

前立腺特異抗原の分子形態,酵素活性および体内動態

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-03 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/40144

前立腺特異抗原の分子形態, 酵素活性および体内動態

小松 和人^{*1*2*3} 浜高康夫^{*2} Z. Chen^{*3} T.A. Stamey^{*3} 並木 幹夫^{*1}

*1 金沢大学泌尿器科 *2 市立輪島病院 *3 Department of Urology Stanford University Medical Center

要旨: 前立腺特異抗原(PSA)が前立腺組織からどのような分子形態で精漿に分泌あるいは血中に放出されるか探る目的で生化学的検討を行った。前立腺上皮で分泌される PSA は free で存在し, 50~70% の酵素活性を持ち, 精漿, 尿道にも同じ分子形態で存在する。血中 PSA は大半が $\alpha 1$ アンチキモトリプシンと complex を形成しているが, 針生検直後の血中 PSA は大半が free であり, 前立腺の機械的損傷で血中への放出は説明しきれない。血中 PSA の解釈には代謝経路も考慮の必要がある。これらの検討は癌と前立腺肥大症での PSA の分子形態の差を理解するために有用と思われる。

key words: 前立腺癌, 前立腺特異抗原, $\alpha 1$ アンチキモトリプシン

はじめに

前立腺特異抗原(prostate-specific antigen: PSA)は前立腺癌の診断, 病期診断, 治療後の経過観察に極めて有用であることが認められて以来¹⁾, 1990年代最強の腫瘍マーカーとして, 現在広く臨床の場で使用されている^{2,3)}。

これまで臨床的なインパクトがあまりに強かったためか, PSA の生化学的, 生理学的基礎的研究は必ずしも盛んでなかったが, 近年 free, total PSA の測定が臨床の場に应用されるにつれて, PSA 研究は新たな局面を迎えている。これは, 血清中の free, total PSA を測定することが悪性腫瘍と良性疾患の鑑別に有用であるとの報告が続出したことに加えて⁴⁾, この二つの分子形態が PSA の免疫測定の結果に大きな影響を与えることが判明したためである⁵⁾。

「free と complex の二つの PSA がなぜ血清中に存在し, 疾患によってなぜその存在比率に差が生じるのか?」という問いに答えるためには PSA に対する生

化学的, 生理学な観点からのアプローチが必要と思われる。本稿では PSA の分子形態, 酵素活性, 体内動態に関して筆者らの研究結果とこれまで報告されている知見を併せて, 可能な限り簡略に述べてみたい。

I. PSA は前立腺上皮より分泌される蛋白分解酵素である

PSA は前立腺腺上皮より分泌される蛋白分解酵素である。前立腺で生成され, 精漿中に分泌される。PSA によって分解される生理学的基質は, 精囊上皮から分泌される seminogelin I, II さらに fibronectin であり, 射精された精液は当初ゲル状であるが次第に PSA によって分解を受けて可溶性の蛋白質に変化する⁶⁾。

蛋白分解酵素(protease)に対して体内ではその酵素活性を調節するために抑制物質が存在する(protease inhibitor)。PSA に対する血清中の inhibitor が, $\alpha 1$ アンチキモトリプシン(ACT)と $\alpha 2$ マクログロブリン(AMG)である。酵素活性のある PSA 分子だけが inhibitor と結合して酵素活性を失う。

in vitro の実験によれば, 分離精製された PSA を女性血清とともにインキュベートするとその大半は ACT でなく, AMG と結合してしまう。すなわち, in vitro の系において血清中では PSA にとって AMG は ACT より親和性の高い inhibitor である⁷⁾。ACT と結合した PSA はエピトープが部分的に包まれるため, 測定系によっては free PSA に比べ免疫的シグナルが下がる可能性がある。AMG と結合した PSA 分子はすべてのエピトープが包まれてしまい,

Molecular form, enzyme activity and kinetics of prostate specific antigen in various human tissue

Kazuto Komatsu^{*1*2*3} Yasuo Hamataka^{*2} Zuxiong Chen^{*3} Thomas A. Stamey^{*3} and Mikio Namiki^{*1}

Department of Urology, Kanazawa University^{*1}; Wajima Municipal Hospital^{*2}; Department of Urology, Stanford University Medical Center^{*3}

key words: prostatic cancer, prostate specific antigen, $\alpha 1$ antichymotrypsin

*1 金沢市宝町 13-1(076-265-2393) ㊦ 920-8641

通常の免疫測定では測定されない。

II. 想定される PSA の生理的な生成, 分泌経路と分子形態

前立腺組織内をはじめ, さまざまな体液中における PSA の分子形態, 酵素活性の有無には不明な点が多い。想定される PSA の生理的な生成, 分泌経路に従って前立腺剖面からの分泌液, 前立腺分泌液 (EPS), 精漿, 精漿より分離生成した PSA, 男性初尿 (VBI) を検体として分子形態と酵素活性について検討した。PSA の分子形態は Sephacryl S-200 カラムにてゲルクロマトグラフィーを行い分画の PSA 濃度を免疫測定することで判定した。酵素活性の有無は, *in vitro* で各検体を女性血清中の AMG と反応させ, PSA 測定値の低下を理論値と比較して推定した。

前立腺剖面からの分泌物, 前立腺分泌液, 精漿, 男性初尿中の PSA は, 血中に比べはるかに高濃度で, 分子量はすべて約 30 kDa であり, 全分子中 50~70% は女性血清とともにインキュベートすることで免疫学的シグナルを失った。

つまり前立腺上皮で生成される PSA は分子形態としては free で存在し, 50~70% の分子は酵素活性を有している。さらに精漿, 尿道にも同様の分子形態で分泌されることが判明した。この結果を表 1 にまとめて示した。

III. PSA の血中への放出機序を推定する

先の結果から前立腺→精漿に分泌される PSA が

free PSA であり, 60~70% が酵素活性を有することがわかった。一方, 血清中の PSA はその大半が ACT と結合した形で存在することが知られている。PSA はどのような経路で血中に放出されるのだろうか? さらにどこで ACT と結合するのだろうか?

Björk らは免疫組織化学と *in situ* hybridization 法を用いた検討で, 前立腺肥大症結節組織内には ACT が存在せず, 一方癌では ACT が存在 (低 Gleason スコアで顕著, 高スコアでは一定しない) と述べている⁸⁾。前立腺組織内で ACT とのコンプレックスが形成されるとすれば, これは血清中の free, complex PSA の存在比をある程度裏付ける結果かもしれない。

PSA が血中に放出される機序としてもっとも考えやすいのは, 局所の組織学的構築が前立腺癌の増殖など, 何らかの原因で機械的に破壊されることであろう。われわれは, 機械的な前立腺組織破壊のモデルとして, 前立腺針生検時に血中に放出された PSA の分子形態や酵素活性について検討した。

針生検直後の血中 PSA 値は著しく上昇し, 生検 30~60 分後では PSA 値は急速に下降した。この PSA 値の変化分は, 大部分が free PSA であった (表 2, 図 1)。

岡山大学の野田らは異なったモデルとして BCG 注入療法を施行した患者の血清中 PSA について同様の検討を行っているが, その結果は free PSA の比率が低く前立腺癌と同様の結果であったことは興味深い⁹⁾。

すなわち, 機械的前立腺の損傷では free PSA が

表 1 Molecular form and enzyme activity of PSA in various human specimens

Specimen	Molecular form	Enzyme activity
Prostate tissue	?	?
Fluid from prostate tissue (BPH nodule)	free	equivocal*
EPS	free	50~70% active
Seminal fluid	free	50~70% active
VBI	free	50~70% active
Purified PSA (purified from seminal plasma)	free	50~70% active
Serum	5~30% free (70~95% complex with ACT)	70~95% active
Serum immediately after prostate biopsy	40~90% free (10~60% complex with ACT)	10~60% active

*: 一般に BPH 結節からの圧出液は精漿に比べ酵素活性に乏しいが, なかに高いものも存在し, equivocal とした。

PSA の分子形態は Sephacryl S-200 column を用いてクロマトグラフィーを行った後, 各フラクションの PSA 濃度を測定して判定した。各検体は, PSA 濃度 = 0 ng/ml を確認した女性血清とともに 37°C で 2 時間インキュベートした。インキュベート前後の PSA 濃度を比較し PSA 免疫学的シグナルのロスをもって酵素活性の指標とした。インキュベートの際の最終濃度は約 40~100 ng/ml とした。

表2 前立腺生検1, 60分後のPSA値の変化

Case	Age	No. of cores	Pathol. Diagnosis	PSA before biopsy (Tandem-R: ng/ml)	1 min after (Tandem-R: ng/ml)	60 min after (Tandem-R: ng/ml)
1	63	9	BPH	11.8	230.7	77.7
2	70	7	BPH	19.3	63.4	44.5
3	71	6	BPH	28.8	151.5	62.5
4	72	6	PCA (T1C)	9.8	15.8	13.9
5	65	7	PCA (T2C)	220.5	686.1	401.2
6	74	6	PCA (T2B)	6.5	16.4	13.5

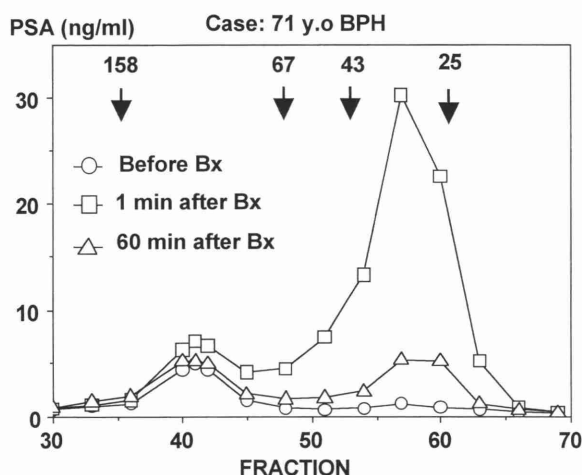


図1 前立腺生検前後の血清のゲルクロマトグラフィー
71歳，前立腺肥大症の例。生検前のPSAは28.8 ng/ml。生検1分後では151.5 ng/ml，60分後では62.5 ng/mlであった。PSAの分子形態は Sephacryl S-200 columnを用いてクロマトグラフィーを行った後，各フラクションのPSA濃度を測定して判定した。フラクション#42前後のピークはACTとのコンプレックスを，フラクション#58前後のピークはfree PSAを示す。

上昇，一方慢性炎症(炎症によって正常な組織学的構築が破壊されてPSA分子は血中に移行しやすくなると考えられる)ではACTとのcomplex PSAが上昇していることになるが，この相違を説明するのは容易ではない。

ひとつには，正常な前立腺上皮，前立腺癌，そして前立腺肥大症結節から分泌されるPSAが同一のものであるかどうかという点である。ChenらはBPH組織から分離精製されたPSA分子の酵素活性が低いことを示し，これが血清中のPSA分子形態を定めている可能性があるとしている¹⁰⁾。

現在PSAはSensabaughらの方法に従ってヒト精漿より分離精製されている¹¹⁾。このPSAは50~70%の酵素活性を示すに過ぎない(表1)。これがそのまま血中に移行したと仮定し，さらに酵素活性のあるすべての分子がACTと結合したとするとfreeが30

~50%，complex PSAは50~70%となるはずである。しかし先にも述べたようにin vitroの実験では血清中のAMGが強力なinhibitorとしてPSAと結合してしまうので実際血清中でなにか起こっているのははっきりわからない。

さらには以下に述べるようにPSA分子の体内からの排泄を考慮に入れる必要がある。つまり，free PSAとcomplex PSAの血中からの排泄速度に差があることがわかってきたので，次項で解説したい。

IV. PSAの体内からの排泄経路

血清中のPSA値を決定するのは血中への放出機構だけでなく，血中からの排泄経路も関与するだろうが，この点について十分には解明されていない。われわれは，PSAの血中からの排泄経路を知る目的で，膀胱前立腺全摘患者の血中，尿中PSAを経時的に測定し，PSAが血液から排泄されるルートとして腎からの排泄の有無を推定した。腎不全患者の血中PSA値も測定した(n=24)。

膀胱前立腺全摘後の血中PSA値は急激に下降するが，同時に切断尿管から採取した腎尿からは全経過を通じてPSAは検出されなかった(図2)。

腎不全患者の血清PSA値は 2.1 ± 2.8 ng/mlであり，健常者と差が認められなかった。また透析後もPSA値に有意な変化は認められない。

以上の結果からPSAの体内からの血中からの排泄はおそらく腎以外の経路を経ているものと考えられている。実際Aghaらは左右心臓カテーテル検査時に血中のPSA測定し，PSAが肝臓で代謝されている可能性が高いと結論している¹²⁾。直接の証明ではないものの，セリンプロテアーゼとそのinhibitorのコンプレックスがレセプターを介して代謝されることがすでに示されている^{13,14)}。

前立腺全摘後のPSAの血中半減期は通常2~3日であるが¹⁵⁾，全摘時には前立腺の操作のため一時的にPSAの血中濃度は上昇する。これは生検と同様な機

文 献

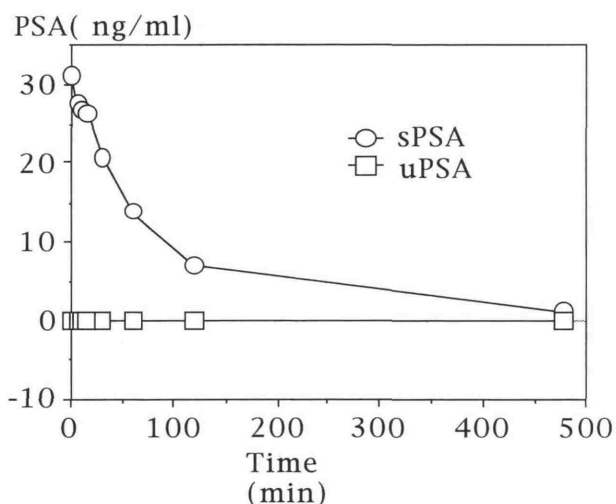


図2 膀胱前立腺全摘症例における術後血清、尿(尿管からの尿)PSA値の推移

67歳，膀胱腫瘍症例。術前の血清PSAは2.56 ng/ml，自排尿中のPSAは96.2 ng/mlであった。PSA値の半減期は2～3日と言われているが，術操作によって上昇したPSAのクリアランスははるかに速い。

機械的損傷によるものであり，上昇分の大半はfreePSAによるものである。上昇したfreePSAの血中濃度の減少は先に示したように半減期2～3日よりはるかに速やかであり，こうした速い血中からの消失の場合にもPSAが肝臓で代謝されているかどうかは明らかではない。さらに免疫学的シグナルを失ったAMGとのコンプレックス形成に関しては検討されておらず，これも今後の課題と言える。

またわれわれの結果で尿中のPSAは確かに検出されなかったが，ほとんど蛋白質の含まれていない尿中のPSA分子は容易に検査スピッツに付着したりあるいは重合する。基礎的検討によればその測定値の信頼性には問題が残る。尿中のPSA測定については，さらに詳細な検討が必要と思われる。

ま と め

1. 前立腺で生成されるPSAはfreeで酵素活性を有し，精漿，尿道にも同様の分子形態で分泌される。

2. 血清中のPSAは通常は大部分が結合型であるが，一方機械的破壊(生検)後では主に酵素活性のないfreePSAが測定されることから，前立腺から血中へのPSA流出機構が単純な機械的破壊だけではないことが推察された。

3. 腎尿中にはPSAが検出されないことから，血中PSAは腎からは排泄されないものと推察された。

- 1) Stamey, TA., Yang, N., Hay, AR, et al.: Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate. *N Engl J Med*, **317**, 909, 1987.
- 2) Oesterling, J: Prostate specific antigen: A critical assesment of the most useful tumor marker for adenocarcinoma of the prostate. *J Urol*, **145**, 907, 1991.
- 3) 秋元 晋, 正井基之, 北川憲一, 他: PSA: 特集, 泌尿器科腫瘍における腫瘍マーカー(その信頼性と限界). *泌外*, **4**, 1065, 1991.
- 4) Catalona, WJ., Smith, DS., Wolfert, RL, et al.: Evaluation of percentage of free serum prostate-specific antigen to improve specificity of prostate cancer screening. *JAMA*, **274**, 1214, 1995.
- 5) Stamey, TA: Progress in standardization of immunoassays for prostate-specific antigen. *Urol Clin North Am*, **24**, 269, 1997.
- 6) Lilja, H: A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *J Clin Invest*, **76**, 1899, 1985.
- 7) Chen, Z., Komatsu, K., Prestigiacomo, A, et al.: Addition of proetate specific antigen to serum from female subjects: Studies on the relative inhibition by $\alpha 2$ -Macroglobulin and $\alpha 1$ -antichymotrypsin. *J Uril*, **156**, 1357, 1996.
- 8) Björk, T., Hulkko, S., Bjartell, A, et al.: Alphas-antichymotrypsin production in PSA-producing cells is common in prostate cancer but rare in benign prostatic hyperplasia. *Urology*, **43**, 427, 1993.
- 9) 野田雅俊, 村上貴典, 津島知靖, 他: 膀胱腫瘍患者に対するBCG療法後のPSA上昇と% free PSA. *日泌尿会誌*, **88**, 111, 1997.
- 10) Chen, Z., Chen, H., Stamey, TA: Prostate specific antigen in benign prostatic hyperplasia: purification and characterization. *J Urol*, **157**, 2166, 1997.
- 11) Sensabaugh, GF., Blake, ET: Seminal plasma protein p 30: simplified purification and evidence for identity with prostate specific antigen. *J Urol*, **144**, 1523, 1990.
- 12) Agha, AH., Schechter, E., Roy, JB, et al.: Prostate specific antigen is metabolized in the liver. *J Urol*, **155**, 1332, 1996.
- 13) Perlmutter, DH., Joslin, G., Nelson, P, et al.: Endocytosis and degeneration of alpha 1-antitrypsin-protease complexes in mediated by the serpin-enzyme complex (SEC) receptor. *J Biol Chem*, **265**,

- 16713, 1990.
- 14) Perlmutter, DH., Glover, GI., Rivetna, M, et al.: Identification of a serpinenzyme complex receptor on human hepatoma cells and human monocytes. Proc Natl Acad Sci, **87**, 3753, 1990.
- 15) Oesterling, JE., Chan, DW., Edstenin, JI, et al.: Prostate specisic antigen in the preoperative and postoperative evaluation of localized prostatic cancer treated with radical prostatectomy. J Urol, **139**, 766, 1988.