

腎結核に於けるアミノ酸の研究 (ペーパークロマトグラフィーに依る)

第 2 編 腎結核組織内遊離アミノ酸の分布(動物実験成績)

久留米大学医学部泌尿器科学教室(主任 重松教授)

助 手 松 浦 省 三

Studies on the Amino Acids in Tuberculous Kidney by Means of Paper Chromatography

Part II : The Distribution of Free Amino Acids in Tuberculous Renal Tissue (The Results of Animal Experiments)

Syozo MATSUURA

*From the Department of Urology, Kurume University School of Medicine
(Director - Prof. S. Shigematsu)*

This part of the report gives the results obtained in the experiments using rabbits while the Part I shows the results from clinical cases.

The distribution of free amino acids found in the normal renal tissue of ten rabbits was compared with that in the experimentally tuberculous renal tissue of ten rabbits.

Thirteen free amino acids; asparatic acid, glutamic acid, serine, tyrosine, valine, leucine, alanine, glycine, cystine, threonine, phenylalanine, arginine and methionine could be observed in the renal cortex of normal rabbits, while these seven, asparatic acid, glutamic acid, serine, tyrosine, histidine, threonine and phenylalanine could be seen in the normal renal medulla.

In normal renal tissue, the cortex contains the more free amino acids than the medulla. These free amino acids were observed in the tuberculous cavity: asparatic acid, glutamic acid, serine, glycine, valine, threonine, tyrosine, leucine and alanine.

Compared with normal renal tissue, in the tuberculous cavity alanine and glycine, increase, tyrosine and leucine tend to increase, and phenylalanine, arginine, methionine and cystine tend to decrease.

結 言

前編で腎結核剔除組織並にその乾酪様物質についての遊離アミノ酸分布を述べたが、本項に於いては臨床例にあつて追求し得なかつた正常腎組織内遊離アミノ酸の分布を家兎を使用して追求し、更に実験的腎結核組織との比較検討を行つたのでその成績を発表する、

健常家兎に於ける遊離アミノ酸の分布

実験方法並材料

実験家兎は何れも 2kg 前後の健常雄性家兎 10羽を使用した。これらの家兎は約 1 カ月 同一飼料にて飼育後、何れも右腎を剔除し、皮質、髓質をそれぞれ 1.0 g 秤量採取し先述の Awapara の法に従つて除蛋白、次いで除塩操作を行つて、それぞれ試料を調製し、

paper partition chromatography に供した。

実験成績

正常家兎腎皮質に於ける遊離アミノ酸の分布は表 1 ～2 に示すが如きものである。即ち Asparatic Acid 以下 Methionine に到る 13 種を分別確認し得た。即ち Asparatic Acid, Glutamic Acid, Serine, Threonine 10/10, Valine 9/10, Tyrosine, Glycine 7/10, Leucine 5/10, Arginine, Phenylalanine 3/10, Alanine 2/10, Cystine, Methionine 1/10 と云う頻度で分別確認せられ、全例に認めた Asparatic Acid 以下 Methionine に到る 13 種であつた。何れの Rf 値にも一致せぬ同定し難い Spot は No. 9 の 5 ケより No. 5 の 1 ケに判る各々表 1 に示す通りである。

正常家兎腎髄質組織に含まれる遊離アミノ酸は Asparatic Acid 以下 Phenylalanine に到る 7 種を分別確認した。即ち表 3 ～4 に示す様に全例に認めた Asp. Acid から 5 例に認めた Glutamic Acid に到る 7 種である。分別同定し難い Spot としては No. 1, No. 5, No. 9 の 4 種より No. 8, No. 10 の 2 種に到る表に各々示した様な Rf 値を得た。

即ち Asparatic Acid, Tyrosine, Threonine の全例, Serine, Histidine 9/10, Phenylalanine 8/10, Glutamic Acid 5/10 と云う結果を得た。

次に皮質、髄質より得た遊離アミノ酸の Spot の発色度を一括表示すれば表 5 の如き結果を得る。

実験的腎結核家兎空洞組織に於ける遊離アミノ酸の分布。

実験方法並に実験材料。

使用した家兎は 10 羽、何れも体重 2.0 kg 内外の健康雄性家兎を使用した。人腎結核より分離培養した尿路結核菌を使用して約 1.0 cc, 1.0 mg 含有の菌浮遊液を作成して、この菌液 0.1～0.2 cc を露出右腎の皮髄移行部と思われる部分に注入接種し、3 ヶ月間飼育後腎を剔出し、これより得た結核菌を培養、完全コロニーの形成を待つて先述の菌浮遊液を作製し同様の手技にて、10 羽の家兎右腎えそれぞれ注入接種して 3 ヶ月間飼育、その後の患腎を材料に供した。空洞と思われる部分を含んで約 1.0g 秤量採取し、型の如く処理して試料に供した。

実験成績。

実験的腎結核家兎空洞組織における遊離アミノ酸の分布は表 6 ～7 に示す如く Asparatic Acid 以下 Threonine に到る 9 種を確認した。尚不明の Spot と

して No. 4 の 5 種から No. 6, No. 4 の 2 種に到るそれぞれの Rf 値を得た。即ち Asparatic Acid, Glutamic Acid, Serine の 10/10, Glycine, Valine, Threonine 9/10, Tyrosine 8/10, Leucine, Alanine 6/10 であつた。次にそれぞれその Spot の発色度にて一括分類すると下記の如くなる(表 7)

総括並考按

正常家兎の腎に於ける遊離アミノ酸の分布は本項に述べた如く、皮質部に Asparatic Acid 以下 Methionine に到る 13 種を確認し得たに反して髄質にあつては、Asparatic Acid 以下 Phenylalanine に到る 7 種であつた。此の事より腎にあつては、皮質部に髄質部より、より多くの遊離アミノ酸の分布を認め得ると云う事になる。健康家兎に於いて分別確認し得た遊離アミノ酸を、その種別、発現頻度によつて比較してみると表 8 に示す如く一括し得る。皮質髄質両者共に全く同様であつたものは、Asparatic Acid, Threonine の 2 種全例であり、Glutamic Acid は皮質に於いて 10 例、髄質にあつては半数の 5 例、Serine は皮質 10 例、髄質 9 例と何れも皮質部に多く認められた。ただ Tyrosine は皮質 7 例に反して髄質 10 例であり、髄質に稍々出現度が高い。又 Phenylalanine は皮質 3 例に反して髄質 8 例であり、Histidine は皮質に全例認め得なかつたのに反して髄質には 9 例を確認した。Valine 9 例、Glycine 7 例、Leucine 5 例、Arginine 3 例、Cystine, Methionine 各 1 例をそれぞれ皮質部に於いて分離し得たが、これら Valine, Glycine, Leucine, Arginine, Alanine, Cystine, Methionine の 7 種は髄質部に全例認め得なかつた。外松によると Glycine, Serine, Alanine, Arginine, Lysine, Histidine, Valine, Leucine, Tyrosine は髄質に比して皮質に多く認められ、髄質には Asparatic Acid, Glutamine, Proline, Cystic Acid が皮質に比して多く証明される様だと述べて居る。私の実験では Proline は皮髄共に認め得なかつた。又 Histidine は皮質には認めずむしろ髄質に多く認められた。

次に実験結核家兎腎組織内に於ける遊離アミ

ノ酸の分布についてみるに、結核菌接種の家兎腎は前述の如く皮髄境界部と思われる部分に菌浮遊液を注入したのであるが、全例に於いて主に皮質部、被膜下に結核性空洞或は結節を形成し写真1~2に掲げる如き肉眼的所見を与えた。此の空洞組織を含む組織より得た遊離アミノ酸が前述の如き Asparatic Acid 以下9種である。先述した様に Histidine, Phenylalanine を除いてその過半数のアミノ酸が皮質に存在すると云う事實は、空洞組織が皮質部に多く形成された此の実験にあつて、主に正常皮質部遊離アミノ酸と比較する事に意義があると考ええる。よつてこれを並列してみると表8の様な結果となる。此の成績からみると結核腎の結核空洞周囲組織内には Alanine, Glycine が増加し、Tyrosine, Leucine は少々増加の傾向にあり、Phenylalanine, Arginine, Methionine, Cystine は減少傾向にあると考えられる。

結 語

1) 正常家兎皮質組織内遊離アミノ酸は確認し得たものは Asparatic Acid, Glutamic Acid, Serine, Tyrosine, Valine, Leucine, Alanine, Glycine, Cystine, Threonine, Phenylalanine, Arginine, Methionine, 以上の13種であつた。

2) 正常家兎髓質組織内遊離アミノ酸は確認し得たものは Asparatic Acid, Glutamic Acid,

Serine, Tyrosine, Histidine, Threonine, Phenylalanine, 以上7種であつた。

3) 正常家兎腎組織内遊離アミノ酸の分布は皮質に於いて髓質よりはるかに多くのアミノ酸を含む事を確認した。即ち Asparatic Acid, Threonine は皮髄共に100%にこれを確認した。Valine, Leucine, Alanine, Glycine, Arginine, Methionine, Cystine の7種は髓質には認め得なかつた。Glutamic Acid, Serine は皮質部に多く認められた。Histidine は髓質のみ認められ、皮質には認め得なかつた。Tyrosine, Phenylalanine は髓質により多く認められた。

4) 結核空洞組織内遊離アミノ酸として Asparatic Acid, Glutamic Acid, Serine, Glycine, Valine, Threonine, Tyrosine, Leucine, Alanine の9種であつた。

5) 結核空洞組織内の遊離アミノ酸は Alanine, Glycine が増加し、Tyrosine, Leucine が増加傾向にあり、Phenylalanine, Arginine, Methionine, Cystine は減少傾向にあると考えられる。

終りに家兎健常腎皮質、同じく髓質、実験結核の空洞壁の代表的クロマトグラフ及び実験家兎の剔出腎をそれぞれ写真1~5に掲げる。

(文 献 後 掲)

Table 1. FREE AMINO ACIDS IN RENAL CORTEX
(NORMAL RENAL TISSUE OF RABBIT)

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No.10	
Asp. Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	
Glut. Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	
Serine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	
Tyrosine	—	+	+	+	+	+	+	+	—	—	7/10
		(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)			
Proline	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Valine	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	9/10
	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)		(#)	(#)	
Leucine	+	—	+	—	—	+	+	—	—	+	5/10
	(#)		(#)			(#)	(#)			(#)	
Alanine	+	—	—	—	—	—	+	—	—	—	2/10
	(#)						(#)				
Histidine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Glycine	+	+	+	+	+	—	—	+	—	+	7/10
	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)			(#)		(#)	
Cystine	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	1/10
			(#)								
Threonine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	
Phenylalanine	—	—	—	—	—	+	—	—	+	+	3/10
						(#)			(#)	(#)	
Arginine	+	—	—	—	—	+	—	—	+	—	3/10
	(#)					(#)			(#)		
Methionine	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	1/10
						(#)					

Table 2. COLOR OF SPOT
(FREE AMINO ACIDS IN RENAL
CORTEX OF NORMAL RABBIT.)

	(#)	(#)	(+)	
Aspa. Acid	9	1	0	10
Glut. Acid	7	3	0	10
Serine	4	5	1	10
Tyrosine	0	6	1	7
Proline	0	0	0	0
Valine	2	7	0	9
Leucine	3	2	0	5
Alanine	1	1	0	2
Histidine	0	0	0	0
Glycine	1	2	4	7
Cystine	0	0	1	1
Threonine	0	7	3	10
Phenylalanine	0	3	0	3
Arginine	0	0	3	3
Methionine	0	1	0	1

Table 3. FREE AMINO ACIDS IN RENAL MEDULLA
(NORMAL RENAL TISSUE OF RABBIT)

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	
Asp. Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(+)	(#)	(#)	
Glut. Acid	+	—	—	—	+	+	+	—	+	—	5/10
	(#)				(#)	(#)	(#)		(#)		
Serine	+	+	+	+	+	+	+	—	+	+	9/10
	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	
Tyrosine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	
Proline	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Valine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Leucine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Alanine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Histidine	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	9/10
	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	
Glycine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Cystine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Threonine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
	(#)	(+)	(+)	(+)	(#)	(+)	(+)	(+)	(#)	(+)	
Phenylalanine	+	+	+	+	+	+	+	—	+	—	8/10
	(#)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)		(+)		
Arginine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Methionine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0

Table 4. COLOR OF SPOT
(FREE AMINO ACIDS IN RENAL
MEDULLA OF NORMAL RABBIT)

	(#)	(+)	(+)	(±)	
Aspa. Acid.	3	6	1	0	10
Glut. Acid.	1	4	0	0	5
Serine	0	0	9	0	9
Tyrosine	0	0	10	0	10
Histidine	0	0	9	0	9
Threonine	0	3	7	0	10
Phenyl. Al.	1	0	7	0	8

Table 5. COMPARATIVE TABLE OF
MEDULLA WITH CORTEX
(FREE AMINO ACIDS IN NORMAL
RENAL TISSUE)

Free amino acids.	Cortex.	Medulla.
Aspartic Acid	10/10	10/10
Glutamin Acid	10/10	5/10
Serine	10/10	9/10
Tyrosine	7/10	10/10
Valine	9/10	0
Leucine	5/10	0
Alanine	2/10	0
Histidine	0	9/10
Glycine	7/10	0
Cystine	1/10	0
Threonine	10/10	10/10
Phenylalanine	3/10	8/10
Arginine	3/10	0
Methionine	1/10	0

Table 6. FREE AMINO ACIDS IN TUBERCULOUS CAVITY

	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	
Asp. Acid.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
	(#)	(#)	(#)	(+)	(+)	(+)	(#)	(#)	(#)	(#)	
Glut. Acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
	(#)	(#)	(#)	(+)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	
Serine	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	10/10
	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(#)	(+)	(#)	(#)	(#)	
Tyrosine	+	—	—	+	+	+	+	+	+	+	8/10
	(#)	—	—	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	
Proline	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Valine	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	9/10
	(#)	(#)	(#)	(+)	(+)	(+)	—	(#)	(#)	(#)	
Leucine	+	+	—	+	+	+	—	+	—	—	6/10
	(#)	(#)	—	(+)	(+)	(+)	—	(#)	—	—	
Alanine	+	—	—	+	+	+	—	+	+	—	6/10
	(#)	—	—	(#)	(+)	(+)	—	(#)	(#)	—	
Histidine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Glycine	+	+	+	+	+	+	—	+	+	+	9/10
	(#)	(+)	(+)	(+)	(#)	(#)	—	(+)	(+)	(#)	
Cystine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Threonine	+	+	+	+	+	—	+	+	+	+	9/10
	(#)	(#)	(#)	(+)	(#)	—	(+)	(+)	(+)	(#)	
Phenylalanine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Arginine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0
Methionine	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0

Table 7. COLOR OF SPOT
(FREE AMINO ACIDS IN
TUBERCULOUS CAVITY)

	(#)	(+)	(+)	(±)	
Aspa. Acid.	3	4	3	0	10
Glut. Acid.	7	2	1	0	10
Serine	1	8	1	0	10
Tyrosine	0	1	7	0	8
Valine	0	6	3	0	9
Leucine	0	3	3	0	6
Alanine	0	4	2	0	6
Glycine	0	4	5	0	9
Threonine	0	5	4	0	9

Table 8. COMPARATIVE TABLE
OF FREE AMINO ACIDS
(COMPARING WITH NORMAL RENAL
TISSUE IN THE TUBERCULOUS
CAVITY)

Free amino acids.	Cortex	Cavern
Asparatic Acid	10/10	10/10
Glutamic Acid	10/10	10/10
Serine	10/10	10/10
Tyrosine	7/10	8/10
Valine	9/10	9/10
Leucine	5/10	6/10
Alanine	2/10	6/10
Glycine	7/10	9/10
Cystine	1/10	0
Threonine	10/10	9/10
Phenylalanine	3/10	0
Arginine	3/10	0
Methionine	1/10	0



Fig. 1. Surface of kidney
(rabbit).



Fig. 2. cut surface of kidney
(rabbit).

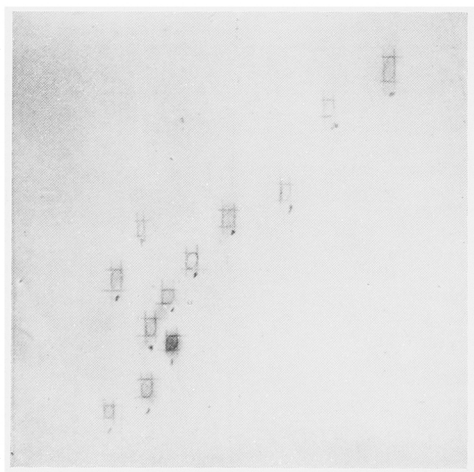


Fig. 3. Chromatography.
Free amino acids in renal cortex
(normal renal cortex of rabbit. No. 7.).

- | | |
|--------------------|---------------|
| 1. Asparatic acid. | 8. Threonine. |
| 2. Glutamic acid. | 9. Tyrosine. |
| 3. Serine. | 10. Valine. |
| 5. Alanine, | 11. Leucine. |



Fig. 4. Chromatography.
Free amino acids in renal medulla
(normal renal medulla of rabbit. No. 5.).

2. Asparatic acid.
3. Glutamic acid.
5. Serine.
7. Threonine.
8. Phenylalanine.

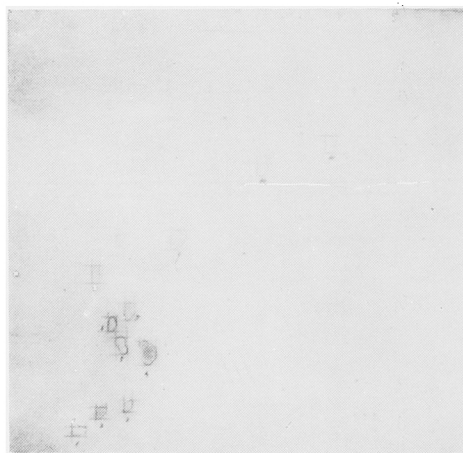


Fig. 5. Chromatography.
Free amino acids in tuberculous cavity
(tuberculous kidney of rabbit. No. 1.).

1. Asparatic acid.
3. Glutamic acid.
4. Serine.
5. Glycine.
7. Threonine.
8. Alanine.
9. Tyrosine.
10. Valine.
11. Leucine.