

《原 著》

薬剤性腎障害ラットにおける^{99m}Tc-DMSA 腎シンチグラフィの有用性に関する研究

—II. シスプラチン腎障害について—

山 田 雅 文*

要旨 シスプラチン (CDDP) による腎障害ラットにおいてクレアチニン・クリアランス (Ccr) と比較することで、^{99m}Tc-DMSA シンチグラフィによる腎摂取率測定の腎機能評価としての有用性を検討した。

CDDP 1.8 mg/kg/day を 3, 5, 7, 9 日間毎日腹腔内投与し、その翌日に ^{99m}Tc-DMSA 腎摂取率と Ccr を測定した。Ccr は 5 日投与群で有意に低下 ($p < 0.01$) したのに対し ^{99m}Tc-DMSA 腎摂取率は 7 日投与群で初めて有意に低下した ($p < 0.01$)。CDDP 3.6 mg/kg/day を第 1, 2, 15, 16 日目に腹腔内投与し、5, 8, 11, 15, 20, 23, 26, 30 日目に同様の測定を行ったが、Ccr は 5 日目群で有意に低下 ($p < 0.01$) し 15 日目群ではコントロール値に回復したのに対し、^{99m}Tc-DMSA 腎摂取率は 8, 11, 15 日目群で有意に低下した ($p < 0.01$)。^{99m}Tc-DMSA シンチグラフィにより測定された腎摂取率は Ccr とは異なる腎機能を反映する有用な指標と考えられた。

I. 緒 言

Technetium-99m dimercaptosuccinic acid (以下 Tc-DMSA とする) 腎摂取率は腎機能を表す 1 つの指標でありクレアチニン・クリアランス (Ccr) で代表される糸球体濾過率 (GFR), 有効腎血漿流量と相関がよいとされている^{1~3)}。一方 GFR はほぼ正常で Tc-DMSA 腎摂取率の低下している症例が報告されており⁴⁾、Tc-DMSA 腎摂取率と GFR の間には解離がみられる場合があると考えられる。ゲンタマイシン腎障害時に Tc-DMSA シンチグラフィにより算出した腎摂取率 (以下シンチグラフィ摂取率とする) は GFR を反映する Ccr よりも早期に低下し近位尿細管障害を鋭敏に表していることを既に第 1 報にて報告した⁵⁾。

* 愛媛大学医学部放射線医学教室

受付：2年12月4日

最終稿受付：3年1月20日

別刷請求先：愛媛県温泉郡重信町志津川（〒791-02）

愛媛大学医学部放射線医学教室

山 田 雅 文

シスプラチン (CDDP) は抗腫瘍剤として広く用いられているが、重篤な副作用の一つに腎障害がみられる⁶⁾。CDDP 腎障害のモニタとして Ccr や血清クレアチニン等が用いられているが⁷⁾、CDDP は尿細管障害を起こす薬剤であり⁸⁾、シンチグラフィ摂取率が有用なマーカーになる可能性がある。今回ラットを用いてシンチグラフィ摂取率と Ccr、血清クレアチニンを比較し、CDDP 腎障害におけるシンチグラフィ摂取率の有用性を検討した。

II. 対象および方法

シンチグラフィ摂取率と 24 時間内因性 Ccr の算出方法は第 1 報で報告したのと同様に行った。7-8 週齢のウイスター系雄ラット 73 匹 (体重 210-250 g) を用い以下の実験を行った。

- 1) CDDP 1.8 mg/kg/day (日本化薬株式会社) を毎日腹腔内投与し 3, 5, 7, 9 日投与群 (各群 6 匹) に分け、翌日に腎シンチグラフィの実施と Ccr の測定を行った。

2) CDDP 3.6 mg/kg/day を第 1, 2, 15, 16 日目に腹腔内投与し 5, 8, 11, 15, 20, 23, 26, 30 日目(各群 6 匹, ただし 20 日目群のみ 7 匹)に腎シンチグラフィの実施と Ccr を測定した。

コントロール値として, 8 週齢のラット 8 匹を用いて測定した。

組織学的検討ではホルマリン固定後, ヘマトキシリン・エオジン染色による光学顕微鏡像を検討した。

得られたデータは平均値±標準偏差で表し検定は Welch's t test によって行い, p 値が 0.05 より小さい場合に有意差があると判定した。

III. 結 果

実験 1 の結果を Table 1, Fig. 1 に示す。シンチグラフィ攝取率は, 5 日投与群では変動を認めな

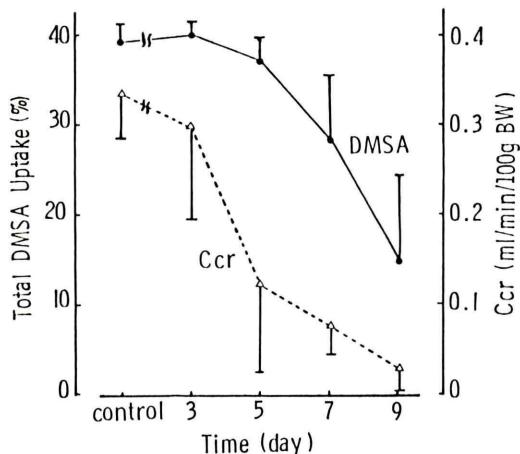


Fig. 1 Time course of total DMSA uptake and Ccr during cisplatin administration. Data are expressed as mean±s.d.

かったが, 7 日投与群で $28.57 \pm 7.23\%$ ($p < 0.01$), 9 日投与群で $15.05 \pm 9.06\%$ ($p < 0.01$) と有意に低下した。一方, Ccr は 5, 7, 9 日投与群で各々 0.13 ± 0.10 ml/min/100 g, 0.08 ± 0.03 , 0.03 ± 0.02 であり有意に低下した ($p < 0.01$)。血清クレアチニンは 5 日投与群以降で有意に高値を示し, その程度は経時的に増加した。Ccr は急激に低下したのに対しシンチグラフィ攝取率は Ccr より遅れて徐々に低下した。Fig. 2 はシンチグラフィ攝取率と Ccr の相関を示すが, 指数関数的な相関が示唆された。シンチグラフィ攝取率と血清クレアチニンの関係を Fig. 3 に示す。シンチグラフィ攝取率が 35% 前後で血清クレアチニンは上昇を示すものがあり, またシンチグラフィ攝取率が 20% 以下になると再び上昇を示した。シンチグラフィ攝取率と Ccr の最も解離の大きい 5 日投与群の腎組織像では, 腎皮質髓質移行部付近の近位尿細管細胞の壊死, 脱落がみられたが, 皮質外側部の近位尿細管は比較的保たれていた (Fig. 4a)。シンチグラフィ攝取率と Ccr とも低下した 9 日投与群では 5 日投与群の所見に加え皮質の近位尿細管腔の拡大が認められた (Fig. 4b)。いずれの投与群にも糸球体には明かな形態的異常を認めなかった。

実験 2 の結果を Table 2, Fig. 5 に示す。シンチグラフィ攝取率はコントロールと比べ 8, 11, 15 日目群で各々 $32.40 \pm 3.86\%$, 32.56 ± 1.93 , 35.21 ± 2.97 と有意に低下した ($p < 0.01$)。一方, Ccr は 5 日目群では 0.10 ± 0.03 ml/min/100 g で有意に低下 ($p < 0.01$) したが, 8, 11, 15 日目群では有意差なくコントロール値への回復がみられた。シンチグラフィ攝取率と Ccr の間には解離がみられ,

Table 1 Renal function during CDDP administration

| | Days of treatment | | | | |
|--------------------------|-------------------|------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|
| | Control | 3 | 5 | 7 | 9 |
| Total DMSA uptake (%) | 39.84 ± 2.23 | 40.98 ± 1.11 | 37.28 ± 2.63 | $28.57 \pm 7.23^{**}$ | $15.05 \pm 9.06^{**}$ |
| Ccr (ml/min/100 g BW) | 0.34 ± 0.05 | 0.30 ± 0.12 | $0.13 \pm 0.10^{**}$ | $0.08 \pm 0.03^{**}$ | $0.03 \pm 0.02^{**}$ |
| Serum creatinine (mg/dl) | 0.31 ± 0.03 | 0.42 ± 0.13 | $1.28 \pm 0.76^*$ | $1.29 \pm 0.32^{**}$ | $2.23 \pm 1.01^{**}$ |
| Number of rats | 8 | 6 | 6 | 6 | 6 |

Values are mean±SD., Ccr: Creatinine Clearance, BW: Body Weight, CDDP: Cisplatin.

Significant difference compared to control. *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

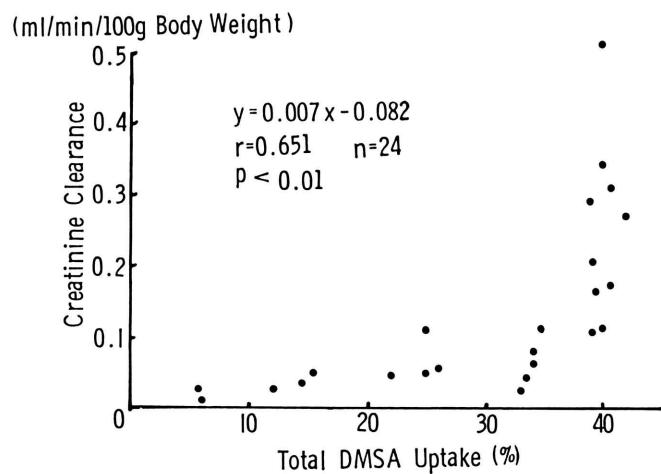


Fig. 2 Correlation between total DMSA uptake and Ccr.

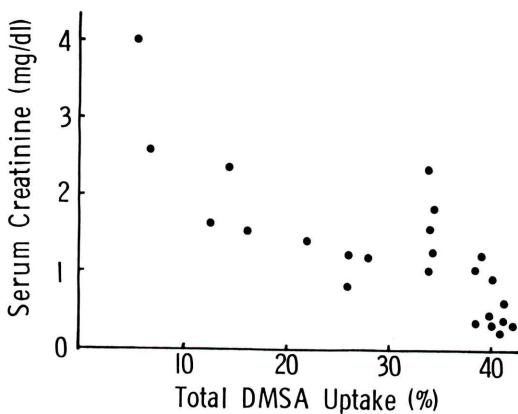


Fig. 3 Correlation between total DMSA uptake and serum creatinine.

Ccr は早期に低下しその後回復したのに対しシンチグラフィ摂取率は Ccr より遅れて低下した。第 15, 16 日目に CDDP を追加投与した後の 20, 23 日目群では、シンチグラフィ摂取率と Ccr は共に有意に低下した。26, 30 日目群は約半数のラットが死亡したため十分な測定が行えず、今回の検討対象から除外した。シンチグラフィ摂取率が保たれているにもかかわらず Ccr が急激に低下した 5 日目群の光顕組織像は腎皮質髓質移行部の近位尿細管上皮細胞の壊死、脱落がみられ (Fig. 6a), シンチグラフィ摂取率が有意に低下する 8 日目群の

組織像では腎皮質髓質移行部に軽度再生上皮が認められ、また皮質外側部の近位尿細管腔の拡大も認められた (Fig. 6b)。

III. 考 察

CDDP による腎障害の機序には腎血流量の低下、 renal vascular resistance の増加、 tubulo-glomerular feedback mechanism 等^{9,10)} が報告されているが不明な点も多い。

組織学的にはラットにおいて皮質髓質移行部の近位尿細管の障害が先行し、その後皮質外側部を含めた範囲に波及すると報告されている^{11,12)}。

シンチグラフィ摂取率は絶対的腎機能検査として Ccr と相関が高いと報告されているが^{2,3)}、今回の研究ではシンチグラフィ摂取率と Ccr の間には解離がみられシンチグラフィ摂取率は Ccr と異なる腎機能を測定していることが示された。Fig. 5 に示したように 15 日目群でシンチグラフィ摂取率は低下したが Ccr はコントロール値に回復し、その後 CDDP を再投与すると腎機能はさらに低下した不可逆性の変化を起こすラットもみられた。このことは 8, 11, 15 日目群で測定される Ccr は見かけ上、コントロール値への回復を示すものの真の腎機能を反映していないことを示唆している。CDDP 腎障害の場合その程度に個体差が大きい

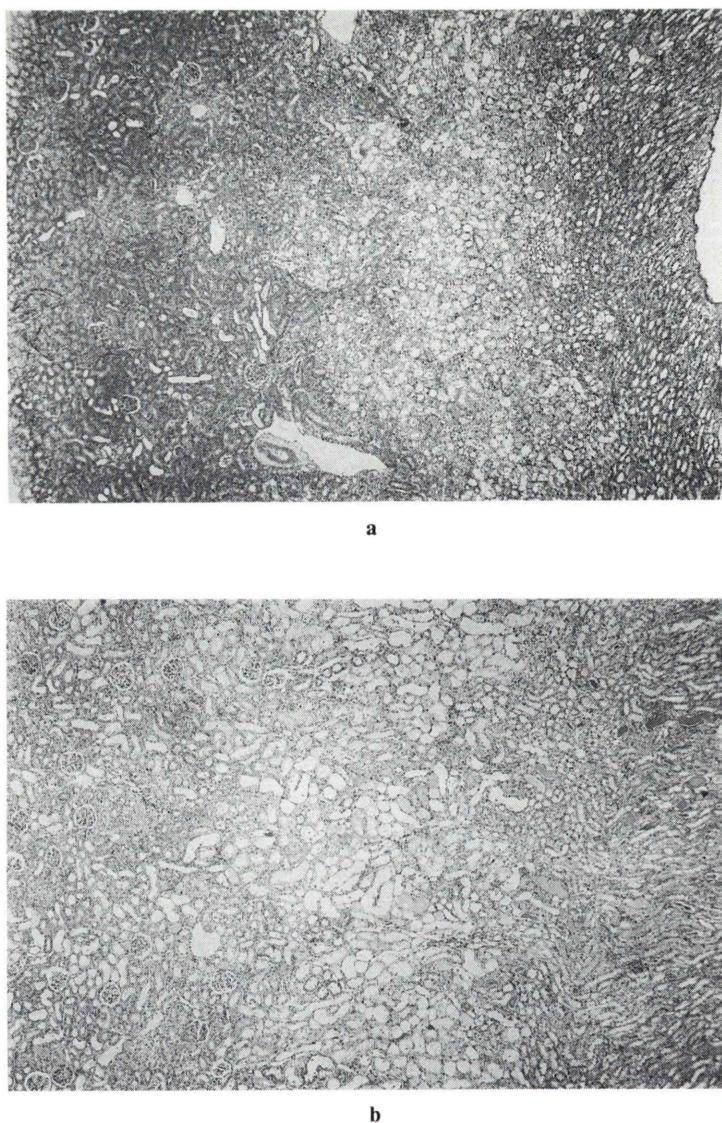


Fig. 4 Microscopic photograph of the kidney in the 5-day treated group (a), and in the 9-day treated one (b). (a) Partial desquamation and necrosis in the corticomedullary junction are evident. The outer cortex (left portion of the picture) is relatively preserved (H · E, $\times 10$). (b) In addition, dilatation of the lumen of the proximal tubules are observed in the outer cortex shown in the left and middle portion of the picture (H · E, $\times 10$).

Table 2 Renal function after CDDP administration

| | Days after CDDP administration | | | | | | |
|--------------------------|--------------------------------|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | Control | 5 | 8 | 11 | 15 | 20 | 23 |
| Total DMSA uptake (%) | 39.84 ± 2.23 | 41.12 ± 1.81 | 32.40** ± 3.86 | 32.56** ± 1.93 | 35.21** ± 2.97 | 27.86* ± 10.27 | 22.10* ± 11.59 |
| Ccr (ml/min/100 g BW) | 0.34 ± 0.05 | 0.10** ± 0.03 | 0.27 ± 0.10 | 0.36 ± 0.17 | 0.30 ± 0.11 | 0.12** ± 0.08 | 0.08** ± 0.04 |
| Serum creatinine (mg/dl) | 0.31 ± 0.03 | 0.96** ± 0.20 | 0.49 ± 0.22 | 0.40 ± 0.20 | 0.31 ± 0.11 | 1.13* ± 0.63 | 3.13** ± 1.33 |
| Number of rats | 8 | 6 | 6 | 6 | 6 | 7 | 6 |

Values are mean ± SD., Ccr: Creatinine Clearance, BW: Body Weight, CDDP: Cisplatin.

Significant difference compared to control. *: p < 0.05, **: p < 0.01

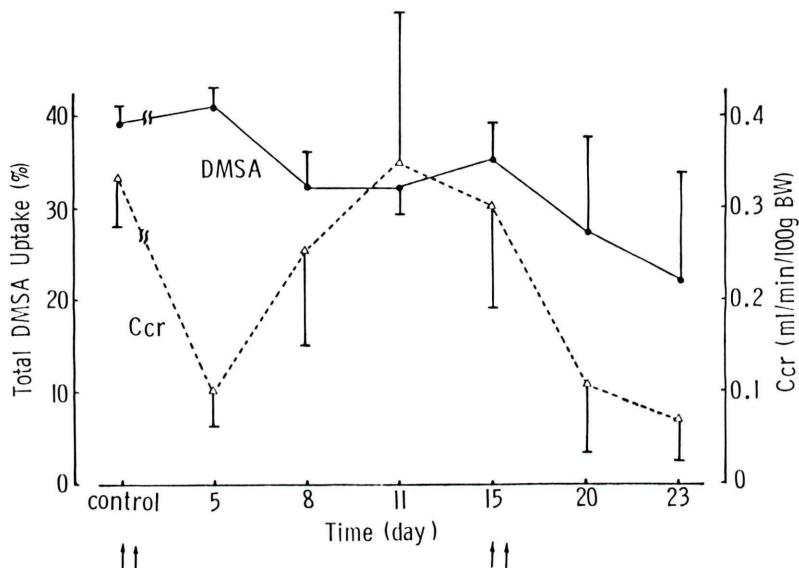


Fig. 5 Time course of total DMSA uptake and Ccr after cisplatin administration. Data are expressed as mean ± s.d. ↑: CDDP injection.

とされるが¹³⁾、15日目群ではシンチグラフィ攝取率は腎機能を正確に反映していると考えられ、シンチグラフィ攝取率を測定することは予後を予測する上で重要であると考えられた。

臨床ではCDDPは1回投与後数週間休薬し再投与を行う場合が多く、本実験モデルは臨床に応用しうると考えられた。

Tc-DMSAの集積部位に関して、細川ら¹⁴⁾はmacroautoradiographyにより腎皮質の近位尿細管に分布するとし、またWillisら¹⁵⁾はmacro-

autoradiographyでは腎皮質に一様に分布すると報告した。腎皮質外側の近位尿細管細胞の障害が主であるゲンタマイシン腎障害の場合には、シンチグラフィ攝取率はCcrより早期に低下することを第一報で示した。CDDPの場合、皮質髓質移行部の近位尿細管が障害され、Ccrはシンチグラフィ攝取率より早期に低下した。シンチグラフィ攝取率が早期に低下しなかったのは腎皮質外側の近位尿細管が比較的保たれており、その部に集積するためと推測され、その後、障害が皮質外側部に



Fig. 6a Microscopic photograph of the corticomedullary junction 5 days after two injections of cisplatin. Desquamation and necrosis of the proximal tubules are evident (H · E, $\times 10$).

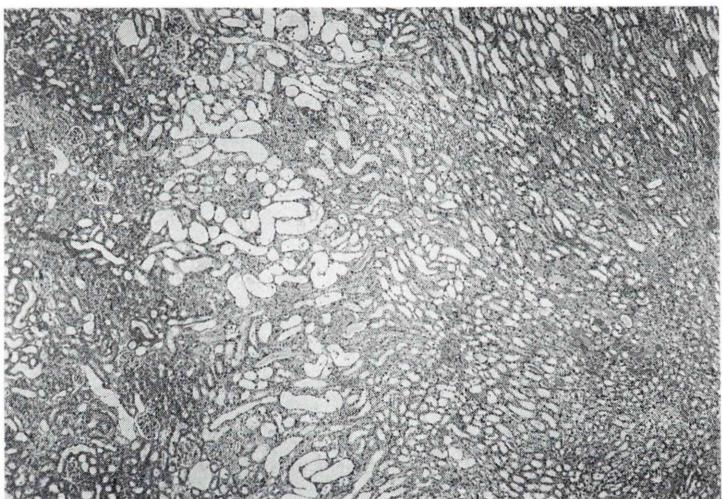


Fig. 6b Microscopic photograph of the corticomedullary junction 8 days after two injections of cisplatin. Mild regeneration and dilatation of the proximal tubules are evident (H · E, $\times 10$).

及ぶとシンチグラフィ攝取率が低下していくことが組織学的検討で確認された。シンチグラフィ攝取率は腎皮質外側の尿細管障害を鋭敏に表していると考えられた。

Tc-DMSA の腎集積について 2 つの経路があることが近年報告された^{16,17)}。一度糸球体から濾過され再吸収されるものと、近位尿細管周囲の血管

から移行されるものである。本研究では尿中排泄率を測定しておらず、このことが、CDDP 腎障害時のシンチグラフィ攝取率に影響を与えていける可能性はある、今後の検討課題である。

Ccr は尿量により変動がみられることは日常よく経験されることであり、尿量が 1-2 ml/min の時に正確であり、また 3 日間の平均値を求めるの

がよいとされており¹⁸⁾、脱水や尿量急増の場合に変動が大きいのに対し、シンチグラフィ摂取率は脱水やマニトール付加による利尿時にもコントロール値と変化がみられないことが報告されている¹⁹⁾。こうした面からもシンチグラフィ摂取率で腎機能を経過観察することは有用である。

シンチグラフィ摂取率は Ccr との間に解離がみられ Ccr では検出困難な腎皮質の尿細管障害を反映しており、シスプラチンを初めとした薬剤による腎機能障害の有用な指標であると考えられた。

IV. 結語

CDDP による腎障害ラットで、シンチグラフィ摂取率と Ccr の関係を比較検討した。両者の間に解離がみられ、Ccr は早期に低下するのに対しシンチグラフィ摂取率は遅れて徐々に低下した。Ccr の値が回復した時にシンチグラフィ摂取率は低下しており薬剤性腎障害においては Ccr では検出困難と考えられる潜在性の腎機能障害を表す指標としてシンチグラフィ摂取率は有用であると考えられた。組織学的検討ではシンチグラフィ摂取率は皮質外側の近位尿細管障害を表していると考えられた。

謝辞：稿を終えるにあたり、終始ご指導、ご校閲を頂きました恩師濱本 研教授に深甚なる謝意を表します。直接ご指導を頂きました棚田修二講師、村瀬研也助手に深い謝意を表します。本学泌尿器科学教室横山雅好講師ならびに病理学的検討について本学第一病理学教室杉田敦郎先生に感謝致します。またご協力いただいた多くの方々に心より感謝致します。

本研究の一部は愛媛県保険医療財団からの援助により行いました。

文 献

- 1) Kawamura J, Hosokawa S, Yoshida O: Renal function studies using ^{99m}Tc-dimercaptosuccinic Acid. Clin Nucl Med 4: 39-46, 1979
- 2) 石根正博：^{99m}Tc-DMSA による腎機能解析法——投与初期データのデジタルシミュレーション法による解析——。核医学 21: 1315-1322, 1984
- 3) Baillet G, Gagnadoux MF, Vernejoul PD, et al: Quantitation of renal function with ^{99m}Tc-DMSA. A comparison with creatinine clearance in children with single kidney. Nucl Med Comm 6: 733-738, 1985
- 4) van Luyk WHJ, Ensing GJ, Piers DA: Low renal uptake of ^{99m}Tc-DMSA in patients with proximal tubular dysfunction. Eur J Nucl Med 8: 404-405, 1983
- 5) 山田雅文：薬剤性腎障害ラットにおける^{99m}Tc-DMSA 腎シンチグラフィの有用性に関する研究——I. ゲンタマイシン腎障害に関して——。核医学に投稿中
- 6) Krakoff IH: Nephrotoxicity of cis-Dichlorodiammineplatinum (II). Cancer Treat Rep 63: 1523-1525, 1979
- 7) Hayes DM, Cvitkovic E, Golbey RB, et al: High dose cis-platinum diammine dichloride Amelioration of renal toxicity by mannitol diuresis. Cancer 39: 1372-1381, 1977
- 8) Gonzales-Vitale JC, Hayes DM, Cvitkovic E, et al: The renal pathology in clinical trials of cis-platinum (II) diamminedichloride. Cancer 39: 1362-1371, 1977
- 9) Winston JA, Safirstein R: Reduced renal blood flow in early cisplatin-induced acute renal failure in the rat. Am J Physiol 249: F490-F496, 1985
- 10) Safirstein R, Miller P, Dikman S, et al: Cisplatin nephrotoxicity in rats: defect in papillary hypertonicity. Am J Physiol 241: F175-F185, 1981
- 11) 坪崎正寿、萩原隆夫、伊藤公一、他：シスプラチン(NK801)の安全性試験(第2報)——ラットにおける亜急性毒性試験およびその回復性試験——。基礎と臨床 15: 5687-5718, 1981
- 12) Borch RF, Pleasants ME: Inhibition of cis-platinum nephrotoxicity by diethyldithiocarbamate rescue in a rat model. Proc Natl Acad Sci 76: 6611-6614, 1979
- 13) McAfee JG, Subramanian G, Thomas FD, et al: Comparison of different radioactive renal agents in cisplatin-induced tubular toxicity in rats. J Nucl Med 30: 659-665, 1989
- 14) 細川進一、川村寿一、吉田 修：腎スキャン剤^{99m}Tc-DMSA の腎局在性に関する実験的研究。泌尿紀要 24: 61-65, 1978
- 15) Willis KW, Martinez DA, Hedley-Whyte ET, et al: Renal localization of ^{99m}Tc-stannous glucoheptonate and ^{99m}Tc-stannous dimercaptosuccinate in the rat by frozen section autoradiography. The efficiency and resolution of technetium-99m. Radiation Research 69: 475-488, 1977
- 16) Peters AM, Jones DH, Evans K, et al: Two routes for ^{99m}Tc-DMSA uptake into the renal cortical tubular cell. Eur J Nucl Med 14: 555-561, 1988
- 17) de Lange MJ, Piers DA, Kosterink JGW, et al: Renal handling of technetium-99m DMSA: Evi-

- dence for glomerular filtration and peritubular uptake. *J Nucl Med* **30**: 1219-1223, 1989
- 18) 折田義正, 福原吉典, 柿原昌弘, 他: クレアチニン クレアランス. *Medicina* **26**: 2034-2035, 1989
- 19) Yee CA, Lee HB, Blaufox MD: Tc-99m DMSA renal uptake: influence of biochemical and physiologic factors. *J Nucl Med* **22**: 1054-1058, 1981

Summary

Assessment of 99m Tc-DMSA Renoscintigraphy and Uptake Compared with Creatinine Clearance in Rats with Drug-Induced Nephrotoxicity —II. Cisplatin-Induced Nephrotoxicity—

Masafumi YAMADA

Department of Radiology, Ehime University School of Medicine

For evaluation of technetium-99m dimercaptosuccinic acid (99m Tc-DMSA) renal uptake as an absolute renal function, 99m Tc-DMSA uptake was compared with endogenous creatinine clearance (Ccr) in cisplatin-induced nephrotoxicity. At first, Male Wistar rats were given intraperitoneally 1.8 mg/kg/day of cisplatin for periods of 3, 5, 7 and 9 days. On the next day, 99m Tc-DMSA uptake and Ccr were measured. Ccr of 5-day treated group was significantly lower than that of control (0.13 ± 0.10 vs 0.34 ± 0.05 ml/min/100 g; $p < 0.01$) but 99m Tc-DMSA uptake did not change. 99m Tc-DMSA uptake of 7-day treated group was significantly lower than that of control (28.57 ± 7.23 vs $39.84 \pm 2.23\%$; $p < 0.01$).

As the second experiment, cisplatin (3.6 mg/kg/day) was given intraperitoneally on the 1st, 2nd, 15th and 16th day. On the 5th, 8th, 11th, 15th,

20th, 23rd, 26th and 30th day, the same measurements were done as the first one. Ccr was lower in cisplatin treated rats on the 5th day than that in control (0.10 ± 0.03 vs 0.34 ± 0.05 ml/min/100 g; $p < 0.01$), thereafter tended to be recovered to the control level. On the other hand, 99m Tc-DMSA uptake was lower than that of control on the 8th, 11th and 15th day (32.40 ± 3.86 , 32.56 ± 1.19 , 35.21 ± 2.97 vs $39.84 \pm 2.23\%$, respectively; $p < 0.01$). The discrepancy between 99m Tc-DMSA uptake and Ccr was observed in the cisplatin-induced nephrotoxicity. 99m Tc-DMSA uptake was suggested to be a reliable indicator of a renal function in a different way from Ccr.

Key words: 99m Tc-dimercaptosuccinic acid (99m Tc-DMSA), Drug-induced nephrotoxicity, Cis-Dichlorodiammineplatinum (II) (CDDP), Absolute renal uptake.