

学位論文題名

# セレンによるシスプラチンの腎毒性軽減効果に関する研究

## 学位論文内容の要旨

### I 研究目的

シスプラチン（CDDP）は優れた抗癌剤であるが、腎毒性が強く、Dose limiting factorとされている。一方、セレン（Se）は必須微量元素であり、また、重金属に対する毒性軽減効果が注目されている。

近年、CDDPが重金属である白金を含むことから、SeがCDDPの腎毒性をも軽減する可能性が考えられている。しかし、肺癌をモデルにしてCDDPの抗腫瘍効果に対するSeの影響を検討した報告はなく、また、CDDPとSeの相互作用についての報告もほとんどなく、他の重金属とSeの相互作用と同じものかどうか明らかではない。

そこで、マウスを用いてSeによるCDDPの腎毒性軽減効果について検討し、その機序についても検討した。

### II 対象と方法

#### 1) CDDPの毒性及ぼすSeの影響

マウスにCDDP $50\mu\text{mol}/\text{kg}$ を腹腔内投与し、亜セレン酸ナトリウム(Se)10, 20,  $30\mu\text{mol}/\text{kg}/\text{day}$ をCDDP投与日から5日間皮下投与した。対照には生理食塩水を用いた。採血し尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Cr)、トランスアミナーゼ(GOT, GPT)を測定し、また、採尿し尿N-acetylglucosaminidase(NAG)を測定し、さらに腎および肝を摘出して組織像を観察した。また、同様に採血して白血球数(WBC)、赤血球(RBC)、ヘモグロビン(Hb)、ヘマトクリット(Ht)を測定した。

#### 2) CDDPのLewis肺癌に対する抗腫瘍効果に及ぼすSeの影響

マウスの背部皮下にLewis肺癌細胞を $5 \times 10^5$ 個移植し、10日後CDDP $20\mu\text{mol}/\text{kg}$ 腹腔内投与で十分な効果があることを確認した。さらに、Se $8\mu\text{mol}/\text{kg}/\text{day}$ を5日間皮下投与した。細胞移植21日後、移植腫瘍の長径を測定し、肺を摘出して肺転移数を数えた。

### 3) 血中および臓器中の CDDP および Se 濃度

マウスに CDDP $50\mu\text{mol}/\text{kg}$ を腹腔内投与し、Se $20\mu\text{mol}/\text{kg}$ を5日間投与し、血漿、血球、腎、肝の CDDP および Se 濃度を測定した。

### 4) Se 欠乏食摂取マウスにおける CDDP の影響

マウスに Se 欠乏食を4週間摂取させ、CDDP $50\mu\text{mol}/\text{kg}$ を腹腔内投与し、BUN, Cr, GOT, GPT を測定した。

### 5) 血中および臓器中グルタチオンペルオキシダーゼ (G-Px) 活性

マウスに CDDP $50\mu\text{mol}/\text{kg}$ を腹腔内投与し、Se $20\mu\text{mol}/\text{kg}$ を5日間皮下投与し、血漿、血球、腎、肝の G-Px 活性を測定した。Se 欠乏食摂取マウスについても同様に行った。

## III 結 果

### 1) CDDP の毒性に及ぼす Se の影響

CDDP 単独投与群では BUN は $85.4 \pm 8.3\text{mg}/\text{dl}$  (S.D.) と高値を示した。CDDP・Se 併用群では Se $20\mu\text{mol}/\text{kg}/\text{day}$  投与群では $28.8 \pm 15.7\text{mg}/\text{dl}$  と抑制された。(p < 0.001)。CDDP 単独投与群では尿 NAG は $27.44 \pm 3.08\text{U}/\text{l}$  と高値を示した。CDDP・Se 併用群では $8.04 \pm 1.01\text{U}/\text{l}$  と低値であった (p < 0.001)。CDDP 単独投与群の腎では近位尿細管細胞の変性がみられた。これに比し CDDP・Se 併用群では同様の変化はみられるものの軽度であった。また、CDDP 単独投与群および CDDP・Se 併用群とも肝には異常はみられなかった。また、CDDP 単独投与群および CDDP・Se 併用群ともに WBC, RBC, Hb, Ht には変化がなかった。

### 2) CDDP の Lewis 肺癌に対する抗腫瘍効果に及ぼす Se の影響

CDDP 単独投与群では、移植腫瘍径および肺転移数は、対照群の $21.0 \pm 0.7\text{mm}$ および $29.8 \pm 1.5$ 個に対し、それぞれ $15.6 \pm 0.1\text{mm}$ ,  $3.4 \pm 5.3$ 個 (それぞれ p < 0.001) と抗腫瘍効果がみられた。CDDP・Se 併用群でもそれぞれ $16.4 \pm 0.9\text{mm}$ ,  $2.6 \pm 2.7$ 個 (それぞれ p < 0.001) と同様の抗腫瘍効果がみられた。

### 3) 血中および臓器中の CDDP および Se 濃度

CDDP 単独投与群と CDDP・Se 併用群で、血漿、血球、腎、肝ともに CDDP 濃度に差はなかった。CDDP・Se 併用では当然ながら、CDDP 単独投与群に比し血漿、血球、腎、肝ともに Se 濃度は上昇していた。

### 4) Se 欠乏食摂取マウスにおける CDDP の影響

Se 欠乏食摂取マウスに CDDP を投与すると、BUN は $97.8 \pm 21.4\text{mg}/\text{dl}$ , Cr は $1.16 \pm 0.10$

mg/dl ( $p < 0.005$ ) と普通食摂取マウスよりさらに高値を示した。

#### 5) 血中および臓器中 G-Px 活性

Se 欠乏食摂取マウスでは、血漿、血球、腎中 G-Px 活性は、対照群の  $295 \pm 42 \text{U/g-protein}$ 、 $557 \pm 97 \text{U/g-Hb}$ 、 $869 \pm 117 \text{U/g-protein}$  に対し、それぞれ  $219 \pm 31 \text{U/g-protein}$ 、 $356 \pm 73 \text{U/g-Hb}$ 、 $551 \pm 109 \text{U/g-protein}$  と低下していた (それぞれ  $p < 0.001$ )。CDDP・Se 併用群では対照群に比し、G-Px 活性は差がなかった。

## IV 考 察

今回の実験では、Se の CDDP の腎毒性軽減効果の検討においてマウスの半数が死亡する量 (LD50) の CDDP を用いた。CDDP 単独投与群では BUN および尿 NAG の上昇がみられたが、CDDP・Se 併用群では BUN および尿 NAG の上昇が抑制された。CDDP の抗腫瘍効果を及ぼす Se の影響の検討においては、腫瘍として Lewis 肺癌を用いた。CDDP 単独投与群では肺の転移数が対照群に比し減少しており、CDDP・Se 併用群でもこの抗腫瘍効果は阻害されなかった。

ところで、この Se の CDDP 腎毒性軽減効果の機序は未だ明らかではない。無機水銀 (Hg) あるいはカドミウム (Cd) と Se の相互作用については以前から多くの報告があり、両者を同時に投与した場合には血中および臓器中の Hg, Cd および Se 濃度が単独投与の場合に比し大きく変化することが知られており、その機序として Hg, Cd, Se が血中で化学的安定な複合体を形成することが考えられている。今回の成績では、CDDP 単独投与群と CDDP・Se 併用群において血中および臓器ともに CDDP 濃度に差はなかった。従って、CDDP と Se の相互作用は、Hg あるいは Cd と Se の様に複合体を形成するものとは異なると考えられる。

Se 摂取量が重金属の毒性発現に関与しているという報告がみられる。今回の成績では、Se 欠乏食摂取マウスは普通食摂取マウスに比し CDDP の腎毒性が増強された。これは Se の摂取量が CDDP の腎毒性発現に関与していることを示唆する。

Se の現在までに明らかにされている最も重要な役割は G-Px の構造成分ということであり、G-Px は細胞膜などの酸化的損傷に対する生体防御に重要な役割を担っている。今回の成績では、Se 欠乏食摂取マウスは血漿、血球および腎中の G-Px 活性が低下し、かつ、腎毒性が増強した。しかしながら、Se 投与マウスでは血中および臓器中の G-Px 活性がそれほど変化していないにもかかわらず、腎毒性が軽減した。従って、G-Px は CDDP の腎毒性の一部に関与している可能性があるが、G-Px のみではその作用をすべて説明することはできないと考えられる。

現在、Se 含有蛋白でその生理活性が明らかにされているのは G-Px のみであるが、その他にも Se を含有する蛋白は動物で発見されており、今後、それらの生理活性を明らかにしていく必要もあると考えられる。

## V 結 論

1. セレンは、シスプラチンの腎毒性を軽減し、シスプラチンの Lewis 肺癌に対する抗腫瘍効果は阻害しなかった。
2. セレンとシスプラチンの相互作用は、無機水銀あるいはカドミウムとセレンの相互作用のように複合体を形成するものとは異なると考えられた。
3. セレンの摂取量は、シスプラチンの腎毒性に関与していると考えられた。
4. グルタチオンペルオキシダーゼは、セレンによるシスプラチンの腎毒性軽減の一部に関与している可能性があるが、それだけではすべてを説明できないと考えられた。

## 学位論文審査の要旨

主 査 教 授 川 上 義 和

副 査 教 授 石 橋 輝 雄

副 査 教 授 葛 卷 暹

シスプラチンは優れた制癌剤で広く臨床で用いられているが、腎毒性が強くこれが使用上の隘路である。本研究は、セレンがシスプラチンによる腎毒性を軽減するか否かを検定したものである。

対象と方法：

1) シスプラチンの毒性に及ぼすセレンの影響：マウスにシスプラチン $50\mu\text{mol}/\text{kg}/\text{day}$  を 5 日間投与したものを対照に、これに亜セレン酸ナトリウム各 $10, 20, 30\mu\text{mol}/\text{kg}/\text{day}$  を併用した。

2) シスプラチンの Lewis 肺癌に対する抗腫瘍効果に及ぼすセレンの影響：マウス背部皮下に Lewis 肺癌細胞を  $5 \times 10^5$  個移植し、10 日後にシスプラチン $20\mu\text{mol}/\text{kg}$  腹腔内投与した抗腫瘍効果を確認、さらにセレン  $8\mu\text{mol}/\text{kg}/\text{day}$  を 5 日間投与し、移植腫瘍長径、肺転移数を数えた。

3) セレン欠乏食摂取マウスにおけるシスプラチンの影響：セレン欠乏食を4週間摂取させたマウスにシスプラチン50 $\mu$ mol/kgを腹腔内投与し、腎・肝機能を測定した。

4) 結果：シスプラチン単独投与群では、BUN、クレアチニン及び組織所見からみて腎毒性がみられたが、セレン併用群では各投与量とも軽減がみられた。Lewis 肺癌移植マウスでは、シスプラチンとセレンを併用してもシスプラチン単独投与群との間の腫瘍径、転移数に有意差はみられず、セレンはシスプラチンの抗腫瘍効果を阻害しないことが明らかであった。セレン欠乏食摂取マウスでは、シスプラチンの腎毒性はさらに増強された。また、このセレン欠乏食摂取マウスでは、血漿、血球、腎中グルタチオンペルオキシダーゼ活性は低下しているが、シスプラチン、セレン併用群ではシスプラチン単独群に比較して活性には差がなかった。

以上の結果は、セレンがシスプラチンの腎毒性を抗腫瘍効果を阻害することなく抑制すること、セレンとシスプラチンの相互作用は無機水銀あるいはカドミウムとセレンの相互作用のような複合体を形成するものとは異なること、セレン摂取量はシスプラチンの腎毒性に関与すること、グルタチオンペルオキシダーゼはセレンの腎毒性軽減効果の一部に関与している可能性があることを示している。

以上の口頭発表に際し、石橋教授からグルタチオンペルオキシダーゼの測定法につき、葛巻教授から細胞内セレンの uptake、生体での uptake、腎におけるメタロチオネインとの関係、内野教授からハイドレーショの有無、副作用の有無、牧田教授から臨床応用の見込みなどにつき質問をいただいたが、申請者は概ね妥当に答えた。また副査の石橋教授、葛巻教授から個別に面接審査をいただいたが、合格との御返事をいただいた。

以上、本研究は制癌剤として現在最も頻用されているシスプラチンの腎毒性をセレンが抑制する事実と機序の一部を明らかにしたもので、医学博士に相当するものと認めた。