

## 活性酸素と腎疾患

東京女子医科大学 第4内科

サナカ	ツトム	ヒグチ	チエコ	サトウ	タカコ	オマタ	マサコ
佐中	孜	樋口	千恵子	佐藤	孝子	小俣	正子
タナカ	ヨシコ	カワシマ	ヨウイチロウ	ニシカワ	メグミ	スギノ	ノブヒロ
田中	好子	川島	洋一郎	西川	恵	杉野	信博

(受付 平成2年5月29日)

## Reactive Oxygen Metabolites in Nephrology

**Tsutomu SANAKA, Chieko HIGUCHI, Takako SATO, Masako OMATA,  
Yoshiko TANAKA, Yoichiro KAWASHIMA, Megumi NISHIKAWA  
and Nobuhiro SUGINO**

Department of Medicine IV, Kidney Center, Tokyo Women's Medical College

For the human beings that anaerobic metabolism with oxygen consumption is indispensable, reactive oxygen metabolites (ROM), such as superoxide anion, perhydroxy radical, hydrogen peroxide, hydroxyl radical, alkoxy radical, peroxy radical, singlet molecular oxygen, and hypochlorous radical, are produced within the cell as an inevitable consequence. ROM reveal marked chemical instability and potential toxicity. Imbalance between the production of ROM and the availability of ROM scavenger systems can lead to disease with different stage. As far as the kidney is concerned, ROM play an important role in the developing process of immunological nephritis, toxic nephropathies, ischemic acute renal failure, chronic renal failure, and rejection of transplants. ROM have been thought to cause various kinds of complication in CRF patients undergoing long-term hemodialysis, such as accelerated aging, spontaneous respiratory distress syndrome, and amyloidosis.

Investigating the pathological and physiological aspects of ROM in nephrology may open up new prospects for treatment to intractable kidney disease both through developing new drug and better understanding of action of drugs already known and clinically employed.

## はじめに

腎は、単に老廃物の排泄だけでなく、電解質酸素塩基平衡の調節、活性化ビタミンDの産生、エリスロポエチンやレニンなどホルモン物質の分泌臓器としてもよく知られている。このことは、本質的に酸素必要量が多い臓器であることを意味し、必然的に、活性酸素生成量が多い臓器であると推察される。

活性酸素は、細胞や組織障害性が強いことで知られているが、同時に、それに対する消去系もネットワークのように張り巡らされている。消去系の規模は膨大であるが、活性酸素産生が過剰であ

ば、それを逃れた活性酸素も現れるようになり、種々の腎疾患の進展に深く関与してくるものと想像される。

## 活性酸素の概念

## 1. 活性酸素の定義

活性酸素とは、図1のような不対電子をもっているためにラジカル(radical)となり、しかも何ものにも結合していないフリーラジカルとなった酸素原子、原子団、および酸素結合分子種と定義される<sup>1)</sup>。

不対電子は、一般に、電子の移行が容易な物質から電子を引き抜いて不対を解消して自らを安定

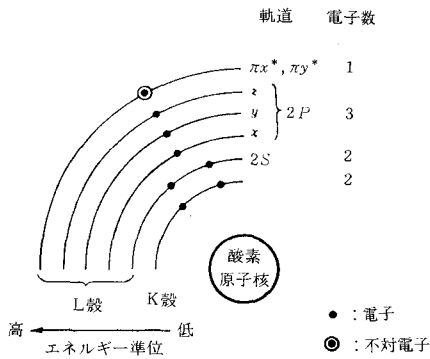


図1 活性酸素の概念

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>の電子配置**

酸素原子は、8個の電子をもつ。うち2個は内側の電子軌道であるK殻、6個が外側の電子軌道であるL殻を回っている。L殻には、2S、2Pという軌道があり、電子はそれぞれに2個、4個と入っている。2Pは、エネルギー準位の高い軌道であるが、さらに、2P<sub>x</sub>、2P<sub>y</sub>、2P<sub>z</sub>の三つの軌道に分かれる。このような酸素原子は、通常は原子が結合し、酸素分子(O<sub>2</sub>)として存在する。この際に、原子1個についてみると、2P軌道にある4個の電子のうち、3個は、結合のために使われ、残りの1個は、不対電子となつて、さらにエネルギー準位の高いπx\*あるいはπy\*軌道を回るようになる。かくして、酸素分子は、2個の不対電子を有したフリーラジカルとなる。

化しようとする性質を示す。

例えば、O<sub>2</sub><sup>-</sup>+RH → R•+•OOHのような水素または電子の引き抜き反応、すなわち、酸化反応を起こすことで知られている。

なお、不対電子が2個存在する原子団および分子種はビラジカル(biradical)とも呼ばれるが、O<sub>2</sub>はこれに相当する(図1)。

**2. 活性酸素の種類**

表1にまとめたような電子状態を示すO<sub>2</sub><sup>-</sup>、•OH、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、<sup>1</sup>O<sub>2</sub>の他に、•OOH(ヒドロペルオキシラジカル)、LO•(アルコキシラジカル)、LOO•(ペルオキシラジカル)、LOOH(ヒドロペルオキシド)、OCI<sup>-</sup>(ヒポクロリド)、NO<sub>2</sub>(二酸化窒素)などが活性酸素と総称される。

**3. 生体における活性酸素の生成と消去**

O<sub>2</sub><sup>-</sup>(スーパーオキシドアニオン)、OH(ヒドロキシルラジカル)、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(過酸化水素)、<sup>1</sup>O<sub>2</sub>(一重項酸素)の生成系、酵素系を中心とした消去系

表1 活性酸素の種類と電子配置

O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	スーパーオキシドアニオン <sup>3</sup> O <sub>2</sub> (三重項酸素)のπx*またはπy*のエネルギー準位の高い軌道への1電子追加、すなわち1電子還元によって作られる。
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	過酸化水素 <sup>3</sup> O <sub>2</sub> の2電子還元とプロトン付加によって生じる。但し、πx*およびπy*軌道には電子が充足しているため、フリーラジカルの範疇には入らないが、細胞・組織障害性の強いヒドロキシルラジカルに比較的容易に変化するため、活性酸素の範疇に含める。
•OH	ヒドロキシルラジカル H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> が半分取れた形、すなわち1電子還元によって作られる。
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	一重項酸素(singlet oxygen) πx*およびπy*軌道に1電子ずつ入っている場合と、πx*ないしπy*軌道に2電子入り、他方が空になっている場合がある。電子のスピン方向は、いずれも互いに逆になっている。

注 <sup>3</sup>O<sub>2</sub>(三重項酸素)：

O<sub>2</sub>分子の16個の電子のうち、外側の軌道に入っている不対電子をなす可能性のある2個の電子が更にエネルギー準位の高いπx\*、πy\*軌道それぞれに1個ずつ入っているが、それらの電子は同一の運動方向を示すため、O<sub>2</sub>分子の中で最も安定な基底状態にある。

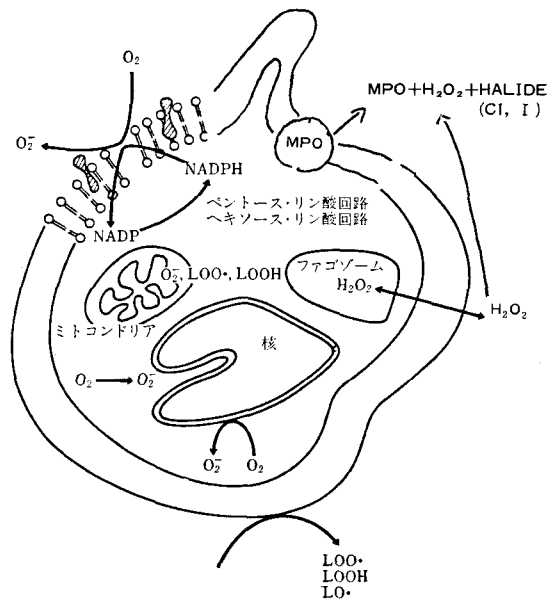


図2 好中球の活性化による活性酸素生成

の両者は、表2(図2、表3)にまとめたように、相互に関連している。

表2 生体における活性酸素の生成と消去

活性酸素	生成系	消去系
$O_2^-$	<p>生体では表3のような細胞、酵素、化学物質によって作られる。腎疾患では、好中球や単球のスーパーオキシド生成が問題となり、図2のように、細胞膜表層あるいは小胞器官でのNADP-NADPH系酸化還元酵素反応と、細胞内外での金属蛋白や化学物質の自動酸化などの形で誘導されると推察される。<math>O_2^-</math>は、そもそも膜透過性に乏しいため、細胞膜外側表面で発生したものはほぼ総て細胞外に放出され、鉄イオン(<math>Fe^{3+}</math>)、<math>SO_3</math>などが存在すれば、微量であっても直ちに、下記のFenton反応、Harber Weiss反応によって組織・細胞傷害性が強い<math>\cdot OH</math>へと変換される。また、細胞内で作られたものは細胞外へ移動することはなく、細胞内に留まったまま、SODやCPの存在下に<math>O_2^- + O_2 + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2</math>と、直ちに不均化される。</p>	<p>細胞内には、<math>Cu^{2+}-Zn^{2+}</math>を活性中心に持つ分子量34,000のスーパーオキシドジスムターゼ(superoxide dismutase, SOD)、血漿、リンパ液には細胞から分泌された分子量135,000の4量体SODが存在する。この分泌型SODは、通常、血管内皮細胞表層に結合しているが、ヘパリンによって遊出し、作用を発揮すると言われている。また、細胞外液、特に、血漿中には分子量151,000のセルロプラスミン(ceruloplasmin, CP)が存在し、<math>O_2^-</math>を<math>H_2O_2</math>でなく、<math>H_2O</math>に変換すると言われている。但し、CPは、本来は、<math>Fe^{2+}</math>を速やかに<math>Fe^{3+}</math>に変化させ、それをそのままトランスフェリンに取り込ませることに関与することで知られている。その他、ヘモグロビン、<math>Cu^{2+}</math>-アミノ酸キレート、チトクローム酸化酵素、ガラクトース酸化酵素などがある。</p>
OH	<p>ヒドロキシルラジカルは、<math>H_2O_2 \xrightarrow{-e} HO\cdot + HO^-</math>のように、<math>H_2O_2</math>の1電子加によって容易に作られるが、生体の<math>H_2O_2</math>、<math>O_2^-</math>に対する消去系は極めて効率良く作用するために通常は、生体内で生成されることはない。しかし、一度、消去系から免れると、それ自体の消去系は弱いのので脂質過酸化反応の開始点となり、細胞損傷へと進展する。</p> $O_2^- + Fe^{3+}(Cu^{++}) \rightarrow Fe^{2+}(Cu^+) + O_2 \cdots (1)$ $H_2O_2 + Fe^{2+}(Cu^+) \rightarrow HO\cdot + HO^- + Fe^{3+}(Cu^{++}) \text{ (Fenton 反応)} \cdots (2)$ <p>(1)(2)より、<math>O_2^- + H_2O_2 \rightarrow HO\cdot + HO^- + 2O_2</math> (Harber-Weiss 反応)</p>	<p>生体内で発生するヒドロキシルラジカルの大部分はFenton反応によるので、特定の消去系は存在しない。次に述べる<math>H_2O_2</math>の消去系やCPの<math>Fe^{2+}</math>酸化酵素が間接的ではあるが、消去系となる。</p>
$H_2O_2$	<p><math>H_2O_2</math>は下記のようなグルタチンなどのチオールやアスコルビン酸による<math>O_2^-</math>の1電子還元反応、あるいはグリコール酸化酵素、アミノ酸化酵素による<math>^3O_2</math>の2電子還元反応、更には既に述べた<math>O_2^-</math>の不均化反応によって生成される。すなわち、<math>O_2^- + A + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + A^+</math> (A: グルタチンやアスコルビン酸など)、<math>O_2 + A + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + A^{2+}</math> (A: 基質) などである。</p> <p><math>H_2O_2</math>は、好中球などの場合、ファゴゾームなどで産生され、pKが高いため、生理的な条件下では、比較的安定で、膜の透過性も高く、拡散律速に従って細胞外へ容易に遊出し、比較的速やかにFenton反応の系に入るが、同時に、細胞内でカタラーゼ、ペルオキシダーゼによって処理される。</p>	<p>細胞質には、ヒドロペルオキシダーゼやグルタチオンSトランスフェラーゼが存在し、<math>H_2O_2</math>、有機ヒドロペルオキシドを消去する。すなわち、還元型グルタチオン(GSH)2分子が水素供与体となって<math>H_2O_2</math>と有機ヒドロペルオキシドを<math>H_2O</math>とアルコールに還元することができる。それ自身は酸化型グルタチオン(GSSG)へと変化するが、ペントース・リン酸回路と共役している細胞内のNADPH依存性グルタチオン還元酵素に解媒されて2分子のGSHへと還元される。また、カタラーゼ、ペルオキシダーゼによって<math>2H_2O_2</math>は、<math>2H_2O + O_2</math>に還元される。赤血球中の分子量24,000前後の鉄プロトポルフィリンを活性中心に持つヘム蛋白も同様の作用を発揮する。</p>
$^1O_2$	<p>好中球のmyeloperoxidase(MPO)が存在すると、<math>H_2O_2</math>は<math>OCl^-</math>などに変換されるが、更に、<math>H_2O_2 + OCl^- \rightarrow ^1O_2 + H_2O + Cl^-</math>のような酸化反応によって<math>^1O_2</math>が作られる。また、脂質過酸化反応が進行している生体膜では<math>^1O_2</math>が生成され、<math>^1O_2</math>によって脂質過酸化反応の進行が加速され、細胞損傷へと到達することが知られている。<math>^1O_2</math>の反応速度は極めて速く、全て、局所で処理されるので、腎臓内で作られたものが全身性に散布されるようなことはない。</p>	<p><math>^1O_2</math>を消去する酵素系は存在しないが、極めて短時間の内に<math>\beta</math>カロチンや<math>\alpha</math>トコフェロールと反応してエネルギーを失う。</p>

## 糸球体腎炎と活性酸素

## 1. 糸球体腎炎の一般的な成因

糸球体腎炎は、メサングウム細胞の増殖、糸球体係蹄の上皮細胞・内皮細胞の異常の外に、糸球体や間質における多核白血球、単球、マクロファ-

ジの遊走浸潤、更には、IgG, IgA, C<sub>3</sub>, C<sub>1q</sub>に代表される多量の免疫複合物の沈着などを特徴とするが、経過により急性糸球体腎炎、慢性糸球体腎炎に大別される。前者の成因は原発性の場合、不明の箇所が少なくないが、溶連菌感染後急性腎炎で

表3 生体におけるO<sub>2</sub><sup>-</sup>の生成

細胞膜-NADPH 酸化酵素
白血球 (好中球, リンパ球, 単球, 好塩基球, 好酸球)
マクロファージ, 血小板, 赤血球 (オキシヘモグロビン)
血管内皮細胞
細胞顆粒
ミトコンドリア (NADPH 酸化酵素)
ミクロソーム (NADPH-チトクロームC還元酵素, P-450)
細胞核
酸化還元酵素
キサンチン酸化酵素
NADPH 酸化酵素
NADPH-チトクロームC還元酵素
グルタチオン還元酵素
酸化金属蛋白質
オキシヘモグロビン
オキシミオグロビン
ペルオキシダーゼ compound III
チトクローム P-450
薬剤 (細胞内での自動酸化)
抗腫瘍剤
抗生剤

は、溶連菌の膜成分や菌体それ自体、あるいは溶連菌によって変性した免疫グロブリンが抗原となって免疫複合物が作られ、それらが糸球体に沈着するなどの機序が考えられている。また、後者の慢性糸球体腎炎は、微少変化型を除いて、糸球体に種々の程度に免疫グロブリン、補体の沈着が認められるため、成因論的には免疫学的な機序の存在が推察される。例えば、膜性腎症では、デオキシ核酸、腎尿細管上皮、癌胎児性抗原、腫瘍抗原、サイログロブリン、B型肝炎ウイルス、*Tre-*

表4 糸球体腎炎における活性酸素産生刺激因子

活性化補体, 免疫複合物
TXA <sub>2</sub>
γTNFα (tumor necrosis factor), PAF (血小板活性化因子)
PDGF (血小板由来成長因子)

*ponema pallidum*, plasmodium, 金, ペニシラミンなど, IgA腎症ではウイルス, 細菌, 食物などが抗原として列挙されている。また, 膜性増殖性糸球体腎炎の多くは持続的に低補体血症を示し, C<sub>3</sub> nephritic factorを有する例も少なくない。

### 2. 糸球体腎炎における活性酸素産生刺激因子

表4にまとめたように, 免疫複合体, 補体活性化因子, 炎症性メディエーター, プロスタサイクリンなど, 従来から既に取り上げられていたような種々の要因が, ほとんど総て活性酸素産生に関与している可能性がある。換言すれば, 活性酸素は, 糸球体腎炎の進展の中心にあると言っても過言ではない。

### 3. 糸球体腎炎における活性酸素産生部位

#### 1) 内皮細胞

単離灌流腎に phorbol myristate acetate (PMA) で刺激し, セリウム塩法を行うと写真1のように内皮細胞の正常形態の破綻と細胞表面での活性酸素産生が確認できる<sup>2)</sup>。このように, 糸球体毛細血管内皮細胞は活性酸素産生の場の一つとなる。

内皮細胞が傷害され, 下部にある基底膜が露出したような場合には, 好中球, 単球, 血小板など

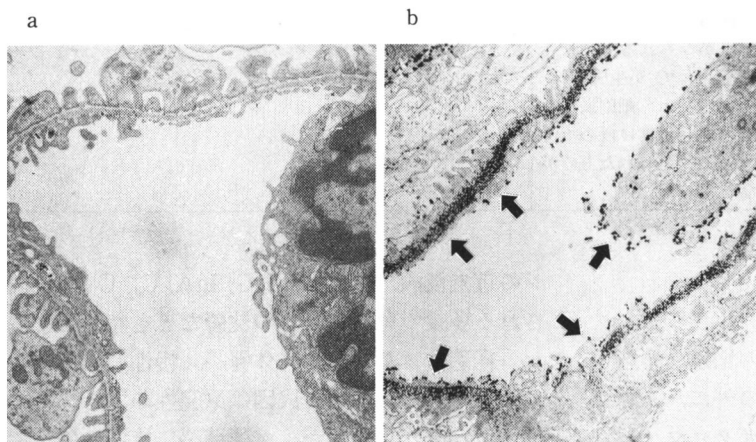


写真1 セリウム塩法による活性酸素生成部位の検討  
a, 対照  
b. PMA 刺激による活性酸素産生 (矢印)

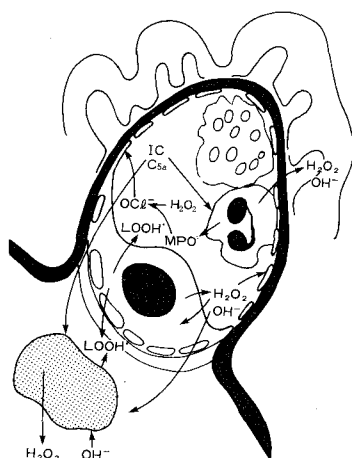


図3 糸球体腎炎における内皮細胞, 好中球, 単球, 血小板相互反応と活性酸素

の血球成分の基底膜への付着は更に容易となり(図3), 後に改めて述べるが, 活性酸素起因性の傷害に拍車がかかる。

## 2) 上皮細胞

単離灌流腎をPMAで刺激すると, 上皮細胞も正常形態の破綻とともに, セリウム塩の沈着を示し, 活性酸素の産生が確認できる。このように, 糸球体毛細血管上皮細胞も活性酸素産生の場の一つとなる。

## 3) メサンギウム細胞

活性化補体や仔牛 $\gamma$ グロブリンのIgG分画などの免疫複合物がメサンギウム細胞表面のFcレセプターに結合すると, それらの濃度依存型に比較的容易に活性酸素を産生する<sup>3)4)</sup>。従って, メサンギウム増殖性糸球体腎炎のうち, 最も頻度が高いIgA腎症のIgAについても同様のことがいえると思われる。事実, 直接的な証明ではないが, 肺の間質組織ならびに肺胞のマクロファージはIgA型の免疫複合物で刺激すると, 活性酸素を産生するとの成績を示す研究者もいる<sup>5)</sup>。その後, インターロイキン $1\alpha$ , 腫瘍壊死因子(tumor necrosis factor, TNF $\alpha$ ),  $\gamma$ インターフェロンが培養メサンギウム細胞からの活性酸素放出を誘導することも明らかにされた<sup>6)</sup>。筆者らの成績でも培養メサンギウム細胞にPMAを加え, 活性酸素生成量をnitroblue tetrazolium (NBT)法にて測定

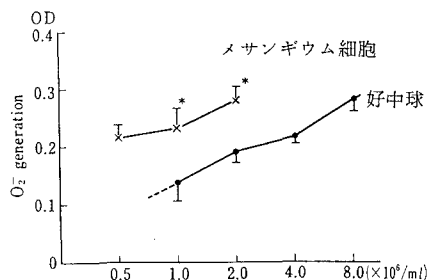


図4 メサンギウム細胞の数量依存性活性酸素生成反応

すると, 図4のように, 必ずしも十分でないメサンギウム細胞の数量依存性に活性酸素生成量が増加することを明らかにした。

その他, 血小板活性化因子, 血清処理ザイモザン, あるいは補体の活性化によって形成された膜攻撃複合体(membrane attack complex, MAC)もメサンギウム細胞に対して活性酸素生成反応を惹起すると言われている<sup>7)~9)</sup>。

## 4) 糸球体浸潤細胞

糸球体内皮細胞には, 好中球, 単球, 血小板などの血球成分が付着し易くなる<sup>10)</sup>。これらの細胞は, いずれも種々のinterleukin-1, leukotrien B<sub>4</sub>, TXA<sub>2</sub>などの炎症性メディエーターなどの生理活性物質を放出するが, 好中球は, chemotactic factorを放出して, 基底膜を越えて, ボウマン嚢内や尿中に現れたり, メサンギウム領域に浸潤細胞として侵入したりするようになる。このような好中球は, respiratory burstを起こし, O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>とともに, myeloperoxidase (MPO)を放出することが予想される(図2)。MPOは, 既に生成されたH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ハロゲン(Cl)と反応し, 組織障害性の強いハイドロキシルクロライドラジカル(OCl<sup>-</sup>)に変換される(図5)が, これは, 好中球による腎障害機序も腎炎進展機序の一翼を担うものとして, 注目に値する反応と言えよう。すなわち, 糸球体腎炎のなかでも, 特に急性腎炎や活動性の高いループス腎炎は好中球浸潤を特徴とするが, そのような細胞に内在している酵素であるMPOが細胞外に放出されれば, それは周囲に対して種々の程度の傷害を惹き起こすなど, 本症の進展機構

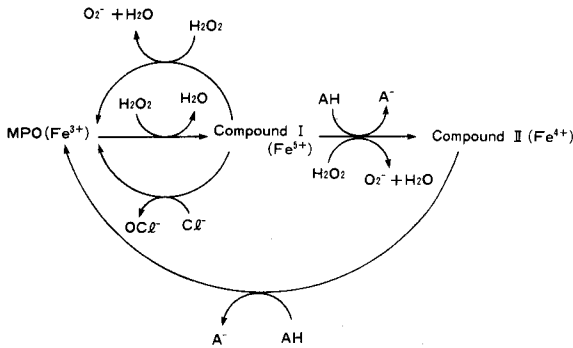


図5 Myeloperoxidase-H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-ハロゲン系による  
 ハイドロキシルクロライドラジカル(OCl<sup>-</sup>)産生反  
 応

において重要な役割を演じることが予想され  
 る<sup>11)~13)</sup>。

血小板の付着は、当然のことながら、糸球体内  
 血栓症を惹起し、炎症反応の進行の原因となる。  
 血小板は、血小板活性化因子(PAF)、血小板由来  
 成長因子(PDGF)などの走化性因子を放出し、活  
 性酸素を生成させるとともに、損傷内皮細胞への  
 自分自身や好中球の内皮細胞壁への粘着を促進す  
 る。更に、糸球体毛細血管内では、好中球と血小  
 板の相互反応も惹き起こされている可能性がある。

#### 4. 糸球体腎炎における蛋白尿生成機序と活性 酸素

糸球体性蛋白尿を規定しているのは、言うまでも  
 なく形態学的には糸球体毛細血管壁を構成する  
 基底膜、内皮細胞、上皮細胞であり、機能的には  
 メサンギウム細胞である。

##### 1) 基底膜

基底膜は、内外の透明層、緻密層からなり、そ  
 れぞれ陰性に荷電した網目構造を有する。その大  
 きさは、内外の透明層では60nmであり、サイズの  
 比較的小きな免疫複合物は通過するが、緻密層の  
 網目の直径は3nmなので、ここでの通過は容易で  
 はない。膜性増殖性糸球体腎炎のように基底膜が  
 電気的にも器質的にも相当傷害されて初めて、免  
 疫複合物の通過が可能になるが、IgM、フィブリン  
 関連物質、補体成分など、多くは、内皮細胞下の  
 基底膜上への沈着にとどまる。

糸球体基底膜は、IV型コラーゲンを基本骨格と

し、その7S領域に存在するS-S結合により形成さ  
 れたテトラマーのために網目構造を備えている  
 が、このようなテトラマーには、ラミニンや、陰  
 性荷電の形成に寄与し、かつ、抗凝固作用を有す  
 るヘパラン硫酸を側鎖にもつヘパラン硫酸プロテ  
 オグリカンが結合している。ラミニンやヘパラン  
 には細胞増殖抑制作用があり、更に、後者はMPO  
 の放出抑制因子でもある。これらは、炎症性反応  
 に伴って遊走細胞や、近隣の内皮細胞、メサンギ  
 ウム細胞から放出され、腎炎の進展と硬化への過  
 程において深く関与することが推察されている  
 PDGF、血管内皮細胞増殖因子(EGF)、上皮成  
 長因子(EGF)、インスリン様成長因子(IGF)、  
 TNFなどに対してネガティブ・フィードバック  
 をかけるために存在しているとも言える。糸球体  
 基底膜はそのような抑制因子の供給源でもあるた  
 め、それらが活性酸素などによって傷害されると  
 いうことは、網目構造の破綻に伴う蛋白尿・血尿  
 の出現だけでなく、重篤な炎症性病変を惹き起こ  
 し、糸球体係蹄の外にあっては半月体形成、内に  
 あっては硬化性病変を招来する。

免疫応答に伴う補体活性化によって形成される  
 C<sub>5b6789</sub>は、MACとなって基底膜を傷害し、増殖し  
 たメサンギウム細胞で産生されるメタロプロテ  
 アーゼは糸球体基底膜を構成するIV型コラーゲ  
 ンを変性することで知られている。このような基底  
 膜の傷害は蛋白尿の出現を招来するが、活性酸素  
 が基底膜傷害の原因となりうることは言うまでも  
 ない。すなわち、単離基底膜をPMA刺激によっ  
 てrespiratory burstを起こした好中球と混合し  
 て培養すると、培養液上清中のハイドロキシプロ  
 リン濃度が上昇して来るとの報告<sup>14)</sup>や、ハイドロ  
 キンパーオキサイドが糸球体の基底膜を形成する  
 プロテオグリカンの変性を惹き起こすとの意見が  
 ある<sup>15)</sup>。更にまた、浸潤した好中球は、メタロプロ  
 テアーゼ、コラゲナーゼをはじめとする蛋白分解  
 酵素を放出し、それが活性酸素の細胞、基底膜に  
 対する傷害を増強することで知られている。しか  
 も、逆に、活性酸素がメタロプロテアーゼを抑制  
 するとの指摘もある<sup>16)</sup>。活性酸素による修飾を受  
 けた蛋白は、蛋白分解酵素によって変性し易くな

るが、 $\alpha$ -1-プロテアーゼ・インヒビターを加えることにより、活性酸素による組織障害が軽減すると指摘もある<sup>17)</sup>。

このように、活性酸素は糸球体基底膜を器質的に傷害し、蛋白尿をもたらすものと判断される。

## 2) 内皮細胞

糸球体内皮細胞は、通常の血管内皮細胞と異なり、60~100nmの小孔を有している。これは、循環血液中の免疫複合体のような大分子量物質が自由に通過できる大きさである。しかしながら、基底膜の免疫複合体に対する透過性は低く、免疫複合体の沈着は内皮細胞下の基底膜上に留まることが多い。このような免疫沈着物が内皮細胞を刺激し、写真1のように内皮細胞からの活性酸素産生を誘導する可能性も否定できない。

## 3) 上皮細胞

上皮細胞の基底膜と接する部分は、足突起と呼ばれる形態を呈している。足突起の間には、間隙膜 (slit membrane) と呼ばれ、厚さ4~6nm、大きさ12×5nm程度の網目を持つ隔壁構造が存在する。この間隙膜は、シアル酸が結合しているために陰性に荷電し、血中物質通過の最後の障壁となる。従って、間隙膜の障害は、近傍の内皮細胞、基底膜がほぼ正常であっても蛋白尿の原因となる。写真2は、PMAを腎動脈より注入した腎障害モデルであるが、糸球体基底膜の陰性荷電は、ほぼ対照と同程度に保持されているにも拘わらず上皮は著しく破壊されていた。この時点での蛋白尿も実に著明であった<sup>18)</sup>。

## 4) メサンギウム細胞

メサンギウム細胞は、糸球体糸脚 (glomerular tuft) を支える特殊な結合組織であり、糸球体血管極から始まり、糸球体糸脚の中軸部を通してその先端まで達する (図6)。この細胞は、血管平滑筋などでみられるミオフィラメントに似た働きを持つ直径約20nmの線維を内在している。また、同時に、互いにギャップ結合によってつながれているが、一方では、メサンギウム細胞は傍毛細血管部からメサンギウム角に向かってアクチン・フィラメントを多数含む舌状の突起を出し、直接ないしはマイクロフィブリルを介して間接的に糸球体基



写真2 活性酸素腎障害モデルにおける糸球体障害と基底膜の荷電

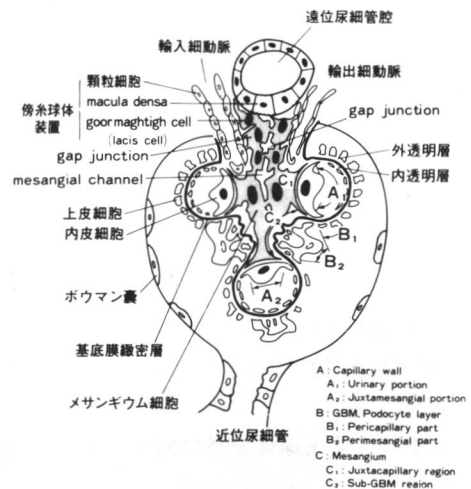
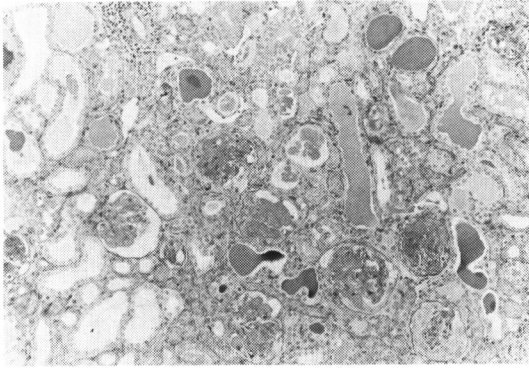
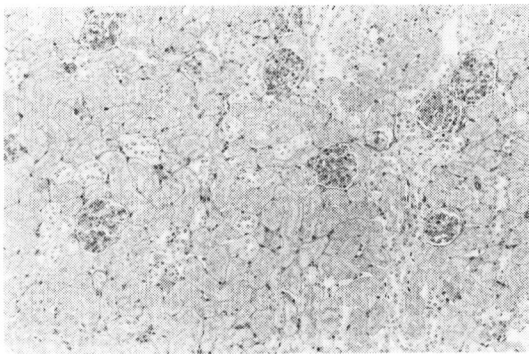


図6 メサンギウム細胞の構造的な特徴

底膜と接触している。かくして、糸球体内だけでなく、糸球体外のメサンギウム細胞を介して輸出入動脈ともつながっているために、血圧・血液の変化に伴う血管反応は、末端のメサンギウム細胞にまで伝達されるし、逆に、メサンギウム細胞での変化も血管系に伝えられることになる。すなわち、メサンギウム細胞が免疫複合体による刺激を受け、活性酸素を放出せざるを得ない状況になると同時に、収縮現象が起きることが知られている



a



b

写真3 自然発症ループス腎炎マウスの腎組織  
～SODの効果

が、その収縮は糸球体係蹄壁の蛋白透過性を亢進させ、更には糸球体での血行動態にも影響するものと想像される。

### 5. 免疫複合体糸球体腎炎に対する活性酸素消去剤の効果

筆者らは、サブレッサーT細胞障害性の自己抗体産生や、多クローン性B細胞活性化など、免疫反応の異常が主たる成因であると一般に理解されている自然発症ループス腎炎のモデルである(NZB×NZW)F<sub>1</sub>マウス、MRLマウスあるいは、パラアミノ馬尿酸を抗原とする2価抗体腎炎マウスを対象として、尿蛋白、尿細管性酵素、腎組織形態、腎組織 superoxide dismutase (SOD) に対するSOD (10mg/kg)、dimethylthiourea (DMTU, 80mg/kg) の効果を検討してきた<sup>19)20)</sup>。その結果、DMTU, SOD 単独投与群では対照である vehicle 投与群に比較して、薬剤投与群で生存期間の延長、体重増加、蛋白尿軽減、尿細管性酵素(NAG)減少、組織SOD活性物質濃度の低下、リンパ節・脾臓の縮小などの効果を確認している。腎組織の形態学的な検討でも写真3で明らかのように、対照群(写真3a)が半月体形成、メサンギウム細胞の増殖、メサンギウム基質の増加、間質の細胞浸潤、尿細管管腔での円柱貯留が著しく、重篤なものでは、血栓形成を伴っているのに対して薬剤投与群(写真3b)では、軽症に留まることが判明した(表5)<sup>16)</sup>。これらは、血清病腎炎を用いた Adachi ら<sup>21)</sup>の報告や Rehan ら<sup>22)</sup>の異種免疫複合体糸球体腎炎と同様、活性酸素が病変の進展に重要な役割を演じていることを示しており、今後、更に研究を重ねる価値があるものと判断されよう。更にまた、筆者らの2価抗体腎炎マウスでは、メサンギウム領域に免疫沈着物が残存しているにも拘わらず、蛋白尿の生成が有意に抑えられ、光顕的にも明らかな改善が認められている点

表5 自然発症ループス腎炎マウスの腎組織に対する各種活性酸素消去剤の効果～定量的検討  
光顕所見のまとめ

	糸球体細胞増生	メサンギウム基質	半月体形成	硬化性病変	間質病変
A群	1.7	1.5	2.0	1.7	1.7
B群	1.5	1.5	1.0	1.5	1.0
C群	1.3	1.0	0.8	1.3	0.8

F<sub>1</sub>マウス19匹を8週齢より次の3群に分け、ウシGu, ZnSOD(Sigma, 3,000u/mg)を5%グルコースに溶解し、週3回筋肉内注射した。

A群: 5%グルコース, n=6

B群: SOD 5mg/kg, n=7

C群: SOD 10mg/kg, n=6



も興味深く、免疫抑制のみでは解決できない病態が存在していることが推察される。

このように、活性酸素消去剤の投与は組織障害を軽減させることが判明し、免疫複合体腎炎の進展過程には活性酸素による障害機序が関与しているということを比較的明確な形で示すことができた。

その他、全身性ループスの患者では、紫外線などにより chromosomal breakage が起こり細胞内 SOD などの活性酸素に対する防御機構も低下している可能性があり<sup>23)</sup>、そのような観点からも活性酸素消去剤はループス腎炎のような自己免疫性腎炎に有効であると想像され、今後の研究が期待される。

### 急性腎不全と活性酸素

#### 1. 阻血性急性腎不全における活性酸素産生

阻血性急性腎不全においても通常の阻血性組織障害と同様、スーパーオキシドアニオンラジカル ( $O_2^-$ ) などの活性酸素が発生するために、本症に特有の尿細管壊死が出現すると言われている。すなわち、図7のようにキサンチン・キサンチン酸化酵素系を有した細胞の場合、低酸素環境のもとで ATP は、AMP、アデノシン、イノシン、ヒポキサンチンへと転換され、キサンチン脱水素酵素は、蛋白分解酵素によってキサンチン酸化酵素に変換される。そして、血液再灌流後の酸素供給の再開とともに、キサンチン酸化酵素は、ヒポキサンチンをキサンチンに、キサンチンを尿酸へと変化させる。これらの反応は、 $O_2^-$  などの活性酸素の

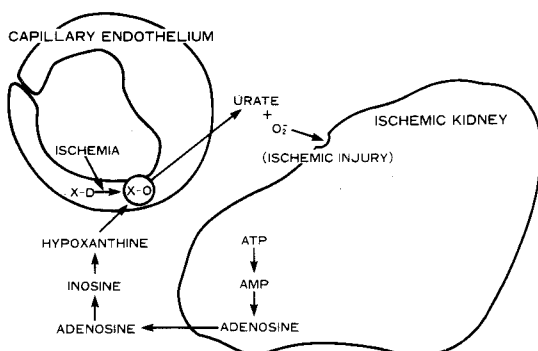


図7 キサンチン・キサンチン酸化酵素系による活性酸素生成反応

発生を伴うため、必然的に供給酸素量の増加は、活性酸素の生成量の増加を招来し、臓器の阻血性組織障害に拍車をかけるものと推察される。このような活性酸素による細胞障害機序は、心臓、消化管、脳などの阻血・再灌流モデルと同様、阻血性急性腎不全の発症・進展においても成立するものと理解される<sup>24)</sup>。

#### 2. 阻血性急性腎不全に対する活性酸素消去剤の効果

阻血性急性腎不全モデルに SOD を投与し、非 SOD 群と比較した筆者ら<sup>25)</sup>の成績でも、阻血後再灌流60分の時点での血清尿素窒素、クレアチニン値はそれぞれ87.7, 2.39mg/dl と非 SOD 群のそれぞれ99.3, 3.14mg/dl より低値であった(図8)。腎 ATP 濃度については、再灌流直後は両群いずれも阻血前の10%未満であるが、再灌流24時間後においては図9のような上昇を認めた。これらを回復率として算定すると、非 SOD 群が50.2%に留まるのに対して投与群では87.7%と SOD 投与によって高値となることが示唆された。また、病理組織学的にも近位尿管 S3 セグメントの上皮細胞障害の程度は、SOD 投与群において

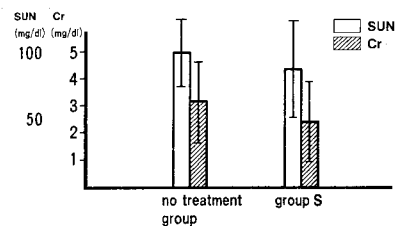


図8 阻血性急性腎不全モデルの血清尿素窒素 (SUN)、クレアチニン (Cr) 値に対する SOD の効果

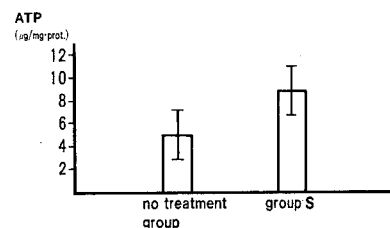


図9 阻血性急性腎不全モデルの腎 ATP 濃度に対する SOD の効果

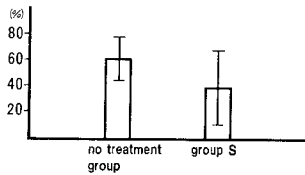


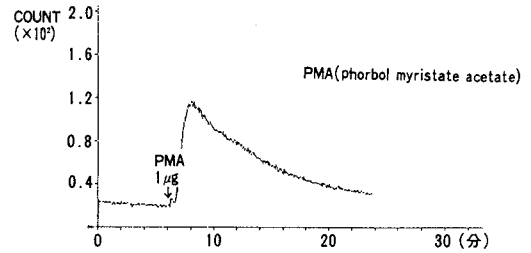
図10 阻血性急性腎不全モデルにおける近位尿細管の病理組織学的所見に対するもSODの効果

41.5%と、非SOD群のそれ(62.1%)より軽症となっていた(図10)。その他、マニトール、DMTUなどについても同様の成績を得ており<sup>25)</sup>、活性酸素消去剤の阻血性腎不全に対する保護作用としての有効性が腎の機能、形態の両面から示唆されている。

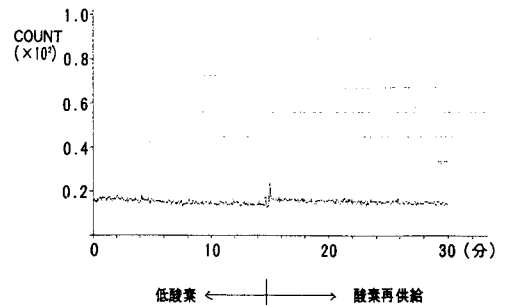
### 3. 阻血性急性腎不全モデルにおける活性酸素生成部位に関する疑問

活性酸素の発生機構に介在するキサンチン酸化酵素(XOD)は、近位尿細管のセグメント(S)1で最も濃度が高く、ついでS2, S3, 糸球体, 遠位尿細管下降脚へと続くと言われている<sup>27)</sup>。また、SODも同様の分布を示す。これは、XODの活性化に伴う細胞障害をSODが防護しているようにも見える。従って、阻血性急性腎不全では形態学的には近位尿細管のS3セグメントでの変化が最も著しいことで知られているが<sup>28)</sup>、XODとSODの量的な不均衡が阻血性障害に対する脆弱性を規定しているとすれば、XOD/SODが最も高いセグメントがS3である可能性を示唆しているともいえよう。阻血性急性腎不全における活性酸素の関与機構は複雑であることは想像に難くないが、本症で傷害される部位が主に近位尿細管であるということも確かであり、ビタミンE欠乏ラットにグルタチオンSトランスフェラーゼ阻害剤を投与すると近位尿細管に明確に限局した尿細管壊死が惹起されると言う<sup>29)</sup>。その機序は明らかではないが、今後、注目すべき実験的事実といえよう。

一方、筆者ら<sup>26)</sup>は、ラット腎より近位尿細管を単離し、化学発光法により活性酸素生成の有無を検討した結果、PMAで刺激した尿細管細胞は確かに活性酸素を発生するにもかかわらず(図11a)、阻血性環境に静置し、その後、酸素供給を開始す



a. PMA 添加刺激



b. 阻血性刺激

図11 化学発光法による尿細管細胞の活性酸素生成の測定

るといふ条件の下では活性酸素生成は惹起されない(図11b)という新事実を報告している。この点について、虚血心筋ではキサンチン脱水素酵素から酸化酵素への変換がほとんど起きていないという事実から推して、阻血臓器の活性酸素の初期における発生源は、血管内皮細胞に求められるであろうとの指摘にもあるように<sup>30)</sup>、阻血性急性腎不全での活性酸素生成は、初期段階において内皮細胞が第一義的に関与し、尿細管細胞の直接的な関与はないと想像している(図7)。ちなみに、Zweierら<sup>31)</sup>は、仔牛の大動脈の内皮細胞を培養し、この細胞が阻血後の酸素再供給によって $O_2^-$ を生成し、しかも、キサンチン酸化酵素抑制剤であるアロプリノールによって阻害される旨をスピントラップ法によって証明した。

その他、活性酸素は、細胞障害を惹起するだけでなく、血管系、血球系にも作用し、以前より知られている腎内血流分布異常の原因ではないかとの報告<sup>32)</sup>もある。

### 4. 薬剤性急性腎不全における活性酸素

活性酸素が関与する薬剤性急性腎不全も知られているが、これらのうち、ゲンタマイシンに関し

ては、Patrick ら<sup>33)</sup>の研究がある。それによると、活性酸素は皮質細胞のミトコンドリアで産生され、かつ、腎不全の発症がDMTUによって抑えられるので、活性酸素のなかでHO<sup>-</sup>が重要であると結論している。

### 慢性腎不全と活性酸素

慢性腎不全による透析患者は、導入時年齢が次第に高齢化し、糖尿病性腎症を原疾患とする例が多くなってきたとはいえ、今や、10万名に近付こうとしている。これは、本症へのこれまでの対策が必ずしも効果的ではないということを意味していると同時に、本症への非免疫学的進展機序に関

して、高蛋白食、糸球体過剰濾過、高血圧、高リン血圧、高脂血症、凝固亢進などの仮説が必ずしも適切ではなく、今後は、従来のものとは異なった考え方を導入することの必要性を示唆しているといえよう。

### 1. 慢性腎不全とエネルギー代謝

ラットなどの腎の実質を部分切除、腎動脈の選択的結紮によって減少させ、通常量の蛋白食で飼育すると、残存部分が肥大ないし腫大し、腎重量も増してくることは周知の事実である<sup>34)35)</sup>。このような残存腎においては、細胞当りの蛋白量、蛋白/DNA比、RNA/DNA比が増加し、そのような

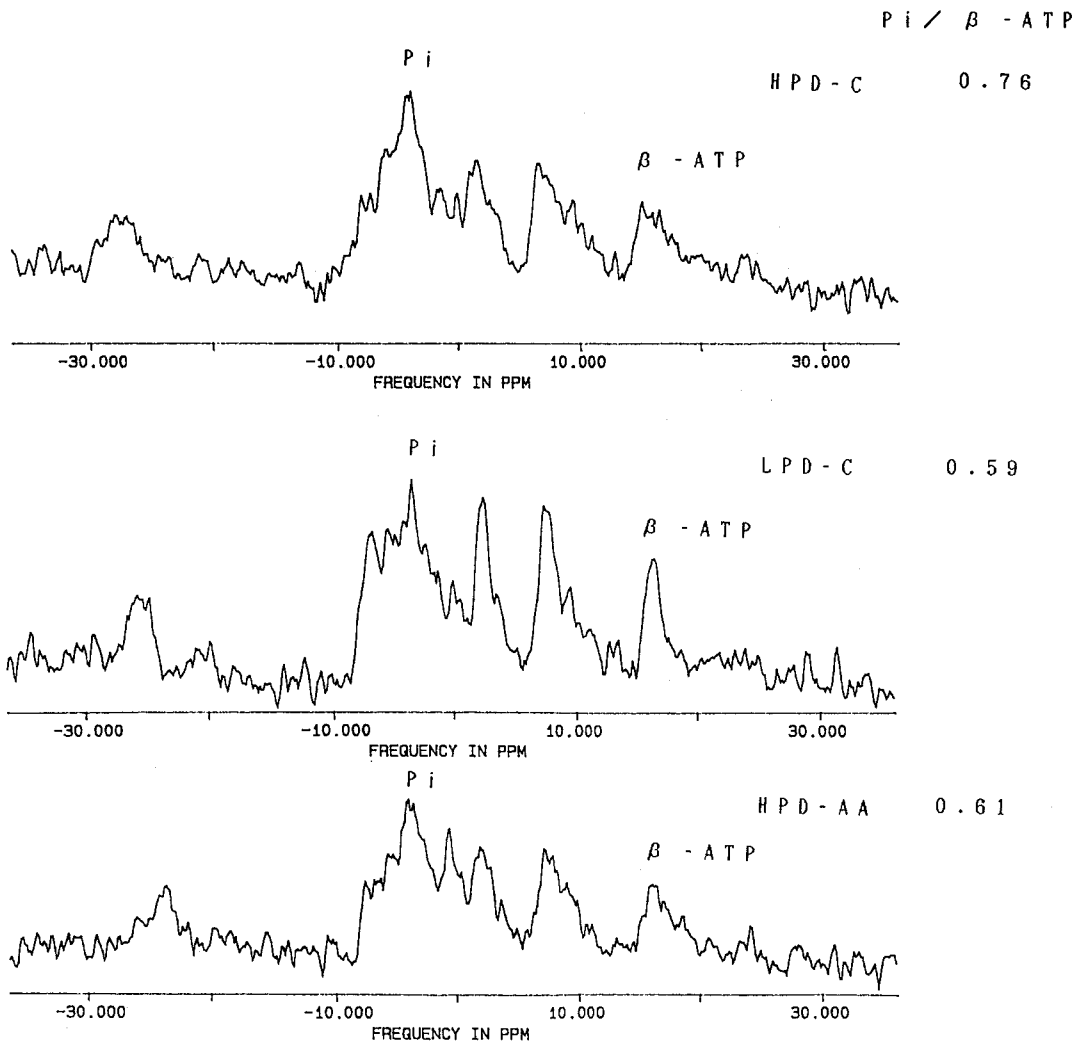


図12 7/8部分腎摘ラットの残存腎の磁気共鳴スペクトラム

代償性反応は部分腎摘されてから12時間以内と、極めて短時間の内に起き始めると報告されている<sup>36)~38)</sup>。このような残存腎では、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  ATPase 活性<sup>39)</sup>,  $\text{HCO}_3^-$ の再吸収<sup>40)</sup>, グルコース<sup>41)</sup>やアンモニア<sup>42)</sup>の生合成が亢進しており、高蛋白質食を摂取することによって、その傾向は強まるといふ<sup>43)</sup>。

Raymond Harris<sup>44)</sup>は、片腎摘出による腎不全ラットから採取した刷子縁小胞の $^{22}\text{Na}$ の取り込み率を検討し、それらが蛋白40%の高蛋白質食で腎不全の場合は蛋白6%の低蛋白質食で腎不全としなかった場合と比較して1.8倍と有意に上昇し、高蛋白質食は腎不全によるエネルギー依存性の $\text{Na}^+ / \text{H}^+$ 交換輸送機構の亢進に拍車をかけるとの成績を報告している。更に、彼らは蛋白1mg 単位当りの $^{22}\text{Na}$ 取り込み率はイヌリンクリアランスや腎重量と相関すると述べ、高蛋白質食で飼育した片腎摘ラットで特に高値となる傾向にあると指摘した。

以上のように、残存ネフロンは、ATPの合成や利用亢進が推察されるが<sup>45)</sup>、筆者らのNMRを用いた測定でも $\beta\text{ATP}/\text{Pi}$ で表されるATP合成率は、図12のように高蛋白質食部分腎摘ラットの残存腎は低蛋白質食のそれより高値となる傾向にあった。

## 2. 残存ネフロンと酸素消費量

部分腎摘ラットの残存腎での酸素消費量は、David Harrisら<sup>46)</sup>の研究によると、対照のintact腎のそれが $0.94 \pm 0.24 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{ネフロン}10^4$ 個と算定されるのに対して部分腎摘ラットでは $2.58 \pm 0.15 \mu\text{mol}/\text{min}/\text{ネフロン}10^4$ 個と有意に増加している。しかも、彼らの成績では、低リン食を摂取させたり、Caチャンネルブロッカーを投与することによって腎不全での基礎値の60%近くまで減少させることができ、以前から知られていた低リン食<sup>47)</sup>やCaチャンネルブロッカー<sup>48)</sup>の腎不全進行抑制効果は、過剰の酸素消費の抑制を介した活性酸素産生抑制に基づくとの可能性は否定できない。

なお、フォスフェイト・バインダーでも腎不全進行遅延はもとより<sup>48)</sup>、ATP合成、酸素消費の減

少など、低リン食と同様の効果が得られることが先と同じ研究グループから指摘されている<sup>50)</sup>。これらの実験的な事実は、食餌は常食であって、蛋白含有量は減少させていないという条件のもとで実施されているので、血清リン値の低下そのものが過剰のエネルギー代謝を抑制し、そのことがそのまま酸素消費の抑制効果につながる可能性を意味していると推察され、臨床の場でのフォスフェイト・バインダーの有用性の理論的な裏付けになっていると思われ、興味深い。

動物実験で有効性が報告されているリン制限食に対して、臨床例では明確な有用性は示されていないと述べ、その根拠の一つに、1987年にLondonで行われた国際腎学会でのシンポジウムにおいて英国のグループが低リン食は腎障害の進展に有意な影響を与えなかったとの発表を挙げる者もいる<sup>51)</sup>。しかし、筆者は、コンプライアンスがよく、かつ、特別な合併症もない患者では例外なく図13のような経過を示すことを臨床的に確認しており、きめ細い患者管理によって腎不全の進行を抑制できると考える。

## 3. 代謝亢進と活性酸素

ATPの主たる合成系であるTCAサイクルを見ると、ブドウ糖1分子の解糖作用で38分子のATP、すなわち277.4kcalのエネルギーが作られる。この過程において、実に90%近くが酸素( $\text{O}_2$ )を絶対的に必要とする電子伝達系とリンクしていることは周知の事実であるが、その際に1分子の $\text{O}_2$ は、4電子還元されて $\text{H}_2\text{O}$ が作られても、一部は1電子および2電子還元により、それぞれ $\text{O}_2^-$ および $\text{H}_2\text{O}_2$ などの活性酸素へと変換されることで知られている。

残存ネフロンでのエネルギー代謝の亢進に随伴する酸素消費量の増加は、活性酸素の生成増加を意味する。しかも、細胞での活性酸素生成機構においてprotein kinase Cの活性化とその後に続くイオン化Caの細胞内流入がキーポイントとなると言われているが<sup>52)53)</sup>、このような部分腎摘による慢性腎不全モデルでは、尿細管でのprotein kinase Cの活性亢進を認めるとの報告もある<sup>54)</sup>。

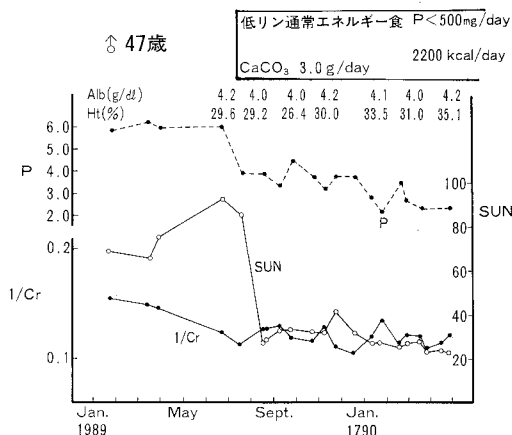


図13 蛋白・リン制限食によって治療された慢性腎不全患者の経過図

症例は、47歳の男性である。昭和53年（36歳）に蛋白尿を指摘されていたが、昭和62年12月視力低下を訴え、某眼科を受診するまで放置していた。眼科的には両側網膜出血と診断され、内科的には蛋白尿、高血圧(160~180/90~100mmHg)、腎機能低下を指摘された。血清クレアチニン値 (Cr)、尿素窒素値 (SUN)はそれぞれ7.5、71.5mg/dlであったため、昭和63年1月から3月まで某内科病院に入院し、蛋白40g、食塩5g、熱量2,000kcalの食餌療法の指導を受けていた。その効果と思われるが、血清クレアチニン値、尿素窒素値は、それぞれ6.6、63.7mg/dlにまで低下したが、その後、再び上昇を示すようになったため、筆者の外れに紹介されてきた。初診時（平成元年6月20日）の数値はそれぞれ8.1、92.6mg/dlであった。問診の結果、食事療法に対するコンプライアンスは悪くないと判断されたので、以来、食事のリン量を500mg以下、熱量を2,200kcalを厳格に守るよう申し渡すとともに、実際の内容にまで立ち入った指導を開始し、現在に至っている。血清尿素窒素値、リン値がほぼ正常値にまで漸次低下し、血清アルブミンは正常域に維持され、Ht値も改善している点に注目されたい。なお、患者は1日3時間の残業や休日出勤もこなしている。

更に、Nathら<sup>55)</sup>は、5/6部分腎摘ラットに蛋白量6%あるいは30%の餌を摂取させ、酸素消費量、組織マロンディアルデヒド (malone dialdehyde, MDA)濃度を測定しているが、摂取蛋白量を制限することにより残存腎の酸素消費量は、3/5に減少し、皮質総MDA濃度は65%近く低下したと述べ、高蛋白食が腎組織での活性酸素産生を亢進させると結論した。

#### 4. 慢性腎不全進展因子としての活性酸素

適切な低蛋白高エネルギー食が慢性腎不全の進行を遅延させることは、疑いの無い事実といえるが、リンの大部分が蛋白成分に付随するものであるため、低蛋白食は低リン食である可能性は否定できない。

そこで、筆者は、摂取リン量を2%と一定にして、蛋白量のみ7% (low protein diet, LPD)、23% (normo PD, NPD)、35% (high PD, HPD)と変動させた3種類の食餌を準備し、これらの7/8部分腎摘ラットへの効果を活性酸素生成の面から検討した。その結果、NPDあるいはHPDとともに細胞内への移行に優れた活性酸素消去剤であるアスコルビン酸誘導体 (AA, 図14)を投与したラット (NPD-AAあるいはHPD-AA)の8週目の尿素窒素値は、それぞれ73.9±2.5、76.3±7.8 mg/dlと、薬剤非投与ラット (NPD-CあるいはHPD-C)それぞれ57.3±6.5、45.5±8.5mg/dlより有意 (p<0.005)に低値であるとの興味ある成績が得られた(図15)。また、脂質過酸化の指標であるTBA反応陽性物質の腎組織濃度もHPDにおいて432±53nmol/g weightと上昇しているも

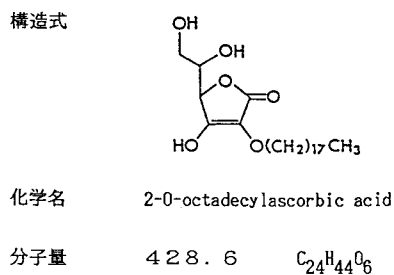


図14 アスコルビン酸誘導体 CV-3611の化学構造

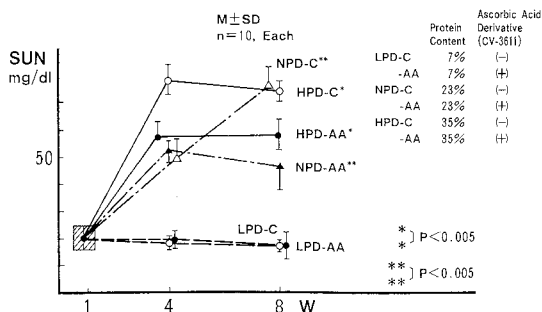


図15 7/8部分腎摘ラットにおける尿素窒素値の変化に及ぼす摂取蛋白量、アスコルビン酸誘導体の影響

のがAAの併用により $217 \pm 79 \text{ nmol/g weight}$ と低下していた。これらの動物実験より、高蛋白質食による活性酸素の過剰生成が慢性腎不全の悪化因子の一つになっているものと推察されよう。同時に、今回の筆者の成績は、なお検討を重ねる必要があることは言うまでもないが、必ずしも極端な低蛋白質食でなくとも質的、量的に十分な抗酸化剤が投与されていたり、抗酸化作用のある食品が摂取されている場合には高蛋白質食や高リン食の弊害を消去できる可能性があるとの結論も引き出せるのではないだろうか。

#### おわりに

酸素 ( $\text{O}_2$ ) は、生体にとって不可欠の物質であるが、一方では、種々の外因性ならびに内因性刺激によって不対電子を持ち、何ものにも結合していない極めて反応性の強い活性酸素と呼ばれるフリーラジカルに変わり、細胞障害あるいは臓器障害を惹起し易いことでもよく知られている。生体は、消去系を発達させてこれらの活性酸素に対抗しているが、腎臓を場とする病態において、そのような生体防御機構を逃れた活性酸素が存在すれば、更に病態を悪化させるという図式は、極めて高い確率のもとで成立すると考える。

最後に、杉野信博教授の御校閲に対してあらためて深謝の意を表する。

#### 文 献

- 1) 中野 稔, 松浦輝男, 二木鋭雄: スーパーオキシド—化学, 生物学, 医学, 医歯薬出版, 東京(1988)
- 2) 佐中 孜, 樋口千恵子, 杉野信博: Phorbol myristate acetate 腎障害モデルにおける活性酸素生成の電子顕微鏡的観察, 第20回日本腎臓学会東部部会, 1990
- 3) Baud L, Hagege J, Sraer L et al: Reactive oxygen production by cultured rat glomerular mesangial cells during phagocytosis is associated with stimulation of lipoxigenase activity. *J Exp Med* 158: 1836-1852, 1983
- 4) Sedor JR, Cary SW, Emancipator SN: Immune complexes bind to cultured rat glomerular mesangial cells to stimulate superoxide release. Evidence for an Fc receptor. *J Immunol* 138: 3751-3757, 1987
- 5) Warren JS, Kumkel RG, Johnson KJ et al: Comparative  $\text{O}_2^-$  responses of lung macrophages and blood phagocytic cells in the rat. Possible relevance to IgA. Immune complex induced lung injury. *Lab Invest* 57: 311-320, 1987
- 6) Radeke HH, Meier B, Topley N et al: Interleukin- $1\alpha$  and tumor necrosis factor  $\alpha$  induce oxygen radical production in mesangial cells. *Kidney Int* 37: 767-775, 1990
- 7) Sedor JR, Abboud HE: Platelet activating factor stimulates oxygen radical release by cultured rat mesangial cells (Abstracts). *Kidney Int* 27: 222, 1985
- 8) Adler S, Baker PJ, Johnson RJ et al: Complement membrane attack complex stimulates production of reactive oxygen metabolites by cultured rat mesangial cells. *J Clin Invest* 77: 762-767, 1986
- 9) Knaus TC, Mene P, Ricanati SA et al: Immune complex activation of rat glomerular mesangial cells dependance on the Fc region of antibody. *Am J Physiol* 257: F478-F485, 1989
- 10) Yoshioka T, Ichikawa I: Glomerular dysfunction induce by polymorphonuclear leukocyte-derived reactive oxygen species. *Am J Physiol* 257: F53-59, 1989
- 11) Johnson RJ, Klebanoff SJ, Ochi RF et al: Participation of the myeloperoxidase- $\text{H}_2\text{O}_2$ -halide system in immune complex nephritis. *Kidney Int* 32: 342-349, 1987
- 12) Johnson RJ, Couser WG, Chi EY et al: New mechanism for glomerular injury: Myeloperoxidase-hydrogen peroxide-halide system. *J Clin Invest* 79: 1379-1387, 1987
- 13) 佐中 孜, 大岡弘之, 堀田 茂ほか: ミエロペーオキシダーゼ- $\text{H}_2\text{O}_2$ -ハライド系誘導活性酸素腎障害. 腎不全中期治療に関する厚生科学研究費研究平成元年報告書: 1~3, 1990
- 14) Shah SVC, Baricos WH, Basci A: Degradation of human glomerular basement membrane by stimulated neutrophils. *J Clin Invest* 79: 25-31, 1987.
- 15) Hasty KA, Mainarot CL, Kang AH et al: Oxydative degradation of heparan sulfate. *In* Basement Membranes, pp309-314, Elsevier Science, Amsterdam (1985)
- 16) Martin J, Davies M, Thomas G et al: Human mesangial cells secrete a GBM-degrading neutral protease and specific inhibitor. *Kidney Int* 36: 790-801, 1989
- 17) Shah SV: Role of reactive oxygen metabolites in experimental glomerular disease. *Kidney Int* 35: 1093-1106, 1989

- 18) 佐中 孜, 佐藤孝子, 小俣正子ほか: フォルボールミリステート酢酸誘導性活性酸素腎障害からみた糸球体腎炎の進展機序と paraamino benzoate Na mannoside の効果. 炎症 10 : 25-31, 1990
- 19) 佐藤孝子, 西川 恵, 佐中 孜ほか: 自然発症ループス腎炎に対するスーパーオキシドディスムターゼの効果. 腎と透析 28 : 469-472, 1990
- 20) 小俣正子: 実験的免疫複合体腎炎の発症ならびに進展過程における活性酸素の関与. 日腎誌 32 : 印刷中, 1990
- 21) Adachi T, Fukuta M, Ito Y et al: Effect of superoxide dismutase on glomerular nephritis. *Biochem Pharmacol* 35 : 341, 1986
- 22) Rehan A, Johnson KJ, Wigginc RC et al: Evidence for the role of oxygen radicals in acute nephrotoxic nephritis. *Lab Invest* 51 : 396-403, 1984
- 23) Emeritt I, Michelson AM: Mechanism of photosensitivity in SLE patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 78 : 2537-2540, 1981
- 24) McCord JM: Oxygen-derived free radicals in postischemic injury. *N Engl J Med* 312 : 159, 1985
- 25) 樋口千恵子: 阻血性急性腎不全における発症ならびに進展因子の各種阻害性薬剤を用いた研究. 日腎誌 31 : 15-24, 1989
- 26) 樋口千恵子, 佐中 孜, 杉野信博ほか: ケミルミネッセンスおよび NMR を用いたラジカルスカベンジャーの尿管障害に対する検討. 第 32 回日本腎臓学会総会予稿集 : 284, 1989
- 27) 角野勝彦, 遠藤 仁: 腎における活性酸素関連酵素. 腎と透析 24 : 743-748, 1988
- 28) Venkatachalam MA, Bernard DB, Donohoe JF et al: Ischemic damage and repair in the rat proximal tubule: Differences among the S1, S2 and S3 segments. *Kidney Int* 14 : 31-49, 1978
- 29) 萩原清和, 市川富夫, 岡 純ほか: Vitamin E 欠乏ラットにおける急性尿管壊死発生の形態学的変化. 第 32 回日本腎臓学会総会予稿集 : 285, 1989
- 30) Eddy LJ, Stewart JR, Jones HP: Free radical producing enzyme, xanthine oxidase, is undetectable in human hearts. *Am J Physiol* 253 : H709-H711, 1987
- 31) Zweier JL, Kuppusamy P, Luty GA: Measurement of endothelial cell free radical generation: Evidence for a central mechanism of free radical injury in postischemic tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 85 : 4046-4050, 1988
- 32) Hansson R, Johnsson S, Johnsson O et al: Kidney protection by pretreatment with free radical scavengers and allopurinol: Renal function at recirculation after warm ischemia in rabbits. *Clin Sci* 71 : 245-251, 1986
- 33) Patrick D, Shah SV: Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. *J Clin Invest* 81 : 334-341, 1988
- 34) Johnson HA, Vera-Roma JM: Compensatory renal enlargement; hypertrophy vs. hyperplasia. *Am J Pathol* 49 : 1-13, 1966
- 35) Johnson HA: Cytoplasmic response to overwork. In *Compensatory Renal Hypertrophy* (Nowinski WW, Gross RJ eds) pp9-25, Academic Press, New York • London (1969)
- 36) Jelinek J, Vesela HV.: The effect of nortestosterone phenylprionate on compensatory hypertrophy of remaining kidney after unilateral nephrectomy. *Acta Endocrinol* 46 : 352-359, 1964
- 37) Malta RA: Compensatory growth of the kidney. *N Engl J Med* 280 : 1446-1454, 1969
- 38) Halliburton IW: The effect of unilateral nephrectomy and of diet on the composition of the kidney. In *Compensatory Renal Hypertrophy* (Nowinski WW, Gross RJ eds) pp101-128, Academic Press, New York • London (1969)
- 39) Epstein FH, Charney AN, Silva P: Factors influencing NaK ATPase in compensatory renal hypertrophy. *Yale J Biol Med* 57 : 365-372, 1978
- 40) Bennet CM, Springberg PD, Falkburg NR: Glomerular-tubular balance for bicarbonate in the dog. *Am J Physiol* 228 : 98-106, 1975
- 41) Schoolwerth AC, Blondin AC, Klar S: Renal glucogenesis. Influence of diet and hydrogen ions. *Biochim Biophys Acta* 372 : 274-284, 1974
- 42) Meyer TW, Hostetter TH, Rennke HG et al: Preservation of renal structure and function by long term protein restriction in rats with reduced nephron mass. *Kidney Int* 23 : 218 (Abstr), 1983
- 43) Schoolwerth AC, Sandler RS, Hoffman M et al: Effects of nephron reduction and dietary protein content on renal ammoniogenesis in the rat. *Kidney Int* 7 : 397-404, 1975
- 44) Harris RC, Seitter JL, Brenner BM: Adaptation of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchange in renal microvillus membrane vesicles. Role of dietary protein and uninephrectomy. *J Clin Invest* 74 : 1979-1982, 1984
- 45) Shapiro JI, Harris DCH, Schreier RW et al: Analysis of nephron hypermetabolism in remnant kidney by nuclear magnetic resonance:

- Potential factors in the progression of chronic renal failure. Proceeding of 10th International Congress Nephrology : 518, 1987
- 46) **Harris DC, Chan L, Schreier R** : Remnant kidney hypermetabolism and progressin of chronic renal failure. *Am J Physiol* 254 : F267-F276, 1988
- 47) 佐中 孜 : 腎不全とリン. *ドクターサロン* 30 : 981-984, 1986
- 48) **Harris DC, Hammond WS, Burke TJ et al** : Verapamil protects against progression of experimental chronic renal failure. *Kidney Int* 31 : 41-46, 1987
- 49) **Lumlertgul D, Burke TJ, Gillum DM et al** : Phosphate depletion arrests progression of chronic renal failure independent of protein intake. *Kidney Int* 29 : 658-666, 1986
- 50) **Harris DC, Shapiro JI, Schreier R et al** : Nuclear magnetic resonance study of reduction of remnant kidney hypermetabolism by phosphate restriction. A potential protective mechanism in chronic renal failure. Proceeding of 10th International Congress Nephrology : 501, 1987
- 51) 安藤明利, 河田哲也, 波多野道康ほか : 慢性腎不全の進展は妨げ得るか. *腎と透析* 27 : 405-410, 1989
- 52) **Nakagawa M, Takeshige K, Sumimoto H et al** : Superoxide-release and intracellular free calcium of calcium-depleted human neutrophils stimulated by formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine. *Biochim Biophys Acta* 805 : 97-103, 1984
- 53) **Prentki M, Wollheim CB, Lew PD** :  $Ca^{2+}$  hemostasis in permeabilized human neutrophils. *J Biol Chem* 259 : 13777-13782, 1984
- 54) **Caramelo C, Tsai P, Okada K et al** : Protein kinase C activity in compensatory kidney growth. *Biochem Biophys Res Commun* 152 : 315-321, 1988
- 55) **Nath KA, Croatt J, Hostetter TH** : Effect of dietary protein restriction on oxygen consumption and oxidant. *Kidney Int* 33 : 381 (Abstract), 1988