

抗癌剤ブレオマイシン投与における臨床検査値の研究

永瀬 澄香¹, 佐藤 彰一¹, 渡邊 悟²

A Study of Laboratory Values in Rats Treated with Anti-cancer Drug Bleomycin

Sumika NAGASE¹, Syoichi SATO¹ and Satoru WATANABE²

キーワード：抗癌剤, Bleomycin, 細胞毒性, 臨床検査値

概 要

抗癌抗生物質の一種である Bleomycin (ブレオマイシン：BLM) をラットに5日間連続腹腔内投与し、各臓器湿重量測定と血液検査を行い臨床検査値に及ぼす影響を検討した。ラット体重変化では投与後有意な減少 ($P < 0.005$) が見られた。全摘出臓器の湿重量変化では、胸腺、脾臓に有意な減少が見られ、高濃度になるほど著しく減少した。BLMは胸腺、脾臓などの造血器への影響が著しく、また腎臓、間脳および心臓でも有意な減少が見られ、これらの臓器に毒性が現われることが判明した。

血液検査では、貧血の傾向は認められなかった。また、白血球の減少傾向はみられるものの有意な骨髄抑制は認められなかった。生化学検査では、各酵素に有意な減少が見られ、BUN やクレアチニンにも有意な変化が見られ、肝臓や腎臓への血液毒性が示唆された。抗癌剤の薬物有害反応に対する早期治療の確立が求められている今、各抗癌剤の臨床検査値の動向に着目することは重要であると考えられる。

1. はじめに

我々はこれまでに各種抗癌剤をラットに投与し、血液成分を測定してきた¹⁾。その中で、シクロフォスファミド (Cyclophosphamide) 及びラニムスチン (Ranimustine) 等を用いた場合には、白血球の著明な減少が見られた^{2,3)}。また、他の血液成分にもかなりの影響が認められた。

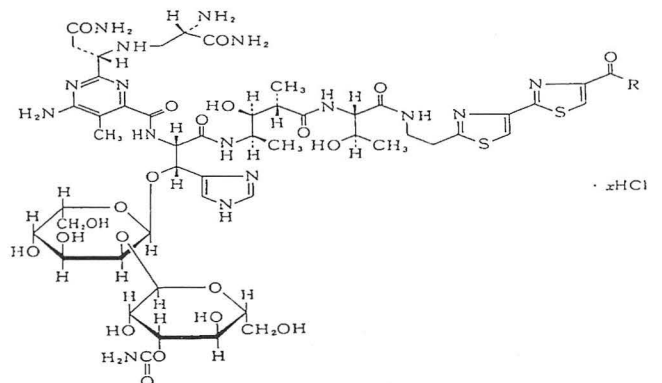
今回用いるブレオマイシン：BLMは癌治療においての奏効性が良いと言われる反面、重篤な副作用が問題視され、注目された抗癌剤である。

BLMは、扁平上皮癌に対する強い毒性があり、Hodgkin及び非Hodgkin性リンパ腫、肺癌、皮膚癌、食道癌、子宮頸部癌などに有効である。細胞の増殖と複製に関わるDNA合成を阻害することで抗腫瘍効果を表わし、BleomycinとCuやFeとの複合体がO₂存在下でフリーラジカルを生成し、これがDNA鎖を切断してDNA合成を阻害すると言われている⁴⁾。しか

し、副作用として、胃炎、脱毛、皮膚色素沈着などの粘膜皮膚障害、肺機能低下や時に肺線維症などの用量依存性の重篤な肺毒性が知られている (図1)。

抗癌剤治療をするうえでは、副作用を最小限に抑えて標的臓器の癌を効果的に治療できるかが重要になってくる。そこで、BLMをラットに投与し、血液成分の臨床検査値に及ぼす影響について検討した。さらに体

ブレオマイシンの化学構造



- **副作用** 胃炎 脱毛 肺機能低下 肺線維症
皮膚色素沈着などの粘膜皮膚障害

図1 ブレオマイシンの化学構造と副作用

(平成15年10月9日受理)

¹⁾川崎医療短期大学 臨床検査科, ²⁾川崎医科大学 薬理学

¹⁾Department of Medical Technology, Kawasaki College of Allied Health Professions

²⁾Department of Pharmacology, Kawasaki Medical School

重変化及び、前立腺、胸腺、脾臓、腎臓、心臓、精嚢、睪丸及び脳の8臓器の全臓器湿重量を測定し、細胞毒性について検討した。

2. 抗癌剤について

現在、癌の3大療法と呼ばれている外科療法、抗癌剤投与、放射線照射は、体力(免疫力)の低下や副作用の弊害をいかに最小化するかを共通の課題としてきた。

中でも癌化学療法として臨床の場で多く使用されている抗癌剤は、作用機序や物質の由来などから大きく次のように分類される。通常1)アルキル化薬、2)代謝拮抗薬、3)抗癌抗生物質、4)植物アルカロイド、5)ホルモン薬とホルモン拮抗薬などに分かれている。アルキル化薬、代謝拮抗薬は、薬物の殺細胞作用メカニズムを表現し、ホルモン薬は生理的作用機序、また、植物アルカロイドや抗生物質は薬物起源に由来している。

初めて「抗がん剤」が発見されたのは1920年代のことである⁵⁾。当時戦争で悪性リンパ腫を患っていた兵士がナイトロジェンマスタードという毒ガスを浴びた後、検査をしたところ癌が改善されていたことから、この物質の中には抗がん作用のある物質があるのではないかと考えられ、そこから抗がん剤の研究はスタートしたといわれている。それ以来、癌治療のため、数多くの抗癌剤が開発されてきた。抗癌剤は、一般に単独使用ではなく、複数のものを組み合わせて投与される。こうした「多剤併用療法」の概念が生まれたのは1970年代後半からであり、いくつかの抗癌剤を組み合わせる多剤併用療法により癌治療の効果が上がった。1980年代からは、「分子標的薬剤」と呼ばれる抗癌剤が開発されてきた。分子標的薬剤とは、癌の原因となる酵素や受容体に対して、直接または間接的にその分子だけに作用する薬剤である。2002年7月に承認されたばかりで、治療効果の反面、副作用でも話題になった非小細胞肺癌治療薬の「イレッサ」もまた、注目される分子標的薬剤の一つである。

癌治療の進歩に伴って治癒あるいは長期生存患者が年々増加している。一方で、化学療法によるさまざまな抗癌剤使用により、患者への有害反応対策が重要性を増している。時に、抗癌剤の強い副作用により極端な免疫低下がおり感染症や出血、各臓器障害で死に至ることもある。

さらに、癌の原疾患の治療に関連して二次癌(second

cancer: SC)も増加の一途をたどっている。二次白血病(SL)が最初に報告されたのは1960年代であるが、当時は抗癌剤によりSLが誘発されるなど想定外のことであり、動物実験で化学物質に発癌性が明確に証明されても、人へも発癌性を示す証拠になるとする考えには慎重であった。しかし、症例が次々に蓄積され、臨床疫学的な観察によってSLの存在は疑いようのない事実になった。今日SLは、化学発癌を示す症例の一つである。特にHodgkin病では、15年後の生存者集団における死因第1位がSCであり、化学療法の最も深刻な有害事象になっているのも事実である⁶⁾。

今回我々が検討したBleomycinは、分子量1,500の金属イオン結合性糖ペプチドであり、抗腫瘍性抗生物質の一種である。このBLMの細胞障害を起こす分子操作は、DNA鎖の切断であると考えられている⁷⁾。

3. 研究方法

実験には、体重約140g前後の5週齢SD系雄ラットを1群7匹ずつ用いて実験した。

Control群:(Con群—生理食塩水投与)とBleomycin 12.5mg/kg投与群、Bleomycin 25mg/kg投与群の3群について投与前に体重測定を行い、5日間連続して腹腔内注射した。最終投与24時間後再度体重測定を行い採血後、屠殺し各臓器を摘出した。前立腺、胸腺、脾臓、腎臓、心臓、精嚢、睪丸及び脳の6部位については全摘出を行い各臓器の湿重量を測定した。さらに各群の血液検体を用いて血液検査及び生化学検査を行った。

【測定項目】

血液検査には全血を用い、赤血球、白血球、血小板、ヘモグロビン(Hb)、ヘマトクリット(Ht)、平均赤血球容積(MCV)、平均赤血球血色素量(MCH)及び平均赤血球血色素濃度(MCHC)について測定した。生化学検査では血清を用い、GOT、GPT、ALP、LDH、ChE、 γ -GTP、総蛋白、アルブミン(Alb)、A/G比、総コレステロール(総Cho)、中性脂肪、アミラーゼ、尿酸、CPK、ACP、血糖、血清鉄、総ビリルビン(T. Bil)、BUN及びクレアチニン(Crn)を測定し、電解質成分はナトリウム(Na)、カリウム(K)、クロール(Cl)、カルシウム(Ca)及びマグネシウム(Mg)について測定した。

4. 結 果

1) 臓器湿重量に及ぼす影響

抗癌剤を5日間連続投与したラット平均体重は、投与後 Con 群に対して20%の減少が見られた(図2)。

ラットの全摘出臓器における湿重量変化を見ると、BLM 12.5mg/kg投与群は、胸腺32%、脾臓23%の減少、BLM 25mg/kg投与群においては、胸腺41%、脾臓35%に有意な減少が見られ、高濃度になるほど著しく減少した。

また、腎臓では BLM 12.5mg/kg投与群、25mg/kg投与群それぞれ18%、16%の減少が見られ、間脳でもそれぞれ25%、21%の減少が見られた。これらから、BLMは胸腺、脾臓などの造血器への影響が著しく、また腎臓、間脳に抑制の影響が現われることが判明した。しかし、生殖器にはほとんど影響はなかった(図3)。

2) 臨床検査値に及ぼす影響

血液検査において、BLM 投与で有意に差が出た検査項目が認められた。12.5mg/kg投与群で、赤血球16%、血小板42%、Hb 15%の増加が見られ、また、25mg/kg投与群では、赤血球15%、Hb 15%、MCHC 7%の増加、および MCV 7%の減少が見られた(図4)。白血球、MCH に関しては、今回の投与濃度による有意な減少は見られなかった。

生化学検査では、BLM 12.5mg/kg投与群で、GOT 25%、GPT 24%、ALP 47%、LDH 40%、ChE 42%、CPK 33%、ACP 17%、Amy 24%、BUN 19%、Crn 20%の減少が見られた。25mg/kg投与群では、GPT 30%、ALP 57%、ACP 14%、中性脂肪51%、総Cho 19%、Amy 22%、Crn 17%、総蛋白8%の減少とA/G比10%の増加が見られた。

GOT、GPT、ALP、LDH、ChEの各酵素が著明に減少していることからBLMの強い細胞毒性が示唆され、酵素合成阻害を引き起こしていると考えられる(図5-1)。今回肝臓は全臓器摘出をしていないため、臓器毒性を考えるためには肝を全摘出し、臓器重量を比較検討する必要がある。電解質検査ではK、Caに有意な減少が見られたが、その他の生化学検査及びNa、Clの電解質にはとくに影響は見られなかった(図5-2, 図5-3)。

5. 考 察

ラットの体重変化では、BLMを5日間連続腹腔内投与した結果Con群と比べ強く体重増加を抑制した。こ

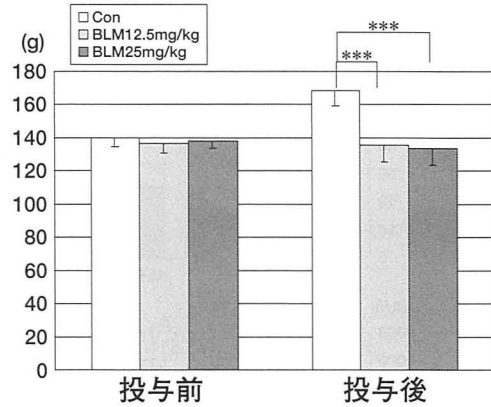
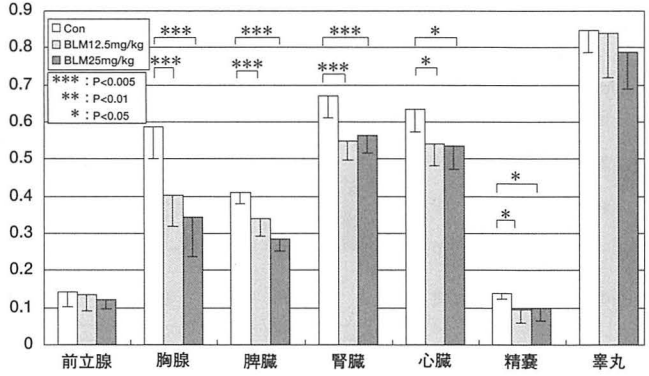


図2 ラットの体重変化

(g) 臓器湿重量変化



(g) 脳6部位の湿重量変化

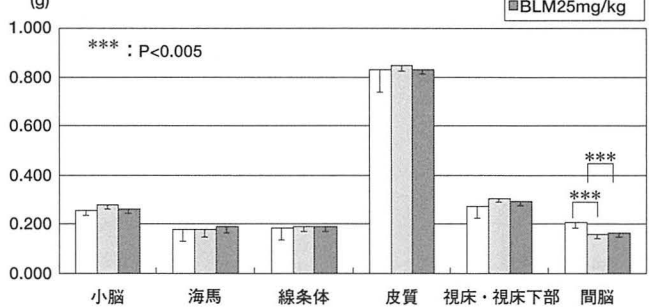


図3 BLMによるラット全摘出臓器における湿重量変化

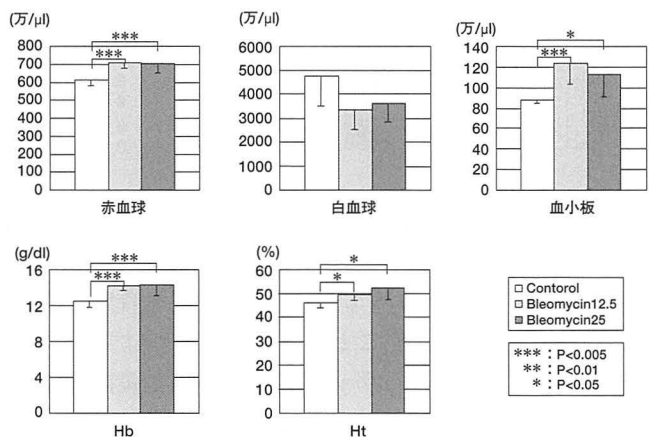


図4 BLM投与における血液検査値

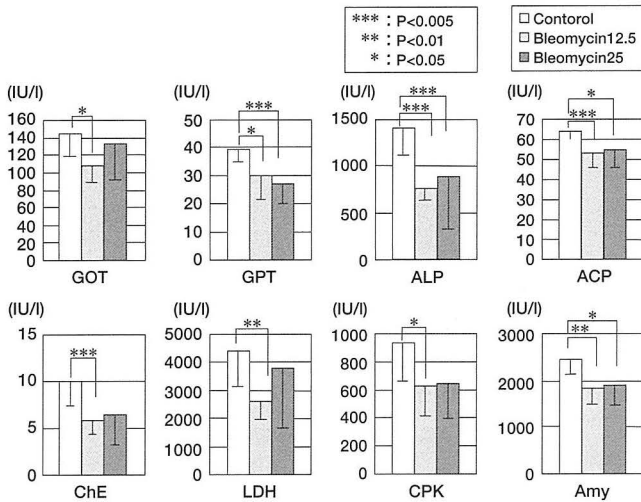


図 5-1 BLM 投与における生化学検査値①

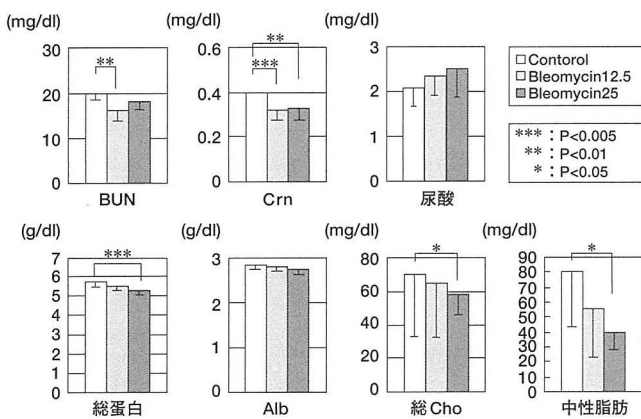


図 5-2 BLM 投与における生化学検査値②

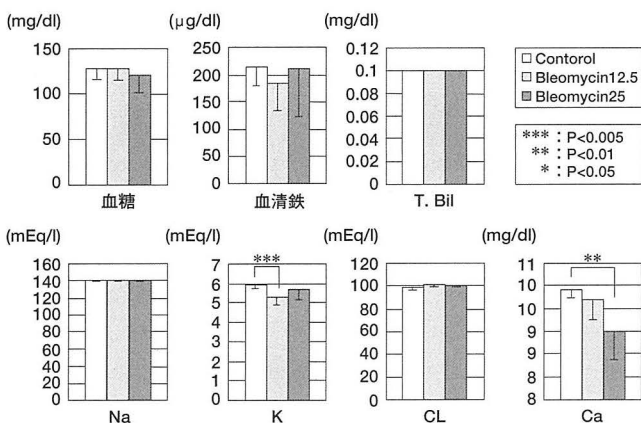


図 5-3 BLM 投与における生化学検査値③

の要因としては、BLM が癌細胞の DNA 合成を阻害して増殖抑制を起こすことや、薬剤投与による食欲低下などが考えられる。ラットの各臓器湿重量に対する BLM の影響を見てみると、胸腺、脾臓に有意な減少が見られ、造血機能が強く影響を受けたと考えられる。

我々が検討した抗癌剤エトポシドでは、脳の湿重量に大きな変化はなかったが、今回の BLM は、脳 6 部位の中では特に間脳に抑制の影響があることが判明した。間脳への影響が見られることから、BLM 投与が長期間にわたり続行した場合、神経障害の可能性も示唆される。

血液検査では、赤血球、Hb、Ht が上昇しており貧血傾向は認められず、この値の上昇は脱水による血液濃縮によるものと思われる。シクロfosファミド及びビラニムスチンを用いた場合、白血球数の著明な減少が認められたが、今回用いた BLM は白血球の減少傾向はみられるもののシクロfosファミドのような有意な減少は認められなかった。

生化学検査では、GOT、GPT、ALP、LDH、ChE の各酵素が著明に減少していることから BLM の強い細胞毒性が示唆され、酵素合成阻害を引き起こしていると考えられる。

また、腎機能の指標である BUN、Crn に減少傾向が認められ、湿重量も減少していることから BLM は腎臓に強い影響があることが分かる。

〈抗癌剤による有害反応の特徴〉

抗癌剤の副作用は多彩多様であり、副作用の発現メカニズムは大きく分けて2つある。一つは抗癌剤の抗がん作用に関係するもの、もう一つは薬剤に特有の作用によって発現するものである。しかし、これらの副作用の発現メカニズムは不明な点が多いとされている。

昨今、癌医療においてその質を更に改善し、また患者の生活の質 (QOL) も向上させる必要性が指摘されるようになった。患者の QOL を高め、またより健康状態に近く保ち治療効果を上げるためには、治療時点で可能な有害事象対策をとる必要性がある。

しかしながら、癌治療の場では、残念ながら治療効果の反面、有害反応、合併症は避けられない。癌細胞は体内の正常細胞と共存しており、両者の生物学的差異の臨床的認識はきわめて難しい。そのため、進行癌に対して施行される化学療法・放射線療法は癌細胞を攻撃すると同時に様々な正常細胞へも障害をうける。

この障害の程度が dose limiting toxicity (DLT) となり、治療の継続を左右することとなる。化学療法による副作用は、これまで血液障害、消化器障害の頻度が高いとされてきたが、最近の傾向として神経毒性の頻度がむしろ増加していると言われている。その理由として、これまでの抗癌剤は水溶性で分子量が大きく血液・脳関門を通りにくく、神経障害が起りにく

かったが、最近では、多剤併用療法によって神経毒性が出現するようになってきた。また、血液毒性、消化器毒性が副作用対策の発展により改善された結果、神経毒性が出現するまで投与が行われるようになったことなどが上げられる。抗癌剤の中でも代謝拮抗剤に属するビンクリスチンやシスプラチンなどは中枢神経障害が注目されている薬剤の一種である⁹⁾。中枢神経障害には①大脳・脳幹部症状（運動麻痺、知覚麻痺、脳症、髄膜炎など）、②小脳障害症状、③脊髄障害などがある。神経障害は、血液、消化器障害に比べて、抹消神経では細胞の再生が著しく遅く、中枢神経では再生しないことが特徴である。従って、抗癌剤の髄注時や静注においても、血液・脳関門を通過しやすい薬剤は注意すべきであり、今回使用したBLMも間脳への影響がみられることより、特に多剤併用時には神経毒性を助長させる可能性も考えられる点興味深い結果といえよう。

その他、抗癌剤BLMの重篤な副作用の一つとして肺繊維症が上げられる。全身臓器の中でも肺は抗癌治療により様々な有害反応を呈し、ときに不幸な転帰をもたらすことがある。肺自身が重要なバイタル臓器であり、他の実質臓器とは異なる性質を有しているからである。肺は静脈注射、筋肉内注射においては、投与薬剤が最初に通過する臓器である。従って、肺の毛細血管内皮細胞が直接抗癌剤により障害され、更に肺上皮細胞が侵される。その後各種炎症性サイトカインが産成され、炎症細胞の遊走を促し、遊走してきた細胞のうち好中球が中心となって活性酸素、蛋白融解酵素を発生し薬剤自体もフリーラジカルとなって肺組織を障害する。これらの知見は最も肺毒性が多いとされるブレオマイシン：BLMでの研究に基づいている⁹⁾。BLMの肺毒性は高齢者に発現しやすく、投与量の増加に伴い、肺毒性を助長させる可能性があり、注意を要する。

さらに、薬剤排泄障害もリスクファクターとして重要である。BLMは腎臓から排泄されるが、クレアチニン・クリアランス値が低下している場合にはBLMの排泄が遅延し、肺毒性を助長させる危険性がある。従って、シスプラチンのような腎毒性を有する抗癌剤と一併に併用投与する場合には特に留意しなければならない。今回肺は部分摘出であったが、今後全摘出を行って検討したいと思っている。

【血液毒性】

骨髄障害はほとんどの化学療法剤で認められる。特に、併用化学療法では骨髄障害をもつ抗癌剤が含まれている場合、障害の程度は異なるにしても必発する。

骨髄抑制の出現には、抗癌剤、その投与方法および蓄積総投与量が関連する。骨髄抑制は、各血液成分の寿命と関連するため、寿命の短い白血球や血小板は赤血球に比較して障害されやすく早期発現しやすい。多くの抗癌剤で白血球特に顆粒球の減少が見られ、抗癌剤が骨髄障害を示すが、ブレオマイシン、ビンクリスチン、シスプラチンなどは比較的影響が弱いとされている。抗癌剤によって血液毒性の現われ方に多少の特徴はあるが、どうしてこのような差がみられるのか詳細は不明である¹⁰⁾。赤血球は寿命が長いため、赤血球減少症の発現は遅くに観察される。抗癌剤による貧血の発現機序としては、直接の骨髄抑制、溶血性貧血、鉄の利用障害またerythropoietin (EPO)の産生低下などが考えられるが、今回の5日間連続投与では貧血の影響は認められなかった。抗癌剤を投与した後の個々症例ごとに経過の観察を十分に行い、その検査データの動きに着目し、起こりうる有害反応に対して、迅速に適正な対策をとることが最も重要であると言える。

抗癌剤の代謝はまだ解明されていない部分も多く、患者の全身状態、腎機能、抗癌剤の多剤併用や投与方法、その他薬剤との併用と肝障害の要因が複雑に関与している。

6. おわりに

より適切な治療法を確立するためには、患者にとって質の高い医療が求められている。

2002年7月の薬事法改正により医師主導の治療が制度化され、医薬品の承認申請が可能となった。抗癌剤による治療効果の反面、有害反応もしばしば問題になっている。従って、わが国においても薬物有害反応に対する標準治療法の早期確立が望まれている。

今後、各種抗癌剤投与によって、どのような臓器毒性を示すのか、様々な検査に加えて、臨床検査値の動きにも着目し、薬剤に対する知識を深めることが大切であると思う。

我々の研究は、まだまだ不明瞭な点があるといわれている抗癌剤の特徴を把握するうえで必要であると考えており、今後他の抗癌剤においても検討を行いたい。

7. 謝 辞

稿を終えるに当たり、本研究にご協力いただいた臨床検査科26期生高田智子、森 直美、舌齒准子および鴨井陽子各氏に深く感謝いたします。

8. 文 献

- 1) Watanabe. S, Sato. S, Nagase. S et al : Polyamine levels in various tissues of rats treated with 3-hydroxymethoxycinnamic acid and 3, 4-dimethoxycinnamic acid, *Anch-Cancer Drugs*, 7 pp 1-7, 1996.
- 2) Nagase. S, Sato. S, Watanabe. S et al : A study of Orgun Toxicity and Laboratory values in Rats Treated with Methotrexate and Cyclophosphamide, *KAWASAKI COLLEGE OF ALLIED HEALTH PROFESSIONS No. 16* pp 23-28, 1996.
- 3) 永瀬澄香, 佐藤彰一, 渡邊 悟, 大熊誠太郎: 抗癌剤(ラニムスチン, ニムスチン)投与における血液成分に及ぼす影響, *日本臨床病理学会 中国四国支部会誌 Vol. 14* pp 27, 1999.
- 4) 海老原昭夫, 鹿取 信, 今井 正: 標準薬理学第5版, pp 418, 1997.
- 5) 榎本光志 監修: 抗ガン剤 VS CPL, メタモル出版, 東京.
- 6) 阿部達生 野村憲一: 癌化学療法に伴う二次性発癌とその対策, *日本臨床* 61巻6号, pp 1045-1051, 2003.
- 7) 山内広平: 薬剤性肺炎, *最新医学*, 45巻5号, pp 895-902, 1990.
- 8) 下山直人 他: 神経障害, *日本臨床*, 61巻6号, pp 995-1000, 2003.
- 9) Weidner WJ, et al : Effects of acute administration of bleomycin on lung fluid balance in sheep. *Exp Lung Res.* 21 : pp 617-620, 2002.
- 10) 古江 尚: 癌治療における有害反応の特徴, *日本臨床*, 61巻6号 pp 909-915, 2003.
- 11) Rothenberg ML, et al : Mortality associated with ilinotecan plus bolus fluorouracil/leucovorin, *J Clin Oncol.* 19 : pp 3801-3807, 2001.
- 12) Watanabe. S, Sato. S, Nagase. S et al : Chemotherapeutic targeting of Etoposide to Regions of the Brain on the Basis of Polyamine Level, *Journal of Drug targeting*, Vol. 10(6) : pp 457-461, 2002.