
原 著

ダウノルビシン心腎障害とアンジオテンシン
受容体拮抗薬の効果について

曾我真也子・渡辺 賢一・Fadia A.Kamal
馬 梅薔・文 娟・Mir. I. I. Wahed
Gurusamy Narasimman・Palaniyandi Suresh
Paras Prakash・水戸沙耶佳・白井 健
長井 悠輔

新潟薬科大学薬学部臨床薬理学

太刀川 仁・小玉 誠・相澤 義房

新潟大学大学院医歯学総合研究科循環器分野

**Effects of Angiotensin II Receptor Blocker in Rats with
Daunorubicin - induced Myocardial and Renal Disorders**

Mayako SOGA, Kenichi WATANABE, Fadia A. KAMAL,
Meilei MA, Juan WEN, Mir. I.I. WAHED,
Gurusamy NARASIMMAN, Palaniyandi SURESH,
Paras PRAKASH, Sayaka MITO,
Ken SHIRAI and Yusuke NAGAI

*Department of Clinical Pharmacology,
Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences*

Hitoshi TACHIKAWA, Makoto KODAMA and Yoshifusa AIZAWA

*Division of Cardiology, Niigata University
Graduate School of Medical and Dental Sciences*

要 旨

アントラサイクリン系抗悪性腫瘍薬であるダウノルビシン (DNR) は白血病等の治療に多用されているが、時に心臓・腎臓障害を起こすことが知られている。一方、アンジオテンシン受容

Reprint requests to: Kenichi WATANABE, MD & PhD 別刷請求先: 〒950-2081 新潟市上新栄町 5-13-2
Niigata University of Pharmacy and Applied Life Sciences 新潟薬科大学薬学部臨床薬理学 渡辺 賢一
Faculty of Pharmaceutical Sciences
5-13-2 Kamishinei-cho,
Niigata 950-2081 Japan

拮抗薬 (ARB) は主に高血圧患者に用いられているが、最近では腎臓病や心不全患者にも用いられ、その心・腎保護作用が注目されている。そこで DNR 心筋障害ラットに対し、ARB のカンデサルタン・シレキセチルを投与し、心臓と腎臓の病理組織像、血行動態について検討した。正常群と比較し、DNR 群では心機能の悪化及び腎糸球体・尿細管の障害が見られたが、カンデサルタン投与によりそれらが改善した。

以上の結果よりカンデサルタンは DNR 心腎障害を改善させると推測された。

キーワード：ダウノルビシン、カンデサルタン、心臓障害、腎臓障害

Abstract

Daunorubicin is an anthracycline anti-tumor agent, anthracycline chemotherapy in cancer can cause severe renal dysfunction and cardiomyopathy leading to a frequently fatal congestive heart failure. Recently, angiotensin converting enzyme inhibitors have been shown to be effective in the treatment of such toxicities. The purpose of this study was to investigate the effects of angiotensin II type-1 receptor antagonist (candesartan) in a rat model of daunorubicin-induced renal dysfunction and cardiomyopathy. Rats were treated with a cumulative dose of 9mg/Kg body weight daunorubicin (i.v.). 28 days later, after the development of cardiomyopathy, animals were randomly assigned to candesartan-treated (5mg/Kg/day, p.o.) or vehicle treated groups; age-matched normal rats were used as the control group. Candesartan treatment was continued for 28 days. Daunorubicin showed significant increases in % fibrosis, % apoptosis, renal weight, and myocyte diameter/body weight ratio; candesartan treatment reversed these changes. Our findings suggest that candesartan treatment significantly improved the renal and left ventricular function, and reversed the pathological changes investigated in this model of daunorubicin; suggesting its potentials in limiting daunorubicin renal and cardiotoxicity.

Key words: Anthracycline (Daunorubicin), angiotensin receptor blocker (Candesartan)

緒 言

ドキシソルビシンやダウノルビシン (DNR) 等のアントラサイクリン系抗悪性腫瘍薬は白血病や固形腫瘍に汎用される¹⁾。しかし長期間投与することにより、用量依存的に心臓及び腎臓などの臓器障害を引き起こすことが知られている^{2)~6)}。

一方、心不全及び腎臓障害の薬物治療には様々な薬が用いられており、中でも β 遮断薬やアンジオテンシン変換酵素 (ACE) 阻害薬はこれらの予後を改善することが証明されている。アントラサイクリン系薬物による障害に関してもこれら薬物を投与することにより予後が改善するとの報告がある³⁾。最近では、新たなレニン・アンジオテンシン (RA) 系阻害薬としてアンジオテンシン受容体拮抗薬 (ARB) がその降圧効果だけでなく、臓器保護作用についても注目を浴びている⁷⁾。

そこで、本研究では DNR 心臓・腎臓障害モデルを作成し、ARB のカンデサルタン・シレキセチルが臓器保護作用を持つか否かを検討した。

方 法

動物と薬物投与

8週齢、雄性 Sprague-Dawley ラット (チャールス-リバー・ジャパン) を用いた。

塩酸 DNR (ダウノマイシン[®], 明治製菓株式会社) 3mg/kg を 3回 (総投与量; 9mg/kg) 静脈投与することにより心腎障害モデルを作成した。DNR 最終投与から 28日目の心腎障害ラットに対し、カンデサルタン (プロプレス[®], 武田薬品工業株式会社) 5mg/kg/day (Group C) 及び 0.5% メチルセルロース (Group D) を 28日間経口投与した。また同週齢健常ラットを対照とした。

表1 生存率, 心重量, 心体重比, 血行動態指標値, 心エコー法指標値の変化

	Group N	Group D	Group C
Survival rate (%)	100	50 [†]	80
Heart weight (g)	1.50±0.13	1.24±0.07 [†]	1.14±0.04
Heart weight/Body weight ratio (g/kg)	2.44±0.06	3.73±0.06	3.20±0.11
Left kidney (g)	1.64±0.05	3.12±0.44 [†]	2.70±0.07
Heart rate (beats/mean)	327±12	359±26	348±22
Central venous pressure (mmHg)	0.4±0.3	1.2±0.6	0.6±0.1
Mean blood pressure (mmHg)	99±3	125±8 [†]	115±8
Peak left ventricular pressure (mmHg)	116±2	150±6	120±7*
Left ventricular end-diastolic pressure (mmHg)	3.6±0.5	11.0±2.0 [†]	7.5±1.5
+dP/dt (mmHg/s)	7534±212	7173±200	6992±306
-dP/dt (mmHg)	8074±535	7090±833	7809±625
Area of fibrosis (%)	1.2±0.3	8.3±0.5 [†]	2.5±0.5**
Interventricular septum (mm)	2.3±0.1	2.2±0.1	2.2±0.1
Interventricular septum/Body weight ratio (mm/kg)	4.1±0.3	6.6±0.2 [†]	6.1±0.2
Left ventricle dimension diastol (mm)	7.1±0.3	7.1±0.1	6.8±0.3
Fractional shortening (%)	50.8±2.6	37.7±2.0	41.2±2.1
Doppler E/A ratio	2.5±0.2	0.3±0.1 [†]	2.2±0.3**

Group N, 正常群; group D, ダウノルビシン心筋障害群; group C, カンデサルタン群

[†] p < 0.05 and [†] p < 0.01 vs Group N, * p < 0.05 and ** p < 0.01 vs Group D

(Group N).

心機能及び血行動態の測定

投与終了後に血行動態パラメータの評価として, 外頸静脈から中心静脈圧 (CVP)・大腿動脈から平均血圧 (mBP) を測定した. 頸動脈よりミラー社カテ先マノメーターを左室に挿入して, 左室収縮期圧 (LVP)・左室拡張末期圧 (LVEDP)・心筋収縮力 (± dP/dt) を測定した. 更に心エコーにて心室中隔径 (IVS)・左室拡張末期径 (LVDd)・左室内径短縮率 (FS), ドップラーによる E 波と A 波比率 (E/A) を測定した.

病理組織

心臓の一部を 10%ホルマリン溶液で固定しパラフィン包埋後, ヘマトキシリン・エオジン染色及び Azan-Mallory 染色を行った. 光学顕微鏡にて心筋細胞短軸径を測定し, また線維化病変の占める割合を%で表示した.

また腎臓の一部を心臓と同様 10%ホルマリン溶液で固定しパラフィン包埋後, Azan-Mallory 染色を行い, 光学顕微鏡にて臓器障害を検討した.

統計処理

数値は平均±標準誤差で表し統計学的検討には, Student の t 検定を用い, P 値が 0.05 未満を有意とした.

結 果

心機能指標値

死亡率及び心体重比は Group N と比較し Group D で上昇したが, カンデサルタン投与により減少した (表 1). 心エコーでは Group N と比較し, Group D で心機能が低下したが, Group C で改善した (表 1). またドップラー法では Group N と比較し, Group D で E/A 比が減少したが, カンデサルタン投与により上昇した (表 1, 図 1).

CVP, LVP, LVEDP は Group N と比較し Group D で上昇したが, カンデサルタン投与により減少した (表 1). また-dP/dt については, 有意差はみられなかったが Group N と比較し, Group D で減少し, カンデサルタン投与により上昇する傾向

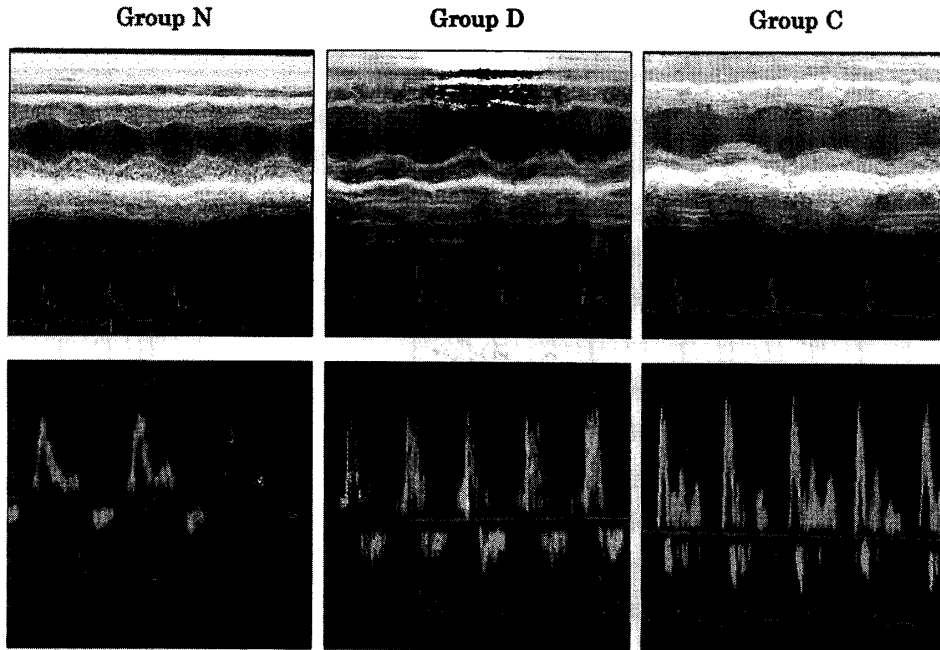


図1 心エコー法(上段)及びドップラー法によるE/A(下段)

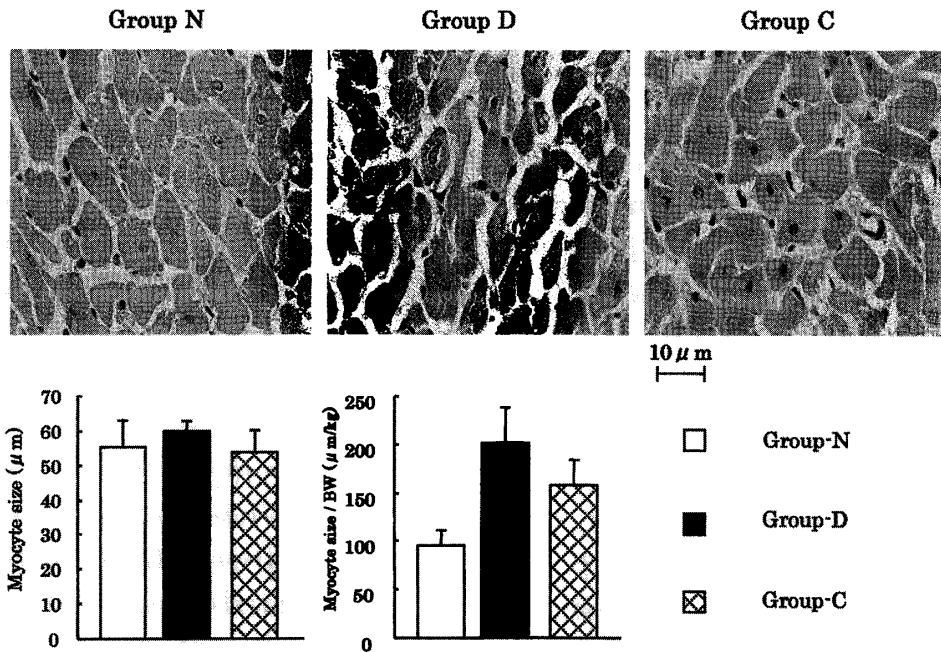


図2 心筋細胞組織図と細胞横径(ヘマトキシリン・エオジン染色, ×400)

があった(表1).

心筋病理

心筋細胞サイズは Group N, Group D, Group C

には変化はみられなかった. しかし体重補正值で表したとき, Group Nと比較し Group Dで増大し, カンデサルタン投与により減少した(図2).

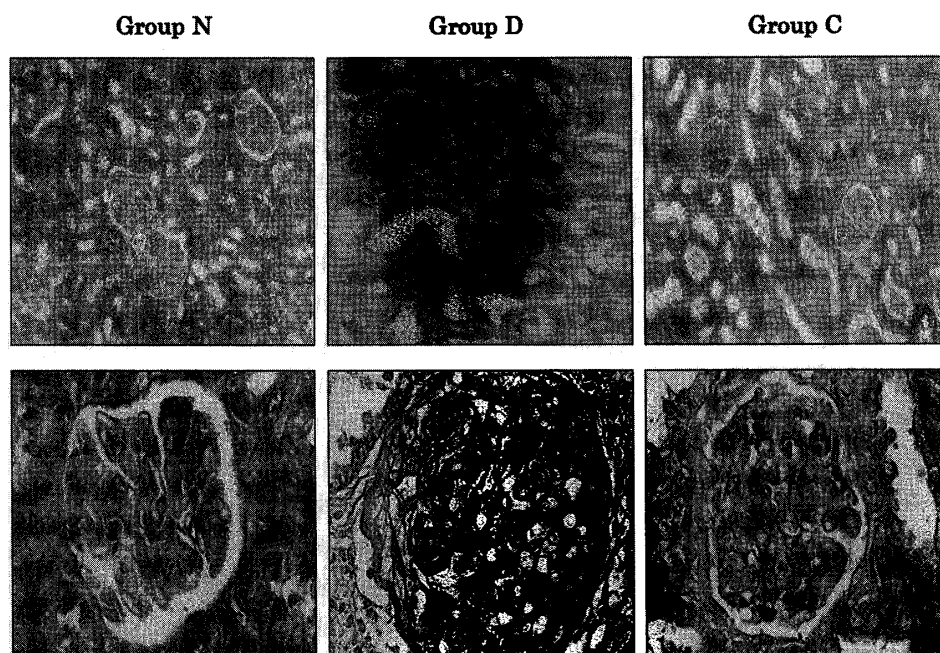


図3 各群における腎臓組織図 (Azan-Mallory 染色. 上段; ×100, 下段; ×400)

また Group N と比較し, Group D では心筋線維化の増大がみられたが, カンデサルタン投与により減少した (表 1).

腎臓病理

Group N と比較し Group D では腎糸球体及び尿細管の破壊と線維化がみられたが, カンデサルタン投与により改善した (図 3).

考 察

本研究では, DNR 心腎障害モデルを用いて, ARB であるカンデサルタンの臓器障害抑制効果について検討した. その結果, カンデサルタン投与によりドップラーによる E/A 等の心行動態が改善した. 特に拡張機能障害の改善が著明であった. また病理組織像では Group N と比較し Group D で線維化が増大したがカンデサルタン投与により減少した. この線維化や臓器障害は心臓よりも腎臓で著しく見られた. カンデサルタンにおける臓器保護について, 多くの研究でごく少量でも効果があると報告されている¹⁴⁾. 今回カンデサルタン投与量の違いによる比較を行わなかつ

たが, 低投与量での効果も推測できる. これは今後の検討課題の 1 つである.

アントラサイクリン系抗悪性腫瘍薬の薬理作用は DNA に直接架橋構造を形成し, 腫瘍細胞の DNA 複製を阻害することである. 臓器毒性のメカニズムとしても DNA 複製阻害が考えられている. その他に①フリーラジカルの形成, ②脂質過酸化, ③ DNA のアルキル化, ④ DNA リガーゼを阻害することにより DNA らせんがほどけなくなる異常や, 2 本鎖 DNA の鎖分離の障害, ⑤細胞への直接障害, ⑥アポトーシス誘導作用^{9) - 11)}, ⑦ Ca^{2+} -ATPase 遺伝子発現低下作用^{12) - 13)} 等が報告されている.

また心臓及び腎臓障害においてアンジオテンシン (AT) II の関与が示唆されている. AT-II は血液及び組織中の ACE により AT-I から産生される. AT-II には昇圧作用のほかに心血管リモデリング, 心・腎・血管での細胞肥大・増殖の作用があり, ACE 阻害薬や ARB は作用部位が異なるがこれら AT-II の反応を抑制することで臓器保護作用を有すると考えられている. 最近の研究でアントラサイクリン系抗悪性腫瘍薬による臓器障害

に関しても ACE の関与が示唆され、その ACE 活性は非投与群と比較し 2-3 倍増加しているとの報告がある³⁾。多くの研究でこの活性は ACE 阻害薬により減弱し、生存率上昇につながる事が証明されている。しかしながら、ACE 阻害薬は AT-II 濃度を減少させるが、同時にブラジキン濃度の上昇を伴うため空咳を起こすという欠点を持っている。またキマーゼ等 ACE 以外の AT-II 産生系も解明され、ACE 阻害薬だけでは AT-II を完全に阻害できないこともわかってきている。ARB は ACE 阻害薬と異なり、ブラジキニンの分解を抑制することなく全ての AT-II を受容体レベルでブロックする作用を持つ³⁾⁸⁾。今回の実験では ARB 投与で改善効果がみられたことから、アントラサイクリン系による臓器障害に関して治療効果また予防効果があるということになる。まだ遺伝子レベルからこれらメカニズムの検討及び ARB 投与による変化については解明されておらず、我々は現在検討中である。

総 括

DNR 心腎障害ラットを用いて、カンデサルタン 5mg/kg の 4 週間投与による心腎障害改善効果を検討した。心・腎重量、左室拡張末期圧、E/A 等の血行動態および病理組織像の結果より、カンデサルタンは DNR 心・腎障害を改善させると推測された。

本論文の要旨は第 239 回新潟循環器談話会で発表した。

参 考 文 献

- 1) Guzy J, Kusnir J, Marekova M, Chavkova Z, Dubayova K, Mojzisoava G, Mirossay L and Mojziso J: Effect of Quercetin on Daunorubicin - Induced Heart Mitochondria Changes in Rat. *Physiol. Res* 52: 773 - 780, 2003.
- 2) Cusack BH, Mushlin PS, Voulelis LD, Li X, Boucek RJ Jr and Olson RD: Daunorubicin - Induced Cardiac Injury in the Rabbit: A Role for Daunorubicinol? *Toxicology and Applied Pharmacology* 118: 177 - 185, 1993.
- 3) Okumura K, Jin D, Takai S and Miyazaki M: Beneficial Effects of Angiotensin - Converting Enzyme Inhibition in Adriamycin - Induced Cardiomyopathy in Hamsters. *Jpn J Pharmacol* 88: 183 - 188, 2002.
- 4) Taal MW, Chertow GM, Rennke HG, Gurnani A, Jiang T, Shahsafaei A, Troy JL, Brenner BM and Mackenzie HS: Mechanisms underlying renoprotection during renin - angiotensin system blockade. *Am J Physiol Renal Physiol* 280: 343 - 355, 2001.
- 5) Matsuo T, Ishikawa E, Ohta M, Shibouta Y, Ishimura Y, Imura Y and Sugiyama Y: Renal protective effect of candesartan cilexetil in spontaneously hypercholesterolemic rats. *Jpn J Pharmacol* 88: 300 - 306, 2002.
- 6) Venkatesan N, Ramesh CV, Jayakumar R and Chandrakasan G: Angiotensin I converting enzyme activity in adriamycin induced nephrosis in rats. *Toxicology* 85: 137 - 148, 1993.
- 7) Watanabe K, Wen J, Narasimman G, Ma M, Inoue M, Saito Y, Wahed MI, Nakazawa M, Hasegawa G, Naito M, Tachikawa H, Tanabe N, Kodama M, Aizawa Y, Yamamoto T, Yamaguchi K and Takahashi T: Comparative Effects of Angiotensin II Receptor Blockade (Candesartan) with Angiotensin - Converting Enzyme Inhibitor (Quinapril) in Rats with Dilated Cardiomyopathy. *J Cardiovasc Pharm* 41: 93 - 97, 2003.
- 8) Ma M, Watanabe K, Wahed MI, Inoue M, Sekiguchi T, Kouda T, Ohta Y, Nakazawa M, Yoshida Y, Yamamoto T, Hanawa H, Kodama M, Fuse K and Aizawa Y: Inhibition of progression of heart failure and expression of TGF - beta 1 mRNA in rats with heart failure by the ACE inhibitor quinapril. *J Cardiovasc Pharmacol* 38: 51 - 54, 2001.
- 9) Koh E, Ueda Y, Nakamura T, Kobayashi A, Katsuta S and Takahashi H: Apoptosis in young rats with adriamycin - induced cardiomyopathy - comparison with pirarubicin, a new anthracycline derivative. *Pediatr Res* 51: 256 - 259, 2002.

- 10) Nakamura T, Ueda Y, Juan Y, Katsuda S, Takahashi H and Koh E: Fas - mediated apoptosis in adriamycin - induced cardiomyopathy in rats: In vivo study. *Circulation* 102: 572 - 578, 2000.
 - 11) Sawyer DB, Fukazawa R, Arstall MA and Kelly RA: Daunorubicin - Induced Apoptosis in Rat Cardiac Myocytes Is Inhibited by Dexrazoxane. *Circ Res* 84: 257 - 265, 1999.
 - 12) Arai M, Yoguchi A, Takizawa T, Yokoyama T, Kanda T, Kurabayashi M and Nagai R: Mechanism of Doxorubicin - Induced Inhibition of Sarcoplasmic Reticulum Ca^{2+} - ATPase Gene Transcription. *Circ Res* 86: 8 - 14, 2000.
 - 13) Burke BE, Olson RD, Cusack BJ, Gambliel HA and Dillmann WH: Anthracycline cardiotoxicity in transgenic mice overexpressing SR Ca^{2+} - ATPase. *Biochem Biophys Res Commun* 303: 504 - 507, 2003.
 - 14) Yoshiyama M, Omura T and Yoshikawa J: Additive improvement of left ventricular remodeling by aldosterone receptor blockade with eplerenone and angiotensin II type 1 receptor antagonist in rats with myocardial infarction. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 124: 83 - 89, 2004.
(平成 17 年 1 月 5 日受付)
-