

N-ベンジル-D-グルカミンジチオカルバメートによる シスプラチンの消化器毒性の防護に関する研究

浄住護雄・坂元葉子・杉田恵美

Protective Effect of N-Benzyl-D-glucamine Dithiocarbamate on Gastrointestinal Toxicity of cis-Diamminedichloroplatinum

Morio KIYOZUMI, Yohko SAKAMOTO and Emi SUGITA

(Received September 2, 1996)

The protective effect of N-benzyl-D-glucamine dithiocarbamate(BGD) against gastrointestinal toxicity by cis-diamminedichloroplatinum(CDDP) injection in rats was studied. Rats were injected i.p. with BGD(2mmol/kg) immediately after i.v. injection of CDDP(20 μ mol/kg). BGD protected the CDDP-induced inhibition of the intestinal absorption of histidine, glucose, and sucrose. However, CDDP did not depress the intestinal absorption of salicylic acid. BGD prevented the inhibition of the active transport of glucose across the rat small intestine induced by CDDP.

Key words : cis-diamminedichloroplatinum, N-benzyl-D-glucamine dithiocarbamate, gastrointestinal toxicity, rat

はじめに

シスプラチン (Cis-diamminedichloroplatinum, CDDP) は精巣腫瘍，卵巣腫瘍，尿路上皮腫瘍，膀胱癌等の各種腫瘍の治療（1-5）に用いられている。しかし，本薬物は副作用として，腎毒性，嘔吐，食欲不振，下痢等を示し，特に腎毒性はシスプラチンのdose limiting factorになっている。この腎毒性はシスプラチンの投与方法，他薬物の併用によって克服されつつある。

前にも述べたようにシスプラチンの副作用の一つに下痢がある（6）。Allan等（6）はシスプラチンをマウスに投与すると，小腸粘膜が傷害を受けると報告した。このことから本薬物は腸管からの栄養素の吸収にも影響していると推測される。そこで著者等はシスプラチンが栄養素の吸収に与える影響を調べ，またジチオカルバメートによる防護を検討したので報告する。

実験方法

1. 試薬および試料液

CDDPは日本化薬社製のものを使用した。BGDは児島等の方法（7）に従って合成した。ヒスチジン，グルコース，サリチル酸はナカライテスク社製の試薬特級を使用した。その他の試薬もす

べて試薬特級を使用した。

2. In Situでの腸管吸収実験に用いる試料溶液

ヒスチジンは1.29mM, グルコースは1.11mM, 蔗糖は0.58mM, サリチル酸は1.45mMになるように生理食塩液にそれぞれ別々に溶解した。

3. In Vitroでの小腸透過実験に用いる試料溶液

粘膜側液および漿膜側液共に, NaCl 8.6g/l, KCl, 0.3g/l, CaCl_2 0.22g/lを含む溶液でグルコースの1.11mM溶液を調製した。

4. ラットのCDDPでの前処理

Wistar系雄性ラット(体重約200g)にCDDP6mg/kgを静脈内投与し3日後から24時間絶食し実験に供した。BGDを投与する場合はCDDP投与30分後に腹腔内に2mmol/kgを注射投与した。

5. In Situでの小腸吸収実験

ラットをウレタン麻酔(1g/kg)後正中線に沿って開腹した。小腸を体外へ引き出し、小腸上端から20cmの位置(A)と(A)から下方60cmの位置に切り込みを入れ、外径3mmのL字型ガラスカニューレを挿入して糸で結紮した。小腸内を37°Cの生理食塩液で洗浄した。Fig. 1に示したようにシリコンチューブで小腸、ポンプ、試料液40mlを入れたフラスコをつなぎ、5ml/minの流速で環流した。実験開始5分後を0時間とし2時間行った。30分毎に環流液を1ml採取し、測定試料とした。実験終了後小腸は生理食塩液で洗浄しCDDP測定試料とした。本実験において、小腸内の物質が粘膜を通して血液中に移行することを吸収と定義する。

6. In Vitroでの小腸透過実験

ラットを断頭後直ちに開腹し、空腸部約5cmを摘出し、生理食塩液で洗浄した。腸間膜と脂肪を切除し、生理食塩液中でガラス棒(直径1.5mm)を用いて反転した。反転腸管の一端を糸で結紮し、漿膜側(B)液としてグルコースを含む試料液1mlをいれた後もう片方も糸で結紮した。一方、Fig. 2に示したように、粘膜側(A)液として、ビーカーにあらかじめ粘膜側液と同じグルコースを含む試料液170mlを入れ、37°Cに加温し、空気を通しておいた。この液中に反転腸管を浮かばな

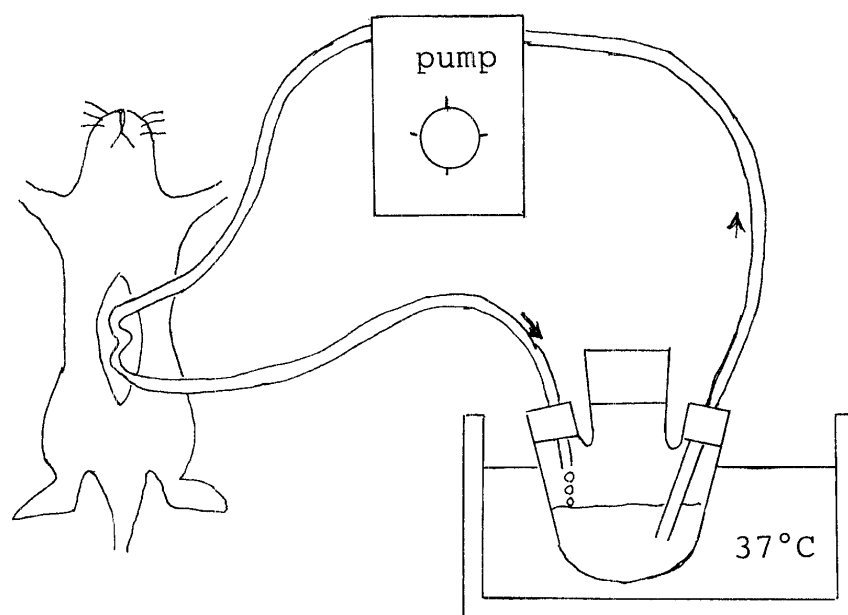


Fig. 1 In Situ Circulation Apparatus

いように保ち、1時間後漿膜側(B)と粘膜側(A)の溶液をそれぞれ採取し、グルコース濃度を測定した。

7. 定量

1) 白金：小腸を硝酸一過塩素酸で湿式灰化後精製水で希釈し、フレイムレス原子吸光光度計(日立Z-9000)を用いて測定した。

2) グルコース：Miwa等の方法(7)に従って、市販のキットGlucose C-Test Wako(和光純薬社, 大阪)を用いて測定した。

3) サリチル酸：紫外線(303nm)吸光度法(8)で測定した。サリチル酸の濃度は試料液の吸光度を標準液(25 μ g/ml)の吸光度で除して算出した。

4) 蔗糖：環流液1mlに0.075N HCl 0.5mlを加え、沸騰水中で30分間過熱した後、0.075N NaOH 0.5mlを加えて中和した。この液についてグルコースの測定をし、それを蔗糖濃度とした。

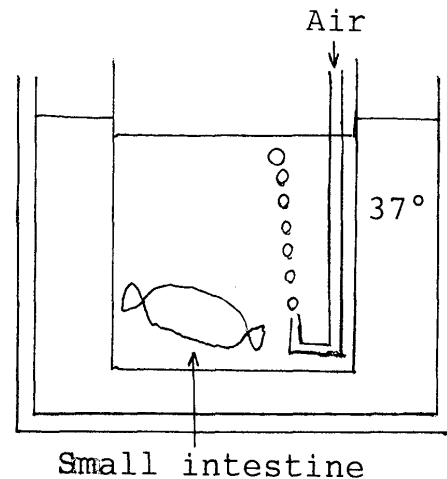


Fig. 2 Circulation Apparatus

結果と考察

CDDP前処理ラットにおけるヒスチジン、グルコース、蔗糖、サリチル酸のin situ小腸吸収

ヒスチジンの吸収に対するCDDP前処理の影響をFig.3Aに示す。環流液中のヒスチジン濃度はCDDP前処理したラットではコントロールよりも有意に高かった。このことからCDDPは小腸のヒスチジン吸収を阻害することがわかった。ところがCDDP前処理30分後にBGDを投与すると環流液中のヒスチジン濃度はコントロールと有意差がなかった。従ってBGDはCDDPのヒスチジン吸収阻害を防護することがわかった。この時小腸組織中の白金濃度はBGDの投与によってかなり低下した(Table 1)。グルコース及び蔗糖についてもヒスチジンと同じ結果が得られた(Fig. 3B, 3C)。これに対して、非栄養素であるサリチル酸の環流液中の濃度はCDDP前処理によって有意な低下は認められなかった(Fig. 3D)。この結果から、サリチル酸の吸収はCDDP前処理によって阻害されないことがわかった。

CDDP前処理ラット小腸におけるグルコースのin vitro小腸透過

In situでの吸収実験の結果、栄養素であるヒスチジン、グルコース、蔗糖はCDDPにより小腸吸収が低下するが、非栄養素のサリチル酸は影響されなかった。両物質の小腸吸収に対するCDDP前処理による影響の相違からCDDPが小腸における栄養素の能動的吸収を阻害していることが考えられた。そこで摘出反転腸管を用いて、グルコースの粘膜側から漿膜側への能動輸送を調べた。Table IIに示すように、グルコースの粘膜側濃度(M)に対する漿膜側濃度(S)の比S/Mは、CDDP前処理ラットで相当低下することがわかった。ところが、CDDP前処理後30分にBGDを投与するとCDDPによって低下したS/M値はコントロールまで回復した。Allan等(6)はCDDPを投与すると小腸粘膜の絨毛が損傷を受けると報告している。従って、BGDの投与によって栄養素の吸収が回復したのは、Table 1に示すように本薬物によりCDDPの小腸への分布が減少し、CDDPによって起こされる小腸粘膜絨毛の損傷が防護されたためと考えられる。また、Fig. 3Dに示されるように、環流液中のサリチル酸濃度はCDDP投与ラットでは、有意差はなかった。これらを総合すると、CDDP投与による栄養素の吸収低下は、本薬物により小腸粘膜における能動輸送が阻害され

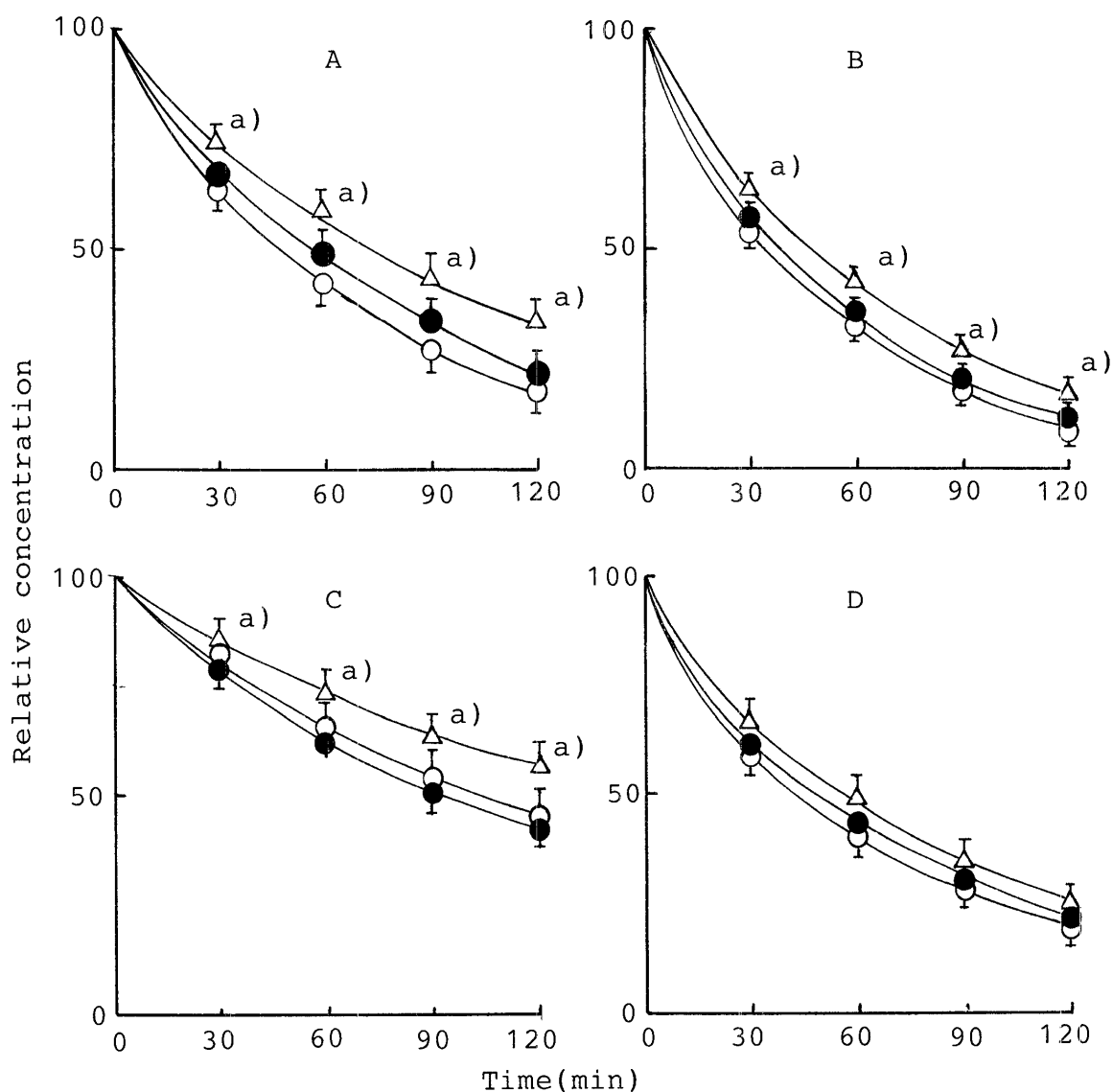


Fig. 3 Effect of BGD on In Situ Small Intestinal Absorption of Histidine, Glucose, Sucrose, and Salicylic Acid in Rat Treated with CDDP

A: histidine; B: glucose, C: sucrose; D: salicylic acid Each value is the mean \pm standard deviation for 3 to 4 animals.

○: control; △: CDDP; ●: CDDP+BGD

Significantly different from the control values, a) $p < 0.05$

Table 1 Effect of BGD on Small Intestinal Tissue Concentration of CDDP

concentration of CDDP ($\mu\text{g Pt/g wet tissue}$)	
CDDP alone	0.923 ± 0.045
CDDP+BGD	$0.163 \pm 0.024^{\text{a)}$

Each value is the mean \pm standard deviation for 3 animals.

a) Significantly different from CDDP alone, $p < 0.05$

Table 2 Effect of BGD on Transport of Glucose across In Vitro Everted Small Intestine in Rat Treated with CDDP

Treatment	Transport of glucose (serosal to mucosal concentration ratio)
Control	2.65±0.53
CDDP alone	1.41±0.21 ^{a)}
CDDP+BGD	2.37±0.68

Each value is the \pm standard deviation for 3 animals.

a) Significantly different from control, $p < 0.05$.

たためにおこり、それはBGDの投与によって防護されることがわかった。

ま と め

CDDPの消化器毒性の防護法を検討した。ラットにCDDPを投与すると、ヒスチジン、グルコース、蔗糖のin situ小腸吸収が低下した。このCDDPによる低下はCDDP投与30分後にBGDを投与することによって完全に防護された。サリチル酸の吸収はCDDPにより影響されなかった。CDDP投与したラットから摘出した小腸を用いたin vitroでのグルコース透過実験からCDDPは小腸粘膜におけるグルコースの能動輸送を阻害したが、BGDの投与はこの阻害を防止した。

参 考 文 献

- 1) L. H. Einhorn and J. P. Donohue, Improved chemotherapy in disseminated testicular cancer. *J. Urol.*, **117**, 65-71, (1977).
- 2) S. K. Carter and T. H. Wassermann, The chemotherapy of urologic cancer. *Cancer*, **36**, 729-736, (1975).
- 3) E. Witshaw and T. Kroner, Phase II study of cis-dichlorodiammineplatinum (II) (NSC-119875) in advanced adenocarcinoma of the ovary. *Cancer Treatment Rep.*, **60**, 55-60, (1976).
- 4) R. E. Wittes, E. Cvitkovic, J. Shah, F. P. Terold and E. W. Strong, Cis-Dichlorodiammineplatinum (II) in the treatment of epidermoid carcinoma of the head and neck. *Cancer Treat. Rep.*, **61**, 359-367, (1977).
- 5) A. Yagoda, Future implications of phase 2 chemotherapy trials in ninety-five patients with measurable advanced bladder cancer. *Cancer Res.*, **37**, 2775-2781, (1977).
- 6) S. G. Allan, J. F. Smith, F. G. Hay, R. C. F. Leonard, and C. R. Wolf, *Can. Res.*, **46**, 3569-3573, (1986).
- 7) S. Kojima, K. Kaminaka, M. Kiyozumi, and T. Honda, Comparative Effects of Three Chelating Agents on Distribution and Excretion of Cadmium in Rats, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **83**, 516-524, (1986).
- 8) I. Miwa, J. Okuda, K. Maeda, and G. Okuda, *Clin. Chim. Acta*, **37**, 538-543 (1972).
- 9) 日本薬学会 (編), “衛生試験法注解,” 金原出版 (株), 東京, 1973, 195-196.