水腎症の実験的研究

越 知 憲 治 愛媛大学医学部泌尿器科学教室
(主任: 竹内正文教授)

EXPERIMENTAL STUDY OF HYDRONEPHROSIS

Kenji Ochi

Department of Urology, Ehime University School of Medicine, Ehime

(Director: Prof. M. Takeuchi)

Kidneys in rats were made hydronephrotic by unilateral ligation of the ureters close to the bladder. Succinate cytochrome C reductase (SCR) and lactic dehydrogenase (LDH) were measured in the hydronephrotic and the contralateral kidneys.

Changes of weight and gross appearance of the kidneys were observed and histological studies were made on hydronephrotic kidneys.

1) SCR and LDH in the kidneys with ureteral obstruction for 3 days were significantly lower than those of control group. At this time of ureteral obstruction, the renal pelvis is slightly dilated but atrophy of the renal parenchyma has not yet occurred judging from the change of dry weight ratio. It seems that there is a definite metabolic alteration in the kidney in the early stage of ureteral obstruction.

2) SCR and LDH progressively decreased in activity until 3 weeks of ureteral obstruction with no significant change in activity thereafter. SCR and LDH in the contralateral kidneys showed no change from those of control group up to 7 weeks of ureteral obstruction.

3) Histologically, renal tubular epithelium was destroyed in some areas in kidneys with ureteral obstruction of more than 2 weeks and interstitial connective tissue became rather prominent. Glomeruli were preserved relatively well even in kidneys with ureteral obstruction of long duration (6 or 7 weeks).

Ureteral obstruction was released by means of ureteroneocystostomy. Contralateral nephrectomy was performed 4 weeks after ureterocystostomy and the remaining kidney was also removed one week later. Serum creatinine was measured 48 hours and one week after contralateral nephrectomy.

Intravenous pyelography (IVP) was performed 4 weeks after ureteroneocystostomy and just prior to contralateral nephrectomy to check the patency of ureteroneocystostomy. SCR and LDH were measured in the removed kidneys whose ureteral obstruction had been released 5 weeks before. Histological studies were also made on these kidneys.

4) The kidneys with ureteral obstruction of more than 4 weeks' duration did not recover sufficiently to sustain life after release of ureteral obstruction.

5) Renal function after release of ureteral obstruction roughly was correlated with renal SCR but not with LDH.

6) Histologically, the kidneys with ureteral obstruction of short duration remained almost normal after release of ureteral obstruction. However, in the kidneys with ureteral obstruction of long duration (3 or 4 weeks), destroyed and well preserved areas were noted intermingled after release of ureteral obstruction.

7) The kidneys whose ureteral obstruction had been released by means of ureteroneocystostomy became visualized on IVP. This shows that release of ureteral obstruction using ureteroneocystostomy is technically successful. The longer the duration of ureteral obstruction prior to ureteroneocystostomy, the larger the renal pelvis and the poorer the excretion of contrast medium.

8) In this experimental model, there was no difference in enzyme activities between kidneys with ureteral obstruction for 3 weeks (reversibly damaged) and those with ureteral obstruction of 4 weeks (irreversibly damaged) before release of obstruction. Histological distinction also could not be made between these two groups before release of obstruction.

要 旨: 著者はラットを用いて尿管の完全閉塞による水腎症を作製し経時的に腎組織中の succinate cytochrome c reductase (SCR) および lactic dehydrogenase (LDH) を測定してこれらの変化と腎の重量変化、組織学的変化との検討をおこなった。また膀胱尿管新吻合術を施行することによつて実験的水腎症の原因である尿管の閉塞を解除し、その後一定期間を経て他側の腎摘術をおこないその1週間後に閉塞解除腎を摘出して再びSCR および LDH を測定し組織学的変化および血清クレアチニンを指標とする腎機能変化との検討をおこない2, 3の知見を得たので報告した。

緒 言

水腎症に関しては現在までに多数の実験的研究がなされているが水腎の代謝ことに酵素学的な研究は数少ない^{2) 3) 4)}。著者はラットを用いて水腎を作製し比較的長期間にわたつて経時的に腎組織中の succinate cytochrome c reductase (SCR) と lactic dehydrogenase (LDH) の活性を測定し、また水腎症の原因である尿管の閉塞を膀胱尿管新吻合術により解除した後に腎組織中の SCR と LDH を測定して腎機能との関連を観察した。あわせて水腎の組織学的変化や排泄性腎盂造影なども観察したので報告する。著者の研究の主たる目的は尿管閉塞期間と腎機能回復との関係を明らかにするとともに現在においても臨床的に高度の水腎症の機能回復を予知する確実なパラメーターがないことから、これらの酵素活性の測定がこのようなパラメーターとして役立つかどうかを実験的に確めることにある。

実験材料ならびに実験方法

実験動物としては生後10週、体重250~300gのウイスター系雄性ラットを使用した。

1) 水腎症の作製方法: エーテル麻酔下に腹部正中切開をおこないなるべく膀胱に近い部位で右尿管をhemoclip (Edward Weck社製)のsmall sizeのものをを用いてはさみ尿管を閉塞した。尿管の完全閉塞を期するため数mmの距離をあけてもう1個のhemoclipで尿管を閉塞した。腹腔内にアンピシリンナトリウム(ビクシリン)1gを20mlの生食水に溶解した溶液約1mlを散布して腹壁の創を閉じた。水腎作製後3日、1週、2週、3週、4週、5週、6週、7週目に水腎(右腎)と他側腎(左腎)を摘出した。それぞれの腎の重量を測定したが水腎では腎盂内容液を取りのぞいたあとに重量を測定した。腎組織の一部は乾熱器の中へ入れて100℃で8時間保ちdry weightを測定した。また腎盂内容液の一部を細菌培養に提出した。摘出した腎につきSCRとLDHを測定し、また腎組織の一部を10%ホルマリンに固定したのちヘマトキシリン-エオジン染色をおこなった。コントロール群のラットには開腹を施行し右尿管を

膀胱に近い部位で剝離するのみで他の操作は加えなかった。

2) SCRの測定方法: Nanninga⁴⁾はnitroblue tetrazoliumを用いることにより、この色素が腎組織中の酵素によつて還元されることを利用して腎組織の障害の程度を知ろうと試みているが彼の方法とKing⁵⁾らの方法からSCRを次のごとく測定した。

(i) 皮質と髄質の両方を含む300~400mgの腎組織を採取し4℃、0.25Mショ糖液を加えて10% weight per volume tissue preparationとし組織を粉碎均等化した。この場合まずIlado社製のtype X-1020 homogenizerを使用して5,000回転で30秒間、ついでPotter-Elvehjem型homogenizer(池本理化工業社製)を使用して1,200回転で30秒間組織を粉碎均等化した。

(ii) homogenateを600×g、10分間遠沈した。

(iii) 上清の0.1mlを0.1Mリン酸カリウム緩衝液(pH7.4)1.0ml、水1.0ml、0.01Mシアン化カリウム0.3ml、 2×10^{-4} MチトクロームC0.2ml、0.001MEDTA0.2ml、0.3Mコハク酸ナトリウム0.2mlに加えthermospacer付(温度は38℃にセット)分光光度計(日立製作所124型)で波長550nmでの吸光度の変化をみた。ブランクとしてはコハク酸ナトリウム以外のすべての上記成分を含む溶液を用いコハク酸ナトリウムのかわりに水を0.2ml増加して1.2mlとした。なお酵素活性が高い場合は1分間の吸光度の変化が0.07以下になるように上清を0.1Mリン酸緩衝液(pH7.4)で適当に希釈して測定した。

(iv) 上清の蛋白量はLowry⁶⁾法にて測定した。

(v) チトクロームCのabsorbancy indexは $19.7 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ を用い⁷⁾単位はmU/mg proteinで表わしたが計算式は $A/19.7 \times 3/0.1 \times C/B \times 1,000$ となる。ここでAは1分間の吸光度をBは上清の蛋白量(mg/ml)をCは上清の希釈倍数を表わす。

3) LDHの測定方法: 上記SCRと(ii)までは同じであるがそのあと上清をさらに8,500×g、10分間遠沈した。その上清につきSchwartz⁸⁾らの方法で測定し

た. すなわち上清 0.5ml を 0.067M リン酸緩衝液 (pH 7.4) 2.3ml, 3×10^{-3} M DPNH 0.1ml に加えよく混和したのち 38°C の恒温槽に約 20 分間放置する. そのあと 0.01 M ビルビン酸ナトリウム 0.1ml を加え thermospacer 付 (温度は 38°C にセット) 分光光度計で波長 340nm の吸光度の変化をみた. ブランクとして 0.85% NaCl 溶液を用いた. なお腎組織中の LDH 活性はかなり高いので 1 分間の吸光度の変化が 0.06 以下になるように上清を 0.85% NaCl 溶液で適当に希釈して測定した. 上清の蛋白量は SCR の場合と同様に Lowry 法にて測定し単位は U/mg protein で表わした. Schwartz らによると計算式は $A \times 1/B \times C/10 \times 0.16 \times 1,000$ となる. ここで A は 1 分間の吸光度を B は上清の蛋白量 (mg/ml) を C は上清の希釈倍数を表わす.

4) 尿管閉塞の解除: 水腎作製後 1 週, 2 週, 3 週, 4 週, 5 週目に尿管閉塞の解除をおこなった. エーテル麻酔下に腹部正中切開をおこなって腹腔内に到達し水腎を確認の上拡張した右尿管を閉塞部より約 1cm 近位側にまで剥離した. 膀胱頂部に円形の切開を加え, 右尿管を閉塞部のすぐ近位側で切断したあと膀胱尿管新吻合をおこなった. この操作は operating microscope (American Optical 社製 569 型) 下に視野を 7 倍に拡大し, microsurgery set (ケイセイ 医科工業社製 KMOI 型) を用いておこなったが吻合には針付クロームミッドカットグートを使用した. このあとアンピシリンナトリウム (ビクシリン) 1g を 20ml の生食水に溶解した溶液約 1ml を腹腔内に散布して腹壁の創を閉じた. 膀胱尿管新吻合術後 4 週間の期間をおいて他側の腎を摘出したが

腎摘出の直前に排泄性腎盂造影 (IVP) を施行して膀胱尿管新吻合術が成功しているかどうかを調べた.

ネンブタール麻酔下に (3mg/体重 100g を腹腔内に投与) 造影剤としては 76% ウログラフィン (ジェーリング社) を用いてこれの 1ml をラットの尾静脈に注射し, そのあと 5 分, 10 分, 15 分で X 線撮影をおこなった.

撮影条件は管球—フィルム距離を 100cm, 42KVP, 100mA, 0.08 秒とした. 他側腎摘出後, 閉塞解除側の腎機能を知る目的で 2 日, 1 週間目に Folin-Wu⁹⁾ らの方法により血清クレアチニンを測定した. 他側腎摘出後 1 週間目に生存ラットの閉塞解除側の腎を摘出して腎組織中の SCR と LDH を測定した. なお腎組織の一部を 10% ホルマリンに固定してヘマトキシリン—エオジン染色をおこなった. 実験結果の統計学的検討は t-test を用いておこなった.

実験結果

今回の実験では使用したすべてのラットで水腎側の腎盂内容液の細菌培養は陰性であり, 従つて酵素の変動および組織学的な変化には感染の影響はなかつたものと考えられる.

1) 尿管閉塞時の腎内酵素の変動について

尿管閉塞時の経時的な SCR と LDH の変動は Table 1, Fig. 1 および Fig. 2 に示す. 他側腎での SCR, LDH は 3 日から 7 週間までコントロールグループに比して有意の変化を示さなかつた. 水腎での SCR の変化をみると 3 日, 1 週間, 2 週間, 3 週間と漸次活性が低下し 3 週以後は 7 週間まで多少活性の低下傾向がみられたのみである. 水腎での LDH の変化も SCR とほぼ同様な変化

Table 1 Succinate cytochrome C reductase and lactic dehydrogenase in renal tissue.

Duration of ureteral obstruction	Number of animals	Succinate cyt. C reductase (mU/mg protein) M $\pm$ SD		Lactic dehydrogenase (U/mg protein) M $\pm$ SD	
		right kidney	left kidney	right kidney	left kidney
control	8	107 $\pm$ 7	109 $\pm$ 7	38 $\pm$ 2	38 $\pm$ 2
3 days	8	92 $\pm$ 5	107 $\pm$ 7	30 $\pm$ 2	37 $\pm$ 2
1 week	8	83 $\pm$ 4	106 $\pm$ 7	30 $\pm$ 1	36 $\pm$ 2
2 weeks	8	65 $\pm$ 6	106 $\pm$ 5	29 $\pm$ 2	37 $\pm$ 2
3 weeks	8	36 $\pm$ 7	106 $\pm$ 8	24 $\pm$ 2	38 $\pm$ 2
4 weeks	8	38 $\pm$ 6	109 $\pm$ 9	24 $\pm$ 3	36 $\pm$ 2
5 weeks	8	30 $\pm$ 2	108 $\pm$ 7	22 $\pm$ 3	36 $\pm$ 2
6 weeks	8	29 $\pm$ 3	106 $\pm$ 8	22 $\pm$ 3	38 $\pm$ 2
7 weeks	8	27 $\pm$ 2	108 $\pm$ 7	20 $\pm$ 2	36 $\pm$ 3

Fig. 1 Succinate cytochrome C reductase in renal tissue.

Fig. 2 Lactic dehydrogenase in renal tissue.

を示しているが3日目にはコントロールに比してすでにかなり活性が低下し ($p < 0.001$), その後2週間までは活性に変化がみられず2週間から3週間のあいだに再び活性が低下して以後7週間まで活性のゆるやかな低下傾向がみられた。

2) 尿管閉塞時の肉眼的および組織学的変化について
尿管を閉塞し経時的に腎を摘出して肉眼的に観察すると腎盂の拡張により水腎のサイズは漸次大きくなるが実質は次第に薄くなってゆく (Fig. 3). 実質の萎縮は腎の両側面, 上極および下極で著しく外側縁に沿った部分では実質が比較的よく保たれており7週間でも多少の実質が残っている。尿管閉塞後2~3週間もすると水腎の両側面の実質の萎縮が高度となり腎盂内容物が透見できるようになる。他側腎のサイズも実質の肥厚により漸次大きくなる。水腎と他側腎の経時的な重量比を Fig. 4 に示す, wet weight ratio は2週間まで1以上の値を示

Fig. 3 Gross appearance of the kidneys. A is a control normal kidney. B, C, D, E and F are hydronephrotic kidneys of 3 days, 1 week, 3 weeks, 5 weeks and 7 weeks of complete ureteral obstruction respectively.

Fig. 4 Wet weight ratio and dry weight ratio of the kidneys (hydronephrotic/contralateral).

Fig. 5 Photomicrograph of normal rat kidney.

A: cortex

B: medulla

Hematoxylin and eosin. $\times 100$.

Fig. 6 Photomicrograph of kidney after 3 days of ureteral obstruction.

A: cortex

B: medulla

Dilated tubules and eosinophilic material in the tubules are shown. Hematoxylin-eosin. $\times 100$.

すが3週間以後は1以下となり7週間で約0.3となつて
いる. dry weight ratio は1より漸次小さくたつて4週
間で約0.5, 7週間で約0.2となつてゐる. 次に組織学
的变化であるがまずコントロールグループの腎の組織像
を Fig. 5 に示す. 尿管閉塞3日間のグループでは糸球
体の変化は認められず尿細管の軽度の拡大が認められた
(Fig. 6A). 髄質部での集合管の拡大と管腔内エオジン
好性物の沈着もみられた (Fig. 6B). 尿管閉塞1週間,
2週間では上記の変化がより著明となり間質の浮腫, 一
部尿細管上皮の破壊, 脱落が認められた (Fig. 7). 尿
管閉塞3週間以上のグループでは糸球体の数の減少と間
質結合組織の著明な増生が認められた (Fig. 8). これら
の変化は尿管閉塞期間に比例して強くみられる傾向にあ
つたが同じグループでもある程度の個体差は認められ
た. また6週間, 7週間のグループでも残存している糸
球体は組織学的に比較的によく保たれていた (Fig. 9).

Fig. 7 Photomicrograph of kidney after one week.
Edematous interstitial tissue and dilated tubules
are shown. Hematoxylin-eosin. $\times 100$.

Fig. 8 Photomicrograph of kidney after 4 weeks. Interstitial connective tissue is increased. Hematoxylin-eosin. $\times 100$.

Fig. 9 Photomicrograph of kidney after 7 weeks. Glomeruli are preserved relatively well. Hematoxylin-eosin. $\times 100$.

3) 尿管閉塞解除後の腎内酵素の変動について

膀胱尿管新吻合術により尿管閉塞解除後 4 週間して他側腎 摘出しその 1 週間後に閉塞解除腎を 摘出して測定した SCR と LDH の変化を Table 2, Fig. 10 及び Fig. 11 に示す。尿管閉塞 5 週間のグループでは他側腎

Fig. 10 Succinate cytochrome C reductase in renal tissue after release of ureteral obstruction.

Fig. 11 Lactic dehydrogenase in renal tissue after release of ureteral obstruction.

摘出後 1 週間以内に全例が死亡したため酵素の測定はしなかつた。まず SCR についてみると尿管閉塞 1 週間のグループでは閉塞解除後にコントロールグループと同じ

Table 2 Succinate cytochrome C reductase and lactic dehydrogenase in renal tissue after release of ureteral obstruction.

Duration of ureteral obstruction	Number of animals	Succinate cyt. C reductase (mU/mg protein) M $\pm$ SD	Lactic dehydrogenase (U/mg protein) M $\pm$ SD
control (right kidney)	8	107 $\pm$ 7	38 $\pm$ 2
1 week	7	113 $\pm$ 3	42 $\pm$ 3
2 weeks	8	98 $\pm$ 8	38 $\pm$ 2
3 weeks	8	61 $\pm$ 12	37 $\pm$ 4
4 weeks	7	47 $\pm$ 5	36 $\pm$ 2

程度まで回復しており、尿管閉塞2週間から4週間のグループまではコントロールグループに比して漸次低下している。いずれのグループでも SCR の平均値は閉塞解除前のそれと比較すると上昇しているが3週間および4週間のグループではその上昇も軽度にとどまっている。ただし3週間グループと4週間グループの間で SCR の活性値に有意の差がみられた ($p<0.05$)。

一方 LDH についてみると尿管閉塞1週間のグループでは閉塞解除後にコントロールグループの LDH 活性よりもむしろ有意に上昇していた ($p<0.05$)。2週間から4週間グループについても閉塞解除後は LDH の平均値が閉塞解除前に比較して上昇しているが、これらの場合にはコントロールグループの LDH 活性値と比較しても有意の差はみられなかった。

Fig. 12 Photomicrograph of kidney 5 weeks after ureteroneocystostomy. The ureter had been obstructed for one week prior to the ureteroneocystostomy. The glomeruli and the tubules appear almost normal.

A: cortex

B: medulla

Hematoxylin-eosin, $\times 100$.

4) 尿管閉塞解除後の腎の肉眼的および組織学的変化について

尿管閉塞解除後4週間して他側腎を摘出しその1週間後に閉塞解除腎を摘出したわけであるがその時の観察では閉塞解除腎は解除前に比してすべて腎のサイズが縮少し、解除前の尿管閉塞期間が長いグループほどその縮少は著明であつたがこれは主として腎盂が縮少したことによるものである。尿管閉塞期間が長くなると閉塞解除後には比較的良好に保たれた実質部分と萎縮の著明な部分とが認められ肉眼的に腎の表面は不整であつた。組織学的変化であるが尿管閉塞1週間と2週間のグループでは閉塞解除後の腎組織はコントロールグループのそれと比較してもほとんど差異の認められない部分が多かつた (Fig. 12)。

尿管閉塞3週間以上のグループでは閉塞解除後も間質結合組織の増生がひきつづいて認められ組織学的に腎組織がよく保たれている部分と荒廃した部分とが混合して認められた (Fig. 13)。

Fig. 13 Photomicrograph of kidney 5 weeks after ureteroneocystostomy. The ureter had been obstructed for 4 weeks prior to the ureteroneocystostomy. The regenerating and atrophic tubules are shown along with increased interstitial connective tissue. Hematoxylin-eosin, $\times 100$.

5) 尿管閉塞解除後の排泄性腎盂造影(IVP)について
 ラットでは尿管を閉塞したままで放置すると3日目には IVP で閉塞腎のネフログラムが描出されるのみとなり1週間目には閉塞腎は全く描出されなくなる。閉塞を解除すると閉塞解除腎は IVP で造影されるが尿管閉塞1週間から5週間までのグループのあいだには若干の差がみられた。尿管閉塞1週間のグループでは閉塞解除側で腎盂の軽度の拡張は認められるが造影剤の排泄は良

Fig. 14 IVP taken 4 weeks after right ureteroneocystostomy. The right ureter had been obstructed for one week prior to the ureteroneocystostomy. The right renal pelvis is dilated.

Fig. 15 IVP taken 4 weeks after right ureteroneocystostomy. The right ureter had been obstructed for 2 weeks prior to the ureteroneocystostomy. The right renal pelvis is more dilated than that shown in Fig. 14.

Fig. 16 IVP taken 4 weeks after right ureteroneocystostomy. The right ureter had been obstructed for 4 weeks prior to the ureteroneocystostomy. The right renal pelvis is markedly dilated compared to the normal left renal pelvis. The right ureter is not visualized.

好であつた (Fig. 14). 2 週間のグループでは閉塞解除側で腎盂が1 週間のグループに比してさらに拡張しているものの造影剤の排泄は良好で尿管もよく描出され健側とほぼ同じ大きさであつた (Fig. 15). 3 週間グループ以上では閉塞解除側で腎盂がかなり大きくて造影剤の排泄も不良となり、腎盂や尿管が明瞭には描出されない例が多かつた (Fig. 16).

6) 尿管閉塞解除後の血清クレアチニンについて

尿管閉塞解除後4 週間に他側腎を摘出し、そのあと2 日、1 週間に測定した血清クレアチニン値を Table 3 と Fig. 17 に示す。コントロールグループは2 つの健腎をもつたグループであるがこのグループと1 側の腎摘出をおこなつたグループの間で血清クレアチニン値に変化は認められなかつた。両側の腎を摘出すると血清クレアチニンは2 日目に $10.8 \pm 0.9 \text{ mg/dl}$ にまで上昇しラットは明らかに尿毒症の状態ですべて元気がなくなる。またこのグループでは2 日目に死亡するものもあり著者は8 匹のラットに両側腎摘出をおこなつたがそのうち3 匹は2 日目にすでに死亡していた。もちろん1 週間生存する例はない。

Thble 3 Serum creatinine 48 hours and one week after contralateral nephrectomy.

	Number of animals	Serum Creatinine (mg/dl) M ±SD	
control	8	1.0 ± 0.1	
		48 hrs. after nephrectomy	7 days after nephrectomy
unilateral nephrectomy	8	1.0 ± 0.2	1.0 ± 0.2
bilateral nephrectomy	5	10.8 ± 0.9	
Duration of ureteral obstruction prior to ureteroneocystostomy		48 hrs. after contralateral nephrectomy	7 days after contralateral nephrectomy
1 week	7	1.6 ± 0.2	1.4 ± 0.3
2 weeks	8	1.9 ± 0.5	1.6 ± 0.3
3 weeks	8	2.7 ± 0.8	2.6 ± 0.6
4 weeks	7	5.9 ± 0.9	8.1 ± 2.1
5 weeks	5	9.0 ± 1.0	

Fig. 17 Serum creatinine 48 hours and one week after contralateral nephrectomy, which was performed 4 weeks after ureteroneocystostomy. Serum creatinine in control rats (with two normal kidneys), in rats with unilateral nephrectomy and in rats with bilateral nephrectomy are also shown for comparison.

考 按

尿管が閉塞されると同側の腎は水腎となり、尿管の閉塞期間が長くなるにつれて腎が形態的にも機能的にも破壊されてゆくことはよく知られているところである。これらの変化とともに水腎では代謝面での変化も予想されるところであり特に細胞内のエネルギー産生に重要な働きをするミトコンドリア内の電子伝達系に關与する酵素に何らかの変化がおこるであろうことは想像できる。SCR は電子伝達系に關与する酵素であり Singer¹⁰⁾ によると succinate によつて cytochrome C が還元される反応には succinic dehydrogenase から cytochrome C までの一連の酵素が關与しており、従つてこの反応により complete succ'nic dehydrogenase complex の機能状態を測定しているということになる (Fig. 18)。組織化学的に succinic dehydrogenase は腎の尿管上皮内に分布していることが確められているが¹¹⁾ 今回の実験で水腎の SCR 活性は尿管閉塞期間が3週間まではかなり急激に低下しそれ以後は活性値にほとんど変化のないこと

Fig. 18 respiratory chain.

尿管閉塞1週間から5週間のグループまで血清クレアチニンは漸次上昇してゆく、3週間グループまでは血清クレアチニンも 3mg/dl 以下で2日目の値よりも1週間目の値の方が低い傾向にあるが4週間グループでは血清クレアチニンも 5mg/dl 以上となり2日目よりも1週間目の値の方が高い傾向を示している。5週間グループでは1週間以内に全例が尿毒症で死亡した。

が認められた。また腎尿細管上皮内の細胞形質に広く分布している¹²⁾ LDH について活性を測定したところ、尿管閉塞期間が3週間までは活性が低下してゆくがそれ以後は活性値にほとんど変化がみられなかつた。つまり水腎では経時的に SCR も LDH もほぼ同じようなパターンで活性の低下することが認められたわけであり、この機作には2つの酵素の間で相違があるのかもしれないが今回の実験からはその点について何とも言えない。

水腎を経時的に観察してゆくとき水腎のサイズは腎盂の拡張により大きくなってゆくが実質は次第に萎縮して薄くなってゆく。一方他側腎は実質が次第に肥厚していわゆる代償性肥大を形成する。wet weight でみる限り尿管閉塞が2週間までは水腎側が他側に比して重く重量比が1以上であり、これは組織学的にみられるごとく水腎側での間質の浮腫や拡大した尿細管腔内の貯留液などによつて説明されるが dry weight でみると尿管閉塞が3日間のグループはコントロールグループとかわりないもののそれ以後は尿管閉塞期間が長くなるにつれて重量比が1以下に徐々に下降していることが認められた。尿管閉塞3日間では腎実質の萎縮はおこらず腎盂が拡張するにとどまるものと考えられる。しかしながら SCR と LDH の活性は3日間の水腎ですでにコントロールグループに比して有意に低下しているものであり ($p<0.001$)、これはごく短期間の尿管閉塞により代謝面で水腎が障害されていることを示すものと考えられる。次に尿管閉塞を膀胱尿管新吻合術により解除して4週間後に他側腎を摘出し、その1週間後の閉塞解除側の腎の SCR と LDH 活性をみると両者間には明瞭なパターンの相違がみられた。すなわち SCR については閉塞解除前には尿管閉塞期間3週と4週のグループの間で活性値に有意差がなかつたにもかかわらず、閉塞解除後には有意差があらわれた ($p<0.05$)。LDH は閉塞解除後に活性がかなり上昇し尿管閉塞期間が3週、4週のグループでもコントロールグループとの間に有意差が認められない程度にまで回復している。このことから腎の SCR と LDH 活性は尿管閉塞解除後に回復してはくるものの SCR の方が LDH に比してより不可逆的な障害をうけやすく従つて回復の程度に差がでてきたものと考えられる。腎機能の1つの指標として血清クレアチニンを他側腎摘出後2日と1週間目に測定したが閉塞解除前の尿管閉塞期間が長いグループほど血清クレアチニンの上昇は著しい。3週間グループまでは血清クレアチニンもゆるやかな上昇を示すにすぎないが4週間グループでは他側腎摘出後1週

間目には血清クレアチニンの上昇が著しくて動物も尿毒症で元気がなくなりそのまま放置すればいずれ死ぬであろうと思われた。

5週間グループでは他側腎摘出後1週間以内に全例が死亡した。すなわち今回の実験モデルでは個体差により例外的なものもあるかもしれないが尿管閉塞期間が3週と4週の間に critical time があり腎が不可逆的な障害をうけ、閉塞解除後も4週以上では腎機能が回復しないものと考えられる。測定した2つの酵素のうち SCR 活性と閉塞解除後の腎機能とはほぼ比例すると思われるが LDH 活性と腎機能とは比例しないようである。尿管閉塞解除後の IVP や組織学的変化も閉塞解除前の期間が長いほど他側あるいはコントロールグループに比して悪い所見を示し、その意味では閉塞解除後の腎機能とある程度比例するわけであるが、例えば尿管閉塞3週間と4週間のグループを区別できるほどの明瞭な所見をこれらの検査から得ることは不可能であつた。特に IVP 所見が腎機能と必ずしも比例するものではないことはすでに Winter¹³⁾ や Hoffman¹⁴⁾ らによつても指摘されているところである。以上のように閉塞解除後の腎機能と腎の SCR 活性とは比例することがわかつたが、それでは閉塞解除前に機能的な回復を示す腎すなわち尿管閉塞3週間グループと機能的な回復を示さない腎すなわち尿管閉塞4週間グループとを区別できるパラメーターがあるだろうか。この点は実験的にはもちろんのこと臨床的な立場からも非常に興味がある。というのも臨床的に高度の水腎に遭遇した場合にはその腎を摘出するか形成術を施行して腎を残すかの判断はしばしば手術時に腎を肉眼的に観察した上で外科医の経験なり主観的な考えによつて決定されることがあるからである。術前あるいは術中に腎の機能回復を予知できる確実なパラメーターがあれば不必要な腎摘や不必要な形成術を避けることができる。Agusta¹⁵⁾ らは犬を用いて水腎の代謝を調べた結果水腎では明らかに代謝過程に変化があるものの可逆的な障害をうけた腎と不可逆的な障害をうけた腎との間に定量的な差はなかつたと報告しているが、著者の今回の実験からも尿管閉塞3週間グループと尿管閉塞4週間グループとを閉塞解除前に区別するに足るパラメーターを見出すことはできなかつた。腎の SCR 活性は尿管閉塞3週間で尿管閉塞4週間と同じレベルにまで下降していることを考えればパラメーターとして使用するには鋭敏すぎると思われる。

もし使用するとすれば SCR 活性がある程度高い腎は

閉塞解除後にも十分な機能回復を望みうるが SCR 活性が尿管閉塞 3 週間レベルにまで下降している場合にはとりあえず閉塞を解除してやりそのあと一定期間の観察が必要と思われる。このように閉塞を解除した腎のうちあるものは回復するであろうが他のものは 4 週間グループのように機能を回復しないであろう。つまり SCR をパラメーターとするならば初回に不必要な腎摘はされないにせよ二次的に腎摘が必要になる可能性もあるということになる。もちろんラットでの実験結果をそのまま他の動物や人の場合に当てはめることは危険である。というのも動物が大きくなればなるほど水腎の進行もゆるやかで不可逆的な腎障害をきたす尿管の閉塞期間も長くなり¹⁰⁾、従つて代謝面でもある程度の相違がみられるかもしれないし、また動物が大きく従つて腎が大きい場合には腎組織のごく一部の SCR 活性を測定するのみで腎全体の機能状態を判定できるかどうかという点にも疑問があるからである。

結 語

ラットを用いて水腎を作製し水腎と他側腎につき SCR と LDH を測定し、水腎の肉眼的変化、重量変化および組織学的変化も観察した。その結果

(1) 尿管閉塞 3 日間ですでに SCR と LDH はコントロールに比して有意に低下した。この時期には水腎は腎盂がわずかに拡大しているのみで dry weight ratio より判断して実質の萎縮はおこっていない。従つて尿管閉塞早期に腎の代謝に変化がおこっていることを示唆する。

(2) 尿管閉塞 3 週間までは SCR も LDH もほぼ同じように活性が低下し、それ以後は活性値にほとんど変化がみられなかった。他側腎では尿管閉塞 7 週間まで SCR も LDH もコントロールに比し変化がみられなかった。

(3) 尿管閉塞 2 週間以上では組織学的に尿細管上皮の破壊、脱落が認められるようになり、閉塞期間が長くなるにつれて間質結合組織の増生が著明となつた。糸球体は長期間の尿管閉塞でも比較的よく保たれていた。

次に膀胱尿管新吻合術により尿管閉塞を解除し、4 週間後に他側腎を摘出し、その 1 週間後に閉塞解除腎を摘出して再び SCR と LDH を測定し、閉塞解除腎の組織学的変化、他側腎摘出後 2 日目および 1 週間目の血清クレアチニン値の変化を観察した。また膀胱尿管新吻合術をチェックする意味で新吻合術後 4 週間目に他側腎摘出の直前に IVP を施行した。その結果

(4) 尿管閉塞 4 週間以上の腎は閉塞解除後も生命を維持するに足る程度の機能的回復はしない。

(5) 閉塞解除後の腎機能と腎 SCR 活性とはほぼ比例するが LDH とは比例しない。

(6) 組織学的には尿管閉塞期間が短い腎では閉塞解除後にも組織がほぼ正常に回復するが尿管閉塞期間が長くなると閉塞解除後も荒廃した部分と正常に近い部分が入りまじつて観察された。

(7) 尿管閉塞解除後の IVP では閉塞解除腎が描出され膀胱尿管新吻合術による閉塞解除がラットにおいても技術的に可能であることを示したが、解除前の尿管閉塞期間が長いほど腎盂は大きく、従つて実質の萎縮がおこっていることを示した造影剤の排泄も不良であつた。

(8) 尿管閉塞解除前に閉塞解除後の可逆的および不可逆的な腎機能回復を識別しうる確実なパラメーターは今回の実験では見出しえなかつた。しかし閉塞解除前の SCR 活性は閉塞解除後の腎機能回復をある程度予知するパラメーターとしては役立ちうるものと思われる。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った恩師竹内正文教授ならびに大阪大学園田孝夫教授に深く感謝の意を表しますとともに本研究に御協力いただいた愛媛大学泌尿器科学教室員諸氏に感謝します。

文 献

- 1) Eränkő, O., and Niemi, M.: Histochemically demonstrable phosphatases in the kidney of hydronephrotic rats. *Acta Path. Microbiol. Scand.*, **35**, 357—364, 1954.
- 2) Kissane, J.M. and Heptinstall, R.H.: Experimental hydronephrosis: Morphologic and enzymatic studies of renal tubules in ureteric obstruction and recovery in the rat. I. Alkaline and acid phosphatases. *Lab. Invest.*, **13**, 539—546, 1964.
- 3) Kissane, J.M. and Heptinstall, R.H.: Experimental hydronephrosis: Morphologic and enzymatic studies of renal tubules in ureteric obstruction and recovery in the rat. II. Pentose phosphate pathway. *Lab. Invest.*, **13**, 547—551, 1964.
- 4) Nanninga, J.B.: Evaluation of hydronephrotic damage using nitroblue tetrazolium. *Br. J. Urol.*, **45**, 286—288, 1973.
- 5) King, T.E.: Preparations of succinatecytochrome C reductase and the cytochrome b-c particle, and reconstitution of succinatecytochrome C reductase. in *Methods in enzymo-*

- logy, Estabrook, R.W. & Pullman, M.E., vol. 10, p. 216—225, Academic Press, New York and London, 1967.
- 6) Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., and Randall, R.J.: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265—267, 1951.
 - 7) Green, D.E., Nii, S. and Kohout, P.M.: Studies on the terminal electron transport system. I. Succinic dehydrogenase. *J. Biol. Chem.*, **217**, 551—567, 1955.
 - 8) Schwartz, M.K. and Bodansky, O.: Lactic dehydrogenase. in *Methods in enzymology*, Wood, W.A., vol. 9, p. 294—302, Academic Press, New York and London, 1966.
 - 9) Bonsnes, R.W. and Taussky, H.H.: On the colorimetric determination of creatinine by the Jaffe reaction. *J. Biol. Chem.*, **158**, 581—591, 1945.
 - 10) Singer, T.P. and Kearney, E.B.: Determination of succinic dehydrogenase activity. in *Methods of biochemical analysis*, Glick, O., vol. 4, p. 307—333, Interscience Publishers, Inc., New York, 1967.
 - 11) Sternbery, W.H., Farber, E. and Dunlap, C.E.: Histochemical localization of specific oxidative enzymes: II. Localization of diphosphopyridine nucleotide and triphosphopyridine nucleotide diaphorases and the succin dehydrogenase system in the kidney. *J. Histochem. & Cytochem.*, **4**, 266—283, 1956.
 - 12) Kirchheim, D., Braun, E. and Niles, N.R.: Histologic and histochemical studies of canine renal allografts. *Invest. Urol.*, **4**, 463—474, 1967.
 - 13) Winter, C.C.: The excretory urogram as a kidney function test. *J. Urol.*, **83**, 313—318, 1960.
 - 14) Hoffman, W.W. and Grayhack, J.T.: The limitations of the intravenous pyelogram as a test of renal function. *Surg. Gynec. Obstet.*, **110**, 503—509, 1960.
 - 15) Agusta, V.E., Panko, W.B. and Gillenwater, J.Y.: Changes in the in vivo metabolism of hydronephrotic canine kidneys. *Invest. Urol.*, **11**, 379—385, 1974.
 - 16) Hinman, F.: The pathogenesis of hydronephrosis. *Surg. Gynec. Obstet.*, **58**, 356—376, 1934.

(1980年3月19日受付)