

Sodium-4-[2-{2,3-dimethyl-4-[1-(4-isobutylphenyl)ethoxy]benzoylamino}phenoxy] butyrate (ONO-3805) のラット副性器への効果

群馬大学医学部泌尿器科学教室 (主任 : 山中英寿)

高橋 修, 今井 強一, 渡辺 恵子

中沢 康夫, 中田 誠司, 栗田 誠

斉藤 佳隆, 久保田 裕, 山中 英寿

THE EFFECT OF SODIUM-4-[2-{2,3-DIMETHYL-4-[1-(4-ISOBUTYLPHENYL)ETHOXY]BENZOLAMINO}PHENOXY] BUTYRATE (ONO-3805) AND ANTIANDROGENIC AGENTS ON THE RAT ACCESSORY SEX ORGANS

Osamu Takahashi, Kyoichi Imai, Keiko Watanabe,

Yasuo Nakazawa, Seizi Nakata, Makoto Kurita,

Yoshitaka Saito, Hiroshi Kubota and Hidetoshi Yamanaka

From the Department of Urology, Gunma University, School of Medicine

The effects of sodium-4-[2-{2,3-dimethyl-4-[1-(4-isobutylphenyl)ethoxy]benzoylamino}phenoxy]butyrate (ONO-3805), newly developed as a non-steroidal 5α -reductase inhibitor, on rat accessory sex organs was compared with chlormadinone acetate (CMA) and non-steroidal antiandrogen, flutamide (FLU). ONO-3805 demonstrated excellent antiandrogenic activity which was similar to that of CMA in reducing the accessory sex organ weight. Moreover this agent did not show any significant effects on the serum testosterone level, but CMA and FLU changed it significantly. We previously reported the androgenic activity of antiandrogen (CMA, FLU, AA560, cyproterone acetate, medroxy progesterone, estrogen), but ONO-3805 is free of androgenic activity.

(Acta Urol. Jpn. 38: 305-310, 1992)

Key words: 5α -reductase inhibitor, prostate, Antiandrogen, Accessory sex organ

緒 言

前立腺肥大症ならびに癌は男子高齢者に認められる代表的疾患である。人口構成が高齢化を迎えることによってこれら疾患の増加が予想される。特に前立腺肥大症の発生頻度は高く、適切な治療法が求められている。本邦では保存的治療法の一つとしてプロゲステロン系の薬剤が多く用いられ、その有用性についてすでに多くの報告がなされている^{1,2)}。しかし、プロゲステロン系薬剤は血中アンドロゲンを低下させるため、副作用としてインポテンツを有している³⁾。近年開発された sodium-4-[2-{2,3-dimethyl-4-[1-(4-isobutylphenyl)ethoxy]benzoylamino}phenoxy] butyrate

(ONO-3805) は 5α 還元酵素阻害剤であり、その作用機序の上より血中アンドロゲンに影響を与えない抗前立腺薬として期待される。

ONO-3805 のラット副性器に対する効果発現の特徴と旧来使用されてきた抗前立腺薬と比較検討することは、これからの ONO-3805 の臨床使用上に有意義な情報を提供するものと考え、本研究を行った。

対 象 と 方 法

動物・薬剤 : 雄 Wistar ラット (10週齢) は Charles-River 社 (神奈川県厚木市) より購入した。飼育条件は照明時間 7 : 00~19 : 00の12時間、室温 22 ± 3 度に調節されていた。flutamide (FLU) は日本化薬

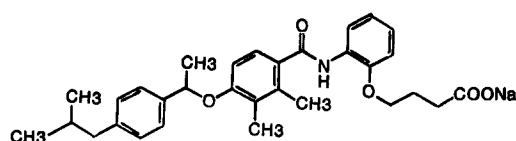


Fig. 1. Chemical structure of sodium-4-[2-{2,3-dimethyl-4-[1-(4-isobutylphenyl)ethoxy]benzoylamino}phenoxy]butyrate (ONO-3805)

株式会社, chlormadinone acetate (CMA) は帝國臓器株式会社, sodium-4-[2-{2,3-dimethyl-4-[1-(4-isobutylphenyl)ethoxy]benzoylamino}phenoxy]butyrate (ONO-3805) (Fig. 1) は小野薬品工業株式会社より提供された。

実験方法：エーテル麻酔下において経陰囊的に両側精巣摘除術、ならびに前立腺腹葉 (VP)・前立腺後背葉 (DLP)・精囊腺 (SV) 摘出術を行った。薬剤は経口投与の場合は 2% Tween 80 (4 ml/日) に、皮下注射の場合は DMSO-sesame oil (200 μ l/日) に溶解し 1 日 2 回投与した。コントロールには溶媒のみを投与した。

実験 1：非去勢ラットを使用し、薬剤投与を経口あるいは皮下注射にて開始 2 週後に臓器重量変化を観察した。各群 4 匹のラットを使用した。

実験 2：非去勢ラットを使用し、薬剤投与を皮下注射にて開始後第 1, 2, 4, 6 週に臓器重量測定した。臓器重量検討のための 1 日薬剤投与量は Fig. 2 に示した。溶媒のみ投与群をコントロールとし、評価時点におけるコントロールの検討臓器重量を 100% として比較検討した。この実験では血中テストステロン値 (T) を第 2 週に測定し、検討投与量を Table 2 に示した。各群 5 匹のラットを使用した。

実験 3：去勢と同時に薬剤と testosterone propionate 50 μ g/日を皮下投与し、薬剤の testosterone への直接効果を検討した。去勢後第 1, 2, 4 週に各臓器重量を測定した。去勢と testosterone propionate 併用群をコントロールとし、実験 2 同様に比較

検討した。各群 5 匹のラットを使用した。

実験 4：薬剤の男性ホルモン作用を検討するため、去勢ラットに検討薬剤を皮下注射し、去勢 2 週後に臓器重量を測定した。各群 10 匹のラットを使用した。

ホルモン測定：T 測定は、栄研キットを使用し、RIA 法にて測定した。

すべての重量結果は動物体重 100 g 当たりに換算し、t-test ないしは Aspen-Welch test にて統計的検定はなされた。

結 果

実験 1：投与法の比較実験

投与方法の検討では、ONO-3805 と CMA の皮下注射法は経口投与法に比べより副性器重量減少作用を示したが、統計的有意差は認めなかった (Table 1) これら薬剤は経口投与にて市販ないしは治験が進められているが、われわれにとって簡便な注射法を採用した。

実験 2：非去勢ラットにおける実験

ONO-3805 を 3.3 mg あるいは 16.5 mg・CMA 3.3 mg・FLU 3.3 mg におけるラット副性器重量に対する効果を経時的に観察した。測定時における無処置ラットの VP あるいは SV 重量を 100 として薬剤投与群の重量変化を表示した (Fig. 2-a, b)。VP あるいは SV に対する各評価時点での重量減少比はいずれの薬剤も去勢にくらべ小さく ($P \leq 0.01$)、減少速度も遅かった。投与前の VP 重量 (mg/100 g 体重) に対して ONO-3805 の 16.5 mg 投与群は第 1 週より、CMA 群は第 2 週より、ONO-3805 の 3.3 mg 群では第 4 週のみが有意な減少を示した ($P \leq 0.01$, ONO-3805 の 3.3 mg は $P \leq 0.05$)。SV でも、ONO-3805 の 3.3 mg 群の有意な減少が第 6 週まで続いたことを除いて、同様な結果であった。以上の結果より VP・SV に対する重量減少作用は、ONO-3805 の 16.5 mg 投与群が最も早くかつ強く、続いて CMA であった。ONO-3805 の 3.3 mg 群と FLU 群ではいくぶん ONO-3805 の方が強いように思われたが、両者間に統計的有意の差はなかった。DLP に対する重量

Table 1. Comparison of administration methods

Agent	Dose (mg/day)	Route	VP	DLP	SV
ONO-3805	3.3	P.O.	64.9 $\pm$ 18.1	48.4 $\pm$ 7.0	66.9 $\pm$ 11.7
		S.I.	55.9 $\pm$ 12.5	43.6 $\pm$ 18.4	57.3 $\pm$ 12.2
CMA	1.7	P.O.	84.3 $\pm$ 30.2	54.9 $\pm$ 20.5	82.5 $\pm$ 9.6
		S.I.	66.9 $\pm$ 19.6	41.6 $\pm$ 12.4	73.4 $\pm$ 5.3

P.O.: per os, S.I.: subcutaneous injection

減少作用も, ONO-3805 の 16.5 mg 群が最も早く, 続いて CMA・ONO-3805 の 3.3 mg・FLU と他の副性器における重量減少と同じ結果であった (結果割愛). 精巣重量はまったく薬剤投与により変化を受けなかった (Fig. 2-c). 副腎重量は去勢と FLU で軽度増加, ONO-3805 で軽度減少を認めたが統計的有意差 ($P \leq 0.05$) を示したものは第 6 週の ONO-3805 (16.5 mg) のみであった. しかし, CMA は各評価時点すべてにおいて減少を示し, 第 2 週より有意の減少を認めた (第 2 週にて $P \leq 0.05$, 第 4, 6 週にて $P \leq 0.01$) (Fig. 2-d).

血中 T 値は FLU 1.0 と 3.3 mg で上昇を, CMA 10 mg で下降を認め, それぞれ統計的有意差 ($P \leq 0.01$) を示した. ONO-3805 の低投与量で上昇, 高投与量で下降の傾向が認められたが, いずれも統計的有意差を認めなかった (Table 2).

実験 3 : 去勢ラットにおける実験

testosterone propionate 投与の去勢ラットにおいて, 薬剤の antiandrogen 作用を検討した. 本実験

Table 2. Effect of antiandrogen on serum testosterone

Agent	Dose (mg/day)	Mean (ng/dl)	$\pm$ SD	t-test
Control		198.1	43.6	
ONO-3805	1.0	236.1	90.7	n.s.
ONO-3805	3.3	294.1	109.4	n.s.
ONO-3805	10.0	185.4	82.0	n.s.
ONO-3805	33.0	177.9	65.6	n.s.
FLU	0.2	330.7	140.4	n.s.
FLU	1.0	645.7	35.9	**
FLU	3.3	804.7	31.4	**
CMA	1.7	202.6	118.8	n.s.
CMA	3.3	163.0	131.2	n.s.
CMA	10.0	83.2	25.8	**

n.s. : not significant, **: $P < 0.01$

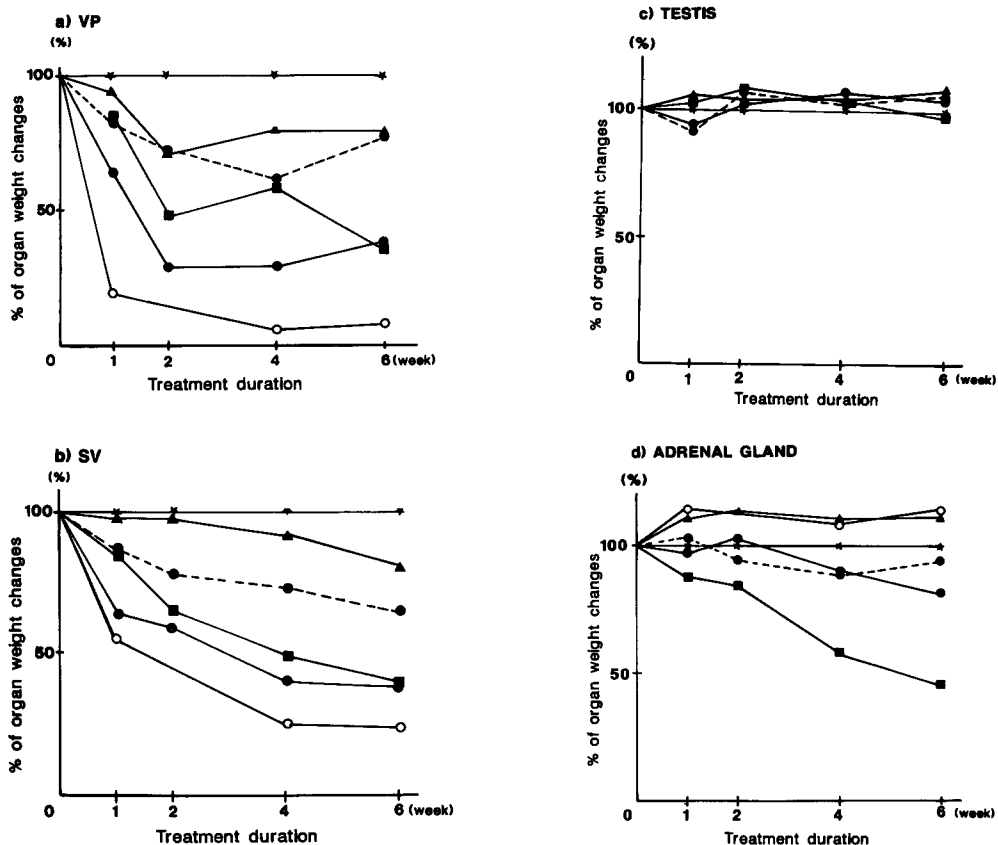


Fig. 2. The effect of antiandrogen on rat sex accessory organ weights. The weights (/100 g body weight) of VP (a), SV (b), testis (c) and adrenal gland (d) were expressed as % of that in control which was treated with vehicle. Symbols: FLU 3.3 mg/day ($\blacktriangle$), CMA 3.3 mg/day ($\blacksquare$), ONO-3805 3.3 mg/day ($\bullet \cdots \bullet$), ONO-3805 16.5 mg/day ($\bullet \text{---} \bullet$), castration ($\bigcirc$), control ($\star$).

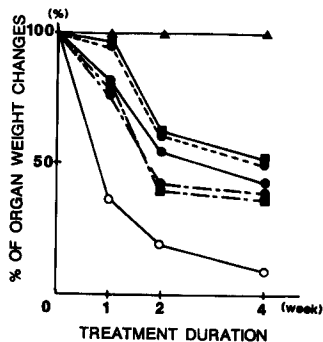


Fig. 3. The effect of antiandrogen on sex accessory organ weights of the rats castrated and treated with testosterone. Symbols: CMA 10 mg/day (■—■), ONO-3805 10 mg/day (●—●), ONO-3805 33 mg/day (●—●). Others refer to the kind of treatment given in Fig. 2.

では ONO-3805 の対照薬剤として CMA のみを用いた。検討したすべての濃度で、両薬剤ともに副性器重量減少作用を示した。その減少作用は濃度依存・時間依存的であった (Fig. 3)。また、ONO-3805 の 3.3 mg と CMA 3.3 mg, ならびに ONO-3805 の 33 mg と CMA の 10 mg とはまったく同一の VP 重量減少効果を認めた。投与前重量に比べ、第1週より ONO-3805 の 10 mg ないしは 33 mg と CMA の 10 mg ($P \leq 0.05$)、第2週よりは検討したすべての薬剤投与群において有意の減少を認めた ($P \leq 0.01$)。ONO-3805 の 10 mg 群に対し ONO-3805 の 33 mg と CMA の 10 mg は統計的に有意差を認めなかった。DLP・SV もほぼ同様な結果であったので割愛した。去勢と外因性 T 投与条件において、言換えるならば中枢精巣系を固定した状態と、この系を固定しない実験 2 の条件における薬剤の副性器重量減少効果は特に際だった差を認めなかった。

実験 4: 男性ホルモン作用の検討

去勢と同時に ONO-3805 あるいは CMA を投与し、2 週後にラット副性器重量に対する影響を検討した。CMA 投与で VP と SV に有意の重量増加が認められた (Fig. 4, $P \leq 0.01$)。逆に ONO-3805 では VP に有意の減少を認めた (3.3 mg, 10 mg とともに $P \leq 0.05$) が、SV と DLP には僅かの減少のみで統計的有意の差を認めなかった。

考 察

本実験の目的は旧来使用されてきた antiandrogen 剤との比較によって、新しく開発された ONO-3805 の特性と効力を明らかにする事にあった。本邦で使用

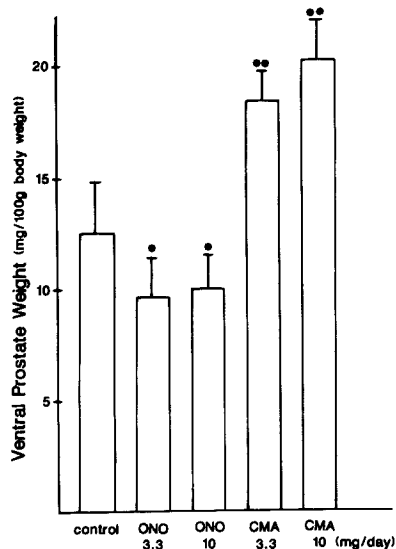


Fig. 4. Androgenic activity of antiandrogen. ONO-3805 or CMA was administered to the castrated rats for two weeks. Ventral prostate weight was significantly increased by CMA and decreased by ONO-3805. The bars show the average weight and S.D.. *: $p \leq 0.05$. **: $p \leq 0.01$.

許可されている antiandrogen 剤は progestin 系の薬剤のみであり、 5α 還元酵素阻害剤について十分な情報がない。また、欧米ではステロイド骨格を有する 5α 還元酵素阻害剤 (MK-906) が使用され有効性についての報告がある^{4,5)}。本報告で使用した ONO-3805 は、MK-906 がステロイド骨格を有するのに対し、構造的にまったく異なっている。そこで、最も良く本邦で使用されている CMA と本剤とを中心に比較した。

実験 2 の結果より、CMA 3.3 mg とほぼ同様な副性器重量減少作用は ONO-3805 の 3.3 mg と 16.5 mg の間にあると思われた。ONO-3805 の 3.3 mg は FLU 3.3 mg とほぼ同様ないしは強力な副性器重量減少効果があると考えられた。しかし、実験 3 の結果では ONO-3805 と CMA は 3.3 mg では差はなかったものの、ONO-3805 の 10 mg は CMA の 10 mg より重量減少効果は弱い傾向にあった (統計的に差はない)。実験 3 の結果を、antiandrogen としての力価は両薬剤間で変らないと結論するならば、両実験間の差は CMA が中枢-精巣系での feed back 機構を介しての作用と antiandrogen 作用を有することによって生じたものと思われる。ここで力価を問題としたが、力価による比較は薬剤の副作用等を考慮に入れてないので臨床効果の優劣を表してはいないこ

とはいってもない。

われわれならびに Labrie 等はすでに antiandrogen 剤の androgen 作用について、去勢ラットを用いて報告しているが^{6,7)}、本稿でも ONO-3805 についても同様に実験を組み検討した。CMA は前報同様に副性器重量を増量させたが、ONO-3805 には増加作用は認められないばかりか、VP 重量を有意に減少させた。しかし、DLP あるいは SV 重量を有意に減少させることはできなかった。ONO-3805 には本実験条件では androgen 作用は少なくともないと断定して良いであろう。また、この条件で検討したすべての antiandrogen 剤 (CMA, FLU, cyproterone acetate, medroxy progesterone, estrogen) に androgen 作用を認めているので^{6,8)}、本剤は初めての androgen 作用を有しない antiandrogen 剤でもある。もし、去勢と ONO-3805 により去勢単独に比べ副性器重量を相加的に減少させることが実験結果のようにヒトにおいてもできるならば、臨床応用の検討も興味ある問題である。

各種疾患の治療に quality of life の維持ないしは改善が重視されてきている。旧来の前立腺肥大症治療薬剤の代表例である progesteron 系薬剤が血中 T 値を下降させ、性機能障害を誘発する³⁾のに対し、ONO-3805 は血中 T 値にほとんど影響を与えなかったことより性機能不全といった副作用は少ないと考えられる。quality of life といった視点からも優れた薬剤といえる。本剤の前立腺肥大症適応の可能性ならびに使用量検討に非去勢実験の結果が参考になる。本邦での本疾患に対する CMA の使用量は 50 mg であるので、CMA と同様な前立腺縮小効果を期待するならば ONO-3805 の投与量は 50 mg から 250 mg の間と予想された。

本剤の前立腺癌治療薬としての可能性はどうであろうか。非去勢ラット実験でえられた結果は、去勢に比べ ONO-3805 の副注器重量に対する重量減少作用は明らかに遅く、弱かった。ONO-3805 単独では去勢に代る治療法となることは難しいであろう。しかし、去勢との併用は興味もたれる。ヒトはラットと異なり血中副腎性アンドロゲンを高濃度に認め⁹⁾、また去勢後の前立腺組織中に dihydrotestosterone (DHT) が高濃度に認める事が知られている¹⁰⁾。ONO-3805 の主作用が T から DHT への変換阻害にあることは確かであるが、他の androgen からの DHT への変換作用があるか否かいまだ明らかではない。また、副腎性アンドロゲンが T に変換される可能性もあり¹¹⁾ 去勢と ONO-3805 との併用について検討に値する課

題と思われる。Labrie 等によって提唱された complete androgen blockade の療法が前立腺癌の近接効果・予後に有用な治療法であるならば¹²⁻¹⁴⁾、しかも彼らのように medical castration に併用されるべき薬剤が androgen 作用を有していないことがもし重要であるならば⁷⁾、ONO-3805 は十分にその条件を満たしている。しかし、最近では complete androgen blockade 療法も予後改善度に有意の差を認めるものの、改善の程度が小さく、効果に疑問がもたれる¹⁴⁾。近年、前立腺癌の治療法の一つとして LH-RH agonist 療法について報告を多数みる¹²⁻¹⁷⁾が、この治療法の問題の一つに、一過性の T 上昇に伴う flare up 現象がある。この対策の一つに estrogen の使用が検討されている¹⁷⁾が、estrogen は心血管・肝障害を副作用として有しているので、より副作用の少ない薬剤との併用が好ましい。本剤もその一候補として注目して良いと思われる。

ONO-3805 は 16.5 mg の投与群の 6 週目に、副腎重量が有意の増加を示した。この副腎重量増加作用は CMA より顕著に認められた。CMA や FLU を始めとする antiandrogen はこのような作用を保持する^{6,8)}と考えてきたが、本剤も例外ではなかった。また、重量増加作用の機序について、現時点では不明である。

文 献

- 1) 山中英寿, 古作 望, 牧野武雄, ほか: アリルエストレノールの抗前立腺作用に関する基礎的、臨床的研究. 泌尿紀要 29: 1133-1145, 1983
- 2) 伊藤善一, 黒沢 功, 山中英寿, ほか: 酢酸クロルマジソンのアンチアンドロゲン作用. 日泌尿会誌 68: 537-552, 1977
- 3) 熊本悦明, 山口康宏, 佐藤嘉一, ほか: Anti-androgen の性機能におよぼす影響—アリルエストレノールおよび酢酸クロルマジソンの 2 重盲検法比較試験. 泌尿紀要 36: 227-244, 1990
- 4) Giagulli VJ, Vermeulen A, De Scheppper P, et al.: MK-906, a highly effective orally active 5- α reductase inhibitor in healthy men. Programs and Abstracts of the 70th Annual Meeting of the Endocrine Society: 210, 1988
- 5) Vermeulen A, Giagulli VA, De Scheppper P, et al.: Hormonal effects of an orally active 4-azasteroid inhibitor of 5- α reductase in humans. Prostate 14: 45-53, 1989
- 6) 今井強一, 渡辺恵子, 高橋 修, ほか: 除腺条件下における種々 anti-androgen のラット副性器への効果. 日内分泌会誌 66: 597-606, 1990
- 7) Labrie C, Cusan L, Plante M, et al.: Analysis of the androgenic activity of synthetic "progestins" currently used for the treatment

- of prostate cancer. *J Steroid Biochem* **28**: 379-384, 1987
- 8) Imai K, Watanabe K, Takahashi O, et al.: Androgenic activity of antiandrogen, Flutamide. (投稿中)
- 9) 今井強一, 高橋 修, 渡辺恵子, ほか: 副腎性アンドロゲン投与下におけるラット副性器に対する種々抗前立腺剤の効果. (投稿中)
- 10) Geller J and Albert JD: DHT in prostate cancer tissue—A guide to management and therapy. *Prostate* **6**: 19-25, 1985
- 11) Anderson DC, Conway DI and Bu'Lock DE: Adrenal androgen defects. In: *Adrenal androgens*. Edited by Genazzani AR, Thijssen JHH, Siiteri PK, pp. 115-133, Raven Press, New York, 1980
- 12) Labrie F, Dupont A, Belanger A, et al.: Combination therapy with Flutamide and castration (LHRH agonist or orchiectomy) in advanced prostate cancer: A marked improvement in response and survival. *J Steroid Biochem* **23**: 833-841, 1985
- 13) Labrie F, Dupont A, Giguere M, et al.: Advantage of the combination therapy in previously untreated and treated patients with advanced prostate cancer. *J Steroid Biochem.* **25**: 877-883, 1986
- 14) Crawford ED, Eisenberger MA, McLeod DG et al.: A Controlled trial of leuprolide with and without Flutamide in prostatic carcinoma. *New Engl J Med* **321**: 419-424, 1989
- 15) Crawford ED: Combination chemotherapy for advanced prostate cancer. In: *Prostate cancer The Second Tokyo Symposium* Edited by Karr JP and Yamanaka H. pp 267-272, Elsevier, New York, 1989
- 16) 今井強一, 川田敏夫, 山中英寿, ほか: LHRH作動薬を中心とした前立腺癌治療法の検討. *臨泌* **43**: 591-595, 1989
- 17) Stein BS and Smith JA: DES lead-in to use of luteinizing hormone releasing hormone analogs in treatment of metastatic carcinoma of prostate. *Urology* **25**: 350-353, 1985

(Received on April 30, 1991)
(Accepted on June 14, 1991)