

〔特別掲載〕

(東女医大誌 第30巻 第12号)
頁2967—2974昭和35年12月)ブドウ糖注射によるマウス腎臓の
組織化学的变化

東京女子医科大学第2解剖学教室 (主任 飯沼守夫教授)

高橋三代子
タカハシミヨ子

(受付 昭和35年11月5日)

緒言

アロキサンが腎臓におよぼす変化については組織学的に Dunn¹⁾ 以来いくつかの研究が行われているが、その詳細については岡田²⁾ がすでに紹介している。Kashimura³⁻⁵⁾ と岡田⁴⁾ とはそれぞれアロキサン注射後の腎臓の組織化学的变化を時間経過をおつて観察し、詳しく報告している。著者は実験的な過血糖をおこさせ、すなわちブドウ糖溶液を血管内に注入して血糖量を増加させた状態における血糖値の時間的変動を測定し、あわせて腎臓の組織化学的变化を観察し、両者間の相関関係の有無を調べ、更にこの組織化学的变化と、アロキサン投与時における腎臓の組織化学的变化とを比較検討せんとして本研究を行った。

研究材料と研究方法

実験動物として約100匹の体重20~30gの牡マウスを用いた。これらを7群に分けて実験を行った。実験動物はすべて同一の食飼で1週間以上飼育してから使用した。実験の対照動物は9時間絶食したものである。実験動物は20%ブドウ糖溶液を尾静脈より0.5ml注射されたもので、それぞれ注射後20分例、30分例、1時間例、3時間例、6時間例、9時間例とする。ここに注射後20分例と称するものは、絶食後8時間40分たつてからブドウ糖を注射した動物で、以下同様であつて、9時間例とゆうのは、絶食していないマウスにブドウ糖を注射し、注射をしてから9時間絶食させたものである。つまりいずれの動物も絶食時間は9時間である。血糖測定のための血液は心臓より採取し、凝固を防ぐためにヘパリン・ソジウムを微量使用した。血糖値は Hagedorn-Jensen 法¹³⁾により測つた。採血後ただちに腎臓を摘出し、1部は純アルコール固定を1部は約4°Cのアセトンにて固

定した。前者は融点56°Cのパラフィンに後者は52°Cのパラフィンに包埋し、5μの連続切片を作つた。

アルカリホスファターゼおよび酸ホスファターゼの検出には Gomori の改良法²⁾を用いた。アルカリホスファターゼの活性は切片を37°Cの基質液に30分間浸漬して検出し、酸ホスファターゼの活性は切片を37°Cの基質液に8時間浸漬して検出した。染色の対照標本として約100°Cの熱湯で10分間処理した切片を、非処理の切片と同時に染色を行い、熱処理により染らず、普通染色により染つた部分を活性存在部位とした。多糖類の検出には過ヨウソ酸 Schiff 法を行い、1部は37°Cの1%ジアスターゼ溶液に1時間浸漬後同染色を行い、グリコーゲンと他の多糖類との鑑別を行った。蛋白質は Mazia ら¹⁾の水銀プロム・フェノール・ブルー法で染色した。なお一般的観察のためにヘマトキシリン・エオジン染色を行った。

自家所見

1. 血糖値について。

血糖値の変動は次に示すごとくである。対照および各実験動物の5例ずつの血液0.1ml中におけるブドウ糖量をmgをもつて示す。

対照例

0.034 0.037 0.038 0.039 0.040

注射後20分例

0.086 0.101 0.166 0.186 0.188

注射後30分例

0.090 0.123 0.130 0.131 0.154

注射後1時間例

0.068 0.079 0.086 0.096 0.098

注射後3時間例

Miyoko TAKAHASHI (Second Department of Anatomy, Tokyo Women's Medical College): Histochemical changes of the kidney of mouse by single injection of glucose.

0.046 0.072 0.082 0.088 0.095

注射後6時間例

0.060 0.061 0.062 0.072 0.082

注射後9時間例

0.030 0.036 0.039 0.043 0.046

すなわち注射後20分例が最高の値を示し、のち次第に下り、注射後9時間例では対照例との間にほとんど差異を認めない。

2. 組織学的所見

腎臓の各部の変化を論ずるにあたり、顕微鏡的構造を次のごとき部分に分けることにした。すなわち腎小体、近位曲尿細管の近位部、近位曲尿細管の遠位部、Henleの係蹄の細い部分、Henleの係蹄の太い部分、遠位曲尿細管、集合管のおのおのである。これらの部分の組織学的、細胞学的所見については先人の詳しい記載があるので、ここには述べない。

ブドウ糖を注射した場合、注射後の時間の長短にかかわらず、また場所のいかにかわらず認むべき組織学的変化は存在しなかつた。

3. アルカリ・ホスファターゼの活性。

対照例(第6図)の近位曲尿細管の近位部の刷子縁は強い活性を示し、不規則に厚く管腔をかこんでいる。細胞形質も弱い活性がある。基底膜は強い活性を示す。この部分に接する毛細血管壁も強い活性を示す。近位曲尿細管の遠位部の活性は近位部に比べればはるかに弱い活性を示す。Henleの係蹄および遠位曲尿細管の活性は極めて弱い、基底膜には細胞形質より強い活性が認められる。糸球体には中等度の活性が認められる。

ブドウ糖注射後20分例および30分例(第7図)はほぼ同様の所見を呈する。近位曲尿細管の近位部の活性は対照のそれとほとんど差異を認め得ないが、近位曲尿細管の遠位部の刷子縁に対照例とことなり、活性の認められる部分が現れる。腎小体そのたにはほとんど認むべき活性の増減はないが基底膜の活性が対照例のそれとくらべてやや増加しているようにみうけられる。注射後1時間例では各部ともほぼ対照例と同様の所見を呈するが、ただ糸球体の活性がいくぶん弱くなっているようである。糸球体の活性は注射後3時間例、6時間例、9時間例と時間をおつてさらに弱くなっている。近位曲尿細管の近位部の刷子縁の活性は注射後1時間例より時間経過とともに弱くなるが、その減弱の程度は糸球体ほど著明ではない。近位曲尿細管の遠位部で注射後30分例において見られた刷子縁の活性は時間経過とともに認められなくなつた。基底膜の活性は注射後1時間例より9時間例まで著変はなく、対照例よりはいくぶん強く、20分例、30分例よりはやや弱い状態であつた。Henleの係蹄には注射後時間をおつて観察しても活性の増強は認められなかつた。

3. 酸ホスファターゼ

対照例(第8図)において腎小体の糸球体はかなり強い活性を示す。血管にそつてかなりの活性があり、糸球体中にみられる諸種の細胞の核は強い活性を示す。近位曲尿細管の刷子縁はアルカリ・ホスファターゼの場合とことなりその活性は弱い。近位曲尿細管の近位部の核は強い活性を示し、その細胞形質は中等度の活性を示す。特に刷子縁に接する部分の活性は他の部分にくらべて強い。基底膜の活性は極めて弱い。近位曲尿細管の遠位部の活性は近位部に比べて弱い、特に細胞形質において明瞭である。核の活性は近位部のそれとくらべて差は認められない。これらの部分の活性はHenleの係蹄に近づくにつれて弱くなる。Henleの係蹄および遠位曲尿細管は同程度の活性を示す。すなわちいずれも核は中等度の活性を有するも、細胞形質にはほとんど活性が認められない。

注射後20分例および30分例(第9図)では全般的に活性の増強が著しい。近位曲尿細管の近位部の刷子縁の活性にはほとんど変化はみられないが細胞形質および核の活性の増強が見られる。遠位部も同様の態度で、活性の増強が見られる。Henleの係蹄および遠位曲尿細管の活性もいくぶん増強した。糸球体の活性は著明な増強を示す。注射後1時間例および3時間例も全般的に対照例よりも強い活性を示し、特に糸球体には著明な強い活性が認められる。注射後6時間例においてもまだ対照例よりも強い活性が認められるが、1時間例および3時間例にくらべれば弱い。注射後9時間例においてはその活性の強さ、存在部位は対照例と同様であつた。

4. 過ヨウソ酸 Schiff 反応。

対照例(第1図)の近位曲尿細管の近位部の刷子縁は過ヨウソ酸 Schiff 反応陽性であるが、刷子縁のうち染る部分は、細胞形質に接したごく幅のせまいところである。近位曲尿細管の遠位部はこれに反し、幅ひろくしかも強染している。この関係はアルカリ・ホスファターゼの場合と全く逆である。この部分の細胞形質はほんのわずかししか反応を示さない。基底膜は極めて強く染る。Henleの係蹄および遠位曲尿細管の染色性は弱い。この部においても基底膜はかなり強く反応する。糸球体は基底膜が強く染り、また mesangium が濃赤染している。ジアスターゼ消化試験を行つても、過ヨウソ酸 Schiff 反応にほとんど差異が認められないので、対照例に見られる反応陽性物質中にはグリコーゲンはほとんど含まれていないと思われる。

ブドウ糖を注射後20分例および30分例(第2図)では対照例とくらべて染色性に大きな差は認められないが、ただ近位曲尿細管の近位部の刷子縁の染色性がいくぶん低下している。また遠位部の刷子縁もやや染色性が弱くなっている個体があつた。注射後1時間以降の例に

においては全般的に染色性は対照例と大差ないといえる。Henleの係蹄はブドウ糖注射により染色性の変化をきたさないようである。糸球体の染色性は注射の前後でほとんど差異が認められなかった。遠位尿管細管は注射後20分例、30分例、1時間例および3時間例ではその染色性には対照例と比べ差異が認められなかったのであるが、注射後6時間例において核の周囲部に過ヨウソ酸 Schiff 反応強陽性の物質があらわれる(第3図)。この陽性物質はジアスターゼ処理後染色を行えば認められなくなるのでグリコーゲンであろうと考える。かかる物質のあらわれたのは6時間例でも全例においてではなく、14例中5例であった。

5. 蛋白質

対照例(第4図)の近位尿管細管の近位部の刷子縁はほとんど水銀プロムフェノールブルー染色で染らない。核は染色性がほとんどなくまわりの細胞形質は強く染り、基底線条が明瞭に認められる。遠位部も近位部同様に細胞形質は濃染している。Henleの係蹄および遠位尿管細管は近位尿管細管より少し弱い染色性を有している。核はやはり極めて弱い染色性を示すが細胞形質はそれにくらべればはるかに濃く染る。糸球体は中等度の染色性を示す。

ブドウ糖注射により染色性に著変は見られないが、注射後20分例、30分例において全般的な染色性のわずかな低下を見、その後回復して、6時間例、9時間例では対照とほとんど変らない。

考 按

静脈内にブドウ糖を注射して血糖値の時間的推移を検索した研究が古くより数多く行われている。このさいにおける血糖値の曲線は注射する速度に関係があり、長時間にわたりゆっくり注射した場合と、短時間に急速に注射した場合とではその結果が異なる。著者は短時間に注射を行っているので、それに関係のある2、3の文献を参照してみよう。Tisdallら¹⁶⁾が60人の健康人に25gのブドウ糖を静注した実験では注射後5分値が最高で、のち45分ないし120分で注射前の値に戻っている。野野部⁹⁾、¹⁰⁾は健康成人に20%ブドウ糖溶液30mlないし40mlを2分間で静注し、その血糖値曲線をかいた実験では血糖値は急速に上昇し、注射後3分前後で最高に達し、のちしだいに下降し、60分で注射前の値に復帰した。

著者の実験では体重25g前後のマウスに20%ブドウ糖溶液を0.5ml、すなわち0.1gの糖を注射しており、体重1kgあたりに換算すれば4gといつた大量を注射したことになるが、血糖値は注射後20分値が最高で以後しだいに下降し、9時間例では対照例と同様の値に復帰している。蘇¹⁴⁾は家兎にブドウ糖を体重1kgあたり1gを静注し、その血糖値と尿糖とを時間をおつて調べている。その結果を見るに24時間絶食後注射したものは尿

糖は全くあらわれず、絶食しない場合注射後1時間例の半数において軽度の尿糖を認めている。著者の実験においては尿糖の測定を行わなかったが、おそらくほとんど尿糖の出現を見なかつたものと考ええる。すなわち尿管で再吸収がほとんど完全に行われたであろうと想像する。

最近ブドウ糖負荷時における腎臓の尿管の酵素活性について大島ら¹²⁾の家兎における研究が発表されたが、本問題に関する研究は少いようである。大島らはブドウ糖を注射してもアルカリ・ホスファターゼの活性の変化は見られず、酸ホスファターゼの活性は注射により増強すると述べた。この所見は著者のえた結果とほぼ一致する。最近の国際腎臓学会においても本問題がとり上げられ、糖の再吸収にアルカリ・ホスファターゼは関与しないであろうとの意見になったそうである。著者の実験において近位尿管細管の遠位部の刷子縁の活性が、注射後20分ないし30分例においてのみ認められるとゆうことは、再吸収能は近位尿管細管の近位部が強いのであるが、必要に応じて遠位部もかなりはたらくとは考えられないであろうか。この場合でもアルカリ・ホスファターゼの糖の再吸収に関与する度合は極めて軽微なものであろう。著者の実験においてホスファターゼの活性と血糖値の消長とはほぼ一致していると考えられる。Longleyら⁶⁾およびWachstein¹⁷⁾は近位尿管細管の遠位部にはアルカリ・ホスファターゼは存在しないとのべているが、岡田¹³⁾はアロキサン負荷時にその活性の増強を認めており、高血糖時にはこの部の活性の増強することは間違いない。岡田およびKashimuraはアロキサン負荷前後におけるHenleの係蹄および遠位尿管細管のアルカリ・ホスファターゼの活性に変化のないことを述べているが著者の実験においても同様である。

酸ホスファターゼの活性の組織化学的検出に関しては多くの疑¹³⁾があるが本実験においてはブドウ糖注射によるその変化について考えてみた。岡田はアロキサン注射により全般的な酸ホスファターゼの活性の増強を認めているが、Kashimuraはアロキサン大量投与実験で著明な変化は認めていない。著者の実験における変化はむしろ岡田の結果に似ているといえる。そしてその変化はアルカリ・ホスファターゼより著明であつて、大島ら¹²⁾の所見と一致している。糖負荷を行つた場合アルカリ・ホスファターゼよりも酸ホスファターゼの方が、糖の再吸収になんらかの形で関与しているか、あるいは再吸収に関与する細胞のある動きとして酸ホスファターゼの活性値が高まるのであろう。

マウス腎臓の過ヨウソ酸 Schiff 反応陽性物質についてLongley⁶⁾およびWachstein¹⁷⁾は近位尿管細管の遠位部の方が近位部より染色性が強いと述べ、またKashimura、岡田もこれを支持している。著者の場合も同

様である。アロキサンを注射した場合、多量投与の Kashimura は一時増加し、のち減るとのべ、少量投与の岡田の場合には一時減少し、のちますとのべている。著者の場合はじめ極めてわずかに減少し、のち対照と同様になる。その部位は近位尿管細管の近位部である。この変化はアルカリ・ホスファターゼの変化と平行せず、Moog⁸⁾のゆうアルカリ・ホスファターゼと過ヨウソ酸 Schiff 反応陽性物質の共存説に反した結果である。Kashimura らはアロキサン注射後 6 時間例および実験の対照例である蒸溜水注射後 6 時間例において遠位尿管細管の核の周囲部に過ヨウソ酸 Schiff 反応陽性物質のあらわれた個体のあることを認め、これがグリコーゲンであることをつきとめた。著者の実験でも注射後 6 時間例と同様の所見を認めた。正常な動物では遠位尿管細管にはグリコーゲンは存在しないのであつて、これが高血糖のみによつてもたらされる変化ではなさそうである。このグリコーゲンの意義についてはさらに詳細な研究を必要とする。岡田はアロキサン注射による一般的なグリコーゲンの増加を認めていないが、著者の場合も同様である。

蛋白質については Kashimura, 岡田ともに実験による著変を認めていない。著者の場合も著変は認められなかつたが、注射後初期にやや減少する傾向が見られたが、これが糖の排泄吸収といかなる関係にあるかは今後の研究にまたねばならない。

結 論

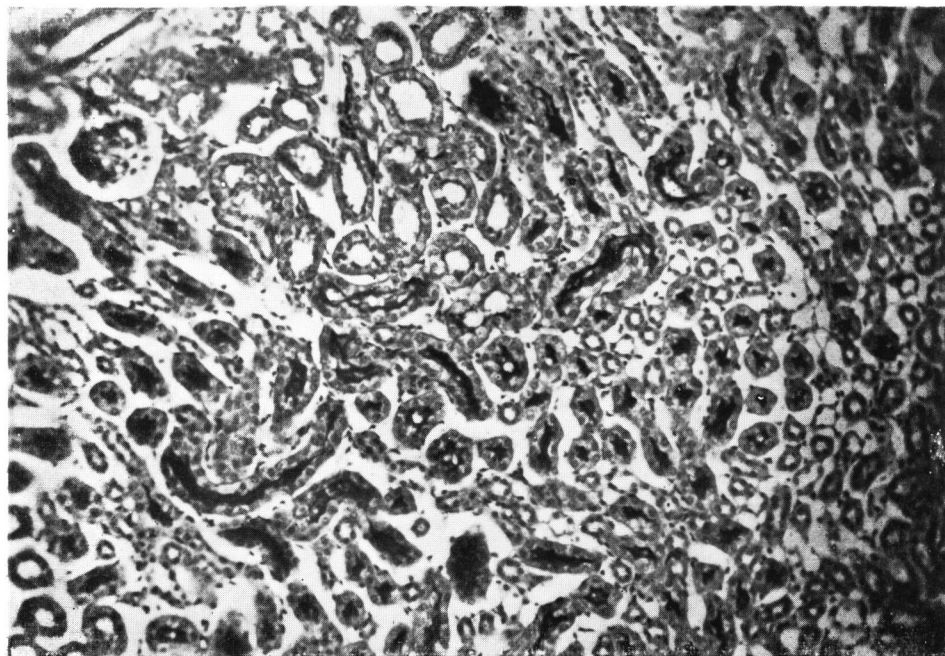
マウスに体重 1 kg あたり約 4 g という大量のブドウ糖を静脈注射して時間をおつて、その血糖値および腎臓の組織化学的变化を調べたが一般的にその変化は極めて軽微であつた。アルカリ・ホスファターゼは近位尿管細管の遠位部の活性が一時的に増強した。酸ホスファターゼは注射により活性の増強が見られる。多糖類は注射に

より一時的にややへる。蛋白質は注射により初めやや減少し、のち恢復する。これらの変化は血糖値の消長とおおむね平行する。

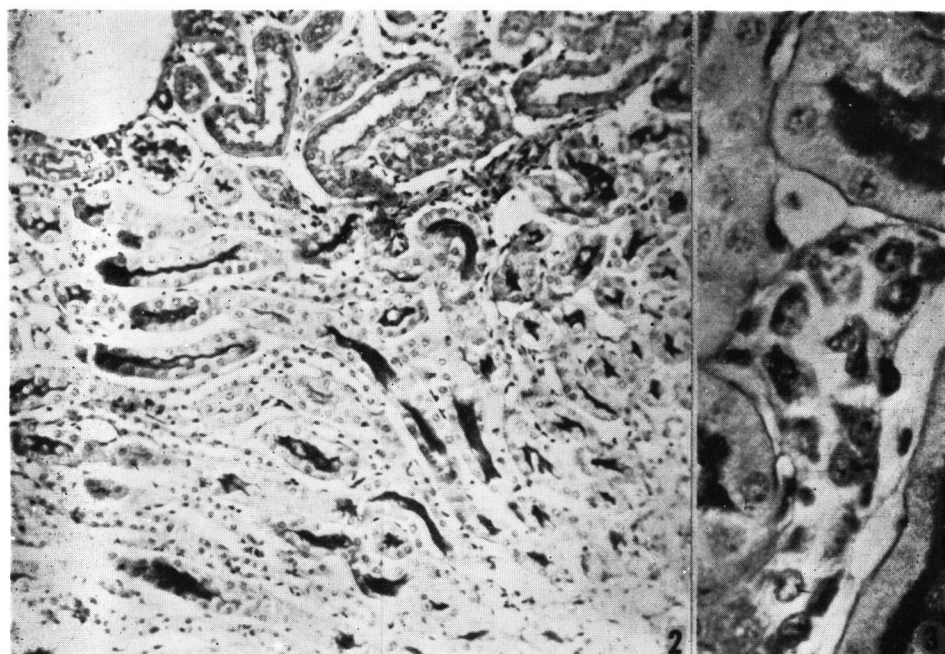
文 献

- 1) **Dunn, J.S.:** *Lancet* 2 484 (1943)
- 2) **Gomori, G.:** *Microscopic histochemistry.* Univ. of Chicago Press. Chicago (1952)
- 3) **Kashimura, T.:** *Okajima Folia anat. jap.* 30 43 (1957)
- 4) **Kashimura, T., Kamamura, S. & Ieta, T.:** *Okajima Folia anat. jap.* 30 211 (1957)
- 5) **Kashimura, T., Kamamura, S. & Ieta, T.:** *Okajima Folia anat. jap.* 30 225 (1957)
- 6) **Longley, J.B. & Fisher, E.R.:** *Anat. Rec.* 120 1 (1954)
- 7) **Mazia, D., Brewer, P. A. & Alfert, M.:** *Biol. Bull.* 104 57 (1953)
- 8) **Moog, F. & Wenger, E.L.:** *Amer. J. Anat.* 90 339 (1952)
- 9) 野野部定裕: *綜合医学* 5 800 (1948)
- 10) ———: *東京医事新誌* 67 18 (1950)
- 11) 岡田房子: *東女医大誌* 29 372 (1959)
- 12) 大島研三ら: 第 3 回日本腎臓学会口演 (1960)
- 13) **Palade, G.E.:** *J. Exp. Med.* 94 535 (1951)
- 14) 蘇 南標: *児科医誌* 48 211 (1942)
- 15) 須藤憲三: *小医化学実習* 第22版 南江堂 東京 昭14 244頁
- 16) **Tisdall, F.F., Drake, T.C.H. & Brown, A.:** *Amer. J. Dis. Child.* 30 675 (1925)
- 17) **Wachstein, M.:** *J. Histochem. Cytochem.* 3 246 (1955)

高橋論文付図(1)



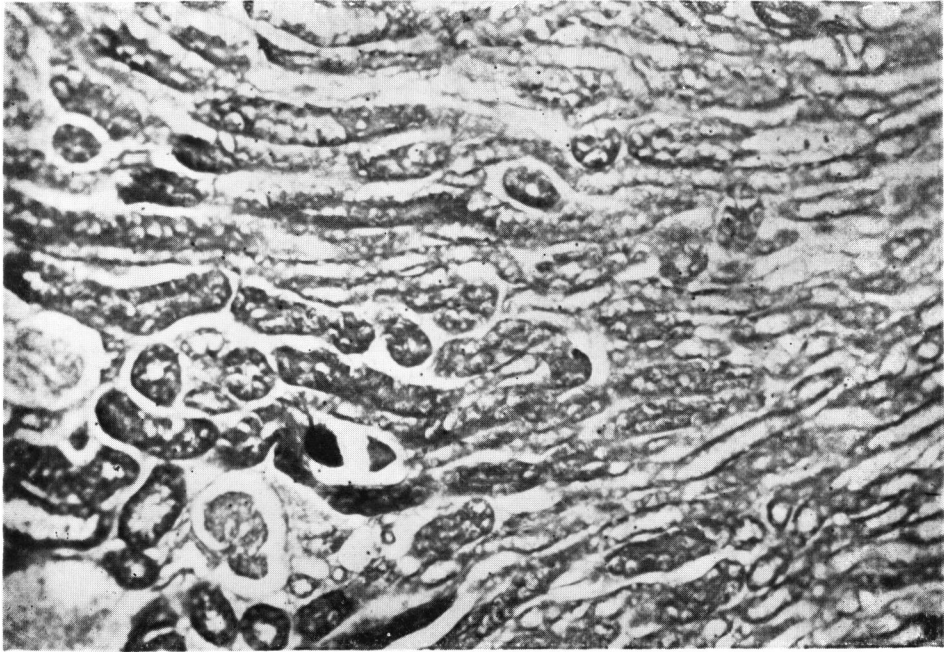
第1図 過ヨウソ酸 Schiff 反応。対照例 150×



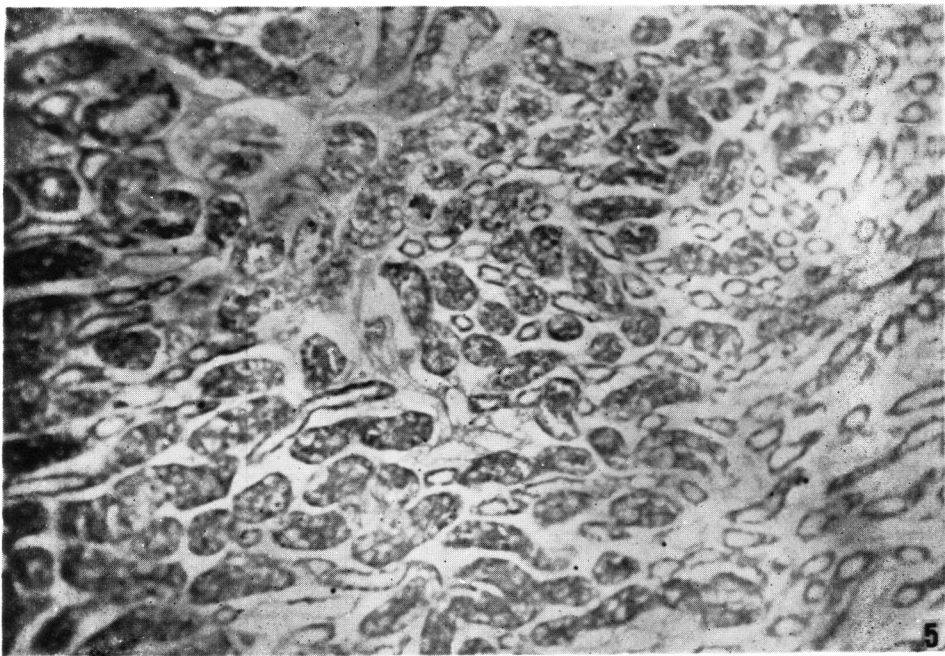
第2図 過ヨウソ酸 Schiff 反応。注射後30分例 150×

第3図 過ヨウソ酸 Schiff 反応。注射後6時間例 600×

高橋論文付図(II)

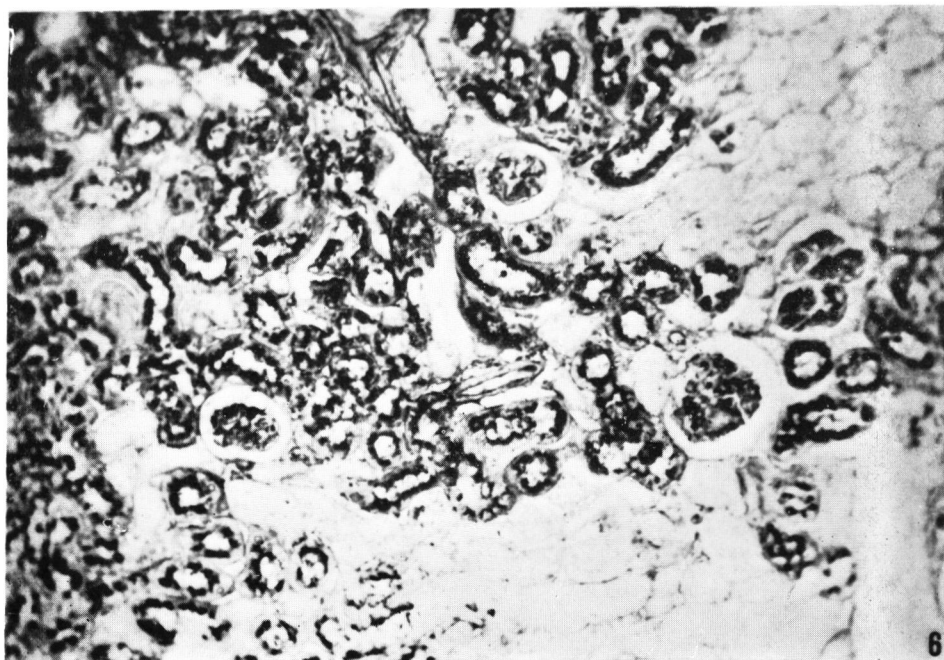


第4図 水銀ブロム・フェノール・ブルー染色。対照例 150×

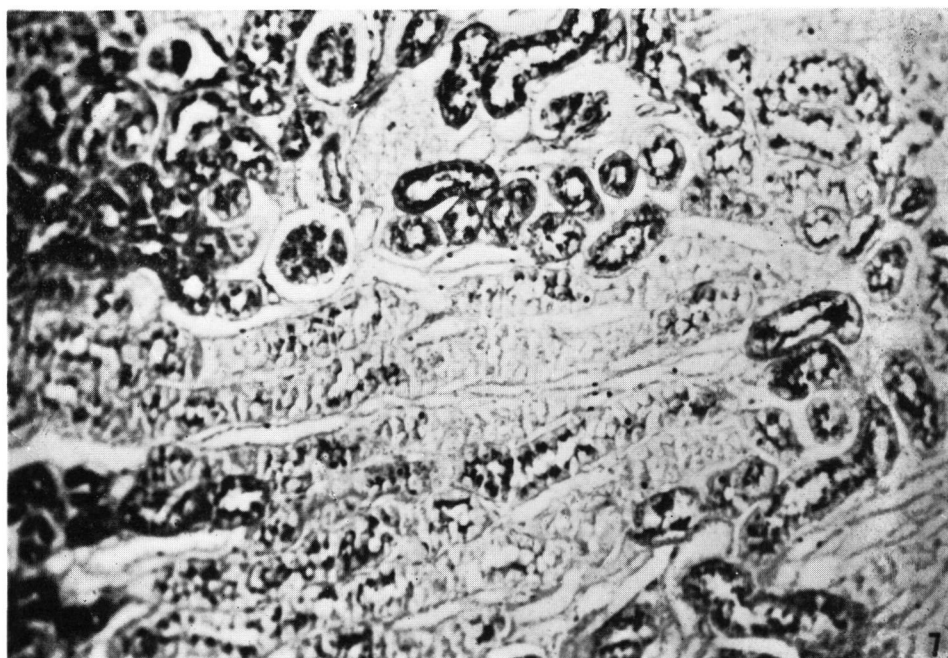


第5図 水銀ブロム・フェノール・ブルー染色。注射後30分例 150×

高橋論文付図(Ⅲ)

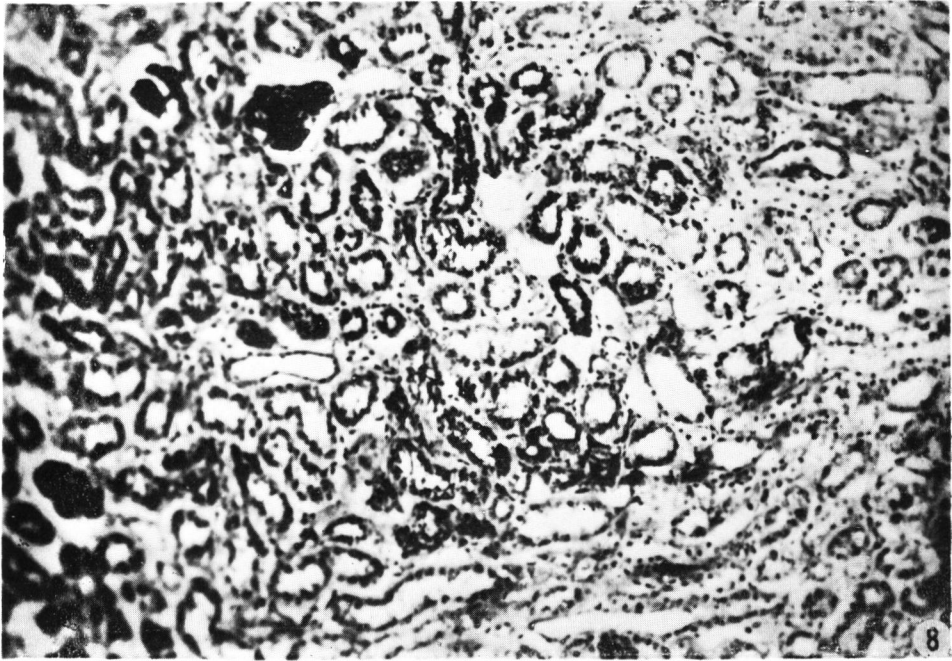


第6図 アルカリ・ホスファターゼ。対照例 150×

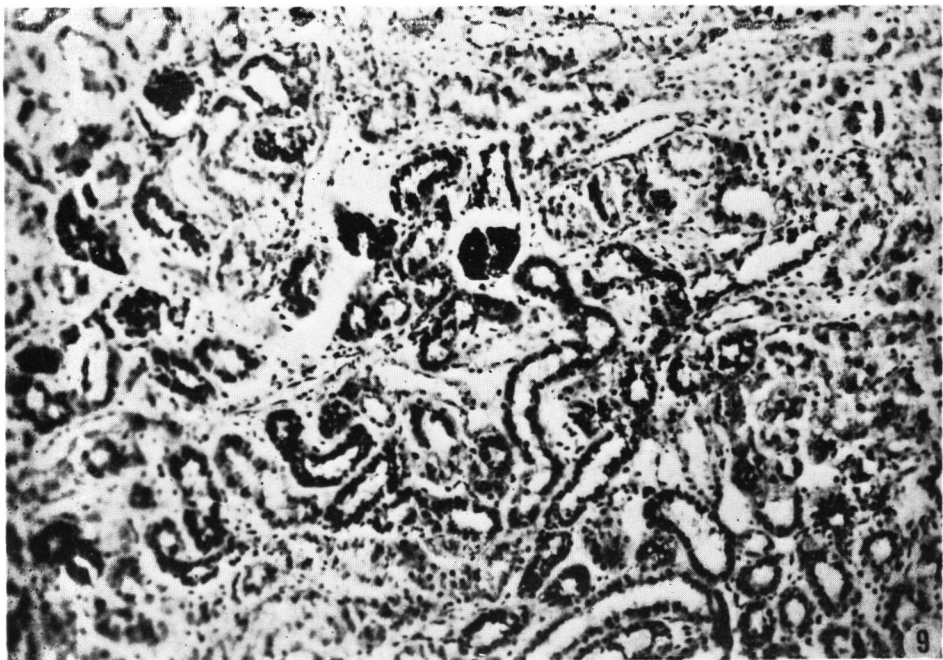


第7図 アルカリ・ホスファターゼ。注射後30分例 150×

高橋論文付図 (IV)



第8図 酸ホスファターゼ。対照例 150×



第9図 酸ホスファターゼ。注射後30分例 150×