

Tubulomerular Feedback Stimulating Factor Detected in Sera from D-galactosamine Induced Hepatic Failure Rabbit

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/7803

正 誤 表

金沢大学十全医学会雑誌 第94巻 第4号 614-621 (1985)

D-ガラクトサミン肝不全家兔血清中に見いだされる ラット tubuloglomerular feedback 機構刺激因子

金沢大学医学部内科学第一講座 (主任：服部 信教授)

石 田 陽 一

(昭和60年5月29日受付)

誤	正
p. 621 1行目 <u>Tubulomerular</u>	Tubuloglomerular
p. 621 7行目 <u>Tubulomerular</u>	Tubuloglomerular

D-ガラクトサミンシ肝不全家兔血清中に見い出される ラット tubuloglomerular feedback 機構刺激因子

金沢大学医学部内科学第一講座 (主任：服部 信教授)

石 田 陽 一

(昭和60年5月29日受付)

Tubuloglomerular feedback 系は、個々のネフロンにおいて、macula densa 部位へ到達する NaCl 量に応じて糸球体濾過を変化させ、体液の恒常性維持に関与する機構として知られている。この feedback 系を強く刺激する物質が肝不全家兔血清中に存在するか否かをラットを用いて検討した。家兔に塩酸 D-ガラクトサミンを静注して急性肝不全・腎不全を作成した。この急性肝・腎不全家兔および正常家兔の血清をセルロース膜を介して、ブドウ糖液に対して透析し、電解質をほぼ除去した灌流液を作成した。イナクチン麻酔下に Sprague-Dawley 系ラットの近位尿細管終末部に、リンゲル液および家兔血清より作成した灌流液を注入し、腎 Henle 係蹄を順行性に微小灌流した。Tubuloglomerular feedback 系の反応は、灌流速度を 0 から 20 nl/min に増した際の early proximal flow rate (EPFR) の変化により評価した。正常家兔血清の微小灌流時には EPFR の変化はみられなかった。一方、リンゲル液ならびに急性肝・腎不全家兔血清を微小灌流すると、EPFR は有意に減少した。減少率はそれぞれ 28% と 48% で、急性肝・腎不全家兔血清で大であった。以上の結果より、塩酸 D-ガラクトサミンを投与した家兔の血清中には、電解質より強く tubuloglomerular feedback 系を刺激する因子が存在し、糸球体濾過の減少に作用するものと考えられる。つぎに、このような血清因子と菌体内毒素との関係を検討するため、内毒素の主たる活性部位とされる lipid A を用いて、Henle 係蹄を微小灌流した。生理的食塩水あるいは 5% マニトール液による EPFR の変化は、それぞれに lipid A を 100 μ g/ml となるように加えても影響されなかった。したがって、feedback 機構刺激に作用する血清因子は菌体内毒素に関係したものではないと考えられる。

Key words tubuloglomerular feedback, hepatorenal syndrome, micropuncture, D-galactosamine, lipid A.

腎尿細管の Henle 係蹄上行脚の終末部 macula densa は、同一ネフロンの糸球体血管極に接し、傍糸球体装置を形成する。Goormaghtigh¹⁾は、傍糸球体装置の特殊な形態から、尿細管内液に存在するある種のシグナルが macula densa で感知され、その結果、糸球体輸入細動脈の緊張が変化して糸球体濾過が調節されるものと推測した。1965年、Thurau ら²⁾は遠位尿細管から逆行性に macula densa の方向へ 0.15 M の NaCl を注入すると、同一ネフロンに属する近位尿細管が虚脱に陥いることを観察した。その後 Henle 係蹄の微小灌流により macula densa 部位の NaCl 濃度を上昇させると、ネフロン GFR が減少することが証明されてい

る³⁾。これは tubuloglomerular feedback 現象と呼ばれる。その存在は数多くの研究者により確認されている⁴⁾⁻⁸⁾。

Tubuloglomerular feedback 系は体液の恒常性維持に作用するものと考えられているが、急性腎不全の発症にも一部関与すると報告されている⁹⁾⁻¹⁰⁾。すなわち、腎障害により尿細管再吸収能が低下すると、macula densa 部位に到達する NaCl 量が増大する。このため feedback 系が強く刺激され糸球体濾過が低下するものと考えられている。ただし、実際の腎不全では糸球体濾過の著明な低下ないし停止する状態が経験されるが、feedback 系を NaCl シグナルにより最大

Abbreviations: EPFR, early proximal flow rate; GFR, glomerular filtration rate; % Δ EPFR, percent change of early proximal flow rate.

に刺激しても単一ネフロン GFR は高々50%減少するにすぎない^{10,11}。したがって電解質をシグナルとする tubuloglomerular feedback 系の関与のみでは急性腎不全にみられる糸球体濾過の停止ないしこれに近い状態は説明しえないように考えられる。ところが最近、肝腎症候群の患者血清中に feedback 系を異常に強く刺激する因子の存在することが報告され¹²、本症候群での糸球体濾過の著減を feedback 系を介する機序で説明できる可能性が出てきた。そこで今回、実験的に作成した肝・腎不全家兎の血清中にこのような因子が出現するか否かを検討した。さらに、肝腎症候群の原因の1つとして有力視されている菌体内毒素が feedback 系を刺激する作用を有するか否かについて、内毒素の主たる活性部位を有するとされている lipid A を用いて検討した。

材料および方法

I. 実験的肝不全モデルの作成

体重 2.3~2.7 kg の雌の日本白色種家兎 4 羽を用いた。6 時間絶食後、飲水自由とした後、塩酸 D-ガラクトサミン (和光純薬) を 0.95 g/kg 耳静脈より静注した。塩酸 D-ガラクトサミンは Blitzer ら¹³の方法に準じて、必要量を 5%ブドウ糖液に溶解し、さらに 1 規定の水酸化ナトリウム水溶液にて pH を 6.8 に調整し、全量が 10 ml となるようにした。塩酸 D-ガラクトサミン静注 24 時間後に耳静脈より採血し、48 時間後に再度採血を行った後に、塩化カリウム液を静注して屠殺し、肝組織を採取した。肝組織は 10%ホルマリン液で固定後、パラフィン固定しヘマトキシリン・エオジン染色にて顕微鏡標本を作成した。

II. 対照血清の採取

正常家兎の耳静脈より血液を採取し、対照とした。また、塩酸 D-ガラクトサミンそのものの tubuloglomerular feedback 系への影響を調べるために、前述の方法で塩酸 D-ガラクトサミンを静注し、30 分後に採血を行い血清を得た。

III. 灌流液の作成

正常家兎および塩酸 D-ガラクトサミン投与家兎の血清を、セルロース膜 (visking cellulose tubing, 20/32, Union Carbide Co., USA) を用いて 140 mM のブドウ糖液に対し 4°C で 12 時間透析した。透析後の血清の容積は約 2 倍となり、浸透圧は透析液とほぼ同程度となった。血清 Na 濃度は 10 mEq/l 以下、Cl 濃度は 4 mEq/l 以下となった。

IV. 菌体内毒素灌流液の作成

Salmonella minnesota Re 595 の内毒素の中心活性部位のリポ多糖体である lipid A (Campell, USA) を

用いた。生理的食塩水および 5%マニトール液に lipid A を 100 μg/ml の濃度で溶解し、灌流液とした。

V. 微小灌流実験

1. 実験動物およびその手術法

Charles River 社製標準飼料 (Na, 0.10 mEq/g; K, 0.24 mEq/g を含む) にて飼育した体重 200~320 g (10~14 週齢) の Sprague-Dawley 系雄ラットを用いた。麻酔はイナクチン (Promonta, Hamburg) 110 mg/kg の腹腔内投与にて行った。麻酔直後より自動温度調節器付き手術台にラットを固定し、直腸温を 37.5°C に保った。気管切開部に挿管後、右外頸静脈に挿入したポリエチレンカテーテル (PE50, Clay Adams, USA) を通じて 10%ポリフラクトサン (Inutest, Laevosan, Linz) 加生理的食塩水を体重 100 g あたり 0.45 ml/hr の一定速度で持続注入した。実験中、必要に応じて、このカテーテルより麻酔を追加投与した。右大腿動脈にポリエチレンカテーテル (PE50) を留置し、血圧測定と採血に用いた。血圧は電気血圧計 (日本光電, MP-4) にて測定した。左側腹部切開にて露出した左腎を周囲の脂肪組織より遊離し、透明なプラスチックカップ内に固定した。腎表面には 37.5°C に加温した流動パラフィン液を滴下した。左尿管にポリエチレンカテーテル (PE10, Clay Adams, USA) を留置し、採尿した。

2. Micropuncture 実験 (図 1)

手術操作完了 1 時間後に micropuncture 実験を開始し、麻酔開始より 6 時間以内に終了した。微小ピペットにて近位尿細管を穿刺し、0.5%リサミングリーン

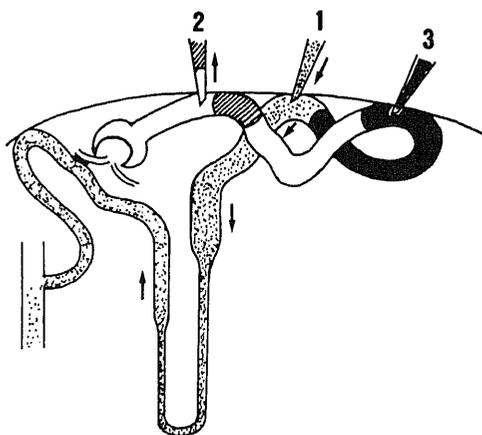


Fig. 1. Schematic presentation of the tubular fluid collection during the orthograde perfusion of the loop of Henle in the rat. Pipette 1, microperfusion pipette; pipette 2, the collection pipette filled with stained paraffin oil; pipette 3, the pipette for injecting high viscosity silicone oil into the mid-proximal tubule.

(和光純薬)で着色した生理的食塩水を少量注入して同一ネフロン of the 遠位側を同定した。Henle 係蹄微小灌流は、先端の外径が $8\sim 10\ \mu\text{m}$ の微小ピペットを用いて、近位尿管終末部より順行性に行った。注入速度は、微量注入ポンプ (W. Klotz, Physiology Institute, Munich) を用いて、0 および $20\ \text{nl}/\text{min}$ とした。同時に、同一ネフロン of the 近位尿管で穿刺しうる最も近位部における尿管内液の流量 (early proximal flow rate; EPFR) を2分間測定した。糸球体より EPFR 測定部位までの距離は短かく、その間に再吸収される糸球体濾液の量は少ないため、EPFR は単一ネフロン GFR にほぼ等しい³⁾。なお、近位尿管の近位部と終末部の中間部位に、先端の外径が $15\ \mu\text{m}$ の微小ピペットを用いてズダンブラックで着色した高粘度のシリコンオイル (30,000 cst, 信越化学) を注入し、灌流液の逆流を防止した。

3. 検体の測定方法

血清および尿中ポリフラクトサン濃度はアントロン法¹⁴⁾にて、尿中 Na 濃度は蛍光光度計 (日立 775) を用いて測定した。尿管液量は内径一定のガラス管 (Microcaps, Drummond Scientific Co., USA) を用いて測定した。

4. 実験データの推計処理

得られたデータは、平均値 \pm 標準誤差 (Mean \pm S.E.

M.) であらわし、有意差検定には Student の t 検定を用い、p 値が 0.05 以下の場合に有意差ありと判定した。

成 績

I. 塩酸 D-ガラクトサミン投与の効果

塩酸 D-ガラクトサミン投与により 4 羽の家兎のうち 3 羽に広汎性肝細胞壊死が、1 羽に亜広汎性肝細胞壊死が組織学的に認められた。血清 glutamic pyruvic transaminase は、24 時間後に $482\sim 1520$ Karman 単位、平均 1197 Karman 単位、48 時間後に $594\sim 634$ Karman 単位、平均 618 Karman 単位 (正常 $15\sim 34$ Karman 単位) と上昇した。血清クレアチニンは 48 時間後で $2.8\sim 3.2\ \text{mg}/\text{dl}$ 平均 $3.0\ \text{mg}/\text{dl}$ (正常 $0.7\sim 1.5\ \text{mg}/\text{dl}$) と高値を示した。

II. 微小灌流実験中のラットの腎機能

ポリフラクトサンクリアランスにより測定した GFR は $0.81\sim 1.30\ \text{ml}/\text{min}\cdot\text{g}$ 腎重量、平均 $1.0\pm 0.1\ \text{ml}/\text{min}\cdot\text{g}$ 腎重量であり、尿中 Na 排泄量は $15\sim 48\ \text{nEq}/\text{min}\cdot\text{g}$ 腎重量、平均 $27.5\pm 0.5\ \text{nEq}/\text{min}\cdot\text{g}$ 腎重量であった。

III. 微小灌流実験

図 2 に示すように、リング液にて Henle 係蹄を順行性に $20\ \text{nl}/\text{min}$ の速度で微小灌流すると、EPFR は

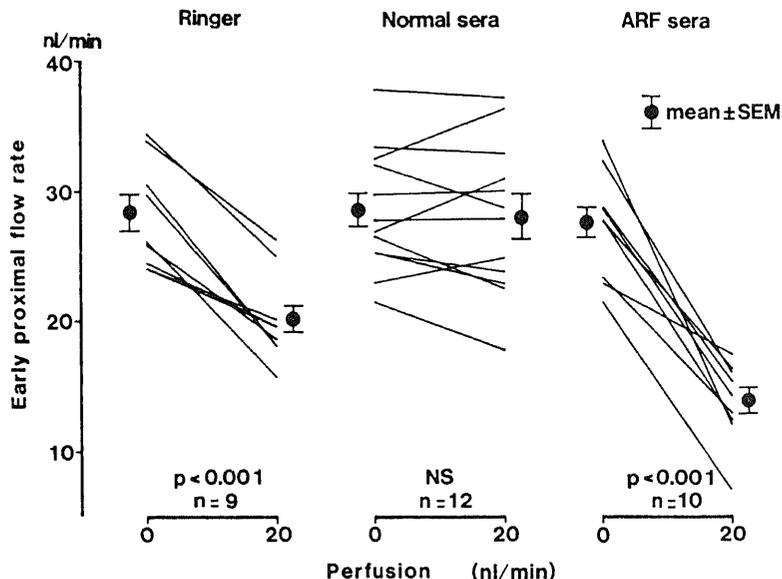


Fig. 2. Responses in early proximal flow rate to the orthograde perfusion of the loop of Henle with Ringer's solution, normal rabbit sera, or acute renal failure sera (ARF sera). Lines connect measurements made in the same nephron. Points and vertical bars represent means \pm SEM. n, number of tubules; NS, not significance; P values were determined by paired t-test.

28.5±1.4 から 20.2±1.1 nl/min へと有意に低下した。正常家兎血清より作成した灌流液による微小灌流時には 28.6±1.4 より 28.2±1.7 nl/min と EPFR に

変化はなかった。急性肝・腎不全家兎血清より作成した灌流液では EPFR は 27.6±1.3 から 14.1±1.0 nl/min へと明らかに減少した。

Tubuloglomerular feedback 系の反応の度合は、微小灌流量を 0 から 20 nl/min へ増加させた時の EPFR の変化率 (%ΔEPFR) であらわされる。

$$\% \Delta EPFR = \frac{[EPFR(0) - EPFR(20)]}{EPFR(0)} \times 100 (\%)$$

EPFR(0) = 0 nl/min 灌流時の EPFR

EPFR(20) = 20 nl/min 灌流時の EPFR

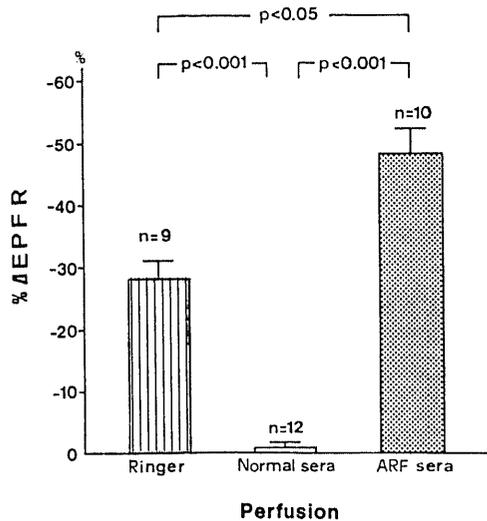


Fig. 3. Percent changes in early proximal flow rate during perfusion of the loop of Henle with Ringer's solution, normal rabbit sera, or acute renal failure sera (ARF sera). Data are shown as mean ± SEM. n, number of tubules; P values were determined by unpaired t-test.

図 3 の如く、急性肝・腎不全家兎血清灌流時の EPFR の減少率は 48.3±4.1% と、リンゲル液灌流時の 28.0±3.3% に比し有意に大であった (p < 0.05) 一方、正常家兎血清の微小灌流では EPFR の減少率は 0.4±0.8% と feedback 反応はみられなかった。塩酸 D-ガラクトサミンそのものの tubuloglomerular feedback 系に対する作用については、本薬静注 30 分後に得た血清より作成した灌流液を用いて検討した。これにより Henle 係蹄を 20 nl/min の速度で微小灌流しても、EPFR は 26.4±1.4 から 26.4±1.3 nl/min と不変であった。

IV. 内毒素による微小灌流実験の結果

図 4 に示すように、生理的食塩水にて Henle 係蹄を順行性に 20 nl/min の速度で微小灌流すると、EPFR

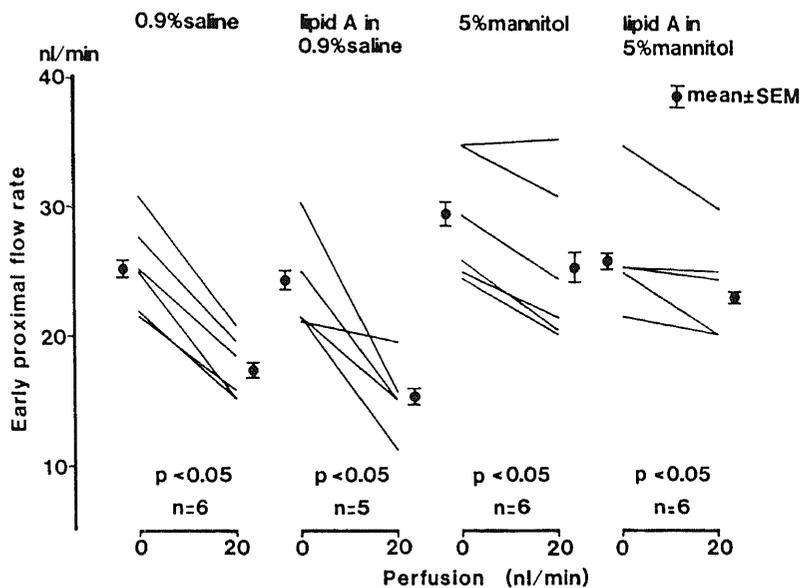


Fig. 4. Responses in early proximal flow rate to the orthograde perfusion of the loop of Henle with 0.9% saline, 100 μg/ml of lipid A in 0.9% saline, 5% mannitol solution, or 100 μg/ml of lipid A in 5% mannitol solution. Points and vertical bars represent mean ± SEM. n, number of tubules; P values were determined by paired t-test.

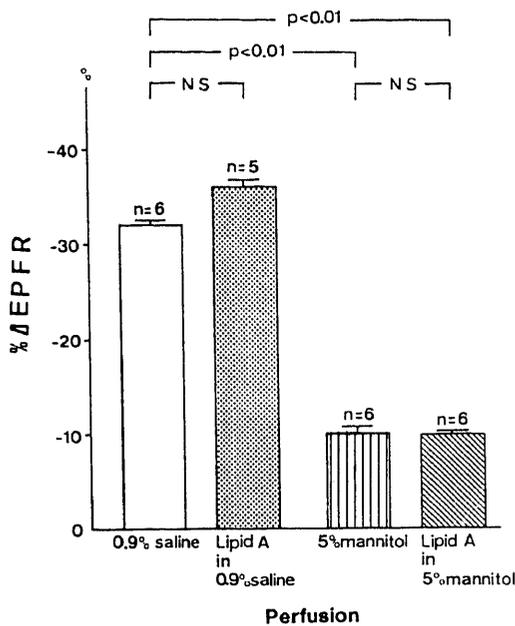


Fig. 5. Percent changes in early proximal flow rate during perfusion of the loop of Henle with 0.9% saline, 100 μ g/ml of lipid A in 0.9% saline, 5% mannitol or 100 μ g/ml of lipid A in 5% mannitol solution. Data are shown as means \pm SEM. n, number of tubules; NS, not significance; P values were determined by unpaired t-test.

は 25.8 ± 1.4 から 17.5 ± 1.0 nl/min へと有意に低下した。生理的食塩水に lipid A を 100 μ g/ml となるように加えて同様に微小灌流しても、EPFR は 25.4 ± 1.8 から 14.9 ± 0.8 nl/min へと有意に低下した。また、同様に 5% マニトール液で Henle 係蹄を微小灌流すると、EPFR は 29.0 ± 1.9 から 25.9 ± 2.5 nl/min へと有意に低下した。これに lipid A を 100 μ g/ml となるように加えた灌流液にても、EPFR は 26.7 ± 1.6 から 23.9 ± 1.5 nl/min へと有意の低下を示した。図 5 の如く、生理的食塩水で Henle 係蹄を微小灌流すると EPFR は $32.1 \pm 1.3\%$ 減少した。これは lipid A を加えた生理的食塩水の灌流時の EPFR の減少率、 $35.4 \pm 6.1\%$ と差はなかった。5% マニトール液の灌流により EPFR は $11.3 \pm 3.5\%$ 減少し、これに lipid A を加えても $10.6 \pm 2.3\%$ の減少で、feedback 反応に変化はみられなかった。

考 察

今回、ラットを用いて、Henle 係蹄をリンゲル液にて灌流すると、EPFR は明らかに減少し、tubuloglomerular feedback 系が作動していることが確認さ

れた。すなわち、非灌流時には Henle 係蹄への尿細管流は遮断されており、macula densa 部位へ NaCl シグナルが到達しない。したがって、feedback 系が作動しないため EPFR は減少しない。一方、Henle 係蹄をリンゲル液で微小灌流すると同部位における NaCl の増加により、feedback 系が作動して EPFR は減少する。正常血清から作成した灌流液で Henle 係蹄を灌流しても、EPFR の変化はみられなかった。一方、急性肝・腎不全家兎の血清による灌流時には EPFR は著しく低下し、この EPFR の変化度はリンゲル液灌流時に比し明らかに大であった。急性肝・腎不全家兎血清を用いて作成した灌流液にはほとんど電解質は含まれていない。したがって、急性肝・腎不全家兎血清には、tubuloglomerular feedback 系を強く刺激する電解質以外の何らかの因子が存在するものと考えられる。Navar^ら⁹⁾は、tubuloglomerular feedback 系を刺激する因子として浸透圧が働く可能性を指摘している。しかし、今回の成績では急性肝・腎不全および正常家兎血清より作成した灌流液の浸透圧には差がないにもかかわらず、急性肝・腎不全家兎血清より作成した灌流液でのみ feedback 系が刺激された。これは、急性肝・腎不全家兎血清の tubuloglomerular feedback 系刺激因子が浸透圧の調節に関係するものではないことを示している。また、塩酸 D-ガラクトサミンそのものが尿細管内腔側から tubuloglomerular feedback 系に直接作用している可能性は、塩酸 D-ガラクトサミン静注 30 分後の家兎血清には feedback 系の刺激作用がまったくみられないことから否定される。以上の結果より、塩酸 D-ガラクトサミンを投与して誘導された急性肝・腎不全家兎の血清中には、通常の NaCl シグナル以外に、より強く tubuloglomerular feedback 系を刺激する因子の存在することが明らかである。

Wunderlich^ら¹²⁾の報告では、EPFR の減少は平均 80% と今回の成績より大であった。このようなことは、今回の微小灌流実験に用いたラットには減塩操作を行なわなかったが、彼らは減塩操作を加えていることで説明できる。従来より tubuloglomerular feedback 系の反応性は減塩操作により亢進する^{12,13)}ことが知られている。Wunderlich^ら¹²⁾の用いたラットでは、減塩操作により feedback 系の反応性が亢進していたため、同程度のシグナルに対して EPFR の変化が大であったものと考えられる。

Tubuloglomerular feedback 系が急性腎不全の発症に関与するには、次の 2 条件を満足していなければならない。第 1 に、急性腎不全発症期に feedback 系が作動していること、第 2 に、この系のシグナルとなる物質が増加していることである。これらは、いくつか

の実験で証明されている。Mason ら¹¹⁾は、種々の腎不全モデルで、発症の初期に feedback 系が作動していることを証明している。また、Schnermann ら¹⁹⁾は虚血性腎不全モデルで、Flamenbaum ら²⁰⁾は腎毒性物質による腎不全で、それぞれ速位尿細管起始部における尿細管内 NaCl 濃度の上昇を報告している。しかし、肝腎症候群で尿細管機能は正常であり、尿中 Na 濃度は極めて低い²¹⁾。このような場合、macula densa 部位での NaCl 濃度はむしろ低い可能性がある。ただし、今回の成績や Wunderlich ら¹²⁾の示す血清因子が出現すれば、tubuloglomerular feedback 系が異常に強く刺激される。加えて、肝腎症候群では腎内血管、とくに皮質外層部の血管が収縮しやすい状態になっている²²⁾。このような条件下で反応性の亢進した feedback 系に対して前述の血清因子がシグナルとして働けば、本系を介して GFR が大きく低下する可能性が考えられる。

急性肝・腎不全家兎血清中に存在し、tubuloglomerular feedback 系を強く刺激する因子について今回、生化学的な検討は加えていない。しかし、次のことよりその大きさはある程度推定できる。すなわち、Wunderlich ら¹²⁾は本因子を肝不全患者の腹水および尿中にも証明しており、障害腎の糸球体において濾過され、macula densa 部位へ到達しうる程度の大きさであると考えられる。また、セルロース膜により透析されないことから、分子量が少なくとも 1000 dalton 以上、おそらくは 4000~6000 dalton であると考えられる²³⁾。この因子の出現機序は、高度肝障害時に産生され血中に出現するか、ないしは除去されにくくなるためと推定できる。肝不全時にしばしば出現し、肝腎症候群の原因の 1 つに考えられているものに菌体内毒素がある²⁴⁾。菌体内毒素は全身血圧の低下、腎血管床の収縮や糸球体および尿細管周囲の毛細管にフィブリン沈着を起こすこと²⁵⁾が知られている。今回用いた lipid A はアミノ酸と長鎖脂肪酸からなる分子量 6000 弱の物質で内毒素活性の中心的成分である。今回の検討では tubuloglomerular feedback 系に対する lipid A の刺激作用は証明されなかった。したがって、肝・腎不全時にみられる tubuloglomerular feedback 系を強く刺激する因子は菌体内毒素との構造および作用類似性は考えられない。家兎血清因子の本体については今後に残された課題である。

結 論

塩酸 D-ガラクトサミンを用いて家兎に肝腎症候群を作成し、その血清中に tubuloglomerular feedback 系を NaCl シグナルより強く刺激する電解質以外の物

質が存在することを証明した。Lipid A には feedback 系刺激作用はなく、上記血清因子と内毒素との直接的な関連はないものと考えられる。

謝 辞

稿を終るにあたり御指導と御校閲を賜った恩師服部信教授に対し、衷心より深謝の意を表わします。さらに、御指導、御援助を賜った第一内科高島利一講師に衷心より深謝の意を表わします。また終始御協力と御援助を戴いた第一内科高血圧班の諸先生に深謝致します。

文 献

- 1) Goormaghtigh, N.: L'appareil neuro-myocardial juxtaglomérulaire du rein; ses réactions en pathologie et ses rapports avec le tube urinaire. C. R. Soc. Biol., 124, 293-296 (1937).
- 2) Thurau, K. & Schnermann, J.: Die Natriumkonzentration an den Macula densa-Zellen als regulierender Factor für das Glomerulumfiltrat (Mikropunktionsversuche). Klin. Wochenschr., 43, 410-413 (1965).
- 3) Schnermann, J., Wright, F. S., Davis, J. M., Stackelberg, W. V. & Grill, G.: Regulation of superficial nephron filtration rate by tubuloglomerular feedback. Pflügers Arch., 318, 147-175 (1970).
- 4) Hierholzer, K., Müller-Suur, R., Gutsche, H.-U., Butz, M. & Lichtenstein, I.: Filtration in surface glomeruli as regulated by flow rate through the loop of Henle. Pflügers Arch., 352, 315-337 (1974).
- 5) Wright, F. S. & Briggs, J. P.: Feedback control of glomerular blood flow, pressure and filtration rate. Physiol. Rev., 59, 958-1006 (1979).
- 6) Navar, L. G., Ploth, D. W. & Bell, P. D.: Distal tubular feedback control of renal hemodynamics and autoregulation. Ann. Rev. Physiol., 42, 557-571 (1980).
- 7) Takabatake, T.: Feedback regulation of glomerular filtration rate in the denervated rat kidney. Kidney Int. 22, Suppl. 12, S129-S135 (1982).
- 8) 木田博真: Tubuloglomerular feedback に対する NaCl シグナル. 十全医会誌, 93, 703-712 (1984).
- 9) Schnermann, J., Briggs, J., Kriz, W., Moore, L. & Wright, F. S.: Control of glomerular vascular resistance by the tubuloglomerular feedback mechanism, p165-182. In Leaf, A., Giebisch, G., Bolis, L. & Gorini, S., Renal pathophysiology.

Recent advances. Raven Press, New York 1980.

- 10) **Thurau, K. & Boylan, J. W.** : Acute renal success: the unexpected logic of oliguria in acute renal failure. *Am. J. Med.*, **61**, 308-315 (1976).
- 11) **Mason, J., Takabatake, T., Olblich, C. & Thurau, K.** : The early phase of acute renal failure. III. Tubuloglomerular feedback. *Pflügers Arch.*, **373**, 69-76 (1978).
- 12) **Wunderlich, P. F., Brunner, F. P., Davis, J. M., Häberle, D. A. Thölen, H. & Thiel, G.** : Feedback activation in rat nephrons by sera from patients with acute renal failure. *Kidney Int.*, **17**, 497-506 (1980).
- 13) **Blitzer, B. L., Waggoner, J. G., Jones, E. A., Gralnick, H. R., Towne, D., Butler, J., Weise, V., Kopin, I. J., Walters, I., Teychenne, P. F., Goodman, D. G. & Berk, P. D.** : A model of fulminant hepatic failure in the rabbit. *Gastroenterology*, **74**, 664-671 (1978).
- 14) **Führ, J., Kaczmarczyk, J. & Krüttgen, C. D.** : Eine einfache Methode zur Inulinbestimmung für Nieren-Clearance-Untersuchung bei Stoffwechselfgesunden und Diabetikern. *Klin. Wochenschr.*, **33**, 729-730 (1955).
- 15) **Kepler, D., Pausch, J. & Decker, K.** : Selective uridine triphosphate deficiency induced by D-galactosamine in liver and reversed by pyrimidine nucleotide precursors. Effect on ribonucleic acid synthesis. *J. Biol. Chem.*, **249**, 211-216 (1974).
- 16) **Navar, L. G., Bell, P. D., Thomas, C. E. & Ploth, D. W.** : Influence of perfusate osmolality on stop-flow pressure feedback responses in the dog. *Am. J. Physiol.*, **4**: F352-F358 (1978).
- 17) **Dev, B., Drescher, C. & Schnermann, J.** : Resetting of tubuloglomerular feedback sensitivity by dietary salt intake. *Pflügers Arch.* **346**, 263-277 (1974).
- 18) **Kaufman, J. S., Hamburger, R. J. & Flamenbaum, W.** : Tubuloglomerular feedback: effect of dietary NaCl intake. *Am. J. Physiol.*, **231**, 1744-1749 (1976).
- 19) **Schnermann, J., Nagel, W. & Thurau, K.** : Die fröhdistale Natriumkonzentration in Rattennieren nach renaler Ischämie und hämorrhagischer Hypotension. *Pflügers Arch.*, **287**, 296-310 (1966).
- 20) **Flamenbaum, W., Hamburger, R. & Kaufman, J.** : Distal tubule (Na⁺) and juxtaglomerular renin activity in uranyl nitrate induced acute renal failure in the rat: an evaluation of the role of tubuloglomerular feedback. *Pflügers Arch.*, **364**, 209-215 (1976).
- 21) **Wilkinson, S. P. & Williams, R.** : Endotoxins and renal failure in liver disease, p229-255. *In* Bartoli, E. & Chiandussi, L., *Hepato-renal syndrome*, Piccin, Padova, 1979.
- 22) **Epstein, M., Berk, D. P., Hollenberg, N. K., Adams, D. F., Chalmers, T. C., Adams, H. L. & Merrill, J. P.** : Renal failure in the patient with cirrhosis. The role of active vasoconstriction. *Am. J. Med.*, **49**, 175-185 (1970).
- 23) **Bottomley, S., Parsons, F. M. & Broughton, P. M. G.** : The dialysis of non-electrolytes through regenerated cellulose (Cuprophane). I. The effect of molecular size. *J. Appl. Polymer. Sci.*, **16**, 2115-2121 (1972).
- 24) **山田祐司・福井 博・伊藤秀次・植村正人・松村雅彦・喜多公雄・花田一宏・田村雅宥・辻井 正・岡本康幸・松森 武** : 急性肝不全の病態に関する研究—家兎 galactosamine 急性肝不全における腎障害の成因ならびに病態—*肝臓*, **24**, 138-148 (1983).

Tubulomerular Feedback Stimulating Factor Detected in Sera from D-galactosamine Induced Hepatic Failure Rabbit Yoh-ichi Ishida, Department of Internal Medicine (I), School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920 — *J. J. J. Med. Soc.*, **94**, 614–621 (1985)

Key words: tubuloglomerular feedback, hepatorenal syndrome, micropuncture, D-galactosamine, lipid A

Abstract

Tubulomerular feedback is a mechanism which regulates glomerular filtration in response to the changes of NaCl concentration at the macula densa and contributes to the maintenance of body fluid balance. Experiments were designed to determine whether serum substance (s) other than electrolytes obtained from experimental hepatic failure rabbits might activate tubuloglomerular feedback mechanism in rats. An intravenous administration of D-galactosamine HCl induced severe hepatic damage and renal failure. Sera from normal or D-galactosamine-treated rabbits were dialysed through cellulose membrane against glucose solution to reduce electrolyte concentrations. Tubuloglomerular feedback response was evaluated by measuring the early proximal flow rate (EPFR) during the orthograde perfusion of the loop of Henle in Sprague-Dawley rats anesthetized with Inactin. EPFR was not altered by normal sera, but was reduced by 28% and 48% with Ringer's solution and sera from D-galactosamine-treated rabbits, respectively, when the perfusion rate was increased from 0 to 20 nl/min. The reduction of EPFR was greater with sera obtained from hepatic failure rabbits than with Ringer's solution. These results suggest that substance (s) in the sera from D-galactosamine-treated rabbits might activate the tubuloglomerular feedback mechanism more strongly than electrolytes to reduce glomerular filtration. To examine the relationship between the serum factor (s) and endotoxin, loop perfusion experiments were done using lipid A, an active component of endotoxin. The changes in EPFR during perfusion with 0.9% saline or 5% mannitol were not altered when lipid A was added to each. Thus, the substance (s) contained in sera of D-galactosamine-treated rabbits is not likely to be related to endotoxin.