Comparison of Urine Volume, Glomerular Filtration Rate, Excretion and Fraction of Reabsorption of Major Substances in Urine in Three Different Rat Strains

Naomi KOBAYASHI, Isao IKARASHI, Yoshiko FURUYAMA,
Kyoko BARADA, and Kiyonori TAUCHI

*Imamichi Institute for Animal Reproduction, 1, 103 Fukaya, Dejima-mura,
Niihari-gun, Ibaraki 300-01, Japan*

(Received 16 July 1993/Accepted 10 November 1993)

Urine volume (UV), Glomerular filtration rate (GFR) and Fraction of reabsorption (FR) of water, Ca, IP, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Glu and UN, which are significant in kidney function analysis, were investigated and compared in three rat strains (WI, SD and F344). UV/body weight ratios were higher in SD rats as compared to other strains. The GFR difference was not significant, but the FRH₂O difference was significant in three rat strains. FR of Ca, K⁺ and Glu showed no significant differences in three different rat strains. SD and F344 were significantly lower than WI in FR of IP. FR of Na⁺, Cl⁻ and UN were significantly different in three rat strains without Cl⁻ between SD and F344, and UN between WI and SD. —KEY WORDS: FR, GFR, rat strain, UV

3 系統のラットにおける尿量、糸球体濾過量、主要成分の尿中排泄量および再吸収分画の比較

小林直美・五十嵐 功・古山佳子
茨田 享子・田内 清 憲

財団法人動物繁殖研究所

尿検査は採血を伴う臨床検査と比較して動物に及ぼすストレスが小さく、また、採取された尿を分析することにより多くの情報を得ることが出来る[9]。事実、尿は、身体の物質代謝の終末産物である多くの物質を溶存し、濃縮されるので、体内に起こったわずかな変化が拡大、強調されて現れることが多いため、尿検査は生体への薬物の影響を調べる一つの手段として有意義であるといわれている[8]。

また、尿生成過程においては、腎糸球体および尿細管を通過するあいだに種々の物質の再吸収、尿の濃縮・希釈、分泌などが行われ、最終的に尿が生成され

る。したがって、尿性状の変化ないし異常は、腎の障害ないし腎機能異常を知る上で重要な指標となる[15]。

しかしながら、尿中物質と対応する血液生化学的検査を行い、糸球体濾過量 (Glomerular filtration rate: GFR) および各種物質の再吸収分画 (fraction of reabsorption: FR) を算出、考察している文献はほとんどない。そこで、毒性試験に多用されている、Wistar-Imamichi (WI) 系、Sprague-Dawley (SD) 系および Fisher 344 (F344) 系ラットを用いて、腎機能検査で重要とされる尿量、GFR、および水分、Ca, IP, Na⁺, K⁺, Cl⁻, Glu ならびに UN の排泄量および FR[4, 6,

15] を測定した。

材料および方法

1. 供試動物：8 週齢の Wistar-Imamichi (WI) 系 (財団法人動物繁殖研究所), Fisher 344 (F344) 系および Sprague-Dawley (SD) 系 (日本チャールスリバー株式会社) SPF ラットの雄各 5 匹を供試した。
2. 動物の飼育：室温 $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 相対湿度 $55 \pm 10\%$, 換気回数 $10 \sim 20$ 回/hr, 照明時間 14 時間 (5 ~ 19 時) の動物室内で飼育し, 飼料 (CRF-1; Oriental Yeast Ltd.) および飲料水 (自家水道水) を自由摂取させた。
3. 尿検査：ラット用代謝ケージ (Metabolic cage; Shinano Co. Ltd.) を用いて 24 時間尿 (9:00am ~ 9:00am) を採取し, 尿量の測定を行った。採取した尿は, 生化学自動分析装置 (Model RS1100; Jeol Ltd.) でクレアチニン (Creat; 酵素法), カルシウム (Ca; OCPC 法), 無機リン (IP; 酵素法), グルコース (Glu; 酵素法) および尿素窒素 (UN; 酵素法) 濃度を, 電解質自動分析装置 (Model EL-ISE; Beckman Instruments Inc.) でナトリウム (Na^+ ; イオン選択電極法), カリウム (K^+ ; イオン選択電極法) および塩素 (Cl^- ; イオン選択電極法) 濃度を測定した。
4. 血液化学的検査：尿検査終了後に, エーテル麻酔下で, 腹大動脈から 18G の翼付き静注針を用いて採血し, 無処置 (plain) の試験管 (Venoject, Autosep; Terumo Inc.) に採取した。3,000rpm, 10 分間, 4°C で遠心分離を行い, 血清を分離し, 血清の Creat, Ca, IP, Na^+ , K^+ , Cl^- , Glu および UN 濃度を尿と同様の方法で測定した。
なお, 供試ラットは, 採血前 16 時間の絶食を行った。
5. GFR および FR の算出：尿中 Creat 濃度, 血清 Creat 濃度および尿量から, 次式 1) により, GFR を, GFR および尿量から, 次式 2) により水の FR (FRH_2O) を求めた。Ca, IP, Na^+ , K^+ , Cl^- , Glu および UN の FR も血清濃度, GFR, 尿中濃度および尿量から次式 3) により求めた。

1) GFR (mL/min)

$$= (\text{尿中 Creat 濃度} \div \text{血清 Creat 濃度}) \times 1 \text{ 分間の尿量}$$

$$= (\text{尿中 Creat 濃度} \div \text{血清 Creat 濃度})$$

$$\times \text{尿量 (mL)} \div 24 \text{ 時間} \div 60 \text{ 分}$$

2) $\text{FRH}_2\text{O}(\%)$

$$= (\text{GFR} - 1 \text{ 分間の尿量}) \div \text{GFR} \times 100$$

$$= [(\text{GFR} - (\text{尿量} \div 24 \div 60))] \div \text{GFR} \times 100$$

3) FR * * (%)

$$= (\text{血清} * * \text{濃度} \times \text{GFR})$$

$$- (1 \text{ 分間の尿中} * * \text{排泄量})$$

$$\div (\text{血清} * * \text{濃度} \times \text{GFR}) \times 100$$

$$= [(\text{血清} * * \text{濃度} \times \text{GFR})$$

$$- (\text{尿中} * * \text{濃度} \times \text{尿量} \div 24 \div 60)]$$

$$\div (\text{血清} * * \text{濃度} \times \text{GFR}) \times 100$$

* * : Ca, IP, Na^+ , K^+ , Cl^- , Glu, UN

6. 統計学的解析：尿量, GFR および各 FR ごとに, WI 系ラットとその他の系のラット群間で, 平均値の差の検定 ($P < 0.05$ または $P < 0.001$) を行った [14]。

成 績

Table 1 に, 供試したラットの体重, 尿量および尿量/体重 ($\text{mL}/100 \text{ g}$) 比を各系統ごとに平均値で示した。SD 系ラットの尿量は, WI 系ラットに比較して有意に多かったが, F344 系と WI 系ラットとの間に有意差を認めなかった。また, 尿量/体重比は, WI 系 3.74, SD 系 5.75 および F344 系 3.48 であり, SD 系が他の系統と比較して統計学的に有意に高い値を示した。

Fig. 1 に, 各系統のラットの GFR および FRH_2O を示した。GFR は各系統間で統計学的有意差を認めなかった。 FRH_2O は, SD 系ラットは WI 系および F344 系に比較して小さい値を, F344 系ラットは WI 系と比較して大きい値を示した。

Fig. 2 に, 各系統の Ca および IP の尿中排泄量および FR を示した。Ca の尿中排泄量は, 系統間で有意差を認めなかった。IP の尿中排泄量は, SD 系および F344 系ラットは, WI 系ラットと比較して有意に多かった。Ca の FR は, 各系統間で有意差を認めなかったが, IP の FR は, SD 系および F344 系ラット共に WI 系ラットと比較して有意に低い値を示した。

Fig. 3 に, 各系統の Na^+ , K^+ および Cl^- の尿中排泄量および FR を示した。 Na^+ および Cl^- の尿中排泄量は, SD 系および F344 系ラット共に WI 系ラットと比

Table 1. Body weight (B. W.), urine volume (U. V.) and urine volume/body weight ratios in three different rat strains

	Wistar-Imamichi (WI)	Sprague-Dawley (SD)	Fisher 344 (F344)
B. W. (g)	294±4	331±16 **	219±6 **\$\$
U. V. (ml/24hr)	11.0±2.2	19.0±4.6 **	7.6±3.0 \$\$
U. V./B. W.	3.74	5.75 **	3.48 \$\$

* * : Significantly different from W. I. value at $P < 0.01$
different from S. D. value at $P < 0.01$ (F344 only)

\$\$: Significantly

Fig. 1. Comparison of glomerular filtration rate(GFR) and fraction of reabsorption (FR) of water in three different rat strains

Fig. 2. Comparison of urine excretion (UE) and FR of calcium and inorganic phosphorous in three different rat strains

Fig. 3. Comparison of urine excretion (UE) and FR of electrolytes in three different rat strains

Fig. 4. Comparison of urine excretion (UE) and FR of urea nitrogen and glucose in three different rat strains

較して有意に少ない値を示した。K⁺の尿中排泄量は各系統間で有意差を認めなかった。Na⁺およびCl⁻のFRは、SD系およびF344系ラット共にWI系ラットと比較して有意に大きかったが、K⁺のFRは各系統間で有意差を認めなかった。

Fig. 4に、各系統のUNおよびGluの尿中排泄量およびFRを示した。UNの尿中排泄量は、SD系およびF344系ラット共にWI系ラットと比較して小さい値を示した。Gluの尿中排泄量は、系統間で有意差を認めなかった。UNのFRは、SD系ラットではWI系ラット

との間に有意差を認めなかったが、F344系ラットでは有意差を認めた。GluのFRは、各系統間で有意差を認めなかった。

考 察

腎毒性を有する薬物は数多く、臨床においてしばしば重篤な副作用を呈することが知られている。この場合、尿性状の変化ないし異常は、腎の障害ないし腎機能異常を知る上で重要な指標となりうる[15]。したが

って、腎毒性の検出を目的とする毒性試験をはじめ、前臨床研究においては、尿性状に関する検討が必要である [9]。

また、腎炎の初期には尿量および GFR の増加が、腎炎の末期には尿量および GFR の減少が起きることが知られている [3,5]。したがって、腎機能を知るうえで、尿量の測定および GFR の算出は重要である。

しかしながら、今回我々が行った GFR および FR の系統間における差については報告がなく、わずかに pH、糖およびタンパクについて行った尿定性試験が報告されている [10] に過ぎない。

さらに、今回測定した Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、UN および Glu の FR も尿細管機能を知るうえで非常に有益である。実際我々は、ゲンタマイシンによる実験的腎尿細管障害で上記測定項目が変動することを経験している。

今回用いた 3 系統のラットの尿量は、系統間で大きな差を認めた。特に、SD 系の 24 時間尿量および尿量/体重比はともに他の系統と比較して有意に大きい値を示した。この理由は、GFR には差が認められないが、 FRH_2O が明らかに低値を示すことから、SD 系は、他の系統と比較して腎における水の再吸収が少ないことにより尿量が増加したものと考えられた。

WI 系は、尿中 IP 排泄量が他の系統に比較して少ないことから FR が他の系統に比較して有意に大きく、 Na^+ 、 Cl^- および UN は、WI 系が他の系統に比較して尿中排泄量が高い値を示していたことから FR は低い値を示した。上記の差異は、各種腎機能のうち、特に尿細管での Na^+ 、 Cl^- および UN の再吸収能が系統間でかなり異なることを示唆している。

しかし、Ca、 K^+ および Glu の尿中排泄量および FR は、いずれの系統間でも有意差を認めなかった。ここで、 K^+ の FR は、各系統とも約 70% 程度と他の電解質と比較して低い値を示したが、 K^+ は尿細管で再分泌されること [2,13,16] がその理由と考えられた。

また、今回は、毒性試験で一般的に行われている採血時の絶食を行ったが、絶食を行うことによって、各測定項目の血中濃度が採尿時と異なっている可能性が考えられた。したがって、今後は絶食を行わない条件下での採血検査ならびに、絶食条件下での採尿および採血を行い、今回の実験との比較を行う必要があるものと考えられる。

以上のように 24 時間尿量、尿量/体重比、 FRH_2O 、IP、 Na^+ 、 Cl^- および UN の尿中排泄量および FR は、

各系統間で差がみられた。これら系統間差については、GFR および FR の検討により、尿細管での水分ならびに IP、 Na^+ 、 Cl^- および UN の尿細管における再吸収能の差が主たる原因と考えられた。したがって、腎毒性の評価に際しては、用いる系統の差を考慮に入れる必要があると考えられる。

また、今回用いたクレアチニンクリアランスによる GFR の算出法は、従来用いられていた Jaffe [1] の試薬に代えて、より特異性の高い酵素法 [12] を用いている。したがって、従来から指摘されていたクレアチニン以外に Jaffe 試薬に反応する尿中 Chromogen の影響 [7,11] ならびに血清中の Glu およびケトン体の影響を排除することにより、より一層精度の高い GFR を算出することが可能であったと考えられた。

要 約

WI 系、SD 系および F344 系ラットを用いて、腎機能検査で重要とされる尿量、GFR、および水分、Ca、IP、 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、Glu および UN の排泄量および FR を測定し、比較検討した。SD ラットは、他の系統のラットと比較して、尿量が多く、尿量/体重比も大きかった。GFR は、各系統間で差を認めなかったが、 FRH_2O は各系統間で異なっていた。Ca、 K^+ および Glu の FR は系統間で差を認めなかった。IP の FR は、SD 系および F344 系ラット共に WI 系ラットと比較して有意に低い値を示した。 Na^+ 、 Cl^- および UN の FR はほぼ同じ傾向を示し、WI 系、SD 系および F344 系の順に小さい値をとり、SD と F344 間の Cl^- および WI と SD 間の UN を除き共に有意差を認めた。

文 献

- [1] Fabiny, D. L. and Ertlingshausen, G. (1971). Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the centrifichem. *Clin. Chem.*, **17**, 670-698.
- [2] Furuya, H. and Asano, Y. (1992). Potassium metabolite regulation. *Modern Medical Laboratory*, **20**, 16-17.
- [3] Honda, K. and Saito, J. (1988). Analysis method of abnormal urine volume. *Kidney and Dialysis*, **24**, 528-532.
- [4] Horio, M. and Orita, Y. (1990). Sodium. *J. Medical Technology*, **34**, 1280-1287.
- [5] Ishida, N., Suzuki, T., and Yoshimura, S. (1992). Urine Volume. *Modern Medical Laboratory*, **20**, 24-25.
- [6] Ishimoto, F. and Misawa, T. (1990). Urine chemistry—U-N, creatinine, electrolytes, NAG, β_2 -m, citric acid—. *Kidney and Dialysis*, **29**, 27-29.

- [7] Kawai, T. (1985). Creatinine・creatine. *In* Laboratory Medicine, pp 82-84, Igakusyoin, Tokyo.
- [8] Kosaka, T. and Ebino, K. (1985). Ophthalmological analysis, urinalysis, electrocardiographic analysis. *In* New Toxicological study—Method and evaluation—, pp 99-105, Realize, Tokyo.
- [9] Ono, H. (1990). Kidney function and urinalysis. *In* Functional toxicology. pp 486-495, Chijinsyokan, Tokyo.
- [10] 尾上正治・平野郁子・坂本経敏・小島賢二・高橋徳太郎, (1981). F344/Yit ラットに関する研究, 一般毒性試験の検査値における他の系統との比較. *医学と薬学*, **6**, 581-593.
- [11] Sakai, O. and Ogura, M. (1989). Urine creatinine and creatine. *Medicina*, **26**, 1646-1647.
- [12] Suzuki, M. and Yoshida, M. (1976). Enzymatic determination of creatinine and creatine in serum. *Clinical Symposium*, **16**, 220.
- [13] Tabei, K. (1986). K regulation system. *Kidney and Dialysis*, **21**, 167-173.
- [14] Takizawa, T. (1985). Comparison of samples. *In* Veterinary statistics. pp 153-170, Gakusyosya, Tokyo.
- [15] Tanimoto, Y. (1988). Quality of animal urine and significance of the examinations. *In* Biochemistry of blood and urine in experimental animals. pp 119-134, Soft Science, Tokyo.
- [16] Wright, F. S. and Giehisch, G. (1992). Regulation of potassium excretion. *In* The Kidney (Second edition). pp 2,209-2,248, Raven Press, New York.