

Puromycin aminonucleoside 投与ラットの尿蛋白に 対する azapropazone の効果

小児慢性腎炎の治療法の開発に関する研究
小児慢性腎炎の薬物療法の開発に関する研究

鹿取 信, 高木美和子, 島千香子

puromycin aminonucleoside (80mg/kg, s. c.) 1回投与により尿蛋白量が4日目より増加し、7日目でプラトーになった。azapropazone (200mg/kg, p. o.) を7日目より8日間連続投与すると尿蛋白量が有意に抑制された。indomethacin (5 mg/kg, p. o.) では抑制しなかった。azapropazone による尿蛋白量減少はグロブリン量の抑制、とくに分子量の比較的大きい150~200K dalton, 90K dalton の蛋白質の膜通過が抑制されたためであった。

puromycin aminonucleoside, azapropazone, 尿蛋白量

非酸性非ステロイド性抗炎症薬である azapropazone が蛋白尿を著しく改善するという報告に基づき、その作用機序を調べた。この薬物はプロスタグランジン (PG) 生合成阻害をほとんど示さないこと¹⁾から、蛋白尿の出現・消失に PG 産成が関与する可能性は少ない。そこで蛋白質の荷電に注目して人工 collagen 膜を作りアルブミンの通過が indomethacin で変るか否か²⁾また電気泳動法により indomethacin と結合したアルブミンの移動度が変化するか否か³⁾を調べたが、いずれも結果は否定的であった。そこで今回、ラットに puromycin aminonucleoside を投与することにより、所謂ネフローゼモデルを作製し、azapropazone, indomethacin による尿中蛋白質の漏出抑制の可否について検討した。

方法

SD系SPF雄性ラット(7週令、体重188g~245g)に80mg/kgのpuromycin aminonucleoside (PAN)を皮下に一回注射することにより、ネフローゼモデルを作製した。

PAN投与7日目より1%CMCに懸濁したazapropazone (200mg/kg)、indomethacin

(5mg/kg)又はdexamethasone注射液(0.1mg/kg, 0.3mg/kg)を8日間連続経口投与した。azapropazoneは、後半4日間は一日200mg/kg2回の投与も行った。

ラットは代謝ゲージに入れ24時間尿を採取し、尿量を測定後に尿蛋白量をLowry法にて測定した。また一部、Bio-Rad社製のプロテインアッセイキットで尿蛋白量を測定し、Lowry法と比較した。7日目、11日目、14日目の尿をセルロースアセテート膜(ザルトリウス社製)を用いて電気泳動後、ボンソー3Rで染色し、デンストメーター(ヘレナ社)によりアルブミン/グロブリン比を求めた。さらに同じく7日目、11日目、14日目の尿を7.5%ゲルを用いたSDSポリアクリルアミド電気泳動法(SDS-PAGE)により分離した後、銀染色(和光キット)を行った。

結果と考察

1. azapropazone, indomethacin, dexamethasoneによる効果

PAN 80mg/kg (s. c.) を投与すると図1の様に4日目頃より尿中の蛋白質質量が増大し、7日頃からプラトーになった。Lowry法にて測定した尿蛋白質質量が全経過を通じ他の報

北里大学医学部薬理

Makoto Katori, Miwako Takagi, Chikako Shima

Dept. Pharmacology, Kitasato Univ School of Medicine

告に比べ高い値を示すので、Bio-Rad 社製のプロテインアッセイキットを用いて同じ試料を測定すると Lowry 法が 2~4 倍高値を示した。添加実験より Lowry 法では尿酸や尿素が値を増加させていることがわかった。そこで尿蛋白質量の変化を尿蛋白一日量その他 PAN 投与 7 日目の値を 10 として、それに対する相対値で表わすことにした。

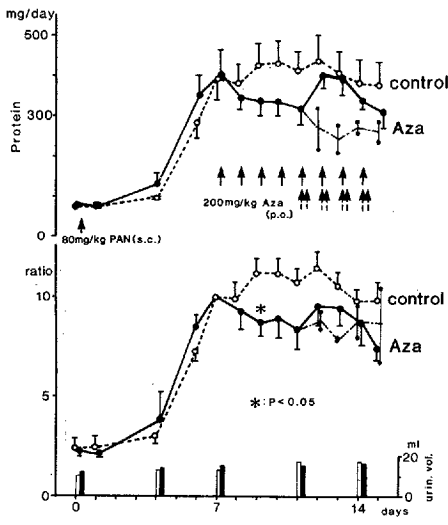


図 1. 尿蛋白質量に対する azapropazone の抑制効果

上図は一日の尿蛋白質量、下図は 7 日目の値に対する比で表したものである。PAN (puromycin aminonucleoside) を矢印の所で投与し、その 24 時間尿を第 1 日目の尿とした。azapropazone (Aza) は (200mg/kg, p. o.) (●—●) は 7 日目より連日投与し、control (○—○) は代りに 1% CMC を経口投与した。2 匹のラットには 11 日目より azapropazone (200mg/kg, p. o.) を一日 2 回投与した (↑↑)。最下段の白カラムは control 群の尿量、黒カラムは azapropazone 投与群の尿量を示す。

azapropazone (200mg/kg) を 7 日目より 8 日間連続経口投与すると、図 1 のように抑制の程度は少ないものの抑制傾向を見せ、相対値で表わすと 9 日目には有意な抑制が見られた。また 11 日目より azapropazone (200mg/kg) を一日 2 回経口投与した群 2 例では、さらに強い抑制がみられた。indomethacin (5 mg/kg) を 7 日目より 8 日間連続経口投与すると、図 2 のように尿蛋白質量は control と大きな差が見られなかった。尚、図 2 最下段に示すように indomethacin の投与によって尿量に変化することはなかった。dexamethsone (0.3mg/kg) を 7 日目より 8 日間連続経口投与すると尿蛋白質量はかえって増大した (2 例)。体重減少がみられたので 0.1mg/kg を連続経口投与したが尿蛋白質量の抑制効果は全くみられなかった (データは示していない)。

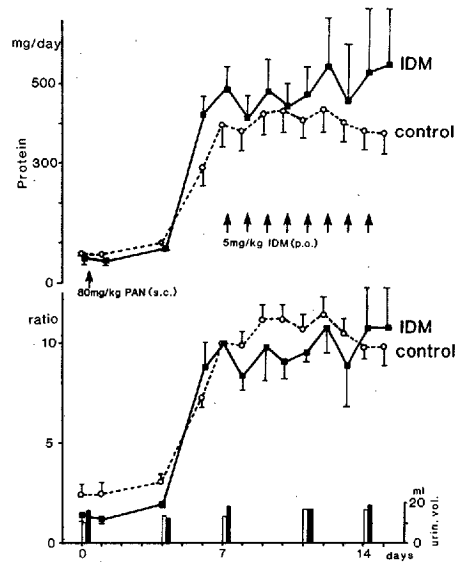


図 2. 尿蛋白質量に対する indomethacin の効果

indomethacin (5 mg/kg) は 7 日目より連日経口投与した。他の説明は図 1 と同じ。

2. 尿中蛋白質の分析

azapropazone が尿中のどの大きさの蛋白質を減少させたかを知るためにセルロースアセテート膜電気泳動法によってアルブミン/グロブリン比を求めた。azapropazone 投与後、比は増加し14日目には control に比べて有意に高い値を示した (図3)。一日2回投与した2例の場合でも同様であった。indomethacin の投与では control と同様で変化は見られなかった。さらに尿中のアルブミン量及びグロブリン量を算出すると control 及び indomethacin 投与の例ではアルブミン量・グロブリン量共に投与前後で値の変化は見られなかった (図4)。これに対し

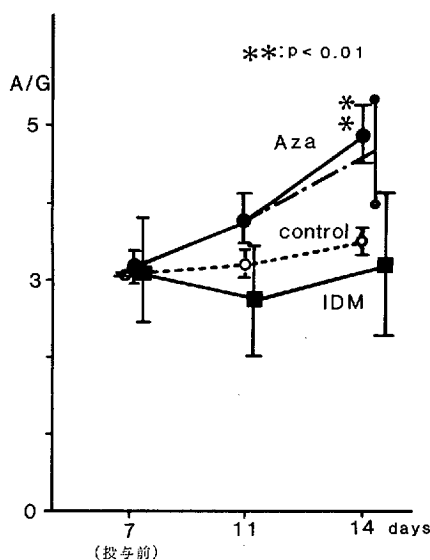


図3. 尿蛋白質のアルブミン/グロブリン比に対する azapropazone および indomethacin の効果

azapropazone (200mg/kg, p. o.) (●—●) (—··—) は一日2回投与)、indomethacin (5 mg/kg, p. o.) (■—■). control (○··○) は1% CMC を経口投与した。Aza, IDM の各値は同じ日の control と比較した。

** : P < 0.01

azapropazone 投与では、アルブミン量には有意な変化が見られなかったが、グロブリン量は投与前に比べて投与後に明らかな減少が見られた。

SDS ポリアクリルアミド電気泳動法によって尿中蛋白質を分離し、その分子量から抑制をみると (図5)、control では7, 11, 14日と時間がたつに従って90 K dalton, 200 K dalton, その他の蛋白質が増量したが、azapropazone 投与後では90 K dalton 及び150~200 K dalton のバンドが消失した。14日目に200 K dalton が僅かに増量しているが、それでも control よりは著しく少かった。

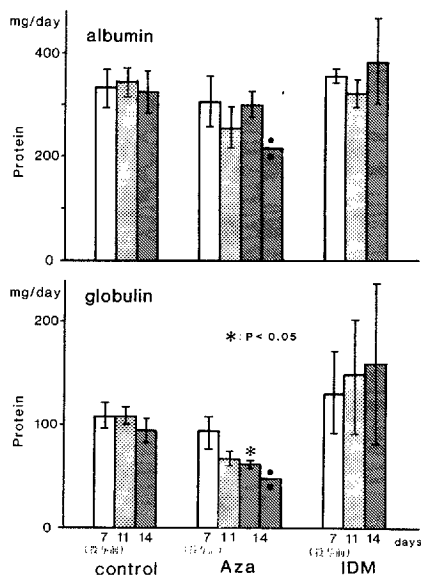


図4. 尿中のアルブミン量とグロブリン量に対する azapropazone および indomethacin の効果

下端の数字は PAN 投与後の日数。7日目は薬物投与前の値。11, 14日目の値を7日目の値と比較した。* : P < 0.05

indomethacin 投与群の14日目は control 群と全く差がなかった。これらの結果は明らかに azapropazone 投与により血漿蛋白質のうちでもグロブリンとくに分子量の大きい蛋白質の糸球体膜通過が抑制されたことを示している。これは一応膜の穴の大きさの縮小によるものと考えることが出来るが、その機序については現在のところ不明である。

azapropazone の尿蛋白減少効果が臨床での効果に比べて弱い、これは一つには本実験で用いた PAN 量が多すぎたためかもしれない。また尿蛋白質量が増加する時期に azapropazone を投与すると明らかな効果があるかもしれない。将来検討する必要がある。

文 献

- (1) 鹿取 信：日本腎臓学会誌27(7)、953-957、1985.
- (2) 鹿取 信：厚生省心身障害研究、小児慢性腎炎疾患の予防・管理・治療に関する研究、昭和60年度研究報告書、p. 11、1986.
- (3) 鹿取 信：同上、昭和61年度研究報告書、p. 10、1987.

SDS 7.5% polyacrylamide slab gel

(MWx10³)

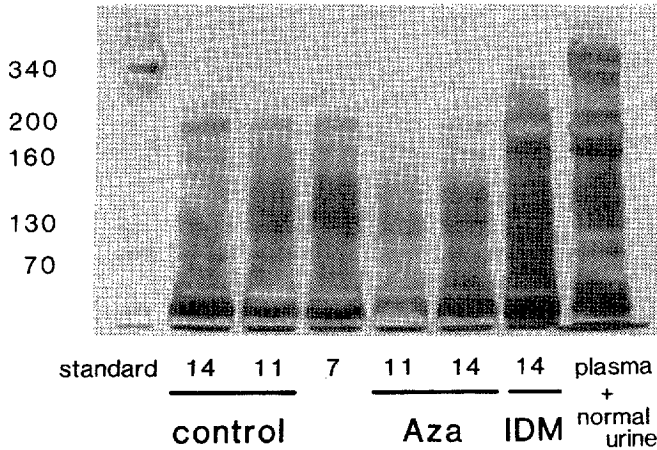


図5. SDS ポリアクリルアミド電気泳動法による尿中蛋白質の分離。

下端の数字はそれぞれ PAN 投与後7日目(薬物投与前)、11日目、14日目を示す。左端の数字は標準物質の分子量を示す。右端の泳動は PAN 投与前の尿に血漿を加えたもの。



検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



puromycin aminonucleoside(80mg/kg,s.c.)1回投与により尿蛋白量が4日目より増加し、7日目でプラトーになった。azapropazone(200 mg/kg,p.o.)を7日目より8日間連続投与すると尿蛋白量が有意に抑制された。indomethacin(5 mg/kg,p.o.)では抑制しなかった。azapropazoneによる尿蛋白量減少はグロブリン量の抑制、とくに分子量の比較的大きい150~200K dalton,90K daltonの蛋白質の膜通過が抑制されたためであった。