

Cis-diamminedichloroplatinum (II) 투여에 의한 흰쥐 신세뇨관 병변의 초미세구조 변화

The Acute Nephrotoxicity of Cis-diamminedichloroplatinum in Rats An Ultrastructural Observation

서울대 학교 의과대학 내과학교실* 및 병리학교실**
최동섭* · 김용일** · 민현기*

서 론

1965년 Rosenberg 등에 의해 platinum이 대장균의 증식을 억제한다는 보고 이후 여러 실험적 종양에서 platinum 화합물의 항종양 효과가 증명되었고, 이들 화합물 중에서도 cis-diamminedichloroplatinum(II) (DDP)이 가장 강한 항종양 효과를 가지는 것으로 밝혀졌다(Rosenberg, 1969; Rosenberg, 1970). 그 후 동물에서의 독물학적 연구를 거쳐 임상에 응용되면서(Kociba 등, 1971; Leonard 등, 1971; Schaeppi 등, 1973) DDP는 보통 항암요법으로 효과를 보지 못한 수백 명의 환자에서 단독으로 또는 복합 치료제로서 사용되기 시작하였고(DeConti 등, 1973; Gottlieb 등, 1975; Higby 등, 1973; Higby 등, 1974; Higby 등, 1974; Hill 등, 1975; Kovach 등, 1973; Lippman 등, 1973; Marx, 1976; Piel 등, 1975; Rossof 등, 1972; Speer 등, 1975; Talley 등, 1973; Wiltshaw 등, 1976) 현재는 고환 및 난소종양, 방광암, 두경부암 및 일부 소아 종양 등에 이르기까지 광범위하게 사용되고 있다(Roxeneweig 등, 1971).

한편 이러한 DDP 사용에 따른 부작용으로는 위장관, 신장, 청각 및 혈액학적 독성이 있으며 모두 사용 용량과 관계되고 어느 정도의 촉적효과가 있는 독성으로 알려져 있다(DeConti 등, 1973; Lippman 등, 1973; Piel 등, 1975; Roxeneweig 등, 1971). 이런 부작용 중에서도 신독성이 실제 임상에서 사용하는데 있어 DDP의 유용성 및 사용량을 제한하는 요인이 되고 있으며(Madias 등, 1978), 따라서 이러한 신독성을 예방하기 위한 DDP주사 전후의 수액요법(Piel 등, 1975; Stark 등, 1977), mannitol 투여(Hayes 등, 1976; Hayes 등,

1977), 이뇨제 투여(Ward 등, 1977) 및 penicillamine 투여(Higby 등, 1975)등의 단독 또는 병합요법(Merrin, 1976; Corder 등, 1976)의 효과들이 보고되고 있다. 그러나 이러한 임상적 병합요법 또는 수액요법의 기전에 대해서도 형태학적 소견을 바탕으로 한 실험적 근거를 참조할 수 없으며 이들의 미세구조적 변화를 관찰한 연구는 없다.

이에 저자는 DDP투여에 의한 실험적 신독성의 형태학적 특징을 재점검하고 전자현미경적으로 미세구조의 변화를 관찰함과 아울러 DDP투여 전후 수액공급 및 DDP투여 전 furosemide 투여 그리고 aminoglycoside 항생제인 gentamicin을 병용 투여했을 때 예기되는 신병변의 변화를 밝히기 위해서 본 실험을 시행하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물로는 체중 200~250g 정도의 Fischer계 백서(서울대학교 동물사육실에서 분양) 150마리를 사용하였고 실험전 1주일간 동일한 조건에서 시판 일반사료로 예비사육한 후 실험기간동안 사료와 물은 자유롭게 먹게 하면서 다음과 같은 실험군으로 나누어 실시하였다.

A. DDP 단독 투여군

DDP투여 용량과 신독성과의 관계를 알기 위한 실험
가. 정상 대조군 15마리
나. 실험군

- 1) DDP (2mg/kg) 투여군 10마리
- 2) DDP (4mg/kg) 투여군 10마리
- 3) DDP (5mg/kg) 투여군 10마리
- 4) DDP (7.5mg/kg) 투여군 14마리
- 5) DDP (10mg/kg) 투여군 20마리
- 6) DDP (12mg/kg) 투여군 10마리

* 접수일자 : 1984. 4. 10.

7) DDP (20mg/kg) 투여군 10마리
B. DDP-furosemide 또는 gentamicin 병합 투여군
가. 수분공급(water, 10cc/100g of B.W./D) 및 furosemide(12.5mg/kg) 투여로 DDP에 의한 신독성의 예방 혹은 완화여부를 알기위한 실험.

- 1) 대조군 10마리
- 2) 실험군 10마리

나. Gentamicin (40mg/kg/D)을 DDP(5mg/kg)와 동시에 투여함으로써 DDP에 의한 신독성의 강화여부를 알기위한 실험.

- 1) 대조군 10마리
- 2) 실험군 10마리

C. 전자현미경적 관찰을 위한 실험

- 1) 대조군(정상) 1마리
- 2) 실험군 10마리

2. 실험방법

1) 투여방법 ; 실험전 일주일 동안 예비 사육한 후 약물투여 12시간전부터 물을 제외하고는 급식시키고 난뒤 platinol®(Bristol Lab, 10mg per vial) 1 vial을 10ml 종류수에 녹여서 1cc당 1mg의 농도로 만든후 백서 복부 좌하측 부위에서 복강내로 주사하였다.

2) 도살시간

가. DDP 단독 투여군에서는 DDP주사후 1일, 3일, 5일, 7일 및 9일째 각각 2마리씩 도살하였고 추가 실험을 실시한 군(체중 1kg당 DDP 7.5mg 및 10mg 투여군)에서는 실험후 1일부터 7일째까지 매일 2마리씩 ether로 마취한 후 도살하였다.

나. 병합 투여군

① DDP 신독성을 예방 또는 완화시키기 위한 실험은 DDP 단독투여에서 얻은 성적을 토대로 실험하루 전부터 실험후 3일째까지 끝이 球모양으로된 주사침을 이용하여 쥐의 위내에 주사기를 넣어 하루에 체중 100g 당 10cc의 물을 투여하면서 체중 1kg당 5mg의 DDP를 주사하기 30분전에 furosemide(12.5mg/kg)를 쥐의 背部 피부를 택하여 피하주사하고 주사후 5일째 모두 ether로 마취한 후 도살하였다.

② DDP 신독성을 강화시키기 위한 실험은 DDP(5mg/kg)를 주사하는 날부터 gentamicin을 하루 체중 1kg 당 40mg을 아침 및 저녁 2회 분할하여 실험기간 동안 매일 피하주사하고 실험후 5일째 ether로 마취한 후 모두 도살하였다.

③ 3차 실험에서는 실험군 10마리에 1kg당 DDP 5mg 을 주사한 후 1일부터 5일째까지 하루에 2마리씩 도살하였다.

3) 혈중 농소질소치(BUN), 혈청 Ca 및 Mg 치

도살 직전 주사기로 심천자(heart puncture)하여 2~5cc정도의 혈액을 채취한 후 BUN치는 microcentrifugal analyzer(MCA)를 이용한 urea 방법으로 모든 실험군에서 측정하였고, 대조군 및 DDP를 체중 1kg당 7.5mg 투여한 군에서는 혈청 Ca치는 ion selective electrode (ISE) 방법으로, 혈청 Mg치는 atomic absorption spectrophotometry 방법으로 측정하였다.

4) 광학현미경적 관찰

도살직후 백서 신장조직을 장축을 통해서 전후 반으로 절단한 후 즉시 10% 중성 포르말린에 고정하고 탈수과정을 거친후 파라핀 포매하여 4~5μ의 두께로 세절한 후 hematoxylin eosin 염색, periodic acid-Schiff (PAS) 염색 및 periodic acid-methenamine 염색을 시행하여 신장조직 학적 변화를 관찰하였다.

5) 전자현미경적 관찰

도살 즉시 백서의 신조직 일부를 1mm³의 크기로 세절하여 2.5% glutaraldehyde 용액에 즉시 고정한 다음 인삼염 완충용액에서 OsO₄로 중복 고정하고 무수 알코홀로 탈수한 후 propylene oxide를 침투시킨 다음 epon에 포매하였다. 이 epon block을 1μ 두께로 semi-thin 표본이 되도록 박절하여 toluidine blue로 염색한 후 광학현미경하에서 관찰대상 부위인 신세뇨관의 존재를 확인한 후 LKB microtome (Ultramicrotome LKB-5, Sweden)을 이용하여 500Å의 두께로 초박절 표본을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 염색한 후 Hitachi-H 500 투과형 전자현미경으로 관찰하였다.

실험 결과

1. 실험기간중 동물의 상태와 사망률

DDP주사후 2일째부터 위장관계 부작용으로 실험동물들은 설사를 하였고 동시에 무기력한 상태를 보이면서 사료 및 수분섭취량이 실험전에 비해서 줄어 들었다. 체중 1kg당 2~7.5mg의 DDP를 투여한 실험군에서는 실험기간중 사망한 쥐가 없었으나, 체중 1kg당 10mg 투여군에서는 1차 실험에서는 3일째 1마리, 그리고 3~4일 사이에 3마리가 사망하였고, 추가 실험에서는 3~4일 사이에 3마리, 5~6일 사이에 2마리가 각각 사망하였다. 체중 1kg당 12mg 및 20mg 투여군에서는 실험후 3일째 모두 사망하여 LD₅₀는 10mg에서 12mg 사이로 추정되었다.(표 7)

2. 실험기간중 몸무게의 변동과 신장무게의 변동상태

7.5mg/kg의 DDP를 투여한 후 1일째부터 7일째까지의 신장무게를 도살시 측정하여 도살시 백서의 몸무게에 대한 백분율로 표시하면 표 1과 같다. 신독성이 최

—최동섭 등 : Cis-diamminedichloroplatinum에 의한 신독성—

Table 1. Kidney weight after DDP (7.5mg/kg) injection

Day after injection	Kidney weight (% of body weight) (range)
1	0.82(0.78~0.84)
2	0.91(0.82~1.0)
3	1.39(1.33~1.45)
4	1.36(1.28~1.44)
5	1.59(1.35~1.83)
6	1.50(1.32~1.68)
7	1.06(1.01~1.11)

Table 2. Percentages of body weight loss by administration of DDP

Group	% Weight loss
I : DDP 2mg/kg	3.7
II : DDP 4mg/kg	5.9
III : DDP 5mg/kg	8.2
IV : DDP 7.5mg/kg	10.4

대에 이르는 실험 후 5일째까지 체중이 증가하여 최고

치에 이른 후에 차차 감소되는 경향을 보였고, 실험 기간 중 체중 1kg당 투여한 DDP용량에 따른 몸무게의 감소치(실험전 백서의 총몸무게에서 도살시 측정한 백서의 몸무게의 합을 빼어서)를 실험전 백서의 총몸무게에 대한 백분율로 표시한 바는 표 2와 같다. 즉 투여한 DDP의 양이 많을수록 백서의 체중은 더욱 감소하였다.

3. BUN치의 변동

1) DDP단독 투여군

대조군에서의 BUN의 평균치는 25 ± 1.7 mg%이었으며, 체중 1kg당 2mg의 DDP투여군에서는 실험기간 중 BUN치의 변동이 없었고, 체중 1kg당 DDP 4mg, 5mg, 7.5mg 및 10mg 투여군에서는 평균 BUN치가 실험 5일째 65 mg%, 155 mg%, 195 mg% 및 234 mg%으로 최고치로 증가한 후 차차 감소하였으며 각 투여군에서 실험날짜와 BUN치의 변화는 표 3과 같다.

그림 1은 이들을 도표로 표시한 것이다.

2) 병합 투여군

DDP와 furosemide 또는 gentamicin 병합투여군에서는 실험 후 5일째 측정한 평균 BUN치가 furosemide만 투여한 대조군에서 26.5 ± 3.0 mg%, gentamicin만 투여한 대조군에서는 23.8 ± 0.8 mg%이었고, 수분공급과

Table 3. BUN levels by DDP administration

Day	I. DDP (2mg/kg)	II. DDP (4mg/kg)	III. DDP (5mg/kg)	IV. DDP (7.5mg/kg)	V. DDP (10mg/kg)
1	25.0(23~27)	26(24~28)	24(23~25)	26(22~30)	
2			30(28~32)	26(25~27)	28(25~31)
3	26.5(25~28)	34(30~38)	45(42~48)	39(33~48)	38(34~42)
4			102(95~109)	94.8(90.6~99)	141(130~152)
5	23.0(22~24)	65(58~72)	155(145~165)	195(182~208)	234(215~253)
6				94(86~102)	
7	23.5(23~24)	38(30~46)			43(32~55)
8					
9	27.0(24~30)	34(31~37)			

() : range

Table 4. BUN levels by administration of DDP and furosemide or gentamicin

Group	I. DDP (5mg/kg)	II. Furosemide (12.5mg/kg)	III. Furosemide +Hydration* +DDP(5mg/kg)	IV. Gentamicin (40mg/kg/D)	V. Gentamicin (40mg/kg/D) +DDP(5mg/kg)
Mean BUN±S.D.	155 ± 14.1	26 ± 3.0	25 ± 3.4	23.8 ± 0.8	195.6 ± 27.8

* Hydration (Water, 10cc/100g of B.W./D)

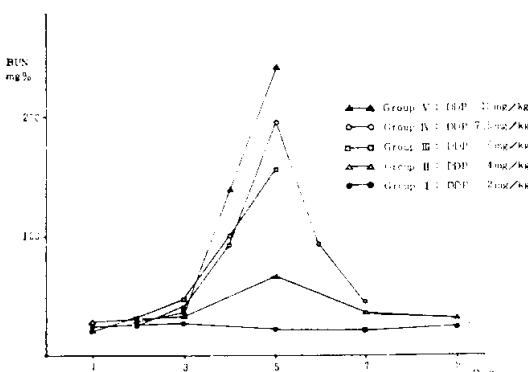


Fig. 1. Daily changes of BUN levels by administration of DDP

동시에 DDP 투여전 30분전에 furosemide를 투여한 실험군에서도 25 ± 2.4 mg%로 정상 대조군 (25 ± 1.7 mg%)과 차이가 없었으며, 그리고 DDP 투여와 동시에 실험기간 동안 gentamicin을 주사한 실험군에서는 실험후 5일째 평균 BUN치가 195.6 ± 27.8 mg%로 DDP만 투여한 군 (155 ± 14.1 mg%)보다 BUN치가 증가되면서 ($p < 0.05$) 신장애가 더 심하게 나타남을 시사하고 있었다. 이들은 표 4에서 표시한 바와 같다.

4. 혈청 칼슘치의 변동

대조군에서의 혈청 총 칼슘치는 11 ± 0 mg%였고, 체중 1kg당 7.5mg의 DDP를 투여한 후 5일째 측정한 평균 칼슘치는 8.4 ± 0.7 mg%로서 감소되는 경향을 나타내었다. ($p < 0.05$)

5. 혈청 마그네슘치의 변동

대조군에서의 혈청 마그네슘치는 평균 1.89 ± 0.33 mEq/L이었고, 체중 1kg당 DDP 7.5mg를 투여한 후 5일째 측정한 혈청 마그네슘치는 평균이 2.17 ± 0.29 mEq/L로서 대조군보다 감소되지 않았다.

6. 광학현미경적 소견

DDP 투여에 의하여 야기되는 신병변은 주로 곡세뇨관계 (convoluted tubular system)에서 관찰되었으며 사구체 및 혈관계에서는 뚜렷한 변화를 보이지 않았고 투약된 DDP 양에 따른 신조직의 중요 병리조직학적 소견을 요약하면 제 5 표와 같다.

2mg/kg의 DDP를 투여한 실험군에서는 深部 腎皮質 (deep cortex)의 근위 곡세뇨관에 국한된 경미한 수성변성이 관찰되었고 brush border의 부분적 소실과 세뇨관의 확장이 산재성으로 나타났을 뿐이었으나, 4mg/kg 이상의 투여군에서는 가장 초기의 변화로 심부 신피질의 근위곡세뇨관의 수성변성(제 2, 3도)과 아울러 brush border의 소실이 더욱 뚜렷하였으며(제 4도) 내강의 확

장 및 배열세포의 평평화가 관찰되었다. 4mg/kg 및 5mg/kg 투여군에서는 실험후 5일째, 7.5mg 이상의 투여군에서는 실험 3일째부터 신세뇨관 괴사(subcapsular necrosis)의 소견을 7.5mg 이상 투여군에서 볼 수 있었다. 그리고 체중 1kg당 12mg 및 20mg 투여군에서는 신수질 바깥부위(outer zone of medulla)의 신세뇨관의 수성변성, 확장 및 배열세포의 평평화와 더불어 신세뇨관 괴사의 초기 변화를 관찰할 수 있었다. 그리고 신세뇨관의 异型再生을 나타내는 거대핵(megalonuclei), 불규칙적인 핵질의 분포 등의 소견(제 7도)이 4~10mg 투여군에서는 5~9일 사이에, 12mg 및 20mg 투여군에서는 실험후 3일째부터 관찰되었다. 신세뇨관의 기저막은 잘 유지되어 있었고 집합세뇨관 내강에는 단백원주가 차 있었고, 간질은 피수진 경계부위의 혈관율혈이 있으면서 경마한 세포침윤을 동반하였고, 일부 조직에서는 신세뇨관 세포질내 및 내강내에 칼슘의 침착을 볼 수 있었다.

요약해서 DDP 단독투여군중 이러한 병리조직학적 변화가 가장 심한 경우를 살펴보면 H-E 염색표본을 육안적으로 보더라도 괴질-수질경계부의 황백성(pale)을 쉽게 확인할 수 있었으며(제 2도) DDP 4mg~10mg 투여군에서는 주사후 5일째, 12mg 및 20mg의 DDP 투여군에서는 투여후 3일째 관찰되었으며 이를 조직학적 소견을 요약하면 표 5와 같다. 반면 병합 투여군에서 수액공급 및 furosemide만 투여한 대조군 및 gentamicin만 실험기간 동안 매일 투여한 대조군에서는 특이한 변화가 관찰되지 않았고, DDP 투여와 동시에 수분공급 및 furosemide를 투여한 실험군에서는 신피질 심부의 근위 세뇨관의 수성변성만 관찰되어 DDP만 투여한 군과 비교해서 신병변이 경미하였다. DDP 투여와 더불어 실험기간 동안 매일 gentamicin을 투여한 실험군에서의 병리조직학적소견은 표 6에서 표시한 바와 같이 DDP만 단독으로 투여한 군보다 훨씬 심하였다.

7. 전자현미경적 관찰

1) Brush border

광학현미경적으로 나타난 근위곡세뇨관의 미세옹모(microvilli)의 소실은 전자현미경적으로는 제 2 일째부터 나타나기 시작하여 3일군에서 뚜렷해지기 시작하고 제 5 일군에서 가장 심하였다. 치밀하고 정연하게 배열된 brush border가 점차 부분적으로 소실되기 시작하여(제 8도) 종국에는 완전히 탈락되었다(제 11도).

2) 사립체(mitochondria)

사립체는 그 크기와 모양의 변화를 주로 하였는데 초기에는 경미한 불규칙성을 동반하였으나 cristae의

—최동섭 등 : Cis-diamminedichloroplatinum에 의한 신독성—

소실이나 과립의 출현은 없었다. 시간의 경과에 따라
숫자 감소와 더불어 변형되기 시작하고(제 9 도) cristae
는 완전히 소실되었으며 다수의 과립이 나타나기 시작
하였고 사립체학의 파열등의 소견은 제 5 일에서 가장
현저하였다(제 9, 11 도).

3) 흡수공포(endocytotic vacuole)

극히 초기에서도 흡수공포는 자주 관찰되었으나 시
간의 경과에 따라 비슷한 변화를 보였을 뿐이며 오히려
여 다소 감소되었다(제 9 도).

4) 흡수단백과립(protein droplet)

흡수단백과립 역시 시간의 경과에 따라 숫자으로 감
소하였으며 그 크기와 위치는 다양하였다.

5) 용해소체(lysosome or phagosome)

여러가지 크기의 자가용해소체(autophagosome) 및
heterophagosome의 증가가 초기부터 나타나기 시작하
여 제 5 일 군에서는 telephagosome까지 출현하였고 그

크기는 매우 불규칙하였다(제 11 도).

6) 내형질망(endoplasmic reticulum)

활면 내형질망(smooth endoplasmic reticulum)은 점
차 확장되고 공포화되어 갔으며 제 3 일 이후부터 더욱
뚜렷하였다(제 9 도). 한편 조면 내형질망(rough endo-
plasmic reticulum)은 경미한 확장과 더불어 리보솜
(ribosome)의 탈락을 동반하였고 polysome의 증가가
제 3, 4 일 군에서 뚜렷하였다(제 9, 10 도).

7) 괴사(necrobiosis)

단일 배열세포의 괴사는 세포핵의 소실과 세포질의
농축으로 그 크기가 줄어들었고 세포질내 미세구조의
소실과 세포질막 및 brush border의 완전 소실을 동반
하였으며 제 3 일부터 간혹 나타나다가 제 5 일에 가장
현저하였다(제 11 도).

8) 기타 소견

세포질내 지방소적은 제 3 일부터 나타나기 시작하여

Table 5. Comparison of maximal pathologic changes by administration of DDP

Findings	I. DDP (2mg/kg)	II. DDP (4mg/kg)	III. DDP (5mg/kg)	IV. DDP (7.5mg/kg)	V. DDP (10mg/kg)	VI. DDP (12mg/kg)	VII. DDP (20mg/kg)
Proximal tubule of deep cortical nephron							
Hydropic change	+	+	#	#	#	#	#
Loss of brush border	±	+	#	#	#	#	#
Dilatation & flattening	±	+	#	+	+	+	#
Necrosis	-	+	#	#	#	#	#
Casts	-	+	#	+	+	+	+
Impaired regeneration	-	+	#	+	+	+	+
Outer medullary tubule							
Hydropic change	±	+	±	+	+	+	#
Dilatation & flattening	+	+	+	+	+	+	#
Necrosis	-	-	-	-	-	+	+
Casts	-	-	+	+	+	+	+
Impaired regeneration	-	-	-	-	±	+	+
Collecting tubules cast							
Interstitial							
Edema	-	-	±	-	-	-	-
Congestion	-	-	*#	*#	*+	*+	*#
Cell infiltration	±	*+	*+	*+	-	±	-
Calcium deposit	-	+	+	-	+	-	-

* Group I : pathologic changes of the 9th experimental day
II ~ III : pathologic changes of the 5th experimental day
IV ~ VII : pathologic changes of the 3rd experimental day

-: 음성 +: 경도 #: 중등도 #: 고도
* Cortico-medullary junction

Table 6. Comparison of pathologic changes by administration of DDP and furosemide or gentamicin

Findings	I. DDP (5mg/kg)	II. Furosemide (12.5mg/kg)	III. Furosemide + Hydration** + DDP	IV. Gentamicin (40mg/kg/D)	V. Gentamicin + DDP
Proximal tubule of deep cortical nephron					
Hydropic change	#	—	+	±	#
Loss of brush border	#	—	±	—	#
Dilatation & flattening	#	—	±	±	#
Necrosis	#	—	—	—	#
Casts	#	—	—	—	#
Impaired regeneration	#	—	—	—	+
Outer medullary tubule					
Hydropic change	±	—	±	—	#
Dilatation & flattening	+	±	±	±	+
Necrosis	—	—	—	—	—
Casts	+	—	+	—	#
Impaired regeneration	—	—	—	—	—
Collecting tubules cast					
	#	—	—	—	#
Interstitium					
Edema	±	—	—	—	—
Congestion	*#	—	—	—	*#
Cell infiltration	*+	—	—	—	*+
Calcium deposit	+	—	—	—	—

* Cortico-medullary junction

** Hydration (Water, 10cc/100g of B.W./D)

Table 7. Clinical and laboratory data by administration of DDP

Group DDP mg/kg	I. 2mg	II. 4mg	III. 5mg	IV. 7.5mg	V. 10mg	VI. 12mg	VII. 20mg
No. of Rat	10	10	10	14	20	10	10
Clinical signs							
Day died	—	—	—	—	3~5	3	3
Condition	good	good	poor	poor	died	died	died
Diarrhea	+	+	+	+	+	+	+
Wt. loss %	3.7	5.9	8.2	10.4			
Lab. data							
Maximal BUN(mg%)	27	65	155	195	234		
Ca (mg%)				8.4±0.7			
Mg (mEq/L)				2.17±0.29			
Pathology							
Tubular necrosis	—	+	+	+	+	+	+
Subcapsular necrosis	--	—	—	+	+	+	+

Table 8. Ultrastructural changes of proximal tubules by DDP(5mg/kg) administration

Findings	Days after injection	2	3	4	5
Loss of microvilli		±	+	++	##
Mitochondrial irregularity		±	+	++	##
Endocytotic vacuole		##	##	+	+
Protein granule		##	##	+	+
Phagosomal increase		##	+	++	##
Dilatation of ER*		±	+	++	##
Necrobiosis		—	±	+	##
Fat droplet		—	±	+	##
Widening of basal infolding		—	—	+	+
Loss of tight junction		—	—	—	+

* ER: endoplasmic reticulum

제 4 일 이후부터 뚜렷하여졌고, 기저부 infolding은 제 4 일부터 넓어지기 시작하였다. 당원과립(glycogen particle)의 소실은 세포에 따라 서로 상이하였으나 제 2 일부터 나타났으며, 세포간 접촉부의 접착장치(tight junction)는 제 5 일에 일부세포에서 벌어지기 시작하였다.

고 안

본 실험을 통하여 관찰된 신의 기본형태학적 변화는 광학현미경적 측면에서 요약하면 심부신피질의 근위곡세뇨관을 중심으로 한 배열상피세포의 선택적인 수성변성(hydropic degeneration)과 brush border의 소실 등 세포질의 퇴행성 변화이었다. 투여된 DDP의 양과 투여후의 경과시간의 증가에 따라서 이를 변화가 더욱 강조되면서 침범영역이 넓어지고 또 그 정도는 비가역성 변화 즉 근위곡세뇨관의 응고성 괴사로 진행하였다. 이를 형태학적 변화는 초기의 수성변성이나 brush border의 부분적 소실 이외에 근위곡세뇨관의 확장과 배열세포의 평평화를 보였고, 동시에 외측 수질부 세뇨관들에서도 유사소견이 관찰되었다. 투여량의 증가에 따라 근위곡세뇨관세포의 괴사는 더욱 현저해지고 광범위해지며 내강은 단백질성 원주로 차 있거나 소실되고, 괴질부외에서도 다수의 단백질성 원주가 다수 관찰되고 있었다. 또한 상피세포성괴사가 출현함과 아울러 일부세포의 재생 내지 이형세포현상(dysplastic change)이 동시에 보이고 있었다.

한편 위의 광학현미경적 소견을 바탕으로 개개 변화

의 주된 기본적 또는 선행변화의 추이등을 조사하기 위하여 DDP 5mg/kg를 투여한 후 2~5일간에 걸쳐 나타나는 미세구조의 경시적 변화를 전자현미경적으로 관찰하였다. 미세옹모의 부분적 소실 및 변형은 투여제 2일째부터 나타나기 시작하였으나 이때 벌써 사립체의 불규칙성과 편괴와 아울러 이에 수반하여 흡수공포의 출현, 단백질성 과립의 증가, 탐식성 용해소체의 증가와 내형질망의 확장이 나타나고 있음으로서 사립체의 손상이 그 기본변화임을 암시하고 있다. 이들 변화역시 시간의 경과에 따라 강화되기 시작하여 세뇨관세포의 necrobiosis와 지방소적의 증가가 제 8 일째부터 추가되기 시작하고 제4~5일째 부터는 기저부 주름(basal infolding)의 확장과 tight junction의 소실을 보이고 있었다.

이상 광학 및 전자 현미경적 소견을 발생기전과 관련하여 검토 요약해보면, DDP투여에 의하여 야기되는 신세뇨관 손상의 초기기본변화는 사립체의 불규칙성과 과열등의 세포에너지원의 변화를 주로하며 흡수표면구조의 변조에 의한 미세옹모의 소실을 동반하면서 내형질망의 확장과 흡수공포의 증가가 수성변성으로 나타나고, 손상의 정도가 심해지면서 용해소체의 증가, 지방소적의 출현, 그리고 괴사성 병변으로 이행하고 있다. 특히 근위곡세뇨관 배열세포의 응모 소실은 DDP 손상의 민감한 지표로 이해할 수 있겠으나 세포호흡계의 손상에 후속되는 이차성 변화로 해석된다.

Cis-diamminedichloroplatinum (II) (DDP)는 화학구조상 중심에 위치한 platinum 주위에 염소와 암모니아 원소가 수평면에서 cis- 위치에 배열되어 있는 무기화합물로서, 1965년 Rosenberg등에 의해 platinum 화합물이 대장균의 증식을 억제한다는 보고를 계기로 이후 각종 실험적 종양에 있어서의 항종양 효과가 밝혀졌으며, DDP는 실험을 거친 34개의 platinum 화합물 중에서 가장 항종양 효과가 큰 것으로 알려져 있다 (Leonard등, 1971). 현재는 다른 화학요법이나 방사선치료등에 잘 듣지 않는 진행성 종양에서 효과를 나타내며 특히 난소 및 고환암, 두경부암, 방광암 및 일부의 육종 및 임파종에 이르기까지 광범위하게 (Roxencweig 등, 1971; Holland등, 1982) 사용되고 있다. 특히 난소암의 치료에는 가장 효과있는 약물중의 하나로 인정되고 있으며 다른 치료를 받았던 난소암 환자에서도 DDP의 단독 투여로 28~63%의 효과를 볼 수 있다고 한다 (Wiltshaw등, 1979; Young등, 1979). DDP는 cell cycle phase independent한 항암제로서 항암 및 신독성을 나타내는 기전은 DDP의 분자구조와 관계되어 이런 효과는 단지 cis-platinum 복합체만이 가지고 있

는 특성이며 *trans-platinum*에서는 이런 특성이 없는 것으로 알려져 있다(Leonard 등 1971). 항암성 작용기 전에 대하여 대부분의 연구가들은 DDP가 DNA 합성을 억제하여 세포분열을 막음으로써 항종양 효과를 나타낸다고 생각하고 있으나(Howle 등, 1970), Rosenberg은 종양세포에 직접 작용하지 않고 종양세포의 항원성을 증가시켜서 면역계통에 의해 암이 파괴되기 쉽게 함으로써 항암제로서 작용한다는 가설을 주장하고 있다(Rosenberg, 1975).

DDP를 동물에 투여한 후 그 조직분포를 보면 mice에서는 투여한 후 1시간 이내에 간, 신 및 위장관에서 높은 농도로 발견되고(Schaeppe 등, 1973) 개에서는 신에서 가장 높은 농도로 그 다음이 간, 비 및 폐의 순으로 발견된다고 한다(Speer 등, 1975). 인체에서도 DDP 투여후 신, 간 및 장관에서 높은 농도로 발견되고 종추신경계로는 잘 들어가지 않는다고 한다. 주사후 6시간 이내에 20%는 원형대로 소변으로 배설되고 나머지의 대부분(90%)은 혈청 단백질과 결합된 형태로 천천히 배설되어 첫 5일에 투여된 양의 27~57%가 배설되지만 투여후 4개월까지도 조직에서 검출된다고 한다(DeConti 등, 1973; Piel 등, 1974). 환인하면 신이 platinum을 농축시키는 주요 장기이며 동시에 배설되는 중요한 통로가 된다. 따라서 신의 조직세포들이 높은 농도의 DDP와 접촉해서 신독성이 일어날 수 있는 가능성을 생각할 수 있으나 신장내의 DDP 함량과 신독성과의 관계는 확실치 않다고 한다(Rossof 등 1972). 수은, 우라늄, 비소 및 금 등의 중금속들이 사람에게 신독성을 유발하는 것과 같이(Brenner 등, 1981) 원소주기율표에서 수은과 가까운 platinum 역시 배설되는 신장에서 신독성을 일으키며 이것이 DDP의 임상응용 및 사용량을 제한하는 주요인이 되고 있다.

실험적인 신독성에 관한 연구는 1971년 Kociba 등에 의해 처음 보고되었고 그 후 Leonard 등이 DDP에 의한 신독성은 그 투여량과 관계가 있음을 보고한 이래(Leonard 등 1971) 다른 연구에서도 이 사실이 확인되었다(Schaeppe 등, 1973; Ward 등, 1976). Kociba 등은 백서에 체중 1kg당 12.2mg의 DDP를 투여한 후 4일째에 BUN치가 4배로 증가하고 20일째에는 정상으로 돌아오며 병리학적 소견으로는 신세뇨관 괴사가 관찰되며 LD₅₀은 체중 1kg당 12mg이라고 보고하였고(Kociba 등, 1971), Leonard 등은 백서에서 체중 1kg당 하루에 0.5mg 혹은 1mg의 DDP를 복강내로 주사한 경우에는 신기능 및 신조직의 형태학적 소견에 아무런 변화가 없으나, 체중 1kg당 하루에 2~4mg의 DDP를 복강내로 투여했을 때는 투여후 5일째에 BUN치가 4~5배로

증가하면서 근위 신세뇨관의 변성 및 괴사를 나타내며, 체중 1kg당 5mg, 10mg 및 20mg의 DDP를 한번 복강내로 투여한 경우에는 실험후 7~10일 사이에 BUN치가 82mg%, 167mg% 및 167mg%로 각각 증가하면서 마찬가지로 근위 세뇨관의 괴사소견을 보인다고 하였다. 이들은 소수의 동물을 대상으로 전자현미경적 변화를 관찰한 바 체중 1kg당 10mg의 DDP를 투여한 후 46시간에 근위 신세뇨관 세포의 사립체의 공포화가 관찰되고 72시간에서는 brush border의 소실이 온 후 근위 세뇨관이 완전히 괴사에 빠지는 것을 관찰할 수 있었다고 한다(Leonard 등, 1971). 그러나 Ward 등(1977)의 보고에서는 백서에 체중 1kg당 7.5mg의 DDP를 복강내로 투여한 경우에 실험후 5일째에 BUN치와 신장무게가 최고치에 도달한 후 15일째 정상으로 되돌아가며 LD₅₀은 체중 1kg당 7.7mg으로 보고하였고 DDP를 체중 1kg당 3.8~4.8mg을 3~7주간 매주 1회 투여한 경우에는 육안적 소견에서 신장의 광범위한 낭포성 확장 및 수질 바깥부위에 있는 신세뇨관의 평평화 및 괴진내에 있는 신세뇨관의 위축을 볼 수 있다고 하였다.

개와 원숭이 실험에서도 신이 DDP가 독성을 나타내는 주 장기이며 개에서는 급성 세뇨관 괴사를 관찰할 수 있으나, 원숭이에서는 신증(nephrosis) 혹은 간질성 신염의 소견을 보인다는 보고가 있으며, 인체에서도 체표면적 1m²당 50mg 이내의 *cis-platinum*을 사용한 예에서는 BUN치의 변화가 없으나 50mg이상의 양에서 BUN치가 증가되면서 신생검 소견에서는 신세뇨관 세포의 변성 및 간질의 부종과 더불어 급성 세뇨관 괴사의 소견을 보이며 전자현미경적으로 세뇨관 배열세포내 사립체의 변성 및 공포화와 세뇨관 brush border의 microvilli의 소실이 보고되어 있으며 사구체 자체에는 특이한 변화가 보이지 않는다고 한다(Rossof 등, 1972). 따라서 사람에서는 DDP의 1회 정맥주사 용량은 체표면적 1m²당 100~200mg으로 제한하여 사용하고 있다(Himmelstein 등, 1981). 또한 Gonzalez-Vitale 등(1977)은 12명의 고령 종양 및 악성 임파종 환자에서 DDP(0.5~2mg/kg/D)를 1~6일간 투여한 후의 신장의 중요한 병리학적 변화로서 원위 곡세뇨관 및 접합세관의 급성 괴사를 보고하고 있는 점으로 미루어 동물에서는 주로 근위 세뇨관 괴사가 주 병변이나, 인체에서는 원위 세뇨관이 주로 침범되는 것 같다(Brenner 등, 1981). 이런 신독성의 임상 증상은 DDP 투여후 수일내에 나타나며 초기에는 원주형성, 단백뇨, 신세뇨관 세포 및 효소들의 배설이 증가한 후 8~12일쯤에는 질소혈증이 최고치에 도달한 후 보통 3~4주일이내

—최동섭 등 : Cis-diamminedichloroplatinum에 의한 신독성—

에 회복이 되나 3~4개월간 회복이 지연되거나 많은 양의 DDP를 사용하거나 짧은 투여 간격으로 반복해서 사용한 경우에는 전혀 회복이 되지 않는 경우도 있다고 한다(Higby 등, 1973; Madias 등, 1978). Kovach 등(1973)은 체표면적 1m²당 50mg의 DDP를 1회 투여 한 환자의 25%에서 투여 후 1~2주일 사이에 가역적인 질소혈증이 나타남을 보고하였고, Hardaker 등(1974)은 전이된 담낭암을 가진 51세의 환자에서 DDP(0.25 mg/kg/D)를 5일간 주사한 후에 BUN치와 혈청 creatinine치가 각각 61mg% 및 5mg%로 증가하면서 2개월이 지난 후에도 신기능이 회복되지 않는 예도 보고하고 있다.

Platinum에 의한 급성 신부전의 병태생리학적 기전에 관한 연구는 극히 제한되어 있으나 염화수은 및 dichromate와 같은 중금속에 의한 급성 신부전에서와 같이 renin-angiotensin 계통을 통한 renin 활성치의 증가로 인한 사구체 여과율의 감소 및 신피질과 수질 바깥부위의 신혈류량의 감소가 원인으로 시사되고 있으며(Madias 등, 1978) 이런 관점에서 생리식염수 투여로 혈장 및 신장의 레닌 활성치의 감소와 더불어 신독성을 예방할 수 있다는 보고들은 의미가 있는 것으로 생각된다(Piel 등, 1975; Roxencweig 등, 1971; Hayes 등, 1976; Merrin, 1976; Corder 등, 1976). 한편 Taylor 등은 백서에서 DDP를 투여한 24시간후에 신장의 DNA 합성이 대조치의 20분의 1로 감소되고 3~7일후에는 오히려 DNA 합성이 대조치보다 16배로 증가됨을 보고하고 이는 대상성으로 DNA 합성이 증가되는 다른 원인의 급성 신부전과 유사하다고 보고하고 있다(Taylor 등, 1976).

이러한 DDP의 신독성을 예방하기 위한 여러 시도들이 보고되고 있는데 다른 원인에 의한 급성 신부전에서와 같이 mannitol(Hayes 등, 1976; Hayes 등, 1977) 또는 furosemide(Ward 등, 1977) 등의 이뇨제 투여의 효과와 생리식염수의 경맥주사(Piel 등, 1975; Stark 등, 1977) 및 mannitol 또는 이뇨제와의 병합방법(Merrin, 1976; Corder 등, 1976) 등이 여러 사람들에 의해 검토되어 왔다.

DDP에 의한 신독성을 예방하기 위하여 저자들은 실험 하루전부터 실험 후 3일동안 하루에 체중 100g당 10cc의 물을 백서에 투여하면서(Waynforth, 1980) DDP를 체중 1kg당 5mg를 투여하기 30분전에 furosemide(12.5mg/kg)를 피하주사하고 실험 5일째 백서를 도살하였던 바, 평균 BUN치는 25±3.4mg로 변화가 없었고 병리조직학적으로도 신피질 심부의 신세뇨관의 수성변성 의의 소견은 관찰되지 않았다. 따라서 DDP

투여 전후의 수액공급과 더불어 furosemide 투여는 DDP에 의한 신독성을 예방할 수가 있다는 근거를 형태학적으로 확인하였다. 이러한 예방적기전은 furosemide의 이뇨작용에 기인한다기 보다는 furosemide에의 한 platinum의 혈장에서의 제거 내지는 소변으로의 배설에 영향을 주거나 또는 신세뇨관 세포에 직접 영향을 주는데 기인한다는 주장도 있다(Ward 등, 1977).

인체에서는 전이병소가 전신적으로 퍼진 채 발된 고환암 환자 9명에서 6~8시간 동안의 생리식염수 주사와 함께 mannitol(37.5g)과 furosemide(40mg)를 체중 1kg당 1g의 cis-platinum과 동시에 투여함으로써 오심과 구토의 가벼운 부작용만이 나타나면서 신장이나 청각의 장애없이 완전관해를 얻을 수 있었음을 보고하고 있고(Merrin, 1976), Hayes 등은 다른 치료를 받았던 61명의 환자에게 체중 1kg당 3mg 정도로 많은 양의 DDP를 mannitol과 동시에 투여하여 이뇨를 항진시킴으로써 일시적인 혈청 creatinine치의 상승만 나타나는 가벼운 신독성을 일으킨채 DDP로 계속해서 치료하여 좋은 효과를 얻었다고 하며(Hayes 등, 1977), 또한 여러 종양(고환, 난소 및 두경부암등) 환자 47명에게 DDP 투여전에 1~2L의 수액을 주사한 후 시간당 10g의 mannitol을 체중 1kg당 2~5mg의 DDP와 함께 투여함으로써 총 75차례의 치료후에도 신독성없이 항암효과를 얻었다는 보고도 있다(Hayes 등, 1976). 또 동물과 사람에서 DDP투여하기 6시간전에 중금속 치료제인 penicillamine을 투여함으로써 penicillamine이 DDP와 chelate하거나 신세뇨관 세포에 DDP와 경쟁적으로 결합함으로써 신독성을 줄일 수 있다는 보고도 있으며(Higby, 1975), 백서에서 방사선이나 암킬화제인 protectant WB-2721을 사용하여 신독성을 현저하게 감소시켰다는 보고가 있다(Yuhas 등, 1980). 최근에는 mice에서 sodium thiosulfate가 DDP에 대한 신독성을 줄일 수 있다는 보고후에(Howell 등, 1980) 사람에서 복강내 종양 특히 난소암 환자의 치료에 중화제인 thiosulfate의 전신적인 투여로 복강내 DDP 농도를 높이면서 동시에 신독성도 줄일 수 있음이 보고되었다(Howell 등 1982).

특히 Stark 등은 전이성암 환자 15명에서 시행한 연역적 연구에서 생리식염수 1L를 1시간동안 주사한 후 DDP(20mg/m²/D)를 5일간 투여하고 매 3주마다 총 49차례의 치료를 시행하고서 신기능을 조사한바, 가장 초기의 신기능장애는 가역적인 사구체 여과율의 감소이며 근위 신세뇨관 기능의 이상은 관찰되지 않았고, 이런 신장애는 축적효과가 없으며 수액 주사로써 막을수 있을 것으로 보고하고 축적되는 독성은 큰 문제가 되지

않을 것으로 생각하고 있다(Stark 등, 1978; Chiutien 등, 1983). 그리고 Gormlev는 DDP($70\text{mg}/\text{m}^2$)를 투여하기 전후에 12시간동안 정맥으로 수액 주사를 하면서 DDP 투여하기 1시간전에 furosemide와 mannitol을 투여하고 cis-platinum의 신청소율을 측정한 바 투여하는 동안 및 투여직후에는 신청소율이 $30\sim70\text{ml}/\text{min}$ 로 높으나 투여 후 4시간후에는 $3\pm2\text{ml}/\text{min}$ 로 떨어짐을 보고하면서 투여후 몇 시간후에는 혈청 단백질과 결합하여 신에 의해 DDP가 더 이상 여과되지 않는다고 추정하고 cis-platinum의 腎負荷는 투여중 및 직후에만 높으므로 이 기간이 지난후에는 급성 신부전의 위험은 적은 것으로 보고하고 있으나(Gormlev, 1978), 신기능의 변화에 대한 보고가 찾아보기 힘들고 실제로 신조직내의 platinum 농도와 신독성과의 관계는 아직까지 알려져 있지 않다.

그리고 실제 임상에서 같은 신독성이 있는 methotrexate나 aminoglycoside를 DDP와 함께 투여했을 때 신독성이 증가될 가능성은 생각할 수 있는데(Kociba 등, 1971; Houghton 등, 1976; Benett, 1981) 본 실험에서도 DDP와 함께 gentamicin을 체중 1kg당 40mg을 2회 분할하여 매일 피하주사한 후 신독성의 증가 여부를 관찰한 바 실험 후 5일째 평균 BUN치가 $195.6\pm27.8\text{mg}/\text{dl}$ 로서 DDP단독 투여군($155\pm14.1\text{mg}/\text{dl}$)보다 증가하면서($P<0.05$) 병리조직학적 소견에서도 표 6에서 표시한 바와 같이 더 심한 변화를 관찰할 수가 있었다. 따라서 임상에서 platinum 사용시 같은 신독성이 있는 항암제나 항생제 등 기타 약물을 같이 사용할 때는 신독성에 대한 보다 세밀한 관찰이 필요한 것으로 사료된다.

이러한 신독성이 임상에서 DDP의 투여방법(단위용량, 총사용량, 투여속도, 투여일정 및 간격등)을 결정하는 주요한 요인이 되어(Hayes 등, 1977)이에 대한 광범위한 연구가 진행되어 왔으며, 한편으로는 신독성은 없으면서 항종양 효과가 큰 보다 새로운 platinum 배위결합복합체(coordination complex)의 개발이 요구되어 cis-dichlorobicyclopentylamine platinum(PAO)을 동물 및 사람에서 실험하였으나 일반적으로 사용되는 용매에는 잘 녹지 않으면서 주사한 부위에서 흡수되지 않고 남아있는 문제점이 있으며, platinum blue는 심장에 대한 독성 또는 알레르기 반응으로 생각되는 치명적인 부작용이 나타나서 실험을 중단하였고, Malonato(1, 2-diamminocyclohexane) platinum(II)은 Hitt 등에 의해 동물의 종양에서 효과가 증명되어 사람에서 사용할 수 있는 양을 결정하기 위한 임상적 시도가 진행 중에 있다고 한다(Marx, 1976; Schuring 등, 1980;

Rose 등, 1982).

신독성외에 DDP에 의한 대사성 부작용으로서 과요산혈증(Rossof 등, 1972), 저칼슘혈증(Roxencweig 등, 1971) 및 저마그네슘혈증(Brenner 등, 1981; Dirks 등, 1983)등이 보고되어 있는데 본 실험에서도 대조군의 평균 혈청 칼슘치가 $11\pm0\text{mg}/\text{dl}$ 인데 비해 실험군(DDP, $7.5\text{mg}/\text{kg}$)에서의 평균 혈청 칼슘치는 $8.4\pm0.7\text{mg}/\text{dl}$ 로 감소된 것을 알 수 있었으나($P<0.05$), 혈청 마그네슘치는 대조군과 비교해서 실험군에서 감소되어 있지 않았다. 이는 마그네슘 측정상의 기술적 오차때문인지 실제로 감소되지 않았는지는 알 수가 없으나 최근 DDP 사용후 저마그네슘증에 의한 심한 무력감 및 테타니 등 증상이 나타나서 마그네슘의 투여로 증세가 호전되었다는 보고가 나오고 있는데, 이는 gentamicin 투여시와 같이 platinum에 의한 마그네슘의 신세뇨관에서의 선택적인 흡수장애에 의한 것으로 생각되고 있다(Benett, 1981).

결론적으로 DDP투여에 의한 신병변은 심부피질총의 근위 세뇨관의 괴사를 바탕으로 하여 투여량의 증가에 따라 꾀박하 세뇨관까지 확대되어 세포내 호흡제의 손상에 기인한 재생성 기전의 장애가 기본기전으로 추정된다.

그리고 충분한 수액공급과 furosemide 투여로 신독성을 줄일 수 있으며 DDP사용시 신독성 항생제의 금기에 대한 형태학적 근거를 제시하였다.

결 론

Cis-platinum 투여에 의한 실험적 신세뇨관 손상의 특성을 재점검하고 이들의 미세구조적 변화를 밝히기 위하여 체중 1kg당 2~20mg의 cis-diamminedichloroplatinum(II)(DDP)를 백서의 복강내로 일회 주사하고 주사후 1일, 3일, 5일, 7일 및 9일째에 도살하여 신세뇨관의 변화를 광학 및 전자현미경적으로 관찰함과 아울러 혈중 BUN, 칼슘 및 마그네슘치를 측정하였다.

또한 DDP투여에 의한 신독성의 예방 또는 완화 그리고 조장을 위하여 수액공급 및 furosemide($12.5\text{mg}/\text{kg}$)와 gentamicin($40\text{mg}/\text{kg}$)을 피하주사하여 신기능 및 신손상의 정도를 관찰하였다.

1. DDP단독투여에 의하여 BUN은 투여량에 비례하여 상승하였으나 점차 감소하였으며, 혈중 칼슘치에서는 대조군에 비하여 감소하는 경향을 보였고, 혈중 마그네슘치에는 유의한 변화를 보이지 않았다.

2. DDP투여에 의한 신손상의 기본변화는 심부 신피질총의 근위 꼭세뇨관의 수성변성과 brush border의

소실을 중심으로 한 퇴행성 변화로 요약되었으나, 투여량의 증가에 따라 동세뇨관의 심한 응고성 괴사를 동반하였고 피막하 세뇨관에 까지 확대되었다.

3. 전자현미경적으로 근위 콕세뇨관의 변화로 사립체의 불규칙성과 파열, 용해소체의 증가, 내형질망의 확장과 리보솜의 탈락을 주로 하였으나 DDP양의 증가와 시간의 경과에 따라 지질소체의 증가, 세포막의 파열과 괴사를 보였다. 특히 내강표면 미세융모의 손실은 DDP의 손상의 민감한 지표가 되었으며 세포호흡계의 손상에 따른 이차성병변으로 해석되었다.

4. 실험전후 수분공급과 더불어 DDP(5mg/kg)를 투여하기 30분전에 furosemide(12.5mg/kg)를 투여주사한 실험군에서는 BUN치의 변화는 없었고 세뇨관 손상의 지표가 되는 형태학적 소견도 경미하였다.

5. 실험기간 동안 매일 gentamicin(40mg/kg/D)를 DDP(5mg/kg)와 동시에 투여한 실험군에서는 실험후 5일째 평균 BUN치가 DDP단독 투여군보다 증가하면서 신세뇨관계의 병리조직학적 변화도 광범위해졌다.

이상의 결과로 미루어 DDP의 투여에 의하여 야기되는 신병변은 섬부괴질층의 근위 콕세뇨관의 손상을 바탕으로 하여 투여량의 증가에 따라 피막하 세뇨관에 까지 확대되어 세포내 호흡계의 손상에 기인한 재생성기전의 장애가 기본기전으로 추정되었다.

나아가서 충분한 수액공급과 furosemide 투여로 신독성을 줄일 수 있으며 신독성 항생제의 금기에 대한 형태학적 근거를 제시하였다.

—ABSTRACT—

The Acute Nephrotoxicity of Cis-diamminedichloroplatinum in Rats. An Ultrastructural Observation

Dong Seop Choi*, Yong Il Kim**, and
Hun Ki Min*

Department of Internal Medicine* and Pathology**
College of Medicine, Seoul National University
Seoul, Korea

Cis-platinum(DDP)-induced acute nephrotoxicity was made in rat to reappraise the nature of ultrastructural alterations in renal tubules.

DDP was administered to Fischer rats intraperitoneally in doses ranging from 2 to 20 mg per kg of body weight, and animals were sacrificed on the

1st, 3rd, 5th, 7th and the 9th day after injection.

At the time of sacrifice the changes of the level of BUN, serum calcium and magnesium were obtained. Additional studies were carried out to evaluate the preventive or modifying effect of cis-platinum nephrotoxicity by hydration, furosemide and gentamicin.

1. In the single dose of DDP-treated groups the BUN levels increased in proportion to the dosage of DDP, together with a tendency of low values of serum calcium.

2. The basic renal pathologic changes by administration of DDP was confined to the proximal convoluted tubules in deeper cortex at initial phase, and characterized by hydropic change and loss of brush border. By increasing the dosage of DDP coagulation necrosis of proximal tubules followed and extended to subcapsular portion.

3. Ultrastructural change of proximal tubules was initiated by irregularity and rupture of mitochondria, together with phagosomal increase, dilatation of endoplasmic reticulum and loss of ribosome; subsequent increase of fat droplets, rupture of cell membrane and necrobiosis followed by increasing the dosage of DDP and with time lapse. Attenuation and effacement of microvilli corresponding to loss of brush border in particular was a sensitive index of tubular damage by DDP, which was interpreted as secondary change due to damage of intracellular respiratory system.

4. Subcutaneous injection of furosemide with prehydration 30 minutes before DDP administration revealed no increase in BUN levels, and renal pathologic changes were mild.

5. Rats which received DDP with simultaneous administration of gentamicin showed the more increases of BUN 5 days after injection in comparison with the DDP-treated group, and renal tubular changes became more extensive.

The results indicate that the renal pathologic change by administration of DDP was selective necrosis of proximal tubules in deep cortex, which extended to subcapsular tubules by increase of dosage of injected DDP, and the basic mechanism of those tubular changes was postulated as disturbance of regeneration due to damage of intracellular respiratory

system. Adequate hydration and furosemide administration proved to modify the nephrotoxicity of cis-platinum, and renal morphologic changes by simultaneous gentamicin administration support that nephrotoxic antibiotics are contraindicated in combination with cis-platinum anti-cancer chemotherapy.

REFERENCES

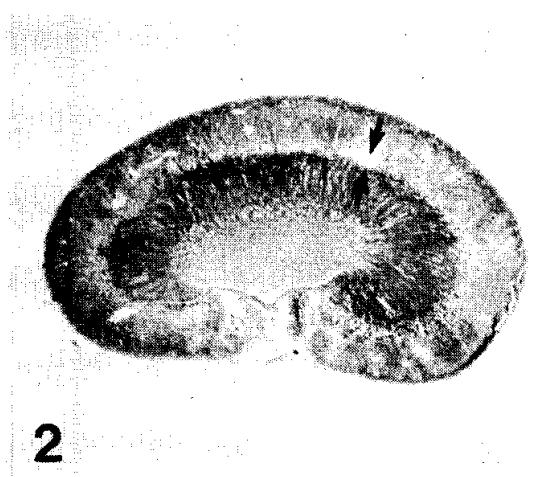
- Benett, W.M.: *Aminoglycoside nephrotoxicity: Experimental and clinical considerations.* *Mineral Electrolyte Metab.*, 6:277, 1981.
- Brenner, B.N. and Rector, F.C. Jr.: *Renal handling of calcium, phosphate and magnesium, In the Kidney, 2nd ed., Vol. 1, Philadelphia, W.B., Saunders, 1981, p.604.*
- Brenner, B.M. and Rector, F.C., Jr.: *Toxic nephropathies, in the Kidney, 2nd ed., Vol. 2, Philadelphia, W.B. Saunders, 1981, p.2055.*
- Chiuten, D., Vogl, S., Kaplan, B. and Camacho, F.: *Is there cumulative or delayed toxicity from cis-platinum?* *Cancer*, 52:214, 1983.
- Corder, M.P., Elliott, T.E., Witte, D.L., et al.: *High dose weekly cis-platinum (II) diamminedichloride: Dose limiting myelosuppression and lack of nephrotoxicity with mannitol plus hydration.* *Clin. Res.*, 24:568A, 1976.
- DeConti, R.C., Toftness, B.R., Lange, R.C., et al.: *Clinical and pharmacological studies with cis-diamminedichloroplatinum (II).* *Cancer Res.*, 33:1310, 1973.
- Dirks, J.H., Wong, N.L.M., Mavichak, V. and Sutton, R.A.L.: *Cis-platin-induced hypermagnesuria & hypercalciuria in rats.* *Mineral Elelrtrolyte Metab.*, 9:166, 1983.
- Gonzalez-Vitale, J.C., Hayes, D.M., Cvitkovic, E. and Sternberg, S.S.: *The renal pathology in clinical trials of cis-platinum (II) diamminedichloride.* *Cancer*, 39:1362, 1977.
- Gormley, P.E.: *The pharmacokinetics of cis-diamminedichloroplatinum (II) in humans.* *Clin. Res.*, 26: 289A, 1978.
- Gottlieb, J.A. and Drewinko, B.: *Review of the current clinical status of platinum coordination complexes in cancer chemotherapy.* *Cancer Chemother. Rep.*, 59:621, 1975.
- Hardaker, W.T., Stone, R.A. and McCoy, R.: *Platinum nephrotoxicity.* *Cancer*, 34:1030, 1974.
- Hayes, D., Critkovic, E., Golbey, R., Scheiner, E. and Karkoff, I.H.: *Amelioration of renal toxicity of high dose cis-platinum diamminedichloride by mannitol induced diuresis.* *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 17:169, 1976.
- Hayes, D.M., Cvitkovic, E., Golbey, R., Scheiner, E., Helson, L. and Krakoff, I.H.: *High dose Cis-platinundiamminedichloride: Amelioration of renal toxicity by mannitol diuresis.* *Cancer*, 39:1372, 1977.
- Higby, D.J., Wallace, H.J. Jr. and Holland, J.F.: *Cis-diamminedichloroplatinum(NSC-119875): A phase I study.* *Cancer Chemother. Rep.*, 57:459, 1973.
- Higby, D.J., Wallace, H.J. Jr., Albert, D. et al.: *Cis-diamminedichloroplatinum in the chemotherapy of testicular tumors.* *J. Urol.*, 112:100, 1974.
- Higby D.J., Wallace, H.J. Jr., Albert, D., et al.: *Diamminedichloroplatinum. A phase I study showing responses in testicular and other tumors.* *Cancer*, 33:1219, 1974.
- Higby, D.J., Wallace, H.J. Jr. and Bekesi, J.: *Reduction of cis-dichlorodiammineplatinum (II) (DDP) toxicity by penicillamine (Pn) compounds in animal models and human(Abstract).* *Proc. Am. Assoc. Cancer Res./Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 16:181, 1975.
- Hill, J.M., Loeb, E., Maclellan, A., et al.: *Clinical studies of platinum coordination compounds in the treatment of various malignant diseases.* *Cancer Chemother. Rep.*, 59:647, 1975.
- Himmel-Stein, K.J., Patton, T.F., Belt, R.J., Taylor, S., Repta, A.J. and Sternson, L.A.: *Clinical kinetics of intact cisplatin and some related species.* *Clin. Pharmacol. Ther.*, 29:658, 1981.
- Holland, J.F. and Frei, E. III: *Platinum, In Cancer Medicine, 2nd ed. Vol. 2, Lea and Febiger, Philadelphia, 1982, p.2300.*
- Houghton, D.C., Hartnett, M., Campbell-Boswell, M., Porter, G. and Gennett, W.: *A light and electron microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats.* *Am. J. Pathol.*, 82:589, 1976.
- Howell, S.B. and Taetle, R.: *The effect of sodium*

- thiosulfate on cis-dichlorodiammineplatinum (II) toxicity and antitumor activity in the L 1210 leukemia. *Cancer Treat Rep.*, 64:611, 1980.
- Howell, S.B., Pfeifle, C., Wung, W.E., Olshan, R.A., Lucas, W.E., Yon, J.L. and Green, M: *Intra-peritoneal cis-platin with systemic thiosulfate protection*. *Ann. Intern. Med.*, 97:845, 1982.
- Howle, J.A. and Gale, G.R.: *Cis-dichlorodiammineplatinum (II). Persistent and selective inhibition of deoxyribonucleic acid synthesis in vivo*. *Biochem. Pharmacol.*, 19:2757, 1970.
- Kociba, R.J.: and Sleight, S.D.: Acute toxicologic and pathologic effects of cis-diamminedichloroplatinum(NSC-119875) in the male rat. *Cancer Chemother. Rep.*, 55:1, 1971.
- Kovach, J.S., Moertel, C.G., Schutt, A.J., et al.: Phase II study of cis-dichlorodiammineplatinum (NSC-119875) in advanced carcinoma of the large bowel. *Cancer Chemother. Rep.*, 57:387, 1973.
- Leonard, B.J., Eccleston, E., Jones, D., Todd, P., and Walpole, A: Antileukemic and nephrotoxic properties of platinum compounds. *Nature*, 234:43, 1971.
- Lippman, A.J., Helson, C., Helson, L., et al.; Clinical trials of cis-diamminedichloroplatinum (NSC-119875). *Cancer Chemother. Rep.*, 57:191, 1973.
- Madias, N.E., and Harrington, J.T.: Platinum nephrotoxicity. *Am. J. Med.*, 65:307, 1978.
- Marx, J.L.: Chemotherapy: Renewed interest in platinum compounds. *Science*, 192:774, 1976.
- Merrin, C.: A new method to prevent toxicity with high doses of cis-diammineplatinum (therapeutic efficacy in previously treated widespread and recurrent testicular tumors). *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, 17:243, 1976.
- Pesando, J.M., Come, S.E., Parker, L.M., Griffiths, C.T., and Canellos, G.P.: Cis-diamminedichloroplatinum (CDDP) therapy of advanced ovarian cancer (Abstract). *Proc. Am. Soc. Clin. Oncol.*, 20:828, 1979.
- Piel, J.J., Rayadu, G.V.S., Perlia, C.P., et al.: Use of neutron activation analysis to study excretion of cis-diamminedichloroplatinum (DDP) in cancer patients (Abstract). *Proc. Am. Assoc. Cancer Res./ Proc. Am. Soc. Clin. Oocol.*, 15:11, 1974.
- Piel, I.: and Perlia, C.P.: Phase II study of cis-dichlorodiammineplatinum (II) (NSC-119875) in combination with cyclophosphamide (NSC-26271) in the treatment of human malignancies. *Cancer Chemother. Rep.*, 59:995, 1975.
- Robert, S.B., Henry, E.W., and Ernest, L.M.: Hypomagnesemic hypocalcemia secondary to renal magnesium wasting. *Ann. Intern. Med.*, 82:646, 1975.
- Rose, W.C., Schurig, J.E., Huftalen, J.B., and Bradner, W.T.: Antitumor activity & toxicity of cisplatin analogs. *Cancer Treat Rep.*, 66:135, 1982.
- Rosenberg, B., VanCamp, L., and Krigas, T.: Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from a platinum electrode. *Nature*, 205:698, 1965.
- Rosenberg, B., VanCamp, L., Trosko, J.E., et al.: Platinum Compounds. *Nature*, 22:385, 1969.
- Rosenberg, B. and VanCamp, L.: The successful regression of large solid sarcoma 180 tumors by platinum compounds. *Cancer Res.*, 30:1799, 1970.
- Rosenberg, B.: Possible mechanisms for the antitumor activity of platinum coordination complexes. *Cancer Chemother. Rep.*, 59:589, 1975.
- Rossof, A.M., Slayton, R.E. and Perlia, C.P.: Preliminary clinical experience with cis-diamminedichloroplatinum (II) (NSC 119875, CACP). *Cancer*, 30:1451, 1972.
- Roxenweig, M., Von Hoff, D.D., SLsavik, M. Maggio, F.M.: Cisdiamminedichloroplatinum (II): A new anticancer drug. *Ann. Intern. Med.*, 86:803, 1971.
- Schaeppi, U., Heyman, I.A., Fleischman, R.W., Rosenkrantz, H., Ilievski, V., Phelan, R., Cooney, D.A. and Davis, K.D.: Cisdichlorodiammineplatinum (II) (NSC-119875): Preclinical toxicologic evaluation of intravenous injection in dogs, monkeys and mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 25:230, 1973.
- Schurig, J.E., Bradner, W.T., Huftalen, J.B., et al.: Toxic side effects of platinum analogs. In *cisplatin: current status & new development*. New York, N.Y., Academic Press, 1980. p.227.
- Speer, R.J., Ridgway, H., Hall, L.M., Stewart, D.

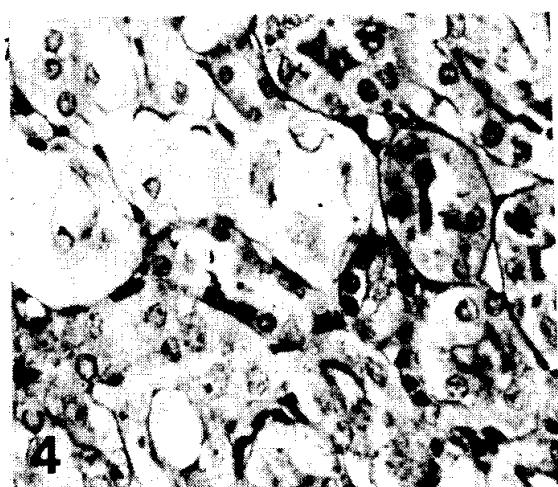
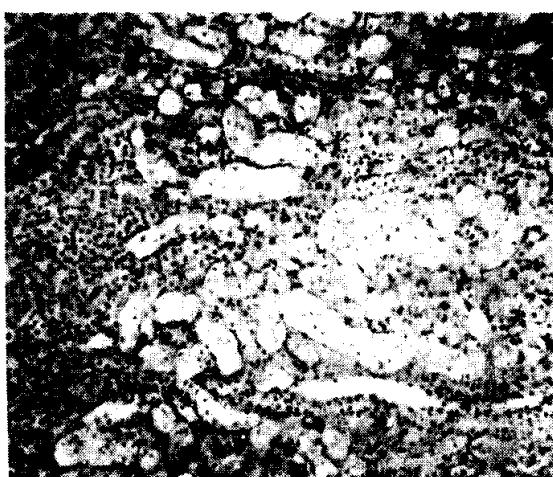
- P., Howe, K.E., Lieberman, D.Z., Newman, A.D., and Hill, J.M.: *Coordination complexes of platinum as antitumor agents.* *Cancer Chemother. Rep.*, 59: 629, 1975.
- Stark, J.J., Howell, S.B. and Carmody, J.: *Prevention of cis-platinum nephrotoxicity.* *Clin. Res.*, 25:412A, 1977.
- Stark, J.J. and Jowell, S.B.: *Nephrotoxicity of cis-platinum (II) dichlorodiammine.* *Clin. Pharmacol. Ther.*, 23:461, 1978.
- Talley, R.W., O'Bryan, R.M., Guterman, J.U., et al.: *Clinical evaluation of toxic effects of cis-diamminedichloroplatinum (NSC-119875). Phase I clinical study.* *Cancer Chemother. Rep.*, 57:465, 1973.
- Taylor, D.M., Tew, K.D. and Jones, J.D.: *Effects of cis-dichlorodiammineplatinum (II) on DNA synthesis in kidney and other tissues of normal and tumour-bearing rats.* *Eur. J. Cancer*, 12:279, 1976.
- Thigpen, T., LaGasse, L. and Bundy, B.: *Phase II trial of cis-platinum in treatment of advanced ovarian adenocarcinoma (Abstract)* *Proc. Am. Assoc. Cancer*, 20:84, 1979.
- Ward, J.M. and Fauvie, K.A.: *The nephrotoxic effects of cisdiamminedichloroplatinum (II) (NSC-119875) in the male F344 rats.* *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 38:535, 1976.
- Ward, J.M., Grabin, M.E. and Young, D.M.: *Prevention of renal failure in rats receiving cis-diamminedichloroplatinum (II) by administration of furosemide.* *Cancer Res.*, 37:1238, 1977.
- Waynfirth, H.B.: *Routes & methods of administration, in: Experimental and surgical technique in the rat.* Academic Press Inc. (London) Ltd., 1980, p.22, p.245.
- Wiltshaw, E. and Kroner, T.: *Phase II Study of cis-dichlorodiammineplatinum (II) (NSC-119875) in advanced adenocarcinoma of the ovary.* *Cancer Treat Rep.*, 60:55, 1976.
- Wiltshaw, E., Subramanian, S., Alexopoulos, C. and Barker, G.H.: *Cancer of the ovary: a summary of experience with cis-dichlorodiammineplatinum (II) at the Royal Marsden Hospital.* *Cancer Treat Rep.*, 62:555, 1979.
- Young, R.C., Von Hoff, D.D., Gormely, P. et al.: *Cis-dichlorodiammineplatinum (II) for the treatment of advanced ovarian cancer.* *Cancer Treat Rep.*, 63:1539, 1979.
- Yuhas, J.M. and Colo, F.: *Selective inhibition of nephrotoxicity of cisplatin by WR-2721 without altering its antitumor properties.* *Cancer Treat Rep.*, 64:57, 1980.

LEGENDS FOR FIGURES

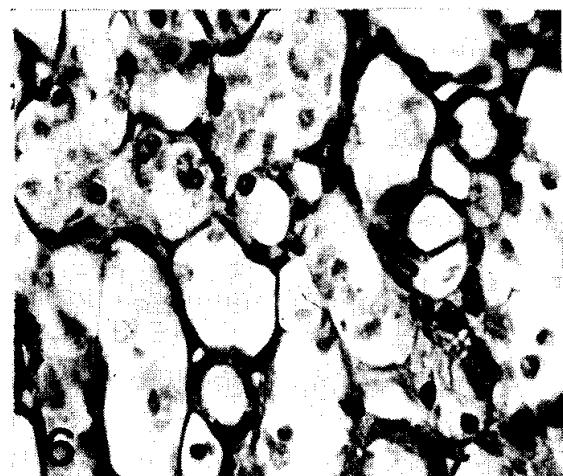
- Fig. 2.** Gross renal section shows a narrow pale zone between arrows due to hydropic change of proximal tubule in the deep cortex. 5 days after DDP (7.5mg/kg) injection.
- Fig. 3.** Close-up view of pale zone of Fig. 2. The proximal tubules undergo marked hydropic degeneration. H-E, $\times 100$.
- Fig. 4.** The affected proximal tubules in deep cortex show hydropic degeneration and loss of brush border.
- Fig. 5.** Multifocal coagulation necrosis of proximal tubules is admixed with hydropic degeneration. H-E, $\times 100$.
- Fig. 6.** High power view of Fig. 5. Tubular lining cells undergo coagulative nature of necrobiosis but lined by intact basement membrane. 5 days after DDP (7.5mg/kg) administration. PAS, $\times 400$.
- Fig. 7.** Tubular epithelial cells show megalonucleosis with abnormal chromatin pattern and persistent cytoplasmic hydropic degeneration. 7 days after DDP (7.5mg/kg) administration. H-E, $\times 300$.
- Fig. 8.** Ultramicrograph of proximal tubule. Two portions represent irregular disruption of microvilli. Number of mitochondria is unevenly diminished and their sizes vary. N: nucleus, L: lysosome. $\times 3,360$.
- Fig. 9.** Two cells (right upper and lower margin) show reduced number of mitochondria, and a large endocytotic vesicle contains compactly arranged mitochondria (M) with intact cristae. Several fat vacuoles (Li) and dilated endoplasmic reticulum are seen. $\times 5,600$.
- Fig. 10.** Microvilli are more diffusely effaced, and intracytoplasmic organelles are thrown into the lumen by rupture of cell membrane. $\times 3,360$.
- Fig. 11.** The condensed cytoplasm of degenerating epithelial cell contains irregularly distorted mitochondria. Increase of endocytotic vesicles and phagosomes is evident. $\times 2,240$.



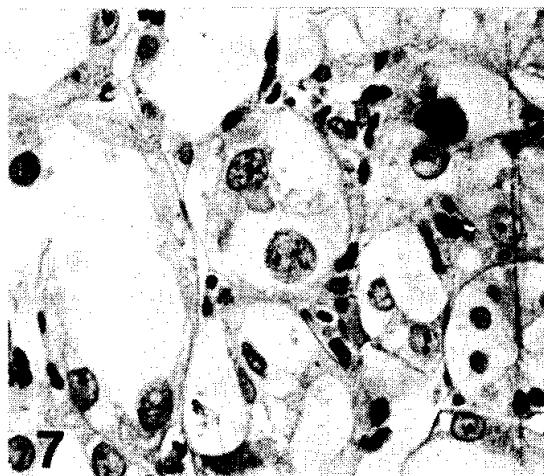
2



4



6



97

—최동석 등 : Cis-diamminedichloroplatinum에 의한 신독성—

