

前立腺肥大イヌの下腹神経刺激尿道内圧上昇に対するシロドシン (KMD-3213) の作用

富山愛隆,^{*,a} 立道 聡,^a 忠地真利子,^a 小林真也,^a
林 守道,^b 小林 護,^a 山崎芳伸,^a 柴田信男^a

Effect of Silodosin on Intraurethral Pressure Increase Induced by Hypogastric Nerve Stimulation in Dogs with Benign Prostatic Hyperplasia

Yoshitaka TOMIYAMA,^{*,a} Satoshi TATEMICHII,^a Mariko TADACHI,^a Shinya KOBAYASHI,^a
Morimichi HAYASHI,^b Mamoru KOBAYASHI,^a Yoshinobu YAMAZAKI,^a and Nobuo SHIBATA^a

^aPharmacology Research Laboratory, R&D, Kissei Pharmaceutical Co., Ltd., 4365-1 Kashiwabara, Hotaka, Azumino City 399-8304, Japan, and ^bToxicology Research Laboratory, R&D, Kissei Pharmaceutical Co., Ltd., 2320-1 Maki, Hotaka, Azumino City 399-8305, Japan

(Received September 26, 2005; Accepted November 2, 2005)

We compared the urethral and cardiovascular effects of silodosin (selective α_{1A} -adrenoceptor antagonist), a novel medication for benign prostatic hyperplasia (BPH), with those of tamsulosin (selective α_{1A}/α_{1D} -adrenoceptor antagonist) and naftopidil (selective α_{1D} -adrenoceptor antagonist). We evaluated the effects of these three drugs on the increase in intraurethral pressure (IUP) induced by electrical stimulation of the hypogastric nerve in anesthetized dogs with spontaneous BPH. All three drugs dose-dependently reduced both the increase in IUP and the mean blood pressure (MBP). The rank order of potencies was tamsulosin > silodosin > naftopidil for the reductions in both IUP and MBP. However, the uroselectivity (ED_{15} value for hypotensive effect/ ID_{50} value for reduction in IUP) of silodosin (uroselectivity, 19.8) was about 21 and 4 times higher than that of tamsulosin (0.939) and naftopidil (4.94), respectively. These data suggest that silodosin might be one of the most useful medications for dysuria in BPH patients.

Key words—silodosin (KMD-3213); α_{1A} -adrenoceptor; benign prostatic hyperplasia; intraurethral pressure

緒 言

雄性のイヌは、加齢により特異的に前立腺肥大を呈することが報告されている動物種である。さらに前立腺癌への移行も、頻度こそヒトのそれと比較して少ないものの認められることから、イヌは前立腺肥大症及び前立腺癌の研究のための重要なモデル動物とされている。¹⁾ 前立腺が過剰に肥大したイヌは、ヒトのそれと同様に排尿困難といった臨床徴候を示し、¹⁾ 腺性過形成や間質性過形成といった形態学的な類似性も報告されている。^{2,3)} このように前立腺肥大イヌを用いた薬効評価は、前立腺肥大に伴う排尿障害の治療薬開発に際して、ヒトにおける薬物の有用性を検証する手段として有用であると考えられている。

本研究は前立腺肥大イヌの下腹神経刺激尿道内圧上昇に対する、新規選択的 α_{1A} -アドレナリン受容体 (AR) 遮断薬であるシロドシン (開発コード名: KMD-3213) の作用を、塩酸タムスロシン (α_{1A}/α_{1D} -AR 遮断薬) 及びナフトピジル (α_{1D} -AR 遮断薬) のそれと比較検討した。

実験材料及び方法

1. 使用動物 獣医の触診により前立腺肥大と診断されたビーグル犬 (11.5—16.6 kg, 79—114 ヲ月齡, 日本農産工業株式会社, 横浜; エスエルジー株式会社, 東京; オリエンタル酵母株式会社, 東京) 及び雄性正常ビーグル犬 (9.6—11.8 kg, 16—19 ヲ月齡, エスエルジー株式会社) を使用した。動物は室温 (21—26°C), 恒湿 (約 40—65%), 12 時間の照明サイクルの環境下で飼育した。なお本研究は、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

^aキッセイ薬品工業株式会社開発研究部薬理研究所,

^b同安全性研究所

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

(141 巻, 1987 年) に準拠して実施した。

2. 使用薬物 実験にはシロドシン ((-)-1-(3-Hydroxypropyl)-5-[(2*R*)-2-({2-[2-(2,2,2-trifluoroethoxy)phenoxy]ethyl}amino)propyl]-2,3-dihydro-1*H*-indole-7-carboxamide), 塩酸タムスロシン ((-)-(*R*)-5-[2-[[2-(*o*-ethoxyphenoxy)ethyl]amino]propyl]-2-methoxybenzenesulfonamide-hydrochloride), ナフトピジル ((±)-1-[4-(2-methoxyphenyl)piperazinyl]-3-(1-naphthyl)propan-2-ol) (以上, キッセイ薬品工業株式会社, 松本), ネブタール注射液 (大日本製薬株式会社), 乳酸リンゲル液 (菱山製薬株式会社), 生理食塩液 (大塚製薬工場株式会社), 流動パラフィン (ナカライテスク株式会社), ヘパリンナトリウム注射液 (アベンティスファーマ株式会社), ブドウ糖-電解質溶液 (テルモ株式会社) を使用した。シロドシンは乳酸リンゲル液, 塩酸タムスロシンは生理食塩液, ナフトピジルは 0.1 mol/l リン酸バッファーにそれぞれ溶解した。

3. 操作方法 導入麻酔として, イヌにペントバルビタール (約 30 mg/kg) を, 橈側皮静脈より投与した。背位に固定後, 気管カニューレを挿管して気道を確保した。気管カニューレをレスピレータ (SN-480-3, シナノ製作所株式会社, 東京; 使用条件 Volume: 20 ml/kg, Frequency: 20 回/分) に接続して人工呼吸を行った。維持麻酔として, 左橈側皮静脈に留置したカニューレより, ペントバルビタールを 2–5 mg/kg/h で持続注入した。

腹部を正中線に沿って切開し, ペニスを腹壁から剥離した。恥骨結合部を露出し, 骨盤内臓器を露呈した。両側尿管にカニューレを挿入し, 尿ドレナージを行った。前立腺部尿道内圧は, 尿道口より逆行性に圧トランスデューサ (CTO-1: 6 Fr, ゲールテック) を挿入し, 圧感知部を前立腺部尿道に留置し, ひずみ圧カンプ (AP-601G, 日本光電工業株式会社, 東京) を介して測定した。

下腹神経を腹膜より剥離後, 腸管膜神経叢より末梢側で両側とも切断し, 片側にステンレス製 2 芯シールド電極 (SS-3, ナリシゲ) を取り付けた。腹腔内に約 37°C に加温した流動パラフィンを流し込み, 電極が他の臓器と接触, あるいは漏電しないようにした。電気刺激装置 (SEN-7203, 日本光電工業株式会社, 東京) により, 電圧 10 V, パルス幅 5

ms, 周波数 10 Hz の矩形波電流を 10 分毎に 1 回, 5 秒間通電して電気刺激を行い, 尿道内圧上昇を惹起した。尿道内圧及び膀胱内圧はオムニエース (日本 GE マルケットメディカルシステム株式会社, 東京) 上に記録した。血圧は, 左大腿動脈にヘパリン加生理食塩液を満たしたカニューレを挿入し, 圧トランスデューサ (DT-XX, オメダ株式会社) を介してひずみ圧カンプに導出し, 心拍数はその脈波を瞬時心拍計ユニットに導入してオムニエース上に記録した。

血圧, 心拍数及び下腹神経電気刺激により惹起された一過性の尿道内圧上昇が安定したのち, 薬物を低用量より 30 分毎に用量漸増法にて右橈側皮静脈より投与した。なお, 薬物一用量につき下腹神経刺激を 10 分毎に 3 回施行し, 最大抑制効果が得られた値を尿道内圧抑制作用とした。平均血圧低下作用は最も低下した値を薬物投与前の値で除して百分率により表示した。

4. 病理組織切片の作製 試験終了後に過剰量のペントバルビタールを静脈内に投与し, イヌを安楽死させた。直ちに前立腺を摘出し, 湿重量を測定したのち, 10%リン酸緩衝ホルマリンに入れて固定を行った。パラフィン包埋後, 組織切片を作製してヘマトキシリン・エオジン染色を行った。

5. データ解析 薬物投与前の尿道内圧上昇値を 100% とし, 各用量投与後の尿道内圧上昇値をそれぞれ百分率で表し, ID₅₀ 値 (尿道内圧上昇を 50% 抑制する薬物の投与用量) を算出した。薬物投与前の平均血圧を 100% とし, 薬物投与後の平均血圧をそれぞれ百分率で表し, ED₁₅ 値 (平均血圧を 15% 低下させる薬物の投与用量) を算出した。データはすべて平均値 ± 平均値の標準誤差 (S.E.) で示した。正常イヌ群の値と前立腺肥大イヌ群の値との比較には unpaired Student's *t*-test を使用した。統計的な有意差は $p < 0.05$ で示した。

結 果

1. 前立腺湿重量及び組織学的所見 使用したイヌの月齢, 体重及び前立腺湿重量を Table 1 に示す。前立腺肥大イヌの月齢は 94.6 ヶ月, 前立腺湿重量は 28.5 g であり, 正常イヌのそれら (17.5 ヶ月, 10.1 g) と比較して有意に高かった。

正常イヌでの前立腺組織像を Fig. 1(a) に示す。

前立腺肥大イヌの前立腺組織光顕所見より、前立腺上皮組織の明らかな過形成、間質細胞の増加、嚢胞状拡張及び局在性萎縮が認められた (Fig. 1(b)).

2. 尿道内圧 (IUP), 平均血圧 (MBP) 及び心

拍数 (HR) に対する作用 前立腺肥大イヌの薬物投与前の下腹神経刺激により惹起した IUP 上昇作用は、正常イヌのそれよりも有意に高かった (Table 2). 一方、この時の MBP 及び HR に関し

Table 1. Prostate Wet Weight in BPH (Benign Prostatic Hyperplasia) and Normal Dogs

Group	N	Age (months)	Body weight (kg)	Prostate weight (g)
Normal dog	4	17.5±0.6	11.2±0.5	10.1±0.81
BPH dog	12	94.6±3.6*	14.3±0.4*	28.5±4.0*

* $p < 0.05$ versus normal dog group.

Table 2. IUP, MBP, and HR before Drug Administration in BPH and Normal Dogs

Group	N	IUP (cmH ₂ O)	MBP (mmHg)	HR (beats/min)
Normal dog	4	23.9±3.1	120.0±11.8	172.8±15.6
BPH dog	12	96.4±6.6*	133.6±5.7	171.0±7.2

* $p < 0.05$ versus normal dog group. IUP: intraurethral pressure, MBP: mean blood pressure, HR: heart rate.

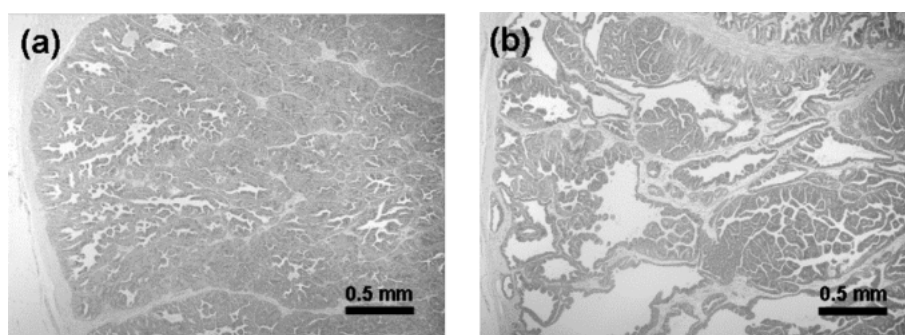


Fig. 1. Typical Light Microscope Images of Prostate
(a) Normal dog, (b) Benign prostatic hyperplasia (BPH) dog.

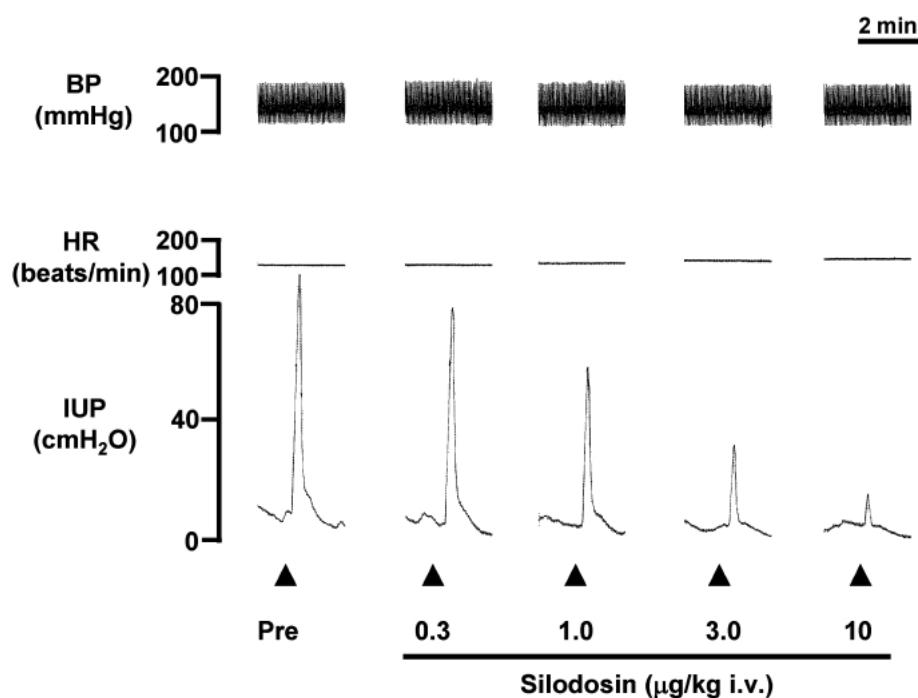


Fig. 2. Typical Tracings of IUP, BP and HR before and after Intravenous Administration of Silodosin in Anesthetized BPH Dog
Arrow: Electrical stimulation of hypogastric nerve.

ては、前立腺肥大群と正常群の間に有意な差が認められなかった (Table 2).

Figure 2 は IUP, BP 及び HR に対するシロドシンの作用の代表例を示す. Figure 3 は各薬物の用量-反応曲線を示す. シロドシン, 塩酸タムスロシン及びナフトピジルの静脈内投与により, 用量依存的な IUP 上昇の抑制及び MBP 低下作用が示された (Fig. 3). 各薬物の IUP 上昇抑制作用に関する ID_{50} 値 (IUP を 50% 抑制する用量) は塩酸タムスロシンでは $0.855 \mu\text{g}/\text{kg}$, *i.v.*, シロドシンでは $1.97 \mu\text{g}/\text{kg}$, *i.v.*, ナフトピジルでは $35.3 \mu\text{g}/\text{kg}$, *i.v.* であった. 一方, MBP 低下作用に関する ED_{15} 値 (MBP の 15% 低下作用を示す用量) は塩酸タムスロシンでは $0.736 \mu\text{g}/\text{kg}$, *i.v.*, シロドシンでは $35.9 \mu\text{g}/\text{kg}$, *i.v.*, ナフトピジルでは $156 \mu\text{g}/\text{kg}$, *i.v.* であった.

シロドシンの下部尿路選択性 (ED_{15}/ID_{50}) は 19.8 であり, 塩酸タムスロシンでは 0.939 であり, ナフトピジルでは 4.94 であった (Table 3).

考 察

加齢により自然発症した前立腺肥大イヌは, 抗アンドロゲン剤⁴⁾や 5α 還元酵素阻害剤⁵⁾などの前立腺

Table 3. Effects of Drugs on IUP, MBP and in BPH Dogs

Drugs	N	IUP ID_{50} ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	MBP ED_{15} ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Uroselectivity (ED_{15}/ID_{50})
Silodosin	4	1.97	35.9	19.8
Tamsulosin	4	0.855	0.736	0.939
Naftopidil	4	35.3	156	4.94

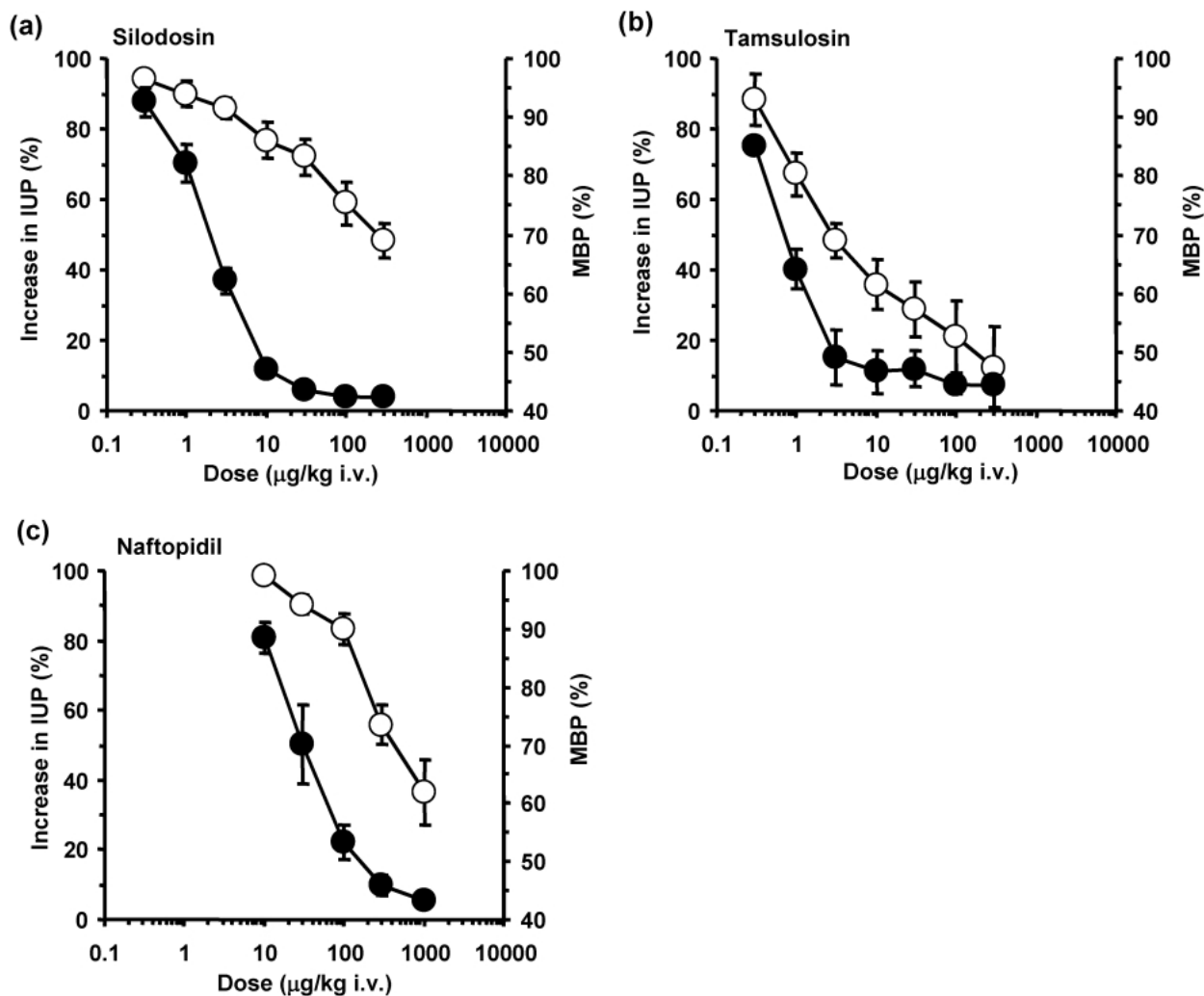


Fig. 3. Effects of Silodosin, Tamsulosin and Naftopidil on IUP (●) and MBP (○) in Anesthetized BPH Dogs. Data represent mean \pm S.E. of 4 experiments.

肥大症治療薬の評価に広く利用されている。しかしながら、前立腺肥大症に伴う排尿困難の治療剤として汎用される α_1 -AR 遮断薬の薬効評価に前立腺肥大イヌを使用した報告はない。したがって、本研究では麻酔下での前立腺肥大イヌの下腹神経刺激尿道内圧上昇に対する各種 α_1 -AR 遮断薬（シロドシン、塩酸タムスロシン、ナフトピジル）の作用を検討した。

本研究に使用した前立腺肥大イヌは、その最も特徴的な病理所見の1つである前立腺上皮の過形成⁴⁾が観察されたことから、病理組織学的にも前立腺肥大であることが確認された。さらに、イヌの年齢、系統及び体重により多少の相違はあるものの、正常イヌ前立腺重量は体重当たり約 0.7 g/kg 以下と報告されており、¹⁾ 本試験の前立腺肥大イヌでは約 2.0 g/kg であり、正常イヌのそれよりも高値を示した。前立腺重量増加は、前立腺体積の増加を反映すると報告されている⁶⁾ことから、今回使用した前立腺肥大イヌでは、ヒトの前立腺肥大症に伴う下部尿路閉塞の一因である尿道の物理的圧迫（機械的閉塞）が起きていたと推察される。また本研究で使用した前立腺肥大イヌにおいて、下腹神経刺激により上昇した IUP 値は正常イヌのそれと比較して有意に高値を示した。これは前立腺の肥大化により、前立腺部尿道の収縮力増大に起因したものと考えられる。ヒト前立腺肥大症に伴う下部尿路閉塞のもう1つの原因とされる前立腺及び尿道収縮に起因する尿道径の減少（機能的閉塞）が、本研究で使用した前立腺肥大イヌにおいても起きている可能性が示唆される。

さらに本研究では、前立腺肥大と診断されたイヌを用いて、シロドシンと塩酸タムスロシン及びナフトピジルの下部尿路に対する作用を比較した。ヒト及びイヌ前立腺の収縮には α_{1A} -AR が関与することが報告されている。^{7,8)} 一方、前立腺肥大症患者の前立腺組織では健常者のそれと比較し、 α_{1a} -AR mRNA 発現量が約 9 倍、 α_{1d} -AR mRNA 発現量が約 3 倍にそれぞれ増加していることから、⁹⁾ ヒト前立腺の収縮に α_{1A} -AR に加え、 α_{1D} -AR の関与も報告された。前項の Tatemichi らの報告により、¹⁰⁾ ヒト α_{1A} -AR に対する親和性 (Ki 値: nmol/l) は塩酸タムスロシン (0.012) \geq シロドシン (0.039) $>$ ナフトピジル (23) であり、ヒト α_{1D} -AR に対する親和性 (Ki 値: nmol/l) は塩酸タムスロシン (0.03) $>$

シロドシン (2.2) \geq ナフトピジル (4.4) である。一方、本試験の IUP 上昇に対する抑制作用の効力順位は塩酸タムスロシン \geq シロドシン $>$ ナフトピジルであり、ヒト α_{1A} -AR に対する親和性と一致した。したがって、前立腺肥大イヌの下腹神経刺激 IUP 上昇に対するこれら薬剤の抑制機序は α_{1A} -AR 遮断作用が主であり、 α_{1D} -AR の関与は少ないことが推察された。

ヒト血管平滑筋に存在する α_{1B} -AR は血圧調節に関与し、¹¹⁾ 本サブタイプの遮断は起立性低血圧を誘発する可能性がある。¹²⁾ ヒト α_{1B} -AR に対する親和性 (Ki 値: nmol/l) は塩酸タムスロシン (0.12) $>$ シロドシン (6.5) \geq ナフトピジル (7.8) であり、¹⁰⁾ 本研究において観察された各薬物による MBP 低下作用における効力順位とほぼ一致した。しかしながらナフトピジルの作用は、シロドシンのそれと比較して約 1/5 であった。麻酔イヌにおいてナフトピジルは、Phenyl-OH-ナフトピジルに速やかに代謝される。¹³⁾ この代謝物は、 α_{1B} -AR 親和性がナフトピジルのそれと比較して、約 1/13 に低下することが判明している。¹³⁾ したがって、イヌにおけるナフトピジルの MBP 低下作用は、ラット等の他動物種におけるそれと比較して、より減弱したものと考えられ、本研究で得られた塩酸タムスロシンとナフトピジルの下部尿路選択性は、¹³⁾ Takei らの報告とほぼ一致した。

前立腺肥大イヌは、ヒト前立腺肥大症の病態と類似しており、その関連疾患治療薬の評価に有用であった。本研究では、加齢による前立腺肥大イヌを用いてシロドシンの有用性を示したが、今後は加齢を伴わない前立腺肥大や前立腺炎などに対する更なる検討が必要である。

シロドシンは血圧への影響が少なく、前立腺肥大に伴う排尿困難症の有用な改善薬になり得ることが示唆された。

REFERENCES

- 1) Evans H. E., Christensen G. C., "Miller's Anatomy of the Dogs," 7th ed., W. B. Saunders, Philadelphia, 1979.
- 2) Brendler C. B., Berry S. J., Ewing L. L., McCullough A. R., Cochran R. C., Strandberg J. D., Zirkin B. R., Coffey D. S., Wheaton L.

- G., Hiler M. L., Bordy M. J., Niswender G. D., Scott W. W., Walsh P. C., *J. Clin. Invest.*, **71**, 1114–1123 (1983).
- 3) Willson J. D., *Am. J. Med.*, **68**, 745–756 (1980).
 - 4) Murakoshi M., Ikeda R., Fukui N., *J. Toxicol. Sci.*, **26**, 119–127 (2001).
 - 5) Sirinarumitr K., Johnston S. D., Kustritz M. V., Johnston G. R., Sarkar D. K., Memon M. A., *J. Am. Vet. Assoc.*, **218**, 1275–1280 (2001).
 - 6) Lowseth L. A., Gerlach R. F., Gillett N. A., Muggenburg B. A., *Vet. Pathol.*, **27**, 347–353 (1990).
 - 7) Marshall I., Burt R. P., Chapple C. R., *Br. J. Pharmacol.*, **115**, 781–786 (1995).
 - 8) Kenny B. A., Read A. M., Naylor A. M., Greengrass P. M., Carter A. J., Wyllie M. G., *Urology*, **44**, 52–57 (1994).
 - 9) Nasu K., Moyiyama N., Kawabe K., Tsujimoto G., Murai M., Tanaka T., Yano J., *Br. J. Pharmacol.*, **119**, 793–803 (1996).
 - 10) Tatemichi S., Kobayashi K., Maruyama I., Kobayashi M., Yamazaki Y., Shibata N., *Yakugaku Zasshi*, **126**, 217–223 (2006).
 - 11) Hatano A., Takahashi H., Tamaki M., Komeyama T., Koizumi T., Takeda M., *Br. J. Pharmacol.*, **113**, 723–728 (1994).
 - 12) Take H., Shibata K., Awaji T., Hirasawa A., Ikegami I., Asano T., Takeda T., Tsujimoto G., *Jpn. J. Pharmacol.*, **77**, 61–70 (1998).
 - 13) Takei R., Ikegaki I., Shibata K., Tsujimoto G., Asano T., *Jpn. J. Pharmacol.*, **79**, 447–454 (1999).