頭頸部癌化学療法における副作用対策
——シスプラチンの腎毒性に対するプロスタグランジンE₁の
軽減効果に関する実験的研究——

中村直樹・山口 晃・西村恒一

Measures against side effects of chemotherapy for head and neck cancer
——Reduction of cisplatin-induced renal toxicity
by prostaglandin E₁ in animal models ——

Naoki NAKAMURA · Akira YAMAGUCHI · Koichi NISHIMURA

Abstract: We experimentally evaluated the usefulness of prostaglandin E₁ (PGE₁) in a model of cisplatin (CDDP)-induced nephrotoxicity. CDDP (6.5mg/kg) was intravenously injected in male Sprague-Dawley rats. PGE₁ was intravenously infused at different times and for different durations, and the following results were obtained:

1. Infusion of PGE₁ (0.1 μ g/kg/min) for 4 hours from 15 minutes before CDDP injection inhibited decreases in blood urea nitrogen, serum creatinine, fractional excretion of sodium, and creatinine clearance. The nephrotoxic effects of CDDP were thus reduced.

2. With PGE₁ infusion for 2 hours from 2 hours after CDDP administration, the effects was similar to those of PGE₁ infusion for 4 hours after CDDP injection. This suggested that PGE₁ reduces the nephrotoxic effects of CDDP by inhibiting the renin-angiotensin system in the kidneys, thereby maintaining renal hemodynamics. In addition, reabsorption and time factors in the pharmacokinetics of CDDP seem to be involved.

3. PGE₁ infusion for 4 hours before CDDP injection significantly reduced the fractional excretion of sodium, as compared with PGE₁ infusion for 4 hours after CDDP injection, and also reduced the renal platinum level. These findings suggest that PGE₁ prevented renal tubular cell destruction by cytoprotection, resulting in the inhibition of platinum accumulation.

These results suggest that PGE₁ reduces CDDP-induced renal toxicity. In addition, PGE₁ is a bioactive substance and has few side effects. When given in an appropriate dose and at an appropriate time, PGE₁ may be useful in the prevention of CDDP-induced renal toxicity.

Key words: cisplatin (シスプラチン), renal toxicity (腎毒性), prostaglandin E₁ (プロスタグランジン E₁), cytoprotection (細胞保護作用), Sprague-Dawley rat (SD ラット)

緒 言

日本歯科大学新潟歯学部口腔外科学教室第1講座
(主任: 西村恒一教授)
Department of Oral and Maxillofacial Surgery 1,
School of Dentistry at Niigata, The Nippon Dental
University (Chief: Prof. Koichi Nishimura)
受付日: 平成7年7月19日

シスプラチン [cis-diamminedichloroplatinum (II)], 以下CDDP] は, 1969年に Rosenberg ら¹⁾により抗腫瘍性のあることが報告された白金錯体である。臨床的には特に婦人科, 泌尿器科領域で高い有効率が報告され, 次いで頭頸部領域でもその有効性が認めら

写真1 PGE₁ および生理食塩液の持続静脈内投与方法

れ、今日では化学療法の key drug として使用頻度の高い抗癌剤である。しかし、その反面で腎障害、骨髓抑制、消化器障害、聴器障害等の副作用を有し、特に腎毒性は本剤を継続投与するうえで最大の投与量規制因子 (dose limiting factor) となっており、その予防対策が必要とされている。

一方、循環器系薬剤として用いられているプロスタグランジン E₁ (prostaglandin E₁, 以下 PGE₁) は、末梢血管拡張、血小板凝集抑制、赤血球変形能改善等の作用を有しており²⁾、これらにより臓器機能維持が得られることが知られている。また近年、臓器障害に対し細胞保護作用 (cytoprotection) を有することが明らかとなり^{3~5)}、臨床においても慢性腎炎⁶⁾、糖尿病性腎症⁷⁾、難治性ネフローゼ症候群⁸⁾などの腎疾患に対して有効性が報告されてきている。また、CDDP による腎障害軽減に対する有効性について、諏訪多ら⁹⁾は直腸癌の1症例において PGE₁ 投与により尿中 NAG 上昇が軽減できたと報告している。一方、小牟田ら¹⁰⁾は基礎実験と臨床研究より、PGE₁ は CDDP による腎障害の治療に対して有効であったと報告している。しかし、この基礎実験では PGE₁ を代謝経路が明確でない腹腔内投与にて行っており、臨床への応用に際して不明な点も多く、さらに予防対策としての PGE₁ の有効性についての詳細な研究報告はなされていない。

そこで、著者らは CDDP による腎障害の予防対策として PGE₁ の有効性を確認し、また PGE₁ の至適投与方法を検討する目的でラットを用いて研究を行った。

材料および方法

1. 動物

実験動物は8週齢雄性 Sprague-Dawley 系ラット (以下 SD ラット、日本エスエルシー株式会社) 25 匹 (体重 249±23g) を7日間予備飼育の後に使用した。予備飼育および実験の全期間中は、飼育条件として室

(実験1)

(実験2)

図1 薬剤投与方法とタイムテーブル

温 24℃、湿度 50%、昼夜サイクル 12 時間のもとに代謝ケージ内で飼育した。飼育期間中は水道水および実験動物用固形飼料 MF (オリエンタル酵母工業社) を自由摂取させ、特に水分負荷、水分制限は行わなかった。

2. 薬剤および投与方法

PGE₁ 製剤は小野薬品工業株式会社より提供された prostaglandin E₁ · α-cyclodextrin (以下 PGE₁ · CD, Lot No. PU02361A) を生理食塩液 (以下生食) に溶解し用いた。PGE₁ · CD は PGE₁ を 3.0 % 含有しており、投与量の表示はすべて PGE₁ 量で示した。CDDP は日本化薬株式会社より提供された原末 (Lot No. 730003) を生食に溶解して用いた。

PGE₁ はラットをラットホルダー (KN-325A ナツメ製作所) に固定し、尾静脈に留置した 27 ゲージ注射針より注入ポンプ (トップシリンジポンプ TOP-5100 株式会社トップ) を用いて 0.1 μg/kg/min を投与時間、投与時期を変えて持続投与した (写真1)。

また、生食は 1 ml/hr を注入ポンプにて投与時間、投与時期を変えて持続投与した。CDDP は SD ラットの LD₅₀¹¹⁾ と考えられる 6.5mg/kg を尾静脈より 30 秒間で投与した。

3. 実験方法 (図1)

実験1

ラットは各群5匹ずつを以下の4群に分類し、PGE₁ の投与時期および投与時間による効果の違いについて検討した。また CDDP は、いずれの群においても持続投与開始 15 分後に投与した。

1-1: 生食のみ4時間投与した群 (以下対照群)

1-2: PGE₁ のみ4時間投与した群 (以下 PG 群)

1-3: 生食を2時間、その後 PGE₁ を2時間投与した群 (以下生食-PG 群)

表1 各因子の計算法

クレアチニンクリアランス（腎糸球体機能の指標）	
尿 Cr 濃度	$\times \text{尿量} \div 1440$
血清 Cr 濃度	
ナトリウム排泄率（腎近位尿細管機能の指標）	
尿中 Na 濃度	$\div \frac{\text{尿中 Cr 濃度}}{\text{血清 Cr 濃度}} \times 100$
血清 Na 濃度	

1－4：PGE₁を2時間、その後生食を2時間投与した群（以下PG－生食群）

実験2

2－1：ラット5匹を用いて、注入ポンプにてPGE₁を4時間持続投与し、投与終了と同時にCDDPを投与した群（以下PG前投与群）を設定した。

実験1のPG群と比較しPGE₁とCDDPの投与時期による影響について検討した。

4. 血清および尿の生化学的検査

（1）検体の採取と保存

血液は薬剤投与前と投与後6日目に、小動物実験専

用固定器具（MAC-1S 旭硝子株式会社）を用いて無麻酔下にて頸静脈より採血し、30分間室温放置後に3,000rpm×15minで遠心分離を行い血清を分離し、測定施行まで－35℃にて凍結保存した。

尿は薬剤投与前と3日目、および5日目に細口フラスコを用いて24時間蓄尿を行い、まず一日尿量を測定した。次いで薬剤投与前と5日目の24時間尿を攪拌し、その一部尿を採取して3,000rpm×5minで遠心分離し得られた上清の尿を測定施行まで－35℃にて凍結保存した。

（2）測定項目および測定方法

測定項目および測定方法は以下の通りである。

①血清尿素窒素（以下BUN）：ウレアーゼ・GLDH法

②血清クレアチニン（以下S-Cr）および尿クレアチニン：Jaffe法

③血清および尿ナトリウム（以下Na）：電極法
いずれも自動分析装置（日立736日立メディコ）にて測定した。

クレアチニン・クリアランス（以下Ccr）、ナトリウム排泄率（Fraction excretion of sodium, 以下FE_{Na}）は標準式にて計算して求めた（表1）。

5. 腎組織内白金濃度の測定および腎組織検査

表2 腎機能の変化（実験1）

		投与前	3日目	5日目
尿量（ml）	対照群	7.2±2.1	19.4±8.2 *	28.5±10.7*
	PG群	10.3±4.2	21.8±13.3 N. S.	26.7±5.5 *
	生食－PG群	7.6±1.6	11.4±3.2*	28.2±9.9 *
	PG－生食群	6.4±2.4	16.6±7.2 *	27.8±7.5 *
		投与前	6日目	
BUN（mg／dl）	対照群	16.4±2.2	115.4±36.8*	
	PG群	16.8±2.6	51.4±19.7*	
	生食－PG群	17.4±3.2	56.2±27.1*	
	PG－生食群	16.8±2.8	112.6±45.2*	
S-Cr（mg／dl）	対照群	0.56±0.05	2.92±1.02*	
	PG群	0.60±0.07	1.28±0.39*	
	生食－PG群	0.62±0.08	1.50±0.68*	
	PG－生食群	0.62±0.04	2.36±1.02*	
Ccr（ml／min）	対照群	1.09±0.16	0.21±0.13*	
	PG群	1.04±0.07	0.51±0.17*	
	生食－PG群	1.14±0.15	0.49±0.29*	
	PG－生食群	1.18±0.19	0.26±0.17*	
FE _{Na} （%）	対照群	0.47±0.02	3.56±1.89*	
	PG群	0.41±0.10	1.00±0.33*	
	生食－PG群	0.41±0.12	1.24±0.84 N. S.	
	PG－生食群	0.42±0.05	2.50±0.21*	

尿量は投与前値に対する3日目と5日目の比較、BUN、S-Cr、Ccr、FE_{Na}については投与前値と6日目の比較を示す。 * P<0.05 N. S.: no significance

図2 1日尿量(実験1)

各測定日における各群の比較

*同一群内では投与前値に比較して、PG群の3日目のみに有意差が認められなかった。

図4 S-Cr(実験1)

投与6日目における各群の比較

図3 BUN(実験1)

投与6日目における各群の比較

図5 Ccr(実験1)

投与6日目における各群の比較

実験1の対照群、PG群および実験2のPG前投与群において、投与6日目に血液を採取した後、安楽死させ腎を摘出した。右側腎は臓器内白金濃度測定施行まで -85°C にて深凍結保存した。腎組織内白金濃度の測定は、三菱化学ビーシーエルで原子吸光度法にて行った。左側腎は縦断面で切断後に20%ホルマリン固定し、ヘマトキシリン・エオジン(H-E)染色、periodic acid schiff(PAS)反応、過ヨウ素酸メナミン(PAM)染色にて光学顕微鏡による観察を行った。

6. 統計処理の方法

尿量と血清、尿および腎組織内白金量の検査成績については同一群内では術前値と各測定日における測定値を比較して対応のある平均値の差の検定を行った。また、おのおのの群間では同一測定日における測定値の等分散性の検定をし、分散に有意差があればWelchの方法、有意差がなければt検定を行い、 $p<0.05$ の場合に有意差ありと判定した。

図 6 FE_{Na} (実験 1)
投与 6 日目における各群の比較

図 7 1 日尿量 (実験 2)
各測定日における比較
* 同一群内では投与前値に比較して、PG 群の 3 日目のみに有意差が認められなかった。

表 3 腎機能の変化 (実験 2)

		投与前	3 日目	5 日目
尿量 (ml)	PG 前投与群	8.1±0.1	24.7±9.4 *	31.3±3.4 *
	PG 群	10.3±4.2	21.8±13.3 N. S.	26.7±5.5 *
		投与前	6 日目	
BUN (mg/dl)	PG 前投与群	16.4±2.2	30.6±12.2 N. S.	
	PG 群	16.8±2.6	51.4±19.7 *	
S-Cr (mg/dl)	PG 前投与群	0.56±0.05	0.86±0.24 N. S.	
	PG 群	0.60±0.07	1.28±0.39 *	
Ccr (ml/min)	PG 前投与群	1.06±0.08	0.84±0.29 N. S.	
	PG 群	1.04±0.07	0.51±0.17 *	
FE _{Na} (%)	PG 前投与群	0.39±0.12	0.56±0.17 N. S.	
	PG 群	0.41±0.10	1.00±0.33 *	

尿量は投与前値に対する 3 日目と 5 日目の比較、BUN、S-Cr、Ccr、FE_{Na} については投与前値と 6 日目の比較を示す。 * P<0.05 N. S.: no significance

結 果

実験 1 (表 2)

1. 尿量

各群とも尿量は投与前に比較して経口的に増加する傾向が認められた。同一群内では PG 群の 3 日目のみ有意差は認められなかったが、それ以外は各群とも 3 日目、5 日目で有意な尿量の増加が認められたが、しかし各測定日において各群間に有意差は認められなかった (図 2)。

2. 血清および尿の生化学検査

a) BUN; 投与前値には各群間で差は認められなかった。同一群内で投与前値と投与 6 日目の値を比較すると全群とも有意に上昇していた。しかし各群間では、対照群と比較すると、PG-生食群では差は認められなかったが、PG 群と生食-PG 群において有意に低値であった (図 3)。

b) S-Cr; 投与前値には各群間で差は認められなかった。同一群内で投与前値と投与 6 日目の値を比較すると有意に高値を示した。しかし各群間では、対照群と比較すると、PG-生食群では差は認められなかった

図8 BUN (実験2)
投与6日目における比較

図10 Ccr (実験2)
投与6日目における比較

図9 S-Cr (実験2)
投与6日目における比較

図11 FE_{Na} (実験2)
投与6日目における比較

が、PG群と生食-PG群では有意に低値であった(図4)。

c) Ccr; 投与前値には各群間で差は認められなかった。同一群内で投与前値と投与6日目の値を比較すると全群とも有意に低値を示した。しかし各群間では、対照群と比較すると、生食-PG群とPG-生食群では差は認められなかったが、PG群では有意に高値であった(図5)。

d) FE_{Na}; 投与前値には各群間で差は認められなかった。同一群内で投与前値と投与6日目の値を比較すると生食-PG群を除いて有意に低値を示した。しかし各群間では、対照群と比較すると、PG-生食群では差は認められなかったが、PG群と生食-PG群では有意に低値であった(図6)。

実験2 (表3)

1. 尿量

各群とも尿量は投与前に比較して経口的に増加する傾向が認められた。同一群内ではPG群の3日目のみ有意差は認められなかったが、それ以外は両群とも3日目、5日目で有意に尿量の増加が認められた。しかし各測定日において両群間に有意差は認められなかった(図7)。

2. 血清および尿の生化学検査

a) BUN; 各測定日において両群間で差は認められなかった(図8)。同一群内では投与前値と投与6日目の値を比較するとPG群では有意に高値を示したが、PG前投与群では有意差は認められなかった。

b) S-Cr; 各測定日において両群間で差は認められ

図12 腎内白金濃度
投与6日目における比較

写真3 CDDP投与6日目における腎組織変化: PG群
尿細管腔の軽度拡張, 尿細管上皮の平坦化が認められたが, 生食群に比較して障害の程度は明らかに軽減されていた. (H-E染色 ×200)

写真2 CDDP投与6日目における腎組織変化: 対照群
尿細管腔の拡張と尿細管上皮の萎縮, 平坦化が認められ, 一部には写真のような尿細管上皮の変性, 壊死, 脱落が認められた. (H-E染色 ×200)

写真4 CDDP投与6日目における腎組織変化: PG前
投与群
一部に尿細管腔の軽度拡張, 尿細管上皮の平坦化が認められたが, 生食群に比較して障害の程度は明らかに軽減されていた. しかしPG群との差は認められなかった. (H-E染色 ×200)

なかった(図9). 同一群内では投与前値と投与6日目の値を比較するとPG群では有意に高値を示したが, PG前投与群では有意差は認められなかった.

c) Cer; 各測定日において両群間で差は認められなかった(図10). 同一群内では投与前値と投与6日目の値を比較するとPG群では有意に低値を示したが, PG前投与群では有意差は認められなかった.

d) FE_{Na}; 投与前値は両群に有意差は認められなかったが, 投与6日目の値はPG前投与群はPG群より有意に低値であった(図11). 同一群内では投与前値と

投与6日目の値を比較するとPG群では有意に高値を示したのに対しPG前投与群では有意差は認められなかった.

3. 腎内の白金濃度

対照群で $9.102 \pm 1.917 \text{ ng/ml}$, PG群は $9.228 \pm 1.974 \text{ ng/ml}$, PG前投与群では $6.326 \pm 1.449 \text{ ng/ml}$ であった. PG前投与群が他群に比較して有意に低値であった(図12).

4. 腎の組織学的検討

対照群では腎皮質内層および髄質外層外帯に位置す

る近位尿細管の部で、尿細管腔の拡張、尿細管上皮の萎縮と平坦化、さらに刷子縁の菲薄化が認められた。上皮細胞は再生途上と思われる扁平なものが多く、全体に核が大型化したものが多く幼弱な感じであった。糸球体には変化は認められなかった(写真2)。これらに比較しPG群とPG前投与群では近位尿細管に軽度の尿細管腔の拡張、尿細管上皮の萎縮を認めるものの散在性で、巣状変化であり対照群に比較して明らかに軽度であった。PG群とPG前投与群では差は認められなかった(写真3, 4)。

考 察

CDDPは、その優れた抗腫瘍効果により頭頸部癌に対しても広く用いられ、また他の抗癌剤との併用やNeo-adjuvant chemotherapyにおける有用性から、近年その投与量や投与頻度は増してきている¹²⁾。しかし、開発当初より腎毒性が指摘され、これが本剤を投与するうえでの投与量規制因子となっており、腎障害の予防対策が必要とされる。一般的には水分負荷やフロセミド、マンニトールなどによる利尿が臨床的に広く行われているが、最近ではライソゾーム膜の安定化を有するホスホマイシン¹³⁾、ステロイド¹⁴⁾、ウリナスタチン¹⁵⁾の投与も試みられてきている。また、プロベネシド¹⁶⁾による刷子縁を中心とした傍尿細管間質の能動輸送の抑制、次硝酸ビスマス¹⁷⁾による腎内メタロチオネイン合成の誘導および促進によるCDDPの毒性軽減、CDDPのキレート剤であるチオ硫酸ナトリウム¹⁸⁾の投与による中和などの報告もある。しかし、大量輸液は循環系に負担が大きく、また、他の方法についても不確実な点も多いことから、広く一般臨床に応用されるにはいたっていないのが現状である。さらに、最近では高齢者や種々の全身疾患を合併する癌患者に対する治療の需要も増加しており、できるだけ全身的負担や副作用が少なく、より有効な方法の確立が必要であると考えられる。

本研究で用いたPGE₁は、生体内活性物質であり、血管拡張作用、血小板凝集抑制作用、ライソゾーム膜安定化作用、免疫調節作用などの多くの薬理作用を有し²⁾、特に最近では細胞保護作用(cytoprotection)が注目され、臓器機能維持の面から臓器移植など多方面で広く臨床応用されてきている¹⁹⁾。小牟田ら¹⁰⁾は、CDDPを中心とした化学療法施行後、腎機能障害をきたし、大量の補液および利尿剤の投与によっても改善を示さなかった肺癌症例に対して、PGE₁投与により、7症例中6例において腎機能の改善が認められたとしており、同時にマウスを用いた基礎実験にて、PGE₁がCDDPによる腎障害に対する治療に有効であったと報告している。そこで著者らは、PGE₁がCDDPによる腎障害の予防に対しても有効と考え、

SDラットを用いて投与時期および投与時間について検討した。

PGE₁の投与方法としては、イヌなどではPGE₁は肺を一巡すると完全に失活するということから、従来は大腿動脈や上腕動脈に直接持続注入する局所動脈注入療法が行われていた。しかし、PGE₁の肺における不活性率は種により異なること、また肺におけるPGE₁の不活性化率はPGE₁の濃度増加につれ低下する^{20, 21)}ということより現在では、静脈内投与方法が行われており、本研究においてもPGE₁は持続静脈内投与とした。

次に投与量については、本剤の有する血圧低下作用の発現しない量とした。一般に、ラットやマウスのような小動物実験では皮下投与や腹腔内投与によるものが多く持続投与による研究は少ないが、野中ら²²⁾はラットの中大脳動脈閉塞モデルを用いて、血圧に影響しない量のPGE₁で、脳動脈閉塞による異常行動の改善効果に関する研究を行っている。これによるとPGE₁ 1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 持続静注では血圧に影響を与えず、また0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ 以上の用量で脳動脈閉塞後の異常行動の改善をみたと報告している。この報告を参考にして、本研究においても血圧に影響を及ぼさない最少有効量と考えられるPGE₁ 0.1 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ の持続投与を行った。

今回、腎障害の指標としてはBUN、S-Cr、CcrおよびFE_{Na}を用いた。これらは、一般に腎機能の指標として臨床で用いられているが、BUNは腎機能が正常の半分に低下するまできわめてわずかしき上昇せず、特に糸球体濾過値が正常の25%以下になると加速度的に上昇するとされ²³⁾、また、S-Crも腎機能が30%近くに低下するまで異常値を示すことがない²⁴⁾とされている。これに対しCcrは、糸球体濾過値を直接反映し、腎機能異常の初期より判定が可能であるとされている²⁴⁾。一方、FE_{Na}は尿細管におけるNa再吸収の指標であり、尿細管障害によってNa再吸収能が低下することによりFE_{Na}は上昇するとされている²⁵⁾。したがって軽度腎障害の指標として糸球体濾過値を反映するCcrを、重度腎障害の指標としてBUN、S-Crを、さらにCDDPによる尿細管障害の程度の指標としてFE_{Na}を用いた。

CDDPの量については、Yasumasuら¹¹⁾がSDラットのLD₅₀としている6.5mg/kgを尾静脈より投与した。その結果、対照群ではCDDP投与6日目においてBUN、S-Cr、FE_{Na}は投与前に比較し有意な上昇を示し、またCcrは有意に低下していることから確実に高度な腎障害が発現していると考えられた。

CDDPによる腎障害は、形態学的には皮髄境界部の近位尿細管直部のS₃ segmentを中心に選択的に発生することが知られている^{26, 27)}。本研究においてもCDDP投与によるラット腎の組織変化は近位尿細管

の変化で、糸球体には変化は認められなかった。

本研究の結果のうち、まず尿量についてみると、CDDP 投与3日、5日目にほぼ全群において著明な尿量増加が認められた。これは対照群と各群において尿量の増加に差を認めなかったこと、ならびに、程度の差はあるが各指標が投与前と比較して全群とも異常値を示していることから、尿細管障害による多尿と考えられた。

Safirstein ら²⁸⁾ は、CDDP による腎不全に特徴的な多尿は、尿素の能動的分泌をつかさどり、尿素の浸透圧勾配や再吸収、尿濃縮機構にかかわっている S₃ segment が障害されるために、乳頭部における尿素濃度の維持ができず発現すると推測している。また、鈴木ら²⁹⁾ は CDDP の急性腎毒性においては投与量のいかにかわらず非乏尿性の腎障害を呈すると報告している。

したがって、本研究における CDDP の投与量が高度腎障害を引き起こす量であったことを考えると、今回の PGE₁ の投与量は、CDDP による尿細管障害を完全に抑制する量ではなかったと考えられたが、実験1における腎障害の各指標をみると対象群と各群との間に有意差が認められ、PGE₁ の投与により腎障害をある程度抑制していることは明らかであった。

実験1における PGE₁ の投与時期は、CDDP による尿細管障害の発生期における投与であり、その抑制機序としては、第一に PGE₁ の腎血管拡張作用による腎血流量増加と利尿作用に基づく CDDP 濃度の低下や白金沈着の抑制が考えられる。

血中に投与された CDDP は、蛋白と結合した蛋白結合型プラチナムと、遊離した形で存在する非蛋白結合型プラチナムの2つの形態で存在し、おもに抗腫瘍効果や副作用を示すのは非蛋白結合型プラチナムといわれている^{30, 31)}。細胞毒性のある非蛋白結合型プラチナムは比較的短期間に血中より消失するので、尿量を増大させることにより尿中の CDDP 濃度を低下させ腎細胞への毒性を減少させる効果があると報告されており、実際に水分負荷やマンニトール、フロセミドなどの利尿剤が臨床応用されている³²⁾。

一方、PGE₁ は尿細管での Na 再吸収阻害によると考えられる利尿作用を有しており、その機序としては PGE₁ の血管拡張作用により尿細管周囲の毛細血管圧の上昇が起これ、このため尿細管周囲圧が上昇し、等張性の Na 再吸収の抑制がおこると推定されている³³⁾。また、Na 利尿ほど著明ではないが、PGE₁ 投与時に水利尿と C₁₁₋₂₀ の上昇が認められ、この機序は近位尿細管で再吸収をまぬがれた管腔液が遠位尿細管に負荷されるためと考えられている³³⁾。

しかし、実験1での PG 投与群においては、対照群と腎内白金蓄積量に差がないことより、利尿作用や腎血流量増加作用による尿細管腔内の CDDP 濃度の低

下に基づく腎障害の十分な抑制は期待できないと考えられた。

CDDP の腎毒性の早期変化にはレニン-アンジオテンシン系やプロスタグランジン系の関与による血行動態の変化が主体であるとされ³⁴⁾、一般に腎障害の発症とともに腎内レニンが上昇し、レニン-アンジオテンシン系を抑制すると腎障害の程度が抑制され、一方プロスタグランジン系を抑制すると腎障害の程度は憎悪されることが報告されている³⁵⁾。したがって、PGE₁ と CDDP の同時投与における PGE₁ の効果は、初期の細胞障害の抑制ではなく、レニン-アンジオテンシン系の抑制に基づくものであると考えられる。

また、本研究結果では、PG 群および生食-PG 群で対照群に比較して BUN, S-Cr は有意に低く、CCr は有意に高く腎障害の軽減効果がみられたのに対し、PG-生食群では、各指標とも対照群に比較して有意差は認められなかった。

この理由として、CDDP の薬動力学における再吸収と時間的要因が考えられる。CDDP は血中より非常に速やかに組織へ移行し、また組織中の非蛋白結合型プラチナムは、かなりの率で血中にもどるとされている³⁶⁾。一方、非蛋白結合型プラチナムの血漿蛋白との結合速度は遅く、in vitro で2~6時間、in vivo で1時間と報告されている³⁵⁾。さらに、血中の非蛋白結合型プラチナム濃度は投与直後より経時的に減少するが、血中の蛋白結合型プラチナム濃度は投与後3~5時間で再度濃度上昇がみられるとされている³⁷⁾。すなわち、PG-生食群における PGE₁ の有効時期と非蛋白結合型プラチナムが組織より血中へ再移行し蛋白結合型となるまでの時間にずれがあり、この間に非蛋白結合型プラチナムが細胞障害性に働いたものと推測される。

以上より、CDDP と PGE₁ をほぼ同時に投与する場合は、初期に短時間投与するよりも4時間の持続投与もしくは CDDP 投与後2時間以降の投与を重視すべきと考えられた。

次に実験2の結果をみると、PG 前投与群は PG 群に比較して FE_{Na} は有意に低く、また、BUN, S-Cr, Ccr においても有意差は認められなかったが腎障害の程度は低い傾向にあった。さらに、腎組織内白金濃度においても PG 前投与群が、PG 群に比較して有意に低値を示していた。このように PG 前投与群で最も良い腎障害の抑制効果が得られた理由として、前投与により PGE₁ の有する細胞保護作用が働いたものと考えられる。細胞保護作用は Robert ら³⁾ が、その概念を確立させたものであり、ライソゾーム膜安定化作用³⁸⁾ や細胞膜安定化作用³⁹⁾ 等による複合的保護作用であると考えられている。石井³⁹⁾ は、PGE₁ 投与により細胞膜のアラキドン酸量の減少が抑制され、細胞原形質膜の流動性を維持し、細胞内代謝ならびに細胞機

能が保持されるためであろうと述べている。また、CDDPによる腎尿細管障害の因子として活性酸素の関与が示唆されており^{40, 41)}、 PGE_1 では、すでに活性酸素産生抑制作用が確認され^{42, 43)}、これも細胞保護作用の機序の一部と考えられる。

したがって、本研究においても PGE_1 の前投与に基づく腎細胞保護作用によって、初期より腎尿細管細胞の崩壊が抑制され、また、腎内への白金の蓄積も抑制され、腎障害の軽減効果も大きかったものと考えられた。

以上のように、 PGE_1 は非常に広範囲な作用を有し、生体内活性物質でかつ副作用が少ないことから、さらに投与方法の検討を行えば、悪性腫瘍患者におけるCDDPによる腎障害の予防対策として有効な薬剤となりうることを、本研究は示唆するものである。

結 語

抗悪性腫瘍剤であるCDDPによる腎障害に対する PGE_1 の軽減効果についてラットを用いて検討した。

1. CDDP 6.5mg/kgの投与によりBUN, S-Cr, FE_{Na} は有意に上昇し、またCcrは有意に低下し高度な腎障害の出現が認められた。

2. CDDP投与後 PGE_1 0.1 $\mu\text{g/kg/min}$ の4時間の持続投与によりBUN, S-Cr, FE_{Na} の上昇, Ccr低下は抑制され、腎障害の軽減効果が認められた。

3. CDDP投与2時間後からの PGE_1 2時間持続投与は、CDDP投与後4時間の PGE_1 持続投与とほぼ同様の効果を示したことより、この腎障害軽減作用は、腎でのレニン-アンジオテンシン系の抑制等により血行動態が保持されたものと考えられた。またCDDPの薬動力学における再吸収と時間的要因が関与する可能性が示唆された。

4. CDDP投与前4時間の PGE_1 持続投与では、CDDP投与後4時間の PGE_1 持続投与よりも、 FE_{Na} が有意に低値を示した。また、腎内白金量の低下も認められたことより、細胞保護作用により尿細管細胞崩壊が防御され白金蓄積が抑制されたと考えられた。

以上の結果より、 PGE_1 はCDDPによる腎障害に対する軽減効果を有することが確認された。また、CDDPによる腎障害を軽減する PGE_1 投与方法としては、CDDP投与前4時間の持続投与方法が最も有効であると考えられた。

稿を終えるにあたり、本研究に種々のご教示を頂いた、本学歯科麻酔学教室 佐野公人助教授に深甚なる謝意を表します。また、研究の遂行に種々ご助力を頂いた口腔外科学教室第1講座の教室員諸兄に感謝致します。

本論文の要旨は日本歯科大学歯学会第436回例会(1994年12月, 新潟), 第49回日本口腔外科学会総会(1995

年4月, 岐阜), 第21回日本口腔外科学会北日本地方会(1995年4月, 札幌)において発表した。

引 用 文 献

- 1) Rosenberg, B., Van Camp, L., et al.: Platinum compounds: a new class of potent antitumour agents. *Nature* 222: 385-386 1969.
- 2) 吉田朋史: PGE_1 の基礎・現代医療 13: 287-291 1981.
- 3) Robert, A., Nezamis, J. E., et al.: Cytoprotection by prostaglandins in rat: prevention of gastric necrosis produced by alcohol, HCl, NaOH, Hypertonic NaCl, and thermal injury. *Gastroenterology* 77: 433-443 1979.
- 4) Stachura, J., Tarnawski, A., et al.: Prostaglandin protection of carbon tetrachloride-induced liver cell necrosis in the rat. *Gastroenterology* 81: 211-217 1981.
- 5) Ruwart, M.J., Rush, B.D., et al.: Protective effects of 16, 16-dimethyl PGE_2 on the liver and kidney. *Prostaglandins* 21 (Suppl): 97-102 1981.
- 6) 丹波利充, 朝田博章, 他: 慢性腎疾患に対するProstaglandin E_1 の治療効果. *日腎誌* 15: 205-214 1983.
- 7) 吉永泰彦, 姫井 孟: 糖尿病性腎症に対するProstaglandin E_1 の効果について. *現代医療* 17: 459-463 1985.
- 8) 児島弘臣, 中山文義, 他: 難治性ネフローゼ症候群に対するプロスタグランディン E_1 (PG E_1)の臨床効果. *腎と透析* 13: 403-408 1982.
- 9) 諏訪多順二, 小林信幸, 他: PGE_1 がCDDPの腎毒性軽減に有効であった1例. *現代医療* 20: 2787-2790 1988.
- 10) 小牟田清, 五十嵐巖, 他: シスプラチンによる腎障害に対するプロスタグランディンの有効性. *肺癌* 32: 69-73 1992.
- 11) Yasumasu, T., Ueda, T., et al.: Comparative study of cisplatin and carboplatin on pharmacokinetics, nephrotoxicity and effect on renal nuclear DNA synthesis in rat. *Pharmacol Toxicol* 70: 143-147 1992.
- 12) Adelstein, D.J., Sharan, V.M., et al.: Simultaneous versus sequential combined technique therapy for squamous cell head and neck cancer. *Cancer* 65: 1685-1691 1990.
- 13) 安齋友博: Cisplatinの副作用に対するFosfomycinの軽減効果に関する実験的・臨床的研究. *耳鼻臨床 (S-10)*: 1-24 1987.
- 14) Umeki, S., Watanabe, M., et al.: Supplemental fosfomycin and/or steroids that reduce cisplatin-induced nephrotoxicity.

- Am J Med Sci 295: 6-10 1988.
- 15) 川崎清嗣, 芝 良祐: Cisplatin による腎尿細管障害に対する Urinastatin の防護効果. 癌と化療 17: 2273-2276 1990.
- 16) Ross, D.A. and Gale, G.R.: Reduction of the renal toxicity of cis-Dichlorodiammineplatinum (II) by probenecid. Cancer Treat Rep 63: 781-787 1979.
- 17) Naganuma, A., Satoh, M., et al.: Prevention of lethal and renal toxicity of cis-Diamminedichloroplatinum (II) by induction of metallothionein synthesis without compromising its antitumor activity in mice. Cancer Res 47: 983-987 1987.
- 18) 鷺山和幸, 魚住二郎, 他: Cis-diamminedichloroplatinum (II) とその拮抗剤 Sodium Thiosulfate の組合せを用いた 2 経路注入法によるラット膀胱腫瘍の化学療法. 日泌会誌 73: 287-293 1982.
- 19) 小坂義弘, 浅野 真, 他: 肝切除や肝移植とプロスタグランディン E_1 . 現代医療 26 (増II): 1619-1627 1994.
- 20) Golub, M., Zia, P., et al.: Metabolism of prostaglandins A_1 and E_1 in man. J Clin Invest 56: 1404-1410 1975.
- 21) 北村 諭: プロスタグランディンの作用と臨床応用への展望 呼吸器. 現代医療 9: 27-33 1977.
- 22) 中野重幸, 勝部伸夫, 他: 実験的脳虚血の及ぼす PGE_1 ・CD の効果. 薬理と治療 20: 4857-4872 1992.
- 23) 折田義正, 安東明夫, 他: BUN (NPN). 日本臨床 (秋増) 40: 187-189 1982.
- 24) 高橋 進, 波多野道信: クレアチニン. 日本臨床 (秋増) 40: 195-196 1982.
- 25) 鈴木和雄: 薬剤腎毒性の予知に関する研究—特に CDDP 腎毒性について—. 日泌会誌 76: 1795-1806 1985.
- 26) 吉峰一博: Cis-Diamminedichloroplatinum (II) の腎毒性に関する実験的研究. 西日泌尿 45: 511-525 1983.
- 27) 木村茂三, 中藺昌明, 他: Cis-Diamminedichloroplatinum (II) 投与の腎毒性の電顕的観察. 日泌尿会誌 76: 1439-1453 1985.
- 28) Safirstein, R., Miller, P., et al.: Cisplatin nephrotoxicity in rats; defect in papillary hypertonicity. Am J Physiol 241: F175-F185 1981.
- 29) 鈴木和雄, 大田原佳久, 他: Cis-diamminedichloroplatinum (II) 腎毒性に関する基礎的研究. 医学と生物学 112: 205-209 1986.
- 30) Cole, W.C. and Wolf, W.: Renal toxicity studies of protein-bound platinum (cis). Chem Biol Interactions 35: 341-348 1981.
- 31) Takahashi, K., Seki, T., et al: Antitumor activity and toxicity of serum protein-bound platinum formed from cisplatin. Jpn J Cancer Res (Gann) 76: 68-74 1985.
- 32) 和泉 孝: Cisplatin の腎毒性に関する実験的研究 (持続静注法の腎障害予防効果について). 泌尿紀要 34: 37-45 1988.
- 33) 浦壁重治, 高光義博: プロスタグランディンと水・電解質. 代謝 12: 879-887 1975.
- 34) Offerman, J.J.G., Meijer, S., et al: Acute effects of cis-diamminedichloroplatinum (CDDP) on renal function. Cancer Chemother Pharmacol 12: 36-38 1984.
- 35) 加藤明彦, 菱田 明: 急性腎不全—成立機序—. 日本臨床 49: 1232-1238 1991.
- 36) Manaka, R.C. and Wolf, W.: Radiopharmacokinetics of cisplatin. Prestayko, A.W., Crooke, S.T., et al: Cisplatin. Academic Press, New York, 1980, p271-283.
- 37) 黒瀬高明, 佐々木敏江, 他: 薬理動態からみたシスプラチンの腎尿細管再吸収について. 日癌治 24: 1229-1237 1989.
- 38) Raflo, G.T., Wangenstein, S.L., et al.: Mechanism of the protective effects of prostaglandins E_1 and F_2 in canine endotoxin shock. Europ J Pharmacol 24: 86-95 1973.
- 39) 石井良知: ケノデオキシコール酸の培養ラット肝細胞に及ぼす影響と, Prostaglandin E_1 の細胞保護作用について. 日消誌 82: 108-117 1985.
- 40) McGinness, J.E., Proctor, P.H., et al.: Amelioration of cis-platinum nephrotoxicity by orgotein (superoxide dismutase). Physiol Chem physics 10: 267-277 1978.
- 41) Sugihara, K. and Gemba, M.: Modification of cisplatin toxicity by antioxidants. Jpn J Pharmacol 40: 353-355 1986.
- 42) 安島裕之, 宮田昌之, 他: 好中球の活性酸素産生に及ぼすプロスタグランジンの影響. 炎症 5 (2): 125-129 1985.
- 43) 丹羽鞆負: 皮膚潰瘍を中心とした OP-1206・ α -CD の臨床効果とその薬理作用機序. 現代医療 18 (増II): 243-253 1986.