薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
107 (7) 511-516 (1987)

漢方薬によるシスプラチンの副作用軽減

渋谷 清,^a 佐藤雅彦,^b 長谷川達也,^b 永沼 章,^b 井村伸正*,^b
北里研究所病院薬剤科,^a 北里大学薬学部公衆衛生学教室^b

Protective Effect of Chinese Medicines on Toxic Side Effects of *cis*-Diamminedichloroplatinum in Mice

KIYOSHI SHIBUYA,^a MASAHICO SATOH,^b TATSUYA HASEGAWA,^b
AKIRA NAGANUMA,^b and NOBUMASA IMURA*,^b

Hospital Pharmacy, Kitasato Institute Hospital,^a Minato-ku, Tokyo, 108,
Japan and Department of Public Health, School of Pharmaceutical
Sciences, Kitasato University,^b Minato-ku, Tokyo, 108, Japan

(Received February 12, 1987)

Effect of oral administration of nineteen kinds of the Chinese medicines on the toxic side effect of *cis*-diamminedichloroplatinum (cisplatin; *cis*-DDP) was examined by using ICR mice. Significant depression of the lethal toxicity and the renal toxicity (indicated by an increase in blood urea nitrogen value) of *cis*-DDP (45 μ mol/kg; s.c.) was observed in the mice treated with Ginseng and Tang-kuei Ten Combination, Coptis and Rhubarb Combination or Licorice Combination. In mice inoculated i.p. with Ehrlich ascites tumor cells, Ginseng and Tang-kuei Ten Combination, Coptis and Rhubarb Combination and Licorice Combination did not reduce the antitumor effect of *cis*-DDP. Daily consecutive oral administration of Ginseng and Tang-kuei Ten Combination at a dosage of 50 mg/kg/d completely inhibited the lethal toxicity of *cis*-DDP. This dosage of the medicine (50 mg/kg/d) is similar to that used in clinical treatment of adult patients. However, the effective doses of Coptis and Rhubarb Combination and Licorice Combination to reduce the toxicity of *cis*-DDP were about six times higher than those for clinical use. These results suggest that Ginseng and Tang-kuei Ten Combination is the most useful supporting drug for prevention of the toxic side effects of *cis*-DDP.

Keywords—Chinese medicine; *cis*-diamminedichloroplatinum; renal toxicity; Ginseng and Tang-kuei Ten combination; Coptis and Rhubarb Combination; Licorice Combination

緒 言

癌化学療法の効果を上昇させるために、新しい制癌剤や既存の制癌剤の有効利用法の開発が求められている。多くの制癌剤は骨髄抑制、消化器障害及び腎障害等の強い副作用を示し、そのために長期大量投与が妨げられていることから制癌剤の副作用軽減法の開発も、癌治療効果の向上につながる有効な手段となりうる。シスプラチン (*cis*-DDP; *cis*-diamminedichloroplatinum) は、deoxyribonucleic acid (DNA) 合成阻害を作用機序とする制癌剤であり、¹⁾ 睾丸腫瘍、²⁾ 卵巣腫瘍³⁾ 等に特に優れた効果を示し、しかも、各種制癌剤に対する **response rate** が非常に低い肺の非小細胞癌にも有効な薬剤⁴⁾ として注目されている。しかし、シスプラチンは、著しい腎障害を引き起こすため、長期大量投与が困難であり癌の完全治癒には至らないことが多い。固型癌に対して卓越した効果を示す本制癌剤の副作用を効率良く軽減することができれば、その治療効果を大きく向上させることができると思われる。

一方、2000年以上の歴史をもつ漢方医学に対して、近年、科学的研究法が導入され、漢方薬自体のもつ免疫増強作用、⁵⁾ 抗腫瘍効果、⁶⁾ 制癌剤の効力の増強⁷⁾ 及び副作用防止効果、⁸⁾ また、癌の放射線治療における副作用防止効果⁹⁾ など数多くの報告がなされている。そこで、漢方薬による制癌剤副作用軽減効果に着目し、*cis*-DDP の毒性に対する各種漢方薬の効果についてマウスを用いて検討した。

材 料 と 方 法

1. 動物 4週齢の ICR 系雄性マウス (日本チャールズリバー株) を用い, 固型飼料 (日本クレア: CE-2) と水道水を自由に摂取させた.

2. 薬物の投与と毒性の判定 漢方薬として Table I に示す 19 種類のエキス原末 (カネボウ薬品より供与された) を用いた. シスプラチン (*cis*-DDP: 日本化薬より供与された) は, 生理食塩水に溶解し, 45 μ mol/kg の投与量で 1 回皮下投与した. なお, *cis*-DDP の毒性は判定日におけるマウスの生存率と平均体重で判定した.

TABLE I. Effect of Chinese Medicines on Lethal Toxicity of *cis*-DDP in Mice

Treatment	No. of survivors											Survival ^{a)} rate (%)
	Days after injection of <i>cis</i> -DDP											
	0	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
Control	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	100	
<i>cis</i> -DDP	8	8	8	4	0	0	0	0	0	0	0	
<i>cis</i> -DDP+												
Ginseng and Tang-kuei Ten Combination (十全大補湯)	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	80	
Licorice Combination (甘 草 湯)	5	5	5	5	5	5	5	4	4	4	80	
Coptis and Rhubarb Combination (三黃瀉心湯)	5	5	5	5	4	4	4	4	4	3	60	
Polyporus Combination (猪 苓 湯)	5	5	5	5	4	3	1	1	1	1	20	
Persica and Rhubarb Combination (桃核承氣湯)	5	5	5	4	2	2	2	2	1	1	20	
Pueraria Combination (葛 根 湯)	5	5	5	4	1	1	1	1	1	1	20	
Ma-huang and Magnolia Combination (神 祕 湯)	5	5	5	4	1	0	0	0	0	0	0	
Ma-huang Combination (麻 黃 湯)	5	5	5	3	2	2	1	1	1	1	20	
Bupleurum and Paeonia Formula (加味逍遙散)	5	5	5	3	2	0	0	0	0	0	0	
Tang-kuei and Gardenia Combination (溫 清 飲)	5	5	5	3	1	1	1	1	1	1	20	
Ginseng and Gypsum Combination (白虎加人參湯)	5	5	5	3	1	1	0	0	0	0	0	
Gypsum and Apricot Seed Combination (五 虎 湯)	5	5	5	3	1	0	0	0	0	0	0	
Cinnamon and Hoelen Formula (桂枝茯苓丸)	5	5	5	3	0	0	0	0	0	0	0	
Tang-kuei Four Combination (四 物 湯)	5	5	5	2	1	0	0	0	0	0	0	
Minor Blue Dragon Combination (小 青 龍 湯)	5	5	5	2	0	0	0	0	0	0	0	
Ginseng Nutritive Combination (人參養榮湯)	5	5	5	2	0	0	0	0	0	0	0	
Minor Pinellia and Hoelen Combination (小半夏加茯苓湯)	5	5	5	1	0	0	0	0	0	0	0	
Six Major Herb Combination (六 君 子 湯)	5	5	4	3	1	1	1	1	1	1	0	
Cimicifuga Combination (乙 字 湯)	5	5	4	3	0	0	0	0	0	0	0	

On day 0, *cis*-DDP (45 μ mol/kg; s.c.) was injected to mice. Chinese medicines (100 mg/kg/d) were *p.o.* administered to mice once a day for 7 d from day-2 to day 4. a) Determined on day 10.

3. 抗腫瘍効果の判定 ICR 系マウスの腹腔内で継代した Ehrlich 腹水癌細胞を ICR 系雌性マウス (5 週齢) の腹腔内に 1×10^6 cells ずつ移植した.¹⁰⁾ 移植 72 時間後に *cis*-DDP を投与し、投与 5 日後の腹水中総癌細胞数を測定した。

4. 血中尿素窒素 (BUN) の測定 腎毒性の指標として、BUN 量を *cis*-DDP 投与後 5 日後に測定した。なお、測定には Urea N-test キット (和光純薬) を用いた。

結 果

1. *cis*-DDP の致死毒性及び抗腫瘍性に対する漢方薬の効果

致死量 ($45 \mu\text{mol/kg}$) の *cis*-DDP を 1 回皮下投与し各種漢方薬 (100 mg/kg/d) を *cis*-DDP 投与 2 日前から 4 日後までの 7 日間にわたり経口投与したマウスの生存率を Table I に示した。*cis*-DDP 単独投与群では投与 5 日後までにすべてのマウスが死亡したが、漢方薬を併用した場合、数種の漢方薬に延命効果が認められ、*cis*-DDP 投与 5 日後の生存率が十全大補湯及び甘草湯併用群では 100% を示し、三黄瀉心湯、猪苓湯併用群で 80%、桃気承気湯、麻黄湯、加味逍遙散併用群ではそれぞれ 40% に増加した。そして、*cis*-DDP 投与 10 日後においても、十全大補湯又は甘草湯併用群では、80% のマウスが生存し三黄瀉心湯併用群においても 60% が生存していた。Table I の実験において特に著しい *cis*-DDP 毒性軽減効果の認められた十全大補湯、甘草湯、及び三黄瀉心湯の併用が *cis*-DDP の抗腫瘍性に与える影響をエールリッヒ腹水癌細胞を腹腔内移植したマウスを用いて検討したところ、Fig. 1 に示すように、十全大補湯併用群では *cis*-DDP 単独併用群とほぼ等しい抗腫瘍効果が認められた。また三黄瀉心湯併用群及び甘草湯併用群ではわずかに *cis*-DDP の抗腫瘍効果が抑制されたが、これら両群においても癌細胞数の著しい減少が観察された。この結果から十全大補湯などの漢方薬の併用は *cis*-DDP の抗腫瘍性を抑えることなく致死毒性を軽減すると考えられる。

2. 漢方薬の投与条件の検討

Table I の実験では、漢方薬の投与は *cis*-DDP 投与の 2 日前から *cis*-DDP 投与 4 日後までの 7 日間にわたって行ったが、より効果的な投与条件をみつける目的で Table II に示したように、漢方薬の投与期間の検討を行った。その結果、十全大補湯併用時には *cis*-DDP 投与の 5 日前から漢方薬の投与を開始し、*cis*-DDP 投与の 4 日後まで 10 日間にわたって連日投与した場合に最も高い効果が認められ、*cis*-DDP 投与 18 日後でもすべてのマウスが生存した。三黄瀉心湯併用時には Table I の実験と同様 7 日間投与した場合でも、この実験においては 100% のマウスが生存した。また、甘草湯は *cis*-DDP 投与開始時から連続 5 日間の投与によってマウスの生存率を 86% に増加させたが、この効果は *cis*-DDP 投与以前から甘草湯の投与を開始しても増強されなかった。ここで検討した 3 種の漢方薬はいずれも *cis*-DDP 投与以前に (*cis*-DDP 投与の 5 日前から 1 日前までの 5 日間) 投与を行った場合にも、マウスの生存率が 47—71% となりある程度の毒性軽減効果が認められたが、*cis*-DDP 投与の 1 日後から漢方薬の投与を開始した場合には 0—33% とその効果は明らかに低下した。これらの結果から、十

Fig. 1. Effect of Chinese Medicines (G.T.T.C., L.C., C.R.C.) on Antitumor Activity of *cis*-DDP in Mice Inoculated i.p. with Ehrlich Ascites Tumor Cells

Mice were inoculated i.p. with Ehrlich ascites tumor cells on day 0. *cis*-DDP was administered s.c. on day 3, and Chinese medicine (100 mg/kg/d) was administered p.o. daily from day 1 to day 7. Living tumor cells in the ascites were determined on day 8. G.T.T.C.: Ginseng and Tang-kuei Ten Combination. L.C.: Licorice Combination. C.R.C.: Coptis and Rhubarb Combination.

TABLE II. Effect of Administration Schedule of Chinese Medicines (G.T.T.C.,^{a)} L.C.,^{b)} C.R.C.^{c)}) on Lethal Toxicity of *cis*-DDP in Mice

Treatment	Administration schedule of Chinese medicines	No. of survivors									Survival ^{d)} rate (%)	Body weight ^{d,e)} of surviving mice (g)
		Days after injection of <i>cis</i> -DDP										
		0	1	2	3	4	5	8	10	18		
Control		7	7	7	7	7	7	7	7	7	100	34.9±1.7
<i>cis</i> -DDP		6	6	6	5	2	1	1	1	0	0	—
G.T.T.C. ^{a)}	day -5~day -1	7	7	7	7	7	5	3	3	3	43	27.8±2.5
+ <i>cis</i> -DDP	day -5~day 4	7	7	7	7	7	7	7	7	7	100	30.4±2.6
	day -2~day 4	7	7	7	7	5	5	3	3	3	43	29.2±3.6
	day 0~day 4	7	7	7	7	6	6	6	6	6	86	26.3±4.1
	day 1~day 4	6	6	6	6	2	2	2	2	2	33	28.0
L.C. ^{b)}	day -5~day -1	7	7	7	7	7	7	7	7	7	57	30.4±1.5
+ <i>cis</i> -DDP	day -5~day 4	7	7	7	7	7	7	6	6	6	86	30.2±2.4
	day -2~day 4	7	7	7	7	7	7	6	6	6	86	29.1±2.2
	day 0~day 4	7	7	7	7	7	6	6	6	6	86	31.0±2.7
	day 1~day 4	7	7	7	7	5	3	2	2	2	29	29.6
C.R.C. ^{c)}	day -5~day -1	7	7	7	7	7	6	5	5	5	71	28.1±4.3
+ <i>cis</i> -DDP	day -5~day 4	7	7	7	7	7	7	7	7	7	100	29.5±1.9
	day -2~day 4	7	7	7	7	7	7	7	7	7	100	27.3±2.1
	day 0~day 4	7	7	7	7	7	7	6	6	6	86	28.3±3.3
	day 1~day 4	7	7	7	7	3	0	0	0	0	0	—

On day 0, *cis*-DDP (45 μ mol/kg; s.c.) was injected to mice. Chinese medicines (100 mg/kg/d) were *p.o.* administered to mice once a day according to administration schedules.

a) Ginseng and Tang-kuei Ten Combination. b) Licorice Combination. c) Coptis and Rhubarb Combination. d) Determined on day 18. e) mean±S.D.

TABLE III. Effect of Doses of Chinese Medicines (G.T.T.C.,^{a)} L.C.,^{b)} C.R.C.^{c)}) on Lethal Toxicity of *cis*-DDP in Mice

Treatment	Dose of Chinese medicine (mg/kg/d)	No. of survivors								Survival ^{d)} rate (%)	Body weight ^{d,e)} of surviving mice (g)
		Days after injection of <i>cis</i> -DDP									
		0	5	6	7	8	12	13	20		
Control		7	7	7	7	7	7	7	7	100	33.6±1.7
<i>cis</i> -DDP		7	7	5	2	0	0	0	0	0	—
G.T.T.C. ^{a)}	25	7	7	7	6	6	6	5	5	71	30.9±1.2
+ <i>cis</i> -DDP	50	7	7	7	7	7	7	7	7	100	29.3±2.6
	100	7	7	7	7	7	7	7	7	100	33.8±1.4
	200	7	7	7	7	7	7	7	7	100	34.5±2.7
L.C. ^{b)}	25	7	7	7	5	2	2	2	2	29	23.3
+ <i>cis</i> -DDP	50	7	7	7	7	6	6	6	6	86	29.8±1.8
	100	7	7	7	7	7	7	7	7	100	30.4±2.5
	200	7	7	7	7	7	7	7	7	100	32.0±2.1
C.R.C. ^{c)}	25	7	7	7	7	7	7	7	6	86	32.0±1.3
+ <i>cis</i> -DDP	50	7	7	7	7	7	7	7	7	100	33.2±2.7
	100	7	7	7	7	7	7	7	7	100	32.2±1.3
	200	7	7	7	7	7	7	7	7	100	32.7±1.4

On day 0, *cis*-DDP (45 μ mol/kg; s.c.) was injected to mice. Chinese medicines (25~200 mg/kg/d) were *p.o.* administered to mice once a day for 10 d from day -5 to day 4.

a) Ginseng and Tang-kuei Ten Combination. b) Licorice Combination. c) Coptis and Rhubarb Combination. d) Determined on day 20. e) mean±S.D.

全大補湯、甘草湯又は三黄瀉心湯の併用によって *cis*-DDP の致死毒性を軽減するためには、これら漢方薬の投与を遅くとも *cis*-DDP 投与開始日から始め、その後も数日間にわたって投与を続けることが必要であり、少なくとも十全大補湯と三黄瀉心湯に関しては *cis*-DDP 投与以前の数日間も投与したほうがより良い効果が得られると考えられる。漢方薬を *cis*-DDP 投与の 4 日前から 5 日後までの 10 日間投与した場合に 3 種の漢方薬に共通して高い *cis*-DDP 毒性軽減効果が認められたので、次に投与期間をこの条件に一定にしたときの各漢方薬の投与量について検討した。その結果 Table III に示すように、十全大補湯及び三黄瀉心湯では 50 mg/kg/d 以上の投与群において 100% のマウスが生存するようになり、また、甘草湯は 100 mg/kg/d 以上の投与量で投与した場合に 100% のマウスが生存した。マウスの体重はすべての群において *cis*-DDP 投与後、一時的に減少したが、その後、漢方薬投与群ではその投与量に応じた体重増加が観察された (Fig. 2).

3. シスプラチンの腎毒性に対する漢方薬の効果

BUN 値を指標として *cis*-DDP の腎毒性に対する漢方薬の効果を検討した。*cis*-DDP を単独投与して 5 日後の BUN 値は顕著な上昇を示したが、十全大補湯 (50 mg/kg/d)、三黄瀉心湯 (50 mg/kg/d) 及び甘草湯 (100 mg/kg/d) をそれぞれ *cis*-DDP 投与の 5 日前から 4 日後までの 10 日間投与することによって BUN 値はコントロールレベルまで抑制された (Fig. 3).

考 察

今回、我々がとりあげた *cis*-DDP は、広い抗癌ス

Fig. 2. Effect of Chinese Medicines (G.T.T.C., C.R.C., L.C.) on Growth of Mice Receiving *cis*-DDP

On day 0, *cis*-DDP (45 μ mol/kg; s.c.) was injected to Mice. Chinese medicines (0~200 mg/kg/d) were administered *p.o.* to mice once a day for 10 d from day -5 to day 4.

--- 0 mg/kg/d; ● 25 mg/kg/d; ▲ 50 mg/kg/d; ■ 100 mg/kg/d; ○ 200 mg/kg/d; — control.

Fig. 3. Effect of Chinese Medicines (G.T.T.C., C.R.C., L.C.) on Renal Toxicity (Indicated by increase in BUN) of *cis*-DDP

On day 0, mice were administered *cis*-DDP (45 μ mol/kg; s.c.). G.T.T.C. (50 mg/kg/d), C.R.C. (50 mg/kg/d) or L.C. (100 mg/kg/d) was administered *p.o.* once a day for 10 d (day -5~day 4). BUN was determined 5 days after *cis*-DDP injection.

ベクトルをもつ優れた制癌剤として知られ有効使用法の確立が望まれている。しかし *cis*-DDP の用量規制毒性とされる腎毒性は,¹¹⁾ Fig. 3 の *cis*-DDP 単独投与群の急激な BUN 値の上昇で示されるように激烈で *cis*-DDP の長期大量投与を困難にしている。この腎毒性軽減のために水分負荷 (hydration), フロセミドなど利尿剤の併用,¹²⁾ 及び、中和剤としてのチオ硫酸ナトリウムの併用等が,¹³⁾ 臨床上で検討されているが、*cis*-DDP の投与量を増加させるには至っていない。一方、近年、臨床において各種疾病に対する漢方薬の有効性が再確認され、その使用が増加してきている。癌の治療の面でも clonogenic cell assay などによる腫瘍細胞に対する漢方薬の直接的な効果,⁶⁾ また、漢方薬による TNF (腫瘍壊死因子) の産生能の活性化¹⁴⁾ など、漢方薬自身の抗腫瘍性に関する報告や、十全大補湯の大量投与 (有効量: 1000—2000 mg/kg/d, *p.o.*) による mitomycin C 並びに adriamycin の制癌作用の増強効果及び副作用の軽減効果^{7b, 8b)} また、5-FU と小柴胡湯 (有効量: 100 mg/kg/d, *p.o.*) との併用による担癌マウスの延命率の改善^{7a)} など、癌治療における漢方薬の補剂的役割が注目されている。

今回の実験では、十全大補湯、三黄瀉心湯及び甘草湯が *cis*-DDP の抗腫瘍性に影響することなく致死毒性及び腎毒性を顕著に軽減することが判明した。なかでも、十全大補湯の場合、*cis*-DDP (45 μ mol/kg) の致死毒性を完全に抑制するのに必要な投与量は 50 mg/kg/d であり、これは人間での 1 日常用量に等しく、また、三黄瀉心湯 (有効量: 50 mg/kg/d, 常用量: 8.3 mg/kg/d) 及び甘草湯 (有効量: 100 mg/kg/d, 常用量: 16.8 mg/kg/d) では、共に約 6 倍であった。人間での常用量投与で *cis*-DDP の致死毒性を完全に抑制でき、更に臨床で使用される *cis*-DDP の投与量が、今回用いた“致死量”に比べればかなり少ないことを考えあわせると、十全大補湯は *cis*-DDP の毒性軽減剤として極めて有用であると考えられる。十全大補湯はしばしば癌患者の体力増強剤として用いられ、また、細網内皮系の活性化による免疫賦活作用⁵⁾ も報告されていることなどからも、制癌剤の副作用軽減剤として理想的であり臨床での利用が大いに期待される。

引用文献

- 1) a) J. M. Pascoe, J. J. Robert, *Biochem. Pharmacol.*, **23**, 1345 (1974); b) M. Rozenzweig, D. D. Von Hoff, M. Slavik, F. M. Muggia, *Ann. Int. Med.*, **86**, 803 (1977); c) L. A. Zwelling, K. W. Kohn, *Cancer Treat. Rep.*, **63**, 1439 (1979).
- 2) 柳沢宗利, 町田豊平, 三木 誠, 谷野 誠, 赤阪雄一郎, 東陽一郎, 近藤直弥, 癌と化学療法, **10**, 1299 (1983).
- 3) 澤田益臣, 松井義明, 西浦治彦, 柳生美江, 早川謙一, 奥平吉雄, 川島 実, 岩永圭一, 日産婦誌, **33**, 519 (1981).
- 4) P. Schulman, D. R. Budman, L. Weiselberg, V. Vinciguerra, T. J. Degnan, *Cancer Treat. Rep.*, **67**, 943 (1983).
- 5) 伊藤 均, 志村圭志郎, 漢方医学, **8** (5), 14 (1984).
- 6) 安達 勇, 漢方医学, **10** (4), 13 (1986).
- 7) a) 梅沢 巖, 小宮山寛機, 第 45 回日本癌学会総会要旨集, 1986, p. 388; b) 太田隆英, 太原充子, 達家雅明, 阿部博子, 小田島肅夫, 癌と化学療法, **10**, 1858 (1983).
- 8) a) M. Aburada, S. Takada, E. Ito, M. Nakamura, E. Hosoya, *J. Pharmacobio-Dyn.*, **6**, 1000 (1983); b) 黒川胤臣, 玉熊正悦, 漢方医学, **10** (4), 27 (1986).
- 9) a) 谷口一郎, 岩里桂太郎, 佐藤充弘, 寺脇信二, 友成正路, 安部明雄, 羽田野邦和, 肥田木孜, 漢方医学, **8** (8), 21 (1984); b) 田中幸房, 橋本省三, 漢方医学, **10** (4), 32 (1986).
- 10) A. Naganuma, M. Satoh, N. Imura, *Cancer Res.*, **47**, 983 (1987).
- 11) R. L. Comis, “Cisplatin,” ed. by A. W. Prestayko, S. T. Crooke, S. K. Carter, Academic Press, Inc., New York, 1980, pp. 485—494.
- 12) D. Chiuten, S. Vogl, B. Kaplan, F. Camacho, *Cancer*, **52**, 211 (1983).
- 13) C. E. Pfeifle, S. B. Howell, R. D. Felthouse, T. B. S. Woliver, P. A. Andrews, M. Markman, M. P. Murphy, *J. Clin. Oncology.*, **3**, 237 (1985).
- 14) 原中勝征, 里見信子, 桜井明子, 原中瑠璃子, 岡田奈緒子, 小林茂三郎, 漢方医学, **8** (10), 11 (1984).