



| | |
|--------------|---|
| Title | 人単離糸球体のhydroxyproline量を指標とした糖尿病性腎症の研究 |
| Author(s) | 吉田, 途男 |
| Citation | 大阪大学, 1981, 博士論文 |
| Version Type | |
| URL | https://hdl.handle.net/11094/32862 |
| 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

| | |
|---------|--|
| 氏名・(本籍) | 吉 田 達 男 |
| 学位の種類 | 医 学 博 士 |
| 学位記番号 | 第 5 1 5 6 号 |
| 学位授与の日付 | 昭 和 56 年 2 月 5 日 |
| 学位授与の要件 | 学位規則第 5 条第 2 項該当 |
| 学位論文題目 | 人単離糸球体のhydroxyproline量を指標とした 糖尿病性腎症の研究 |
| 論文審査委員 | (主査) 教 授 阿 部 裕 (副査) 教 授 北 村 旦 教 授 垂井清一郎 |

論 文 内 容 の 要 旨

〔目 的〕

糖尿病患者にみられる腎糸球体基底膜の肥厚の程度の検索には、光学顕微鏡や電子顕微鏡を用いた形態学的方法が一般に用いられている。しかし、形態学的方法での基底膜肥厚の定量には煩雑な計測が必要であり、また少数の腎糸球体しか処理し得ない欠点がありサンプリングによる偏りを生じる可能性が考えられる。

糸球体基底膜はコラーゲン部分と非コラーゲン糖蛋白から成っている。著者は、コラーゲンに特異的と考えられる hydroxyproline 量を定量とすることにより、糸球体基底膜肥厚の程度を客観的に、化学的に判定しうることに着目し、糖尿病患者および非糖尿病患者腎より単離した糸球体の hydroxyproline 量を定量、腎糸球体基底膜肥厚に及ぼす糖尿病の影響を検討し、糖尿病性腎症の病態及び程度判定などの臨床応用に資せんとした。

〔方法ならびに成績〕

対象：腎臓は剖検された30名の非糖尿病患者と41名の糖尿病患者より得られたもので、10%ホルマリン中で室温保存したものをを用いた。なお、10名についてはホルマリン固定前の新鮮検体の一部を-70℃で保存し、残りをホルマリン固定とし、ホルマリン標本使用の妥当性の検討に用いた。

糸球体の分離方法、糸球体径ならびに hydroxyproline 量の測定：0.5-1.0g の腎組織から皮質のみ分離し、穴の径 305 μ の金網上ですりつぶし、穴の径 348 μ 、74 μ の sieve を通し、穴の径 74 μ の sieve 上の組織を集め、最終的な組織浮遊液とした。重力沈降をくり返した後、顕微鏡下で糸球体径を測定した後、実体顕微鏡下で数十ヶの糸球体を分離した。糸球体は乾燥後、加水分解し、減圧乾燥後、微

量定量法で hydroxyproline 量を定量，糸球体一ヶ当りの値として表現した。測定した hydroxyproline が基底膜コラーゲンに由来するか否かを検討するために一部の症例（非糖尿病患者12名，糖尿病患者24名）については水解物を Isoamyl-N(O)-heptafluorobutyryl ester とし，m/e 380 と 594 を捕獲するように chemical ionization（反応ガス isobutane）gas chromatography/mass spectrometry を行い，3-hydroxyproline と 4-hydroxyproline の比を求めた。

糸球体の形態学的評価：荒木の報告（糖尿病18：164，1975）に基づき，びまん性病変及び結節性病変の程度に応じて各糸球体に 0 から 3 の評価点を与え，各症例20個の糸球体の平均評価点を両項目について算出し，測定した糸球体 hydroxyproline 量との相関を検討した。

成績：1）ホルマリン固定腎より得た糸球体の hydroxyproline 量は，同一腎の新鮮標本より得た糸球体の hydroxyproline 量と有意差はなく，ホルマリン固定腎から得た糸球体使用の妥当性を確認し得た。

2）3-hydroxyproline と 4-hydroxyproline の比 (R) は非糖尿病患者； 0.089 ± 0.032 (mean \pm SD)，糖尿病患者； 0.079 ± 0.019 であり，次式により，糸球体 hydroxyproline 量の 77—88% は基底膜コラーゲン由来と推定し得た。

$$\frac{I \times 0.01 + B \times 0.1}{I + B} = R, \quad \frac{I}{B} = \frac{0.1 - R}{R - 0.01}$$

(I：結合組織コラーゲン中の 4-hydroxyproline 量。B：基底膜コラーゲン中の 4-hydroxyproline 量。基底膜コラーゲン及び結合組織コラーゲン中の 3-hydroxyproline/4-hydroxyproline 比をそれぞれ，0.10，0.01 とした)

3）非糖尿病患者の腎糸球体において，年齢33—85歳の間で，糸球体径，hydroxyproline 量に有意の変化を示さなかった。糖尿病患者腎糸球体は，非糖尿病患者のそれに比し，直径の増加 ($217 \pm 15 \mu$ vs. $193 \pm 12 \mu$ ， $P < 0.001$) と，著しい hydroxyproline 量の増加 ($20.0 \pm 11.5 \text{ ng}$ vs. $5.7 \pm 1.4 \text{ ng}$ ， $P < 0.001$) を認めた。

4）糸球体 hydroxyproline 量と臨床所見との間には，罹病年数 ($\gamma = 0.313^*$)，収縮期血圧 ($\gamma = 0.583^{**}$)，拡張期血圧 ($\gamma = 0.460^*$)，尿蛋白 ($\gamma = 0.780^{**}$)，BUN ($\gamma = 0.606^{**}$)，眼底所見 ($\gamma = 0.640^{**}$)，空腹時血糖 ($\gamma = 0.347^*$)，($^*P < 0.05$ ， $^{**}P < 0.01$) と有意の相関を認めた。治療別では，食事療法群，経口血糖降下剤群，インスリン療法群の順で糸球体 hydroxyproline 量の増加する傾向をみとめた。

5）糸球体 hydroxyproline 量と組織学的に検索したびまん性病変，結節性病変の程度の間には有意の相関を認めた。(それぞれ $\gamma = 0.726^{**}$ ， $\gamma = 0.673^{**}$)

〔総括〕

1）単離腎糸球体の hydroxyproline 量を定量することにより，糸球体基底膜物質蓄積の程度を化学的に定量することが可能となった。

2）糖尿病患者腎糸球体は，非糖尿病患者腎糸球体に比し，径の増加と著しい hydroxyproline 量の

増加を認めた。

3) 糸球体 hydroxyproline 量は、臨床的に糖尿病腎症の重症度に比例しており、また血糖コントロール状態や治療法別からみた糖尿病の重症度にも関連していた。

以上、本方法は、新鮮腎はもとより微量の腎生検資料を用いての検討も可能であり、糖尿病性腎症の程度判定など臨床的に有用な方法であると考えられた。

論文の審査結果の要旨

糖尿病性血管合併症、中でも腎症は予後を左右し、臨床上極めて重要である。その程度判定には、従来、形態学的方法が用いられてきたが、本論文では、単離腎糸球体基底膜コラーゲン量を hydroxyproline を指標として、特異的に定量した。

本指標は、臨床所見からみた、腎症の重症度、組織学的びまん性病変の程度とよく相関すると共に、結節性病変の有無判定をも可能とした。

本方法は、正確に、かつ微量標本でも判定可能であり、臨床的に糖尿病性腎性を評価するのに極めて有用と考えられ、学位論文に価する。