman, W. and Breuer, H.: Wirkung von 1, 2 α -Methylen-6-chlor- Δ 4, 6-pregnadien-17- α -ol-3, 20-dion (cyproteron) auf die Biogenese von C 19-Steroiden in Rattentestes. *Acta Endocr.*, **57**: 623, 1968.
- 5) Houghton, A. L., Turner, R. and Cooper, E. H.: Sex hormone binding globulin in carcinoma of the prostate. *Brit. J. Urol.*, **49**: 227, 1977.
- 6) Pita, J. C., Jr., Lippman, M. E., Thompson, E. B. et al.: Interaction of spironolactone and digitalis with the 5 α -dihydrotestosterone (DHT) receptor of rat ventral prostate. *Endocrinol.*, **97**: 1521, 1975.
- 7) Sammelwitz, P. H., Schreck, C. B. and Hopwood, M. L.: Binding of cyproterone acetate to plasma proteins. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **143**: 189, 1973.
- 8) Schnorr, D., Mebel, M., Dorner, G. et al.: Endocrine effects of oestrogen treatment in patients with prostatic cancer. *Eur. Urol.*, **2**: 85, 1976.
- 9) Tochimoto, S., Olivo, J., Southren, A. L. et al.: Studies of β -globulin Sex difference and effect of ethinyl estradiol and testosterone. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, **134**: 700, 1970.
- 10) 碓井 亜・ほか: steady state polyacrylamide gelelectrophoresis を用いた TeBG の測定法. *日 内 分 泌 誌*, **55**: 96, 1979.
- 11) Vermeulen, A. and Verdonck, L.: Studies on the binding of testosterone to human plasma. *Steroids*, **11**: 609, 1968.
- 12) Vermeulen, A., Verdonck, L., Van der Straeten, M. et al.: Capacity of the testosterone-binding globulin in human plasma and influence of specific binding of testosterone on its metabolic clearance rate. *J. Clin. Endocr.*, **29**: 1470, 1969.
- 13) Vermeulen, A., Rubens, R. and Verdonck, L.: Testosterone secretion and metabolism in male senescence. *J. Clin. Endocr. Metabol.*, **34**: 730, 1972.
- 14) Walsh, P. C. and Korenman, S. G.: Mechanism of androgenic action: Effect of specific intracellular inhibitors. *J. Urol.*, **105**: 850, 1971.
- 15) Walsh, P. C. and Siiteri, P. K.: Suppression of androgens by spironolactone in castrated men with carcinoma of the prostate. *J. Urol.*, **114**: 254, 1975.
- 16) 山田盛男, 松本圭史: 血中ステロイドホルモンの代謝とその生物学的意義. *代謝*, **13**: 1183, 1976.
- 17) 山本智英・熊原雄一: 血漿ホルモン結合蛋白とその異常. *代謝*, **13**: 1169, 1976.

(1978年12月11日受付)