

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 深澤 立

ヒト下部尿路においては α_1 アドレナリン受容体は尿道及び前立腺の平滑筋に多く存在しその収縮・弛緩に関与し、そのサブタイプは、現在 α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} の 3 種類が生体組織レベルで確認されており、それぞれ分子生物学的にクローニングされた recombinant receptor (α_{1a} , α_{1b} , α_{1d}) がある。これらは α_1 アドレナリン受容体拮抗薬の prazosin と高い親和性を示すため α_{1H} アドレナリン受容体としてまとめられ、prazosin の親和性の低いサブタイプは α_{1L} サブタイプとされている。

ヒト尿道においてはサブタイプ mRNA の分布や密度については検討されておらず、また α_{1L} サブタイプについては存在が示唆されているのみである。本研究では、RNase protection assay 及び *in situ* hybridization にて男性尿道における α_1 アドレナリン受容体サブタイプ mRNA の割合と分布を検索し、更に $[^3H]$ prazosin の結合実験と $[^3H]$ tamsulosin の prazosin による結合阻害実験にて尿道及び前立腺における α_{1L} アドレナリン受容体サブタイプの分布を検討した。

1. ヒトの浸潤性膀胱癌に対する膀胱全摘除術より得られた前立腺部尿道を用い RNase protection assay 及び *in situ* hybridization を行った。また、ヒトの前立腺肥大症に対する被膜下摘除術より得られた前立腺部尿道及び前立腺を用い、放射線リガンドによる binding assay を行った。

2. RNase protection assay により α_1 アドレナリン受容体 mRNA の割合を調べた結果、 α_{1a} mRNA は尿道において優位に分布しているサブタイプ mRNA であり、 α_{1H} アドレナリン受容体 mRNA の 100%を占めていた。一方で α_{1b} 及び α_{1d} サブタイプ mRNA は全く同定できなかった。内因性コントロール mRNA である

glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (G3PDH) に対する発現レベルは各検体で変化はなかった。よって男性尿道は α_{1A} サブタイプを介して収縮をするが、 α_{1B} 及び α_{1D} サブタイプは尿道の収縮に関与が低いと考えられた。

In situ hybridization により前立腺部尿道における α_{1a} サブタイプ mRNA の分布を調べた結果、 α_{1a} サブタイプ mRNA は尿道平滑筋内に明らかに局在していた。センス RNA プローブでは陰性で、 α_{1b} 及び α_{1d} サブタイプ mRNA はほとんど平滑筋層

に局在はみられなかった。よって α_{1a} サブタイプ mRNA は平滑筋内に存在し、尿道の部位による違いはなく、RNase protection assay の結果を支持するものであった。

3. [3 H]prazosin の結合による飽和実験では尿道及び前立腺に対する[3 H]prazosin の特異的結合は飽和曲線を示し親和性は高いものであった。前立腺における[3 H]prazosin の解離定数は (0.088 nM) は尿道 (0.254 nM) と比して低値を示し優位な差 ($p < 0.001$) であった。 [3 H]tamsulosin の結合実験では尿道及び前立腺の[3 H]tamsulosin に対する非特異的結合は[3 H]prazosin に比して低かった。それぞれに対する[3 H]tamsulosin の特異的結合は十分飽和され高い親和性を示した。尿道及び前立腺の[3 H]tamsulosin における解離定数は 0.113 nM 及び 0.031 nM であった。[3 H]tamsulosin 結合は prazosin により濃度依存的に抑制された。 [3 H]tamsulosin 結合阻害作用を指標とした尿道における prazosin の親和性 (pKi, 8.60) はヒト前立腺 (pKi, 9.61) やクローニングされた α_1 受容体サブタイプ (pKi, 9.36 - 9.58) に比して低かった。よって α_{1L} サブタイプの分布は前立腺よりも尿道に多いことが確かめられた。尿道における α_{1A} と α_{1L} の割合は、 prazosin の α_{1A} 及び α_{1L} に対する pA_2 値は 9-10 及び < 9 であり、本研究におけるヒト尿道の pKi 値が 8.6 であることから α_{1L} が 50%以上を占めていると考えられた。

男性尿道に認められたサブタイプ mRNA は α_{1a} サブタイプが 100%であったが、binding assay では α_{1a} サブタイプ以外に α_{1L} サブタイプも認められ、このことは mRNA レベルでは α_{1a} サブタイプであるが形質を発現する過程で α_{1a} だけでなく α_{1L} サブタイプの発現も生じている可能性を支持すると考えられる。

以上本論文は、男性尿道における α_1 アドレナリン受容体サブタイプ mRNA は α_{1a} サブタイプが 100%であり、かつ尿道平滑筋内に平均して存在し、 α_{1b} 、 α_{1d} サブタイプ mRNA はほとんど認められないことを明らかにした。更に、男性尿道には前立腺に比してより多くの α_{1L} アドレナリン受容体サブタイプが認められ、 α_{1L} アドレナリン受容体サブタイプが 50%以上を占めていることを証明した。

本研究はこれまで不十分であった男性尿道における α_1 アドレナリン受容体サブタイプの分布、割合や尿道、前立腺における α_{1L} アドレナリン受容体サブタイプの分布を明らかにしたもので、排尿障害の機序の解明や治療方法の開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものである。