白金抗癌剤 carboplatin の毒性に関する実験的研究

——特に聴器毒性について——

大谷 巖・安斎 友博・相川 通・岡村 洋冲

Toxicity of Carboplatin vs. Cisplatin

Iwao Ohtani, Tomohiro Anzai, Tohru Aikawa and Hiro-oki Okamura
(Fukushima Medical College)

The ototoxicity, nephrotoxicity and hematologic toxicity of carboplatin (CBDCA) were compared with those of cisplatin (CDDP) using the rat and guinea pig.

The oto- and nephrotoxicity of CBDCA was very low as compared with CDDP. Forced hydration and diuresis will not be necessary for CBDCA administration clinically.

The hematologic toxicity was remarkably high in comparison to CDDP. The dose limiting toxicity of CBDCA will be primarily bone marrow suppression.

The excretion of CBDCA from the bone marrow as well as serum, perilymphatic space, kidney was extremely fast. In conclusion the difference of severity of various toxicity induced by CBDCA is not only due to the concentration in the tissues.

Key words: carboplatin vs. cisplatin, toxicity, Pt-concentration

はじめに

白金錯体抗癌剤である cisplatin (cisdiammine-dichloroplatinum, CDDP) は優れた抗腫瘍作用を有し、現在、癌化学療法の中の中心的薬剤となっている。

しかし反面、この CDDP は腎毒性、聴器毒性、血液毒性、胃腸障害など多彩な副作用を有し、特に腎毒性は最大の投与量規制因子となっている。

CDDP の副作用を軽減する目的で、CDDP を母体として開発された第二世代の白金抗癌剤である carboplatin (cisdiammine (1, 1-cyclobutanedi-carboxylato) platinum, CBDCA) は、腎毒性が低く、補液や利尿剤の投与の必要はないといわれている¹⁾。従って聴器毒性についても

CDDP と比較して低いことが予想されるが、CBDCA の聴器毒性についてはモルモットを使用した^{2, 3}の報告^{2)~4)}があるにすぎない。そこで今回、ラットを用いて CBDCA の毒性、特に聴器毒性について CDDP と比較を行った。また白金抗癌剤の組織移行についてはほとんど検討されていないので、CBDCA と CDDP の組織内濃度を測定し、さらにモルモットを用いて1回投与後の白金濃度を経時的に測定し、白金濃度と毒性との関係についても検討を加えた。

実験方法

毒性評価には体重 155-170 g (平均 165 g) の8週齢 Fisher 系雄性ラット20匹を、4群に分けて使用した。薬剤投与量は、CDDP はこれ

までの実験結果から明らかに内耳障害をきたす量の 2 mg/kg 5 日間とした。CBDCA は、その LD₅₀ 値がラットでは CDDP の 7.6 倍であること⁵⁾、CBDCA の臨床治験が CDDP の 8 倍量で行われていることから、CBDCA の投与量は CDDP の 5 倍および 10 倍量の 10 mg/kg および 20 mg/kg 5 日間とした。すなわち第 1 群 (control 群) は生食水 4 ml/kg, 第 2 群 (CBDCA 10 mg 群) は CBDCA 10 mg/4 ml/kg, 第 3 群 (CBDCA 20 mg 群) は CBDCA 20 mg/4 ml/kg, 第 4 群 (CDDP 2 mg 群) は CDDP 2 mg/4 ml/kg を、5 日間連続投与し、すべての群の総投与容量を同一とした。薬剤は尾静脈より 0.2 ml/sec の速度で投与した。いずれの動物も最終投与 5 日後に断頭した。内耳、腎を光顕的に観察し、さらに血液検査、血清の生化学的検査、血清、外リンパ、腎の白金濃度の測定も行った。外リンパ (鼓室階および前庭階外リンパ) は両耳について採取したが、内耳の観察は右耳について行った。すなわち両耳の外リンパを採取後右耳をオスミウム酸液で固定し、有毛細胞を surface preparation 法により位相差顕微鏡にて観察した。白金濃度の測定は、北里バイオケミカル・ラボラトリーズで原子吸光法にて行ったが、外リンパについては 1 群を 1 検体として測定した。

組織内白金濃度の経時的測定には平均体重 206 g の Hartley 系雄性 モルモット 30 匹を

図 1 体重変化。実線は体重投与期間、点線は投与後固定までの期間を示す。

CBDCA 群と CDDP 群の 2 群に分けて使用した。CBDCA は 50 mg/kg を、CDDP は 10 mg/kg を同一投与容量にして単回腹腔内に投与し、投与 1 時間、4 時間、24 時間後に 5 匹ずつ断頭し、血清、外リンパ、腎、骨髓、肝の白金濃度を測定した。外リンパの白金濃度測定は各動物ごとに行った。

実験結果

1. ラットによる毒性評価

CDDP 2 mg 群では 1 匹が実験 10 日目に全身衰弱で死亡したため、体重測定以外の検索から除外し、残り 4 匹について検討した。

1. 体重の変化

各群の平均体重の推移を図 1 に示した。CBDCA および CDDP 投与により体重は control 群と比較して 2 日目より有意に ($P <$

図 2 CBDCA 20 mg/kg 5 日間投与動物の内・外有毛細胞。基底回転。内有毛細胞 (IHC) および外有毛細胞 (1, 2, 3) とも障害を認めない。

図 3 CDDP 2 mg/kg 5 日間投与動物の内・外有毛細胞。基底回転。内有毛細胞 (IHC) には障害はみられないが、外有毛細胞は 3 列 (1, 2, 3) とも障害されている。

0.01) 減少するが、その減少は CDDP 2 mg 群が最も高度で、次いで CBDCA 20 mg 群、CBDCA 10 mg 群の順であった。CDDP 2 mg 群では減少した体重は投与終了後も回復傾向を示さなかった。

2. 内耳所見

内・外有毛細胞の障害程度の評価は・細胞の消失をもって障害細胞とし、内・外有毛細胞を全回転にわたって観察するとともに、これまでの方法⁶⁾に準じて、全回転を10区分し、各部位について外有毛細胞各列50個計150個、内有毛細胞50個を数え、その消失細胞数を百分率で表現した。

CBDCA 群では10 mg 群および20 mg 群とも内・外有毛細胞に障害は認められなかった(図2)。

CDDP 2 mg 群では内有毛細胞には障害は認められなかったが、外有毛細胞には高度の障害がみられた。外有毛細胞の障害は基底回転起始

図4 CDDP 2 mg/kg 5日間投与群の外有毛細胞の平均消失率。基底回転起始部では100%の消失率を示し、上方回転に向うにつれて消失率は低くなる。

部で最も強く、連続的に消失しており(図3)、上方回転に向かうにつれて散在性の消失となった。列間では第1列の消失が最も多く、次いで第2列、第3列の順であった。外有毛細胞の平均消失率を図4に示したが、基底回転起始部では100%の消失を示し、上方回転に向かうにつれて消失率は少なくなっている。すなわち CBDCA では、CDDP で高度の外有毛細胞障害をきたす量の10倍量を投与しても外有毛細胞には全く障害がみられず、CBDCA の聴器毒性は CDDP と比較して著しく低いものと思われた。

3. 血清の生化学的所見

薬剤投与により明らかに異常をきたした腎機能(BUN, クレアチニン)と肝機能(GOT, GPT)の検査値を表1にまとめた。

1) 腎機能

BUN, 血清クレアチニン値を図5に示した。BUN, 血清クレアチニンとも CDDP 2 mg 群では著しい上昇をきたしたが、CBDCA 群では10 mg 群、20 mg 群とも control 群と比較して BUN に軽度の上昇をきたしたにすぎなかった。また腎の病理組織学的検索でも、CDDP 2 mg 群では尿細管、特に皮質の髄質近接部で上皮の壊死、脱落、再生など高度の病変が認められたが、CBDCA 群では特に病変は認められなかった。すなわち CBDCA では、CDDP で高度の腎障害をきたす量の10倍量を投与してもほとんど腎障害を認めず、CBDCA の腎毒性は CDDP と比較して著しく低いものと思われた。

2) 肝機能

表1 血清生化学的所見

	BUN (mg/dl)	クレアチニン (mg/dl)	GOT (mU/ml)	GPT (mU/ml)
Control 群	21.2±2.68	0.40±0	91.8± 5.63	41.4± 1.52
CBDCA 10 mg 群	24.6±1.34*	0.42±0.08	131.6± 30.48*	68.2±14.18**
CBDCA 20 mg 群	27.6±1.95**	0.44±0.05	103.2± 32.93	39.6± 4.98
CDDP 群	124.8±6.13**	0.90±0**	268.8±101.45**	109.0±44.28**

* P<0.05 from control

** P<0.01 from control

GOT, GPT は CDDP 2 mg 群では著明に上昇したが, CBDCA 群では 10 mg 群で軽度の上昇をきたしたものの, 20 mg 群では有意の上昇はなく, CBDCA は CDDP と比較して肝への影響も少ないものと思われた。

4. 血液所見

血液の検査成績のうち, 赤血球, 白血球, 血小板値を図 6 に示した。

図 5 BUN, 血清クレアチニンの変化. CBDCA 群では BUN, 血清クレアチニンとも軽度の上昇にすぎないが, CDDP 群では著明に上昇している。

図 6 血液所見. CBDCA 群の血液障害は CDDP 群より著しく高度で, 赤血球 (RBC), 白血球 (WBC), 血小板 (Platelet) の全てに著明な減少がみられる。

赤血球は, CDDP 2 mg 群では control 群と比較して減少はみられないが, CBDCA 群, 特に 20 mg 群では著しく減少し, control 群の約50%にすぎなかった。

白血球は, CDDP 2 mg 群では軽度の減少をきたしたが, CBDCA 群では 10 mg 群, 20 mg 群とも著明に減少し, 20 mg 群では control 群の約30%にすぎなかった。

血小板は, CDDP 2 mg 群, CBDCA 群とも著明に減少し, CDDP 2 mg 群, CBDCA 10 mg 群では control 群の約5%にすぎず, CBDCA 20 mg 群では測定不能レベルであった。すなわち CBDCA による血液障害は CDDP の5倍量との比較においても著しく高度であった。

5. 血清, 外リンパ, 腎組織内の白金濃度

薬剤の最終投与5日後の血清, 外リンパ, 腎組織内の白金濃度を図7に示した。CBDCA群では CDDP 群の5倍および10倍量の投与にもかかわらず, 特に血清および外リンパ中の白金濃度は CDDP 群の約1/2にすぎず, CBDCA の排泄は CDDP に比して著しく速いものと思われた。

図 7 血清, 外リンパ, 腎組織中白金濃度. 薬剤最終投与5日後の血清, 外リンパ中の白金濃度は, CBDCA 群では CDDP 群の10倍量の投与にもかかわらず, CDDP 群の約1/2にすぎない。

Ⅱ. モルモットによる経時的組織内白金濃度
モルモットに CBDCA 50 mg/kg, CDDP 10 mg/kg を 1 回投与後 1 時間, 4 時間, 24 時間の血清, 外リンパ, 腎, 骨髄, 肝組織内の白金濃度を図 8 に示した。

CBDCA は CDDP の 5 倍量が投与されているため, 1 時間値ではいずれの組織においても CBDCA 群が CDDP 群より高濃度を示していた。しかしその後 CBDCA 群では CDDP 群に比して急速に減少し, 24 時間値ではいずれの組織においても CBDCA 群が CDDP 群より低値を示した。CBDCA は聴器毒性や腎毒性が CDDP と比較して著しく低く, 外リンパや腎の白金濃度も低値を示した。しかし血液毒性

は CBDCA の方が著しく高度であったが, CDDP と比較して CBDCA が骨髄に蓄積しやすい傾向は認められなかった。

考 察

1. CBDCA の聴器毒性について

CBDCA は現在臨床治験が行われている段階であるが, 聴器毒性に関する実験的研究の報告は 2, 3 をみるにすぎない。すなわち Schweitzer ら²³⁾ は有色モルモットを使用した実験で, CBDCA を最高で 8 mg/kg 21 日間投与しても蝸牛および前庭障害を認めず, CDDP と比較して聴器毒性の弱いことを報告している。また斎藤ら⁴⁾ も, 白色モルモットによる実験で, 最少 30 mg/kg 3 日間の投与で,

図 8 1 回投与後の組織内白金濃度。CBDCA は CDDP の 5 倍量が投与されているため, 1 時間値ではいずれの組織においても, CBDCA 群が CDDP 群 (黒地) より高濃度を示しているが, CBDCA 群ではその後急速に減少し, 24 時間値では CDDP 群より低値となる。

基底回転後半部から第2回転前半部にかけて外有毛細胞に散在性の障害を認めたが, CBDCA の聴器毒性は CDDP と比較して弱いことを報告している.

今回のラットによる実験では, CBDCA の投与量を CDDP の5倍および10倍量としたが, これは CBDCA の LD_{50} 値が CDDP の7.6倍であること, および CBDCA の臨床治験が CDDP の8倍量で行われていることからである. その結果, CDDP 2 mg/kg 5日間投与では, 外有毛細胞は基底回転起始部で完全に消失しており, 高度の障害がみられた. 一方 CBDCA 群では CDDP の10倍量の 20 mg/kg 5日間投与でも外有毛細胞に明らかな障害はみられず, CBDCA の聴器毒性は CDDP と比較して著しく軽度であることが再確認された.

CDDP の聴器毒性に関する臨床報告は数多くみられ, 本邦における頭頸部悪性腫瘍に対する Phase study においても全体の13%に聴力障害を認めている⁷⁾. しかし CBDCA の聴力障害に関する臨床報告は現在までみられず, 恐らく臨床的にも聴器毒性は非常に低いものと思われる.

CBDCA の聴力障害については, 臨床報告例がないため, その障害様式については明らかではない. しかし CDDP による聴力障害は 8 KHz の低下が最も強く, 基底回転から障害が起る動物実験成績⁶⁾と一致しており, CBDCA においても基底回転に障害を起こしやすいという動物実験の報告⁴⁾からも, CBDCA による聴力障害も CDDP における同じような障害様式を示すものと推察される.

今回の実験からも CBDCA の聴器毒性は CDDP と比較して著しく軽度であった. しかし正常動物による検討でも CDDP による内耳障害の程度には相当の個体差がみられ, 臨床においては年齢や腎機能など全身状態の違いにより個体差は更に大きくなる. したがって CBDCA においても, 症例によっては聴力障害が惹起される可能性のあることを充分念頭に

おく必要があるものと思われた.

2. CBDCA の腎毒性, 血液毒性について

CBDCA の腎毒性は動物実験的にも, 臨床的にも CDDP と比較して低いことが報告されている. CDDP の投与量規制因子は腎毒性であり, その毒性軽減のために大量の水分補給と利尿剤の投与などを必要としたが, CBDCA では腎毒性に対する特別な配慮は必要とせず, したがって CBDCA は外来での使用が可能であるといわれている¹⁾. 今回の実験でも, CDDP 2 mg/kg 5日間投与で BUN, 血清クレアチニンは著明に上昇し, 腎尿細管上皮には高度の変性, 壊死がみられた. しかし CBDCA 群では CDDP の10倍量の 20 mg/kg 5日間の投与においても, BUN, 血清クレアチニンは軽度上昇を示したにすぎず, 病理組織学的には特に病変を認めず, CBDCA の腎毒性は CDDP と比較して著しく低いことが再確認された.

CBDCA の血液毒性は, これまでに報告¹⁾されているように, 聴器毒性や腎毒性と異なり, CDDP と比較して著しく高度であった. すなわち CDDP では血小板は著明に減少したが, 赤血球は減少せず, 白血球の減少も軽度であった. 一方 CBDCA では, CDDP の10倍量投与群では赤血球, 白血球, 血小板のすべてに, 5倍量投与群では白血球, 血小板に著明な減少がみられた. CBDCA の臨床投与量は CDDP の8倍以上であるが, CBDCA による血液障害が CDDP の5倍量との比較においても著しく高度であったことは, CBDCA においては血液毒性が投与量規制因子になるものと思われた.

3. 聴器・腎・血液毒性と白金濃度との関係について

ラットにおける薬剤最終投与5日後の血清および外リンパ中の白金濃度は, CBDCA 群では CDDP 群の10倍量の投与にもかかわらず, CDDP 群の約1/2にすぎなかった. 一方, モルモットによる大量1回投与後の経時的な組織(血清, 外リンパ, 腎, 骨髄, 肝)内濃度は,

CBDCA は CDDP の 5 倍量が投与されているため、1 時間値ではいずれの組織においても CBDCA 群が CDDP 群より高濃度を示していた。しかしその後 CBDCA 群では CDDP 群に比して急速に減少し、24 時間値ではいずれの組織においても CBDCA 群が CDDP 群より低値を示した。したがって CBDCA の排泄は CDDP と比較して著しく速く、さらに蓄積も起こしにくいものと思われた。

CDDP の高度の聴器毒性や腎毒性は、CDDP の排泄が遅く、内耳や腎に蓄積を起こしやすいためと考えられる。CBDCA においては聴器毒性や腎毒性は著しく低く、これは内耳や腎からの排泄が速く、蓄積も起こしてこないためと考えられた。しかし血液毒性については、CBDCA の方が CDDP と比較して著しく高度であったが、CBDCA が骨髄に蓄積しやすい傾向は認められなかった。したがって CBDCA のもつ種々の毒性を単に濃度や蓄積の多寡のみに起因させることはできず、CBDCA の高度の血液毒性は CBDCA が造血器に対して特異的に作用するためではないかと考えられた。

まとめ

第二世代の白金抗癌剤である carboplatin (CBDCA) の聴器毒性、腎毒性、血液毒性などを cisplatin (CDDP) と比較し、さらに組織内白金濃度と毒性との関係についてラット、モルモットを用いて検討した。

1. CBDCA の聴器毒性、腎毒性は CDDP と比較して著しく低く、これらの副作用のための大量の水分補給などの特別な配慮は必要ないものと思われた。

2. CBDCA の血液毒性は CDDP より著しく高度であり、血液毒性が CBDCA の投与量規制因子になるものと思われた。

3. CBDCA は血清、外リンパ、腎、骨髄からの排泄が CDDP と比較して著しく速く、さらに蓄積も起こしにくいものと思われた。

4. CBDCA のもつ種々の毒性は単に濃度や蓄積の多寡のみに起因するのではなく、CBDCA の高度の血液毒性は CBDCA が造血器に対して特異的に作用するためではないかと考えられた。

本論文の要旨は、第88回日本耳鼻咽喉科学会総会学術講演会、および第34回日本基礎耳科学会において発表した。

参考文献

- 1) Eisenberger M, et al : Carboplatin (NSC-241-240) ; an active platinum analog for the treatment of squamous-cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 4 : 1506~1509, 1986.
- 2) Schweitzer VG, et al : Ototoxicity of cisplatin vs. platinum analogs CBDCA (JM-8) and CHIP (JM-9). *Otolaryngol Head Neck Surg* 94 : 458~470, 1986.
- 3) Schweitzer VG, et al : Vestibular morphological analysis of the effects of cisplatin vs. platinum analogs, CBDCA (JM-8) and CHIP (JM-9). *Laryngoscope* 96 : 959~974, 1986.
- 4) 斎藤武久, 他 : 抗腫瘍剤カルボプラチンの聴器毒性に関する実験的研究. *Audiology Japan* 29 : 469~470, 1986.
- 5) Carboplatin 説明書 (ブリストル・マイヤーズ研究所株式会社), 14頁.
- 6) 大谷 巖, 他 : 抗悪性腫瘍剤 Cisplatin の聴器毒性に対する Fosfomycin の軽減作用に関する実験的研究. *日耳鼻* 87 : 833~840, 1984.
- 7) 斎藤 等, 他 : シスプラチンの聴力障害. *耳鼻臨床* 77 : 1387~1393, 1984.

(別刷請求先 : 大谷 巖
〒960-12 福島市光が丘1番地
福島県立医科大学耳鼻咽喉科学教室)