

# AMCoR

Asahikawa Medical University Repository <http://amcor.asahikawa-med.ac.jp/>

Prostate Journal (2016.10) 3(2):223-227.

前立腺肥大症・前立腺炎の動物モデル 3. ホルモン誘発性ラット前立腺肥大症モデル

松本 成史

## 特集2 前立腺肥大症・前立腺炎の動物モデル

## 3. ホルモン誘発性ラット前立腺肥大症モデル

松本 成史

旭川医科大学病院臨床研究支援センター\*

**要旨** 前立腺肥大を呈する動物モデルとして、犬やラットにエストロゲンとアンドロゲンを併用投与すると前立腺肥大が誘発されるホルモン誘発前立腺肥大モデルが知られている。今回、ホルモン誘発ラット前立腺炎モデルから下部尿路機能障害の動物モデルを作成する目的でホルモンを組み合わせ、「前立腺肥大+排尿筋収縮力低下」を呈するラットモデルを作成した。ホルモン誘発ラット前立腺肥大モデルの意義と作成方法について、文献的考察も含め解説する。

## Key Words

ラット, 実験モデル, 性ホルモン, 前立腺肥大, 下部尿路機能障害

## はじめに

前立腺肥大を呈する動物モデルとして、ホルモン誘発性前立腺肥大症 (benign prostatic hyperplasia : BPH) モデルが報告されている。犬に少量のエストロゲンとアンドロゲンを併用投与すると前立腺の増殖が促されることが知られており<sup>1)</sup>、犬やラットを用いたこれらのモデルではBPHだけでなく、排尿機能も変化していることが報告されている<sup>2~4)</sup>。さらに、ホルモン誘発性ラットBPHモデルを用いて $\alpha_1$ 遮断薬の有効性が確認されており<sup>4)</sup>、BPHの作用機序の解明および薬物の有効性を確認する動物モデルとしての有用性が示されている。

われわれはまず「慢性前立腺炎の排尿状態の実際は？」という临床上の疑問に対して、ホルモン誘発性ラット前立腺炎 (Non-bacterial prostatitis : NBP) モデルにおける排尿機能を検討した (実験1)<sup>5)</sup>。この検討に引き続き、このラットホルモン誘発性NBPモデルを基に、去勢も含めた各種

ホルモン誘発によるラットモデルの排尿機能の検討 (実験2, 3) を施行したところ、排尿筋収縮力低下 (Detrusor Underactivity : DU) を伴うモデル (ホルモン誘発性ラットBPH-DUモデル) が作成された。

今回の検討は、ホルモン誘発性ラットモデルの作成ならびにその排尿機能への影響を主眼とした研究であったため、前立腺に関しては、前立腺重量の増加を確認しただけで、病理所見などの詳細な検討を施行していない。われわれの一連の研究概要を紹介し、ホルモン誘発性ラットBPHモデルについて解説する。

I. ホルモン誘発性ラットNBPモデルの排尿機能 (実験1)<sup>5)</sup>

まず、慢性前立腺炎の排尿状態を検討するために、ラットを用いた検討を施行した。ラット前立腺炎モデルにも各種存在するが、われわれはホルモン誘発性ラット前立腺炎 (Non-bacterial prostatitis : NBP) モデルを採用した。本モデルに関しては、本特集の「8. ラット前立腺炎症モデル (NIH category IV prostatitisを中心に)」で報告されるため詳細は割愛する。10ヵ月齢の雄性Wistarラットに去勢し、0.25mg/kg 17 $\beta$ -エストラジオール (Estradiol : E2) を1ヵ月間、連日皮下投与することによりNBPモデルが作成される。このNBPモデルを用いて下記の実験方法で検討した (各群 n=8) (実験1)。

A rat experimental model of BPH induced by sex hormone  
Seiji Matsumoto  
Clinical Research Support Center, Asahikawa Medical  
University Hospital

key words : rat, experimental model, sex hormone, benign prostatic hyperplasia, lower urinary tract dysfunction

\*旭川市緑が丘東2条1-1-1 (0166-68-2891) 〒078-8510

＜実験方法＞

- ①排尿パターン：個別代謝ケージ内で馴化後、個別代謝ケージ内で暗室内12時間の排尿パターン（排尿回数，平均1回排尿量，総排尿量）を測定。
- ②組織重量測定：麻酔下に膀胱および前立腺を摘出し，それらの重量を測定。
- ③排尿筋収縮実験：摘出した膀胱体部を小切片にし，経壁電気刺激（electrical field stimulation：EFS 32Hz），Carbachol（100 μM）およびKCl（100mM）に対する等尺性排尿筋収縮力を測定。

（後述の実験2，3でも同様の方法を用いた）

このNBPモデルを用いた実験1では，前立腺重量は有意に低下（萎縮）するが，膀胱重量は変化せず，排尿パターンも等尺性排尿筋収縮力測定も変化せず，下部尿路機能障害（lower urinary tract dysfunction：LUTD）は示さないことが示された（表1）<sup>5)</sup>。

## II. ホルモン誘発性ラット前立腺肥大症モデルの排尿機能

### 1. ホルモン誘発性ラットBPHモデル（実験2）

ホルモン誘発性でLUTDを呈するラットモデルを作成することを目的に，このNBPモデルでの検討（実験1）を基に，去勢も含めた各種ホルモン誘発によるラットモデルの排尿機能の検討を施行した。

実験1の結果を基に，去勢せずにE2投与し，テストステロン（Testosterone：T）を誘発するとどのように変化するか検討するために，10ヵ月齢雄性Wistar非去勢ラットにNBPモデルと同様に0.25mg/kg E2と各濃度（2.5，12.5，25mg/kg）のTを1ヵ月間，連日皮下併用投与した（各群n=5）。結果は排尿パターン，等尺性排尿筋収縮力測定は変化せず，LUTDは示さなかった（表1）。前立腺重量に関しては，E2単独投与群，E2とlow dose（2.5mg/kg）Tを併用投与した群（E2+2.5 T群）ではSham群と比較し有意に低下（萎縮）したのに対し，E2とhigh dose（25mg/kg）Tを併用投与した群（E2+25 T群）ではSham群と比較し有意に増加（前立腺肥大）した。膀胱重量はE2とmiddle dose（12.5mg/kg）Tを併用投与した群（E2+12.5 T群）とE2+25 T群において，Sham群と比較し有意な増加が認められた。これらの結

果より，本モデルは膀胱機能に影響しないホルモン誘発性のBPHモデルと考えられた（実験2）（表1）。

### 2. ホルモン誘発性ラットBPH-DUモデル（実験3）

次いで実験2の結果を基に，NBPモデルと同様に去勢したラットにE2とhigh dose（25mg/kg）Tを併用投与し，またTの代わりにジヒドロテストステロン（Dihydrotestosterone：DHT）を誘発するとどのように変化するか検討するために，10ヵ月齢雄性Wistar去勢ラットに0.25mg/kg E2にhigh dose（25mg/kg）TやDHT（12.5，25mg/kg）を1ヵ月間，連日皮下併用投与した（各群n=5）。結果は前立腺重量に関しては，castration群とE2単独投与群ではSham群と比較し有意に低下（萎縮）したのに対し，E2とhigh dose（25mg/kg）Tを併用投与した群（E2+25 T群）およびDHTを併用投与した群（E2+12.5 DHT群，E2+25 DHT群）では前立腺重量がSham群と比較し有意に増加（前立腺肥大）した。膀胱重量は，E2+12.5 DHT群とE2+25 DHT群でSham群と比較し有意な増加が認められた。排尿パターンは変化しなかったが，排尿筋収縮力ではSham群と比較し，EFSでE2+25 T群およびE2+12.5 DHT群で有意に低下し，carbachol刺激でE2単独投与群，E2+25 T群，E2+12.5 DHT群およびE2+25 DHT群で有意に低下し，KCl刺激でE2+25 T群，E2+12.5 DHT群およびE2+25 DHT群で有意に低下した。全体を総括すると，E2+25 T群とE2+12.5 DHT群で有意な変化が認められ，これらにおいては「前立腺肥大+排尿筋収縮力低下」を呈するホルモン誘発性のラットBPHモデルが作成できた（実験3）（表1）。

## III. ホルモン誘発性ラットBPHモデル：既報からの考察

すでに1980年に，犬において去勢後に25mg/mL androstandiolと0.25mg/mL E2を週3回筋注併用投与することにより，BPH（前立腺の腺性過形成）を作成するモデルが作成されていた<sup>1)</sup>。その後，犬を用いた実験としては，Yokota Tらは75mg/day DHTと0.75mg/day E2を1ヵ月間，ポンプによる連続注入にて併用投与し，このモデルにウロダイナミクスを施行して，下部尿路閉塞を呈するBPHモデルが作成されたと報告している<sup>2)</sup>。

一方，ラットにおいても同様に，ホルモン誘発性（アンドロゲンとエストロゲンの併用投与）の

3. ホルモン誘発性ラット前立腺肥大症モデル

表 1 各種ホルモン誘発ラットモデルの作成方法と排尿機能 (結果の一覧)

報告	ホルモン誘発性ラットモデル	去勢の有無	女性ホルモン E2 (mg/kg)	男性ホルモン T / DHT (mg/kg)	ホルモン投与		組織重量		膀胱収縮力			排尿機能			
					方法	期間	膀胱	前立腺	EFS	Carbachol	KCl	CMG	排尿回数		
実験 1 Constantinou CE. <sup>3)</sup> Tatemichi S, et al. <sup>4)</sup>	NBP*	有	0.25 E2	-	連日皮下注射	30 日間	変化なし	↓ ↓	変化なし	変化なし	変化なし	-	-	変化なし	
	BPH	無	0.125 E2	1.25 DHT	週 4 回筋肉注射	4 週間	-	↑	-	-	-	-	-	↗	
	BPH	無	0.125 E2	12.5 T	週 4 回筋肉注射	4 週間	-	↑ ↑	-	-	-	-	DO#	-	
実験 2	BPH	無	0.25 E2	無	連日皮下注射	30 日間	変化なし	↓ ↓	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	-	変化なし
				2.5T			変化なし	↓ ↓	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	-	変化なし	
				12.5T			↑	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	-	↘	
				25T			↑ ↑	↑ ↑	変化なし	変化なし	変化なし	-	↘		
実験 3	BPH-DU**	有	0.25 E2	無	連日皮下注射	30 日間	変化なし	↓ ↓	変化なし	変化なし	変化なし	変化なし	-	変化なし	
				25T			↑ ↑	↓	変化なし	変化なし	変化なし	-	変化なし		
				12.5DHT			↗	↑ ↑	↑ ↓	↑ ↓	↑ ↓	↑ ↓	-	変化なし	
				25DHT			↑ ↑	↑ ↑	↑ ↓	↑ ↓	↑ ↓	↑ ↓	-	変化なし	

\* : NBP : Non-bacterial prostatitis, \*\* : BPH-DU : BPH-Detrusor Underactivity, # : DO : Detrusor overactivity  
 ↑ ↑ / ↓ ↓ : P < 0.01, ↑ / ↓ : P < 0.05, ↗ / ↘ : 傾向

実験に関する報告が散見される (表1)。Suzuki Kらは、前立腺重量の変化はアンドロゲンとエストロゲンの投与比によって異なることを証明し、T:E2=100:1という投与比率で、ラット前立腺に腺性過形成が作成されることを報告している<sup>6)</sup>。このホルモン誘発性ラットBPHモデルは、ラットの週齢、去勢の有無、去勢からホルモン投与までの期間のいずれを変化させても再現性があることを証明している。また、Suzuki KらはT:E2=100:1という微量のE2の存在が前立腺上皮系に働き、前立腺の増殖に関与しているという*in vivo*の系を確立している<sup>7)</sup>。Constantinou CEは、ラットに12.5mg/kg DHTと0.125mg/kg E2を4週間、週4回筋注併用投与したホルモン誘発性ラットBPHモデルを作成し、そのモデルでの排尿パターンを測定し、排尿回数が増加傾向を呈することを報告しており<sup>3)</sup>、またTatemichi Sらは、ラットに12.5mg/kg Tと0.125mg/kg E2を4週間、週4回筋注併用投与したホルモン誘発性ラットBPHモデルを作成し、そのモデルでの膀胱内圧測定で排尿筋過活動を呈することを報告しており、このモデルにBPHの第一選択薬である $\alpha_1$ 遮断薬を投与した場合、尿道内圧や排尿圧、尿流率を改善することを確認し、このモデルは各種薬剤の効果判定に有効であると報告している<sup>4)</sup>。この報告以外には、ホルモン誘発性ラットBPHモデルでの排尿動態を検討した研究はない (表1)。

このように、動物モデルにおいては少量のエストロゲンがアンドロゲンと協調して前立腺の増殖を促す効果が存在することが以前から知られている。これはヒトBPHに関する性ホルモンの影響から見出されたものである。40年程前に、ヒト前立腺間質量と血中E2濃度および尿中エストロゲン排泄量に相関が認められことが報告されており<sup>8)</sup>、Partin AWらは、low volume prostate cancer患者の前立腺摘出標本で、肥大結節容量とE2、Free-T濃度が相関することを報告している<sup>9)</sup>。本邦においても性ホルモン濃度の加齢による変動の検討が報告されている。加齢に伴いアンドロゲン、とくにFree-Tが減少し、E2/Free-T比およびE2/Total-T比に示されるエストロゲンが優位な環境になることが報告されている<sup>10)</sup>。鈴木らはこれらの結果を基に、20年程前に前述のホルモン誘発性ラットBPHモデルを作成しており<sup>6,7)</sup>、特筆すべき業績である。

われわれは、ホルモン誘発性ラットBPHモデルを作成する目的で研究した訳ではないが、結果として去勢の有無にかかわらず、T:E2=100:1という比率で投与した群において、前立腺重量が有意に増加し、ホルモン誘発性ラットBPHモデルが作成できていた。正しくSuzuki Kらが報告した通り<sup>6)</sup>の結果であった。膀胱重量が増加するか否かは、去勢の有無の相違による可能性が考えられるが、詳細は不明である。また、同様に去勢の有無がLUTDに影響している可能性がある。今後、われわれの作成したホルモン誘発性ラットBPHモデルの膀胱組織所見や膀胱機能への影響をさらに詳細に検討することにより、性ホルモンの前立腺への影響だけでなく、膀胱への直接的、間接的影響が理解されれば、BPHに起因するLUTDなど、male LUTSの機序解明に一役を担うと思われる。

## おわりに

前立腺肥大を呈する動物モデルとして、ホルモン誘発ラットBPHモデルについて報告した。このモデルは確立されたモデルであり、比較的容易に作成できる利点がある。また、われわれが作成した「前立腺肥大+排尿筋収縮力低下」を呈するホルモン誘発ラットBPH-DUモデルは、性ホルモンの影響による新規LUTDモデルとなり得ると考える。本モデルはBPHに起因するLUTDの機序解明にも有用であると考えられた。

## 参考文献

- 1) Trachtenberg J, Hicks LL, Walsh PC: Androgen- and estrogen-receptor content in spontaneous and experimentally induced canine prostatic hyperplasia. *J Clin Invest* 65: 1051-1059, 1980
- 2) Yokota T, Honda K, Tsuruya Y, et al: Functional and anatomical effects of hormonally induced experimental prostate growth: a urodynamic model of benign prostatic hyperplasia (BPH) in the beagle. *Prostate* 58: 156-163, 2004
- 3) Constantinou CE: Influence of hormone treatment on prostate growth and micturition characteristics of the rat. *Prostate* 29: 30-35, 1996
- 4) Tatemichi S, Akiyama K, Kobayashi M, et al: A selective  $\alpha_1A$ -adrenoceptor antagonist inhibits detrusor overactivity in a rat model of benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 176: 1236-1241, 2006

## 3. ホルモン誘発性ラット前立腺肥大症モデル

- 5) Matsumoto S, Kawai Y, Oka M, et al : Bladder function in  $17\beta$ -estradiol-induced nonbacterial prostatitis model in Wistar rat. *Int Urol Nephrol* 45 : 749-754, 2013
- 6) Suzuki K, Takezawa Y, Suzuki T, et al : Synergistic effects of estrogen with androgen on the prostate--effects of estrogen on the prostate of androgen-administered rats and 5-alpha-reductase activity. *Prostate* 25 : 169-176, 1994
- 7) Suzuki K, Ito K, Suzuki T, et al : Synergistic effects of estrogen and androgen on the prostate : effects of estrogen on androgen- and estrogen-receptors, BrdU uptake, immunohistochemical study of AR, and responses to antiandrogens. *Prostate* 26 : 151-163, 1995
- 8) Seppelt U : Correlation among prostate stroma, plasma estrogen levels and urinary estrogen excretion in patients with benign prostatic hypertrophy. *J Clin Endocrinol Metab* 47 : 1230-1235, 1978
- 9) Partin AW, Oesterling JE, Epstein JI, et al : Influence of age and endocrine factors on the volume of benign prostatic hyperplasia. *J Urol* 145 : 405-409, 1991
- 10) 鈴木和浩, 稲葉繁樹, 竹内弘幸, 他 : 前立腺肥大症における内分泌環境—血中性ホルモン濃度の加齢・前立腺サイズとの関係—. *日泌尿会誌* 83:664-671, 1992