

腎癌転移巣に対する動注化学療法 MDR 克服剤の併用

京都大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 吉田 修教授)

寛 善行, 吉田 修

国立姫路病院泌尿器科 (医長: 日裏 勝)

清川 岳彦, 兼松 明弘, 日裏 勝

倉敷中央病院泌尿器科 (部長: 荒井陽一)

七里 泰正, 荒井 陽一

INTRAARTERIAL CHEMOTHERAPY FOR METASTATIC RENAL CELL CARCINOMAS: COMBINATION WITH MDR-OVERCOMING AGENTS

Yoshiyuki Kakehi and Osamu Yoshida

From the Department of Urology, Kyoto University Faculty of Medicine

Takehiko Segawa, Akihiro Kanematsu and Masaru Hiura

From the Department of Urology, National Himeji Hospital

Yasumasa Shichiri and Yoichi Arai

From the Department of Urology, Kurashiki Central Hospital

We analyzed the sensitizing activity of five agents, which have been assumed to be MDR-overcoming drugs, in two human renal cell carcinoma cell lines expressing the MDR1 gene at high levels. In addition, we studied the sensitizing activity of cepharanthin, an MDR-overcoming agents, to vinblastine, adriamycin, epirubicin, cisplatin, mitomycin C and etoposide. Based on the results, we treated 6 patients with metastatic renal cell carcinomas (4: bones, 2: contralateral kidneys) by intraarterial injection of vinblastine and adriamycin (or epirubicin) in combination with cepharanthin. Two of the 4 bone metastasis cases responded markedly to the treatment. Renal tubular impairment was observed in one patient who was treated for the contralateral kidney metastasis.

(Acta Urol. Jpn. 40: 925-929, 1994)

Key words: Renal cell carcinoma, Metastasis, MDR-overcoming agents, Intraarterial chemotherapy

緒 言

現在、腎細胞癌 (以下腎癌) の転移巣に対する治療の第一選択は interferon- α や interleukin-2 を中心とする BRM 療法であり、肺転移には20%前後の奏効率 (CR+PR) が見込まれる。しかし、肺を除く転移巣に対する奏効率はきわめて低い。一方、抗癌化学療法剤の奏効率はおしなべてきわめて低く、唯一 vinblastine (VBL) が interferon- α との併用投与において有用性が期待されている現状である。われわれはこれまで、腎癌細胞において高い発現を示す P 糖

蛋白 (MDR1 遺伝子産物) を標的とした、いわゆる MDR 克服剤を併用した化学療法の基礎的検討、臨床への応用の試みを行ってきた。今回、複数の MDR 克服薬の感受性増強効果の基礎的比較検討と、臨床応用として骨や対側腎転移巣を対象とした MDR 克服薬を併用した動脈内注入化学療法の治療結果と問題点を報告し、このような治療法の進行腎癌治療における役割を検討する。

P 糖蛋白と克服薬

P 糖蛋白と親和性を有する化合物としてこれまで

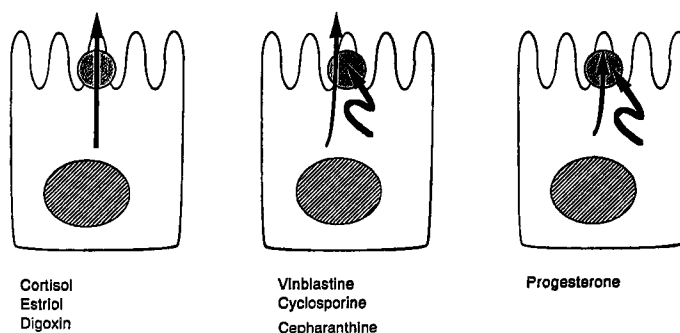


Fig. 1. Schema of how various compounds interact with P-glycoprotein transporter. (Kind permission of Dr. K. Ueda and Dr. M. Hirai)

Table 1. Comparison of sensitizing effects on vinblastine sensitivity among five MDR-overcoming agents. The sensitizing effects are expressed as the ratio of the IC50 without overcoming agents/IC50 with the overcoming agents. Each of the agents was applied at the concentration of $2 \mu\text{M}$ to A704 cells and $0.4 \mu\text{M}$ to ACVB 3.5 cells, respectively.

	A704	ACVB3.5
cepharanthin	14.7	8.80
cyclosporin A	8.51	3.27
AHC-52	7.14	6.13
tamoxifen	1.80	2.00
verapamil	1.43	2.00

に, verapamil や diltiazem などのカルシウムチャンネル阻害剤など数多くの報告がある¹⁾. verapamil などにもみられた心血管系の副作用を軽減する目的で新しい MDR 克服薬の開発も進められている. 植田らはブタの腎近位尿管上皮細胞である LLC-PK1 細胞へ MDR1 cDNA を導入し, その apical surface

側の膜に P 糖蛋白を発現させることに成功した. 彼らはこの系を用い, P 糖蛋白に親和性を有する薬剤の膜輸送を解析したが, その様式は一樣ではないことが判明した^{2,3)} (Fig. 1). Cortisol, estril, digoxin は P 糖蛋白を介して basal から apical 側へ transport されるが他の薬剤の transport を阻害する効果はほとんどなかった. また, progesterone は transport されないが阻害効果は有していた. 近年 MDR 克服薬としても注目をあつめている cyclosporin や FK-506⁴⁾, 今回われわれが臨床応用した cepharanthin (以下 cep) は transport もされ阻害効果も有していた (投稿中).

われわれは, ヒト腎癌細胞 ACHN より VBL を選択薬剤として MDR1 遺伝子を強く発現し多剤耐性を示す ACVB 3.5 細胞をえている⁵⁾. この細胞と, 内因性に MDR1 を高いレベルで発現しているヒト腎癌 A704 細胞を用い, 5 種類の薬剤の VBL 感受性の増強効果を比較検討した. 薬剤感受性は crystal violet 法にて測定し, VBL と増感薬剤は培地に同時添加した. その結果, cep と cyclosporin A

Table 2. Comparison of the sensitizing effects of cepharanthin on the cytotoxicities of 6 chemotherapeutic drugs. S.I. was IC50 without cepharanthin/IC50 with cepharanthin. Cepharanthin was applied at $2 \mu\text{M}$ to A704 and at $0.4 \mu\text{M}$ to ACVB 3.5, respectively.

	A704			ACVB3.5		
	IC50 (mg/ml)		S.I.	IC50 (mg/ml)		S.I.
	cep-	cep+		cep-	cep+	
VBL	4.5×10^{-5}	3.1×10^{-6}	14.7	1.5×10^{-4}	8.2×10^{-6}	18.3
ADR	1.0×10^{-4}	1.1×10^{-5}	9.1	1.1×10^{-4}	1.1×10^{-5}	10.0
epi-ADR	9.0×10^{-5}	2.8×10^{-5}	3.2	1.4×10^{-4}	8.6×10^{-6}	16.3
VP-16	4.8×10^{-4}	8.0×10^{-4}	0.6	1.0×10^{-3}	2.0×10^{-4}	3.2
MMC	1.5×10^{-5}	1.2×10^{-5}	1.3	4.3×10^{-5}	3.6×10^{-5}	1.2
CDDP	3.0×10^{-4}	2.9×10^{-4}	1.0	7.0×10^{-4}	6.2×10^{-4}	1.2

Table 3. Clinical data on the 6 patients treated with the intraarterial chemotherapy combined with cepharanthin

case	病理組織	対象病巣	投与薬剤 (量) *回数	効果	cep による副作用
1	clear cell gr. 1	右大腿骨	[ADR 20+cep 10]×1 [VBL 10+cep 10]×1 [ADR 10+VBL 2+cep 10]×7	PR	右大腿部灼熱感 皮膚の発赤 下肢のしびれ感
2	clear cell gr. 2	対側腎	[VBL 5+cep 10]×4 [VBL 10+cep 10]×1	NC	なし
3	granular cell gr. 2	腰椎骨	[ADR 15+VBL 9+cep 30]×2	MR*	なし
4	clear cell gr. 2	恥骨	[ADR 10+VBL 2+cep 10]×4	NC	下肢のしびれ感
5	clear cell gr. 1	対側腎	[VBL 5+cep 10]×1 [VBL 10+cep 10]×3 [VBL 5+epiADR 20+cep 10]×1 [VBL 2+epiADR 10+cep 10]×2	NC	腎機能低下 (尿細管障害)
6	clear cell gr. 2	左腸骨	[epiADR 20+cep 10]×1 [VBL 10+cep 10]×1 [VBL 5+cep 5]×1 [epiADR 10+VBL 2+cep 10]×5	PR	排尿障害 腎部痛, 肛門痛

*: 初回注入時に栓塞術を併用した

および nifedipine の部分アナログである AHC52 がほぼ同等の高い感受性増強効果を示したが, tamoxifen と verapamil は両細胞とともに 2 倍以下の増強効果であった (Table 1). つぎに, cep の各種抗癌剤に対する感受性増強効果をやはり A704 と ACV 3.5 細胞で検討した. VBL と adriamycin (ADR), epi-ADR に対しては両細胞で明らかな感受性増強効果を認め, etoposide (VP-16) に関しては ACVB 3.5 でのみ増強効果を認めた. mitomycin C や cisplatin に対しては増強効果を示さなかった (Table 2).

MDR 克服薬を併用した動注化学療法

上記の結果とともに, Interferon 療法に反応性の乏しかった進行性腎癌 6 症例の転移病巣 (骨: 4, 対側腎転移: 2) に対し, 支配動脈より注入化学療法を施行した (Table 3). 投与した抗癌剤は症例により若干異なるが, 基本的には VBL に ADR または epi-ADR を併用し, 抗癌剤投与直前に cep を注入した. 腰椎骨転移の症例 3 以外は動脈内に注入用カテーテルが留置でき 4 回以上の注入治療が可能であった. 抗癌剤および cep の注入速度は症例 1, 3, 6 では 20 ml 溶液を約 1 分で急速注入し, 症例 2, 4, 5 では 30 ml 溶解液を 30 分間で緩徐に注入した. 血管造影上の腫瘍血管の消失, CT 上腫瘍の縮小や中心壊死像など明らかな治療効果がえられたのは症例 1 と 6 で, 症例 3 と 6 では痛みや歩行障害などの主症状が著明に改善した. 症例 1 は腎摘後に出現した孤立性的大腿骨転移で, すでに報告した様到大腿骨部分切除を施行し, 転移病巣の大部分が壊死に陥っていたことを確認し

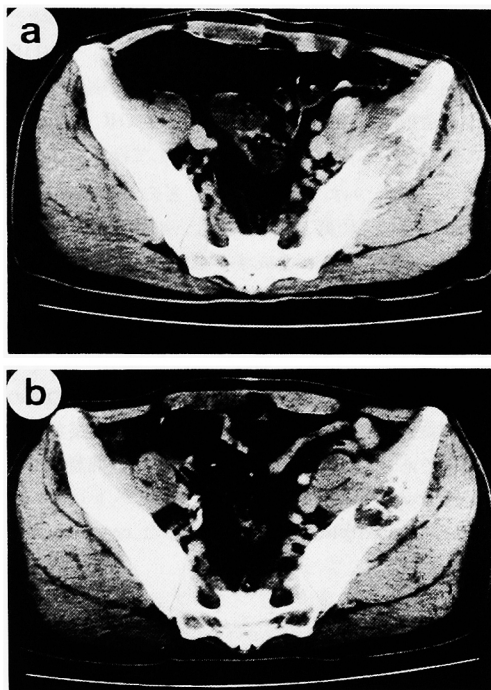


Fig. 2. CT-scan of the left iliac bone metastasis of case 6. The metastatic lesion (a) was significantly reduced in size and necrosis after the treatment (b).

た^{5,6)}. 現在まで 2 年間再発を認めていない. 症例 6 は 64 歳男子, 左腎部から大腿部の疼痛で初診し, 左腎腫瘍と左腸骨転移を発見された. 動注化学療法にて腫瘍は著明に縮小し (Fig. 2), その後, 腸骨部分切除が施行され, 病理学的に CR が確認された. この両症例

では注入薬剤は短時間で注入されており、ともに cep の副作用と思われる注入直後の灼熱感や疼痛がみられ、さらに症例 1, 4 では下肢のしびれ感、症例 6 では神経因性膀胱による一過性の尿閉といった VBL による末梢神経炎と考えられる症状がみられた。反対側腎への転移に対して 2 症例で動注療法を行ったが、CT 上明らかな効果はえられなかった。症例 5 では尿細管障害と思われる一過性の乏尿、血清クレアチニン上昇、長期にわたる尿中 β_2 -microglobulin の異常高値を認めた。

考 察

腎癌の各種抗癌剤に対する内因性耐性には P 糖蛋白を介した多剤耐性の機序以外にも glutathione redox cycle や metallothioneine など複数の機序が複合的に関与していると考えられる⁷⁾。しかし、われわれのこれまでの解析からは少なくとも vinca alkaloid 系や anthracycline 系薬剤に対しては P 糖蛋白が主たる耐性機序と考えられ^{8,9)}、これらの抗癌剤と MDR 克服剤との併用化学療法は将来的に進行腎癌の治療の一つの選択肢になる可能性がある。MDR 克服剤として現在臨床応用を企図したものとしては 2 種類に大別できる。一つは verapamil などの心血管作動薬から副作用（血圧低下、不整脈などの生理活性）がない類似化合物を新たに合成するもので、たとえば今回示した nifedipine の部分アナログである AHC-52 はカルシウム拮抗作用がなく血圧降下作用を心配せず投与できる可能性がある。他は既存の薬剤の中で、その生理的活性相当程度投与しても問題がなく、かつ癌の増殖に対して影響がないかもしくは抑制的効果を有する薬剤である。このような薬剤として免疫抑制剤である cyclosporin A や FK-506、抗エストロゲン剤である tamoxifen、今回臨床応用した cep があげられる。

進行腎癌の第一選択がインターフェロンを主体とした BRM 療法である現状から、今回臨床応用した症例はすべて BRM 療法に良好な反応を示さなかった症例か、BRM 療法併用症例を対象とした。また、抗癌剤および MDR 克服剤である cep を高濃度に投与できることから動脈内注入療法を選択した。この背景にはこれまでに報告されてきた内因性多剤耐性を示す固形癌での MDR 克服剤を併用した全身化学療法の成績が芳しくないこと¹⁰⁾、少数例ではあるが quindine や cep を併用した全身的化学療法に関するわれわれの経験でも、克服剤が in vitro で感受性増強効果を示すだけの濃度が in vivo でえにくいことが挙

げられる。骨転移 4 症例のうち 2 症例で CR もしくは CR に準ずる効果がえられたことは、骨転移薬がインターフェロン療法に対して奏効率が低いだけに興味ある結果と考えられる。ただし、cep が抗癌剤の効果をどの程度増強しえたかは不明である。

MDR 克服剤を併用する化学療法における問題点として、P 糖蛋白を高いレベルで発現する腎の近位尿細管、肝や副腎などの正常組織に対する抗癌剤の影響をも克服剤が増強する可能性が挙げられる。症例 5 においてみられた尿細管障害は、今後腎への同様な治療をする場合注意すべき点と思われる。cep 自身の生理的活性として生体膜安定化作用、免疫機能増強作用、血液幹細胞増強作用、抗アレルギー作用などの報告があるが、これらは担癌宿主にとって不利な要素とは考えられずこの点では cyclosporin A などの免疫抑制剤よりは投与しやすいと考えられる。問題は末梢血管拡張作用で、症例 1 や 6 では灼熱感や疼痛を強く訴え、副腎皮質ステロイド剤の静注にて症状の緩和を図った。症例 1 と 4 で下肢のしびれ感、症例 6 で一過性の排尿障害をみ、いずれも VBL による末梢神経炎によると思われるが、これらを cep が増強したかはさらに症例を重ね観察する必要がある。

結 語

MDR1 遺伝子を高いレベルで発現する 2 種類の腎癌細胞を使い、cep を含む 5 種類の MDR 克服剤の VBL に対する感受性増強効果を比較した。さらに cep の各種抗癌剤に対する感受性増強の有無とその程度を検討した。これらをもとに VBL、ADR または epi-ADR に cep を併用した動脈内注入化学療法を 6 症例の腎癌転移巣に対し行い、骨転移の 2 症例で著しい治療効果がえられた。このような P 糖蛋白を標的とした化学療法は、特に BRM 療法に比較的抵抗性の骨転移病巣などに対しては、有効な治療法になりえると考えられた。

本論文の要旨は、第43回日本泌尿器科学会中部総会シンポジウムにて発表した

本研究に助力を願った橋本真由美氏に深謝する。

文 献

- 1) Mickisch GH, Kossig J, Keilhauer G, et al. al.: Effects of calcium antagonists in multi-drug resistant primary human renal cell carcinomas. *Cancer Res* 50: 3670-3674, 1990
- 2) Tanigawara Y, Okamura N, Hirai M, et al.: Transport of digoxin by human P-glycoprotein expressed in a porcine kidney cell line

- (LLC-PK1). *J Pharmacol Exp Ther* **263**: 840-845, 1992
- 3) Ueda K, Okamura N, Hirai M, et al.: Human P-glycoprotein transports cortisol, aldosterone, and dexamethasone but not progesterone. *J Biol Chem* **267**: 24248-24252, 1992
 - 4) Saeki T, Ueda K, Tanigawara Y, et al.: Human P-glycoprotein transports cyclosporin A and FK506. *J Biol Chem* **268**: 6077-6088, 1993
 - 5) 寛 善行, 橋村孝幸, 吉田 修, ほか: Bisbenzylisoquinoline による腎癌の多剤耐性の克服. *泌尿紀要* **39**: 1227-1232, 1993
 - 6) 寛 善行, 清川岳彦, 橋村孝幸, ほか: 腎細胞癌における内因性多剤耐性とその克服. *泌尿紀要* **38**: 1319-1324, 1992
 - 7) 寛 善行, 吉田 修: 抗癌剤多剤耐性遺伝子. *泌尿器外科* **6**: 509-514, 1993
 - 8) Kakehi Y, Kanamaru H, Yoshida O, et al.: Measurement of multidrug-resistance messenger RNA in urogenital cancers; elevated expression in renal cell carcinoma is associated with intrinsic drug resistance. *J Urol* **139**: 962-965, 1988
 - 9) Kanamaru H, Kakehi Y, Yoshida O, et al.: MDRI RNA levels in human renal cell carcinomas: correlation with grade and prediction of reversal of doxorubicin resistance by quinidine in tumor explants. *J Natl Cancer Inst* **81**: 844-849, 1989
 - 10) Chabner BA and Wilson W: Reversal of multidrug resistance. *J Clin Oncol* **9**: 4-6, 1991

(Received on June 1, 1994)

(Accepted on June 7, 1994)

(迅速掲載)