

特 集

腎阻血における epidermal growth factor (EGF) の関与

出浦照國* 平良隆保*
吉村吾志夫* 越川昭三*

緒 言

上皮細胞成長因子 (epidermal growth factor; EGF) は、細胞の増殖、分化に関わるポリペプチドであり¹⁾、その大部分が腎由来であり²⁾、また腎のさまざまな機能と密接に関連している³⁾ ことが知られている。虚血による腎障害においても、障害の発生、障害細胞の回復などに EGF が関与するであろうことは容易に推定され、急性腎不全の臨床および動物モデルでその関与や腎内の局在について検討されている⁴⁾。

そこで今回、ヒトの臨床において見られる急性腎不全の経過で、尿中 EGF がどのような変化をとり、これが動物の実験モデルにおいても同様の変化を示すか否か、さらに、EGF が腎組織内でどのような分布を示し、阻血によってどのような影響を受けるか検討した。また、EGF の投与が阻血による実験的急性腎不全に対して抑制効果をもつか否か、この投与された EGF が腎組織エネルギー量にどのような影響を与えるかについて検討した。

対象と方法

1. 急性腎不全患者の尿中 EGF 排泄

1990年に昭和大学藤が丘病院救急センターに入院した急性腎不全患者16例および対照として劇症肝炎5例、脳出血6例、外傷6例および健康者12例を対象とした。

*昭和大学藤が丘病院内科

尿中 EGF の測定は、部分尿 10 ml を用い、radioimmunoassay 法により行なった。尿サンプルの採取は急性腎不全極期 (入院時)、および回復期に行なった。

2. 阻血後急性腎不全における尿中および腎組織中 EGF 量

Wistar 系雄ラットに pentobarbital 麻酔下で右腎摘出後左腎に40分間クランプをかけ、解除後 12, 24, 48, 96時間毎に尿サンプルを採取、また各時間ごとに腎を摘出した。尿および腎組織それぞれについて EGF 量を測定した。

3. EGF の腎内局在の検討

雄の New Zealand White rabbit に pentobarbital 麻酔下に右腎摘出、左腎動脈に40分間クランプをかけ、クランプ解除 3, 6, 24, 48, 96時間後に腎を摘出し、光学顕微鏡的観察を行なうと同時に EGF に対する免疫組織学的検討を行なって、尿細管壊死の範囲と、EGF の局在とその程度について検討した。

4. 阻血後急性腎不全モデルに対する EGF 投与の影響

Wistar 系雄ラット10匹を用い、pentobarbital 麻酔下に右腎摘出、左腎動脈に40分間クランプをかけることによって阻血後急性腎不全を作成した。EGF 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ をクランプ解除直後、6時間後、12時間後の3回皮下注射した。クランプ解除24時間後の腎障害の程度を血清クレアチニン、クレアチニンクリアランス、 FE_{Na} で検討し、生理食塩水投与によるコントロール群と比較した。また腎組織を光学顕微鏡的に検討した。

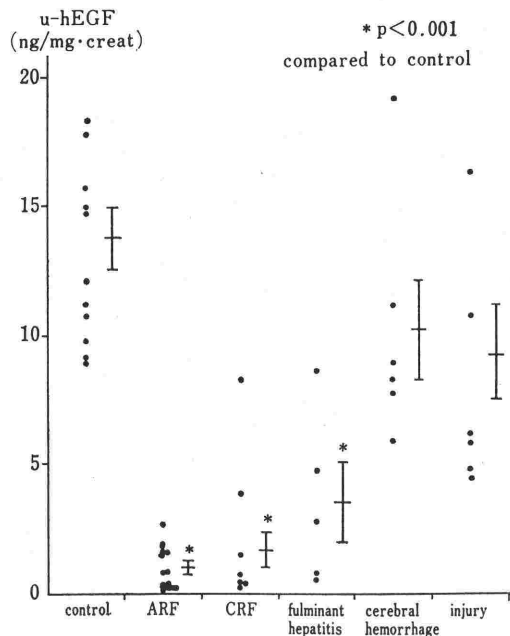


Fig. 1 Urinary human EGF levels in patients with emergency diseases (n=52)

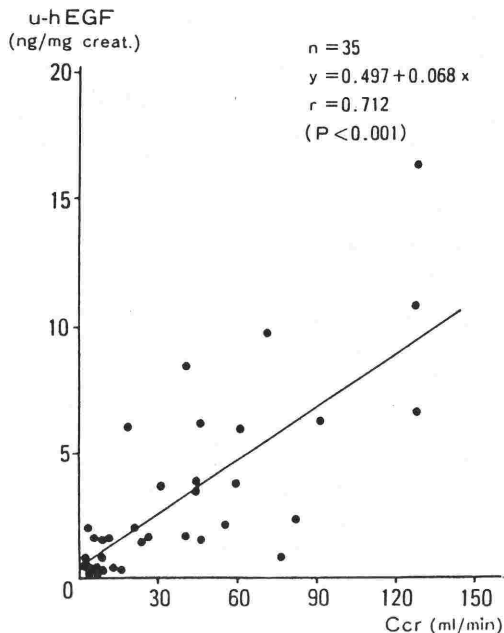


Fig. 2 Correlation between urinary human EGF levels and creatinine clearance (n=35)

5. EGF 投与の腎組織エネルギー量への影響

Wistar 系雄ラットに対して pentobarbital 麻酔下に EGF 50, 100, 200 μg を頸静脈より静注し, 40分後腎摘し, これを液体窒素により瞬間凍結した. Luciferin-luciferase 法により腎組織 ATP, ADP, AMP を測定した.

成績

1. 急性腎不全患者の尿中 EGF 排泄

図1に臨床例における尿中 EGF のレベルを示す. 急性腎不全の尿中 EGF 値は 0.98 ± 0.20 ng/mg creat であり, 脳出血例の 10.28 ± 1.91 ng/mg creat, 外傷の 9.30 ± 1.86 ng/mg creat, 健常者の 13.74 ± 1.18 ng/mg creat と比較して著しい低値を示していた ($p < 0.001$). また図2に見るように, 尿中 EGF はクレアチニンクリアランスと正の相関関係にあった. また図3に見るように, この低下した尿中 EGF 値は急性腎不全回復期には 6.10 ± 0.73 ng/mg creat へと著しい上昇を示していた ($p < 0.01$).

2. ラットの尿中および腎組織中 EGF 濃度

図4, 5に阻血後急性腎不全を起こしたラットの尿中 EGF 排泄と腎組織中 EGF 量の経時的変

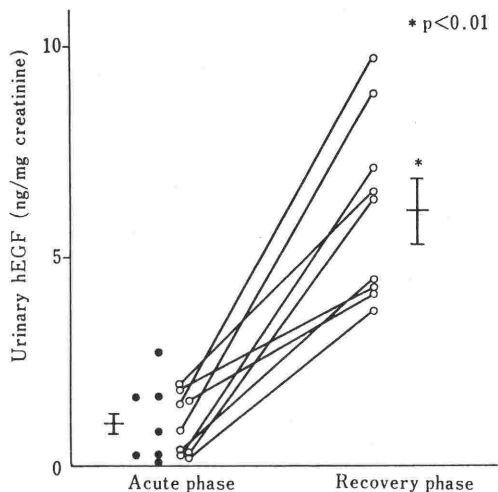


Fig. 3 Urinary human EGF levels during acute and recovery phases of renal failure. Open symbols represent patients who recovered and closed symbols, patients who died.

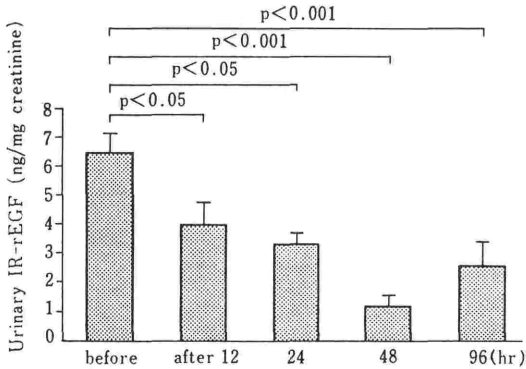


Fig. 4 Urinary rat-EGF levels in postischemic acute renal failure

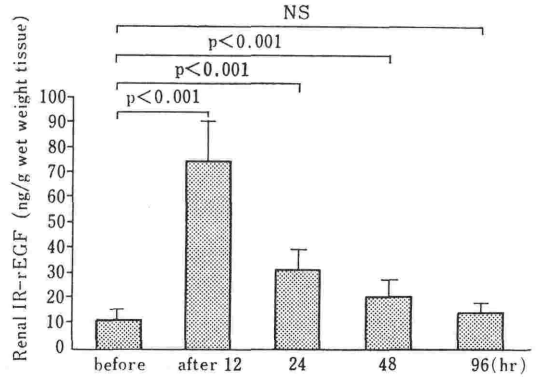


Fig. 5 Renal rat-EGF levels in postischemic acute renal failure

Table 1 Immunohistochemical localization of EGF in rabbits with post-ischemic acute renal failure

	Cr (mg/dl)	necrosis ranking	EGF in proximal tubules	n
pre	1.6±0.1	0	-	7
post 3 hr	*3.1±0.2	*10.2	±	7
6 hr	*3.6±0.2	*11.0	1+	7
24 hr	*5.5±1.1	*14.5	2+	7
96 hr	1.6±0.2	8.0	-	7

* p<0.01 vs pre value

化を示す。尿中 EGF は阻血前 6.51±0.51 ng/mg creat であったものがクランプ解除後徐々に低下し、48時間後には 1.26±0.36 ng/mg creat へと著しい低下をみた (p<0.001)。また腎組織中 EGF は、阻血前 11.21±3.17 ng/gKW であったものが阻血解除後12時間で 74.24±3.17 ng/gKW へと著しい増加を認め (p<0.001)、その後経時的にコントロールのレベルへと減少した。

3. EGF の腎内局在

表1は経時的に見た腎組織障害度と近位尿細管細胞内の EGF 局在である。尿細管壊死が明らかに見られる、クランプ解除3時間後には、健常時には陰性であった EGF が出現し、壊死のランクが広がるにつれて陽性度が強くなり、その程度がもっとも強い24時間後には 2+ となっていた。

4. 急性腎不全に対する EGF 投与の影響

図6, 7にそれぞれクランプ解除24時間後の血清クレアチニンおよびクレアチニンクリアランスの変化を示す。血清クレアチニンはコントロール

群で 2.4±0.8 mg/dl まで上昇したのに対して、EGF 投与群では 1.2±0.2 mg/dl へと著しく抑制されていた (p<0.03)。クレアチニンクリアランスもコントロール群で 0.19±0.1 ml/min まで低下していたが、EGF 投与群では 0.3±0.2 ml/min まで低下したにとどまり、両群間で有意の差を認めた (p<0.02)。FE_{Na} もコントロール群の 1.03±0.7% に対して EGF 投与群で 0.8±0.7% と EGF が有意にその上昇を抑制していた (p<0.05)。

5. EGF の腎組織エネルギー量に与える影響

図8にみるように、腎組織内 ATP は EGF 投与により 10.0±1.2 μg/mg prot から 8.0 μg/mg prot へと有意の低下を見た (p<0.01)。Total nucleotide も EGF 投与により、control の 12.8±0.8 μg/mg prot から 10.0±0.4 μg/mg prot へと著明な低下を認めた (p<0.01)。ADP および AMP については EGF 投与により明らかな変化を認めなかった。なお、EGF 投与による

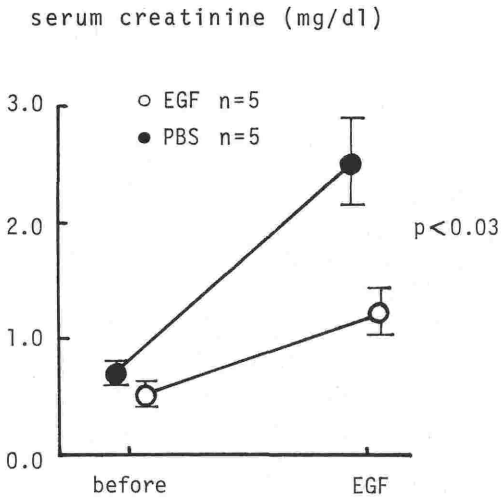


Fig. 6 Effect of EGF on serum creatinine level in post ischemic acute renal failure

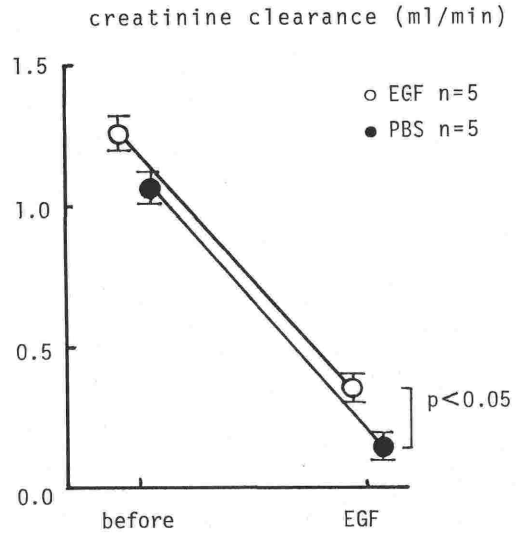


Fig. 7 Effect of EGF on creatinine clearance in postischemic acute renal failure

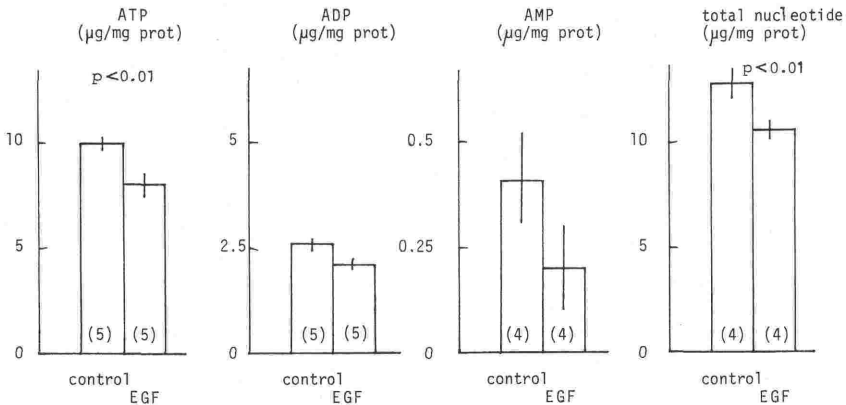


Fig. 8 Effect of EGF on renal nucleotides

腎組織内 ATP の低下は投与 EGF の投与量により異なり, dose dependency が確認された。

考 察

EGF は腎尿細管特に Henle 上行脚および遠位尿細管細胞内で産生される²⁾⁵⁾と考えられているが, その生理的意義は明らかではない。近年, 急性腎不全の主たる病変の場が尿細管であること, および EGF が尿細管細胞再生に関わる可能性を示唆する成績があることなどから, EGF と急性腎不全との関わりが注目されている¹⁾⁶⁾⁷⁾。

急性腎不全の極期に尿中 EGF 排泄が著しく低

下⁴⁾⁸⁾, その回復に応じて尿中排泄が増加する⁸⁾という現象はヒト, ラットともに共通にみとめられた。この現象は急性腎不全の回復状況を知る指標として有用であるといえる。またこの指標は血清クレアチニン値と正の相関, FE_{Na} と負の相関関係にある⁸⁾ことから, 障害された腎機能の程度を反映しているともいえる。しかも尿中 NAG 値, 尿中 β_2 microglobulin 値が正常値を示している段階で尿中 EGF が低値を示している例がある⁸⁾ことは, 尿中 EGF は尿細管障害を他の指標よりも鋭敏に反映している可能性を示唆している。

急性腎不全で尿中 EGF が低値をとる理由はこ

れまでの成績からは明らかではない。通常尿細管壊死は近位尿細管を中心に生ずるが、中心的な EGF 産生部位である Henle 係蹄と遠位尿細管も近位尿細管の壊死に引き続いて血流障害、円柱形成などにより強い変性におちいることから、同部位での EGF 産生が著しく障害されるという可能性も考えられる。腎組織中の EGF 免疫活性が、急性腎不全の極期である阻血解除24, 48時間後に著しく低下しているのに対して、まだ組織学的にび慢性に尿細管壊死を認めていない12時間でまだ高値を示していることは、このステージではまだ代償性に EGF 産生が亢進していると考えられることもできる。

EGF は近位尿細管細胞の分裂を刺激する因子の一つとされている¹⁾。つまり、尿細管細胞の再生・修復に関わっていると考えられている。これまでに、虚血後急性腎不全ラットに EGF を投与して尿細管上皮細胞の再生が促進されることを証明した成績がある⁹⁾。また塩化第二水銀モデルでも同一の成績が報告されている¹⁰⁾。今回の成績でも、血清クレアチニン、クレアチニークリアランス、FE_{Na} など腎機能を指標としても、明らかに EGF 投与が阻血後急性腎不全を抑制している。EGF による細胞の再生修復機能が働いたものと考えられるが、その機序は不明である。腎組織における EGF の immunolocalization が健常時 Henle 係蹄上行脚と遠位尿細管の細胞に認められたものが、阻血によりその distribution が変化して近位尿細管細胞にも認められるようになり、しかも尿細管壊死の範囲が広がるにつれて強度に認められるという事実から、正常の近位尿細管細胞ではほとんど認められない程度の EGF が必要に応じて、高度に分泌されその修復に働いていることを示唆している¹¹⁾。

EGF を静脈内投与することによって腎組織の ATP および total nucleotide が減少したことから、細胞のエネルギー代謝を抑制することによって細胞障害を抑制し、かつ再生を促進している可能性も考えられる。

結 論

外因性に投与した EGF が阻血後急性腎不全の発病を著しく抑制したことから、壊死の程度に応じて健常時見られない壊死部近位尿細管細胞内に

EGF の産生を認めたことから、腎の阻血により尿細管壊死を生ずると、その程度に応じて近位尿細管内の EGF 産生が高まり、尿細管壊死の防止と修復に関わっている可能性が示唆された。

また、本来の EGF 産生部位である遠位尿細管は上流の近位入細管壊死の影響で障害を受け、EGF 産生が障害され、尿中への EGF 排泄を著しく低下させているものと考えられる。急性腎不全におけるこの尿中 EGF の低下はまた腎不全の程度と相関しているため、急性尿細管壊死の発症、修復を知る有用な指標となり得ると考えられる。

EGF の尿細管壊死抑制の機序は不明であるが、尿細管細胞内のエネルギー抑制が部分的に関与している可能性がある。

文 献

- 1) Cohen, S.: Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem* 237: 1555, 1962.
- 2) Rall, L. B., Scott, G. I. et al.: Mouse prepro-epidermal growth factor synthesis by the kidney and other tissues. *Nature* 313: 228, 1985.
- 3) Safirstein, R., Zelent, A. Z., Price, P. M.: Reduce renal prepro-epidermal growth factor mRNA and decreased EGF excretion in ARF. *Kidney Int* 36: 810, 1989.
- 4) 平良隆保, 出浦照國, 吉村吾志夫, 越川昭三: 急性腎不全とサイトカイン. *腎と透析* 31: 109, 1991.
- 5) Salido, E. C., Yen, P. H., Shapiro, L. J. et al.: In situ hybridization of prepro-epidermal growth factor mRNA in the mouse kidney. *Am J Physiol* 256: F632, 1989.
- 6) Savage, C. R., Inagami, T., Cohen, S.: The primary structure of epidermal growth factor. *J Biol Chem* 247: 7612, 1972.
- 7) Carpenter, G., Cohen, S.: Epidermal growth factor. *Ann Rev Biochem* 48: 193, 1979.
- 8) 平良隆保, 吉村吾志夫, 飯塚一秀, 岩崎滋樹, 出浦照國, 越川昭三: 急性腎不全における尿中 human epidermal growth factor 測定の臨床的意義. *日腎誌* 34: 191, 1992.
- 9) Humes, H. D., Cieslinski, D. A., Coimbra, T. M. et al.: Epidermal growth factor enhances renal tubule cell regeneration and repair and accelerates the recovery of renal function in postischemic acute renal failure. *J Clin Invest* 84: 1757, 1989.
- 10) Coimbra, T. M., Cieslinski, D. A., Humes, H. D.: Epidermal growth factor accelerates renal repair in mercuric chloride nephrotoxicity. *Am J Physiol* 259: F438, 1990.
- 11) Nonclercq, D., Toubeau, G., Lambricht, P. et al.: Redistribution of epidermal growth factor immunoreactivity in renal tissue after nephrotoxin-induced tubular injury. *Nephron* 57: 210, 1991.