ラット正常およびネフローゼ腎における prostaglandin E₂ 結合部位

鈴木重雄・鈴木順造・鈴木 仁^{*1)}、中畑則道^{*2)}

rapid communication

Prostaglandin E₂ binding sites in the normal and nephrotic kidney in rats The distribution and characteristics of renal prostaglandin E₂ (PGE₂) binding sites were examined in the normal and aminonucleoside-induced nephrotic rats by Scatchard analysis.

PGE₂ binding site density in the medulla of normal rats was 2.7-fold higher than that in the cortex, but there was no significant difference in the dissociation constants (K_d) between cortex and medulla.

The K_d in the kidney medulla of the nephrotic rats were significantly higher ($P < 0.05$) than that of normal rats, while the densities remained without changes.

These results indicate that PGE₂ binding sites of the normal rat kidney are distributed in the medulla more than in the cortex, and the affinities of PGE₂ binding sites in the nephrotic rat kidney are lower than those in normal rat kidney.

Shigeo Suzuki・Junzo Suzuki・Hitoshi Suzuki^{*1)},
Norimichi Nakahata^{*2)}

^{*1)} Department of Pediatrics,

^{*2)} Department of Pharmacology,
Fukushima medical college

key words: prostaglandin E₂, binding sites,
nephrotic rats

腎では、種々の prostaglandin (PG) が生成され、腎の血行動態や電解質代謝、血圧などの調節に重要な役割を担うことが知られている¹⁾。一方、腎炎やネフローゼ症候群などの腎疾患の発症や進展、増悪に PG の関与を示唆する報告がなされている²⁾。しかし、その際に変動すると考えられる PG 受容体については、いまだ明らかではない。今回、筆者らは、腎の主要産生 PG である PGE₂ の細胞膜結合部位を正常ラットと実験的ネフローゼラット腎について検討したので報告する。

対象と方法

(1) PGE₂ 結合実験

10~12 週齢の Wistar 系雄ラット (体重 250~300 g) をエーテル麻酔下に開腹し、冷生理食塩水 (20 μ M indomethacin および 5 mM EDTA 添加, pH 7.4) にて両側腎を灌流し完全に脱血した後摘出した。皮質と髄質に分離後、冷 20 mM HEPES buffer 液 (0.25 M sucrose,

5 mM EDTA および 20 μ M indomethacin 添加, pH 7.4) 内でおのおのをホモジナイズ後、Limas ら³⁾ の方法に準じて 40,000 $\times$ g で遠沈したペレットを細胞膜標本とした。細胞膜標本 100 μ g を 0.5~24 nM の [³H]PGE₂ (specific activity 185.0 Ci/mmol, NEN 社) と 37°C 60 分間 incubate し、減圧濾過により GF/C filter (Whatman 社) に trap された結合 [³H]PGE₂ の放射活性を測定した。 [³H]PGE₂ の特異的結合は 100~1,000 倍量の非放射性 PGE₂ (小野薬品) により置換される結合量として求めたが、全結合量の約 90% であった。ついで Scatchard plots 解析により、PGE₂ 結合部位の解離定数 (K_d 値) と全結合量 (B_{max} 値) を算出した。

(2) ネフローゼラットの作製

aminonucleoside (AN) 100 mg/kg をラット腹腔内へ 1 回投与し、実験的ネフローゼラットを作製した⁴⁾。AN 投与 3 日後、7 日後、および 14 日後に腎を摘出し細胞膜標本を用いた結合実験により、PGE₂ 結合部位を解析した。

control 群としては、AN 非投与の正常ラット腎を用いた。また、ラットは代謝ケージにて飼育、24 時間採尿を行い、1 日尿蛋白量を dye-binding 法⁵⁾ により測定した。

なお、結果は mean $\pm$ SD で表示し、各数値間の比較は t-検定により行った。

結果

正常ラット腎の皮質および髄質における PGE₂ 結合部位の Scatchard plot を図 1 に示す。K_d 値は皮質、髄質間に有意差はなかったが、B_{max} 値は皮質 89.7 fmol/mg protein、髄質 244.6 fmol/mg protein と髄質の全結合量は皮質に比し、明らかに高値を示していた ($P < 0.001$)。

つぎに、AN 発症ネフローゼラットの腎髄質 PGE₂ 結合部位および尿蛋白量の経時的变化を表 1 に示した。PGE₂ 結合部位の B_{max} 値は、正常ラットとくらべて有意差を認めなかったが、K_d 値は尿蛋白量が漸増しはじめた AN 投与 3 日後に有意の ($P < 0.01$) 上昇を示した。高度蛋白尿を呈している AN 投与 7 日後、14 日後の時点においても、K_d 値の有意の上昇が認められた。さらに、皮質においても髄質と同様の結果が得られ、AN 投与 14 日後の K_d 値は 10.24 ± 1.49 nM と正常ラットとくらべて有意の ($P < 0.01$) 上昇を示したが、B_{max} 値は 95.3 ± 19.4 fmol/mg protein と有意差を認めなかった。

考察

腎における PGE₂ の作用としては、腎血流量の保持、腎集合管での水再吸収調節や Na 利尿などが知られている。これらの作用機序は、PGE₂ が主に腎髄質で作用し

*1) 福島県立医科大学小児科学教室

*2) 同 薬理学教室

図1 Scatchard plots of PGE_2 binding of normal rat kidney medulla and cortex

Results represent the averages of 5 experiments.

●: 髄質, $K_d = 7.65 \pm 0.70$ nM, $B_{\max} = 244.6 \pm 46.6$ fmol/mg

○: 皮質, $K_d = 6.38 \pm 1.28$ nM, $B_{\max} = 89.7 \pm 12.3$ fmol/mg

表1 effect of aminonucleoside (AN) on PGE_2 binding to rat kidney medulla and urinary protein excretion

	control (n=5)	AN 3 days (n=3)	AN 7 days (n=3)	AN 14 days (n=3)
Kd (nM)	7.65 ± 0.70	10.52** ± 1.18	10.76** ± 0.91	12.57* ± 3.31
$B_{\max}$ (fmol/mg)	244.6 ± 46.6	273.5 ± 22.6	207.1 ± 62.4	235.1 ± 25.5
urinary protein (mg/day)	16.1 ± 7.2	70.6** ± 16.4	315.0** ± 39.4	754.1** ± 113.8

*, **: significant difference from control value

(*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$)

ていることを示しており、髄質に皮質の2.7倍量の PGE_2 結合部位が局在しているという今回の結果は、それを裏づけるものと思われる。

AN 腹腔内1回投与による実験的ネフローゼラットは、AN投与後3日目ごろより蛋白尿が漸増し、7日目

降にネフローゼ状態を呈した。また、腎炎やネフローゼ症候群での腎内 PGE_2 産生は、増加するといわれているが⁶⁾、本実験では、AN発症ネフローゼラットの腎 PGE_2 結合部位の K_d 値が、正常ラットにくらべて上昇することを認めた。

結合部位の親和性が低下するという今回の結果は、腎機能保持に働くといわれている PGE_2 産生量の亢進がネフローゼ状態では、必ずしも腎血流量保持をもたらしているとはいえないことを示していると思われる。

以上より、ネフローゼ症候群ではPG系産生のバランスが崩れるばかりでなく、PGの受容体側も変化しているものと推察された。

最後にご検閲いただきました本学薬理学講座、中西弘則教授および Scatchard plot 解析のコンピュータプログラムを作製いただきました本学附属病院薬剤部白坂正良氏に深謝いたします。

文 献

- Schlondorff, D., Ardaillou, R.: Prostaglandins and other arachidonic acid metabolites in the kidney. *Kidney. Int.* 29: 108-119, 1986.
- Lin, E.A., Andres, G.A., Dunn, M.J.: Glomerular Prostaglandin and Thromboxane Synthesis in Rat Nephrotoxic Serum Nephritis. *J. Clin. Invest.* 72: 1439-1448, 1983.
- Limas, C., Limas, C.J.: Prostaglandin Receptors in Rat Kidney. *Arch. Biochem. Biophys.* 233: 32-42, 1984.
- Fiegelson, E.B., Drake, J.W., Recant, L.: Experimental Aminonucleoside Nephrosis in Rats. *J. Lab. Clin. Med.* 50: 437-446, 1957.
- Bradford, M.M.: A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254, 1976.
- Stork, J.E., Dunn, M.J.: Hemodynamic Roles of Thromboxane A_2 and Prostaglandin E_2 in Glomerulonephritis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 233: 672-678, 1985.