硝酸ウラニル誘発急性腎不全に関する研究

大阪市立大学医学部泌尿器科学教室 岩 井 省 三
(主任：前川正信教授)

STUDY ON URANYL NITRATE-INDUCED ACUTE RENAL FAILURE

Shozou Iwai

Department of Urology, Osaka City University Medical School

(Director: Prof. M. Maekawa)

The initial change with time, which is considered important in the study of the mechanism of acute renal failure, was investigated by using uranyl nitrate (abbreviated as UN in the following) induced acute renal failure model. The change in renal cortical sulfhydryl (SH) group in the initial stage of the disease was investigated with GSH which is considered to protect protein-SH group so that the relation between the change in SH group and the functional and morphological changes might be clarified. The relation between the renal functional and morphological changes as well as the presence of the protective effect of EDTA in the initial stage of acute renal failure were investigated with EDTA, heavy metal chelating agent. The result is as follows.

1. With UN administration alone, glomerular filtration rate (GFR) and renal tubular sodium reabsorption rate were decreased accompanied with significant decrease in the content of soluble protein-SH group. Pretreatment with GSH significantly checked the decrease in the soluble protein-SH group content. However, GFR was reduced. Since there was no relation between the content of soluble protein-SH group and GFR, SH group might not be responsible for the decrease in GFR induced by UN.

2. Intravenous injection of EDTA immediately after UN administration showed a protective effect against acute renal failure.

3. Swelling of glomerular endothelial cell and decrease in endothelial fenestrae were observed by the morphological study on the following 3 groups: 1) Group in which only UN was administered; 2) Group which had pretreatment with GSH before UN administration; 3) Group which had intravenous injection of EDTA 20 minutes after UN administration. Remarkable and irregular thickening of the inner transparent layer of the glomerular basement membrane due to the deposit of amorphous material and the decrease in GFR were also noted in those groups. On the other hand, the characteristic change found in the glomerular capillary loop was rarely seen in the group which had intravenous injection of EDTA immediately after UN administration, suggesting the protective effect of EDTA against the decrease of GFR.

4. The relation between the functional change and the morphological change may suggest that the characteristic morphological change in the glomerular capillary loop has some relation to the glomerular filtration which may cause the decrease in GFR.

要旨：急性腎不全の発症機序は未だ十分に解明されていない。発症早期の初期変化を詳細に検討することがその解明につながると考えた。麻酔犬に10mg/kgの硝酸ウラニル（以下UNと略す）を投与すると急速な糸球体濾過値（以下GFRと略す）低下と利尿が観察される。この利尿は尿細管でのSH活性の阻害により再吸収機能が抑制された結果、出現した可能性もある。そこで蛋白SH基を保護すると考えられている還元型グルタチオン（GSH）を用い、発症期に於ける腎皮質内SH群の変動を検討し、UN初期毒性との関係を明らかにせんとした。次に重金属キレート剤であるEDTAを用い、急性腎不全発症期に於けるEDTAの防御効果の有無および腎の機能的変化と形態的变化との関連性を明らかにせんとした。可溶性蛋白SH基含量はUNにより有意に低下したが、GSHで前処置することによりその低下を有

意に抑えることが出来た。可溶性蛋白 SH 含量と GFR との関連性がないことから UN による GFR 低下に対して SH 基が必須の要因とはなっていないことが示唆された。UN 単独投与により GFR の低下が観察され、電顕的には糸球体内皮細胞の腫大、内皮小孔の減少並びに糸球体基底膜の内透明層が著しく不規則に肥厚する像が観察された。一方、UN 投与直後に EDTA を静注することにより機能的、形態的に急性腎不全に対する防御効果が認められた。これらのことから糸球体の特徴ある形態的变化が糸球体透過性に関わりを持ち、GFR 低下の一因をなしたかも知れない。

結 言

急性腎不全は急速に進展する腎機能障害、尿毒症を主徴とする症候群であり、原因としては数多く知られているが、その発症機序に関しては未解決の問題が多い。一般的に重金属は腎不全を誘発し易く、重金属を用いた幾つかの急性腎不全モデルが知られている。動物に一定量の硝酸ウラニル（以下 UN と略す）を投与すると全身状態に顕著な変化を来たすことなく確実に急性腎不全を誘発させることができる^{1)~3)}。急性腎不全発症早期にみられる生化学的異常がその後におこる腎機能異常と複雑に結びついていることは容易に想像できるが、腎のもつ複雑な構造ならびに機能からその詳細を未だ明らかにし得ていない。そこで発症早期の初期変化を詳細に検討することが発症機序の解明につながるのではないかと考えた。

また教室の山口⁴⁾は犬に 10mg/kg の UN を投与して直後 15 分で著明な糸球体濾過値（以下 GFR と略す）の低下、急速な利尿、尿細管 Na 再吸収率の低下を報告している。この利尿は尿細管上皮の細胞膜に存在する SH 酵素と UN が結合し、SH 活性が阻害され尿細管での Na 能動輸送の障害をきたし、再吸収機能が抑制された結果、出現した可能性もある。

しかし過去において生化学的な面から急性腎不全発症機序を検討した報告は少なく、発症早期に GSH を投与し、その蛋白保護作用を検討した報告例はない。そこで犬に UN を用い急性腎不全を作成し、腎機能並びに腎皮質内 SH 基含量が如何に変化するのかを検索し、さらに近位尿細管に多量存在し蛋白 SH 基を保護すると考えられている GSH を多量前投与（450mg/kg）することによつて腎機能、腎皮質 SH 基含量に対して如何なる影響をもたらすかを検索するため実験を行なった。

UN による主なネフロン障害部位は近位尿細管であり、細胞機能をそこなう主たるメカニズムは他の重金属と同様、細胞膜コンポーネントの反応によると考えられる。また UN は可逆性に細胞膜表面に存在するスルフヒドリル (SH) 基、リン酸基、カルボキシル基

と結合すると言われている⁵⁾。そこで UN 誘発急性腎不全犬に 2 価の重金属キレート剤である EDTA を用い、発症に重要と考えられる初期変化を時間的経過を追つて生理学的、形態学的に検索を行ない、UN 誘発急性腎不全発症期に於ける EDTA の防御効果の有無および腎の機能的変化と形態学的変化との関連性を明らかにせんと試みたので、その成績を報告する。

実験方法

1. 犬を用いた手術方法と操作

実験には雑種成犬（体重 9~20kg）を雌雄の別なく使用した。麻酔は Pentobarbital sodium (30~35mg/kg body weight) の静脈内投与で行ない、以後 3~5mg/kg/hr を持続注入し、維持した。先ず犬を背臥位に固定した後、頸部に正中切開を加え、気管カニューレを挿入し気道を確保した。呼吸管理はレスピレーター (Respirator R-60, Aika 社製) を用いて行なつた。次いで右腕頭動・静脈にポリエチレンチューブ (Cut down tube C1: I.D. 1.2mm, 日本メディカルサプライ社製) を挿入し、動脈側は動脈血採血用、静脈側は点滴および薬剤注入用とした。右大腿動脈より逆行性にポリエチレンチューブ (Cut down tube C0: I.D. 1.9mm, 日本メディカルサプライ社製) を左腎動脈起始部直下の腹部大動脈内に挿入・留置し圧トランスデューサー (電気血圧計 MP-25S, 日本光電製) を介し、この部の血圧を連続的にインク書きレコーダー (WI-640G, 日本光電製) に記録した。次に犬を右側臥位に固定し、左側腹切開を加え、後腹膜腔より左腎に達し左尿管を剝離し、左腎動脈を腹部大動脈起始部で露出剝離した。腎血流量 (RBF) は左腎動脈にカフ型プローベ (Blood flow transducer FR-030 T or FR-035 T, 日本光電製) を装着し、電磁流量計 (MFW-1100, 日本光電製) に持続して血圧と共に記録した。左尿管にはカテーテル (Feeding tube 8 Fr, 日本シャウウッド社製) を逆行性に腎盂まで挿入・留置し採尿用とした。Creatinine clearance (以下 Ccr と略す) 測定のため、手術終了後クレアチニンの初回投与量 (100mg/kg) を右腕頭静脈内に投与し、ついで維持量 (50mg/kg/hr) を生理食塩

水に溶かし1.5~3ml/min. の速度で持続点滴静注した。約1時間後、呼吸、血圧、腎血流量および尿量がほぼ安定したことを確認した後、10分間隔で3回尿を採取し、これと各採尿時間の中間時に動脈血を採取し、対照試料とした。

2. 実験項目

1) 腎機能の測定

(1) UN 単独投与群

8頭の犬に対照としての試料採取後、UN をペリスタポンプ (Peristaltic pump p-1, Pharmacia 社製) にて1mg/kg/min. で10分間、右腕頭静脈内に持続注入した (総量19.9 μ mol/kg body weight ; 10mg/kg)。UN 投与終了後15分、30分、60分以後30分おきに3時間まで採尿および採血を行なった。

(2) GSH 前処置 UN 投与群

6頭の犬について Fig. 1 に示すように対照としての採尿および動脈血採取を行なった後、GSH (山之内製薬製) を3.3ml/min. の速度で30mg/kg/min. の用量をペリスタポンプにて15分間静脈内持続注入 (前処置量450mg/kg) し、10分後より10分間隔で2回尿を採取し、各採尿の中間時に動脈血を採取した。その直後に UN を10mg/kg の割合で10分間右腕頭静脈内に持続注入した。それ以後、点滴中に GSH を入れ、2.5mg/kg/min. で静注を行なった。UN 投与終了後は UN 単独投与群と同時間に採尿・採血を行なった。

(3) UN 投与終了直後より EDTA を静注した群

6頭の犬に対照としての採血・採尿の後、UN (10mg/kg) を静脈内に投与し、UN 投与終了直後より EDTA $\cdot$ 2Na 液 (0.5%) を1.67ml/min. の速度で3時間点滴静注した。UN 投与終了後は UN 単独投与群と同時間に採尿・採血を行なった。

(4) UN 投与終了20分後より EDTA を静注した群

6頭の犬に対照としての試料採取後、UN (10mg/

kg) を投与し、UN 投与終了20分より EDTA $\cdot$ 2Na (0.5%) を1.67ml/min. の速度で静注し、UN 投与後3時間までの採尿・採血を行なった。なお血圧および腎血流量の変化は終始、連続的に記録した。血漿および尿中の Na, K 濃度は自動分析装置 (PVA-4, Photovolt 社製) により測定し、BUN, Creatinine, P, Ca 濃度は自動分析装置 (400型, 日立製) により測定した。また浸透圧は蒸気圧浸透圧計 (5100B, Wescor 社製) により測定した。

これらの測定結果により尿細管 Na 再吸収率、腎1g (湿重量) 当りの外因性 Ccr 等のパラメーターを算出した。

2) 腎皮質並びに腎糸球体の sulfhydryl (SH) group の定量

Ellman⁶⁾は5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoic acid (DTNB)を合成し、これを用いて組織内の SH 基定量を行なっている。Fig. 2に示すようにこの化合物が蛋白質の SH 基と反応して生ずるチオニトロベンゾレートアニオン (TNB⁻) が412nm で強い吸光を示すことを利用したものである。なおこの方法は試料が少なくてすむという利点がある⁷⁾。

対照として生食のみを点滴静注した正常群では3時間後に腎摘を行ない、UN 単独投与および GSH 前処置 UN 投与群については UN 投与後3時間で腎摘を行ない、直ちに生食にて腎を灌流し4℃に保ち、Ellman 法を利用し、腎皮質 SH 基含量の定量を行なった。Fig. 3に示すように腎皮質1g (湿重量) にリン酸緩衝液を加えホモゲネートを作り、超遠沈させ、その上清の一部に DTNB を加え、Free-SH group と Soluble Protein-SH group の合計を、また上清の一部にトリクロール酢酸 (TCA) を加え除蛋白とした後、Free-SH group を412nm における吸光度にて測定した。実際の SH 基濃度は既知濃度のシス테인と DTNB を反応させそ

Fig. 2 Quantitative reaction of protein-SH group.
(Ellman method)

Fig. 3 Spectrophotometric method of measurement for renal cortical SH group.

の吸光度との比較により測定した。

また、先に述べたと同じようにして腎摘を行ない、腎臓1個の皮質を約5mm角の小片に切り、これを規格の金属メッシュを使い (Fig. 4)、糸球体を取り出し、7mlの糸球体浮遊液を作成した。これに含まれる糸球体を均等に分布させ、このうち2mlを取り出し糸球体乾燥重量を測定した。さらに残りの5mlで腎糸球体ホモゲネートを作り、超遠沈させ、上清を腎皮質SH基定量と同じようにして糸球体のFree-SH groupとSoluble protein-SH groupを測定した。なお吸光度は分光光度計 (100-60型、日立製) にて測定した。

3) 電子顕微鏡 (以下電顕と略す) 像による検索

Fig. 4 The isolation procedure for kidney glomeruli by mechanical sieving technique.

腎機能と電顕レベルの形態学的変化との関連性を得るため糸球体、尿細管を中心に、UN 単独投与群、GSH 前処置 UN 投与群、UN 投与終了直後より EDTA を静注した群、UN 投与終了20分後より EDTA を静注した群について、UN 投与後15分、2時間の腎皮質像の検索を行なった。

側腹部切開にて後腹膜腔に入り、腎を露出し、生検を行なった。すなわち腎皮質を楔状切除することにより小組織片を生検し、電顕用資料とした (15分生検)。楔状切除部位は縫合にて止血した。第2回目の楔状切除は縫合による虚血の影響を避けるために第1回目切除部位から離れた部位を選んで生検し、電顕用資料とした (2時間生検)。電顕用資料は直ちに数個の約1mm³の大きさに細切し、4°Cの条件下で0.2mol コリジン緩衝液 (pH 7.4) で希釈した1%オスミウム酸により2時間の前固定と6%グルタルアルデヒド中で2時間の後固定とを行ない、2%酢酸ウラニルで30分染色し、常法に従い4°Cにおいてエタノール系列による脱水を行ない、その後、常温下で酸化プロピレンにより洗浄し、Epon 812 (Luft 法) にて包埋し、45°Cの保温器中で1日間保温した後、60°Cで4日間保温した。次にウルトラミクロトーム (7800B, LKB 製) で超薄切片を作成し、クエン酸鉛染色 (Reynold 法) を行ない、日本電子100C型電子顕微鏡にて観察および撮影を行なった。なお超薄切片作成に先だち、約500mμの厚切切片を作成しトルイジン青染色を施し、光学顕微鏡による観察を行なうと共に、電顕による観察部位の選択および確認後、エポン包埋標本を超薄切片用にトリミングした。

実験成績

1. 腎機能の測定

1) UN 単独投与群

Table 1 は UN 投与後の時間的経過による血圧および腎機能変化を示す。血圧、腎血流量は有意な変化を示さなかった。Ccr は UN 投与後15分で対照の約66%に低下し、以後も有意に低下し2時間で約26%となった。尿量は UN 投与後15分で約2倍となり以後も対照に比し有意な上昇を認めた。尿細管 Na 再吸収率は UN 投与後15分で対照の $97.5 \pm 0.5\%$ から $95.9 \pm 2.9\%$ に減少し、30分では $93.5 \pm 3.8\%$ となり以後も有意なる減少を認め2時間後では $82.7 \pm 2.8\%$ となった。尿の浸透圧は UN 投与後15分で対照の $995 \pm 87 \text{ mosm}$ から $497 \pm 122 \text{ mosm}$ と約50%の低下を示し、以後は著明な

変化を認めなかった。Table 2 は血漿電解質並びに BUN 値を示す。Na, K と Ca 濃度は変化なかったが P 濃度が上昇傾向を認め、UN 投与後150分以後は有意に上昇した。また BUN 値は上昇傾向を示した。

2) GSH 前処置 UN 投与群

Table 3 は時間的経過による血圧および腎機能変化を示す。血圧は有意な変動を示さなかった。GSH 前処置後に腎血流量が対照の $3.46 \pm 0.08 \text{ ml/g. min}$ から $3.98 \pm 0.15 \text{ ml/g. min}$ に約15%有意に増加した。Ccr は GSH 前処置後20分で対照の $0.54 \pm 0.07 \text{ ml/g.min}$ から $0.73 \pm 0.07 \text{ ml/g. min}$ に上昇し、UN 投与後は著

Table 1 Effects of administration of UN on renal function

Time after UN-injection (min)	B P (mmHg)	RBF (ml/g·min)	Ccr (ml/g·min)	U F (μl/g·min)	Una·V (μEq/g·min)	Na. Re. r (%)	Uosm (mosm/kg)
Control	118 ± 4	3.57 ± 0.45	0.53 ± 0.04	5.3 ± 2.5	1.08 ± 0.28	97.5 ± 0.5	995 ± 87
15	116 ± 5	3.75 ± 0.56	0.35 ± 0.07*	10.6 ± 3.5	2.07 ± 0.66	95.9 ± 2.9	497 ± 122*
30	116 ± 5	3.70 ± 0.60	0.31 ± 0.07*	14.8 ± 3.9*	2.59 ± 0.95*	93.5 ± 3.8	483 ± 65*
60	114 ± 5	3.61 ± 0.58	0.21 ± 0.06*	17.6 ± 3.7*	2.80 ± 0.75*	89.4 ± 4.5*	456 ± 57*
90	114 ± 5	3.58 ± 0.60	0.21 ± 0.05*	16.1 ± 2.7*	2.67 ± 0.60*	87.0 ± 5.3*	435 ± 49*
120	113 ± 5	3.51 ± 0.59	0.14 ± 0.05*	15.2 ± 2.0*	2.54 ± 0.43*	82.7 ± 2.8*	404 ± 33*
150	112 ± 6	3.63 ± 0.58	0.12 ± 0.05*	13.8 ± 1.8*	2.31 ± 0.40*	81.4 ± 3.8*	439 ± 26*
180	112 ± 5	3.50 ± 0.57	0.12 ± 0.05*	13.2 ± 2.4*	2.20 ± 0.63*	81.0 ± 3.6*	420 ± 44*

All values are mean ± SEM of eight

* P < 0.05

BP : blood pressure

RBF : renal blood flow

Ccr : creatinine clearance

Una·V : urinary sodium excretion

Na.Re.r. : sodium reabsorption rate

Table 2 Plasma sodium concentration (P_{Na}), plasma potassium concentration (P_K), plasma calcium concentration (P_{Ca}), plasma phosphate concentration (P_P) and blood urea nitrogen (BUN) before and after administration of UN

Time after UN-injection (min)	P_{Na} (mEq/l)	P_K (mEq/l)	P_{Ca} (mEq/l)	P_P (mEq/l)	BUN (mg/dl)
Control	148.8 ± 1.1	3.5 ± 0.2	3.8 ± 0.1	4.4 ± 0.2	12.4 ± 0.9
UN → 15	148.0 ± 1.1	3.6 ± 0.2	3.9 ± 0.1	4.4 ± 0.3	12.9 ± 1.5
30	148.3 ± 1.1	3.6 ± 0.2	4.0 ± 0.2	4.8 ± 0.4	13.0 ± 1.5
60	148.6 ± 0.9	3.5 ± 0.2	3.9 ± 0.1	4.8 ± 0.5	12.6 ± 1.1
90	148.5 ± 1.6	3.5 ± 0.2	3.9 ± 0.1	5.0 ± 0.4	13.3 ± 1.2
120	146.9 ± 1.0	3.4 ± 0.2	3.8 ± 0.1	5.3 ± 0.5	13.8 ± 1.2
150	146.4 ± 1.1	3.5 ± 0.1	3.8 ± 0.1	5.5 ± 0.5*	14.4 ± 1.1
180	146.6 ± 1.0	3.4 ± 0.2	3.8 ± 0.1	5.6 ± 0.6*	15.2 ± 1.1

All values are means ± SEM of eight

* P < 0.05

Table 3 Effects of UN with GSH on renal function

Time after GSH or UN-injection (min)	B P (mmHg)	RBF (ml/g·min)	Ccr (ml/g·min)	U F (μl/g·min)	Una·V (μEq/g·min)	Na.Re.r (%)	Uosm (mosm/kg)
Control	117±3	3.46±0.08	0.54±0.07	4.8±0.5	0.99±0.18	98.8±0.1	849±53
GSH→							
20	118±2	3.98±0.15*	0.73±0.07	19.2±1.6*	3.67±0.43*	97.0±0.3*	530±48*
UN→							
15	118±3	3.95±0.25*	0.44±0.03	24.1±4.6*	3.52±0.79*	95.0±1.0*	392±57*
30	117±3	3.78±0.14	0.38±0.04*	24.4±2.8*	3.74±0.82*	92.7±2.1*	375±31*
60	118±4	3.57±0.18	0.27±0.04*	22.9±2.1*	3.31±0.61*	91.2±2.5*	368±26*
90	119±4	3.40±0.10	0.26±0.05*	19.8±2.9*	2.69±0.48*	89.5±2.6*	338±17*
120	119±4	3.18±0.08	0.19±0.03*	17.4±2.8*	2.43±0.47*	88.1±2.7*	329±11*
150	118±4	3.21±0.01	0.19±0.04*	15.2±2.3*	2.30±0.39*	87.3±3.1*	339±12*
180	117±4	3.19±0.33	0.17±0.04*	14.3±1.9*	2.15±0.31*	87.2±3.6*	364±8*

All values are mean ± SEM of six
BP: blood pressure
Ccr: creatinine clearance
Na.Re.r: sodium reabsorption rate
RBF: renal blood flow
Una·V: urinary sodium excretion
* P < 0.05

明な低下を認めた。尿量はGSH前処置後20分で対照の $4.8 \pm 0.05 \mu\text{l/g} \cdot \text{min}$ から $19.2 \pm 1.6 \mu\text{l/g} \cdot \text{min}$ に有意に増加し、以後も対照に比し有意な増加を認めた。尿管Na再吸収率、尿の浸透圧は共に時間的経過に従い有意な低下を示した。また血漿Na, K濃度は有意の変化なく、BUN値は上昇傾向を示した。

次にGSHで前処置することにより腎機能に如何なる影響を及ぼすかを検討するためGSH前処置UN投与群とUN単独投与群間での比較を試みた。Fig. 5に両群のCcrと尿量(UF)を示す。GSH前処置UN投与群では、GSH投与後20分でCcrは対照より約35%増加した。UN投与後は両群ともCcrは時間の経過と共に著明な低下が認められ、UN投与後3時間でUN単独投与群では対照の約23%、GSH前処置UN投与群では約31%に低下した。尿量についてみるとGSH前処置群ではGSH投与後20分には対照の約4倍に有意に増加した。UN投与直後より両群とも急速な利尿が起こり、その後も対照に比し有意の増加を示し、UN投与後3時間でUN単独投与群では約2.5倍、GSH前処置群では約3倍となった。

Fig. 6は尿管Na再吸収率を示したものであるが両群ともUN投与後は時間的経過に従い有意に低下してきたがGSH前処置UN投与群の方がUN投与60分以後にはNa再吸収率の低下は少ない傾向にあった。Fig. 7は尿中Na排泄量、K排泄量をみたものであるがNa排泄量はGSH前処置群においてGSH投与後20分で対照の約3.5倍となり、UN投与後も対照

Fig. 5 Effects of UN alone and UN with GSH on creatinine clearance (Ccr) and urine flow (UF).

に比し有意の増加を示した。UN単独投与群ではUN投与後60分でNa排泄は対照の約2.6倍となり以後も有意の増加を示した。K排泄に関してもほぼ同様の傾向を示し、両群間には有意差はなかった。

3) UN投与直後よりEDTAを静注した群

Table 4に血圧並びに腎機能変化を示す。血圧は有意に低下し、UN投与後2時間で対照の $116 \pm 1 \text{ mmHg}$ から $103 \pm 2 \text{ mmHg}$ に低下した。腎血流量は著明な変化を示さなかった。CcrはUN投与後15分で対照に比し

Fig. 6 Effects of UN alone and UN with GSH on sodium reabsorption rate (Na Reab. rate).

Fig. 7 Effects of UN alone and UN with GSH on urinary sodium and potassium excretion (UNa. V, UK. V).

変化なく、以後減少傾向を認めたが2時間で対照の $0.74 \pm 0.08 \text{ ml/g} \cdot \text{min}$ から $0.45 \pm 0.07 \text{ ml/g} \cdot \text{min}$ と約61%に有意な減少を示す程度であった。尿量はUN投与後15分で約2.7倍、30分で約4.1倍と増加し、以後は著明な変化を認めなかった。尿細管Na再吸収率はUN投与後15分で対照と変わらず、2時間で対照の $99.7 \pm 0.1\%$ から $94.5 \pm 2.8\%$ に有意な低下を示したにすぎない。尿の浸透圧はUN投与後15分で著明に低下し、以後も有意な減少を示した。Table 5は血漿電解質濃度並びにBUN値を示す。Na, K濃度には変化なかったがCa濃度はUN投与30分以後では有意な低下を認め、P濃度は上昇傾向を認めた。またBUN値の変化は少なかった。

4) UN投与終了後20分後よりEDTAを静注した群 Table 6に腎機能変化を示す。血圧はUN投与後90

分より有意に低下した。腎血流量は著明な低下を示さなかった。CcrはUN投与後15分で約83%に低下し、2時間後には約14%に著明な低下を示した。尿量はUN投与後増加し、以後も有意の増加を示し、2時間で対照の約6.3倍となった。尿細管Na再吸収率はUN投与後有意なる減少を認め2時間で対照の99.7%から74.8%に減少した。尿の浸透圧はUN投与後15分で著明に低下し、以後も有意な低下を示した。Table 7に血漿電解質濃度並びにBUN値を示す。Na, K濃度には変化なかったがCa濃度はUN投与後60分以後有意に低下し、P濃度は上昇傾向を示した。BUN値は上昇傾向を認め、2時間以後には有意に上昇した。

次にUNによるCcr、尿細管Na再吸収率低下に対するEDTAの影響をみるためUN単独投与群とEDTAを用いた2群についての3群間比較を試みた。Fig. 8は3群間でのCcr変化を% changeで表わしたものであるがUN投与終了直後よりEDTAを点滴静注した群ではUN単独投与群に比しCcrの減少が有意に少なかった。一方、UN投与終了20分後よりEDTAを静注した群ではUN単独投与群よりも著明にCcrが低下した。Fig. 9は3群間で尿細管Na再吸収率をみたものであるが、UN投与終了直後よりEDTAを静注した群ではほとんど低下を認めなかった。それに対してUN投与終了20分後にEDTAを静注した群ではUN単独投与群に比し著明に低下した。

2. 腎皮質内SH基並びに腎糸球体SH基の定量

腎皮質内SH基含量についてはFig. 10のようにFree-SH基含量はUN単独投与群では正常群と変動はなかったが、GSH前処置UN投与群では約13%の増加を認めた。またSoluble protein-SH基含量はUN単独投与群では対照の約52%となりGSH前処置UN投与群では対照の約79%となった。これらの差により、UNによるSoluble protein-SH基含量低下がGSHにより有意に抑えられている。

糸球体のSH基含量についてはFig. 11に示すようにFree-SH基含量はUN単独投与群では対照の約70%に減少し、一方GSH前処置UN投与群では約25%増加した。Soluble protein-SH基含量はUN単独投与群では対照の約79%に低下し、GSH前処置UN投与群では対照の約86%に低下した。

3. 電顕像による検索

Table 8はGSH前処置群を除いた3群間での腎機能変化と形態的变化との関連性を得るために、電顕用資料を採取した時間、すなわちUN投与後15分、2時

Table 4 Renal functional parameters: Effects of EDTA injection immediately after administration of UN

Time after UN-injection (min)	B P (mmHg)	RBF (ml/g·min)	Ccr (ml/g·min)	U F (μl/g·min)	Na. reab. rate (%)	Uosm (mosm/kg)
UN → Control	116 ± 1	3.76 ± 0.23	0.74 ± 0.08	2.7 ± 0.2	99.7 ± 0.1	1333 ± 99
EDTA → 15	114 ± 2 *	4.17 ± 0.25	0.71 ± 0.10	7.3 ± 1.4 *	99.4 ± 0.3	607 ± 127 *
30	111 ± 2 *	3.83 ± 0.29	0.57 ± 0.14	11.1 ± 3.9 *	98.3 ± 1.2	598 ± 116 *
60	106 ± 3 *	3.72 ± 0.32	0.49 ± 0.09	13.8 ± 4.3 *	97.0 ± 1.8	472 ± 84 *
90	105 ± 2 *	3.67 ± 0.36	0.50 ± 0.08	16.7 ± 4.5 *	95.7 ± 2.3 *	423 ± 39 *
120	103 ± 2 *	3.68 ± 0.32	0.45 ± 0.07 *	14.3 ± 2.4 *	94.5 ± 2.8 *	407 ± 38 *
150	102 ± 2 *	3.66 ± 0.29	0.44 ± 0.08 *	15.2 ± 2.9 *	96.4 ± 1.0 *	393 ± 24 *
180	100 ± 2 *	3.61 ± 0.29	0.42 ± 0.07 *	14.2 ± 3.1 *	93.1 ± 3.7 *	380 ± 10 *

All values are means ± SEM of six

* P < 0.05

BP : blood pressure

RBF : renal blood flow

Ccr : creatinine clearance

UF : urine flow

Na. reab. rate : sodium reabsorption rate

Uosm : urine osmolality

Table 5 Concentration of plasma electrolytes and blood urea nitrogen: Effects of EDTA injection immediately after administration of UN

Time after UN-injection (min)	P _{Na} (mEq/l)	P _K (mEq/l)	P _{Ca} (mEq/l)	P _P (mEq/l)	BUN (mg/dl)
UN → Control	146.9 ± 1.3	3.3 ± 0.1	3.8 ± 0.1	4.5 ± 0.2	9.4 ± 0.2
EDTA → 15	148.6 ± 1.5	3.1 ± 0.2	3.6 ± 0.1	4.8 ± 0.4	9.7 ± 0.3
30	148.1 ± 1.8	3.1 ± 0.2	3.5 ± 0.1 *	4.9 ± 0.4	10.0 ± 0.6
60	147.9 ± 1.6	3.1 ± 0.1	3.3 ± 0.1 *	5.0 ± 0.5	10.0 ± 0.6
90	150.7 ± 1.8	3.1 ± 0.2	3.2 ± 0.1 *	5.1 ± 0.6	10.7 ± 1.2
120	150.3 ± 2.1	3.0 ± 0.1	3.1 ± 0.1 *	5.4 ± 0.7	11.0 ± 1.2
150	152.7 ± 1.5	3.0 ± 0.2	3.1 ± 0.2 *	5.3 ± 0.7	11.0 ± 1.7
180	151.8 ± 3.8	3.0 ± 0.2	3.0 ± 0.2 *	5.6 ± 0.8	11.7 ± 1.8

All values are means ± SEM of six

* P < 0.05

間において Ccr と BUN 値を比較したものである。UN 単独投与群では15分では正常対照群の48%に減少し、2時間値では Ccr はさらに減少し対照の約19%となり BUN 値はわずかな上昇を示した。UN 投与終了直後に EDTA を静注した群では15分で Ccr と BUN 値は共に対照と差がなく、同群の2時間値では Ccr は対照の約61%となつた。UN 投与終了20分後より EDTA を静注した群では2時間値において Ccr は対

照の約11%に著明な低下を示した。

1) 正常対照群

Fig. 12-a はほぼ正常な糸球体毛細管壁である。中央に均一で幅もほぼ等しい基底膜があり、血管腔側には内皮細胞層が薄くなり接しており、ポウマン氏腔側には上皮細胞の足突起が接し、これら3層により糸球体毛細管壁が構成されている。内皮細胞層には数多くの内皮小孔 (Endothelial fenestrae) が認められた。Fig.

Table 6 Renal functional parameters: Effects of EDTA injection 20 minutes after administration of UN

Time after UN-injection (min)	B P (mmHg)	RBF (ml/g·min)	Ccr (ml/g·min)	U F (μl/g·min)	Na. reab. rate (%)	Uosm (mosm/kg)
Control	117±2	4.01±0.34	0.58±0.02	2.9±0.3	99.7±0.1	1212±57
UN→						
15	115±3	4.36±0.41	0.48±0.08	12.2±2.3*	97.8±0.7*	603±89*
EDTA→						
30	113±3	4.01±0.45	0.30±0.03*	16.2±2.5*	93.4±1.8*	473±47*
60	109±4	3.77±0.45	0.15±0.01*	16.9±1.8*	85.8±1.2*	443±25*
90	108±4*	3.76±0.48	0.10±0.01*	18.6±0.9*	78.4±2.1*	393±19*
120	107±3*	3.74±0.46	0.08±0.01*	18.2±1.4*	74.8±3.9*	384±13*
150	105±3*	3.72±0.44	0.07±0.01*	16.2±1.8*	74.3±4.4*	361±25*
180	104±3*	3.71±0.43	0.06±0.01*	15.6±1.7*	74.1±4.6*	361±29*

All values are means±SEM of six

* P<0.05

BP : blood pressure

RBF : renal blood flow

Ccr : creatinine clearance

U F : urine flow

Na. reab. rate : sodium reabsorption rate

Uosm : urine osmolality

Table 7 Concentration of plasma electrolytes and blood urea nitrogen: Effects of EDTA injection 20 minutes after administration of UN

Time after UN-injection (min)	P _{Na} (mEq/l)	P _K (mEq/l)	P _{Ca} (mEq/l)	P _P (mEq/l)	BUN (mg/dl)
Control	143.9±0.7	3.6±0.1	3.8±0.1	5.5±0.5	12.9±0.6
UN→					
15	143.5±1.2	3.4±0.1	3.8±0.1	5.5±1.4	13.0±1.5
EDTA→					
30	144.0±1.0	3.4±0.2	3.7±0.1	5.2±1.1	13.3±1.7
60	141.5±1.5	3.3±0.2	3.4±0.1*	5.3±1.1	14.7±1.9
90	142.8±0.9	3.4±0.2	3.3±0.1*	5.5±1.1	16.0±2.0
120	142.8±1.7	3.4±0.2	3.2±0.1*	6.1±1.2	17.3±1.7*
150	143.3±1.4	3.3±0.2	3.1±0.1*	5.9±1.4	18.7±1.9*
180	143.8±1.6	3.3±0.2	3.0±0.2*	6.4±1.1	21.0±3.2*

All values are means±SEM of six

* P<0.05

12-b はほぼ正常な近位尿細管上皮像である。

2) UN 単独投与群

Fig. 13-a は糸球体毛細管壁像である。UN 投与後15分で既に内皮細胞の腫大がみられ、基底膜内透明層が無定形物質の沈着により著しく不規則に肥厚する像が観察された。Fig. 13-b は同時間の近位尿細管上皮像であるが、Basal infolding に若干の拡張がみられる以外

は、変性、壊死などの異常所見は観察されなかつた。また UN 投与後2時間でも糸球体係蹄壁、尿細管は15分像と同様の所見を呈した。

3) GSH 前処置 UN 投与群

UN 投与後15分像では UN 単独投与群と同様の所見を呈し、2時間での糸球体係蹄壁像(Fig. 14-a)、近位尿細管上皮像 (Fig. 14-b) においても UN 単独投与

Fig. 8 Effects of EDTA to creatinine clearance (Ccr) after administration of UN.

Fig. 9 Effects of EDTA to sodium reabsorption rate (Na. reab. rate) before and after administration of UN.

Fig. 16-a は UN 投与後 2 時間の糸球体毛細管壁像であるが内皮細胞腫大、内皮小孔の減少並びに基底膜内透明層が無定形物質の層状沈着により不規則に著しく肥厚する像が観察された。Fig. 16-b は同時間の近位尿管上皮の刷子縁付近を示すものであるが特に異常はなかった。

なお GSH 単独投与群並びに EDTA 単独投与群では糸球体像、尿管像共に正常対照群と比べ著変はなかった。

考 察

1. 発症期における SH 基含量の変動
急性腎不全発症早期にみられる腎代謝異常がその後起こる腎機能低下と複雑に結びついていることは容易に想像できる。しかし、UN 誘発急性腎不全モデルについて生化学的な面からの発症機序を検討した報告は少ない。そこで UN 誘発急性腎不全における腎機能低

- 4) UN 投与終了直後より EDTA を静注した群
Fig. 15-a₁, Fig. 15-a₂はそれぞれ UN 投与後15分、2 時間で糸球体毛細管壁像であるが正常群と変わらず、内皮小孔も確認できた。また尿管上皮にも変性、壊死などの明らかな異常所見は見い出されなかった。
- 5) UN 投与終了20分後より EDTA を静注した群

Fig. 10 Effects of GSH on free-SH group (A) and soluble protein-SH group (B) of renal cortex.

Fig. 11 Effects of GSH on free-SH group (A) and soluble protein-SH group (B) of renal glomeruli.

Bar was expressed as mean $\pm$ SD.

Table 8 Effects of EDTA to creatinine clearance (Ccr) and blood urea nitrogen (BUN) after administration of UN

Group	Time after UN	Creatinine clearance (mL/g·min)	BUN (mg/dL)
Control (n=6)		0.74 ± 0.08	9.4 ± 0.2
Group 1. UN alone (n=8)	15 min	0.35 ± 0.07^a	12.9 ± 1.5^a
	2 hours	0.14 ± 0.05^a	13.8 ± 1.2^a
Group 2. EDTA injection immediately after UN (n=6)	15 min	$0.71 \pm 0.10^{b, c}$	$9.7 \pm 0.3^{b, c}$
	2 hours	$0.45 \pm 0.07^{a, b, c}$	$11.0 \pm 1.2^{b, c}$
Group 3. EDTA injection 20 min after UN (n=6)	15 min	0.48 ± 0.08^a	13.0 ± 1.5^a
	2 hours	0.08 ± 0.01^a	17.3 ± 1.7^a

Values are expressed as the means $\pm$ SEM.

^a $P < 0.05$ (VS. control); ^b (group 2 VS. group 1 in same time after UN);

^c (group 2 vs. group 3 in same time after UN)

Fig. 12-a Glomerular capillary loop without remarkable changes. ($\times 36,000$)

Fig. 12-b Almost normal proximal convoluted tubule. ($\times 9,300$)

Fig. 13-a Glomerular capillary loop with thickening of basement membrane by the deposit of amorphous granular substance 15 minutes after administration of UN. ($\times 23,000$)

Fig. 13-b Proximal convoluted tubule 15 minutes after administration of UN. ($\times 12,000$)

Fig. 14-a Glomerular capillary loop 2 hours after administration of UN with GSH. ($\times 63,000$)

Fig. 14-b Proximal convoluted tubule 2 hours after administration of UN with GSH. ($\times 17,000$)

Fig. 15-a₁ Glomerular capillary loop 15 minutes after UN administration with EDTA injection immediately afterwards. ($\times 60,000$)

Fig. 15-a₂ Glomerular capillary loop 2 hours after UN administration with EDTA injection immediately afterwards. ($\times 48,000$)

Fig. 16-a Glomerular capillary loop 2 hours after UN administration with EDTA injection 20 minutes afterwards. The number of endothelial fenestrae were decreased. Inner transparent layer of glomerular basement membrane was remarkably thickened by layered deposit of amorphous substance. ($\times 70,000$)

Fig. 16-b Proximal convoluted tubule 2 hours after UN administration with EDTA injection 20 minutes afterwards. ($\times 68,000$)

下とSH基との関連性を検討するために腎皮質内SH基含量の変動をみたのであるが発症後3時間において正常対照群に比べUN単独投与群では有意に可溶性蛋白SH基含量が低下することが判明した。UN投与により結果的に可溶性蛋白のSH基含量が約50%減少したのであるが、UNが膜蛋白のSH基と直接結合したのが、あるいはUN初期毒性による代謝障害によってもたらされるものかは不明である。

さて、GSHで前処置したことでUNによる可溶性蛋白SH基含量低下を弱体化せしめたのはGSHの蛋白SH基に対する保護作用によるものと考えられる。し

かしながらUNによるCcr低下をGSHで前処置することによつて抑え得ることができなかつた。したがつてCcr低下に対してはSH基関与は必須の要因とはなつていないようである。

一方、UNによる尿細管Na再吸収率の低下を弱化する傾向にあつたのはGSHがUNによる Na^+ transport 阻害を若干ふせいだ可能性もある。というのはカメの膀胱を用いた実験でUNは Na^+ active transportを阻害すると言われ⁸⁾、輸送過程でエネルギーを供給する酵素はSH酵素と考えられるからである。そしてUN投与直後に濃縮能が急速に失なわれた

のは電解質輸送の障害と矛盾がなく、さらに発症早期に可溶性蛋白 SH 基含量低下が観察されたことから考え合わせると、UN と膜蛋白 SH 基との反応が尿細管の機能低下に対しては最初のステップとなつている可能性がある。

最近の知見として GSH には腎循環に対し特異的作用があることが報告されている。松本ら⁹⁾は200mg/kg の GSH 点滴静注で尿量の増加を報告しており、さらに竹中ら¹⁰⁾は犬に200mg/kg の GSH を持続静脈内投与して上腸間膜動脈および腎動脈血流量が約20%特異的に増加し、その原因として全末梢血管抵抗の低下の関与を示唆している。著者の実験でも GSH (450mg/kg) 投与後20分で腎動脈血流量が約15%有意に増加し、Ccr は約35%、尿量は約4倍に有意に増加した。GSH は腎動脈血流量を特異的に増加させ、尿量の増量をきたす作用のあることが判明した。

GSH 前処置によりあらかじめ利尿をつけた状態で UN を投与しても、急性腎不全発症期の経過に有意なる影響を及ぼさなかつたことから、UN による腎毒性急性腎不全では尿中 Na 排泄量増加を伴う尿量の増量によつても腎不全発症をふせぎ得ないと考えられる。その一因として尿中 Na 排泄の増大が Tubuloglomerular feed back (以下 TGF と略す) 機構を刺激したかも知れない。Mason ら¹¹⁾はレニン・アンギオテンシン系の関与、尿細管再吸収の低下、GFR の低下という3つの事実から急性腎不全において TGF の作動が発症の trigger として重要ではないかと考えた。しかし腎内レニン含量を種々の操作により変化させても、実験的急性腎不全発症後の GFR には対照との差がなかつた。この結果より急性腎不全と TGF との関連性はないように考えられるが、TGF の mediator としてレニン・アンギオテンシン系が絶対的に必要なものであるという根拠はないので、TGF の作動が発症の trigger となつているということを否定はできない。

ところでグルタチオンはグルタミン酸、システイン、グリシンよりなるトリペプチドで生化学反応の中心をなすのは SH 基である。細胞内において大部分が GSH として存在し、SH 酵素や蛋白 SH 基の修復、賦活作用があると考えられており、腎では GSH 含量が多く、その大部分が近位尿細管上皮細胞に存在している。そして GSH を静脈内投与をした場合の吸収、排泄に関してはラットでの GSH 負荷実験で動脈血と腎静脈血における GSH レベルの差により血中に負荷した GSH の88%が腎でとり込まれ、とり込まれた GSH の

26%が糸球体から濾過される¹²⁾。剔出したウサギ腎において perfusate に GSH を加えることによって細胞内 GSH の損失をふせげることが観察され、Extra cellular GSH の腎 GSH 含量を維持する役割が示唆されるものである¹³⁾。さらに灌流したラット腎から尿細管上皮細胞をとり出して細胞内 GSH の性質を研究した Ormstad ら¹⁴⁾の実験により尿細管上皮細胞内 GSH レベルに関する外因性 GSH の支持的役割が示唆されている。したがって経静脈性に GSH を全身投与した場合、大部分腎で取り込まれ尿細管上皮細胞内 GSH レベルを維持するものと思われる。さらに著者の実験により GSH を静脈内に投与すれば腎皮質内可溶性蛋白 SH 基に対し保護作用のあることが判明した。

2. 発症期における EDTA の影響

EDTA は2価の陽イオンに対しキレート作用があり、静脈内に投与した場合、糸球体で濾過され、Creatinine と同じように排泄される。そのため血液中の Ca^{++} は EDTA とキレート結合し尿中に排泄される。著者の実験でも EDTA の点滴静注により血漿 Ca が有意に低下した。Kleinman ら¹⁵⁾は UN モデルで UN 静注30分後にキレート剤である dithiothreitol (DTT) を投与すれば腎不全の発症が防止できたと報告している。さらに著者の実験でも UN 投与後直ちに EDTA を投与すれば、Ccr と尿細管 Na 再吸収率の評価からみて腎機能低下を有意に抑え得ることが判明した。なお UN 投与終了20分後より EDTA を静注した群において UN 単独投与群よりも著明な Ccr 低下並びに尿細管 Na 再吸収率の低下が観察されたのは UN により障害をうけた細胞膜表面から EDTA が細胞内に入り易くなり、EDTA 自体の腎障害作用が加わつたためと考えられる。これは EDTA が微量金属イオンおそらくは Zn, Fe, Mn イオンをマスクし、そのためこれらのイオンが関与している酵素作用が停止し、代謝の連鎖が切断されるために細胞機能がそこなわれた可能性がある¹⁶⁾。10分間で UN を注入していることから考え、UN 投与終了直後は注入した UN の一部は血液中の蛋白と結合して存在し、一部は組織の膜蛋白と結合していると想像されるので、EDTA の腎不全発症に対する防御効果は主としてキレート作用により UN の蛋白毒性が出る前に蛋白と UN との結合物より UN を分離させたことによりもたらされたものと思われる。

3. GFR 低下の機序

犬に10mg/kg の UN 投与での急性腎不全発症早期

は Ccr の評価でもわかるように GFR の急激な低下、尿中 Na 排泄量の増量を伴う急速な利尿で特徴づけられる。UN による腎血流量の変動は少ない⁴⁾¹⁷⁾ので発症期の GFR 低下の機序として以下のものが考えられる。

1) 障害された尿細管上皮を通しての糸球体濾液の腎間質への逆拡散

急性腎不全では尿細管壊死部を介して糸球体濾液が逆拡散する可能性があると考えられてきた。すなわち円柱などにより尿細管に閉塞が生じると、尿流により閉塞部位より中枢側での尿細管内圧が上昇し、壊死部を介して糸球体濾液が腎間質へ逆拡散すると言われていた。UN モデルの維持期では糸球体濾液の逆拡散を伴った尿細管基底膜の透過性の亢進は急性腎不全の重症度の主たる要因であると報告されている¹¹⁾¹⁷⁾。しかしながら今回の発症早期の実験において組織学的検索では尿細管腔に円柱を認めず、かつ尿細管上皮細胞に壊死部は無く、尿細管基底膜にも著変を認めなかつたことから UN 投与後 2 時間までの発症早期には逆拡散が主役をなすと考え難い。

2) 尿細管閉塞による有効糸球体濾過圧の減少

UN モデルでは尿細管閉塞は観察されず¹¹⁾¹⁷⁾、Flamenbaum ら³⁾も UN 誘発急性腎不全の発症期には尿細管閉塞の証拠はないと述べている。著者の実験でも UN 投与後は尿量が著しく増量し、形態学的にも尿細管閉塞の所見は見い出されなかつた。

3) 腎内血行力学的変動(腎内循環動態異常)

犬に UN (10mg/kg) 投与後 3 時間で腎血管収縮並びに皮質外層から内層への血流再分布を認めている¹⁾。Blantz¹⁷⁾はラットに UN を用いた実験で、腎血流量に変化を認めておらず、山口⁴⁾も犬に UN10mg/kg を投与したが、腎血流量に変化を認めておらず、UN 投与後 15 分では腎内血流分布に変化なく、150 分において腎皮質外層から内層への再分布を認めたとしているが、皮質外層第一領域における絶対流量の 15% 減少はたいした違いでなく、これのみでは著明な GFR 低下の説明がつかない。すなわち腎内血流再分布が GFR 低下の主因とはなっていないことを示唆しているように考えられる。

4) 糸球体毛細血管透過性の低下

UN による急性腎不全の発症期において糸球体透過性の変化による糸球体毛細血管の限外濾過性能の低下で GFR 低下を説明し得るかも知れない。Blantz¹⁷⁾が UN をラットに用いた実験で、UN (15mg/kg) 投与 2

時間後に糸球体の血行動態を直接に測定しており、急速な糸球体の透過性の減少を報告している。

しかし、これらの機序は腎機能低下が進み急性腎不全に陥っていく際の結果として出現した可能性もある。腎のもつ複雑な構造および機能から発症には以上の機序の他に数多くの機序が複合的に関与していると想像できる。

4. 形態学的変化

Avasthi ら¹⁸⁾はラットに UN を投与し、走差型電顕による観察を行ない、UN 投与後 2 時間において内皮小孔の密度と大きさの減少を認めている。内皮細胞は糸球体毛細管の filtration area の調整に重要な役割をはたすことから内皮細胞腫大も GFR 低下に対して一つの要因をなすものと考えられる。

電顕レベルの形態学的観察ではすべての群において尿細管上皮細胞には異常なく、UN 単独投与群、GSH 前処置 UN 投与群と UN 投与終了 20 分より EDTA を静注した群において糸球体内皮細胞の腫大、内皮小孔の減少並びにやや電子密度の高い無定形顆粒の沈着による糸球体基底膜内透明層の肥厚が認められ、しかもこれら 3 群共に Ccr の低下が認められた。一方 UN 投与終了直後に EDTA を静注した群では糸球体毛細管壁に既述の特徴ある変化がなく、同時に Ccr 低下が防御されていることから考え、これら糸球体の形態学的変化が糸球体透過性に何らかの関わりを持ち、それが GFR 低下の主因をなしたかも知れない。

また、糸球体基底膜(以下 GBM と略す)の濾過機能の検討によると人工膜と同じように GBM にも Concentration polarization effect が働くことが証明されている¹⁹⁾。すなわち GBM を透過しない大きい分子が層形成により GBM を被覆してしまい、透過すべき小分子物質の透過をはばむことになる。UN 投与後にみられた基底膜内透明層の沈着物により Concentration polarization effect が働いたかも知れないし、沈着物が GBM に対して何らかの変性をもたらしたか、あるいは GBM 本来の性質を変換してしまつたかも知れない。

以上、糸球体の透過性に関わりを持つ因子として微細構造上の変化のみを問題としてきたが、今後さらに研究が進めば他にも血行動態を始めとする、荷電、物理化学的な因子などが複合的に透過性に関わりをもつことが明らかにされるであろう。

結 語

UN 誘発急性腎不全犬を用い、発症機序の解明に重

要と考えられる初期変化を時間的経過を追って検討した。すなわち蛋白 SH 基を保護すると考えられている GSH を用い、発症期における腎皮質 SH 群の変動を検討し、SH 群の変化と機能的、形態学的変化との関連性を明らかにせんとした。次に 2 価の重金属キレート剤である EDTA を用い急性腎不全発症期における EDTA の防御効果の有無および腎の機能的変化と形態学的変化との関連性を明らかにせんとし、以下の成績を得た。

1. UN 単独投与により GFR 低下、尿管 Na 再吸収率が低下すると共に、可溶性蛋白 SH 基含量が有意に低下し、GSH で前処置することにより可溶性蛋白 SH 基含量の低下を有意に抑えることができた。しかしながら GFR は低下した。可溶性蛋白 SH 基含量と GFR との関連性がないことから、UN による GFR の低下に対して SH 基が必須の要因をなすものとは考え難い。

2. 形態学的検討では光顕レベルにおいて糸球体、尿管共に何ら異常なく、電顕レベルにおいて UN 単独投与群、GSH 前処置 UN 投与群と UN 投与終了 20 分後より EDTA を静注した 3 群に糸球体内皮細胞腫大と内皮小孔の減少並びに無定形物質沈着により肥厚する像が観察され、同時に GFR の低下が認められた。一方、UN 投与直後より EDTA を静注した群では糸球体係蹄壁においてこれら特徴ある変化の発生はほとんど見い出せず。しかも GFR の低下を防御できた。

3. 機能的変化と形態学的変化との関連性から、特徴的な糸球体係蹄壁の形態学的変化が糸球体透過性に何らかの関わりを持ち、それが GFR 低下の主たる要因をなしたかも知れない。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った前川正信教授、藤本輝夫教授、助川義寛教授に深甚の謝意を表します。また直接御指導頂いた岸本武利助教授並びに本学薬理学教室池本文彦助教授に深く感謝します。

本論文の要旨は第11回日本腎臓学会西部部会、第24回日本腎臓学会総会および第218回大阪市医学会例会において発表した。

文 献

- 1) Stein, J.H., Gottschall, J., Osgood, R.W. and Ferrs, T.F.: Pathophysiology of a nephrotoxic model of acute renal failure. *Kidney Int.*, 8: 27—41, 1975.
- 2) Flamenbaum, W.: Pathophysiology of acute renal failure. *Arch. Intern. Med.*, 131: 911—928, 1973.

- 3) Flamenbaum, W., McNeil, J.S., Kotchen, T.A. and Saladino, A.J.: Experimental acute renal failure induced by uranyl nitrate in the dog. *Circ. Res.*, 31: 682—698, 1972.
- 4) 山口哲男: 実験的急性腎不全に関する研究. 阪市医誌, 29: 605—618, 1980.
- 5) Rothstein, A.: Cell membrane as site of action of heavy metals. *Federation Proceedings.*, 18: 1026—1035, 1959.
- 6) Ellman, G.L.: Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.*, 82: 70—77, 1959.
- 7) 松本 博, 国則登代: DTNB による SH 期の定量, SH 基の定量法. 第1版. p. 86—93, 学会出版センター, 東京, 1978.
- 8) Schwartz, J.H. and Flamenbaum, W.: Heavy metal-induced alterations in ion transport by turtle urinary bladder. *Am. J. Physiol.*, 230: 1582—1589, 1976.
- 9) 松本明知, 若山茂春, 坪 敏仁, 伊波 寛, 松井雅之, 尾山 力: 体外循環時の各種血中ホルモンおよび逸脱酵素濃度に及ぼす還元型グルタチオンの効果. 麻酔, 30: 150—157, 1981.
- 10) 竹中登一, 浅野雅博, 岡田和夫, 小杉 功: 還元型グルタチオンの麻酔イヌの循環動態に及ぼす影響. 麻酔, 373—379, 1981.
- 11) Mason, J., Kain, H., Shiigai, T. and Welsch, J.: The early phase of experimental acute renal failure. V. The influence of suppressing the renin-angiotensin system. *Pflügers Arch.*, 380: 233—243, 1979.
- 12) Häberle, D., Wahlländer, A. and Sies, H.: Assessment of the Kidney function in maintenance of plasma glutathione concentration and redox state in anaesthetized rats. *F.E.B.S. Lett.*, 108: 335—340, 1979.
- 13) Fonteles, M.C., Pillion, D.J., Jeske, A.H. and Leibach, F.H.: Extraction of glutathione by the isolated perfused rabbit kidney. *J. Surg. Res.*, 21: 169—174, 1976.
- 14) Ormstad, K., Lästbom, T. and Orrenius, S.: Translocation of amino acids and glutathione studied with the perfused kidney and isolated renal cells. *F.E.B.S. Lett.*, 112: 55—59, 1980.
- 15) Kleinman, J.G., McNeil, J.S., Schwartz, J.H., Hamburger, R.J. and Flamenbaum, W.: Effect of dithiothreitol on mercuric chloride- and uranyl nitrate-induced acute renal failure in the rat. *Kidney Int.*, 12: 115—121, 1977.
- 16) 安東 毅, 今村寿明, 村瀬一郎, 上野景平: EDTA のヒトに対する急性、亜急性の生理作用, EDTA, —コンプレキサンの化学—第1版. p. 194—196, 南江堂, 東京, 1977.

- 17) Blantz, R.C.: The mechanism of acute renal failure after uranyl nitrate. *J. Clin. Invest.*, **55**: 621—635, 1975.
- 18) Avasthi, P.S., Evan, P.A. and Hay, D.: Glomerular endothelial cells in uranyl nitrate-induced acute renal failure in rats. *J. Clin. Invest.*, **65**: 121—127, 1980.
- 19) Robinson, G.B. and Cotter, T.G.: Concentration polarization. A determining factor in filtration across basement membrane? In *Functional Ultrastructure Of The Kidney*, edited by Maunsbach, A.B., Steenolsen, T. and Christensen, E. I., p. 75—89, Academic Press, London, 1980.

(1982年3月1日受付)