原 著

線溶促進薬の馬杉腎炎進展過程におよぼす影響*

石川 兵衛** 林 需** 本庄 昭** 浜口 尚重**
森田 哲生** 岡林 正純** 進藤 敬久**

Key words: fibrin deposit, fibrinolytic therapy, Masugi nephritis, urokinase

はじめに

抗凝固療法による糸球体病変の軽減ならびに糸球体内フィブリン(Fb)沈着と病巣の活動性との関係が指摘²⁾されて以来、糸球体傷害因子として糸球体内血液凝固の意義^{1,2)}が注目されている。すでにわれわれは、慢性糸球体腎炎・ネフローゼ症候群に対する線溶療法として線溶促進薬ウロカイネース(UK)の効果を検討した成績の詳細を発表³⁾した。今回は実験的に家兎馬杉腎炎を作製し、糸球体内Fb沈着がUK投与によりどの程度に阻止あるいは除去されるか、また馬杉腎炎の進展がどの程度に軽減ないし予防されるかについて検索した。

I. 実験方法

1. ネフロトキシン(抗家兎腎アヒル血清: NT)作製法

正常家兎腎を腹部大動脈より生理的食塩水で灌流して血液を除いた後摘出し、腎皮質のみを採取し、これをホモゲナイザーで磨碎し40%生食浮遊液とした。ついでその3mlずつを同量のcomplete Freund's adjuvantとともに成熟アヒル胸筋に3週ごとに4回注射した。以後、皮質オモジネートを1週間隔で20回注射することにより免疫した。最後の注射から10日後に採血し、分離した血清は56℃で30分間加熱し、家兎赤血球で吸収し、NTとした。これは使用す

るまで-70℃に保存した。

2. 実験動物

体重2.0~2.5kgの成熟家兎32羽を用い、8羽ずつ以下のA, B, CおよびDの4群に分けた。A群: NT 1.0ml/kgの家兎耳静脈内注射(1回)によって馬杉腎炎を惹起させた。UKは投与しないで対照群とした。B群: NT 1.0ml/kgを1回静注し、その1週目より1日UK 3,000 IU/kgを毎日投与した。C群: NT 1.0ml/kgを1回静注し、同時に1日1,000IU/kgのUKを開始し、毎日同量のUK投与を継続した。D群: 1.0ml/kgのNTを1回静注し、同時に1日3,000IU/kgのUKを開始し、毎日同量のUK投与を継続した。

3. 観察方法

一般検査項目: 尿量・尿蛋白(アルブステイックス法)を毎日測定し、実験開始前、NT静注後1週目および2週目にBUN(ユニグラフ法)、クレアチニン(Cr)、血漿フィブリノーゲン(Fbg; チロジン法)、血清FDP(トロンボウエルコテスト法)を測定した。

腎組織像: 各群それぞれ2週目に屠殺し、えられた腎組織を光顕および蛍光抗体法で観察した。光顕はHEおよびPAS染色標本について糸球体変化をつぎの5段階(Grade)に分けた。すなわち(Ⅰ)増殖性変化が軽度認められるもの、(Ⅱ)増殖性変化が中等度にみられるもの、(Ⅲ)増殖性変化が強度に認められ係蹄毛細管腔

* The effects of fibrinolytic therapy with urokinase on Masugi nephritis in rabbits. (The 5th Congress of the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis, Nov.19, 1976).

** 奈良県立医科大学第一内科(〒634 奈良県橿原市四条町840), Hyoe ISHIKAWA, Motomu HAYASHI, Akira HONJO, Takashige HAMAGUCHI, Tetsuo MORITA, Masazumi OKABAYASHI and Takahisa SHINDO: First Department of Internal Medicine, Nara Prefectural Medical College, Nara, Japan.

Fig. 1 Laboratory data

の閉塞がみられるもの、(Ⅳ)増殖性変化が強く半月体形成を伴うもの、および(Ⅴ)糸球体全体が硝子化を示すものとし、個々の症例について100個の糸球体を観察してこれらの各段階が占める割合(%)を求め、各群別間の差について検討した。蛍光抗体法には抗血清として FITC 標識抗家兔 IgG ヤギ血清 (BML 社製) および FITC 標識抗家兔 Fbg モルモット血清を使用した。所見は蛍光領域によって (i) 蛍光領域が認められない糸球体面積の20%以内に局限しているもの、(ii) 蛍光領域が糸球体面積の50%以内のものおよび (iii) 蛍光領域が糸球体面積の50%以上のものの3段階 (Grade) に分けた。症例ごとに20個の糸球体を観察して Grade を判定し、各群における Grade の平均値を求めた。

II. 成績

1. 各群における検査成績の推移

各群における検査成績の推移を図1に示す。

尿量：A群では前値 $182.9 \pm 107.5 \text{ ml/day}$, 1週 $237.5 \pm 120.2 \text{ ml/day}$, 2週 334.4 ± 106.9

ml/day と増加傾向を示し、B群では前値 $223.8 \pm 191.2 \text{ ml/day}$, 1週 $265 \pm 141.2 \text{ ml/day}$, 2週 $175.6 \pm 72.1 \text{ ml/day}$ と減少傾向を示し、C群では前値 $221.4 \pm 140.5 \text{ ml/day}$, 1週 $227.0 \pm 94.5 \text{ ml/day}$, 2週 $249.4 \pm 106.2 \text{ ml/day}$, D群では前値 $107.5 \pm 73.8 \text{ ml/day}$, 1週 $192.9 \pm 188.8 \text{ ml/day}$, 2週 $237.1 \pm 111.2 \text{ ml/day}$ と増加傾向を示したが、いずれも有意の変化ではなかった。

尿蛋白：A群では前値 $18.3 \pm 10.8 \text{ mg/day}$, 1週 $131.6 \pm 88.4 \text{ mg/day}$, 2週 $216.1 \pm 242.7 \text{ mg/day}$ で、前と1週の間で有意の増加を示した。B群では前値 $21.1 \pm 13.1 \text{ mg/day}$, 1週 $246.0 \pm 136.1 \text{ mg/day}$, 2週 $239.0 \pm 158.9 \text{ mg/day}$, C群では前値 $23.3 \pm 28.0 \text{ mg/day}$, 1週 $108.5 \pm 92.3 \text{ mg/day}$, 2週 $118.6 \pm 76.2 \text{ mg/day}$ で、B群・C群ともに前と1週および前と2週の間で有意の増加がみられた。D群では前値 $15.3 \pm 11.1 \text{ mg/day}$, 1週 $57.9 \pm 44.9 \text{ mg/day}$, 2週 $125.1 \pm 49.7 \text{ mg/day}$ で、前と2週および1週と2週の間で有意の増加がみられた。

BUN：A群では前値 $18.1 \pm 1.3 \text{ mg/dl}$, 1週 $19.4 \pm 2.4 \text{ mg/dl}$, 2週 $21.9 \pm 2.4 \text{ mg/dl}$, B群では前値 $20.1 \pm 5.3 \text{ mg/dl}$, 1週 $23.0 \pm 4.0 \text{ mg/dl}$, 2週 $21.1 \pm 4.0 \text{ mg/dl}$, C群では前値 $18.1 \pm 2.9 \text{ mg/dl}$, 1週 $20.4 \pm 1.7 \text{ mg/dl}$, 2週 $22.0 \pm 4.0 \text{ mg/dl}$, D群では前値 $16.8 \pm 2.8 \text{ mg/dl}$, 1週 $16.3 \pm 4.9 \text{ mg/dl}$, 2週 $19.0 \pm 2.0 \text{ mg/dl}$ と全群で軽度の上昇傾向を示した。

血清Cr：A群では前値 $1.0 \pm 0.1 \text{ mg/dl}$, 1週 $1.8 \pm 0.8 \text{ mg/dl}$, 2週 $2.4 \pm 1.1 \text{ mg/dl}$ で、前値と1週、前値と2週および1週と2週で有意の上昇がみられた。UKを投与したB群、C群およびD群では有意の変動を示さなかった。

血漿Fbg：A群では前値 $163 \pm 81 \text{ mg/dl}$, 1週 $246 \pm 97 \text{ mg/dl}$, 2週 $293 \pm 143 \text{ mg/dl}$ で、前値と1週、前値と2週で有意の上昇を認めた。B群では前値 $210 \pm 141 \text{ mg/dl}$, 1週 $237 \pm 128 \text{ mg/dl}$, 2週 $120 \pm 63 \text{ mg/dl}$ で、前値と2週、とくに1週と2週で有意の減少がみられた。全経過を通じてUKを投与したC群、D群では明らかな変化はみられなかった。

血清FDP：A群では前値 $128.0 \mu\text{g/ml}$, 1週

Fig. 2 Histopathological findings
I: mild proliferation (P.) II: moderate P.
III: severe P. IV: crescent formation
V: hyalinization.

144±81μg/ml, 2週176±96μg/ml と軽度上昇を示したが有意の変化ではなかった。B群では前値71±61μg/ml, 1週42±42μg/ml, 2週128±59μg/mlで1週と2週の間で有意の上昇がみられた。C群では前値112±30μg/ml, 1週87±82μg/ml, 2週22±10μg/mlで前値と2週で有意の減少がみられた。

2. 腎組織所見

光顕：群別に各 Grade の所見が占める比率(%)を図2に示す。A群の糸球体は増殖傾向が強く、半月体形成・硝子化傾向がUK投与群より著明に認められた。B群では大多数の糸球体が中等度までの増殖性変化にとどまり、C群ではB群に比しやや半月体形成が強くみられ、D群ではB群と同じような変化がみられた。

蛍光抗体法：IgGの染色態度には4群間で明らかな差がなかった。Fb沈着にかんしては各群別の Grade の平均と個々の症例の平均を図3に示す。有意差は認められないが、Fbg沈着領域の広がりはおおむねC→D→B→Aの順であった。

III. 考 察

Vassalli & McCluskey が実験腎炎とくに馬杉腎炎について、糸球体内Fb沈着の腎炎進展過程における病因的役割を指摘¹⁾²⁾して以来、抗凝固療法によってこれらの病巣の進展を軽減しようとする幾つかの報告⁴⁾⁵⁾がなされている。しかしヒトの腎炎ではその発症を予知できない

Fig. 3 Crated fibrin deposits in glomeruli of each group (immunofluorescent microscopy)
Grade of fibrin deposition
1: scanty 2: moderate
3: massive

ために発症前に治療を開始することが不可能である。抗凝固療法ではFbの沈着は阻止しえても、すでに沈着したFbの除去は困難であるから、臨床的に腎炎を治療する立場から考えると、線溶促進療法の効果が期待できる。

今日のわれわれの成績をみると、対照群では、UK投与群に比べて血清Cr、血漿Fbg値の有意の上昇および血清FDP値の上昇傾向がみられたのに対し、UKを投与したC・D群では逆に血清FDP値の減少傾向が認められた。ただしB群では1週目よりUKを投与したにもかかわらずUK投与後にFDP値の有意の上昇がみられた。この点は腎炎発生後1週目すでに大量のFbが沈着していると考えられ、この時期よりUKを投与すれば糸球体内での線溶活性を高めるのでFDPの産生が一時的に増大するのではないかと考えられる。つぎに組織学的検索では、UK投与群は対照群に比し半月体形成ならびに硝子化傾向の軽減を示した。また蛍光抗体法によってもUK投与群においてFb沈着領域の減少傾向がうかがわれたが、IgG沈着の程度には明らかな差はなかった。

これらはUKが線溶能および、あるいは他の因子を介して馬杉腎炎の抑制効果を有することを示唆するものと考えられる。

ま と め

抗家兎背アヒル血清により馬杉腎炎を惹起させた家兎に線溶促進薬 UK を投与し、その効果を検討した。UK 投与により馬杉腎炎における血漿 Fbg の増加、糸球体内 Fb 沈着および増殖性変化が抑制され、血清 FDP が低下することから、UK が馬杉腎炎進展過程に対して抑制効果を有することが示唆された。

文 献

- 1) Vassalli, P. and McClusky, R. T.: The pathogenic role of the coagulation process in rabbit Masugi nephritis. *Amer. J. Pathol.*, **45**; 653, 1964.
- 2) Vassalli, P. and McClusky, R. T.: The pathogenic role of fibrin deposition in immunologically induced glomerulonephritis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **116**; 1052, 1964.
- 3) 石川兵衛, 林 需, 本庄 昭, 浜口尚重, 岡林正純, 辰己勝彦, 進藤敬久, 松島明彦: 腎炎の線溶療法にかんする臨床的研究 Urokinase の効果. *日腎誌*, **18**; 357, 1976.
- 4) Hapern, B., Milliez, P., Largrue, G., Fray, A. and Morard, J. C.: Protective action of heparin in experimental immune nephritis. *Nature*, **205**; 257, 1965.
- 5) 武内重五郎, 中本 安, 土肥和紘, 篠田 晤, 由利健久, 飯田博行: 糸球体障害の発生ならびに慢性化における糸球体内血液凝固の意義 *日内会誌*, **63**; 850, 1974.

<ABSTRACT>

The effects of fibrinolytic therapy with urokinase on Masugi nephritis in rabbits

by

Hyo ISHIKAWA, Motomu HAYASHI, Akira HONJO, Takashige HAMAGUCHI, Tetsuo MORITA, Masazumi OKABAYASHI and Takashige SHINDO

from

First Department of Internal Medicine, Nara Prefectural Medical College, Nara, Japan.

Since it was shown that anti-coagulant therapy suppressed glomerular lesions and intraglomer-

ular fibrin deposits referring to the activity of glomerular abnormality, intraglomerular coagulation has been considered significant as one of the glomerular injuring factors.

This experiment was to study the effects of fibrinolytic therapy with urokinase on Masugi nephritis in rabbits, in which a proliferative glomerulonephritis with fibrin deposits was induced by intravenous injection of anti-rabbit-kidney duck serum.

The following results were obtained from the treatment with urokinase.

- (1) plasma fibrinogen levels were not increased,
- (2) serum FDP levels decreased,
- (3) fibrin deposits and proliferative changes in the glomeruli suppressed histologically.

This study suggested that urokinase suppressed the developmental process of Masugi nephritis.

<DISCUSSION>

松田 保 (東京都老人研)

糸球体内へのフィブリン沈着は、腎障害の原因でしょうか。結果でしょうか。その何れかによって、ウロキナーゼが、直接馬杉腎炎を阻止するのか、フィブリンを溶解するために馬杉腎炎を阻止するのか。解釈が変わって来ると思います。なお、ヘパリンのような抗凝血薬や、抗血小板薬による効果については、ご研究でしょうか。

林 需 (奈良医科大学第一内科)

Vassalli & McCluskey の馬杉腎炎の実験モデルで報告されているように、現在では、免疫反応が trigger となるが、腎炎の進展・硬化に対して Fibrin 沈着が原因の 1 つと考えられています。

現在の所、われわれは他の薬剤についての検討はまだ実施しておりません。

安部 英 (帝京大学第一内科)

1) UK の臨床使用による効果はネフローゼ、慢性腎炎での尿蛋白を減少させることに有意の結果が得られています。これから UK はむしろ進行した増殖性変化に対して有効であろうと想像されます。

2) 急性腎炎に対する効果は実験条件、あるいは臨床例によって異なります。何れにしても死亡率や一定の病変が固定した後での評価が必要と思われるます。