

シロドシン(KMD-3213)の α_1 -アドレナリン受容体サブタイプ選択性及び臓器特異性

立道 聡,* 小林久美, 前澤綾香, 小林 護, 山崎芳伸, 柴田信男

 α_1 -Adrenoceptor Subtype Selectivity and Organ Specificity of Silodosin (KMD-3213)Satoshi TATEMACHI,* Kumi KOBAYASHI, Ayaka MAEZAWA, Mamoru KOBAYASHI,
Yoshinobu YAMAZAKI, and Nobuo SHIBATAPharmacology Research Laboratory, R&D, Kissei Pharmaceutical Co., Ltd.,
4365-1 Kashiwabara, Hotaka, Azumino City 399-8304, Japan

(Received September 26, 2005; Accepted November 14, 2005)

The selectivity of silodosin (KMD-3213), an antagonist of α_1 -adrenoceptor (AR), to the subtypes (α_{1A} -, α_{1B} - and α_{1D} -ARs) was examined by a receptor-binding study and a functional pharmacological study, and we compared its subtype-selectivity with those of other α_1 -AR antagonists. In the receptor-binding study, a replacement experiment using [3 H]-prazosin was conducted using the membrane fraction of mouse-derived LM (tk-) cells in which each of three human α_1 -AR subtypes was expressed. In the functional pharmacological study, the following isolated tissues were used as representative organs with high distribution densities of α_1 -AR subtypes (α_{1A} -AR: rabbit prostate, urethra and bladder trigone; α_{1B} -AR: rat spleen; α_{1D} -AR: rat thoracic aorta). Using the Magnus method, we studied the inhibitory effect of silodosin on noradrenaline-induced contraction, and compared it with those of tamsulosin hydrochloride, naftopidil and prazosin hydrochloride. Silodosin showed higher selectivity for the α_{1A} -AR subtype than tamsulosin hydrochloride, naftopidil or prazosin hydrochloride (affinity was highest for tamsulosin hydrochloride, followed by silodosin, prazosin hydrochloride and naftopidil in that order). Silodosin strongly antagonized noradrenaline-induced contractions in rabbit lower urinary tract tissues (including prostate, urethra and bladder trigone, with pA_2 or pK_b values of 9.60, 8.71 and 9.35, respectively). On the other hand, the pA_2 values for antagonism of noradrenaline-induced contractions in rat isolated spleen and rat isolated thoracic aorta were 7.15 and 7.88, respectively. Selectivity for lower urinary tract was higher for silodosin than for the other α_1 -AR antagonists. Our data suggest that silodosin has a high selectivity for the α_{1A} -AR subtype and for the lower urinary tract.

Key words—silodosin (KMD-3213); α_{1A} -adrenoceptor subtype selectivity; lower urinary tract

緒 言

α_1 -アドレナリン受容体 (AR) は, α_{1A} -, α_{1B} - 及び α_{1D} -AR の 3 種類のサブタイプに分類され,¹⁾ さらに下部尿路組織 (前立腺, 尿道及び膀胱三角部) の収縮及び血管の収縮にはそれぞれ α_{1A} - 及び α_{1B} -AR が関与することが報告されている。²⁻⁵⁾ また, ヒト前立腺組織における α_1 -AR サブタイプの mRNA 発現比は, 健常者において α_{1a} : α_{1b} : α_{1d} = 63 : 6 : 31 であるが, 前立腺肥大患者のそれは 85 : 1 : 14 となり, α_{1a} -AR mRNA 発現量も健常者のそれと比較して約 9 倍増加していることから,³⁾ 肥大した前立腺組織 α_1 -AR サブタイプは α_{1A} -AR が

主たるものと考えられる。したがって, α_{1A} -AR に特異的な作用を有する化合物は排尿障害治療薬として有用であると考えられる。塩酸タムスロシン及びナフトピジルは, 下部尿路組織と血管に対する作用が十分に乖離していないことから, 排尿障害治療に対する効果を最大限に発揮する用量が使用できない現状である。

本試験では, 新規 α_{1A} -AR 遮断薬シロドシン (開発コード名: KMD-3213) の α_{1A} -AR 選択性及び臓器特異性を検討し, 塩酸タムスロシン, ナフトピジル及び塩酸プラゾシンのそれと比較した。

実験材料及び方法

1. 使用細胞 受容体結合試験には, 3 種のヒト α_1 -AR サブタイプ (α_{1A} -, α_{1B} - 及び α_{1D} -AR) をそ

キッセイ薬品工業株式会社開発研究部薬理研究所

*e-mail: satoshi_tatemichi@pharm.kissei.co.jp

れぞれ発現させたマウス由来 LM (tk-) 細胞を購入 (ATCC, USA) し、培養して使用した。なお、細胞は 10% FBS (Fetal Bovine Serum) 及び 1% ペニシリン-ストレプトマイシンを含む D-MEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) 溶液中で 5% CO₂, 37°C の条件にて培養した。

2. 実験動物 機能的薬理試験には、日本白色種雄性ウサギ (体重: 3.51—4.67 kg, 北山ラベス株式会社, 長野) 及び Sprague Dawley (SD) 系雄性ラット (9—10 週齢, 体重: 287.8—394.2 g, 日本エスエルシー株式会社, 浜松) を使用した。動物は、恒温 (20—26°C), 恒湿 (35—65%), 12 時間の照明サイクルの環境下で飼育した。

なお、本実験は、キッセイ薬品工業(株)動物実験倫理委員会の許可を得て、文部科学省策定の動物実験ガイドライン (141 巻, 1987 年) に準拠して実施した。

3. 使用薬物 実験に使用した薬物は、シロドシン ((-)-1-(3-Hydroxypropyl)-5-[(2R)-2-[(2-[2,2,2-trifluoroethoxy] phenoxy] ethyl) amino] propyl]-2,3-dihydro-1H-indole-7-carboxamide), 塩酸タムスロシン ((-)-(R)-5-[2-[2-(*o*-ethoxyphenoxy) ethyl] amino] propyl]-2-methoxybenzene-sulfonamide hydrochloride), ナフトピジル ((±)-1-[4-(2-methoxyphenyl) piperazinyl]-3-(1-naphthyl-oxy)propan-2-ol) (以上, キッセイ薬品工業株式会社, 松本), 塩酸プラゾシン, WB4101, BMY7378, ノルアドレナリン (NA), 塩酸デシプラミン, コルチコステロン, 塩酸ヨヒンビン, 塩酸プロプラノロール (以上, Sigma, USA), ハルトマン液 (菱山製薬株式会社, 大阪及び小林製薬工業株式会社, 東京), ベントバルビタール・ナトリウム (大日本製薬株式会社, 大阪), 生理食塩液 (大塚製薬工場株式会社, 徳島), ポリエチレンイミン, トリス (Tris(hydroxymethyl)aminomethane), EDTA (ethylene diamine tetra acetate), 塩酸, リン酸二水素ナトリウム (以上, ナカライテスク株式会社, 京都), 水酸化ナトリウム (和光純薬工業株式会社, 大阪), ジメチルスルホキシド (DMSO) (ナカライテスク株式会社, 京都及び和光純薬工業株式会社, 大阪), D-MEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), PBS (Phosphate Buffered Saline), ペニシリン-ストレプトマイシン (以上, インビトロジェン株式会社,

東京), FBS (三光純薬株式会社, 東京), [³H]-プラゾシン (第一化学薬品工業株式会社, 茨城) であった。

シロドシン, 塩酸タムスロシン, ナフトピジル, 塩酸プラゾシン, WB4101 及び BMY7378 は各々秤量後, DMSO にて溶解した。これら溶液は, 受容体結合試験ではいずれも assay buffer (Tris-HCl 50 mmol/l, EDTA 1 mmol/l, pH7.4) にて希釈した。また, 機能的薬理試験では, シロドシン溶液はハルトマン液 (乳酸リンゲル液: NaCl 0.6%; KCl 0.03%; CaCl₂ 0.02% 及び乳酸 0.31% (w/v)), 塩酸タムスロシン溶液及び塩酸プラゾシン溶液は生理食塩液, ナフトピジル溶液は蒸留水を用いて希釈し調製した。NA は生理食塩液にて溶解, 希釈した。

4. 実験方法

4-1. ヒト α_1 -AR サブタイプ受容体結合試験

培養後, 回収した LM (tk-) 細胞に assay buffer を加え, 超音波細胞破碎機 (Model XL-2020, 和研薬株式会社) にて水冷下で超音波処理後, 多本架冷却遠心機 (CR5L, 日立工機株式会社) にて遠心分離 (2000 g × 10 min, 4°C) した。得られた上清をさらに卓上超遠心機 (Optima TL, ベックマン株式会社) にて遠心分離後 (80000 g × 30 min, 4°C), 沈渣を assay buffer で再懸濁して膜分画を得た。

調製した LM (tk-) 細胞の膜分画及び [³H]-プラゾシンを用いて受容体結合試験 (飽和実験及び置換実験) を行った。各反応液を α_{1A} -AR については 60 分間, α_{1B} - 及び α_{1D} -AR については 45 分間 30°C でインキュベートしたのち, ガラスフィルター (GF/C, Whatman 社) を装着したセルハーベスター (M-36T, ブランデール社) にて B/F 分離を行った。 [³H]-プラゾシンの膜結合量は液体シンチレーションアナライザー (トライカーブ 1900TR 型, パッカーダジャパン株式会社) を用いて放射活性を測定した。非特異的結合は, 塩酸タムスロシン 1 μ mol/l 存在下での結合より求めた。シロドシンの α_1 -AR サブタイプに対する親和性及び選択性を算出し, それらを塩酸タムスロシン, ナフトピジル, 塩酸プラゾシン, WB4101 及び BMY7378 のそれらと比較した。

4-2. 各種摘出組織における NA 誘発収縮に対する作用 各 α_1 -AR サブタイプの分布密度が高い臓器として, 以下の摘出組織を用いた。1) 日本白

色種雄ウサギの前立腺, 尿道及び膀胱三角部 (α_{1A} -AR),⁶⁾ 2) SD系雄ラットの脾臓 (α_{1B} -AR),^{7,8)} 3) SD系雄ラットの胸部大動脈 (α_{1D} -AR).⁹⁾ これら組織標本を, 37°Cで95% O₂及び5% CO₂混合ガスを通気した10 mlのKrebs液を満たしたorgan bathに懸垂した. NAにて誘発した収縮に対するシロドシンの抑制作用について検討し, 塩酸タムスロシン, ナフトピジル及び塩酸プラゾシンのそれと比較した.

5. データ解析 受容体結合試験においては, 測定結果をGraphpad Prism® version 3.0 (Graphpad Software Inc.)を用いて解析した. まず, 飽和実験より得られたデータをSchatchard解析し, [³H]-プラゾシンの各 α_1 -ARサブタイプに対するKd値(解離定数)を求めた. 次に, 置換実験により各薬物の[³H]-プラゾシン結合に対する阻害曲線を作成したのち, 各薬物のIC₅₀値(50%阻害濃度)を算出した. 阻害曲線に用いた[³H]-プラゾシンの濃度(L), 得られたIC₅₀値, Kd値を用いて, 次式よりシロドシン及び各種 α_1 -AR遮断薬のKi値(阻害定数)を算出した.

$$Ki = \frac{IC_{50}}{1 + \frac{L}{Kd}}$$

さらに, Ki値の負対数値としてpKi値に変換後, 各 α_1 -ARサブタイプのpKi値より α_{1B} -ARに対する α_{1A} -及び α_{1D} -ARサブタイプ選択性を, それぞれ α_{1A}/α_{1B} 比及び α_{1D}/α_{1B} 比として算出した.

機能的薬理試験においては, 得られたデータをSchild解析し,¹⁰⁾ 以下の式によりpA₂値(刺激薬単独作用時の濃度—反応曲線を2倍だけ高濃度側に平

行移動させるのに必要な競合的遮断薬のモル濃度の負対数値)及びSchild plotの傾きを算出した.

$$pA_2 = \log(CR - 1) - \log[B]$$

CR: 薬物処置前及び処置後の濃度—反応曲線のEC₅₀値(50%収縮率を与えるNAの濃度)の比,

B: 処置した薬物濃度

なお, pA₂値が算出できない場合には, Schild解析を行わず, 処置した最低濃度の濃度—反応曲線よりpKb値(競合的遮断薬と受容体との結合の解離定数の負対数値)を算出した. さらに, 各種組織のpA₂又はpKb値より, 下部尿路選択性を求めた.

結 果

1. ヒト α_1 -ARサブタイプ受容体結合試験 ヒト α_1 -ARサブタイプ受容体結合試験の結果, [³H]-プラゾシンは100—3000 pmol/lにかけて飽和結合を示した. α_{1A} -, α_{1B} -及び α_{1D} -ARに対する[³H]-プラゾシンのKd値はそれぞれ, 116.1±4.5, 27.4±1.2及び69.1±3.8 pmol/lであった.

シロドシン及び各種 α_1 -AR遮断薬の各 α_1 -ARサブタイプ(α_{1A} -, α_{1B} -及び α_{1D} -AR)に対するKi値及び α_{1A} -AR選択性をTable 1に示す. α_{1A} -ARに対するKi値は塩酸タムスロシン(0.012 nmol/l)≥シロドシン(0.039 nmol/l)>塩酸プラゾシン(0.12 nmol/l)≥WB4101(0.17 nmol/l)>ナフトピジル(23 nmol/l)>BMY7378(75 nmol/l)の順であり, シロドシンは塩酸タムスロシンに次ぐ高い親和性を示した. 一方, ヒト α_{1B} -ARに対するKi値は塩酸プラゾシン(0.028 nmol/l)>塩酸タムスロシン(0.12 nmol/l)>WB4101(1.1 nmol/l)>シロドシン(6.5 nmol/l)≥ナフトピジル(7.8 nmol/l)>

Table 1. Affinity and Selectivity for Human α_1 -AR Subtype of Silodosin and Other α_1 -AR Antagonists

Compound	Ki value (nmol/l)			α_1 -AR subtype selectivity ^{a)}	
	α_{1A} -AR	α_{1B} -AR	α_{1D} -AR	α_{1A}/α_{1B} ratio	α_{1D}/α_{1B} ratio
Silodosin	0.039±0.006	6.5±0.6	2.2±0.1	162	2.95
Tamsulosin hydrochloride	0.012±0.002	0.12±0.00	0.030±0.005	9.55	3.80
Naftopidil	23±7	7.8±0.0	4.4±0.4	0.372	1.78
Prazosin hydrochloride	0.12±0.01	0.028±0.002	0.078±0.007	0.204	0.316
WB4101 hydrochloride	0.17±0.01	1.1±0.1	0.22±0.04	6.03	5.01
BMY7378 dihydrochloride	75±21	28±7	0.43±0.06	0.389	64.6

The Ki value in the Table presents the mean±standard error of 3 experiments. a) The subtype selectivity (α_{1A}/α_{1B} and α_{1D}/α_{1B} ratios) was calculated from the ratio after converting the concentration, specifically, using 10^M [M=pKi (α_{1A} or α_{1D})-pKi (α_{1B})].

BMY7378 (28 nmol/l) の順, また, ヒト α_{1D} -AR に対するそれは塩酸タムスロシン (0.030 nmol/l) \geq 塩酸プラゾシン (0.078 nmol/l) $>$ WB4101 (0.22 nmol/l) \geq BMY7378 (0.43 nmol/l) $>$ シロドシン (2.2 nmol/l) \geq ナフトピジル (4.4 nmol/l) の順であり, シロドシンの α_{1B} -及び α_{1D} -AR に対する親和性は α_{1A} -AR に対するそれに比較して低値を示した. また, α_{1A} -AR への選択性を比較したところ, α_{1A}/α_{1B} 比はシロドシン (162) $>$ 塩酸タムスロシン (9.55) \geq WB4101 (6.03) $>$ BMY7378 (0.389) \geq ナフトピジル (0.372) \geq 塩酸プラゾシン (0.204) の順, α_{1D}/α_{1B} 比は BMY7378 (64.6) $>$ WB4101 (5.01) \geq 塩酸タムスロシン (3.80) \geq シロドシン (2.95) \geq ナフトピジル (1.78) $>$ 塩酸プラゾシン (0.316) の順であり, シロドシンは比較した α_1 -AR 遮断薬の中で最も高い α_{1A} -AR 選択性を示した.

2. 各種摘出組織における NA 誘発収縮に対する作用 ウサギ摘出前立腺, ラット摘出脾臓及びラット摘出胸部大動脈の NA に対する濃度-反応曲線をそれぞれ Figs. 1-3 に示す. いずれも各種摘出組織における NA 誘発収縮の濃度-反応曲線を濃度依存的に右方シフトさせた.

シロドシン及び各種 α_1 -AR 遮断薬の各種摘出組織における pA_2 又は pKb 値及び Schild plot の傾きを Table 2 に示す. ウサギ摘出前立腺に対する pA_2 又は pKb 値は塩酸タムスロシン (9.93) \geq シロドシン (9.60) $>$ 塩酸プラゾシン (7.91) $>$ ナフトピジル (6.69) の順であった. ウサギ摘出尿道及び膀胱三角部においても同様な反応性を示した. 一方, ラット摘出脾臓に対する pA_2 値は塩酸プラゾシン (9.34) $>$ 塩酸タムスロシン (8.64) $>$ シロドシン (7.15) $>$ ナフトピジル (6.30) の順, ラット摘出胸部大動脈に対する pA_2 値は塩酸タムスロシン (9.82) $>$ 塩酸プラゾシン (9.17) $>$ シロドシン (7.88) \geq ナフトピジル (7.48) の順であり, シロドシンの脾臓及び胸部大動脈に対する pA_2 値は下部尿路に対する pA_2 又は pKb 値に比較して低値を示した.

シロドシン及び各種 α_1 -AR 遮断薬の各種摘出組織に対する pA_2 又は pKb 値より求めた下部尿路選択性を Table 3 に示す. 脾臓に対する前立腺への選択性は, シロドシン (282) $>$ 塩酸タムスロシン (19) $>$ ナフトピジル (2.5) $>$ 塩酸プラゾシン (0.04) の順, 胸部大動脈に対する前立腺への選択性もシロド

シン (52) $>$ 塩酸タムスロシン (1.3) $>$ ナフトピジル (0.2) $>$ 塩酸プラゾシン (0.05) の順であり, シロドシンは比較した α_1 -AR 遮断薬の中で最も高い前立腺への選択性を示した. また, 尿道及び膀胱三角部への選択性も前立腺へのそれと同様であった.

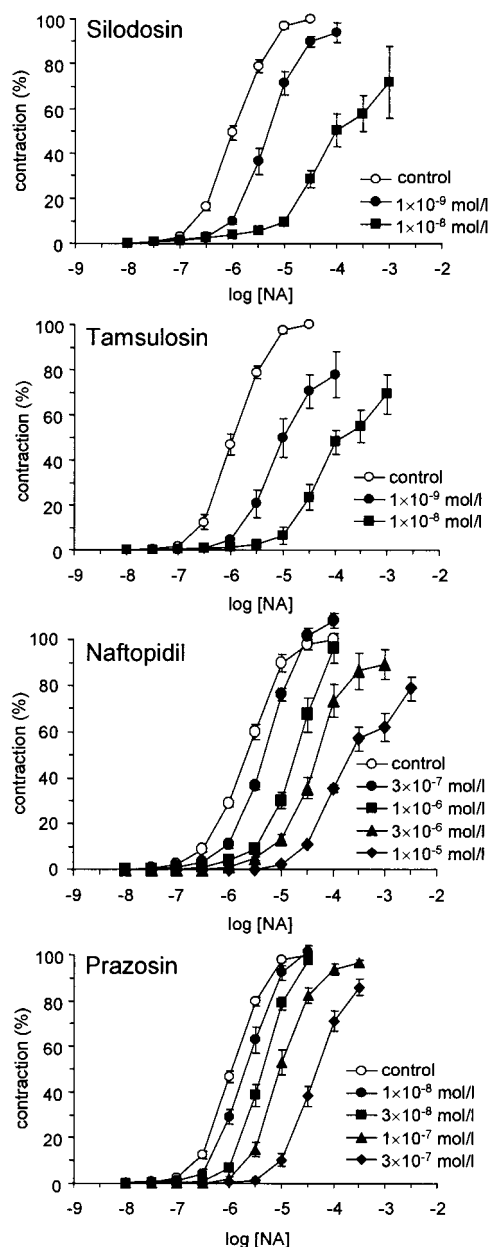


Fig. 1. Effects of Silodosin, Tamsulosin, Naftopidil and Prazosin on Noradrenaline-induced Rabbit Prostatic Contraction

Concentration-response curves, expressed as percentages of the maximum contraction elicited by noradrenaline, were obtained in the absence (open circles) or presence (closed symbols) of increasing concentrations of each antagonist equilibrated with the tissue for 1 h. Each point represents the mean \pm S.E. of data from at 4 preparations. NA: noradrenaline, [NA] represents the concentration of noradrenaline (mol/l).

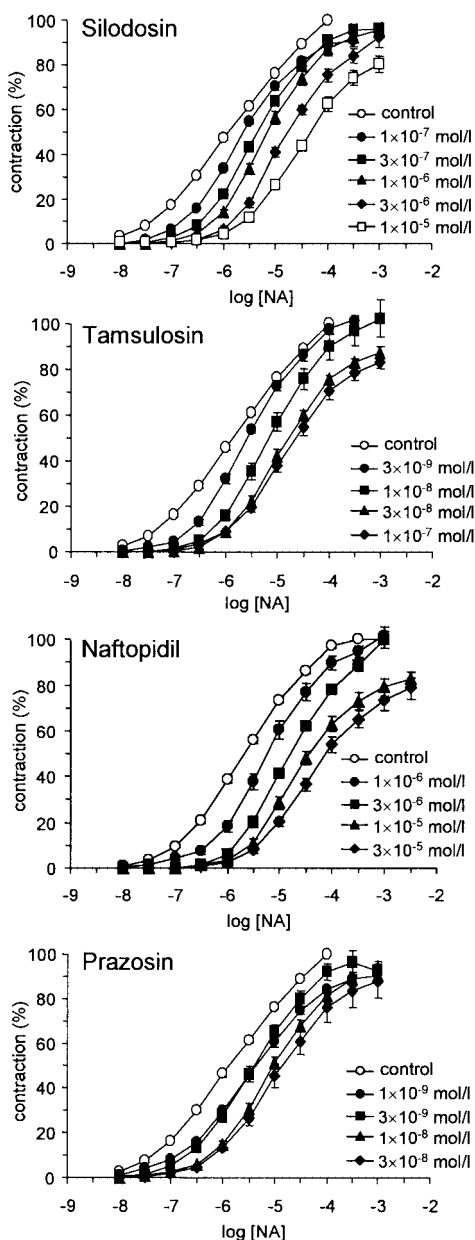


Fig. 2. Effects of Silodosin, Tamsulosin, Naftopidil and Prazosin on Noradrenaline-induced Rat Spleen Contraction

Concentration-response curves, expressed as percentages of the maximum contraction elicited by noradrenaline, were obtained in the absence (open circles) or presence (closed symbols) of increasing concentrations of each antagonist equilibrated with the tissue for 1 h. Each point represents the mean \pm S.E. of data from at 5 preparations. NA: noradrenaline, [NA] represents the concentration of noradrenaline (mol/l).

考 察

シロドシンの α_1 -AR サブタイプ選択性及び臓器特異性を *in vitro* 試験において検討し、他の各 α_1 -AR 遮断薬のそれらと比較した。

ヒト α_1 -AR サブタイプ (α_{1A} -, α_{1B} -, α_{1D} -AR) をそれぞれ発現させたマウス由来の LM (tk-) 細胞の

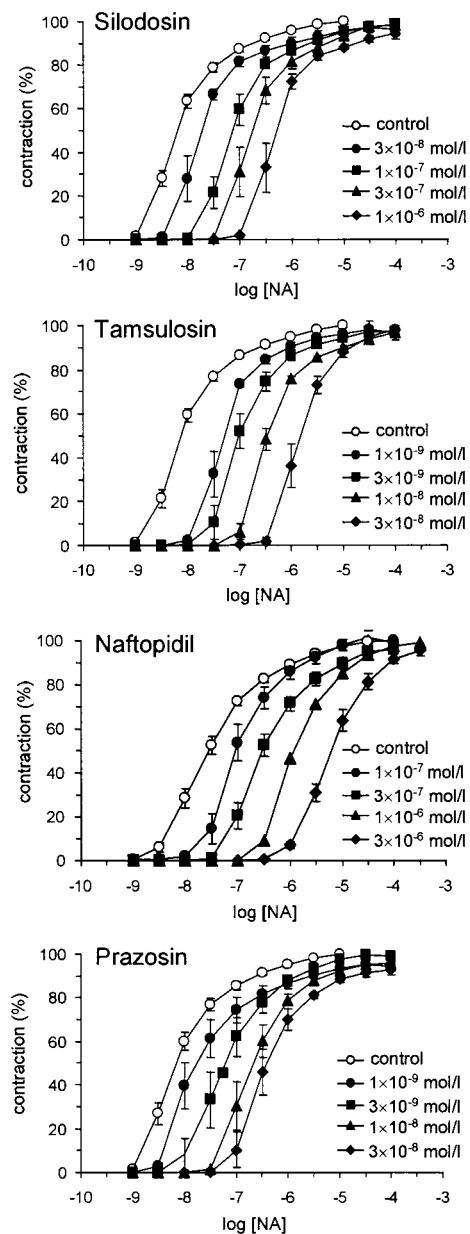


Fig. 3. Effects of Silodosin, Tamsulosin, Naftopidil and Prazosin on Noradrenaline-induced Rat Thoracic Aorta Contraction

Concentration-response curves, expressed as percentages of the maximum contraction elicited by noradrenaline, were obtained in the absence (open circles) or presence (closed symbols) of increasing concentrations of each antagonist equilibrated with the tissue for 1 h. Each point represents the mean \pm S.E. of data from at 5 preparations. NA: noradrenaline, [NA] represents the concentration of noradrenaline (mol/l).

膜分画を用いた受容体結合試験において、WB4101 は α_{1A} -及び α_{1D} -AR に、BMY7378 は α_{1D} -AR に高い親和性を示した。WB4101 及び BMY7378 はそれぞれ、古典的な α_{1A} / α_{1D} -AR 遮断薬並びに α_{1D} -AR 遮断薬であること、また、本試験の結果が過去の報告¹¹⁻¹³⁾と一致することから、本試験系は妥当であ

Table 2. pA_2 or pK_b Values of Silodosin, Tamsulosin Hydrochloride, Naftopidil and Prazosin Hydrochloride for Noradrenaline-induced Contraction in the Isolated Rabbit Prostate, Isolated Rabbit Urethra, Isolated Rabbit Trigone of Bladder, Isolated Rat Spleen and Isolated Rat Thoracic Aorta

Compound	pA_2 or pK_b values				
	α_{1A} -AR		α_{1B} -AR		α_{1D} -AR
	Prostate ^{a)}	Urethra ^{a)}	Bladder trigone ^{a)}	Spleen ^{b)}	Thoracic aorta ^{b)}
Silodosin	9.60±0.05 ^{c)}	8.71±0.09 (0.98±0.32)	9.35±0.15 ^{c)}	7.15±0.05 (0.67±0.09*)	7.88±0.05 (1.00±0.18)
Tamsulosin hydrochloride	9.93±0.07 ^{c)}	9.00±0.06 (1.16±0.27)	9.48±0.14 ^{c)}	8.64±0.06 (0.61±0.18*)	9.82±0.06 (0.91±0.20)
Naftopidil	6.69±0.05 ^{c)} (1.13±0.21)	6.48±0.11 (0.93±0.39)	6.80±0.07 (0.91±0.25)	6.30±0.07 (0.69±0.23)	7.48±0.06 (1.14±0.23)
Prazosin hydrochloride	7.91±0.02 (1.08±0.09)	7.96±0.04 (0.85±0.13*)	8.10±0.05 (0.97±0.18)	9.34±0.13 (0.56±0.26*)	9.17±0.06 (1.11±0.23)

Each value in the Table presents mean±S.E. of 4–5 animals. Each value in a parenthesis presents the slope of the Schild plot. a) Rabbits, b) Rats, c) pK_b value. *: $p<0.05$: Significantly different from the unity at $p<0.05$ by paired-*t* test.

Table 3. Selectivity for the Lower Urinary Tract of Silodosin, Tamsulosin Hydrochloride, Naftopidil and Prazosin Hydrochloride

Compound	Selectivity for the lower urinary tract ^{a)}					
	Prostate		Urethra		Bladder trigone	
	vs. Spleen	vs. Aorta	vs. Spleen	vs. Aorta	vs. Spleen	vs. Aorta
Silodosin	282	52	36	6.8	158	30
Tamsulosin hydrochloride	19	1.3	2.3	0.2	6.9	0.5
Naftopidil	2.5	0.2	1.5	0.1	3.2	0.2
Prazosin hydrochloride	0.04	0.05	0.04	0.06	0.06	0.09

a) The selectivity for the lower urinary tract means the ratio after converting the concentration, specifically, using 10^M ($M=pA_2$ or pK_b (prostate, urethra or trigone of bladder) – pA_2 (spleen or aorta)).

ったと考えられる。

本試験において、シロドシンは α_{1A} -AR に対して強い親和性を示し、 α_{1B} -AR の 162 倍、 α_{1D} -AR の 55 倍 (Table 1 の値, 162/2.95 より算出した) と、極めて高い値を示したことから、 α_{1A} -AR に選択性があると考えられる。他の α_1 -AR 遮断薬である塩酸タムスロシン及び塩酸プラゾシンの各種 α_1 -AR サブタイプに対する親和性は、過去の報告^{11,12)} とほぼ同様の結果であった。一方、ナフトピジルにおいては、 α_{1A} - 及び α_{1B} -AR に対する K_i 値及び α_{1B} -AR に対する α_{1A} -AR 選択性が Takei らの報告¹⁴⁾ と異なっていた。これは標識リガンドなどの実験条件の違いによると考えられるが、本試験で得られたナフトピジルの α_{1A} -AR に対する K_i 値は、 α_{1A} -AR が豊富に存在するヒト前立腺組織膜標本を用いて得られたそれ¹⁵⁾ とほぼ一致していること、さらにナフトピジ

ルが α_1 -AR サブタイプの中で α_{1D} -AR に高い親和性を有すること¹⁴⁾ が確認できたことから、本試験にて得られたナフトピジルの K_i 値は妥当な結果であると思われる。

機能的薬理試験において、シロドシンは α_{1A} -AR サブタイプが豊富に存在するウサギ摘出下部尿路組織 (前立腺、尿道及び膀胱三角部) の NA 誘発収縮を濃度依存的に抑制し、その強さは塩酸タムスロシン \geq シロドシン $>$ 塩酸プラゾシン $>$ ナフトピジルの順であった。前立腺及び膀胱三角部において、高濃度のシロドシンは NA の最大収縮を低下させたが、この現象は、フェニレフリン誘発収縮の塩酸タムスロシンによる抑制作用において見られたものと同様であり、^{16,17)} 半平衡状態を反映しているものと考えられる。一方、 α_{1B} -AR が豊富に存在するラット摘出脾臓の NA 誘発収縮に対する拮抗作用の強

さは塩酸プラゾシン>塩酸タムスロシン>シロドシン>ナフトピジルの順, また, α_{1D} -AR が豊富に存在する胸部大動脈のそれは塩酸タムスロシン>塩酸プラゾシン>シロドシン \geq ナフトピジルの順であり, ヒト α_1 -AR 発現細胞を用いたサブタイプ親和性と同傾向を示したことから, シロドシンは機能的にも α_{1B} -及び α_{1D} -AR に比較して α_{1A} -AR に高親和性を示すことが示唆された. Yamagishi ら¹⁶⁾は既にウサギ摘出前立腺において, シロドシンが α_1 -AR 刺激薬であるフェニレフリンにより誘発した収縮に対しては塩酸タムスロシンに匹敵する拮抗作用を示すが, ラット摘出胸部大動脈に対する拮抗作用は塩酸タムスロシンに比較して弱いことを報告した. 本試験において, 神経伝達物質である NA により誘発した収縮に対してもシロドシンはフェニレフリンに対する拮抗作用と同様な作用を示した. したがって, シロドシンは下部尿路組織の α_{1A} -AR に選択的に結合して NA による α_{1A} -AR を介した収縮を抑制し, 下部尿路組織平滑筋の緊張を緩和することが示唆された.

以上の結果から, シロドシンは α_{1A} -AR 選択的な遮断薬であることが判明した.

現在までにクローニングされた3種の α_1 -AR サブタイプは, 塩酸プラゾシンに高親和性である α_{1H} と, 低親和性である α_{1L} に区分する方法が提唱されている.^{18,19)}分子生物学的に同定こそされていないものの, ヒト前立腺及び尿道平滑筋組織中には α_{1L} が多く存在していることが報告されている.^{20,21)}本試験において, 塩酸プラゾシンのウサギ下部尿路組織に対する親和性は α_{1A} -AR 発現細胞のそれに比較して低かったことから, この組織中に α_{1L} が多く存在していることが考えられる. ウサギ下部尿路組織はヒトでの報告と同様に α_{1L} が収縮に関与することから,²²⁾本試験の結果から, シロドシンはヒト摘出前立腺の NA 誘発収縮に対しても同作用を示すと考えられる.

いずれにしても, シロドシンは選択的 α_{1A} -AR 遮断薬であり, 塩酸タムスロシン, ナフトピジル及び塩酸プラゾシンはそれぞれ, α_{1A}/α_{1D} -, α_{1D} -及び非選択的 α_1 -AR 遮断薬であることが検証された. したがって, シロドシンは下部尿路の α_{1A} -AR に極めて高い選択的を示し, 前立腺肥大症に伴う排尿障害の優れた改善剤となり得ることが示唆された.

謝辞 本研究の実施にあたり, ご協力を賜りましたキッセイ薬品工業株式会社 秋山克良博士, 村田 聡氏, 浅利哲也氏, 井上俊浩氏に深く感謝致します.

REFERENCES

- Hieble J. P., Bylund D. B., Clarke D. E., Eikenburg D. C., Langer S. Z., Lefkowitz R. J., Minneman K. P., Ruffolo Jr. R. R., *Pharmacol. Rev.*, **47**, 267-270 (1995).
- Price D. T., Schwinn D. A., Lomasney J. W., Allen L. F., Caron M. G., Lefkowitz R. J., *J. Urol.*, **50**, 546-551 (1993).
- Nasu K., Moriyama N., Fukasawa R., Tsujimoto G., Tanaka T., Yano J., Kawabe K., *Br. J. Pharmacol.*, **123**, 1289-1293 (1998).
- Walden P. D., Durkin M. M., Lepor H., Wetzel J. M., Gluchowski C., Gustafson E. L., *J. Urol.*, **157**, 1032-1038 (1997).
- Hatano A., Takahashi H., Tamaki M., Komeyama T., Koizumi T., Takeda M., *Br. J. Pharmacol.*, **113**, 723-728 (1994).
- Honda K., Miyata-Osawa A., Takenaka T., *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, **330**, 16-21 (1985).
- Burt R. P., Chapple C. R., Marshall I., *Br. J. Pharmacol.*, **115**, 467-475 (1995).
- Burt R. P., Chapple C. R., Marshall I., *Br. J. Pharmacol.*, **116**, 2327-2333 (1995).
- Kenny B. A., Chalmers D. H., Philpott P. C., Naylor A. M., *Br. J. Pharmacol.*, **115**, 981-986 (1995).
- Arunlakshana O., Schild H. O., *Br. J. Pharmacol.*, **14**, 48-58 (1959).
- Ford A. P., Daniels D. V., Chang D. J., Gever J. R., Jasper J. R., Lesnick J. D., Clarke D. E., *Br. J. Pharmacol.*, **121**, 1127-1135 (1997).
- Testa R., Guarneri L., Angelico P., Poggesi E., Taddei C., Sironi G., Colombo D., Sulpizio A. C., Naselsky D. P., Hieble J. P., Leonardi A., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **281**, 1284-1293 (1997).
- Yoshio R., Taniguchi T., Itoh H., Muramatsu I., *Jpn. J. Pharmacol.*, **86**, 189-195 (2001).
- Takei R., Ikegaki I., Shibata K., Tsujimoto G., Asano T., *Jpn. J. Pharmacol.*, **79**, 447-454 (1999).
- Yamada S., Suzuki M., Kato Y., Kimura R.,

- Mori R., Matsumoto K., Maruyama M., Kawabe K., *Life Sci.*, **50**, 127–135 (1992).
- 16) Yamagishi R., Akiyama K., Nakamura S., Hora M., Masuda N., Matsuzawa A., Murata S., Ujiie A., Kurashina Y., Iizuka K., Kitazawa M., *Eur. J. Pharmacol.*, **315**, 73–79 (1996).
- 17) Takayanagi I., Konno F., Toru T., Takahashi R., *Jpn. J. Pharmacol.*, **42**, 237–241 (1986).
- 18) Muramatsu I., Ohmura T., Kigoshi S., Hashimoto S., Oshita M., *Br. J. Pharmacol.*, **99**, 197–201 (1990).
- 19) Ford A. P., Williams T. J., Blue D. R., Clarke D. E., *Trends Pharmacol. Sci.*, **15**, 167–170 (1994).
- 20) Langer S. Z., *Eur. Urol.*, **36**, 2–6 (1999).
- 21) Taniguchi N., Ukai Y., Tanaka T., Yano J., Kimura K., Moriyama N., Kawabe K., *Nauyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.*, **355**, 412–416 (1997).
- 22) Hiraoka Y., Ohmura T., Sakamoto S., Hayashi H., Muramatsu I., *J. Auton. Pharmacol.*, **15**, 271–278 (1995).