

アミノヌクレオチド (AN) 投与による実験腎炎ラット における運動の影響について

小児慢性腎炎の治療法の開発に関する研究

小児腎炎の病態病理に関する研究

宮 沢 広 文

(班員) 山 口 正 司

要約 慢性腎炎における運動は禁止されるのみであったが、最近はある程度の運動は必ずしも悪影響を与えるものではないとの意見も出てきた。著者はラットにアミノヌクレオチド (AN) を腹腔内投与してネフローゼ症候群を作成し、1群を安静群とし、他を自由に運動を行える回転式運動測定器を用いた運動群として検討した。その結果AN腎炎ラットにおいて運動負荷は蛋白尿の減少と腎機能の前進を認めたが組織所見は更に検討の必要があった。

実験腎炎、アミノヌクレオチド、運動負荷

緒言

慢性腎炎の運動管理についてはまだ不明な点が多い。近年ある程度の運動は必ずしも悪影響を及ぼさないとの考えもある。ヒトの運動負荷 (トレッドミル、水泳、等) で、腎炎への影響を見るには、おのずから限界がある。動物実験による試みも、わずかにImmune Complex-Mediated Glomerulonephritis (ICG) のウサギで、トレッドミルにて運動負荷を試みた研究¹⁾と、ラットの片腎摘出にモデルで、腎臓障害出現時に水泳の運動負荷をかけた実験の報告²⁾がみられるのみである。これらの運動負荷の条件は何れも1日20~40分のトレッドミル負荷あるいは、1日2時間の水泳をさせたのみで、その時間以外のラットの運動状態は把握されていない。また腎炎モデルはICG (急性腎炎モデル)、片腎摘出後腎炎というタイプであるためヒトの慢性腎炎のタイプとはかなり違ったものであった。

著者はヒトのネフローゼ症候群に最も近いとされるラットのAN腎炎を用いて腎炎における運動の影響を検討した。このAN腎炎モデルは、1955年Frenkらにより初めて報告され³⁾、その後、ヒトのネフローゼ微少変化群モデルとして、多くの実験が成されている腎炎である。さらにAN腎炎は、長期間観察すると、巣状糸

球体硬化症(FGS)の病片がおきることが、報告されている。

実験1では、ANを投与し、その後ネフローゼ症候群の極期から回復期にかけての病期のラットにおいて、運動がネフローゼの病態に及ぼす影響について検討した。

実験2では、ANを投与し、ネフローゼ症候群発症後、続けてさらにAN投与し、ネフローゼのパターンが持続したラットにおいて、実験1と同じく、運動とネフローゼとの関係をみた。

方法と対象

実験1、実験2、共に6週令のウィスターラット、雄、16匹ずつを用いた (計32匹)。ANは、Siguma Chemical社のpyomycinを使い、使用時に生理的食塩水にて溶解、ラット腹腔に注射した。

ラットは、各々実験前に16匹の尿中蛋白量を測定し、5mg/日以下であることを確かめた。実験1においては、約100g体重ラットにANを0.5mg/100g体重/日、20日間、腹腔内投与した。実験2ではANを1.0mg/100g体重/日、20日間腹腔内投与し、ネフローゼ発症14日後 (ネフローゼ回復期) に、さらにAN2.5mg/100g体重を1回腹腔内投与し、慢性のネフローゼの病態を作った。

国立病院医療センター

Miyazawa Hirofumi

Yamaguchi Masaji

National Medical Center Hospital

AN投与後、100日間、経時的に尿中蛋白量の経過をみた。

実験1、実験2共に、ラットは、24×24cm四方のケージのなかで4匹ずつ飼育し、蛋白尿の明らかな出現を確認した。4匹はケージの中だけで飼育し、運動量が制限された状態を保った(Group I: G I)。もう4匹は、回転式運動測定器を取り付けた日本クレハ社のラット運動測定器の中で飼育し、自由に運動を行えるよう飼育し、実験期間中の運動量が測定できるようにした(G II)。G Iを安静群、G IIを運動群とした。残り8匹は、おなじケージの中で飼育し、NA中止後100日目に採血し、CIN、CPAH検査時のラット輸液用プラズマとして用いられた。尿量測定は、測定時の条件を安静群と運動群の間で同じにする目的で、8匹を同時に同型のメタボリックケージに移し、1日尿量を測定後、1日蛋白尿を測定した。

さらに、AN中止後、100～105日後に、腎機能を測定し、腎摘出を行い、腎病変を組織学的に検討した。

腎機能測定のための採血と採尿は、ペントバルビツレートを0.08ml/100g体重の量を腹腔内に注射し、麻酔をかけた後、右頸静脈、左大腿動脈、左尿管にカテリゼーションをおこなった。開腹に合わせて、腎炎ラットより採血した輸液用プラズマを、3ml/100g体重の量と輸注した。ラットの状態が落ち着いた後、大腿動脈より採血と左尿管より採尿を行った。これよりイヌリン(IN)、パラ馬尿酸(PAH)の濃度を測定し、左腎のイヌリンクリアランス(CIN)、パラ馬尿酸クリアランス(CPAH)を計算した4)。

さらに、摘出した腎は、直ちに10%ホルマリンに固定し、Hematoxylin-Eosin, Periodic Acid Schiff, Masson-Trichrome, Periodic Acid Methenamine染色の顕微鏡標本を作製した。

結果

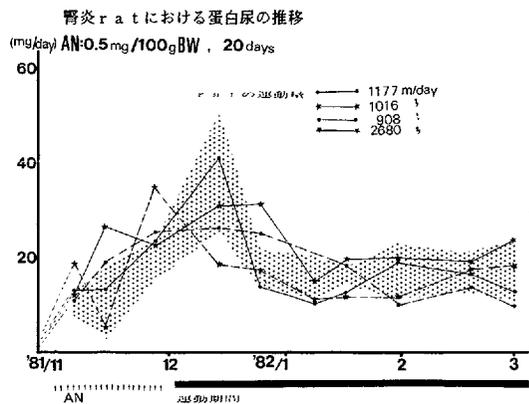
実験1

ANを0.5mg/100g体重/日、20日間投与し、

AN腎症の蛋白尿の経過を図1に示した。折れ線は、運動群(G II)を示し、4匹の1日尿中蛋白量と1日運動量である。これらのラットが走った運動量は908～2680m/日(平均1370m/日)であった。

ゾーンは、安静群(G I)を示し、1日尿中蛋白量で標準偏差値を上限、下限に取った。安静群(G I)と運動群(G II)の間には蛋白尿量に有意な差はなかった。

図1



腎機能では、AN投与後、100～105日目の腎摘出前のCIN, CPAHの値について調べた。表1のごとく、腎血流量(CPAH)(G I: 1.77±0.19, G II: 2.37±0.37ml/min)、糸球体ろ過率(CIN)(G I: 1.49±0.17, G II: 1.78±0.16 ml/min)ともに運動群(G II)のほうが有意に高かった。(p<0.05)

腎機能 表1

Rat No	CIN(ml/min) mean	CPAH(ml/min) mean
G I		
11	1.64 ○	1.90 ◎
12	1.63 1.49	1.98 1.77
13	1.29 ± 0.17	1.55 ± 0.19
14	1.40	1.68
G II		
5	1.99 ○	2.40 ◎
7	2.04 1.87	2.88 2.37
10	1.68 ± 0.16	2.00 ± 0.37
15	1.80	2.20

○◎: G I G IIの間に有意差を認める。

病理所見の検討は、長軸剖面切片でスライドを作成した。安静群(G I)と運動群(G II)の間には、FGSの糸球体数と、糸球体中の Hyaline deposits(HD) に注目する所見がみられた。表2のごとく全スライド内の糸球体数とその内所見有する糸球体数の多で両群を比較すると、FGSの糸球体数は、GI: 1.5 ± 0.4 %, GII: 2.1 ± 0.8 % で運動群(G II) の方が、やや多めであったが、その各々の糸球体の障害度についてみると、安静群(G I)の方が強い様に思われた。HDの数についてはGI: 2.6 ± 1.3 %, G II: 6.6 ± 2.4 %と運動群(G II) の方が、有意に多かった($p < 0.05$)。

組織学所見

(光顕所見)

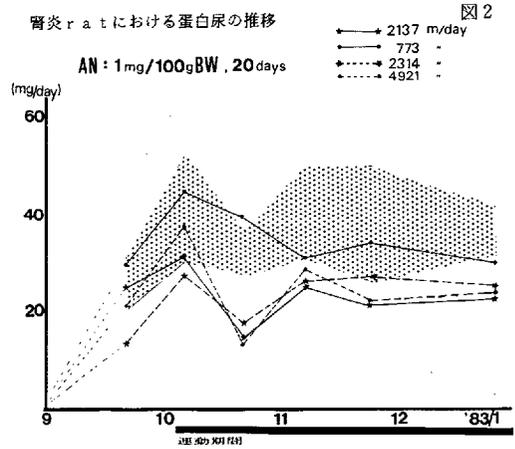
表2

Rat No (glomeruli)	FGS	Hyaline Deposits	FGS(%) mean	HD(%) mean
G I 11 (347)	4	16	1.2	4.6
12 (334)	5	7	1.5	2.1 ◎
13 (403)	9	6	2.2 ± 0.4	1.5 ± 1.3
14 (357)	5	9	1.4	2.5
G II 5 (311)	3	19	1.0	6.1
7 (280)	6	25	2.1	8.9 ◎
10 (381)	10	12	2.6 ± 0.8	3.1 ± 2.4
15 (288)	8	26	2.8	9.0

◎ : G I G II の間に有意差を認める。
(glomeruli) : count した糸球体の数。

実験 2

AN腎炎によるネフローゼをおこし、その回復期に、ANを再投与しネフローゼのパターンを持続させたラットに、実験1と同じく、運動条件を設定した。4匹のラットの走った運動量は773~4921m/日(平均2543m/日)であった。図2のごとく、運動開始前には、1日蛋白尿量は、安静群(G I)と運動群(G II)の間に有意差を認めなかった。しかし100日後には、明らかに、運動群(G II)の方が蛋白尿の減少を認めた。



腎機能(表3)についても、実験1と同じく、CIN, CPAH(安静群: CIN 0.58 ± 0.28 , CPAH 0.49 ± 0.33 、運動群: CIN 0.63 ± 0.15 , CPAH 0.55 ± 0.17 ml/min)ともに、運動群(G II)の方が高めであったが、有意差は認めなかった。また実験1に比べて、腎機能低下が認められた。

腎機能

表3

Rat No	CIN(ml/min) mean	CPAH(ml/min) mean
G I 1	0.58	0.60
2	0.18	0.12
3	0.71	0.76
4	0.83	0.82
G II 5	0.50	0.52
6	0.78	0.64
7	0.75	0.72
8	0.50	0.32

組織所見

(光顕所見)

表4

Rat No	FGS	Hyaline Deposits	FGS(%) mean	HD(%) mean
G I 1 (420)	4	4	0.9	0.9
2 (436)	3	2	0.7	0.5
3 (463)	7	7	1.5	1.5
4 (497)	4	9	0.8	1.8
G II 5 (385)	3	5	0.8	1.3
6 (430)	6	3	1.4	0.7
7 (465)	5	5	1.1	1.1
8 (436)	5	8	1.1	1.8

(glomeruli)

病理組織所見は、実験2の方が全体的に組織所見がすくなく、いわゆるリポイドネフロージスの像を示していた。実験1の様にHDの有差は、認めなかったが、実験2においても、運動群(G II)の方がその組織所見の程度は軽い様に思われた。また尿細管の所見は、実験1より実験2の方が、尿細管、管腔の拡大化、Hyaline Cast(HC), HDの所見が強く認められたが運動群(G II)と安静群(G I)の間には差はなかった。

ラットの体重及び腎重量

表5のごとく安静群(G I: $420 \pm 12g$)と運動群(G II: $402 \pm 32g$)の体重と腎重量には、有意差は認めなかったが、体重は、運動したグループの方が軽めであった。

表5

Boby Weight

G I: $420 \pm 12g$ (n=4) G II: $402 \pm 32g$ (n=4)

Kidney Weight

(left kidney)

G I: $1.40 \pm 0.09g$ (n=4) G II: $1.48 \pm 0.14g$ (n=4)

血清生化学所見

表6のごとくT.P.(G I: 5.40 ± 0.28 , G II: $5.00 \pm 0.81g/dl$), Alb(G I: 2.75 ± 0.07 , G II: $2.65 \pm 0.37g/dl$)値は低く、ネフローゼのパターンを示していたが、安静群(G I)と運動群(G II)の間には、有意差は認めなかった。又、Creat., BUN, Chol., Trig.等の異常値も認めなかった。

生化学 G I G II 表6

T P	5.40 ± 0.28	5.00 ± 0.81	(g/dl)
ALB	2.75 ± 0.07	2.65 ± 0.37	"
Chol	69.0 ± 13.6	52.0 ± 9.57	(mg/dl)
TRIG	27.0 ± 8.50	21.3 ± 13.2	"
BUN	29.2 ± 3.46	25.5 ± 2.38	"
Crea.	0.67 ± 0.12	0.65 ± 0.06	"

考察

運動量と尿蛋白量との関係についてみると、実験1ではネフローゼの極期、回復期を想定したモデルを作り実験した。運動群ではラットが走った量は908~2680m/日で個体差を認めたが、蛋白尿の出現のパターンはほぼ同じ変動を示した。安静群においても蛋白尿の変動は同じパターンを示し、安静群と運動群の間にも差はみられなかった。実験2ではネフローゼ極期、その後持続するネフローゼの状態においたモデルを作った。運動群ではその運動量は773~4921m/日であった。蛋白尿は3ヶ月後にはあきらかに、運動群の方が少なかった。

腎機能をみると、実験1、2の結果に示された通り、自由運動は、腎血流量、糸球体ろ過率を上昇させることがわかった。実験2では腎機能は実験1の値よりも約3分の1の値を示し、

腎血流量、糸球体ろ過率低下を示した。これは低蛋白血症が腎血流量低下を引き起こし、この結果糸球体ろ過率を低下させたことが考えられる。またこの低下した状態ではCPAHはCINより低い値を示した。これは顕微鏡下の組織学的検討において、実験2では尿細管の管腔の拡大、尿細管上皮の菲薄等、変化が強く、HC, HD, が多数見られたことにより、尿細管障害が関与していることが考えられた。

ある程度予備能力のある腎臓では、運動は腎機能を上昇させているようである。

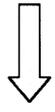
組織所見においては、実験1では、運動群に糸球体にHDの数が多い等、かならずしも、運動負荷が組織所見上に良い影響を与えるとはいえなかった。又AN使用量と腎組織の変化とは必ずしも一致していなかった。これは実験1、2を同時に行なわなかったことにより、ラットの個体差等も考えられるが、AN腎症の組織所見はAN量だけで決定できないのかも知れない。

Michaelらは、片腎ラットにおいて運動負荷は、尿中蛋白量の低下、腎血流量の上昇、腎組織所見の改善をあげている。著者の実験結果も蛋白尿、腎機能については同じ結果を得たが、組織所見については、運動が良い傾向をもたらしているという傾向は見なかった。これは実験モデルの差が影響しているのではないかと考えられる。Michaelらのモデルは、片腎機能にし、その生理的腎臓の退化を運動差で比べている。一方AN腎炎は、蛋白合成阻害剤により基底膜電位の消失を主としたネフローゼモデルであり、その経過過程で一部がFGS化する。ヒトにおいても微少変化群のネフローゼの一部がFGS化することは知られているが其の出現頻度は多いわけではない。このモデルの組織所見の変化は外の要因が影響しているのかも知れない。

以上AN腎炎ラットにおける運動負荷は蛋白尿の減少と腎機能の亢進をおこすと云える。しかしこの動態が慢性腎炎に良いか、悪いかを結論づけるにはまだいくつかの実験が必要かと思われる。

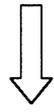
文献

- 1) Cornacoff JB: Adverse Effect of Exercise on Immune Complex-Mediated Glomerulonephritis. *Nephron* 40:292-296, 1985
- 2) Heifets M: Exercise Training Ameliorates Progressive Renal Disease in Rats with subtotal Nephrectomy. *Kidney Int.* 32:815-820, 1987
- 3) Frent S.: Experimental Nephrotic Syndrome Induced in Rats by Aminonucleoside. Renal Lesions and Body Electrolyte Composition. *Proc. Soc. Exp. Biol and Med.* 89:424-427, 1955
- 4) Smith HW.: The Renal Clearances of Substituted Hippuric Acid Derivatives and Other Aromatic Acids in Dog and Man. *J. Clin. Invest.* 24:388-404, 1945



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



要約 慢性腎炎における運動は禁止されるのみであったが、最近はある程度の運動は必ずしも悪影響を与えるものではないとの意見も出てきた。著者はラットにアミノヌクレオチド (AN) を腹腔内投与してネフローゼ症候群を作成し、1群を安静群とし、他を自由に運動を行える回転式運動測定器を用いた運動群として検討した。その結果 AN 腎炎ラットにおいて運動負荷は蛋白尿の減少と腎機能の前進を認めたが組織所見は更に検討の必要があった。