

## 《原 著》

# 薬剤性腎障害ラットにおける<sup>99m</sup>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ついて—

山 田 雅 文\*

**要旨** ゲンタマイシン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、<sup>99m</sup>Tc-DMSA シンチグラフィによる腎摂取率測定の総腎機能評価としての有用性を検討した。

ゲンタマイシン 40 mg/kg/day を 3, 6, 9, 12 日間毎日皮下投与し翌日に、<sup>99m</sup>Tc-DMSA 腎摂取率と Ccr を測定した。6 日投与群において<sup>99m</sup>Tc-DMSA 腎摂取率 ( $32.27 \pm 0.92\%$ , n=5) は、コントロール値 ( $39.84 \pm 2.23\%$ , n=8) に比べ有意に低下 ( $p < 0.01$ ) したが、Ccr には有意な低下を認めなかった。ゲンタマイシン 80 mg を 1 回投与し、その後 1, 2, 4, 8 日目に腎シンチグラフィを実施した群では、1 日目群と比較して 4 日目群で<sup>99m</sup>Tc-DMSA 腎摂取率は  $32.32 \pm 3.00\%$  (n=5) と低下し、組織学的変化と対応した。<sup>99m</sup>Tc-DMSA シンチグラフィによる腎摂取率は Ccr より早期に低下することが示され、腎機能障害時の有用な指標になると考えられた。

## I. 緒 言

Technetium-99m dimercaptosuccinic acid (以下 Tc-DMSA とする) は、1974 年にすぐれた腎シンチグラフィ製剤として報告され<sup>1,2)</sup>、以後主に形態学的検査において広く臨床に用いられている。本製剤は腎皮質に集積し尿中排泄がきわめて少ないといった特徴を有しており<sup>1,3)</sup>、その腎摂取率は腎皮質機能を反映すると考えられている。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）は相対的分腎機能検査<sup>4,5)</sup>、あるいは絶対的総腎機能検査としてクレアチニン・クリアランス (Ccr) と相關が高いことが報告されている<sup>6,7)</sup>。

一方、腎毒性を有する薬剤による化学療法は日

常診療でよく施行されており、それらの薬剤による腎障害を早期に検出することは臨床上極めて重要である。シンチグラフィ摂取率は定量的評価が簡便に行え再現性も良好であるので、主として腎皮質の尿細管障害である薬剤性腎障害の評価に有用な指標になる可能性がある。今回、著者はゲンタマイシンによる腎障害ラットを作成し、シンチグラフィ摂取率と 24 時間内因性 Ccr、血清クレアチニンとの比較を行い、シンチグラフィ摂取率の絶対的腎機能の指標としての有用性を検討したので報告する。

## II. 対象および方法

7-8 週齢のウイスター系雄ラット 40 匹 (体重 210 g-250 g) を用いて飼料および飲料水は自由に摂取させ以下の実験を行った。

- 1) ゲンタマイシン 40 mg/kg/day (エッセクス日本株式会社) を 1 日 1 回 3, 6, 9, 12 日間 (各群 5 匹、ただし 12 日投与群のみ 6 匹) 皮下投与し、それぞれの群で投与終了翌日に腎シンチグラフィを実施した。

\* 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

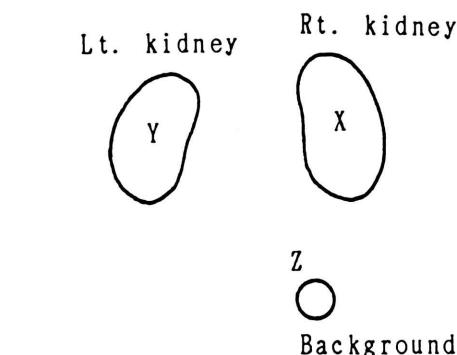
別刷請求先：愛媛県温泉郡重信町志津川 (〒 791-02)

愛媛大学医学部放射線医学教室

山 田 雅 文

2) ゲンタマイシン 80 mg を1回皮下投与し1, 2, 4, 8日目(各群5匹, ただし1日目のみ4匹)に腎シンチグラフィを実施した。

腎シンチグラフィの前日に代謝ケージに入れ24時間尿を採取し, 尿中クレアチニン24時間排泄量を測定した。またシンチグラフィ実施後ペントバルビタール麻酔下にて開腹を行い腹大静脈より採



X: Total counts of Rt. kidney's ROI (cpm)

Y: Total counts of Lt. kidney's ROI (cpm)

Z: Total counts of background ROI (cpm)

D=A1-A2 (MBq)

D: Injected dose

A1: Radioactivity in the pre-injected syringe (MBq)

A2: Radioactivity in the post-injected syringe (MBq)

$$UR(L) = \frac{X(Y) - b \times PR(L)}{a \times D} \times 100$$

UR(L): Rt. (Lt.) kidney's uptake (%)

PR(L): pixels of Rt. (Lt.) kidney's ROI

a: Calibration factor (cpm/MBq)

b: Unit counts of background ROI (cpm/pixel)

Total DMSA Uptake (TDU)=UR+UL (%)

**Fig. 1** A Method with which DMSA scintigraphy uptake is calculated is described.

血して, 血清クレアチニンを測定し, 両者より24時間内因性Ccrを算出した。

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。

Tc-DMSAは, バイアル(第一ラジオアイソトープ研究所)に約450 MBq(12 mCi)のTc-99mを含む生理食塩水2 mlを注入溶解し, 30分以内に約45 MBq/0.2 ml(1.2 mCi)を尾静脈より投与し, 2時間後に低エネルギー用超高分解能型コリメータを装着したガンマカメラ(東芝602A)にて撮像した。撮像時間は7分, マトリックスは256×256でデータ収集を行い, Fig. 1に示すごとくシンチグラフィ攝取率を求めた<sup>4)</sup>。ただし体表から腎までの距離による補正は行わなかった。

組織学的検討のために, 腹大静脈よりの採血の際, 摘出した腎をホルマリン固定し, ヘマトキシリン・エオジン染色(H-E)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±標準偏差で表示し検定は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

1) ゲンタマイシン40 mg/kg/dayを毎日投与した場合の結果をTable 1, Fig. 2に示す。コントロール群においては, シンチグラフィ攝取率39.84±2.23%, Ccr 0.34±0.05 ml/min/100 g, 血清クレアチニン 0.31±0.03 mg/dlであった。シンチグラフィ攝取率は6日投与群で32.27±0.92%と低下したが(p<0.01), Ccrは同群では0.37±0.02 ml/

**Table 1** Renal function during gentamicin administration

	Days of treatment			
	Control	3	6	9
Total DMSA uptake (%)	39.84±2.23	38.47±1.79	32.27±0.92**	16.67±5.47**
Ccr (ml/min/100 g BW)	0.34±0.05	0.37±0.04	0.37±0.02	0.23±0.08*
Serum creatinine (mg/dl)	0.31±0.03	0.54±0.04**	0.59±0.01**	1.17±0.36**
Number of rats	8	5	5	5
				6

Values are mean±SD., Ccr: Creatinine Clearance, BW: Body Weight Significant difference compared to control.

\*: p<0.05, \*\*: p<0.01

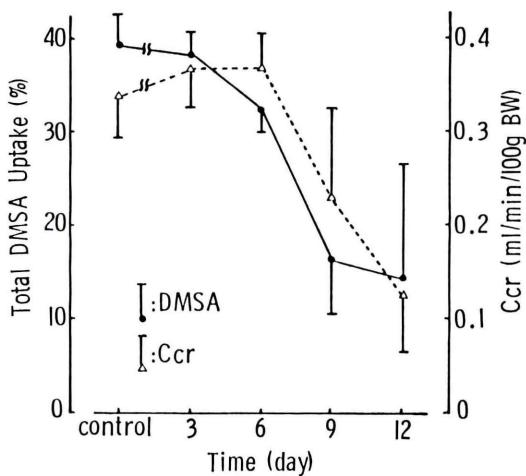


Fig. 2 Time course of total DMSA uptake and Ccr during gentamicin administration. Data are expressed as mean  $\pm$  s.d.

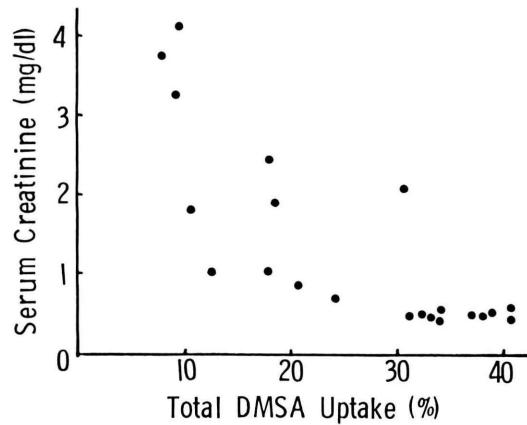


Fig. 4 Correlation between total DMSA uptake and serum creatinine.

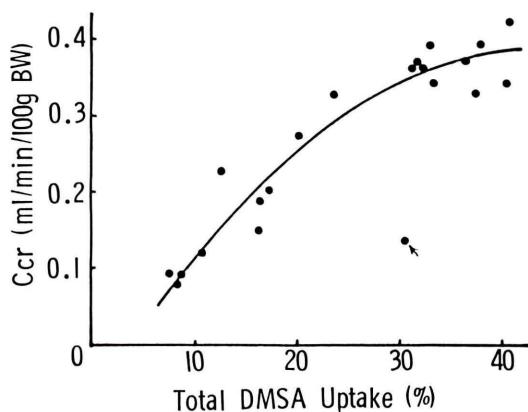


Fig. 3 Correlation between total DMSA uptake and Ccr. ↑: see the discussion in the text.

min/100 g と変化せず 9 日投与群で  $0.23 \pm 0.08$  ml/min/100 g と低下した ( $p < 0.05$ )。シンチグラフィ摂取率は 6 日投与群以後低下する傾向がみられたが、9 日投与群と 12 日投与群の間には有意差はみられなかった。Fig. 3 はシンチグラフィ摂取率と Ccr の相関を示したものであるが、シンチグラフィ摂取率が 30% 以下になると Ccr の低下がみられた。血清クレアチニンとの関係をみると、シンチグラフィ摂取率が 20% 以下になると血清クレア

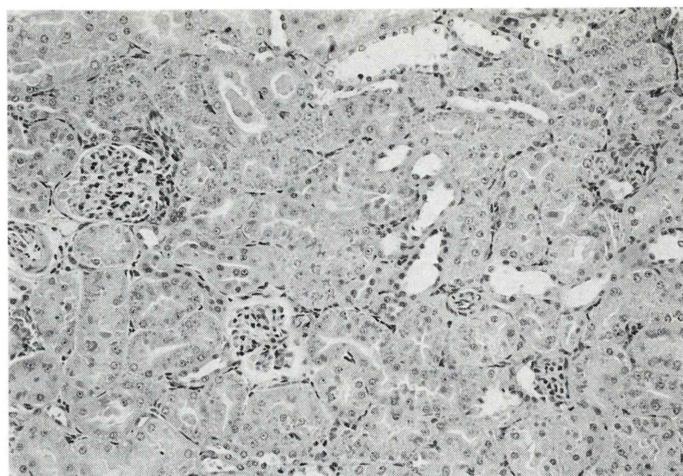
チニンは 1.0 mg/dl 以上となり高値を示す傾向がみられた (Fig. 4)。なお Fig. 3, Fig. 4 にはコントロール値を含めなかった。

腎組織光顕像において、6 日投与群では主に皮質外側部の近位尿細管細胞内に好酸性大小不同的滴状物質が出現し (Fig. 5a), 9 日投与群では近位尿細管細胞の変性および壊死、脱落が認められ (Fig. 5b), 12 日投与群では 9 日投与群の所見に加えボウマン嚢の拡張、間質へのリンパ球浸潤も認められた (Fig. 5c)。

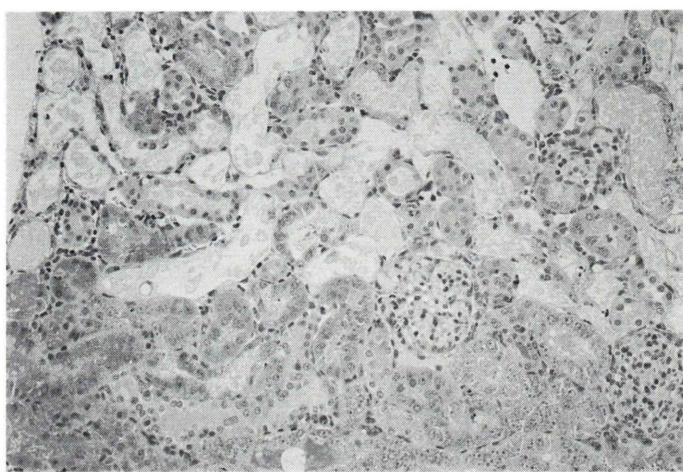
2) ゲンタマイシン 80 mg を 1 回投与した場合の結果を Table 2, Fig. 6 に示す。1 日目群 ( $38.91 \pm 1.95\%$ ) と比ベシンチグラフィ摂取率は 4 日目群 ( $32.32 \pm 3.00\%$ ) では有意に低下していた ( $p < 0.01$ )。組織学的検討では 4 日目群で近位尿細管細胞に滴状物質がみられ、壊死、脱落した部位も認められた。8 日目群では障害後の再生上皮がみられ、シンチグラフィ摂取率がコントロール値に回復することよく対応していた。

#### IV. 考 察

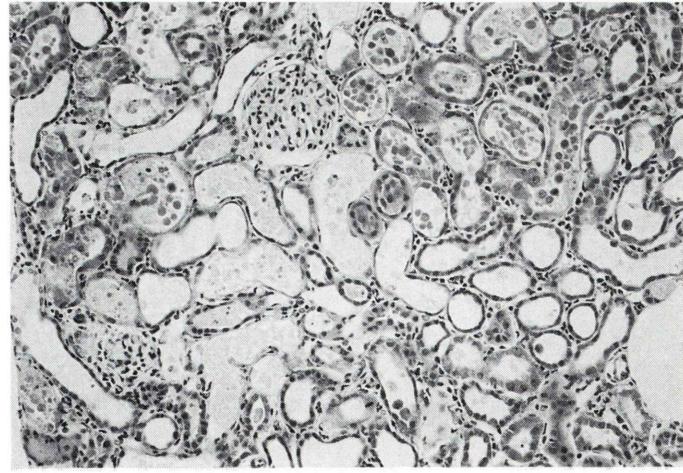
腎機能障害のある患者において、総腎機能や分腎機能を知ることは重要であり、腎炎、水腎症、囊胞腎などの疾患では、シンチグラフィ摂取率の



a



b



c

Table 2 Renal function after 80 mg of GM administration

	Days after administration			
	1	2	4	8
Total DMSA uptake (%)	38.91±1.95	37.76±1.01	32.32±3.00**	38.76±3.16
Number of rats	4	5	5	5

Values are mean±SD., GM: Gentamicin

Significant difference compared to 1 day. \*\*: p<0.01

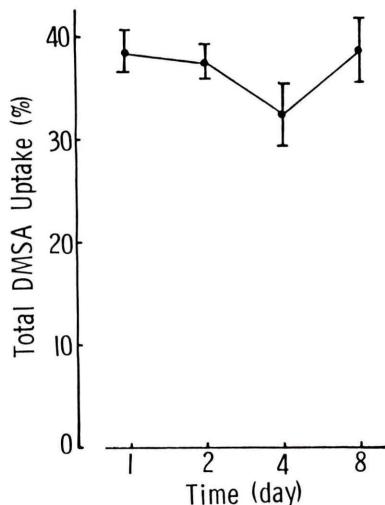


Fig. 6 Time course of total DMSA uptake after administration of 80 mg of gentamicin. Data are expressed as mean±s.d.

腎機能検査としての有用性は多く報告されているが<sup>4,5,8</sup>, 薬剤性腎障害の出現予測や経過観察について検討した報告は極めて少ない。一方、シンチグラフィ攝取率測定に際しては、Tc-DMSA に 4 種の complex があること<sup>9</sup>, 標識時に酸素を混入すると腎攝取率の低下がみられること<sup>10</sup>, 腎の深さによる組織の吸収補正やバックグラウンドによる補正の困難さがあること<sup>3,11</sup> 等、注意すべき点がある。Tc-DMSA の腎集積機序に関しては不明な点が多いが、集積部位は腎皮質の近位尿細管細胞であり<sup>12,13</sup> シンチグラフィ攝取率は腎皮質機能を反映していると考えられる。

正常ラットにおいて Tc-DMSA の両腎への攝取率は、Provoost<sup>14</sup> らは投与後 2 時間で 39.9±2.4%, de Lange<sup>15</sup> らは投与後 1 時間で 39% と報告しており、また Ccr については Quarum<sup>16</sup> らによると 0.45±0.05 ml/min/100 g Body Weight であり、著者の得た値とほぼ一致するものであった。

シンチグラフィ攝取率と Ccr の関係を経時的に検討すると、シンチグラフィ攝取率は 6 日投与群以後有意 ( $p<0.01$ ) に低下したのに対し、Ccr は 6 日投与群では有意差なく 9 日投与群以後低下しており、シンチグラフィ攝取率が Ccr より早期に低下した。組織学的にも 6 日投与群で近位尿細管細胞に滴状物質の出現が認められた。12 日投与群の中で Ccr は 0.14 ml/min/100 g と低値を示したにもかかわらずシンチグラフィ攝取率は 30.42% と高度の低下を示さないものがみられたが (Fig. 3 の矢印例)，一度障害された近位尿細管細胞の再生により攝取率が高値を示した可能性が考えられた。

血清クレアチニンについて 3 日、6 日投与群ではコントロール値と比べ有意な増加がみられたが、一般に糸球体濾過率が血清クレアチニンより腎機能を鋭敏に表しておりまた血清クレアチニンは筋細胞の増加により高値を示すので、必ずしも腎機能異常を反映しているものではないと考えられた。

Fig. 5 Microscopic photographs of the renal cortex in 6-day (a), 9-day (b) and 12-day treated (c) groups. (a) Eosinophilic granular degenerations of the proximal tubules are evident (H · E, × 50). (b) Necrosis and desquamation of the proximal tubules are observed (H · E, × 50). (c) In addition, dilatation of the Bowman's capsula and infiltration of lymphocytes to the interstitial space are observed (H · E, × 50).

ゲンタマイシン 80 mg を 1 回投与した場合、シンチグラフィ攝取率は 4 日目群で有意に低下し ( $p < 0.01$ )、8 日目群ではコントロール値に回復したが、組織像では 4 日目群で壊死、脱落した部がみられ 8 日目群で再生上皮がみられ、よく対応していると考えられた。

ゲンタマイシンは急性尿細管壊死の原因となる薬剤であるが、その他の抗生素、利尿剤、造影剤、抗癌剤でも同様の障害を起こすことが知られている<sup>17)</sup>。薬剤により急性尿細管障害の病態は異なっており<sup>18,19)</sup>、また核医学検査においてもサイクロスボリンやシスプラチンによる腎障害時に種々の放射性医薬品の動態に変動が起こる事が報告されている<sup>20,21)</sup>。この点に関して、各々の薬剤について検討が今後必要であるが、本研究で行ったゲンタマイシン障害腎における核医学的検査法は、他剤による腎障害の評価に利用できるものと考えられた。

尿細管障害時に糸球体濾過率が低下する機序の 1つとして、tubuloglomerular feedback mechanism (TG feedback) が考えられるが<sup>22)</sup>、ゲンタマイシンによる腎障害の場合、シンチグラフィ攝取率の低下は TG feedback による糸球体濾過率の低下より以前に起こると考えられ、また組織学的变化とも良く対応していた。シンチグラフィ攝取率は絶対的腎機能を示す一つの指標になり得ると考えられた。

## V. 結 語

ゲンタマイシンによる腎障害ラットで、シンチグラフィ攝取率と Ccr の関係を比較検討した。両者の間には解離がみられシンチグラフィ攝取率は Ccr より早期に低下した。Tc-DMSA シンチグラフィにより算出した腎攝取率は組織学変化ともよく対応し、薬剤性腎障害時の絶対的腎機能異常を早期に検出し得る一つの指標として有用であると考えられた。

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團からの援助により行いました。

## 文 献

- Lin TH, Khentigan A, Winchell HS: A  $^{99m}\text{Tc}$ -chelate substitute for organoradiomeric renal agents. *J Nucl Med* **15**: 34-35, 1974
- Enlander D, Weber PM, dos Remedios LV: Renal cortical imaging in 35 patients. Superior quality with  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA. *J Nucl Med* **15**: 743-749, 1974
- Taylor Jr A: Quantitation of renal function with static imaging agents. *Semi Nucl Med* **12**: 330-344, 1982
- Kawamura J, Hosokawa S, Yoshida O, et al: Validity of  $^{99m}\text{Tc}$ -dimercaptosuccinic acid renal uptake for an assessment of individual kidney function. *J Urol* **119**: 305-309, 1978
- Maeyer PD, Simons M, Oosterlinck W, et al: A Clinical study of  $^{99m}\text{Tc}$ -dimercaptosuccinic acid uptake in obstructed kidneys: Comparison with the creatinine clearance. *J Urol* **128**: 8-9, 1982
- 細川進一、川村寿一、吉田 修：シンチカメラによる腎機能検査法に関する臨床的研究(第 IV 報)— $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA 腎シンチグラフィーによる定量的分腎機能検査法について—。泌尿紀要 **23**: 653-665, 1977
- Baillet G, Gagnadoux MF, Vernejoul PD, et al: Quantitation of renal function with  $^{99m}\text{Tc}$ -DMSA. A comparison with creatinine clearance in children with single kidney. *Nucl Med Comm* **6**: 733-738, 1985
- Bingham LB, Maisey MN: An evaluation of the use of  $^{99m}\text{Tc}$ -dimercaptosuccinic acid (DMSA) as a static renal imaging agent. *Brit J Rad* **51**: 599-607, 1978
- Ikeda I, Inoue O, Kurata K: Preparation of various Tc-99m dimercaptosuccinate complexes and their evaluation as radiotracers. *J Nucl Med* **18**: 1222-1229, 1977
- Taylor Jr A, Lallone RL, Hagan PL: Optimal handling of dimercaptosuccinic acid for quantitative renal scanning. *J Nucl Med* **21**: 1190-1193, 1980
- Blaufox MD, Fine E, Lee HB, et al: The role of nuclear medicine in clinical urology and nephrology. *J Nucl Med* **25**: 619-625, 1984

- 12) 細川進一, 川村寿一, 吉田修: 腎スキャン剤<sup>99m</sup>Tc-DMSA の腎局在性に関する実験的研究. 泌尿紀要 **24**: 61-65, 1978
- 13) Willis KW, Martinez DA, Hedley-Whyte ET, et al: Renal localization of <sup>99m</sup>Tc-stannous glucoheptonate and <sup>99m</sup>Tc-stannous dimercaptosuccinate in the rat by frozen section autoradiography. The efficiency and resolution of technetium-99m. Radiation Research **69**: 475-488, 1977
- 14) Provoost AP, Van Aken M: Renal handling of technetium-99m DMSA in rats with proximal tubular dysfunction. J Nucl Med **26**: 1063-1067, 1985
- 15) de Lange MJ, Piers DA, Kosterink JGW, et al: Renal handling of technetium-99m DMSA: Evidence for glomerular filtration and peritubular uptake. J Nucl Med **30**: 1219-1223, 1989
- 16) Quarum ML, Houghton DC, Gilbert DN, et al: Increasing dietary calcium moderates experimental gentamicin nephrotoxicity in rats. J Lab Clin Med **103**: 104-114, 1984
- 17) 小出輝: 薬剤による腎障害のメカニズム. 腎と透析 **19**: 39-43, 1985
- 18) 阿曾佳郎, 田島惇, 鈴木和雄, 他: サイクロスボリン投与ラットにおける腎毒性—生化学的, 形態学的検討—. 日泌尿会誌 **76**: 1454-1459, 1985
- 19) 竹林茂夫, 田口尚, 松尾里: 急性腎不全の病理—薬剤の腎毒性—. 腎と透析 **24**: 333-337, 1988
- 20) McAfee JG, Thomas FD, Subramanian G, et al: Evaluation of cyclosporine nephrotoxicity in rats with various renal radioactive agents. J Nucl Med **29**: 1577-1581, 1988
- 21) 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
- 22) 高畠利一, 潮木保幸: 臨床生理学シリーズ④腎臓, 第1版, p. 6 南江堂株, 東京, 1989

## Summary

### Assessment of <sup>99m</sup>Tc-DMSA Renoscintigraphy and Uptake Compared with Creatinine Clearance in Rats with Drug-Induced Nephrotoxicity —I. Gentamicin-Induced Nephrotoxicity—

Masafumi YAMADA

*Department of Radiology, Ehime University School of Medicine*

For evaluation of technetium-99m dimercaptosuccinic acid (<sup>99m</sup>Tc-DMSA) renal uptake as an absolute renal function, <sup>99m</sup>Tc-DMSA uptake was compared with endogenous creatinine clearance (Ccr) in gentamicin-induced nephrotoxicity. Gentamicin (40 mg/kg/day) was given subcutaneously to male Wistar rats for periods of 3, 6, 9 and 12 days. On the next day, the renoscintigraphy was performed 2 hours following intravenous injection of <sup>99m</sup>Tc-DMSA and Ccr was measured. On the 7th day, <sup>99m</sup>Tc-DMSA uptake was significantly lower in the treated rats than that in control ( $32.27 \pm 0.92$  vs  $39.84 \pm 2.24\%$ ;  $p < 0.01$ ), but Ccr did not change ( $0.37 \pm 0.02$  vs  $0.34 \pm 0.05$  ml/min/100 g; NS).

On the 1st, 2nd, 4th and 8th day after single

subcutaneous injection of 80 mg of gentamicin, <sup>99m</sup>Tc-DMSA uptake was measured and the histological examination was done. On the 4th day, <sup>99m</sup>Tc-DMSA uptake was significantly lower than that on the 1st day ( $32.32 \pm 3.00$  vs  $38.91 \pm 1.95\%$ ;  $p < 0.01$ ) and microscopic examinations revealed that eosinophilic granular degenerations were evident in the renal cortex. The present study suggests that <sup>99m</sup>Tc-DMSA uptake reduces earlier than Ccr in gentamicin-induced nephrotoxicity and <sup>99m</sup>Tc-DMSA uptake is a reliable indicator in the evaluation of a renal function in drug-induced nephrotoxicity.

**Key words:** <sup>99m</sup>Tc-dimercaptosuccinic acid (<sup>99m</sup>Tc-DMSA), Drug-induced nephrotoxicity, Gentamicin, Absolute renal uptake.