The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	慢性腎不全時におけるmethylguanidineの研究 : 特にmethylguanidineの測定法とその臓器内濃度の検討
Author(s)	椿原, 美治
Citation	大阪大学, 1978, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/32126
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【11】

氏名・(本籍)	椿原美治（つばきはらよしはる）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 4232 号
学位授与の日付	昭和53年3月25日
学位授与の要件	医学研究科 内科系 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	**慢性腎不全時におけるmethylguanidineの研究** **—特にmethylguanidineの測定法とその臓器内濃度の検討—**
論文審査委員	(主査) 教授 阿部 裕 (副査) 教授 田中 武彦 教授 中川 八郎

論文内容の要旨

〔目　的〕

慢性腎不全（CRF）患者では，methylguanidine（MG）の血清濃度が上昇する。また，MGは投与実験及び，in vitroでの実験で種々の毒作用を有することから，uremic toxinとして注目されている。

しかし，従来の測定法には問題点が多く，また現在承認されている血清MG濃度はin vitroでの毒性発現濃度に比し低いことから，その毒性に対し疑問が生じている。また，MGはcreatinine（Cr）駆物質として生成することが知られているが，CRF時のMG生成経路には不明な点が多い。

そこで私は，まずSteinらの方法を一部改良しMG測定法を確立した。次いで，実験的CRF ratを作製，臓器内MG濃度を測定し，本物質のuremic toxinとしての妥当性を検討した。さらに，MG生成経路についてCRF時のArg代謝との関連から検討を加えた。

〔対　象〕

1）血清Cr値（S-Cr）平均7.5±0.6（SE）mg/dℓ非透析CRF患者40例，健常人9名。

2）Platt法により作成したCRF ratからS-Crのほぼ等しい（3.1±0.2mg/dl）ratを選び，健常ratと共に，3群（n＝5～6）に分け，22%蛋白標準飼料（A食）無蛋白飼料（B食）40%蛋白飼料（C食）で2週間飼育し大動脈より脱血後，肝（L），腎（K），大腸（C），大腿筋（M），脳（B）を採取した。

〔方　法〕

1）臓器からのMG抽出法

血球（ＢＣ）始め各臓器0.5～３gに１％スルホサリチル酸溶液（SSA）４$m\ell/g$を加えhomogenizeし，遠心後上清分離し，沈渣に0.5％SSA３～５$m\ell$を加え同操作を３回繰り返した。

２）ＭＧ測定法

血清（Ｓ），尿（Ｕ）各３～10$m\ell$，及び臓器抽出液をAmberlite CG50 カラムに添加し，0.2 N NaOH100$m\ell$で洗浄後，１N NaOHにて５$m\ell$づつ分画採取した。各分画は演者が改良した坂口反応にて呈色させ，515nmにて比色定量した。また，濾紙電気泳動法にてＭＧ分画は他の坂口反応陽性物質を含まないことを確認した。坂口反応の改良点は，thymine及びureaを添加し，低温下で時間条件を一定にすることで，安定性及び感度が著しく向上した。本法の回収率は94.4～99.8％，感度は２μg以下であった。

３）ＣＲＦ時のＭＧ生成経路検討

ⅰ）健常ratのＳ-CrをCRF ratより高値に保つべく，0.5MCrを８時間毎に３，２，２$m\ell$づつ皮下投与した。

健常rat及びCRF ratに0.5M Arg５$m\ell$の腹腔内投与を行ない各U-MGの測定より生成量を比較した。

ⅱ）男子ＣＲＦ患者２例（Ｓ-Cr 7.0，10.6mg/dl）に25 atom％excess amidino^{15}N Arg ３gを経口投与し，U-CrとU-MGの^{15}Nexcessを経時的に測定した。

〔成　　績〕

１）CRF患者のＳ-MG，U-MGは，健常人に比べ有意（$P<0.05$）に高値である。Ｓ-MG，U-MGはＳ-Crと正相関する。しかし，Ｓ-Crが７mg/dl以上の重症例では特に両者の上昇が急で，ＭＧ生成の促進が推測される。

健常人のBC-MGは，Ｓ-MGより低値であるが，CRF患者BC-MGは，Ｓ-MGより有意に高値（平均2.6倍）で，in vitroでの毒性発現濃度（10^{-3}～10^{-4}M）に匹敵する。

２）CRF ratのＳ-Crは，A，B，Ｃ食群間で差はなかった。Ａ食CRF ratのＳ，BC，L，M，C，K，B，Uの各ＭＧは，Ａ食健常ratよりいづれも有意に高値であった。また，Ａ食CRF ratのBC，L，M，C，Kの各ＭＧは，Ｓ-MGの３～５倍でありin vitroでの毒性発現濃度に匹敵する。中でもL-ＭＧは，他臓器より有意に高値である。一方B-MGはＳ-MGより有意に低値であった。

Ｂ食CRF ratでは，Ａ食CRF ratに比べB-MGの低下は有意でなかったが，他のＭＧはすべて有意に低下した。また，L-MGは，M-MG，C-MGより有意に低値であった。

Ｃ食CRF ratでは，Ａ食CRF ratに比べL-MGの上昇のみ有意で，他のＭＧは不変ないし上昇傾向にあった。

３）Cr投与健常ratのU-MGは，投与前より有意に増加するが，CRF ratのU-MGよりは有意に低値で，ＭＧ生成増加はＳ-Cr上昇のみでは説明できない。

Arg投与健常ratのU-MGは，投与前と有意差はないが，Arg投与CRF rat U-MGは，投与前よりさらに有意に増加した。

４）^{15}N Arg投与後のU-Cr，U-MGの^{15}Nexcessの経時的変動は，２例共ほぼ同様であった。すな

わち，U-Crの^{15}Nexcessは1相性に上昇するが，U-MGの^{15}Nexcessは2相性に上昇し，その第1相は，U-Crの^{15}Nexcessより早く出現し，しかもより高値を呈する。以上より，第1相のU-MGの^{15}NexcessはCr由来とは考え難い。

〔総　　括〕

1）Stein法を一部改良し，感度，特異性，再現性に優れたＭＧ測定法を確立した。

2）ＣＲＦ時にはＭＧ生成が増加する。また，臓器内ＭＧ濃度は血清濃度の数倍に達し，in vitroでの毒性発現濃度に匹敵することから，uremic toxinとしての重要性を確認した。

3）ＣＲＦ時には，Crを前駆物質とするＭＧ生成以外に，特異的なMG生成経路が存在することを確認した。また，この経路はＣＲＦ時に存在する肝のArg代謝異常と関連深いことが推測される。

論文の審査結果の要旨

methylguanidine（ＭＧ）は尿毒症物質として注目されているが，不明な点が多い。

本研究はまず高感度で信頼性の高いＭＧ測定法を確立した。次いでＭＧの臓器内濃度に着目，実験的慢性腎不全ratを作製し，各臓器内濃度が血清濃度の数倍に達していることを見い出した。さらにＭＧの産生経路について検討し，従来考えられてきた経路以外の新経路が存在することを始めて明らかにした。

本研究はＭＧの尿毒症物質としての妥当性を再確認させるとともに，尿毒症の発現を阻止する保存療法開発の可能性を示すもので，臨床的にも意義深い。