腎保存に関する基礎的研究

特に腎エネルギー代謝を中心として

東京大学医学部泌尿器科学教室 宮 村 隆 三
(主任: 高安久雄教授)

STUDIES ON RENAL PRESERVATION: ENERGY METABOLISM OF THE PRESERVED KIDNEY

Ryuzo Miyamura

Department of Urology, Faculty of Medicine, The University of Tokyo
(Director: Prof. H. Takayasu)

The renal preservation has become one of the most important problems in human renal transplantation. The purpose of this paper is to find a better way to preserve the kidney, by evaluating energy metabolism and tissue respiration of the preserved canine kidneys. Hurbert and Potter's method (with column chromatography using Dowex-1 x-8 resin) was employed to the slices of the kidney to determine the renal adenosine nucleotides (ATP). Oxygen consumption (QO_2) was also determined in the cortex of the sliced kidney with Warburg manometer. Both parameters, ATP content and QO_2 , were the excellent methods to examine the viability of the preserved kidney. They declined gradually after storage for six hours and decreased markedly thereafter. As far as the preservation methods were concerned, hypothermic (4°C) saline immersion under hyperbaric oxygen atmosphere as well as the hypothermic perfusion with canine plasma plus 10% dextran (1:1) under hyperbaric oxygen atmosphere (3 atmospheres) was beneficial. Metabolic benefits were not seen after the storage by simple preservation at room temperature, hypothermic immersion alone, preservation under hyperbaric oxygen atmosphere, or the combination of the two latter.

When 10^{-4} M of inosine was mixed to the perfusate composed of canine plasma plus 10% dextran, ATP content in the kidney was significantly increased, thus inosine was proved efficacious to preserve the canine kidneys.

緒 言

ヒト同種腎移植は1950年代の初期より本格的に始り、以後免疫抑制剤の開発、組織適合性検査法の確立などにより慢性腎不全の根治療法の地位を確保しつつある。とくに最近ヒト同種腎移植においてはその半数以上が屍体腎移植であり¹⁾、法律的な問題ばかりでなく、道徳的、倫理的、感情的問題が解決されれば、その利用率は一段と増加するものと思われる。ここで問題となるのは腎保存法である。腎保存法が確立され、長期腎保存が可能となれば、ヒト同種腎移植の分野において長足の進歩が認められ、死の恐怖におのく慢性腎不全患者に光明と希望をもたらすものである。

従来までの腎保存法は保存腎の viability 決定という

点で若干の疑問があり、保存腎を移植し初めて保存が良かったか、または悪かったかが判明していた。したがって移植するまでは結果について推論することは不可能であつた訳である。

著者はこれらの点を考慮して、腎代謝の中心的存在である呼吸およびエネルギー代謝をとり上げた。腎の呼吸とエネルギー代謝は腎がその生理的作用として、酸塩基平衡の調節、レニン・アンギオテンシン系作用、さらに最も重要な尿生成という化学的仕事、特に、active transport を遂行する上の2つの大きな柱である。従来までの腎保存法に加えて若干の変法を行なつて腎を保存し、経時的にこれらの代謝特性を明らかにすることによつて、腎保存条件がどのように腎の代謝に影響を及ぼす

かを判定し、これらの観点より保存法の優劣を論ずるとともに、腎の viability 判定上における parameter として呼吸およびエネルギー代謝について論及したい。

実験方法

実験動物は雑種成犬（体重10～20kg）を用い、経腹膜的に摘出した腎臓について保存実験を行ない、その保存腎のエネルギー代謝、組織呼吸および保存腎に inosine を添加した場合の adenosine 系 nucleotide の変化を見た。

腎保存実験における対照として5頭の正常犬を用い、腎摘出直後の腎臓を実験に供した。次いで各種腎保存実験においては、各群とも正常犬3頭の保存腎を用い実験を行なった。

なお、本論文中には下記のごとき略号を用いた。

- AMP adenosine monophosphate
- ADP adenosine diphosphate
- ATP adenosine triphosphate
- UMP uridine monophosphate
- UDP uridine diphosphate
- UTP uridine triphosphate
- UDPAG uridine diphosphate-N-acetyl glucosamine
- UDPG uridine diphosphate glucose
- UDPGA uridine diphosphate glucuronic acid
- GMP guanosine monophosphate
- GDP guanosine diphosphate
- GTP guanosine triphosphate
- CMP cytidine monophosphate
- CDP cytidine diphosphate
- IMP inosine monophosphate
- NAD nicotine adenine dinucleotide
- HMP hexose monophosphate
- iP inorganic phosphate
- PRPP Phospho-ribosyl pyrophosphate
- RIP Ribose-1-phosphate

A. 保存方法

1) 室温保存

室温約20℃にて保存した。

2) 室温+高圧酸素（絶対3気圧）保存室温約20℃に

おいて高圧酸素下で保存した。

3) 生食浸漬保存

腎を生食にひたし、4℃にて保存した。

4) 生食浸漬+高圧酸素保存

4℃生食に浸漬し、高圧酸素（絶対3気圧）下で保存

図1 腎保存装置

図2 灌流装置

表1 灌流液の組成

Perfurate		
Plasma (canine)		500ml
10% LMD		500ml
3.7% KCL		5ml
10% Ca-gluconate		2.5ml
50% Glucose		10ml
Insulin		5μ
1 % Procain		25ml
Hydrocortisons		30mg
Chlorpromazine		50mg

した。

5) 灌流保存

図1、2のごとき装置を使用し、4℃にて腎を灌流した。灌流液は表1のごとき灌流液を使用した。血漿は他

の犬より取り、0.22 μ の millipore filter で濾過した。灌流量は毎分、2～3 ml とした。

6) 灌流+高圧酸素保存

上記5)に加えて高圧酸素(絶対3気圧)下にて保存した。

なお、腎保存に先立つて腎をヘパリン加生食にてwash out し、腎血管内の血液成分を可及的速かに除去して実験を行なった。

B. 腎 nucleotide の測定

保存腎の一部を経時的(1, 3, 6, 12, 24時間)に切除して腎の酸溶性分画を抽出し、Hurlbert, Potter²⁾³⁾⁴⁾の方法に従つてDowex-1, x8をギ酸型として用い、column chromatographyにより分画を行なった。必要があれば各分画を再 chromatography を行なった。

a) 酸溶性分画の抽出

腎3gを正確に秤量し、生食でよく洗った後、dry ice-acetoneにより凍結し、2倍量の冷0.6N過塩素酸(PCA)を加え、Elrehjem-Potter型ホモジナイザーにより氷冷しつつ処理し、3,000rpm 10分間遠沈し、次いで上清を取り去った沈渣に再び2倍量の0.2N PCAを加えて同様に処理し、上清を合わせて酸溶性分画とした。これを氷冷しつつphenol red 3滴を指示薬として、10N KOHで中和し、生ずるKClO₄を凍結法により除去した。この上清を約1.0 lの蒸留水とのかしてカラムに吸着せしめた。

b) カラムクロマトグラフィー

Dowex 1, x-8 (200～400mesh)をギ酸型として、内径0.8cm、長さ20cmのカラムにつめて蒸留水で洗い、通過液がpH4以上になった所で、a)の酸溶性分画を150cmH₂Oの圧で吸着せしめた。カラムのflutionはHurlbert, Potter²⁾³⁾⁴⁾らの方法に従つた。mixerに蒸留水500mlを入れreservoirには、

- 1) 蒸留水50ml+ 0.1Nギ酸 200ml
- 2) 1 Nギ酸 200ml
- 3) 4 Nギ酸 500ml
- 4) 4 Nギ酸+ 0.2Mギ酸アンモン 500ml
- 5) 4 Nギ酸+ 0.4Mギ酸アンモン 500ml
- 6) 4 Nギ酸+ 0.8Mギ酸アンモン 500ml

の順で加えた。各フラクションは10mlとし、40ml/hrの流速で行なつた。各分画を蒸留水をblankとして、Beckmann 型光電比色計(日立製、EPU-2A型)にて260m μ および 275m μ の吸光度を測定した。

c) 再クロマトグラフィー

NADP+GMP, ATP+UDP+UDPGA, UDPG+GDP+UDPAGなどの分画について行なつた。混合物を蒸留水、1.0 lにとかし、ギ酸型Dowex-1, x8 (200～400mesh) レジンの0.6×18cmのカラムに吸着せしめた。Potterらの方法により、1 Mギ酸アンモン 250ml 2 Mギ酸アンモン 250ml 2 Mギ酸アンモン+0.75Nギ酸 250mlの順で行なつた。

d) nucleotide の測定

各分画は各 nucleotide の260m μ における分子吸光係数より算出した。その係数の数値は、adenosine nucleotide 14,200, guanosine nucleotide 11,800, uridine nucleotide 9,900, cytidine nucleotide 6,800であり、GMP+NADP, NADは便宜上、分子吸光係数を10,000として計算した。各 nucleotide の量は、 μ mole/g 湿性重量で示した。

C. 呼吸実験⁶⁾

保存腎を経時的に切除し、腎皮質切片を作製し、Warburg 検圧計(OHTAKE)を用いて呼吸量を測定した。incubation media には 5×10^{-4} M succinate 0.1ml, 0.1 M phosphate buffer 0.5ml, 0.1M MgCl₂ 0.2ml, 0.03 M NaF 0.1ml, H₂O 0.8mlを加えた。ガス腔は純酸素を用い、38°Cの恒温槽で5分子振を行ない、1分間80回の振盪をし、15分、30分、60分までの値をよみとつた。呼吸商はQO₂として μ l/mg(乾燥重量)で示した。各保存法による保存腎のQO₂は正常犬3頭づつの平均値で表わした。

D. イノシン添加実験

6時間保存腎について、腎組織をとり出し、Krebs-Ringer緩衝液(ブドウ糖180mg/dl添加)pH7.4のもとで、イノシンを 10^{-4} M加え、1時間空気中でincubationを行ない、A)と同様にして、adenosine系のnucleotideの測定を行なつた。なお灌流保存では、灌流液にもイノシンを加えた。

実験結果

I. 腎の nucleotide

上記実験によつて経時的に得られた各種 nucleotide 系化合物の保存腎中における含有量の総和を求め、それに対する各種 nucleotide 系化合物の比率を計算することによつて、保存腎中の各種 nucleotide 系の比率の動きを知ることが出来る。そこで adenosine 系 nucleotide 量の和(AMP+ADP+ATP)を ΣA , guanosine 系 nucleotide 量の和[(GMP+NADP)+GDP+GTP]を ΣG , uridine 系 nucleotide 量の和(UMP+UDP+UDPGA+UDPAG+UDPG+UTP)を ΣU , cytidine 系 nucleotide 量の和

[CMP+ (CDP+IMP) +NAD+CDP-choline] を ΣC として表現し, $\Sigma A+\Sigma G+\Sigma U+\Sigma C$ を ΣN として示した. $\Sigma A/\Sigma N$ は総 nucleotide 量に対する adenosine 系 nucleotide の和の比率を示している. $\Sigma G/\Sigma N$, $\Sigma U/\Sigma N$, $\Sigma C/\Sigma N$ も同じ関係を示す. adenosine 系 nucleotide 中, AMP, ADP, ATP量の比率を示すものとして, ADP/ATP , AMP/ADP , で表わし, これによつて三者の変動の過程をうかがい知ることが可能である. 特に ADP/ATP 比は呼吸と共転する磷酸化反応の呼吸刺激を示す指標であるとされエネルギー代謝と呼吸との関連性を示すものとしてきわめて重要である. uridine 系および guanosine 系各 nucleotide についても adenosine 系 nucleotide と同様にその変動の過程を知るため, UDP/UTP , GDP/GTP を求めた. なお, 対照としての摘出腎の各 nucleotide 量は5頭の平均値士標準偏差で示した. 各種保存法における保存腎の各 nucleotide 量は3頭の平均値をもつて表示した.

1. 正常腎の nucleotide 量

正常イヌの腎 nucleotide は表 2-a, b に示すごとくで, 総 nucleotide 量は 4.07μ mole/g であつた. 呼吸補酵素であるNAD, NADP(Ad-x を除く) を加えた総 nucleotide に対する adenosine nucleotide 分画の比 $\Sigma A/\Sigma N$ は0.47であつた. $\Sigma G/\Sigma N$ は0.10, $\Sigma U/\Sigma N$ は0.25であつた. 呼吸補酵素である NAD 量は表 2-a のごとく, $0.64\pm 0.02\mu$ mole/gであつた. $ATP/\Sigma A$ は0.22であり, ADP/ATP , AMP/ADP はそれぞれ 1.24, 1.88であつた. $UTP/\Sigma U$ は0.04, UDP/UTP は1.87, GDP/GTP は0.91であつた.

2. 室温保存腎の nucleotide 量

室温保存腎の nucleotide 量は表 3-a, b に示すごとくで

図3 Adenosine nucleotide of preserved kidney at room temperature

あつた. 総 nucleotide 量に関しては, 3, 6時間と次第に減少し, 12時間ではすでに1/2以下となり, 24時間では対照の ΣN の30%まで減少した. adenosine nucleotide 中, ATPについてみると, 図3のごとく6時間ですでに50%以下となり, 24時間では30%となつた. guanosine,

表 2-a Nucleotide patterns of normal canine kidney

AMP	0.96±0.05
ADP	0.51±0.001
ATP	0.41±0.02
UMP	0.49±0.01
UDP	0.07±0.01
UDPGA	0.07±0.01
UDPAG	0.13±0.01
UDPG	0.22±0.02
UTP	0.39±0.004
GMP+NADP	0.21±0.007
GDP	0.10±0.003
GTP	0.11±0.003
CMP	0.42±0.002
CDP+IMP	÷ 0
NAD	0.64±0.02
CDP—choline	0.04±0.007
HMP	0.33±0.01

(μ mole/g) (n = 5, mean $\pm$ S.D.)

表 2-b Nucleotide patterns of normal canine kidney

ΣA	1.89±0.05
ΣU	1.01±0.04
ΣG	0.42±0.01
ΣC	0.72±0.01
ΣN	4.04
$\Sigma A/\Sigma N$	0.47
$\Sigma G/\Sigma N$	0.10
$\Sigma U/\Sigma N$	0.25
$ATP/\Sigma N$	0.22
$UTP/\Sigma U$	0.04
ADP/ATP	1.24
AMP/ADP	1.88
UDP/UTP	1.87
GDP/GTP	0.81

(μ mole/g) (n = 5, mean $\pm$ S.D.)

表 3-a Nucleotide patterns of preserved kidney at room temperature

	3°	6°	12°	24°
AMP	0.82	0.39	0.37	0.30
ADP	0.48	0.28	0.17	0.07
ATP	0.37	0.19	0.17	0.09
UMP	0.41	0.26	0.20	0.18
UDP	0.07	0.04	0.03	0.02
UDPGA	0.05	0.04	0.04	0.03
UDPAG	0.14	0.09	0.07	0.06
UDPG	0.19	0.15	0.10	0.08
UTP	0.03	0.02	0.02	0.01
GMP+NADP	0.18	0.15	0.10	0.08
GDP	0.08	0.06	0.05	0.04
GTP	0.10	0.08	0.07	0.07
CMP	0.04	0.03	0.03	0.02
CDP+IMP	÷ 0	0	0	0
NAD	0.46	0.40	0.23	0.15
CDP—choline	0.03	0.02	0.01	0.01
HMP				

(μmole/g) (n = 3, mean)

表 4-a Nucleotide patterns of preserved kidney at room temperature with hyperbaric O₂

	1°	3°	6°	12°	24°
AMP	0.71	0.85	0.62	0.60	0.51
ADP	0.46	0.46	0.22	0.28	0.10
ATP	0.41	0.39	0.19	0.24	0.21
UMP	0.48	0.46	0.44	0.31	0.22
UDP	0.08	0.07	0.07	0.07	0.03
UDPGA	0.07	0.05	0.04	0.04	0.03
UDPAG	0.14	0.11	0.09	0.08	0.08
UDPG	0.21	0.21	0.16	0.15	0.14
UTP	0.04	0.04	0.03	0.03	0.03
GMP+NADP	0.21	0.16	0.14	0.14	0.13
GDP	0.07	0.07	0.06	0.05	0.05
GTP	0.12	0.09	0.07	0.07	0.07
CMP	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02
CDP+IMP	0	0	0	0	0
NAD	0.61	0.44	0.57	0.50	0.31
CDP—choline	0.03	0.03	0.02	0.03	0.02
HMP					

(μmole/g) (n = 3, mean)

表 3-b Nucleotide patterns of preserved kidney at room temperature

	3°	6°	12°	24°
ΣA	1.68	0.86	0.71	0.45
ΣU	0.90	0.62	0.45	0.38
ΣG	0.36	0.29	0.23	0.19
ΣC	0.53	0.46	0.27	0.18
ΣN	3.47	2.23	1.66	1.20
ΣA/ΣN	0.48	0.39	0.43	0.38
ΣG/ΣN	0.10	0.13	0.14	0.16
ΣU/ΣN	0.26	0.28	0.27	0.32
ATP/ΣA	0.22	0.22	0.24	0.19
UTP/ΣU	0.03	0.03	0.03	0.04
ADP/ATP	1.30	1.47	1.0	0.8
AMP/ADP	1.71	1.40	2.18	4.29
UDP/UTP	2.33	2.05	2.13	1.45
GDP/GTP	0.79	0.80	0.66	0.62

(μmole/g) (n = 3, mean)

表 4-b Nucleotide patterns of preserved kidney at room temperature with hyperbaric O₂

	1°	3°	6°	12°	24°
ΣA	1.60	1.70	1.02	1.12	0.81
ΣU	1.02	0.94	0.83	0.67	0.52
ΣG	0.39	0.32	0.28	0.25	0.24
ΣC	0.68	0.50	0.62	0.55	0.34
ΣN	3.69	3.46	2.75	2.60	1.92
ΣA/ΣN	0.43	0.49	0.37	0.43	0.42
ΣG/ΣN	0.11	0.09	0.10	0.10	0.13
ΣU/ΣN	0.28	0.27	0.30	0.26	0.27
ATP/ΣA	0.26	0.23	0.18	0.22	0.25
UTP/ΣU	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05
ADP/ATP	1.09	1.17	1.16	1.17	0.48
AMP/ADP	1.57	1.85	2.82	2.14	5.1
UDP/UTP	2.08	1.82	2.16	2.35	1.23
GDP/GTP	0.68	0.86	0.89	0.73	0.68

(μmole/g) (n = 3, mean)

uridine 系についてもこの傾向は変らなかつた。NAD はこれも3時間までは0.46 μ mole/g とほぼ保持されていたが、6時間以後になると減少した。ATP/ Σ A は比較的变化らず12時間まではほぼ同じであるが、24時間ではやはり低下している。ADP/ATP は12時間で低下を示した。AMP/ADP は、12、24時間と増加していた。UTP/ Σ U は24時間でもほぼ不変であり、UDP/UTP は上昇、次いで下降し、GDP/GTP はやや減少の傾向を示した。

3. 室温+高圧酸素保存腎の nucleotide 量

Σ N は表 4-a, b に示すごとくである。対照に比べ6、12時間で約60%, 24時間で46%に減少した。ATPは図 4 に示すように6時間で急に低下し、あとはなだらかに低下した。ATP/ Σ A は1時間で上昇し、6時間で低下しているが24時間で再び上昇している。AMP/ADP は3時間までは低下し、以後上昇している。UTP/ Σ U は12、24時間で上昇している。UDP/UTP は3時間まで変わらず、6、12時間で上昇し、24時間で低下している。GDP/GTP

図 4 Adenosine nucleotide of preserved kidney at room temperature with hyperbolic O₂

は1時間で低く、3、6時間と上昇し、12、24時間で減少している。

4. 生食浸漬保存腎の nucleotide 量

Σ N は表 5-a, b に示すごとく時間の経過とともに低下しているが、割とゆるやかに低下し、24時間で対照群の Σ N の約1/2であつた。ATP は図5に示すごとく12時間で2/3、24時間で約1/3に低下している。ATP/ Σ A は6時間までほとんど変わらず、12時間で上昇し、24時間で低下している。ADP/ATP は1、3時間と低下し、6、12時間で上昇し、24時間で再び低下している。AMP/ADP はADP/ATP と逆に、1、3時間で上昇し、12時間で低下し、24時間で上昇している。UTP/ Σ U は24時間で上

表 5-a Nucleotide patterns of preserved kidney by saline-immersion

	1°	3°	6°	12°	24°
AMP	0.94	0.93	0.56	0.57	0.45
ADP	0.45	0.41	0.36	0.37	0.17
ATP	0.38	0.37	0.27	0.27	0.15
UMP	0.46	0.43	0.42	0.38	0.25
UDP	0.08	0.07	0.08	0.06	0.05
UDPGA	0.06	0.06	0.06	0.06	0.05
UDPAG	0.13	0.12	0.11	0.11	0.10
UDPG	0.21	0.21	0.19	0.17	0.16
UTP	0.03	0.04	0.04	0.03	0.03
GMP+NADP	0.21	0.20	0.18	0.15	0.12
GDP	0.09	0.07	0.06	0.07	0.05
GTP	0.13	0.10	0.08	0.07	0.06
CMP	0.03	0.03	0.03	0.03	0.02
CDP+IMP	0	0	0	0	0
NAD	0.59	0.55	0.53	0.39	0.39
CDP—choline	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03
HMP					

(μ mole/g) (n = 3, mean)

表 5-b Nucleotide patterns of preserved kidney by saline-immersion

	1°	3°	6°	12°	24°
Σ A	1.78	1.70	1.18	0.93	0.77
Σ U	0.98	0.92	0.90	0.81	0.64
Σ G	0.42	0.37	0.33	0.29	0.23
Σ C	0.65	0.62	0.59	0.45	0.44
Σ N	3.83	3.61	3.09	2.49	2.07
Σ A/ Σ N	0.47	0.47	0.38	0.37	0.37
Σ G/ Σ N	0.11	0.10	0.11	0.12	0.11
Σ U/ Σ N	0.26	0.26	0.29	0.33	0.31
ATP/ Σ A	0.21	0.21	0.23	0.29	0.19
UTP/ Σ U	0.03	0.04	0.04	0.04	0.05
ADP/ATP	1.18	1.11	1.33	1.37	1.13
AMP/ADP	2.09	2.27	1.56	1.54	2.65
UDP/UTP	2.24	2.0	2.05	1.88	1.70
GDP/GTP	0.62	0.69	0.77	0.97	0.81

(μ mole/g) (n = 3, mean)

図5 Adenosine nucleotide of preserved canine kidney by saline-immersion (4℃)

昇しているが、その他の時間では変わらない。UDP/UTP は6時間で上昇し、12、24時間と低下している。GDP/GTP は6時間までは低下しているが、12時間で上昇、24時間で多少低下している。

5. 生食浸漬+高圧酸素保存腎の nucleotide 量

ΣN は表 6-a, b に示すごとく時間とともに低下しているが、24時間で対照の ΣN の58%と割と良く保たれている。ATP は図 6 に示すごとく12時間で対照の70%、24時間で58%保たれている。ATP/ΣA はほとんど変わらない

図6 Adenosine nucleotide of preserved kidney by saline-immersion with hyperbaric O₂ (4℃)

が、24時間で多少低下している。ADP/ATP はほぼ変わらず12時間で多少上昇している。AMP/ADP は、1、3時間と軽度上昇し、6時間ではほとんど不変であるが24時間でかなり上昇している。UDP/UTP は6、12時間で上昇しているが、24時間で多少低下している。GDP/GTP はすべて低下している。

表 6-a Nucleotide patterns of preserved kidney by saline-immersion with hyperbaric O₂

	1°	3°	6°	12°	24°
AMP	0.95	0.88	0.70	0.57	0.60
ADP	0.42	0.40	0.38	0.38	0.19
ATP	0.42	0.36	0.33	0.28	0.19
UMP	0.46	0.45	0.43	0.36	0.25
UDP	0.07	0.07	0.08	0.08	0.05
UDPGA	0.07	0.06	0.08	0.07	0.05
UDPAG	0.13	0.13	0.13	0.12	0.11
UDPG	0.22	0.22	0.19	0.16	0.16
UTP	0.04	0.04	0.04	0.03	0.03
GMP+NADP	0.20	0.19	0.19	0.15	0.13
GDP	0.09	0.09	0.08	0.07	0.07
GTP	0.11	0.12	0.12	0.11	0.10
CMP	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03
CDP+IMP	0	0	0	0	0
NAD	0.59	0.59	0.62	0.43	0.38
CDP—choline	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
HMP					

(μmole/g) (n = 3, mean)

表 6-b Nucleotide patterns of preserved kidney by saline-immersion with hyperbaric O₂

	1°	3°	6°	12°	24°
ΣA	1.79	1.64	1.41	1.22	0.99
ΣU	1.04	0.93	0.94	0.82	0.64
ΣG	0.40	0.40	0.38	0.33	0.30
ΣC	0.66	0.65	0.68	0.49	0.43
ΣN	3.89	3.62	3.41	2.86	2.36
ΣA/ΣN	0.46	0.45	0.33	0.43	0.42
ΣG/ΣN	0.10	0.11	0.11	0.12	0.13
ΣU/ΣN	0.27	0.26	0.28	0.29	0.27
ATP/ΣA	0.24	0.22	0.23	0.22	0.19
UTP/ΣU	0.04	0.04	0.04	0.04	0.05
ADP/ATP	1.0	1.11	1.15	1.41	1.0
AMP/ADP	2.26	2.20	1.87	1.50	3.16
UDP/UTP	1.76	1.83	2.05	2.33	1.72
GDP/GTP	0.77	0.72	0.65	0.65	0.74

(μmole/g) (n = 3, mean)

表 7-a Nucleotide patterns of preserved kidney by perfusion

	1°	3°	6°	12°	24°
AMP	0.93	0.73	0.60	0.58	0.70
ADP	0.57	0.42	0.37	0.42	0.25
ATP	0.39	0.37	0.32	0.22	0.17
UMP	0.47	0.44	0.44	0.31	0.26
UDP	0.08	0.07	0.07	0.07	0.06
UDPGA	0.06	0.06	0.05	0.04	0.05
UDPAG	0.13	0.13	0.12	0.11	0.11
UDPG	0.23	0.22	0.19	0.15	0.11
UTP	0.04	0.04	0.04	0.04	0.03
GMP+NADP	0.22	0.22	0.21	0.18	0.18
GDP	0.09	0.08	0.07	0.07	0.07
GTP	0.11	0.12	0.11	0.11	0.07
CMP	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03
CDP+IMP	0	0	0	0	0
NAD	0.61	0.58	0.51	0.46	0.50
CDP—choline	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
HMP					

(μmole/g) (n = 3, mean)

表 7-b Nucleotide patterns of preserved kidney by perfusion

	1°	3°	6°	12°	24°
ΣA	1.90	1.52	1.29	1.22	1.12
ΣU	1.00	0.96	0.91	0.72	0.61
ΣG	0.43	0.41	0.39	0.36	0.32
ΣC	0.68	0.65	0.57	0.52	0.55
ΣN	4.01	3.54	3.16	2.82	2.60
ΣA/ΣN	0.48	0.43	0.41	0.43	0.43
ΣG/ΣN	0.11	0.12	0.12	0.13	0.12
ΣU/ΣN	0.25	0.27	0.28	0.26	0.24
ATP/ΣA	0.21	0.24	0.25	0.18	0.15
UTP/ΣU	0.04	0.04	0.04	0.05	0.06
ADP/ATP	1.46	1.14	1.16	1.91	1.47
AMP/ADP	1.63	1.74	1.62	1.38	2.8
UDP/UTP	1.85	1.88	1.77	1.87	1.79
GDP/GTP	0.80	0.62	0.73	0.68	0.97

(μmole/g) (n = 3, mean)

6. 灌流保存腎の nucleotide 量

ΣN は表 7-a, b のごとくである。対照の ΣN を 100% とした場合, 12時間で約69%, 24時間で64%が保たれている。ATPは図7のごとく12時間で約50%に, 24時間では41%に低下している。ATP/ΣA は, 3, 6時間と多少上昇し, 12, 24時間で低下している。ADP/ATP は1, 12, 24時間で上昇しているが, 3, 6時間では軽度低下している。

図7 Adenosine nucleotide of preserved kidney by perfusion (4°C)

図8 Adenosine nucleotide of preserved kidney by perfusion with hyperbaric O₂ (4°C)

7. 灌流+高圧酸素保存腎の Nucleotide 量

ΣN は表 8-a, b のごとくである。対照の ΣN に比し, 6時間で75%, 24時間で57%が保たれていた。ATP は図8のごとく6時間で79%, 24時間で36%が保たれている。ATP/ΣA は3時間より上昇しているが, 24時間で低下している。AMP/ADP は3時間で軽度上昇し, 6, 12時間と低下し, 24時間で再び上昇している。UDP/UTP

表 8-a Nucleotide patterns of preserved kidney
by perfusion with hyperbaric O₂

	1°	3°	6°	12°	24°
AMP	0.95	0.78	0.62	0.59	0.43
ADP	0.56	0.41	0.38	0.45	0.21
ATP	0.41	0.38	0.32	0.29	0.15
UMP	0.47	0.45	0.41	0.32	0.27
UDP	0.08	0.08	0.08	0.08	0.07
UDPGA	0.05	0.05	0.05	0.04	0.05
UDPAG	0.13	0.13	0.13	0.11	0.12
UDPG	0.22	0.21	0.21	0.17	0.11
UTP	0.04	0.03	0.03	0.03	0.03
GMP+NADP	0.23	0.23	0.22	0.21	0.19
GDP	0.09	0.07	0.07	0.07	0.07
GTP	0.11	0.11	0.11	0.11	0.06
CMP	0.04	0.04	0.03	0.03	0.03
CDP+IMP	0	0	0	0	0
NAD	0.70	0.69	0.69	0.49	0.49
CDP—choline	0.40	0.04	0.03	0.03	0.03
HMP					

(μmole/g) (n = 3, mean)

表 8-b Nucleotide patterns of preserved kidney
by perfusion with Hyperbaric O₂

	1°	3°	6°	12°	24°
ΣA	1.92	1.57	1.00	1.04	0.80
ΣU	0.99	0.95	0.91	0.75	0.64
ΣG	0.42	0.41	0.40	0.39	0.32
ΣC	0.77	0.76	0.75	0.55	0.55
ΣN	4.10	3.69	3.06	2.73	2.31
ΣA/ΣN	0.47	0.43	0.33	0.38	0.35
ΣG/ΣN	0.10	0.11	0.13	0.14	0.14
ΣU/ΣN	0.24	0.26	0.30	0.24	0.28
ATP/ΣA	0.21	0.24	0.32	0.28	0.19
UTP/ΣU	0.04	0.03	0.03	0.04	0.05
ADP/ATP	1.37	1.08	1.19	1.55	1.40
AMP/ADP	1.70	1.90	1.63	1.31	2.05
UDP/UTP	2.31	2.70	2.79	2.62	2.33
GDP/GTP	0.85	0.66	0.67	0.63	1.08

(μmole/g) (n = 3, mean)

表 9 Respiration of kidney

Control	15'	7.33 (μlO ₂ /mg)		
	30'	13.40	//	
	60'	20.23	//	
time of preserv.		6°	12°	24°
room temp.	15'	4.78	2.08	0.61
	30'	8.02	3.16	0.78
	60'	10.04	3.38	0.96
room temp. + Hyper. O ₂	15'	4.25	1.74	0.47
	30'	6.30	2.96	0.70
	60'	8.13	3.15	0.81
saline-immers. (4°C)	15'	5.16	2.67	0.62
	30'	10.80	5.41	0.82
	60'	19.26	11.64	1.25
saline-immers. + hyper. O ₂	15'	4.86	2.90	0.92
	30'	9.26	5.75	1.34
	60'	17.93	12.93	1.69
Perfusion (4°C)	15'	5.35	2.67	0.78
	30'	11.05	4.87	0.94
	60'	15.55	9.7	1.37
Perfusion + hyper. O ₂	15'	5.60	4.69	1.22
	30'	10.65	6.70	1.88
	60'	18.6	11.57	2.01

はすべて上昇している。GDP/GTP は3時間より12時間まで減少し、24時間で軽度上昇している。

II. 腎の呼吸 (酸素消費)

1. 正常腎の呼吸 (Q_{O₂})

イヌ正常腎の Q_{O₂} は表 9 に示すごとくで15分7.33, 30分 13.40, 60分 20.23μ l_{O₂}/mgであつた。各値は3頭の平均値を表示した。

2. 室温保存腎の呼吸

室温保存腎の呼吸をみると、長期保存したものほど呼吸 (Q_{O₂}) が低率であつた (図 9)。すなわち、60分値でみると正常腎の Q_{O₂} を100%とした場合、6時間保存腎 49.6%、12時間保存腎16.7%、24時間保存腎で 4.7%であつた。

3. 室温+高圧酸素保存腎の呼吸

表 9 および図10に示すごとく、6時間保存腎では60分値で正常腎の Q_{O₂} の40.1%に低下し、12時間保存腎では15%となる。24時間保存腎では極度に低下し、4%となつている。

図9 Respiration of preserved kidney at room temperature

図10 Respiration of preserved kidney at room temperature with hyperbaric O₂

図11 Respiration of preserved kidney by saline-immersion

図12 Respiration of preserved kidney by saline-immersion with hyperbaric O₂

4. 生食浸漬保存腎の呼吸

図11に示すごとく、6時間保存腎では60分値で92%と非常に正常腎に近い。12時間保存腎で57%である。また、15分値、30分値、60分値と次第に正常腎の値に近づいており、反応時間が長いほど正常腎に回復する能力のあることを示している。しかし、24時間保存腎ではやはり6%と低値を示している。

5. 生食浸漬+高圧酸素保存腎の呼吸

図12に示すごとく、6時間保存腎では60分値で88%を示し、生食浸漬のみの保存の方が多少高値を示すようである。24時間保存腎では8.3%とやはり低い。

6. 灌流保存腎の吸呼

図13に示すごとく、6時間保存腎で60分値77%、12時間保存腎で48%、24時間保存腎で6.7%であった。6時間、12時間保存腎ともに15分値より60分値の方が正常に近づいている。すなわち保存腎の回復力が有るものと思

図13 Respiration of preserved kidney by perfusion

図 13

われる。

7. 灌流+高圧酸素保存腎の呼吸

図14に示すごとく、6時間保存腎で92% (60分値)、12

図14 Respiration of preserved kidney by perfusion with hyperbaric O₂

表10 Addition of Inosine

Room temperature

	6°	+Inosine (10 ⁻⁴ M)			
		1	2	3	mean
AMP	0.40	0.45	0.42	0.41	0.43
ADP	0.30	0.31	0.35	0.30	0.32
ATP	0.18	0.22	0.24	0.20	0.22

(μmole/g)

saline smmersion with hyperbaric O₂

	6°	+Inosine (10 ⁻⁴ M)			
		1	2	3	mean
AMP	0.63	0.63	0.67	0.63	0.64
ADP	0.45	0.46	0.47	0.38	0.44
ATP	0.33	0.34	0.38	0.35	0.36

Perfusion with hyperboric O₂

	6°	+Inosine (10 ⁻⁴ M)			
		1	2	3	mean
AMP	0.65	0.66	0.63	0.63	0.64
ADP	0.41	0.40	0.41	0.43	0.42
ATP	0.37	0.41	0.39	0.43	0.41

時間保存腎57%であつた。24時間保存腎では約10%であつた。

Ⅲ. 腎保存に対する inosine 添加の影響

6時間、腎を保存後、腎の一部をとり出し、これにinosineを添加して60分間 incubate し、adenosine nucleotideを測定した。実験成績Ⅰでものべたごとく adenosine nucl-

eotide は腎保存により減少するが、inosine を10⁻⁴M 添加すると表10のごとく室温保存、生食浸漬+高圧酸素保存腎では著明ではないが、灌流+高圧酸素保存腎でATP量およびΣA量の増加が認められた。

考 案

従来より腎保存法には大きくわけて、

i) 腎の代謝を抑制または停止せしめて保存する方法
ii) 腎に in situ と同じかまたはほぼ同じような状態で代謝を行なわせて保存する方法が考えられている。前者には低温保存法、冷凍保存法⁷⁾が入り、後者には高圧酸素保存法、灌流保存法がある。実際にはこれらの保存法のいくつかの組合せにより行なわれているものが多い。低温保存法では、内山⁸⁾のイヌ腎の4℃生食浸漬保存による48時間保存の成功例が報告されている。この場合保存腎移植後4週目に対側腎を腎摘し、8匹中2匹(25%)が生存したという。冷凍保存法は、凍害防止剤としてGlycerol, Dimethyl-sulfoxide(DMSO), Dextran等が使用されている。Mundthら⁹⁾は-20℃に冷凍後、腎移植を行ない、14匹中2匹が長期生存したという。

灌流保存に関する報告は多数あるが、灌流温度、灌流圧、灌流量、灌流液成分等、多くの問題があり報告者はそれぞれ独自の灌流装置や、technique を使用しておりいまだ一定の方法は確立されていない状態である¹⁰⁾。Humphriesら¹¹⁾は、5日間灌流保存により14匹中1匹が成功したという。これは稀釈血漿を10℃で灌流したもので、腎保存実験では最長の記録である。またBelzenら¹²⁾はイヌ腎保存実験で血漿を8〜12℃で灌流し、24時間、72時間保存に成功している。この場合対側腎摘は移植と同時に進められている。また彼ら¹³⁾は、ヒト腎移植において、同様な保存法により屍体腎を17時間保存し、移植に成功している。

以上のべたごとく著者は文献的考察より灌流保存法がヒト腎移植において現在最も長期保存が可能であるとの成績より灌流保存法に重点を置き、これらと他の保存法との比較検討を試みた訳である。著者は比較検討のparameterとして各種腎保存法における保存腎の呼吸ならびにエネルギー代謝に注目して、酸素消費、各種Nucleotideの定量を経時的に行ない前記のような成績を得たが、これらの腎保存法の相互間における成績につき比較検討する。

まず腎のエネルギー代謝の代表とでも云うべきATPの変動についてみると、各腎保存法で云えることは保存時間が6時間または12時間を越えるとATP量は極度に

低下して来る点である。特に室温保存では6時間保存で ATP の量は $\frac{1}{2}$ 以下に下つて来ている。このことは腎の高エネルギー磷酸化合物が血液遮断、温度の変化、酸素欠乏などにより次第に消費され分解されていくことを物語っている。これを裏づけるものとしての総 adenosine nucleotide 総 nucleotide の減少も著しい。同時に測定出来た腎の呼吸補酵素であると云われている NAD も減少して来ている。これらの事実より腎の ATP を代表とするエネルギーレベルが低下して来ていることが推定されよう。

一方、in vitro における腎皮質の呼吸も腎の adenosine nucleotide と同様に6時間を境として減少して来ていることが考えられる。したがつて、これらの保存法では腎のエネルギーレベルを十分保つことは難しいものと考えられる。各種保存法のうち、adenosine nucleotide 系では、灌流+高圧酸素保存法が比較的他の保存法に比して ATP 量を低下させないように思われる。灌流液は表1のごとく比較的通常の血漿に近いものであり、酸素の補給も高圧酸素絶対3気圧のため比較的良好である。しかし、高圧酸素は呼吸酵素の活性阻害剤であると云われており、その意味で腎 NAD の減少は保存上意義あるものと考えたい。

酸素消費量で各種保存法をみると、灌流保存以外は高圧酸素を用いない方が保存後の酸素消費が高値を占めていることより、高圧酸素が呼吸という点で問題が残るように思われる。

腎の最も重要な仕事の1つは尿生成である。これは腎の尿細管の電解質の transport により行なわれるものである。特に Henle loop の上向脚における電解質、なかんづく Na の transport は active transport であるといわれている。この active transport を支えるものは腎のエネルギー代謝であり、膜 ATPase による ATP を ADP に分解することより得られるものである。ATP が分解して生じた ADP は腎の酸化的磷酸化を促進せんと couple する酸素消費を増大せしめる訳である。

対象として検討したイヌ腎では、総 nucleotide が他の臓器に比して低いこと、NAD の量が多いこと、酸素消費が高値を占めていることなどが特徴的である¹⁴⁾。酸素消費量が多く、NAD 量が多いことは腎での細胞呼吸が活発に行なわれていることの証拠である。一般に組織の呼吸は、oxidative phosphorylation に左右されると云われており、この意味での oxidative phosphorylation が活発に働いていることを想定させるものである。腎での

表11 酸化的リン酸化の分布とその機構 (E. Racker¹⁵⁾による)

oxidative phosphorylation は高 energy 磷酸化合物である ATP を最も能率よく產生する system で、腎の mitochondria 中に存在している。

この oxidative phosphorylation は Racker¹⁵⁾ によると表11のごとく示される。ここで示された $A \sim X$, $X \sim P$ などは高エネルギー中間体 (high energy intermediate) であり、高エネルギー ATP 產生の中間的存在である。一方腎の仕事として、Na の transport を例にとつてみると、

- 1) 濃度勾配に逆らつて Na をとり込む仕事、すなわち化学的 (chemical) な仕事。
- 2) 電位勾配に逆らつて Na とり込みを行なう仕事、すなわち電氣的 (electrical) な仕事。
- 3) 膜の内部抵抗に逆らつて Na を吸収する機械的 (mechanical) な仕事。

表12 腎尿細管における Na 輸送のための仕事の計算

		近位曲 尿細管	ヘンレ 係 蹄 上行脚	遠位曲 尿細管	集合管
Na 再 吸収の 仕 事 (cal/Eq Na)	化学的	0	252	682	935
	電氣的	462	254	1,386	323
	機械的	54	163	97	18
	合 計	516	669	2,165	1,276

(藤本守¹⁶⁾による)

に分けられる。これらの仕事量を Na (Eq) の transport に要するエネルギーで示すと¹⁶⁾、表12のごとくで Henle の上行脚より集合管にかけて相当なエネルギーが必要であることがわかる。これを仕事別に合計すると、

chemical work 1869cal/Eq Na
electrical work 2425 //
mechanical work 332 //

であり、electrical work と chemical work が圧倒的にエネルギーを必要としていることがわかる。

従来より腎の仕事はすべて高エネルギー ATP がエネルギー源であるとされていたが、Lehninger ら¹⁷⁾¹⁸⁾は ATP が主として利用されるのは生成などの主として chemical な仕事であり、mechanical および浸透圧の仕事は、oxidative phosphorylation の高エネルギー中間代謝産物の加水分解によつて行なわれるものであることを示した。この点よりすれば Na の transport のうち、 $\frac{2}{5}$ は chemical、 $\frac{3}{5}$ は electrical および mechanical な仕事により行なわれるものと考えられよう。

腎保存の際、腎 ATP 量の減少が著しいが、chemical な仕事はこれで行なうことが出来ても electrical および mechanical な仕事に関しては十分であるとは云い得ない訳である。oxidative phosphorylation の刺激を示す indicator として、ADP/ATP 比が認められているが、各種腎保存法については灌流保存法が比較的長期にこれを保存しているように思われる。このように現在腎保存法について、 Q_{O_2} 、腎エネルギー代謝を parameter としてみると、保存時間が長いほど ATP の減少は著しく、 Q_{O_2} も減少しているが、腎保存法の中では、灌流+高圧酸素保存法が最も良く、ATP 量の保存が良く、かつ Q_{O_2} も良好であると考えられる。このように腎での ATP の減少は各保存法ともに6時間で著しいが、これは ATP の分解によるものと思われる。ATP の分解は、

の反応系で ATPase の作用によるものと思われる。一方、正常の腎では、glucose を燃料としてこれが解糖系、krebs の cycle に入ることによつて、ATP が生れるのであるが、これらの保存状態では substrate linked phosphorylation も oxidative phosphorylation もほとんど働かないものと考えられる。かつ ATP の分解で生じた ADP は腎が正常な状態では myokinase の作用によつて $2\text{ADP} = \text{ATP} + \text{AMP}$ なる反応によつて ATP を生ずる訳であるが、各種の保存状態では ATP の合成、再合成はほと

表13 ATP合成並びに破壊に関する仮説
(中尾真ら¹⁹⁾による)

んど行なわれず ATP の分解の方向に向うものと考えられる。

以上のべてきたごとく、腎保存時における ATP レベルの低下は腎保存上の有力な viability の indicator である。6時間保存により ATP レベルが低下することよりして保存後この ATP レベルを回復してやる事が出来れば腎保存上有力な手段となり得る訳である。著者はこの点より ATP の再合成の手段として inosine を原料として保存腎に加えた実験を行なつた。この結果 ATP レベルの上昇が表10にみるごとく上昇している。この機序としては表13に示すごとく inosine より hypoxanthine, ribose-1-p 次いで ribose-5-p を経て PRPP の合成次いで $\text{AMP} \rightarrow \text{ADP} \rightarrow \text{ATP}$ の再生を来たす経路と Embden-Meyerhof または Warburg-Dickens の回路を経て ATP 生成を来たす経路が想定されている¹⁹⁾。小磯ら²⁰⁾の C^{14} -8-adenine と inosine を保存腎に加えて ATP レベルをみた実験で ATP に C^{14} の activity があることより $\text{PRPP} \rightarrow \text{AMP} \rightarrow \text{ADP} \rightarrow \text{ATP}$ の経路があることは確実であろう。一方、理論的には Embden-Meyerhof 回路より ATP の合成も可能であるので、この経路よりの合成もありうると思われる。このように保存腎に inosine 添加を行なうことは ATP レベルを引き上げておくのに有力な手段であると思われるが、この反応はどちらかといえば substrate linked phosphorylation の経路をとっているため高エネルギー中間体の生成はほとんど認められない訳である。しかも腎では尿の濃縮、生成という意味ではこの高エネルギー中間体が利用されるという意味では必ずしも腎機能の本質には影響を与えないかもしれない。しかし、機械的な仕事として ATP が利用されるような状態ではこの

新たに合成された ATP が利用され、間接的には腎機能の維持に寄与するものであろう。

総括および結語

腎移植のための腎保存を目的として、

- i) 室温保存 (20°C)
- ii) 室温+高圧酸素 (絶対 3 気圧) 保存
- iii) 生食浸漬 (4°C) 保存
- iv) 生食浸漬+高圧酸素保存
- v) 灌流保存 (4°C)
- vi) 灌流+高圧酸素保存

の 6 種の方法によりイヌ腎の 24 時間保存を行ない、各保存腎の viability の parameter として腎のエネルギー代謝および腎の組織呼吸を測定した。最後に腎のエネルギー源としての ATP 量を維持させる目的で保存腎に inosine を加え、その影響をみた。

I. 腎のエネルギー代謝

各保存腎の一部を経時的に切除し、カラムクロマトグラフィーにより腎の Nucleotide を測定した。

(1) 上記 6 種の保存法では時間の経過とともに Adenosine, Σ Nucleotide および ATP 量の減少を認めた。

(2) 室温保存および室温+高圧酸素保存では 6 時間保存ですでに ATP 量が $1/2$ 以下に低下した。

(3) 保存腎の ATP 量の維持という点では、灌流+高圧酸素および生食浸漬+高圧酸素保存法が他の保存法よりすぐれていた。

II. 腎の呼吸

各保存法により、6, 12, 24 時間保存を行ない、保存腎の組織呼吸を Warburg manometer により酸素消費量を測定した。

(1) 各保存法とも保存時間が延長するにしたがい、酸素消費が低下し、室温保存および室温+高圧酸素保存腎では 6 時間で正常腎の約 $1/2$ に低下した。

(2) 生食浸漬保存、生食浸漬+高圧酸素保存、灌流保存、灌流+高圧酸素保存法においては、12 時間保存で酸素消費が正常腎の約 $1/2$ に低下した。

(3) 各保存法とも 24 時間保存の場合は酸素消費が正常の 10% 以下となつた。

III. Inosine 添加実験

6 時間保存腎の組織の一部とり、Krebs-Ringer 緩衝液に inosine を加え、1 時間空気中で incubate し、adenosine 系 nucleotide を測定した。

(1) 灌流+高圧酸素保存腎において、ATP レベルの上昇が認められた。一方、室温保存および生食浸漬+高

圧酸素保存では著明な上昇は認められなかつた。

以上より著者の実験結果および文献学的考察から、保存腎の ATP レベルが腎の viability の parameter として有意義であり、これにもとづき現段階では灌流+高圧酸素保存法がすぐれた腎保存法であると考ええる。また、保存腎に inosine を添加することにより保存に有力な手段となると考える。

稿を終るにあたり、終始御指導、御校閲をたまわつた恩師高安久雄教授に深甚の謝意を表すると共に、本研究を行うに当り直接御協力いただいた小磯謙吉博士初め教室員諸兄に感謝致します。また、腎保存装置作製にあたり御教授下された東京大学医学部医用電子研究施設、渥美和彦教授に深謝いたします。

なお本研究は文部省科学研究費によつたことを附記します。

文 献

- 1) The Advisory Committee of the Human Kidney Transplant Registry: Seventh Report of the Human Kidney Transplant Registry. Transplantation, **8**, 721, 1969.
- 2) Hurlbert, R.B., Schnitz, H., Brumm, A.F. and Potter, V.R.: J. Biol. Chem., **209**, 23, 1954.
- 3) Brum, A.F., Potter, V.R. and Siekevitz, P.: J. Biol. Chem., **220**, 713, 1956.
- 4) Schmitz, H., Hurlbert, R.B. and Potter, V.R.: J. Biol. Chem., **209**, 41, 1954.
- 5) Hurlbert, R.B. and Potter, V.R.: J. Biol. Chem., **209**, 1, 1954.
- 9) ワールブルグ検圧計, 化学の領域, 増刊13, (吉川春寿, 小倉安之, 関根隆光, 森田茂広, 高橋甫編集) 南江堂, 1954.
- 7) 尾形佳郎: 移植, **3**, 282, 1968.
- 8) 内山忠勇: 移植, **1**, 99, 1966.
- 9) Mundth, E.D., DeFalco, A.J. and Jacobson, Y.G.: Cryobiology, **2**, 62, 1965.
- 10) Humphries, A.L., Jr.: Transplantation, **5**, 1138, 1967.
- 11) Humphries, A.L., Jr., Rufus, R., Stoddard, L.D. and Moretz, W.H.: Invest. Urol., **5**, 609, 1968.
- 12) Belzer, F.O., Ashby, B.S., Dunphy, J.E.: Lancet, **2**, 536, 1967.
- 13) Belzer, F.O., Ashby, B.S., Gulyassy, P.F., and Powell, M.: New Eng. J. Med., **278**, 608, 1968.
- 14) 永田直一: 腎エネルギー代謝とくに肝との比較研究, 日本内科学会雑誌, **54**, 75, 1965.
- 15) Racker, E.: エネルギー代謝の機構, モダンバイオロジー, シリーズ 3, (高宮 篤, 桜井英

- 博, 大木玲子共訳) 共立出版, 頁9—12, 1967.
- 16) 藤本 守: 能動輸送(井上章, 品川嘉也編集) 南江堂, 頁130, 1969.
- 17) Lehninger, A.L. and Wadkins, C.L.: *Ann. Rev. Biochem.*, **31**, 47, 1962.
- 18) Lehninger, A.L.: *Physiol. Rev.*, **42**, 467, 1962.
- 19) 中尾 真, 中尾順子: 血液化学(黒田嘉一郎, 吉川春寿, 中尾喜久, 脇坂行一編集) 朝倉書店, 頁180, 1963.
- 20) 小磯謙吉: 腎保存に関する研究, 第3回日本移植学会総会(演), 大阪, 1967.
(1971年9月8日受付)
-