

Diamox 投与による尿所見の変化について

金沢大学医学部第1生理学教室(主任 齋藤教授)

荻 野 修

(昭和32年1月29日受付)

Changes in Urine Compositions following the Administration of Carbonic Anhydrase Inhibitor, Diamox

Osamu Ogino

1st Department of Physiology, School of Medicine, Kanazawa University
(Director : Prof. Dr. K. Saito)

I 緒 言

1950年 Pitts¹⁾は腎機能の内、電解質代謝に重要な役割を示す酵素、Carbonic anhydrase の存在意義を解明した。即ち、Carbonic anhydrase は尿細管細胞内に於て

$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ なる反応を促進し、生じた H^+ の排泄の代償として尿細管腔より Na^+ の再吸収を来たすと説明した。

2-Acetylamino-1, 3, 4-thiadiazole-5-sulfonamide, Diamox は最も強い Carbonic anhydrase 阻害剤として知られ、その投与によつて Distal tubule への H^+ 分泌の抑制と Na^+ 再吸収の減少を来たし、そのため

に尿遊離酸の急激な低下、水分再吸収の減少がおこる。即ち、尿細管の Local alkalosis を来たすと共に、 Na^+ 再吸収低下のために組織全般の Acidosis を惹起することが推測され、又実験的にも認められている。

2) 3) 4) 5) 6) 7) 8) 9)

著者は、動物(犬)について種々の方法で大量の Diamox を投与し、Carbonic anhydrase の阻害による体液酸塩基平衡の変動を検索し、同時に尿量、尿 HCO_3^- 排泄量、尿 pCO_2 及び滲透圧の変動について観察を試みた。

II 実験方法

実験動物にはすべて雑種の牝犬(10~12kg)を用いた。実験前日の午後1時以後は水分以外何も食物を与えなかつた。

麻酔には Dial-urethane 溶液を用いた。腹腔内に 0.5~0.8cc/kg を注入すると、動物は30分以内に麻酔に陥る。麻酔した犬は、体重測定後実験台に背位に固定した。

採尿は、Nelaton catheter (No. 3~5) を腹腔前壁に開口する外尿道口より膀胱内に挿入して行つた。Catheter を挿入し難い場合には、腔切開術を行い腔腔を拡げて挿入した。挿入した Catheter は皮膚に固定し留置した。Catheter の外端は流動パラフィン下に放置し、膀胱尿が自然に貯溜するようにした。

血液は、股動脈を露出しこれより出る小動脈に注射

針を留置して採取した。採血には、Dead space に2% 蔞酸カリを充し内壁に薄く Vaseline を塗つた 2cc の注射器を用いた。充分に混和後、氷室内に保存し出来るだけ早く測定に供した。

なお採取した尿の一部も注射器内にとつて氷室内に保存し、 CO_2 の脱出を防いだ。

血液の pH 測定は、齋藤・本田¹⁰⁾の微量用ガラス電極法により 37°C にて測定した。

尿の pH 測定は、実験終了後微量用ガラス電極法により 37°C にて測定した。

尿 CO_2 量は、van Slyke and Neil 法¹¹⁾によつて測定した。

尿 pCO_2 は、尿の CO_2 吸収率 α を 0.524 とし、Henderson-Hasselbalch 式を用いて計算した。¹²⁾

尿氷点降下度の測定は 1~2cc の試料で足りる熱電対（銅—コンスタンタン）による測定装置を作製し、これを用いて行つた。

Diamox は中性塩溶液には難溶である。従つて、注入実験に用いる濃度の高い注射液を作るため次のよう

にした。即ち、Diamox 1g を 1.1% Na_2CO_3 30cc に溶解し、その溶液に 0.15N HCl を滴下して結晶の析出し始める前にて止め (pH 8.3~8.6)、これを注射液とした。

III 実験成績

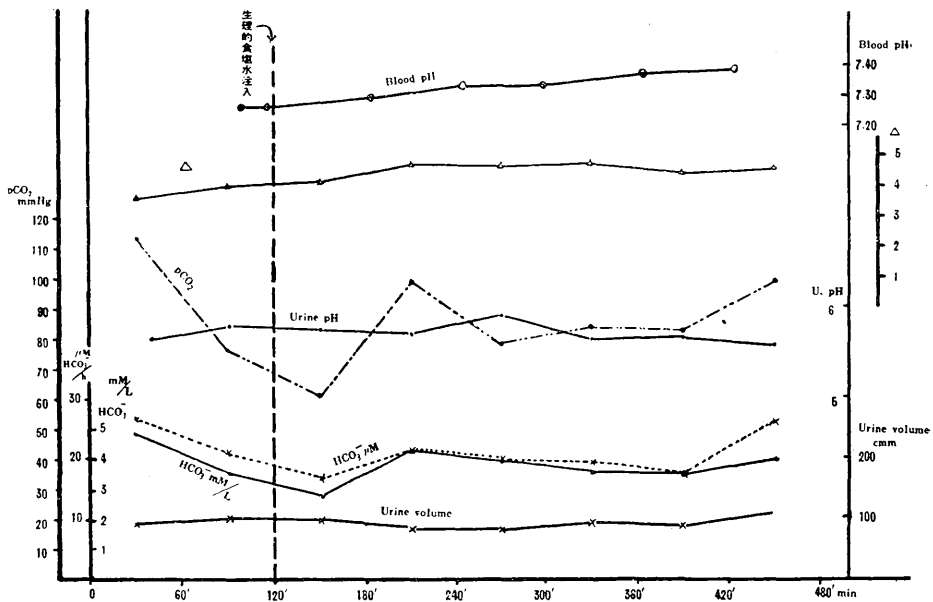
1) Diamox 投与による利尿

Diamox の注入前 120 分より注入後 360 分間にわたり 60 分毎に採尿し、Diamox 注入による血液 pH, 尿量, 尿 pH, 尿氷点降下度 Δ , 尿 HCO_3^- 量, 尿 pCO_2

の変動経過を検討した。

対照実験として、pH 8.4~8.8 の生理的食塩水 30cc を股静脈内に注入した。生理的食塩水を注入した一実験例の成績は図 1 の如くなつた。

第 1 図 生理的食塩水静注時尿変化



即ち、血液 pH は僅かに Alkali 性に傾いた。尿量の変動も少なく、尿 pH の変動も著変がなく、尿氷点降下度 Δ にも大差がなかつた。尿 HCO_3^- 濃度、尿 HCO_3^- 排泄量には大なる変動が認められなかつたが、尿 pCO_2 は 60mmHg より 100mmHg の間で増減した。

即ち、上述の生理的食塩水 30cc の注入は動物体の酸塩基平衡、尿量等に殆んど影響なきことを確かめた。

Diamox を股静脈内に注入した実験成績は第 1 表、そのうち 1 例を図示すれば第 2 図となる。

尿量、尿中 HCO_3^- 濃度、 HCO_3^- 排泄量共に注射直後より急に上昇し、約 1 時間で peak に達し 2 時間後には著しく回復するが、それ以後の回復は緩徐に進行し、注入前の値に比すれば一般に可成り高い水準に留る。尿 pH も亦 Diamox 注入によつて増大し、約 1 時間で peak に達しその値は pH 7.5~7.8 であつた。その後の回復は比較的緩徐にすすむが注入後 6 時間でも一般に回復は完了していない。

Diamox 注入後尿 pCO_2 が著しく急昇するのは、この採尿期間において初め酸性尿を、後には HCO_3^- を多く含むアルカリ性尿が排泄され膀胱内で混合するた

第1表 Diamox 静注による尿所見の変化

	時 間	尿							血 液
		尿量 /min	尿 pH	CO ₂ Vol%	pCO ₂ mmHg	HCO ₃ ⁻ mM/L	HCO ₃ ⁻ μM/hr	氷点降下 度 Δ	血液 pH
1 実験動物 犬 ♀ 12kg Diamox 100mg/kg 注入pH 8.6	分	Cmm							
	0-60	150	6.99	162.1	268.2	73.0	657	2.68	
	60-120	133	6.97	160.2	273.9	72.2	577	3.76	7.39
	120-180	1133	7.88	566.8	135.7	255.3	17362	1.44	7.40
	180-240	450	7.85	714.0	180.9	321.6	8683	2.11	7.40
	240-300	383	7.71	702.1	246.2	316.3	7274	2.34	7.39
	300-360	333	7.68	672.7	248.9	303.0	6061	2.50	7.37
	360-420	233	7.67	666.1	252.6	300.0	4201	2.88	7.36
	420-480	166	7.60	620.1	275.1	279.3	2794	3.12	7.36
480-540	150	7.44	433.6	276.1	195.3	1758	3.63		
2 実験動物 犬 ♀ 11kg Diamox 100mg/kg 注入pH 8.3	0-60	300	5.43	5.2	62.4	2.4	43.9	2.05	
	60-120	166	5.51	6.4	73.5	2.9	28.7	2.24	7.37
	120-180	566	7.44	224.7	142.8	101.2	3441	1.38	7.34
	180-240	258	7.33	137.1	110.1	61.8	957	1.27	7.31
	240-300	111	7.1	76.8	114.3	34.6	242	1.31	7.33
	300-360	111	6.88	63.5	132.1	28.6	200	1.43	7.34
	360-420	133	6.84	55.6	124.4	25.0	200	1.51	7.34
	420-480	141	6.75	51.6	137.6	23.2	198	1.38	
	480-540	100	5.91	7.4	65.7	3.4	20.1	2.13	
3 実験動物 犬 ♀ 11kg Diamox 100mg/kg 注入pH 8.3	0-60	100	5.91	7.4	65.7	3.4	20.1	2.13	
	60-120	116	6.39	17.5	86.6	7.9	55.2	2.22	7.39
	120-180	1316	7.60	307.7	137.4	138.8	10979	0.89	7.37
	180-240	988	7.75	425.0	135.3	191.4	11294	1.03	7.34
	240-300	600	7.78	571.9	170.1	257.6	9274	1.36	7.36
	300-360	525	7.77	574.8	172.9	258.9	8155	1.55	7.33
	360-420	411	7.76	562.1	176.5	253.2	6330	1.58	7.33
	420-480	300	7.69	542.9	198.7	244.6	4402	1.79	7.36
	480-540	266	7.50	425.4	238.9	107.6	1722	2.13	

め、HCO₃⁻ が酸で分解されて CO₂ となり特に顕著な pCO₂ の上昇を来たすものと考えられる。

このように Diamox の注入により大量の HCO₃⁻ が排泄される結果、体液は Acidosis に傾き血液 pH は徐々に低下する。その程度は -0.05pH 程度で大きくはないが、確実に認められる。

尿の滲透圧の変動は尿量の変動と逆向きに略平行する。しかし乍ら血漿の滲透圧より更に低くなる実験例はなかつた。

2) Diamox 経口投与実験

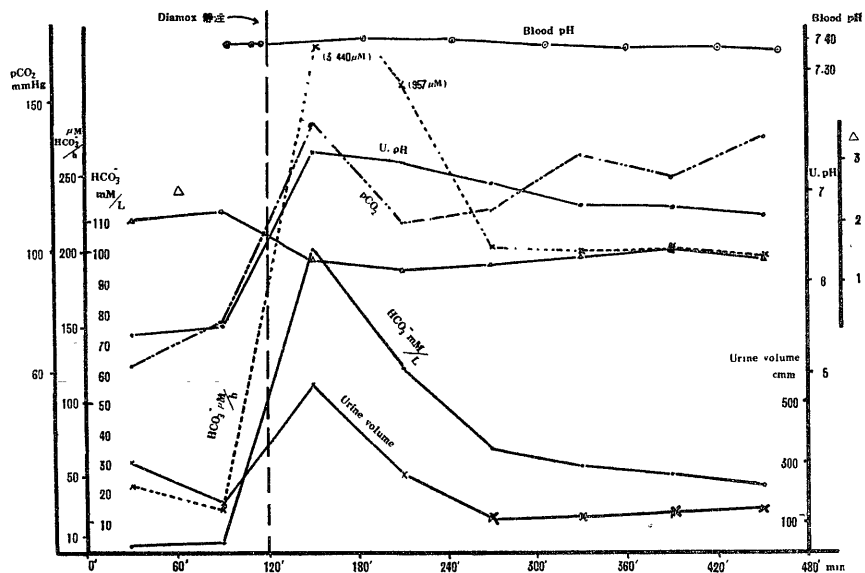
Diamox 100mg/kg を水 300cc と共に胃管を用いて麻酔犬に投与し、その後7時間にわたり1) 実験と同様、尿の諸性状及び血液 pH に現われる変化を観察し

た。対照として同一の犬に NaHCO₃ 8.4g を 300cc の水と共に同様の方法で投与した場合の所見を求めた。その一実験例が第3・4図で示される。

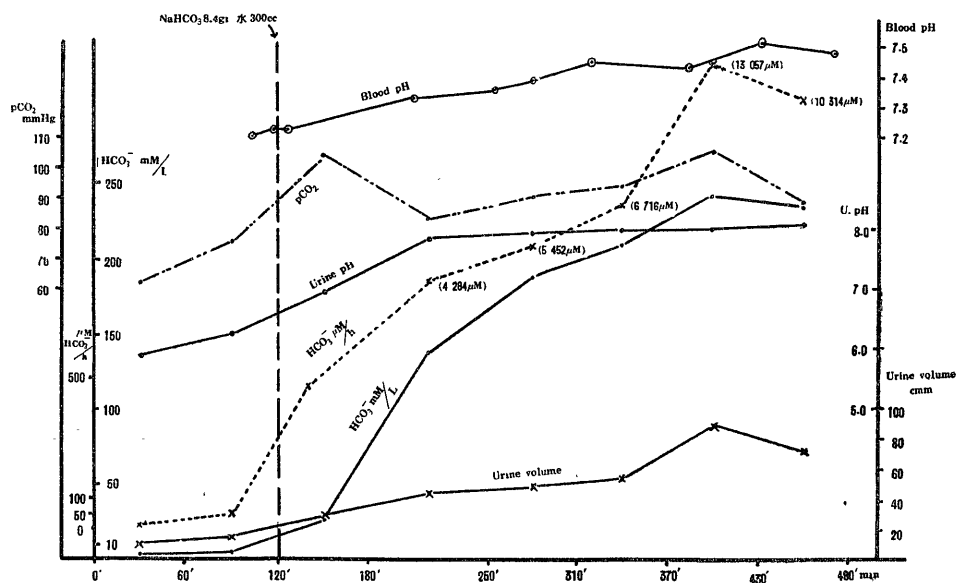
NaHCO₃ 経口投与の実験を対照とした理由は、この場合にも Diamox 投与の場合にも Alkaluria を来たすが、その発現機序の異なることは衆知のことであり、同じような Alkaluria においてもその発現機序の相違により尿の pCO₂, HCO₃⁻ 排泄量等に相違が認められるかどうかを確かめたかつたからである。この問題に関する考察は考按で述べる。

NaHCO₃ 投与においては Alkalosis は投与後間もなく認められ、次第にその度を増してゆくが、尿における変化は Diamox の場合と異なり一般的に漸進的

第2図 Diamox 静注時尿変化



第3図 NaHCO₃ 投与実験

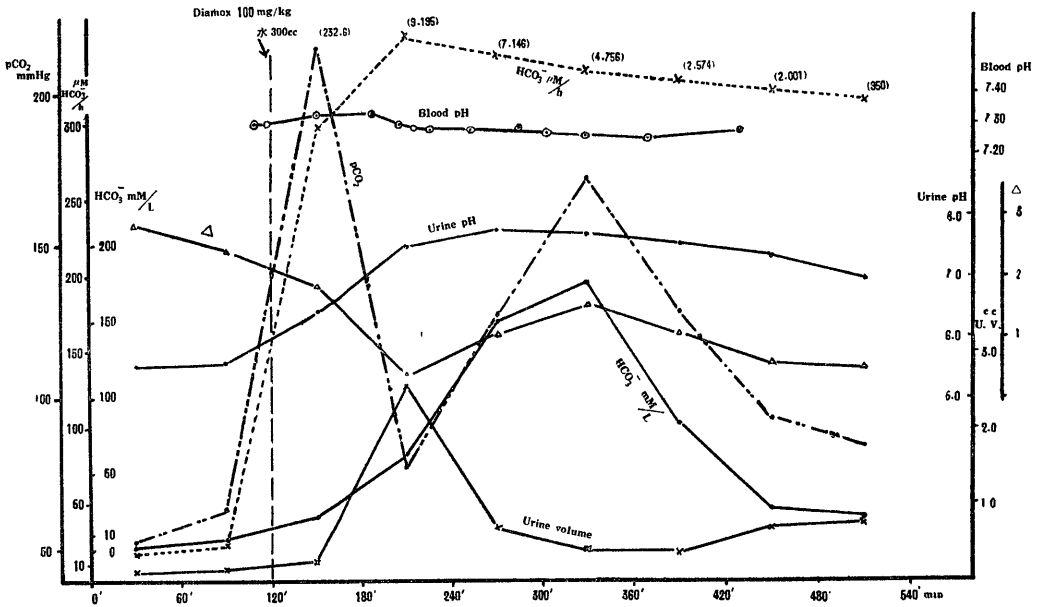


である。即ち、尿量、尿 pH、 HCO_3^- 濃度、 HCO_3^- 排泄量等は、投与後 6 時間にわたって漸増し、回復の徴はこの期間中には認められなかつた。経口的に与えられた NaHCO_3 の排泄には非常に長い時間を要する。尿 pCO_2 のみは投与直後に一つの小さい peak を作る

が、これは前述の通り膀胱において初期に作られた酸性尿と後に作られた Alkali 性尿の混合するためと考えられる。

Diamox 経口投与実験(第4図)の成績は、大体において静脈内注射実験の成績と一致する。ただ Diamox

第4図 Diamox 経口投与



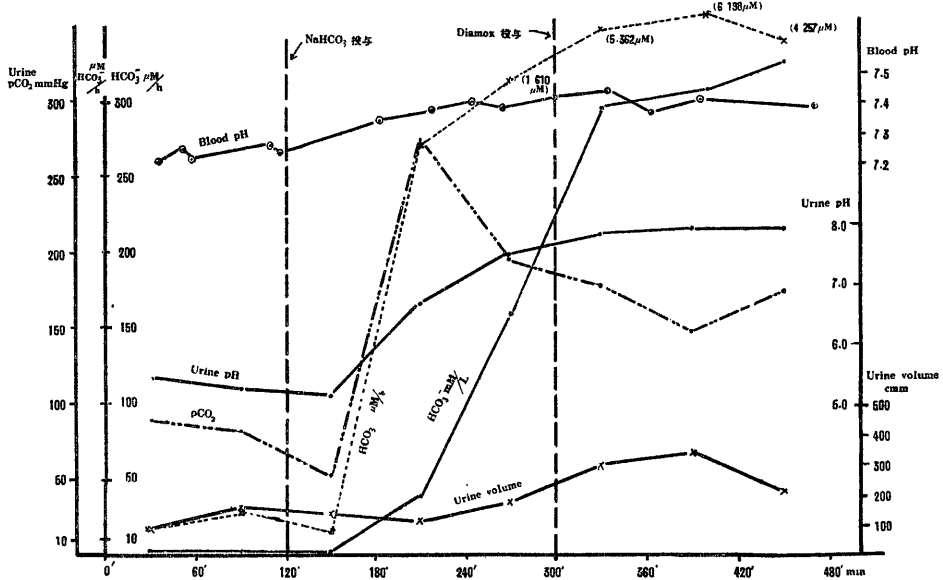
の効果の発現が約1時間おそくなるに過ぎない。即ち、尿量は投与後約1時間より増加し始め、2時間までに最大値に達し3時間で投与前の値に近く回復するが回復は完全ではない。

尿の HCO_3^- 濃度、 HCO_3^- 排泄量、尿 pH の増大は注射実験の場合より緩徐にすすみ、2～3時間で最

高値に達した後漸減するが、7時間後にもなお投与前の値より高い水準に止つていて、尿量の回復過程に比べると遙かに緩徐である。尿 pCO_2 は大きく変動して一定の傾向は認め難い。

尿の滲透圧は投与後7時間は大体において漸減の傾向を示すが、利尿の peak に相当して一つの谷を認め

第5図 NaHCO_3 並びに Diamox 投与実験



る。

血液 pH は投与後 1 時間より低下し始めるがその程度は軽微で -0.05pH の低下に止まる。その回復は 5 時間後にも完全でない。

次に予め Alkalosis の状態を成立せしめ、然る後 Diamox を投与し Carbonic anhydrase 阻害の影響を検討した。その実験例は第 5 図で示される。

NaHCO_3 8.4g を 300cc の水と共に投与すると、血液 pH は上昇し pH 7.23 より 3 時間後には pH 7.42 に達した。そこで Diamox 100mg/kg を水 100cc と共に胃管を用いて投与すると、血液 pH は僅か乍ら低下の傾向を示した。

尿 pH は NaHCO_3 の投与によつて上昇したが、Diamox 投与後ははつきりした上昇を示さず pH 8.0

に止つた。従来の実験より pH 8.0 は尿の Alkalinity の上限界と考えられる。

NaHCO_3 の投与により顕著でなかつた尿量の増加は、Diamox の投与により稍々増加の傾向を示したが、Diamox 単独投与の場合に比して著明でない。

尿の HCO_3^- 濃度、 HCO_3^- 排泄量は尿 pH の上昇と共に著しく、Diamox 投与後は特に顕著で実験終了まで回復しなかつた。又尿 pCO_2 の上昇も尿が Alkali 性になると共に著しい。

以上の如くこれまでの Diamox 投与実験に比して尿量、 HCO_3^- 濃度、 HCO_3^- 排泄量に対する影響は小さい。それは第 4 図の実験と比較しても分る。これは Diamox 投与前に行つた処置、即ち NaHCO_3 投与が Diamox の効果発現を妨げているものと思われる。

IV 考

Diamox (2-Acetyl-amino-1,3,4-thiadiazol-5-sulfonamide) は Carbonic anhydrase の阻害剤として知られている。

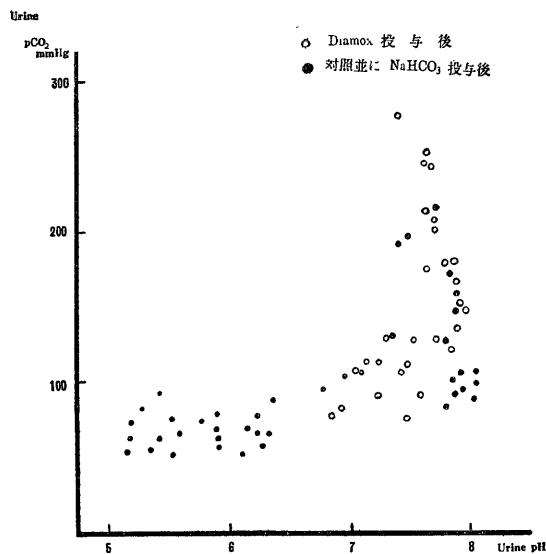
腎尿細管細胞においては $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ なる反応が行われ、これが細胞内の Carbonic anhydrase によつて促進されている。この反応で生じた H^+ は尿細管腔内の糸球体濾液中の Na^+ と交換され、濾液中の Na^+ は細胞内へ回収されると共に H^+ が細胞から管腔内へ排泄され尿の酸性化が行われる。排泄された H^+ は尿細管腔内にある HCO_3^- と反応し CO_2 を発生しこれが尿細管外に拡散脱出する。しかしこの CO_2 発生反応は Carbonic anhydrase を欠く管腔内では速度がおそいため、管内容物は反応が平衡に達するに先立つて尿細管を流れ去り、 CO_2 の拡散脱出の困難な泌尿器管腔内でも CO_2 発生を継続するため、 CO_2 の蓄積によつて尿の pCO_2 は屢々血液の pCO_2 より高い値を示す。Distal tubule に大量の HCO_3^- の負荷された場合、即ち、尿反応が Alkali 性に傾いた場合には特にその傾向が著しい。

このような考察に基けば、Carbonic anhydrase inhibitor の投与は上の反応を全面的に阻止するため、尿の pCO_2 は pH に比して比較的低下することが予想され、従来二三の研究者によつてこれを実証せんと試みられたが成功していない。著者は従来の研究者より多量の Diamox を用い強力に Carbonic anhydrase を阻止してこれを追試した。その成績は第 6・7 図である。第 6 図は尿 pH と尿 pCO_2 、第 7 図は尿 pH と

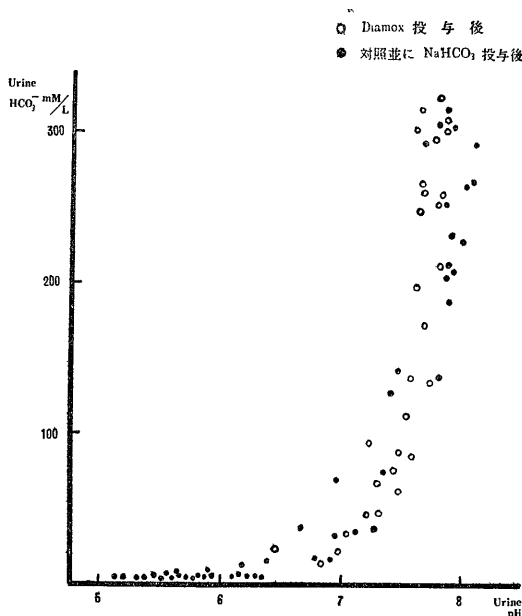
按

HCO_3^- 濃度との関係を、Carbonic anhydrase を阻止した場合と然らざる場合について求めたものであるが、両者の間に差を見出すことはできなかった。

第 6 図 尿 pH と HCO_3^- 濃度との関係



この実験所見を次のように考察する。先ず Diamox 利尿の問題である。一般にはこの利尿は尿細管における Na^+ の再吸収が妨げられるため、これが水を伴つて排泄する結果と考えている。しかし Diamox による Na^+ 再吸収障害が Distal tubule に限られていると仮定すれば、利尿の際尿の浸透圧は対照のそれより

第7図 尿 pH と尿 pCO_2 との関係

高まっている筈である。然るに Diamox 利尿時の尿滲透圧は尿量と略々平行して反対方向に増減することを知った。従つて、1) Proximal tubule においても Distal tubule と同様の機序で $H^+ - Na^+$ 交換が行われ、これによつて HCO_3^- の再吸収が行われている、2) Diamox によりこの Ion 交換が阻害され、 Na^+ 、 HCO_3^- と従つて水の再吸収が妨げられる結果、Distal tubule に負荷される水と $NaHCO_3$ の量が増し、丁

V 要 約

麻酔犬に大量の Diamox を静脈内注射又は経口的に与へた場合おこる尿性状の変化を観察し、その所見より Diamox の作用機序に関して若干の考察を加えた。その要約は次の通りである。

1) Diamox 投与は尿の量、pH、 HCO_3^- 濃度、 HCO_3^- 排泄量を増加し、これに伴つて軽度の Acidosis を来す。Diamox 投与直後の採尿区間において尿の pCO_2 が異常に高まるのは、この区間は尿 pH が著しく増大する時期に当り、初期の酸性尿と後期のアルカリ性尿が膀胱内で混合し、後者の $NaHCO_3$ が前者の酸で分解され CO_2 を発生する結果である。

2) しかし予め動物に $NaHCO_3$ を与え Alkalosis を

度 Osmotic diuresis と同様の機序で利尿を来すため滲透圧の低い尿を排泄するものと考えられる。この所見は Berliner (1949) や Pitts (1952) の所説に支持を与えるものである。

次に Diamox 投与が尿の pH- pCO_2 関係に何ら影響を与え得なかつた点について、一つには Distal tubule の Carbonic anhydrase を十分阻害するに足るだけの Diamox を投与し得なかつたものであろう。

元尿細管の Carbonic anhydrase は、酸性尿に対して細胞より濃度勾配に逆つて H^+ を排出する際に、 H^+ を細胞内で生成するに役立つものであるから、これを阻害すれば H^+ の排泄は著しく減少する。しかし尿が Alkali 性となれば管腔内容の $[H^+]$ は細胞内 $[H^+]$ より低くなるから、細胞からの H^+ 排出は容易となる一方、細胞内での Carbonic anhydrase による H^+ 生成の重要性は減ずるであろう。実験動物に予め $NaHCO_3$ を投与し尿を Alkali 性とした場合には、Diamox を投与しても尿所見の著しい変化が認められなかつたことはこの推測と符合する、

Diamox 投与による尿の Alkali 性化は、Distal tubule の $NaHCO_3$ 負荷の増加と、Carbonic anhydrase の阻害によるものであろうが、一方尿 Alkali 性化により上述の H^+ の拡散性排泄が促進されるため、尿 pCO_2 を高めるに足る量の H^+ が Distal tubule より排泄されるものと考えられる。

一般に Alkali 性尿において pCO_2 が異常に高い事実も同様の立場からよく了解される。

約

おこしておく、上述の Diamox 投与の効果は小さい。

3) Diamox 投与後の利尿の際、尿の滲透圧は減少する。この利尿を一種の Osmotic diuresis と推論した。

4) 尿細管の Carbonic anhydrase を阻害する目的で Diamox を与えても、尿の pH- pCO_2 関係は $NaHCO_3$ 投与時と変らない。

5) これらの実験所見について考察を加えた。

稿を終るに当り、御懇篤なる御指導、御校閲を賜りました斎藤教授に深謝します。

文 献

- 1) **Pitts, R. F.** : Amer. J. Med. **9** ; 356, (1950). 2) **Hartman, A. F. et al** : J. Clin. Invest. **17** ; 465, (1938). 3) **Schwartz, W. B.** : New England J. Med. **240** ; 173, (1949). 4) **Friedberg, C. K. et al** : J. Clin. Invest. **31** ; 1074, (1952).
5) **Gasch, J.** : Klin. Wschr. **31** ; 285, (1953).
6) **Nadell, J.** : J. Clin. Invest. **32** ; 622, (1953). 7) **Friedberg, C. K. et al** : New England J. Med. **248** ; 883, (1953).
8) **Goldston, M.** : J. Clin. Invest. **33** ; 935, (1954). 9) **Alexander, L.** : New England. J. Med. **250** ; 759, (1954).
10) 齋藤幸一郎・本田良行 : 日新医学, **42** ; 167, (1955). 11) **van Slyke, D. D. and Neil** : J. B. C. **61** ; 523, (1924).
12) **Kennedy, et al** : Amer. J. Physiol. **169** ; 596, (1952). 13) **Berliner, R. W.** : Fed. Proc. **11** ; 695, (1952). 14) **Pitts, Sullivan & Dorman** : Kidney p. 125, (1954).