

腎不全におけるエンドセリンの検討

奈良県立医科大学泌尿器科学教室

米田 龍生

EXAMINATION OF ENDOTHELIN IN RENAL FAILURE

TATSUO YONEDA

Department of Urology, Nara Medical University

Received November 30, 1995

Abstract: The role of Endothelin (ET) in renal failure was evaluated by experimental study using rats (study 1) and clinical study (study 2).

In study 1, the change of plasma ET level in renal failure was evaluated in two groups of rats. Group 1 consists of sham operation for left kidney and right nephrectomy, and group 2 consists of 60 minutes warm ischemic damaged left kidney and right nephrectomy. In group 2, plasma ET level increased and was followed with the renal insufficiency.

In study 2, the comparison of plasma ET level between the chronic renal failure patients treated with hemodialysis (HD) and those treated with renal transplantation (Tx) was demonstrated. In transplanted patients, periodical change of plasma ET level after renal transplantation was demonstrated. The plasma ET level in HD patients is significantly higher than that of Tx patients. The change in plasma ET level corresponded to renal function. In Tx patients, plasma ET level decreased periodically, followed by the improving of renal function.

The results of this study suggest that measurement of plasma ET level is useful as a marker of renal function.

Index Terms

hemodialysis, renal transpantation, rat, warm ischemia, endothelin

緒 言

エンドセリンはブタの大動脈血管内皮細胞培養により発見された強力な血管収縮物質であり、最近、遺伝子工学技術の発達によりその一次構造が明らかにされた21個のアミノ酸よりなるペプチド蛋白である¹⁾。このエンドセリンはその後の多数の研究の成果により、当初予測された以上の生物学的作用が認められ、さらに、作用部位においても種々の器官にそのレセプターの存在が明らかにされつつある。生理学的作用として最も重要な作用は血管収縮作用であり、全身の血管平滑筋に一時的にあるいは持続的に作用し、現在本態性高血圧症をはじめとした高血圧症との関連が報告され²⁾、レニン-アンギオ

テンシン系、心房性Na利尿ペプチドなど他の血管作動性因子との関連性も検討されている。また最近、エンドセリンと動脈硬化症との関連性も報告され³⁾、循環器疾患に関する増悪因子として注目されている⁴⁾。

一方、腎においてもその生理学的作用は種々報告されており⁵⁾、特に腎不全の発症においてエンドセリンが重要な因子の一つと考えられているが、エンドセリン自体がparacrine, autocrineな作用を有する微量物質であるため前処置を含めた測定方法も困難であり、腎不全におけるエンドセリンの役割は未だ十分に明らかにされていないとは言えない。

今回、腎不全に関してエンドセリンとの関連性を検討するために、Study 1として、我々が以前より報告してい

る腎温阻血による腎不全ラットを作成の上、実験的に腎機能と血漿エンドセリン値を測定し、正常対照群および急性腎不全群について比較検討した。また、Study 2として、臨床的にも、維持血液透析中の慢性腎不全患者および腎移植患者の血漿エンドセリン値を比較検討し、さらに腎移植患者においては、腎移植後の腎機能の発現と血漿エンドセリン値の変動をみるために血漿エンドセリン値の経時的変化について検索し、腎不全とエンドセリンとの関連性について実験的、臨床的に検討した。

実験動物、対象症例および方法

I. 実験動物

Study 1では、実験動物として12週齢、体重200—300gのFischer系雄性ラット16匹(オリエンタル・バイオサービス、京都)を用い、air-condition roomにて22°Cで飼育し、飼料としてCRF-1(オリエンタル・バイオサービス、京都)および水道水を自由摂取させた。

II. 対象症例

Study 2では、以下の3群を対象症例とした。

維持血液透析症例(HD群)：男性10例、女性5例、年齢は37歳より80歳、平均 51.2 ± 12.9 歳、透析歴は8ヶ月より180ヶ月、平均 91.4 ± 65.6 ヶ月で、原疾患として糖尿病を有さない慢性糸球体腎炎症例とした。

腎移植症例(Tx群)：生体腎移植症例6例、死体腎移植症例6例で、男性7例、女性5例、年齢は16歳より46歳、平均 37.4 ± 8.3 歳であり、観察期間は腎移植後2ヶ月より70ヶ月、平均 24.0 ± 24.0 ヶ月で、移植腎機能の比較的安定している症例とした。移植症例の原疾患はすべて慢性糸球体腎炎であった。

対照例：男性5例、女性4例の成人健常者を対照例とし、年齢は24歳より49歳、平均 36.3 ± 7.48 歳で、高血圧等を認めないボランティアとした(Table 1)。

対象症例ならびに対照例については、本研究の目的を説明し、承諾を得た。

Table 1. Subjects

Case	No.	Sex	Age	HD or Tx duration(Mons)	Diag.
Tx*	12	F 7 M 5	37.4 ± 8.30	24.0 ± 24.0	CGN***
HD**	15	F 5 M 10	51.2 ± 12.9	91.4 ± 65.6	CGN***
Control	9	F 4 M 5	36.3 ± 7.48	—	—

* : renal transplantation

** : hemodialysis

*** : chronic glomerular nephritis

【Extraction】

Plasma 2ml
 ↓ + TFA
 Octyl cartridge
 ↓ + 0.09% TFA
 ↓ + 60% Acetonitrile/TFA
 Evaporation
 ↓ + Assay buffer
 Radioimmunoassay(RIA)

【RIA】

Sample or Standard 0.1ml
 ↓ + Assay buffer 0.1ml
 ↓ + Antiserum 0.1ml
 Incubation at 4°C, overnight
 ↓ + 125 I-hET 0.05ml
 Incubation at 4°C for 2 days
 ↓ + 2nd Antibody-PEG 0.5ml
 Incubation at 4°C, 15min
 ↓
 count

Buffer: 0.01M phosphate buffer with 0.01M EDTA, 0.01M EACA, 0.02M glycine, 0.001M NaN, 0.1% Triton X-100, 0.1% heat inactivated HSA, pH 7.4

Fig. 1. Measurement of plasma endothelin level.

III. 方法

1. 血漿エンドセリン測定

血漿エンドセリン測定は, Study 1, Study 2 いずれにおいても, radioimmunoassay(RIA) 2 抗体法にて測定した. すなわち ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)加血漿 2 ml に trifluoroacetic acid(TFA)を加え, octylcartridge にて前処置した試料に 0.09 % TFA および 60 % acetonitrile/TFA を添加しロータリーエバポレーターにて蒸発乾固し, assay buffer を加え RIA 法にて測定した.

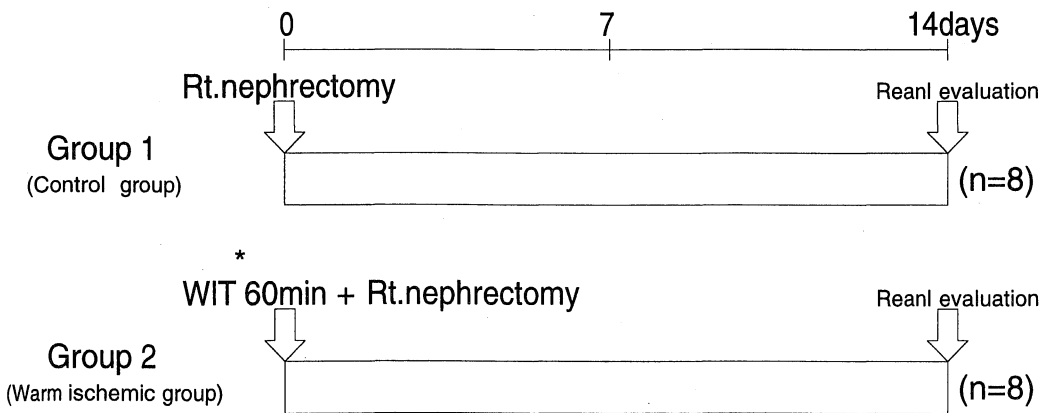
RIA は試料および標準試料をそれぞれ 0.1 ml ずつ使用し, Assay buffer 0.1 ml および抗血清 0.1 ml を添加し 4°C で overnight incubation し ¹²⁵I- 標識ヒトエンド

セリン(¹²⁵I-hET)0.05 ml を加え, 再度 2 日間 incubation し, さらに 2nd antibody-polyethylene glycols (PEG)0.5 ml を加え, 4°C で 15 分間 incubation し測定した(Fig. 1).

2. 腎不全モデルラットにおけるエンドセリンの検討 (Study 1)

腎不全ラットの作成は, 従来より我々が報告している方法に従い⁹⁾, 実験動物を以下の 2 群に分けて血液生化学検査, 腎機能評価法としてのイヌリンクリアランス・パラ馬尿酸クリアランスおよび血漿エンドセリン値の測定を行い, 比較検討した(Fig. 2).

Group 1(対照群): Fischer 系ラット 8 匹を用い, ペントバルビタール(5 mg/kg)の腹腔内投与による全身麻酔下,



Reanal evaluation:(1)INULIN clearance (2)PHA clearance (3)ET (4)Labo data

*:Warm ischemic time for left kidney

Fig. 2. Experimental study in rat.

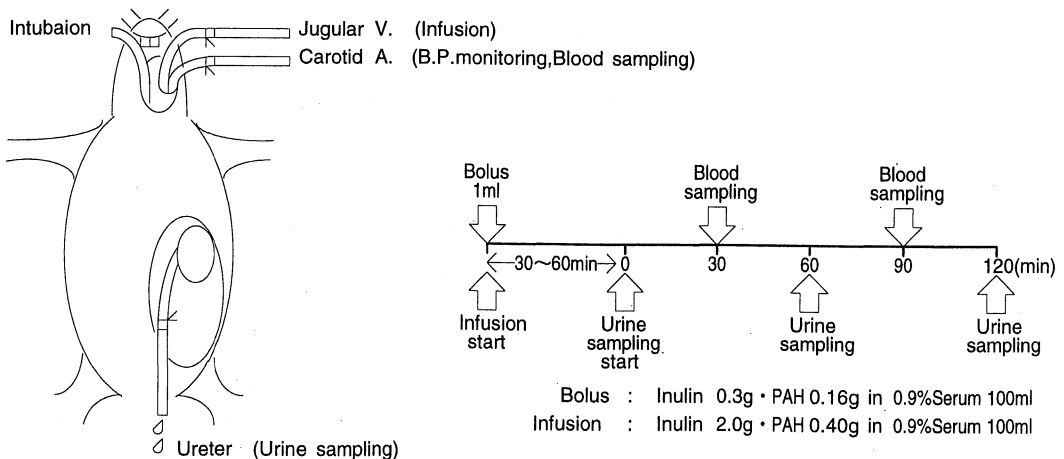


Fig. 3. Method for measurement of clearance (Inulin & PAR).

腹部正中切開にて経腹的に左腎動脈を遊離した後、右腎を摘出し創を閉じ手術を終了した(sham operation).

Groug 2(温阻血群): Fischer 系ラット 8 匹を用い、対照群と同様に全身麻酔下に、左腎動脈を遊離した後、ミニクリップにて左腎動脈を 60 分間クランプすることにより左腎温阻血を施行し、クランプ開放時に同様に右腎を摘出し創を閉じ手術を終了した。以上の 2 群を作成し、14 日目まで水分および飼料を自由に摂取させて経過観察し、14 日目に腎機能の評価を行うと同時に血漿エンドセリン値を測定した。なお、対照群および温阻血群のいずれのラットにおいても、手術死や術後死をしたラットはみられなかった。

血液生化学検査として血清グルタミン酸オキサロ酢酸アミナーゼ(GOT)、グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ(GPT)、乳酸脱水素酵素(LDH)、クレアチニン(Cr)、血液尿素窒素(BUN)を測定した。測定法はそれぞれ、GOT、GPT: Harmann 法、LDH: Wroblewski 法、BUN: ウレアーゼ GLDH 法、Cr: 酵素法を用いた。

腎機能評価法として糸球体機能を反映するイヌリンクリアランス(以下 C_{IN} と略す)、腎血流量を反映するパラ馬尿酸クリアランス(以下 C_{PAH} と略す)を測定した。

C_{IN} および C_{PAH} の測定方法: 我々がすでに報告したごとく⁹⁾ポリエチレンチューブを外頸動静脈および左尿管に留置し、外頸静脈よりイヌリン(Sigma Chemical Co. Ltd., St. Louis, Mo. USA)、パラ馬尿酸(第一製薬株式会社、東京)(以下 PAH と略す)を生理食塩水に溶解し、測定開始 30 分前にそれぞれ 3 mg、1.6 mg を初期投与し、引き続き生理食塩水に溶解したイヌリンおよび PAH をそれぞれ 12 mg/100 g/min、2.4 mg/100 g/min で持続注入した。血液の採血は外頸動脈より、また尿の採取は尿管より施行した。測定中の血圧変動は外頸動脈に接続した動脈圧モニターにて観察し、80 mmHg 以下に低下した場合には生理食塩水を静脈内注入して血圧を管理した(Fig. 3)。

イヌリン測定法: 血中および尿中のイヌリン濃度の測定はアンスロン法により測定した。すなわち血清は 0.3 規定の過塩素酸で除蛋白遠沈後上清を使用し、尿は 100—1000 倍の希釈尿を使用した。それぞれの検体とイヌリン標準液に濃硫酸とアンスロン試薬(和光純薬工業株式会社、東京)を混和し、56°C で 10 分間反応させた後、直ちに冷却し比色計(Hitachi spectrometer 150—200, 日立製作所、東京)を用い、測定波長 636 nm で測定し、標準曲線より算出した。

PAH 測定法: 血清はトリクロル酢酸(TCA)を混和し

室温で 10 分間放置した後 15 分間遠沈し除蛋白した上清を用い、尿は 100—1000 倍の希釈尿を使用した。それぞれの検体と標準液に 2 規定の濃塩酸と亜硝酸ナトリウムを加え 3 分間反応させた後、尿素を加え十分混和させ 30 分間放置し、さらに津田試薬[1-(β -diethylaminoethyl) α -naphthylamine・蓚酸塩、和光純薬工業株式会社、大阪]を加え 30 分間放置し、その反応液を比色計(測定波長 570 nm)で測定し、標準曲線より算出した。

3. 血液透析症例および腎移植症例における血漿エンドセリン値の検討(Study 2)

対象症例の、維持血液透析症例、腎移植症例および対照例の血漿エンドセリン値を測定し、比較検討した。さらに、腎移植症例中、経過良好の生体腎移植症例、死体腎移植症例および急性拒絶反応を合併した死体腎移植症例の 3 例に関して、移植後の腎機能の発現に伴う経時的な血漿エンドセリン値の変化を探索した。

血液採血時間に関しては、維持血液透析症例は透析開始時、腎移植症例および対照例は空腹時早朝とした。また腎移植症例 3 例(死体腎移植症例 2 例、生体腎移植症例 1 例)については移植腎機能の発現と血漿エンドセリン値の関連を検討するために、腎移植直後より経時的に採血した。

血液生化学検査: 腎移植症例については腎機能評価として、血液尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Cr)を測定し、また他の血管作動性因子としてレニン活性(PRA)を測定した。測定法はそれぞれ、BUN: ウレアーゼ GLDH 法、Cr: 酵素法、PRA: RIA 法を用いた。

また全ての腎移植症例は免疫抑制剤に Cyclosporine A(CYA)を用いており、その血中濃度を、ダイナボット社の Enzyme immuno assay(EIA)キットを用い、全血 trough level として測定した。

結 果

I. 腎不全モデルラットにおける血漿エンドセリン

Table 2. Comparison of labo data between two groups

	Group 1*	Group 2**
GOT(IU/I)	49.6±19.5	72.5±17.7
GPT(IU/I)	34.3±14.0	51.2±15.9
LDH(IU/I)	347±101	503±151
BUN(mg/dl)	10.3±2.3	11.2±3.0
Cr (mg/dl)	0.54±0.25	0.60±0.15

*Group 1: Control group (n=8)

**Group 2: Warm ishchemic group (n=8)

の検討

血液生化学検査結果では、GOT、GPT および LDH 値が温阻血群において対照群に比べて高い傾向を示した。同様に、BUN および Cr についても温阻血群が高い傾向を示したが、有意な差は認めなかった(Table 2)。

C_{IN} 値は、対照群 $742.1 \pm 300.4 \mu\text{l}/\text{min}$ 、温阻血群 $427.8 \pm 188.0 \mu\text{l}/\text{min}$ で、温阻血群は対照群に比べて低い傾向 ($p < 0.1$) にあった(Fig. 4)。また C_{PAH} 値は、対照群 $5650 \pm 1979 \mu\text{l}/\text{min}$ 、温阻血群 $3063 \pm 1035 \mu\text{l}/\text{min}$ で、温阻血群が対照群に比べて有意に低値を示し ($p < 0.02$) (Fig. 5)、糸球体機能、腎血流量のいずれも温阻血群は対照群に比べて低かった。

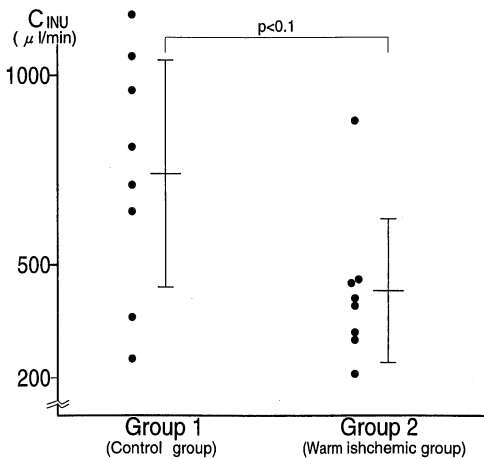


Fig. 4. Comparison of inulin clearance between 2 groups.

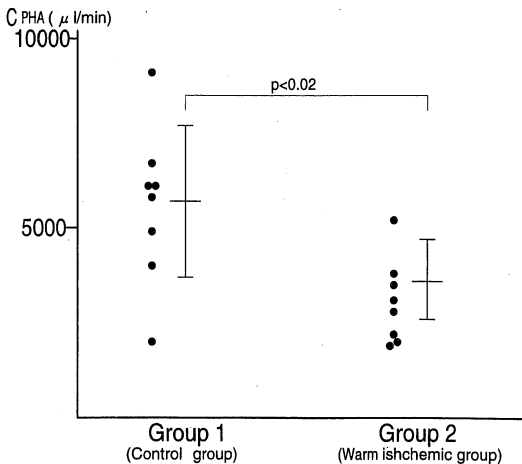


Fig. 5. Comparison of PHA clearance between 2 groups.

また、2群間における血漿エンドセリン値は、対照群 $4.00 \pm 0.94 \text{ pg/ml}$ 、温阻血群 $6.91 \pm 2.26 \text{ pg/ml}$ で、温阻血群が対照群に比べて有意に高値を示した ($p < 0.02$) (Fig. 6)。

II. 血液透析症例および腎移植症例における血漿エンドセリンの検討

HD群、Tx群および対照例の血漿エンドセリン値：RIA法で測定したHD群、Tx群および対照群の血漿エンドセリン値はそれぞれ $15.7 \pm 3.56 \text{ (pg/ml)}$ 、 $5.0 \pm 2.9 \text{ (pg/ml)}$ 、 $3.22 \pm 0.59 \text{ (pg/ml)}$ で、HD群は対照群と比較して有意に高値を示し ($p < 0.01$)、またTx群はHD群と比較して有意に低値となり ($p < 0.01$)、Tx群は対照群と比較して有意差を認めなかった(Fig. 7)。

血漿エンドセリン値と腎機能：Tx群中の、経過良好の生体腎移植症例、死体腎移植症例および急性拒絶反応を合併した死体腎移植症例の3例について、腎移植後より経時的に血漿エンドセリン値を測定し、BUN、CrおよびCcrと比較検討した。BUNおよびCrとはそれぞれ $r = 0.668 \text{ (} p < 0.02\text{)}$ 、 $r = 0.695 \text{ (} p < 0.02\text{)}$ と有意な正の相関を示した(Fig. 8, 9)。Ccrとは $r = -0.734 \text{ (} p < 0.01\text{)}$ と有意な負の相関を示した(Fig. 10)。

血漿エンドセリン値とPRA値および全血CYA濃度との相関について：Tx群中の、経過良好の生体腎移植症例、死体腎移植症例および急性拒絶反応を合併した死体腎移植症例の3例について、腎移植後より経時的に血漿エンドセリン値を測定し、PRA値および全血CYA濃度と比較検討した。レニン活性(PRA)とは $r = 0.648 \text{ (} p < 0.05\text{)}$ と正の相関を示した(Fig. 11)。

全血CYA濃度と血漿エンドセリン値とは相関は認め

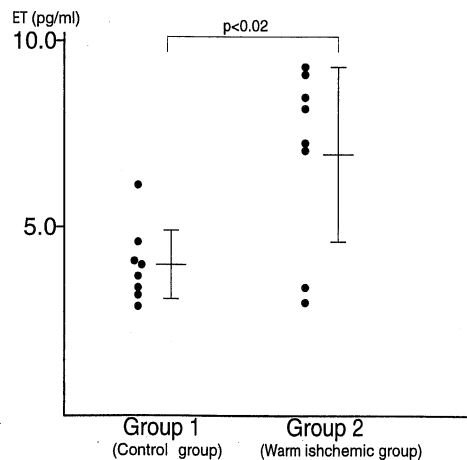


Fig. 6. Comparison of endothelin between 2 groups.

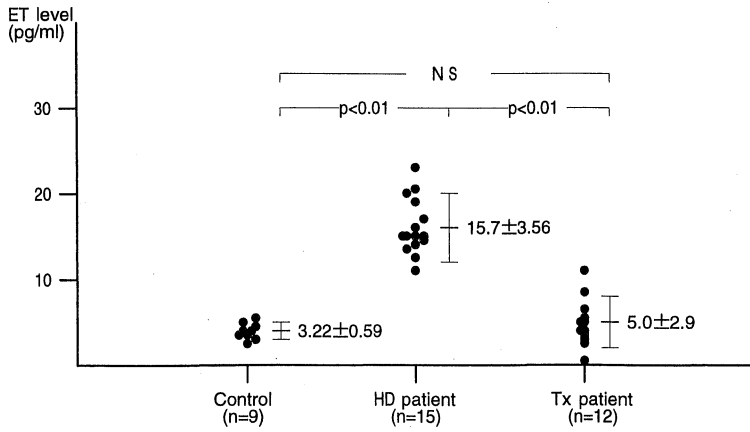


Fig. 7. Plasma endothelin level among control, HD patients and Tx patients.

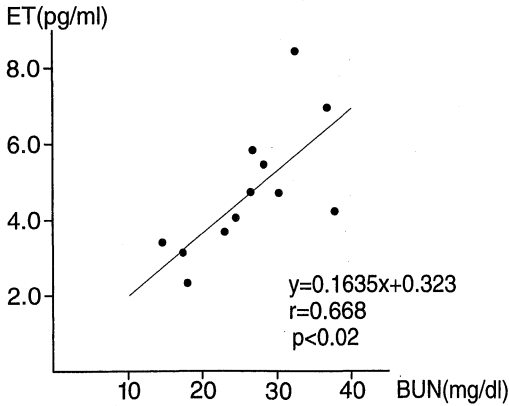


Fig. 8. Relationship between endothelin and BUN in transplanted patients.

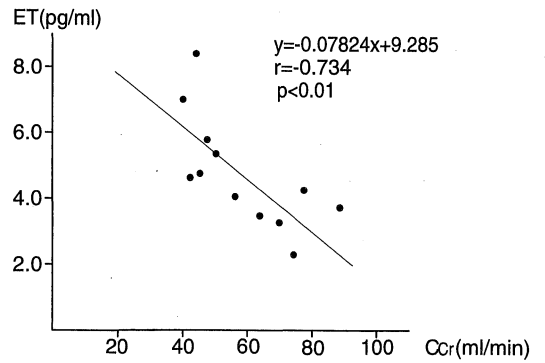


Fig. 10. Relationship between endothelin and creatinine clearance in transplanted patients.

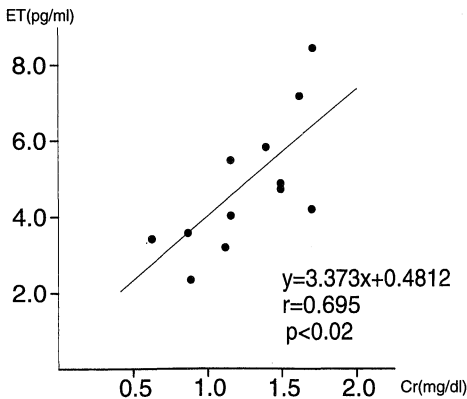


Fig. 9. Relationship between endothelin and creatinine in transplanted patients.

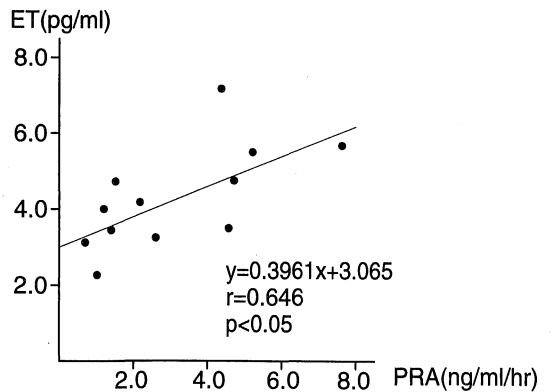


Fig. 11. Relationship between endothelin and plasma renin activity in transplanted patients.

られず、また全血 CYA 濃度は腎機能との相関も認められなかった。

腎移植後の血漿エンドセリン値の変動：Tx 群中の、経過良好の生体腎移植症例、死体腎移植症例および急性拒絶反応を合併した死体腎移植症例の 3 例について、腎移植後より経時的に血漿エンドセリン値を測定し、その変動を検討した。

症例 1：27 歳，女性，維持血液透析療法中の腎不全患者で，1991 年 11 月 6 日に 1 haplo type identical の生体腎移植を施行した症例である。免疫抑制剤には CYA，アザチオプリン(AZ)，ステロイドの 3 剤を用いた。本症例の腎移植直後よりの腎機能(Cr 値)と血漿エンドセリン値との経時的な変化について検討したが，本症例は術直後より尿の排出が認められ，腎機能の改善に伴って血漿エンドセリン値も低下傾向がみられた(Fig. 12)。

症例 2：45 歳，女性，維持血液透析療法中の腎不全患者で，1992 年 3 月 8 日に HLA typing 3 miss match の死体腎移植を施行した症例である。本症例は，術後 10 日目より尿の排出が認められ，血液透析を離脱した時点より血漿エンドセリン値が徐々に低下している。術後 60 日目になり，血清 Cr 値が 0.7 mg/dl と腎機能改善時点で血漿エンドセリン値は 5.6 pg/ml と低下した(Fig. 13)。

症例 3：31 歳，男性，維持血液透析療法中の腎不全患者で，1993 年 4 月 20 日に HLA typing 3 miss match の死体腎移植を施行した症例である。本症例は，術後 1 日目より尿の排出が認められ，血液透析は 1 日目で離脱したが，術後 8 日目より尿量が減少し血清 Cr 値の上昇がみられたため急性拒絶反応と判断しメチルプレドニゾン 1000 mg によるパルス療法を 3 日間施行するも効果なく，モノクローナル抗体 OKT-3 5 mg を 10 日間施行

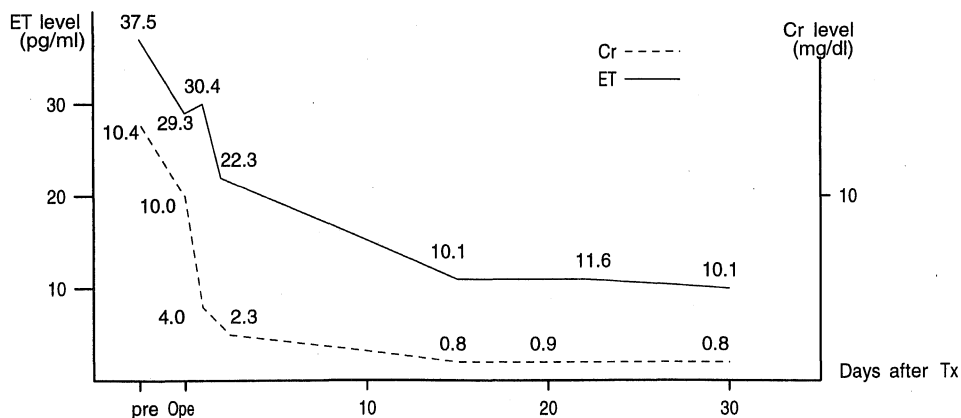


Fig. 12. Change of plasma endothelin level and creatinine in a case of living Tx.

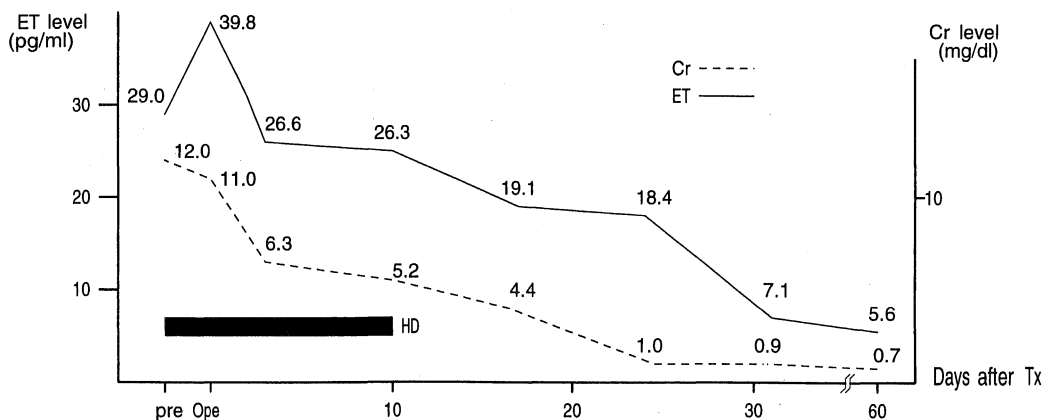


Fig. 13. Change of plasma endothelin level and Cr level in a case of cadaveric Tx.

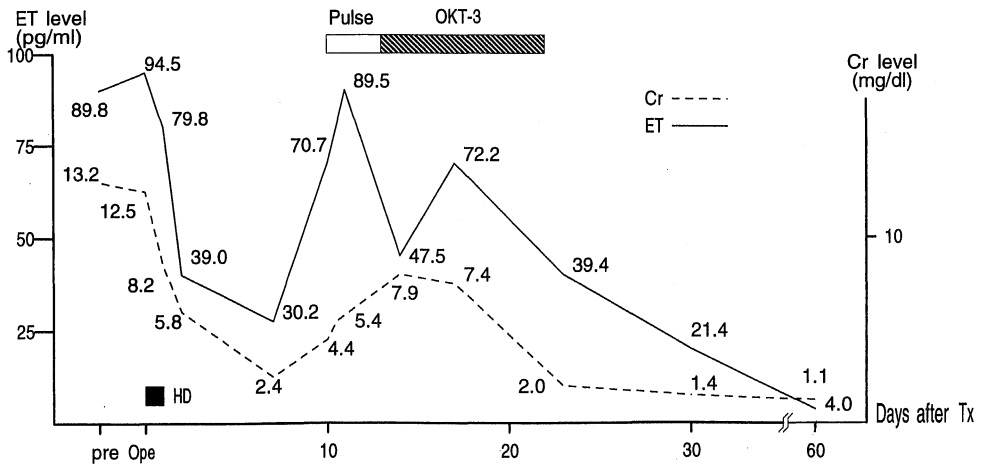


Fig. 14. Change of plasma endothelin level and Cr level in a case of cadaveric Tx with acute rejection.

したところ3日目より尿量の増加および血清Cr値の低下が認められた。血漿エンドセリン値についてみると手術直後より腎機能の改善に伴い低下傾向が認められたが、拒絶反応に伴い急激な上昇を認めパルス療法後一時的に低下傾向が認められたが、再度上昇が認められ、OKT-3の効果の認められた3日目より再度低下傾向が認められ、以後は拒絶反応の改善に伴い低下が認められた(Fig. 14)。

考 察

今回、ラットを用いた実験系において、腎不全状態における血漿エンドセリンの動態を明らかにする目的で温阻血による腎不全モデルを作成の上、比較検討したが、対照群に比較して温阻血群の血漿エンドセリン値は有意に高値を示した。また、2群間の腎機能評価に関しては、PAHクリアランスより測定した腎血流量の検討より温阻血群は対照群に比較し、明らかに低値を示し、温阻血処置が細動脈を含めた腎血管障害の原因となった可能性が高く、その結果血漿エンドセリン値の上昇が認められたものと考えられる。さらに、イヌリン・クリアランスにおいても温阻血群は対照群に比較して低値を示し、温阻血処置により糸球体機能障害が認められたことになるが、これは温阻血処置による直接的な影響か、あるいは腎血流障害による二次的な影響か否かは今後の研究課題であるが、温阻血による腎血流量および糸球体機能の低下に伴い、血漿エンドセリン値の上昇が確認されたことより、腎不全状態において血漿エンドセリン値は上昇することが実験的にも確認できたこととなる。また、ラッ

トにおいて、腎動脈へのエンドセリンの持続注入により、腎血流量および糸球体機能の低下が生じることが確認されており⁷⁾、さらに温阻血によるラットの腎障害に対し、エンドセリン拮抗剤を投与することにより腎障害は抑制され、また病理組織学的には尿管上皮細胞の壊死例へのCa⁺⁺の蓄積が抑制されることも報告されており⁸⁾、エンドセリンが腎障害において重要なmediatorであることが示唆される。

一方、維持血液透析症例および腎移植症例における検討では、維持血液透析症例の血漿エンドセリン値は健常者および腎機能の安定している腎移植症例に比較して、有意に高値を示したが、腎不全状態におけるエンドセリン値の上昇する理由としては排泄障害による蓄積、分泌亢進、代謝障害が考えられる。エンドセリンは健常者においては尿中に排泄されるが⁹⁾、透析導入前の慢性腎不全患者においては血中および尿中のエンドセリン値が健常者に比較して上昇しており、また我々が血液透析前後に測定した結果では、Stochenhuberら¹⁰⁾の報告と同様に、有意な減少を認めず、血液透析によるエンドセリンの除去はなく、従って腎機能がほぼ廃絶している維持血液透析患者においては、排泄障害による蓄積が血中エンドセリン値の上昇の一つの要因であると思われる。

エンドセリンは、主に血管内皮に対し何らかの障害がもたらされた状況で血管内皮細胞より分泌されるが、血液透析症例においては特に尿毒症性物質による血管内皮細胞の障害および透析のための頻回の血管穿刺による血管障害による分泌亢進も血漿エンドセリン値上昇の要因であると思われる。また、エンドセリンの代謝は種々の

臓器で行われているが、特に腎はその分解および排泄に関して重要な器官であり、維持血液透析症例においてはこれらの機能が減少あるいは廃絶しており、そのための代謝障害も血漿エンドセリン値上昇の要因であると思われる。

今回、我々は維持血液透析中の腎不全患者に腎移植を行った場合における血漿エンドセリン値の変動について検討したが、腎移植症例では、腎移植後、尿の排出および腎機能の改善とともに血漿エンドセリン値は速やかに低下傾向を示し、血清 Cr 値が 1.5 mg/dl 以下になった時点での腎移植症例の血漿エンドセリン値は、健常者の血漿エンドセリン値と差は認められない値まで低下していた。血漿エンドセリン値の低下に関しては、体液量減少に伴う分泌減少¹¹⁾あるいは移植腎の糸球体機能の改善に伴う代謝改善および排泄増加¹²⁾も要因となるが、最大の要因は他の報告にも認められるように、移植により血管収縮等の血管性障害が軽減されたため血管内皮細胞からのエンドセリンの分泌が減少することである^{11,13)}。

腎移植後の腎機能が改善し安定している状態では、前述のごとく血漿エンドセリン値も低下し安定傾向を示すが、拒絶反応時における血漿エンドセリン値の変化に関しては、拒絶反応が発生した時点では種々の合併症とともに、血漿エンドセリン値も上昇傾向を示した。拒絶反応時に認められる血液循環系の典型的な病態においては、腎細血管を含めた腎血管抵抗が増大することにより腎血流量が低下し、その結果、糸球体濾過率が低下し腎機能が徐々に低下して腎機能廃絶に至る。今回我々の症例では拒絶反応時に腎生検を施行していないが、腎生検での拒絶反応時の血管における組織学的変化は単核球の血管内皮への浸潤および線維性壊死を伴った血管炎の形態を示すとされており、主に血管内皮より遊離するペプチドであるエンドセリンは、急性拒絶反応時の血管内膜障害時に遊離し、血漿エンドセリン値が上昇することになる。一方、拒絶反応時の腎組織像より Acute tubular necrosis(ATN)あるいは間質性の変化においても血漿エンドセリン値の上昇が認められるとの報告⁹⁾もあるが、原則的には血管性病変が主な要因であり、ATN あるいは間質性病変は二次的なものと思われる。

一方、移植症例の腎障害をみる場合は薬剤性の腎障害を考慮する必要がある。サイクロスボリン(CYA)は、近年になり開発され極めて有効な免疫抑制剤であるが、長期使用による腎障害が報告され¹⁴⁾、組織学的には腎の輸入動脈を中心とした腎細小血管の収縮に起因する血管障害が認められ、慢性障害にて血管中膜平滑筋細胞の変性、壊死が認められ、高度になると血管腔の狭小化、閉塞を

来し、腎機能廃絶をきたすこととなる¹⁵⁾。従って、CYA 濃度が高い場合、血漿エンドセリン値も上昇することが予測される。今回の我々の study では、全血 CYA 濃度と血漿エンドセリン値とは相関が認められなかったが、これは CYA の投与量を頻回の全血濃度のモニタリングにより増減していることが一因と考えられる。

エンドセリンの receptor に関しては最近多数の報告が認められ、2つの subtype(ET_A receptor, ET_B receptor)が存在し、血管、腎をはじめとして種々の臓器、組織にその存在が確認されており、腎においては ET_B receptor の方が優位とされている¹⁶⁾。また、障害腎に対する ET receptor の blocker の投与により腎機能の悪化は抑制されることより、この点からもエンドセリンと腎機能障害は深い関連性があることが示唆されている¹⁷⁾。

今回、血漿エンドセリン値が他の報告と比較して高い傾向が認められたが、使用キットの影響により ET-2, ET-3 を含めたエンドセリン様物質も測定している可能性があり、また、特に血液透析症例においては、頻回の穿刺等による血管障害の強い部位からの採血が影響している可能性もあり、これからの検討課題である。

以上より、血漿エンドセリン値の測定は腎機能のマーカーとして、また腎移植症例においては腎機能改善および急性拒絶反応のマーカーとしての有用性が、臨床的にも実験的にも確認されたものと考えられる。

結 語

腎不全に関してエンドセリンとの関連性を検討するために、腎温阻血による腎不全ラットを作成の上、腎機能と血漿エンドセリン値を測定し、正常対照群および急性腎不全群において比較検討した。また、臨床的検討として維持血液透析中の慢性腎不全患者および腎移植患者の血漿エンドセリン値を測定し、比較検討した。さらに腎移植患者においては血漿エンドセリン値の経時的変化も検討し、以下の結果を得た。

I. 腎温阻血による腎不全ラットにおいては、正常対照群と比較して血漿エンドセリン値は有意に高値を示した。

II. 血漿エンドセリン値は、透析患者において腎移植患者、健常者に比較して有意に高値を示し、腎移植患者と健常者の間では有意差を認めなかった。

III. 血漿エンドセリン値は、BUN、クレアチニンと有意な正の相関を、クレアチニンクリアランスと有意な負の相関を認めた。

IV. 腎移植患者の血漿エンドセリン値の経時的な変化では、腎移植後腎機能の発現に伴い、血漿エンドセリン

値は低下し、また拒絶反応時には上昇を認めた。

以上より、エンドセリンは腎障害における重要な mediator であり、血漿エンドセリン値の測定は腎機能のマーカーとして、また腎移植症例においては腎機能改善および急性拒絶反応のマーカーとしての有用性が、実験的にも臨床的にも確認されたものと考えられる。

謝 辞

本論文の要旨は第 81 回日本泌尿器科学会総会、第 28 回日本移植学会総会において報告した。稿を終るにあたり、終始御懇篤な御指導ならびに御校閲を賜りました恩師岡島英五郎教授に心より感謝いたします。さらに御助言、御指導をいただきました生化学教室神谷知彌教授、第 1 内科土肥和紘教授に感謝いたします。また本研究の遂行にあたり御協力いただきました奈良県立医科大学泌尿器科学教室諸兄に厚く感謝申し上げます。

文 献

- 1) Yanagisawa, M., Kurihara, H., Kimura, S., Tomobe, Y., Kobayashi, M., Mitsui, Y., Yazaki, Y., Goto, K. and Masaki, T. : A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* **332** : 411-415, 1988.
- 2) Saito, Y., Nakao, K., Mukoyama, M. and Imura, H. : Increased plasma endothelin level in patients with essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* **332** : 205, 1990.
- 3) Ohwaki, T., Sakai, H. and Hirata, Y. : Endothelin-converting enzyme activity in human serum lipoprotein fraction. *FEBS lett* **320** : 165-168, 1993.
- 4) 平田結喜緒 : エンドセリンと心血管病変。内分科学の進歩 **10** : 23-39, 1993.
- 5) Nassar, G. M. and Badr, K. F. : Endothelin in kidney disease. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* **3** : 86-91, 1994.
- 6) 吉田克法, 影林頼明, 坂 宗久, 米田龍生, 谷 満, 太田匡彦, 岡島英二郎, 大園誠一郎, 平尾佳彦, 岡島英五郎 : 温阻血および Cyclosporine A による障害腎に対する recombinant-ANP の影響。日腎誌。 **36** : 123-129, 1994.
- 7) Kon, V., Yoshioka, T., Fogo, A. and Ichikawa, I. : Glomerular Actions of Endothelin in vivo. *J. Clin. Invest.* **83** : 1762-1767. 1989.
- 8) Shibouta, Y., Suzuki, N., Shino, A., Matsumoto, H., Terashita, Z., Kondo, K. and Nishikawa, K. : Pathophysiological role of endothelin in acute renal failure. *Life Sci.* **46** : 1611-1618, 1990.
- 9) Ohta, K., Hirata, Y., Shichiri, M., Kanno, K., Emori, T., Tomita, K. and Marumo, F. : Urinary excretion of endothelin-1 in normal subjects and patients with renal disease. *Kidney Int.* **39** : 307-311, 1991.
- 10) Stockenhuber, F., Gottsauer-Wolf, M., Marosi, L., Liebisch, B., Kurz, R. W. and Balcke, P. : Plasma levels of endothelin in chronic renal failure and after renal transplantation : impact on hypertension and cyclosporin A-associated nephrotoxicity. *Clin. Sci.* **82** : 255-258, 1992.
- 11) Yamakado, M., Hirata, Y., Matsuoka, H. and Sugimoto, T. : Pathophysiological role of endothelin in renal transplantation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **17** : s 477-479, 1991.
- 12) Kon, V., Sugiura, M., Inagami, T., Harvie, B. R., Ichikawa, I. and Hoover, R. L. : Role of endothelin in cyclosporine-induced glomerular dysfunction. *Kidney Int.* **37** : 1487-1491, 1990.
- 13) Fogo, A., Hakin, R. C., Sugiura, M., Inagami, T. and Kon, V. : Sever endothelial injury in a renal transplant patient receiving cyclosporine. *Transplantation* **49** : 1190-1192, 1990.
- 14) Textor, S. C., Burnett, J. C., Romero, J. C., Canzanello, V. J., Taler, S. J., Wiesner, R., Porayko, M., Krom, R., Gores, G. and Hay, E. : Urinary endothelin and renal vasoconstriction with cyclosporine or FK 506 after liver transplantation. *Kidney Int.* **47** : 1426-1433, 1995.
- 15) 両角國男, 山口 裕 : CYA 慢性毒性(血管・間質と糸球体)毒性。シクロスポリンと腎(両角國男, 山口裕編)。東京医学社, 東京, p76-101, 1991.
- 16) Karet, F. E., Kuc, R. E. and Davenport, A. P. : Novel ligands BQ 123 and BQ 3020 characterize endothelin receptor subtypes ET_A and ET_B in human kidney. *Kidney Int.* **44** : 36-42, 1993.
- 17) Benigni, A., Zoja, C., Corna, D., Orisio, S., Longaretti, L., Bertani, T. and Remuzzi, G. : A specific endothelin subtype A receptor antagonist protects against injury in renal disease progression. *Kidney Int.* **44** : 440-444, 1993.