

腎実質内における酵素, NAG および γ -GTP の 局在からみた CDDP 腎障害

埼玉医科大学総合医療センター泌尿器科 (主任: 斉藤 博教授)

高橋 卓・吉田謙一郎・中目 康彦・斉藤 博

RELATION OF ENZYME DISTRIBUTION IN THE KIDNEY AND INCREASE PATTERN OF URINARY N-ACETYL- β -D- GLUCOSAMINIDASE (NAG) AND γ -GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE (γ -GTP) ACTIVITIES FOLLOWING CDDP ADMINISTRATION

Taku TAKAHASHI, Kenichiro YOSHIDA,
Yasuhiko NAKAME and Hiroshi SAITOH

*From the Department of Urology, Saitama Medical Center of Saitama Medical School
(Director: Prof. H. Saitoh)*

Nephrotoxicity is the major side effect of CDDP and it develops renal tubular damage. In the present paper, we have studied acute effects of cis-dichlorodiamine platinum (CDDP, 20mg daily for 5 days) on the renal tubule using urinary NAG and γ -glutamyltranspeptidase (γ -GTP) activities as indicators of the toxicity. Altogether 25 courses of chemotherapy in 15 patients who had malignant tumors were studied. Urinary enzyme activities consisting of N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG, lysosomal enzyme) and γ -GTP (brush border enzyme) were measured for 11 days from the day before CDDP administration.

In all cases, both urinary enzyme activities increased with CDDP administration. The increase of NAG activity was transient; the highest level was detected on the 5th day of chemotherapy and decreased after that. On the other hand, two peaks of γ -GTP activity were observed in many cases, the first peak during chemotherapy and the second peak soon after the completion of CDDP administration.

The differences in increase pattern of these two urinary enzyme activities, suggest that changes of brush border occur in an early stage and cellular tissue including lysosome of renal tubule is impaired afterwards.

Key words: CDDP, Nephrotoxicity, NAG, γ -GTP

は じ め に

Cisplatin (cis-diaminedichloride platinum, 以下 CDDP) の最も大きな副作用は腎毒性であり, その急性投与により尿細管障害が出現する。

CDDP 投与にともなう尿細管上皮細胞内のライソゾーム酵素の一つである N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase (NAG) の尿中活性が増加することについてはすでにいくつかの報告があるが, われわれは特に治療開始前の尿中 NAG 活性 (NAG 前値) に注

目し, NAG 前値が高い場合, CDDP 投与にともなう尿中 NAG 活性の増加は大きく, NAG 前値が腎障害を知るうえで重要であり, CDDP の投与時期を決定する指標となることを報告した^{1,2)}。

また尿中には電気泳動上, 血清のそれとは異った分画の γ -glutamyl transpeptidase (γ -GTP) 活性が認められるが, この γ -GTP は尿細管の刷子縁に豊富に存在するもので, CDDP 投与により尿中 γ -GTP 活性も増加し, 腎障害の指標となりうること^{3,4)}。またこの酵素活性の変動も治療開始前の尿中 γ -GTP 活性が高

いほど増加の程度は大きく、さらに二相性の活性上昇パターンを示すこともすでに報告した⁹⁾

今回、CDDP 投与患者について尿中のこれら2種類の酵素の、CDDP 投与前、投与中および投与後の活性を測定し、同一患者におけるその急性変動様式の相違から尿細管障害の発生機序について検討した。

対 象 と 方 法

対象症例は CDDP を含む化学療法を施行した悪性腫瘍患者15症例で、このうち10症例では2クール施行した。したがって計25クールについて分析した。対象症例を Table 1 に示す。性別は男10例、女1例、年齢は33歳から86歳までで平均65.5歳であった。悪性腫瘍の原発部位別では膀胱6例、前立腺4例、その他腎盂・膀胱、尿管・膀胱、尿管、尿道および直腸が各1例ずつみられた。組織型は移行上皮癌9例、腺癌6例であった。手術は全例に施行されている。15例中11例は転移を有する進行例で、この治療として CDDP を投与したが、他の4例は転移の認められない症例で、術後の adjuvant therapy の一つとして CDDP を用いた。

CDDP 投与法を Table 2 に示す。CDDP 20 mg/day を Tegafur (TF) 800 mg/day とともに5日間連続投与した。これに Adiramycin (ADM) 40 mg を化学療法第1日に併用した⁹⁾。CDDP 投与中は十分な補液を行ない尿量を 2,000 ml/day 以上得るようにした。15症例中10症例において、第1クール終了後2ないし3週の休薬期間において、第2クールを同様の方法で行なった。

蓄尿は24時間で区切り、CDDP 投与前日より投与中の5日間および投与終了後の5日間、計11日間、連日行なった。1日蓄尿をよく混和後、尿量を測定し、その一部を NAG および γ -GTP の酵素源として活性を測定した。測定法はすでに報告したように¹⁻³⁾、NAG については NAG キットを使用し、 γ -GTP は L-glutamyl-p-nitroanilide 基質法で測定した。なお活性の表現は、単位容積比で表わした活性値に蓄尿量を乗じ、1日あたりの総活性として表わした^{1,2)}。なおこの測定法による尿中 NAG および γ -GTP 活性の正常値は先に報告したごとく¹⁻³⁾、それぞれ 2.6 ± 1.8 (M $\pm$ SD)U/day, 22 ± 9 (M $\pm$ SD)IU/day である。

Table 1. Patients characteristics.

Case	Sex	Age	Disease	Operation done	Metastatic sites
1	M	52	PT,BT	L-nephroureterectomy Partial cystectomy	-
2	M	68	BT	Total cystectomy Single stoma	Lung
3	M	52	RC	L-ureterocutaneostomy	RPL
4	M	74	UT,BT	Tumor resection Ligation of L-ureter	RPL
5	M	33	BT	Total cystectomy Ileal conduit	
6	M	77	BT	Partial cystectomy	
7	M	66	UT	L-nephroureterectomy	RPL
8	M	70	BT	Total cystectomy Ileal conduit	Bone
9	M	64	PC	TUR Castration	Bone
10	M	57	BT	Total cystectomy Ileal conduit	
11	F	86	Ur.T	Tumor resection	In.L
12	M	74	BT	TUR	Bone, SCL
13	M	75	PC	TUR Castration	Bone, RPL
14	M	68	PC	Castration	Bone
15	M	66	PC	Castration	Bone

PT renal pelvic tumor UT ureteral tumor
 BT : bladder tumor PC : prostatic carcinoma
 Ur.T urethral tumor RC : rectal cancer
 RPL : retroperitoneal lymph node
 Ing.L inguinal lymph node
 SCL supraclavicular lymph node

Table 2. Treatment schedule of chemotherapy.

Day	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CDDP20mg/day		*	*	*	*	*					
TF 800mg/day		*	*	*	*	*					
ADM 40mg/day		*									
CCr	*										
Urinary enzyme activity	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*

Table 3. Creatinine clearance and urinary NAG activity.

Case	CCr	Day0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	71	2.2	7.8	8.8	9.8	15.0	15.0	14.2	13.3	14.1	4.0	3.0
1'	90	3.0	10.0	10.2	14.6	12.5	7.7	8.2	4.9	5.0	5.0	5.0
2	90	1.5	3.9	5.1	8.0	10.2	15.3	7.8	3.9	2.5	2.0	1.4
2'	82	5.9	3.3	3.1	4.0	10.2	6.1	4.6	1.0	1.2	1.3	1.4
3	41	2.1	6.3	6.1	9.4	9.5	13.4	15.0	11.6	7.6	2.5	6.6
3'	25	7.2	12.5	11.2	18.1	27.3	14.5	37.0	36.3	24.0	5.0	1.4
4	63	6.8	7.7	10.6	8.7	12.6	10.4	14.9	20.0	13.2	13.1	9.4
4'	60	7.4	9.2	8.9	12.3	16.8	14.3	14.2	13.2	7.9	2.7	7.9
5	108	6.4	10.3	8.9	9.2	10.5	19.6	11.8	10.8	6.5	6.0	6.5
5'	105	8.8	9.0	8.0	10.4	12.6	14.1	9.6	11.0	7.4	8.1	5.8
6	37	6.0	12.6	15.5	16.0	26.2	26.2	20.1	8.8	8.7	5.6	4.2
6'	—	2.2	7.5	9.5	9.9	19.7	23.5	19.0	6.7	3.3	6.5	2.5
7	37	7.0	8.9	14.9	15.5	15.6	15.0	15.1	15.2	13.9	9.6	10.0
7'	123	3.1	3.3	2.5	3.3	10.6	12.0	15.0	2.1	4.8	6.1	4.1
8	27	1.7	6.2	6.5	10.4	14.3	19.2	7.0	4.0	3.2	2.4	2.5
8'	30	3.4	4.2	3.9	8.4	8.4	8.4	7.7	3.6	3.1	2.9	4.0
9	112	0.9	6.7	4.8	9.1	10.1	9.2	6.1	14.3	2.9	0.7	1.8
9'	60	0.4	1.6	1.5	3.5	1.7	0.6	1.3	4.8	2.6	1.5	1.1
10	97	4.0	5.1	8.7	12.7	23.9	20.9	9.7	2.1	4.0	3.1	3.3
10'	101	7.2	13.5	21.0	27.9	20.4	31.7	35.6	23.0	15.1	12.5	8.0
11	21	2.9	7.2	7.8	9.1	7.1	13.6	17.0	11.2	5.4	6.2	6.9
12	42	5.3	4.7	6.8	8.9	13.8	22.1	17.5	12.2	6.8	7.6	8.3
13	36	1.7	5.0	7.9	4.6	18.8	12.0	25.7	14.0	4.0	0.7	1.8
14	109	5.5	10.4	11.2	20.2	16.9	20.6	12.1	12.1	8.4	6.6	7.0
15	141	8.7	6.6	12.9	11.2	6.5	13.5	12.7	12.6	11.3	9.5	2.7

* CCr(creatinine clearance) is expressed as ml/min.

結 果

全25クルールの CDDP 投与前のクレアチニン・クリアランス (Ccr) と尿中 NAG および γ -GTP 活性の11日間の変動を Table 3, 4 に示す。表中および以下の文中において、' を付した症例 No はその症例の第2クルールである。

治療開始前の Ccr は15症例中7症例に 60 ml/min

以下の低下がみられた。2クルール施行した10症例のうち、第2クルール開始前の Ccr が第1クルール前に比べ著しく低下したのは2症例 (No 3, 9) のみで、他の症例では特に大きな変化はみられず、治療開始前の Ccr が 37 ml/min であった No 7 では、逆に第2クルール開始前では 123 ml/min となっている。

尿中 NAG は多くのクルールでは CDDP 投与にもなって増加し、投与終了後減少していくが、No 4,

Table 4. Creatinine clearance and urinary γ -GTP activity.

Case	CCr	Day0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	71	20	46	62	77	53	62	51	39	38	37	30
1 [*]	90	31	90	54	52	63	33	33	30	32	32	22
2	90	7	30	52	52	39	50	51	19	20	18	20
2 [*]	82	15	23	30	71	42	28	34	18	33	22	20
3	41	11	20	49	30	29	23	36	21	17	13	15
3 [*]	25	25	38	52	53	40	32	70	48	12	35	26
4	63	17	15	34	31	32	30	16	56	21	18	9
4 [*]	60	22	26	29	22	44	27	28	34	21	21	20
5	108	44	42	39	52	49	83	81	51	46	43	38
5 [*]	105	39	58	51	50	64	49	62	36	44	35	41
6	37	18	33	78	98	95	58	57	23	28	33	30
6 [*]	—	21	21	72	64	74	81	67	30	29	32	29
7	37	13	26	74	52	53	54	40	26	29	25	31
7 [*]	123	12	18	23	41	31	25	34	14	23	30	25
8	27	37	90	64	64	76	44	31	30	30	30	25
8 [*]	30	32	48	72	80	63	45	41	14	13	13	21
9	112	12	13	70	40	70	54	37	24	27	7	11
9 [*]	60	25	12	25	37	39	27	57	72	39	23	28
10	97	33	72	72	70	56	36	66	44	44	46	45
10 [*]	101	49	70	100	106	72	57	103	51	23	22	20
11	21	19	41	57	144	164	86	83	63	42	37	31
12	42	20	18	34	49	22	40	48	28	8	10	11
13	36	12	10	26	74	85	46	75	33	19	10	9
14	109	25	44	68	64	64	45	52	30	31	31	36
15	141	32	22	72	45	36	90	74	45	62	59	23

* CCr(creatinine clearance) is expressed as ml/min.

9, 11 では CDDP 投与終了後に高い活性値を示し、また No 3, 10, 13, 15 のように後述する γ -GTP の変動に似た二相性のパターンを示すものであった。

尿中 γ -GTP は大部分のクールでは CDDP 投与開始後急激に増加し、CDDP 投与中に一度やや減少するが、投与終了直後に再び増加がみられ、以後漸減するという2つのピークをもつ変動を示した。この2つのピークの活性値はおおむね第1ピークの方が第2ピークより高かったが、No 4, 3, 9 では第2ピークの方が高い活性値を示し、No 5, 6, 7, 8, 11 では明らかな二相性のパターンは認められなかった。

しかしながら全25クールをまとめると尿中酵素活性は CDDP 投与により増加がみられ、投与終了後減少した。それぞれの酵素の変動様式の関係をみてみると、Fig. 1 のごとく NAG は CDDP 投与終了日 (Day 5) をピークとして、以降漸減している。一方 γ -GTP は CDDP 投与とともに著明に上昇し Day 3 に

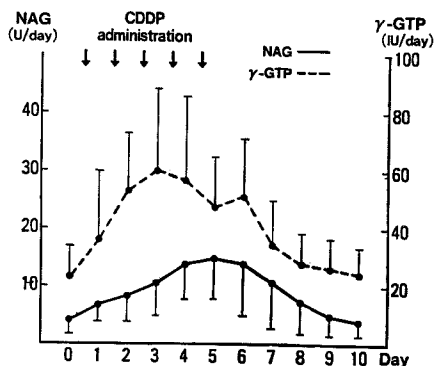


Fig. 1. Acute change of urinary NAG and γ -GTP activity following CDDP administration (n=25)

第1のピークを示す。その後いったん下降するが、CDDP 投与終了後の Day 6 を第2のピークとする二相性の変動を示した。両者とも Day 10 には治療

開始前の値に戻っている。これら2つの酵素それぞれに特有な変動パターンは治療開始前の値や Ccr の違いには影響されず、同様の動きを示した。

考 察

CDDP は悪性腫瘍に対する高い有効性が確認されているが、腎毒性物質である白金の化合物であり、投与に際しては腎障害が最も大きな副作用となる。

腎毒性物質は細胞に対する直接障害作用として毒性を発揮するが、一般に重金属による腎障害の発現部位は近位尿細管であり⁶⁾、尿細管上皮細胞の壊死・脱落が起こる。CDDP による腎障害も急性変化としてはおもに尿細管の障害で、形態学的には近位尿細管から遠位尿細管に変化がみられ、特に近位尿細管直部 (Pars recta, S-3 segment) に最も変化が強いとされている⁷⁾。この尿細管障害の発生機序については多くの研究が行なわれているが十分な結論は得られていない。

尿細管細胞が障害されると細胞内に存在する酵素が尿中に漏出し、近位尿細管障害を示す指標となる。NAG は近位尿細管細胞内のライソゾームに存在する糖質分解酵素のひとつであり、細胞障害が生ずると尿中に多量に排泄される。また γ -GTP は近位尿細管細胞の刷子縁に豊富に存在する酵素であるが、細胞障害により NAG と同様に尿中排泄が増加する。CDDP 投与にともなうこれら尿中酵素のそれぞれの急性変動についてはすでに報告した¹⁻³⁾。

今回、この2種類の酵素の CDDP 投与にともなう急性変動様式の相違を比較し、尿細管障害の発生機序について検討した。

両者とも、CDDP 投与にともなう尿中排泄は増加し、CDDP 投与中 (Day 3) に γ -GTP は第1のピークを示し、投与終了日ないし直後 (Day 5, 6) に NAG のピークおよび γ -GTP の第2のピークがみられる。 γ -GTP が CDDP 投与早期にその尿中活性が増加することから、まず γ -GTP を多く含む刷子縁が障害され、次にライソゾームを含む細胞実質の障害が起っていると考えられる。すなわち細胞内の変化は管腔側のものより少し遅れて現れるということになる。

薬物性腎障害では薬物は尿細管管腔側からの再吸収により上皮細胞に達すると考えられているが、CDDP が上皮細胞に達するもう一つの経路として間質毛細血管から尿細管基底膜を通して上皮細胞内に移行する経路も考えられ、今回の結果を考え合わせると、上皮細胞はこれら2つの経路から障害を受けるであろうことは推測される。木村ら⁸⁾も CDDP 投与による腎障害

の発生機序について動物実験を行ない、おもに電顕による形態学的検討からこの2つの経路を考察している。

重金属の中で白金に近いのは水銀であり、CDDP の腎に対する作用は水銀投与による場合と類似しているとされている⁹⁾。水銀投与の初期変化として刷子縁の微小絨毛の消失を認める報告¹⁰⁾があり、また動物を用いての阻血実験で最初に近位尿細管の直部において刷子縁の消失をみた報告¹¹⁾もあり、いずれも Pars recta (S-3 segment) が虚血による影響を受けやすいとしている。したがって γ -GTP の早期上昇、すなわち第1のピークは虚血性腎障害の初期変化としての刷子縁の変化の表われとの解釈もできる。Dobyan ら⁷⁾は CDDP は水銀と同様に近位尿細管の特に S-3 segment から多く分泌され、この部位に集積し、これが上皮細胞に直接の毒性として作用し、さらに CDDP の間接的作用として腎の血行動態に変化が起り、比較的血流の乏しい Pars recta が虚血性変化を受ける可能性を推論している。

尿中 γ -GTP は電気泳動上、2ないし4つの band に分けられることが報告されており¹²⁾、すなわちこのことは分画を異にするいくつかの isozyme が存在することを意味している。したがって CDDP 投与により γ -GTP には二相性の活性上昇パターンが認められたことは、CDDP 投与早期にその活性の上昇がみられ、第1のピークをつくる γ -GTP と、CDDP 投与終了時にその活性の上昇がみられ、第2のピークをつくる γ -GTP とは別のものである可能性がある。そして、この第2のピークは Day 6 にみられ、NAG のピーク (Day 5) とほぼ一致することから、今まで述べてきた刷子縁に含まれる γ -GTP とは局在部位の異なる γ -GTP が存在し、CDDP 投与により NAG とともに尿中排泄が増加していることも考えられる。この細胞内局在に関して、今後さらに詳細な分析を行なってゆきたい。

以上述べてきたごとく、尿中酵素の変動から CDDP による尿細管障害の発生機序がある程度推測されるが、今後さらに他の尿中酵素の変動に関しても検討を行なう予定である。また薬物性細障害の特徴として dose-response relation が認められることから、CDDP の投与量の問題や5日間連続投与と1回投与の差についても考慮しなければならず、この点、尿中酵素の測定に併せて CDDP の血中濃度の変動の検討も行なう必要があると考える。

結 語

CDDP 5日間連続投与患者の尿中 NAG および γ -GTP 活性を同時に測定して、その急性変動様式の比較から、尿管障害の発生機序について検討し、以下の点を述べた。

1) CDDP 投与にともなう NAG および γ -GTP の尿中排泄は増加し、CDDP 投与中 (Day 3) に γ -GTP は第1のピークを示し、投与終了日ないし直後 (Day 5,6) に NAG のピークおよび γ -GTP の第2のピークがみられた。

2) γ -GTP が CDDP 投与早期にその尿中活性が増加することから、まず γ -GTP を多く含む刷子縁が障害され、つぎにライソゾームを含む細胞実質の障害が起っていると考えられる。

3) CDDP が尿管上皮細胞に達する経路としては、尿管管腔側からのものの他に毛細血管から基底膜を通して移行する経路が考えられるが、CDDP による腎障害には虚血性変化による障害の存在も考えられる。

4) γ -GTP には二相性の活性上昇パターンがみられたことから、刷子縁に含まれる γ -GTP とは細胞内局在部位の異なる γ -GTP が存在する可能性がある。

文 献

- 1) 吉田謙一郎・高橋 卓・中目康彦・斉藤 博・堀内 晋・金親史尚・根岸壮治: CDDP 投与にともなう尿中 NAG 活性の急性変動についての検討. 泌尿紀要 32: 369~373, 1986
- 2) 吉田謙一郎・高橋 卓・中目康彦・斉藤 博・堀内 晋・金親史尚・根岸壮治: 尿中 NAG 活性からみた CDDP 腎障害—尿中 NAG 活性を増加させる因子についての検討—. 西日泌尿 48: 1197~1203, 1986
- 3) 高橋 卓・吉田謙一郎・中目康彦・斉藤 博: 尿中 γ -GTP 活性からみた CDDP 腎障害. 泌尿紀要 32: 789~794, 1986
- 4) Giannattasio M, Antonelli M, Montanaro AA, Rizzi R, Granata A, Restaino A, Selvaggi L and Coratelli P: Enzymuria as a marker of renal damage caused by cis-dichloro-diammine-platinum (CDDP) administered to patients with ovarian carcinoma. Chemotherapia 1: 437~439, 1982
- 5) 吉田謙一郎・堀内 晋・金親史尚・根岸壮治: 前立腺癌再燃癌進行例に対する Cisplatin, Adriamycin, Tegafur 併用療法の試み. 西日泌尿 48: 1517~1521, 1985
- 6) 武内重五郎・新臨床腎臓病学, 365~366, 南江堂, 東京, 1985
- 7) Dobyen DC, Levi J, Jacobs C, Kosek J and Weiner MW: Mechanism of cis-platinum nephrotoxicity: 2. Morphologic observations. J Pharmacol Exp Therapeutics 213: 551~516, 1980
- 8) 木村茂三・中國昌明・田崎 寛: Cis-Diamminedichloroplatinum (II) 投与の腎毒性の電顕的観察. 日泌尿会誌 76: 1439~1453, 1985
- 9) Levi J, Jacobs C, Kalman SM, Mctigve M and Weiner MW: Mechanism of cis-platinum nephrotoxicity: 1. Effects of sulfhydryl groups in rat kidney. J Pharmacol Exp Therapeutics 213: 545~550, 1980
- 10) McDowell EM, Nabgle RB, Zalme RC, McNeil JS, Flamenbaum W and Trump BF: Studies on the pathophysiology of acute renal failure. 1. Correlation of ultrastructure and function in the proximal tubule of the rat following administration of mercuric chloride. Virch. Arch B Cell Pathol 22: 173~196, 1976
- 11) Venkatachalam MA, Bernard DB, Donohoe JF and Levinsky NG: Ischemic damage and repair in the rat proximal tubule: Differences among the S1, S2 and S3 segments. Kidney Int 14: 31~49, 1978
- 12) 佐野紀代子・宇野恵美子・持斎晴美・長 裕子: 尿 γ -GTP. 臨床病理 56: 53~64, 1983
(1986年10月6日受付)