

前立腺肥大症患者における膀胱機能と Acetylcholinesterase 活性の検討

金沢大学医学部泌尿器科学教室（主任：黒田恭一教授）

勝 見 哲 郎
黒 田 恭 一

富山赤十字病院泌尿器科（部長：酒井 晃博士）

萩 中 隆 博

A STUDY OF VESICAL FUNCTION AND ACETYLCHOLINESTERASE ACTIVITY IN VESICAL WALL FROM PATIENTS WITH BENIGN PROSTATIC HYPERTROPHY

Tetsuo KATSUMI and Kyōichi KURODA

*From the Department of Urology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa
(Director: K. Kuroda)*

Takahiro HAGINAKA

*From the Department of Urology, Toyama Red Cross Hospital, Toyama
(Chief: A. Sakai)*

Acetylcholinesterase activity in the vesical wall was measured biochemically from 24 cases with benign prostatic hypertrophy and 3 cases with normal vesical function. Our biochemical method is based on Goto's method. Acetylcholinesterase activity of the benign prostatic hypertrophy group was significantly high than the control ($p < 0.025$). The ratio of acetylcholinesterase to total cholinesterase was elevated significantly ($p < 0.05$).

The relation between vesical functions and acetylcholinesterase activity of the vesical wall was examined. In the cases having prostatic weight over 30 grams, high acetylcholinesterase activity was found. Vesical capacity, residual urine and maximum voiding pressure showed no significant relation with this enzyme activity.

私たちは泌尿器科領域における代表的な下部尿路閉塞性疾患である前立腺肥大症患者の膀胱機能を知る一手段として、膀胱壁筋層内 acetylcholinesterase (以下 AChE と略す) 活性を測定したのでその結果を報告する。

1. 対 象

対象は金沢大学医学部付属病院において入院手術を施行した24例の前立腺肥大症と3例の対照例（膀胱機能正常例）につき比較検討した。

2. 方 法

腰椎麻酔あるいは全身麻酔下に腹壁を開き、膀胱に手術操作を加える前に、膀胱頂部で約1cm角の筋層を採取し、当日 AChE 活性定量を行なった。測定方法は Boston¹⁾, Dale ら²⁾ が発表した単位重量当りの AChE 活性定量法をもとに後藤ら³⁾ が改良した蛋白重量当りの AChE 活性定量法を用いた。標本は Fig. 1 のごとく、0.1 M リン酸緩衝液、pH 8.0 を標本 10 mg 当り 1 ml の割で加え、Omega electric homogenizer (SM-3型) で 2,300 rpm, 3 分間 hom-

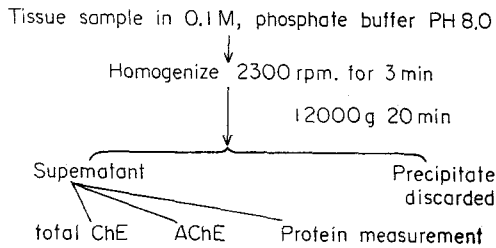


Fig. 1. Procedure of sample preparation

ogenize し、生成した homogenate を 12,000 g で 20 分間遠沈した。その上清を Fig. 2 に示すように 2 種の分光比色管に入れ、25°C 5 分間 incubation 後、基質として acetylthiocholine iodide (Sigma 社) を加え、412 nm の吸光度係数で比色測定した。この方法は Ellman 反応⁴⁾に準拠している。すなわち基質として加えられた acetylthiocholine iodide が標本中の AChE および ChE により分解され、生成された thiocholine が DTNB (5,5-Dithiobis (2-nitrobenzoic acid)) (和光純薬) と反応して黄色を呈することから、これを比色測定することにより活性値を類推するものである。なお同一標本で total ChE 活性および AChE 活性を測定するが、total ChE は AChE と non-specific ChE との総和であり、non-specific ChE の selective inhibitor を使用すれば AChE 活性がわかることになる。Dale らはこの inhibitor として、10-(α -diethylaminopropionyl) phenothiazine hydrochloride と構造的によく似た lysivane (10- α -diethylam-

inopropyl) phenothiazine hydrochloride を使用し、本薬剤は $8.52 \times 10^{-4} M$ の時 94.2% の plasma ChE を抑制する一方、赤血球の AChE を 5.8% しか抑制しないと述べ、この濃度が最も効率のよい ChE 抑制効果を表わすと述べている。私たちはこれに基づきパーキン塩酸塩末[®] (吉富製薬) を使用した。また蛋白測定は Lowry ら⁵⁾の方法に準じて蛋白定量を行ない、mg 蛋白当りの AChE 活性、total ChE 活性を測定した。単位は 40. D./min/mg protein (以下 R と略す) である。

3. 成 績

a) 前立腺肥大症および正常人膀胱

1) total ChE 活性値

前立腺肥大症では $6.8 \pm 2.7 \times 10^{-6} R$ 、正常人では $4.1 \pm 1.2 \times 10^{-6} R$ で、肥大症群でやや高い傾向がみられるが有意差は認められなかった (Fig. 3)。

2) AChE 活性値

前立腺肥大症では $4.5 \pm 2.0 \times 10^{-6} R$ で、正常人 $1.3 \pm 0.7 \times 10^{-6} R$ に比し有意の高値を示した ($p < 0.025$) (Fig. 4)。

3) AChE/total ChE

前立腺肥大症 $67.7 \pm 15.9\%$ に対し正常人 $29.9 \pm 9.5\%$ で、肥大症群は有意の高値を示した ($p < 0.05$) (Fig. 5)。

b) 前立腺肥大症相互間の関係

前立腺肥大症患者を、主訴の継続期間、残尿量、膀胱容量、腺腫重量および最高意識圧につき検討した。

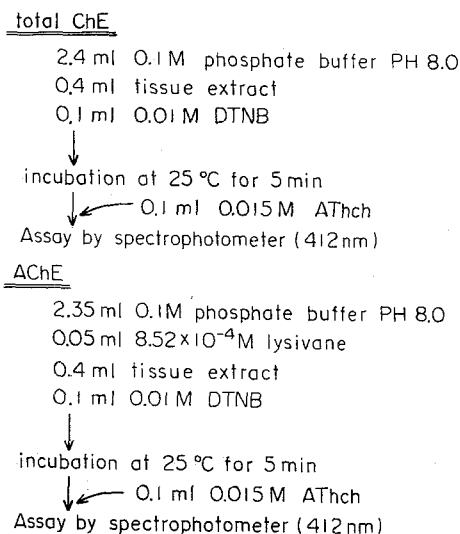
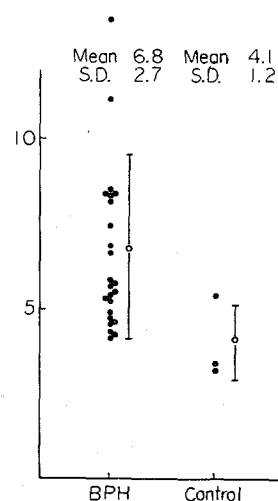


Fig. 2. Assay method

Fig. 3. Total ChE activity ($\Delta O.D./min/mg$ protein $\times 10^{-6}$)

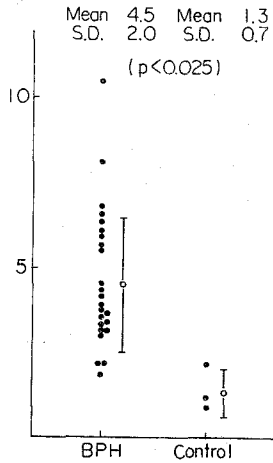


Fig. 4. AChE activity (Δ O.D./min/mg protein $\times 10^{-6}$)

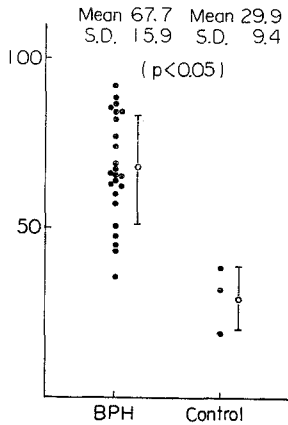


Fig. 5. AChE/total ChE $\times 100$ (%)

1) 排尿障害の継続期間

期間を1年未満, 1~3年, 3年以上の3群にわけ検討したが, 有意の差は認められなかった (Table 1).

2) 膀胱容量

容量を200 ml 未満, 200~399 ml, 400 ml 以上の3群に分け検討したが, 有意差は認められなかった (Table 2).

3) 残尿量

残尿量を50 ml 未満, 50~99 ml, 100 ml 以上, 尿閉の4群に分け検討した. total ChE は50 ml 未満と50~99 ml の両群間において50 ml 未満群で高い結果がえられたが, AChE および百分率において有意の差は認められなかった (Table 3).

4) 最高意識圧

40 mmHg 未満, 40~69 mmHg, 70 mmHg 以上の3群につき検討したが, 有意差は認められなかった (Table 4).

5) 腺腫重量

腺腫重量10 g 未満, 10~29 g, 30 g 以上の3群にわたり検討した (Fig. 6). 30 g 未満と30 g 以上の両群間でAChE の有意の高値が30 g 以上群でえられた (p < 0.10).

考 察

骨格筋におけるChE 活性定量については, 1950年代からモルモット, ラット, 兎における神経切断後のChE の変動を調べた文献がみられている, しかし平滑筋における同酵素活性定量についての報告は, Kamijoro⁶⁾がHirschsprung 病 (以下H病と略す) において組織化学的にAChE が増加していることを本症の診

Table 1. Mean and S.D. of AChE/total ChE in various durations

Duration (months)	No.	AChE (Δ O.D./min/mg protein $\times 10^{-6}$)	AChE/total ChE $\times 100$ (%)
Under 12 months	5	4.0 $\pm$ 1.5	70.5 $\pm$ 17.4
12 < < 35	8	4.9 $\pm$ 2.2	68.9 $\pm$ 18.8
36 and over	11	4.5 $\pm$ 2.1	65.5 $\pm$ 14.2

Table 2. Mean and S.D. of AChE, AChE/total ChE in various vesical capacities

Vesical capacity (ml)	No.	AChE (Δ O.D./min/mg protein $\times 10^{-6}$)	AChE/total ChE $\times 100$ (%)
Under 200	9	4.4 $\pm$ 1.7	67.0 $\pm$ 13.2
200 < < 399	10	4.7 $\pm$ 2.6	63.7 $\pm$ 18.9
400 and over	2	3.7	63.3

Table 3. Mean and S.D. of AChE, AChE/total ChE in various residual urine volumes

Residual urine (ml)	No.	AChE (Δ O.D./min/mg protein $\times 10^{-6}$)	AChE/total ChE $\times 100$ (%)
Under 50	11	4.1 $\pm$ 1.8	67.8 $\pm$ 15.1
50 < 99	3	4.0 $\pm$ 0.1	62.7 $\pm$ 18.8
100 and over	3	6.7 $\pm$ 3.4	59.6 $\pm$ 13.0
Retention	7	4.5 $\pm$ 1.8	73.1 $\pm$ 18.2

Table 4. Mean and S.D. of AChE, AChE/total ChE in each max. voiding pressure

Max. voiding pressure (mmHg)	No.	AChE (Δ O.D./min/mg protein $\times 10^{-6}$)	AChE/total ChE $\times 100$ (%)
Under 39	3	5.8 $\pm$ 4.2	64.4 $\pm$ 21.0
40 < 69	9	3.9 $\pm$ 1.8	64.6 $\pm$ 16.8
70 and over	9	4.6 $\pm$ 1.5	65.9 $\pm$ 13.9

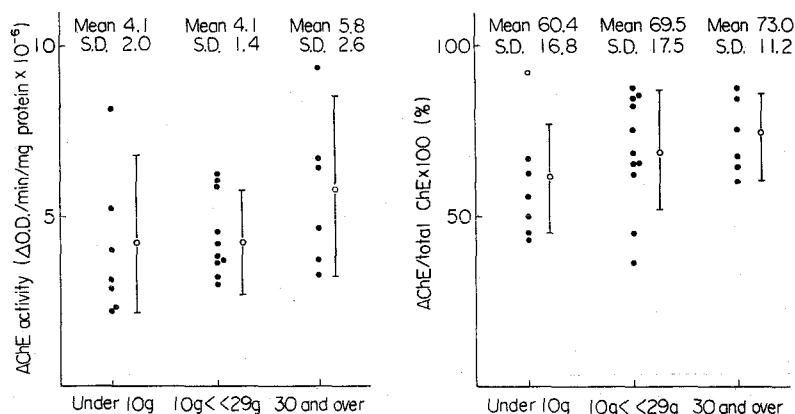


Fig. 6. Mean and S.D. of AChE, ACh/total ChE in different weight of adenoma

断に應用して以来, Boston, Dale らにより定量法が発表應用され, 本病の診断および腸管の切除範囲決定に広く應用されるようになっている。一方泌尿器科領域において穴戸⁷⁾が仙骨神経を切断することにより膀胱壁の代謝系の活性の変化をみるため, 酸素消費量, LDH, SDH などとともに ChE を測定しているが, その意味についての記載は見当らない。私たちは下部尿路閉塞に際し, 膀胱壁がどのように反応し, 膀胱機能を保持するかを知る一手段として AChE 活性を測定した。前立腺肥大症例の膀胱壁においては AChE 活性, AChE と total ChE の比が有意の上昇を示していた。しかしこの酵素活性の上昇が何を意味するかについては, はっきりした結果を見出しえないのが現況である。ただ1つの考え方として, 除神経後の横紋筋肉 AChE 活性の変化を調べた報告が数多く認めら

れる。それらの実験は, 除神経後の過感作が一体どのような機序でおこるのであろうかという疑問のためになされている。それによると過感作の原因として, 1つには ACh 分解酵素の破壊が増加するため, ACh の作用が延長強化される, 1つには除神経された筋肉細胞の電氣的性質が変化し, ACh に対し感受性が高まる, 1つには終板における ACh 受容体数や親和性が増加する, 1つには受容体の表面積が増加するなどの説があり, AChE 活性定量が行なわれている。Brooks & Meyers⁸⁾ はモルモットの前鋸筋を除神経することにより筋肉の ChE 活性は経時的に低下するが, 筋肉の萎縮も進行するため ChE 活性は本質的には変化しないと述べ Brooks & Chipman⁹⁾ は, モルモット, ラットの腓腹筋について調べ, 先と同様な結果を報告している。Sawyer ら¹⁰⁾ は除神経後 ChE がラッ

ト、モルモット、兎の骨格筋において、最初は減少し、後に正常よりもやや高くなると述べている。また Kővér & Kovács¹¹⁾ は骨格筋の強直性収縮には myosinesterase の特異活性が高く、ACh に対する高感受性は myosinesterase の特異活性と密接な関係があると述べているが、これは種属により非常に差があり、筋肉の total ChE の50%は myosinesterase の活性であるといわれ、除神経後 myosin の量は減少するため、筋重量当りの myosinesterase 活性は特異活性の増加にもかかわらず、減少すると述べている。また Hall¹²⁾ はラットの横隔膜で神経支配を受けている筋束と神経支配を受けていない筋束につき調べている。ChE 活性の90%以上は AChE で直接神経支配を受けている筋における AChE は高く、終板に約40%が存在し、それには 4S, 10S, 16S の3種類があり、除神経により AChE の3種すべてが減少するが、終板にのみ存在する 16S の減少の割合が強かったと述べている。このように AChE の増減については諸家の報告が非常に混乱しているが、Miledi¹³⁾ は蛙の前鋸筋を用い、組織化学的に部分的、完全除神経後を比較し、終板の変化はどちらも同じであるが、除神経後 ACh に対する膜感作領域が増加すると述べ、Couteaux & Nachmansonn¹⁴⁾ はモルモットの坐骨神経切断に際し、腓腹筋における ChE 活性は上昇するが、これは終板の数の増加によると述べている。一方 Thesleff¹⁵⁾ は除神経による ACh 感受性領域が拡大し、筋肉の全表面を被い、これは胎児、新生児における ACh に対する感受性と同じであると述べ、ボトリヌス菌を用いた実験を付加し、除神経後の変化は神経変性ではなく、伝達物質が放出されないためであると述べている。また Snell & McLyntyre¹⁶⁾ はモルモットの坐骨神経を切断し、組織化学的に観察し、運動神経終板の ChE は11日目より徐々に減少し、45日目にはほとんど消失すると述べ、この徐々に減少することが ACh に対する感受性増加に一部関係しているのではないかと述べている。このように除神経筋における ChE 活性の減少が ACh に対する感受性増加の原因であると述べているが、ACh だけでなく、ChE で破壊されない他の物質に対しても感受性が高いことや、ChE の量と感受性の程度が比例しないことなど未解決な問題を数多くかかえている。一方平滑筋においては、Dale らは AChE 特に 4S は神経幹が産生するため、神経幹の肥大、増殖が主体のH病では上昇するといひ、後藤らはH病において、狭窄部が一番 AChE が高く、膨大部にいくに従い活性が低下すると述べ、Wright & Shepherd¹⁷⁾ はH病の腸管壁

を調べ、膨大部が狭窄部より ACh に対する反応性が約10倍高かったと述べ、Kamijo らも同様な結果を報告し、この ACh に対する反応性の違いについては、ACh の反応は神経を介するものであるが、DFP や BaCl₂ などの筋自体に作用する反応では両者に差はなく、感受性の違いによると述べている。また測定法についても、基準として蛋白量をとっているが、Guth ら¹⁸⁾ は除神経後は蛋白量も徐々に減少し、stable line としては使用できないと述べている。私たちの AChE 活性定量法も蛋白量を基準としているため、蛋白量と筋重量比を肥大症群と正常例で検討したが、それぞれ 1.64 ± 0.57 , 1.74 ± 0.22 で有意差なく、蛋白量の変動は否定できた。そこで肥大症患者における膀胱壁の AChE 活性の上昇につき考えてみると、腺腫による排尿障害に対する膀胱機能の変化につき2通りの解釈ができる。すなわち Table 5 のごとく、①排尿障害

Table 5

- 1) 排尿障害 → 膀胱収縮力増加
 - Acetylcholine 増加
 - Acetylcholinesterase 増加
- 2) 排尿障害 → 膀胱壁が hyperactive
 - Acetylcholinesterase 増加
 - 膀胱機能保持

→膀胱収縮力増加→ACh 増加→AChE 増加、あるいは②排尿障害→膀胱筋が hyperactive→AChE 増加→膀胱機能保持の考え方があり、私たちの成績では、必ずしも排尿障害の程度に直接的に結びつかないが、腺腫重量 30g 以上群において有意の AChE 活性上昇がみられたほか、最高意識圧の高い群、膀胱容量の小さい群、残尿量の多い群に AChE 活性が高い傾向がみられた。これらの結果から①による AChE 増加と考えたいが、まだ症例数も少なく、比較検討できない項目もあり、今後さらに組織化学的研究および薬剤に対する筋収縮力の測定などを行ない検討する予定である。

結 語

前立腺肥大症24例、正常例3例につき膀胱壁内 AChE 活性定量を行なった。肥大症群において AChE 活性の増加、および AChE と total ChE 比の増加がみられた。これは排尿障害に対する膀胱利尿筋の収縮力増加の一現象と考えたいが、腺腫重量による差以外には、膀胱容量、残尿量、最高意識圧など膀胱機能と AChE 活性値の間に有意な関係を見出しえなかった。

本論文の要旨は第302回日本泌尿器科学会北陸地方会（昭和55年7月19日）において発表した。

文 献

- 1) Boston, V. E. et al.: Diagnosis of Hirschsprung's disease by quantitative biochemical assay of acetylcholinesterase in rectal tissue. *Lancet*, **15** : 951, 1975.
- 2) Dale, G. et al.: An improved method for the determination of acetylcholinesterase activity in rectal biopsy tissue from patients with Hirschsprung's disease. *Clinica Chimica Acta*, **77** : 407, 1977.
- 3) 後藤 誠一・ほか: Acetylcholinesterase 活性定量法を用いた Hirschsprung 病の検討. *日小外会誌*, **14** : 951, 1978.
- 4) Ellman, G. L. et al.: A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.*, **7** : 88, 1961.
- 5) Lowry, O. H. et al.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193** : 265, 1951.
- 6) Kamijo, K. et al.: Congenital megacolon. A comparison of the spastic and hypertrophied segments with respect to cholinesterase activities and sensitivities to acetylcholine, DFP and the barium ion. *Gastroenterology*, **24** : 173, 1953.
- 7) Shishito, S.: Experimental studies on the innervation of the urinary bladder. *Urol. int.*, **12** : 254, 1961.
- 8) Brooks, V. B. and Myers, D. K.: Cholinesterase content of normal and denervated skeletal muscle in the guinea-pig. *J. Physiol.*, **116** : 158, 1952.
- 9) Brooks, V. B. and Chipman, L. M.: Cholinesterase content of various skeletal muscles after denervation. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **40** : 164, 1952.
- 10) Sawyer, C. H. et al.: Sites of cholinesterase activity in neuromuscular and ganglionic transmission. *Anat. Rec.*, **106** : 287, 1950.
- 11) Kövér, A. and Kovács, T.: Investigations on the physiological role of myosin cholinesterase in phylogenesis. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **57** : 63, 1961.
- 12) Hall, Z. W.: Multiple forms of acetylcholinesterase and their distribution in endplate and non-endplate regions of rat diaphragm muscle. *J. Neurobiology*, **4** : 343, 1973.
- 13) Miledi, R.: The acetylcholine, sensitivity of frog muscle fibres after complete or partial denervation. *J. Physiol.*, **151** : 1, 1960.
- 14) Couteaux, R. and Nachmansohn, D.: Changes of choline esterase at end plates of voluntary muscle following section of sciatic nerve. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **43** : 177, 1940.
- 15) Thesleff, S.: Effects of motor innervation on the chemical sensitivity of skeletal muscle. *Physiol. Rev.*, **40** : 734, 1960.
- 16) Snell, R. S. and McIntyre, N.: Effect of denervation on the histochemical appearance of cholinesterase at the myoneural junction. *Nature*, **176** : 884, 1955.
- 17) Wright, P. G. and Shepherd, J. J.: Response to drugs of isolated human colonic muscle from a case of Hirschsprung's disease. *Lancet*, **4** : 1161, 1965.
- 18) Guth, L. et al.: Quantitative changes in cholinesterase activity of denervated muscle fibers and sole plates. *Experi. Neurol.*, **10** : 236, 1964.

(1980年8月15日受付)