

## Myoglobin 尿 について

京都大学医学部泌尿器科学教室（主任：加藤篤二教授）

友 吉 唯 夫

St. Vincent's 病院病理部（部長：C. Merrill Whorton 博士）

ポール C・ハヂンス

## ON MYOGLOBINURIA

Tadao TOMOYOSHI

*From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyoto University, Kyoto, Japan**(Chairman : Prof. T. Katō, M. D.)*

Paul C. HUDGINS

*From the Department of Pathology, St. Vincent's Hospital, Jacksonville, Fla., U. S. A.**(Chief : Dr. C. Merrill Whorton, M. D.)*

Myoglobinuria is one of the important causes of acute renal failure, and its incidence may be increasing because of recent increase of motor vehicle accidents. Some biochemical aspects of myoglobin, causes of myoglobinuria, pathology of myoglobinuric nephropathy, and differential diagnosis of myoglobinuria and hemoglobinuria were presented.

## はじめに

色素蛋白尿のひとつとして myoglobin が尿に排泄される myoglobin 尿（以下 Mb 尿と略す）のあることは、1910年に Meyer-Betz が筋麻痺を伴った特異な hemoglobin 尿のあることを報告したのが最初で、最近では戦時外傷や交通事故の場合の crush syndrome に際して Mb 尿による急性腎不全が致命的となることでひろく知られるようになった。著者らは myoglobin の分子生物学にたずさわる機会をもち、同時に Mb 尿についていささかの臨床経験をも得たのでその概要を述べてみたい。なお、症例の詳しい報告は都合により省略する。

## Myoglobin について

かつては myohematin, myochrome, myohemoglobin などの名で呼称されたことがあるが、現在は myoglobin（以下 Mb と略す）に統一されている。Hemoglobin (Hb) と同じく酸素と特異的に結合する細胞内 heme 色素蛋白で1934年に Theorell が初めてその結晶化に成功した。Hb, Mb の構造上の差異は

Table 1 Mb と Hb の分子構造

|            | Mb          | Hb                                               |
|------------|-------------|--------------------------------------------------|
| Mol. Wt.   | 17,000      | 68,000                                           |
| Heme       | 1           | 4                                                |
| Dimension  | 4×3.5×2mμ   | 6.5×5.5×5mμ                                      |
| Structure  | Sing. Chain | α <sub>2</sub> β <sub>2</sub>                    |
| Amino Acid | 151         | 141×2(α <sub>2</sub> )<br>150×2(β <sub>2</sub> ) |

Table 1 に示すごとくで、Mb は分子量17,000、その1モル当り酸素結合力は Hb の1/4である。

Mb の作用は筋細胞内で酸素と結合し (MbO<sub>2</sub>)、筋運動開始時に、Hb によって酸素が血流により運搬されてくるまでの酸素供給源であるとされ、10sec の筋運動ならば酸素消費量の1/2は MbO<sub>2</sub> より供給され得るという。したがって、クジラ、アシカなどの水中哺乳類の筋肉には多量の Mb が含まれ、その特有の筋肉色も筋100g 乾燥重量あたり Mb 5.0~10.0g という高い含有量のためであり、ヒトの2.0~3.0g に比しはるかに多い。Mb の酸素解離曲線 (Fig. 1) は低 O<sub>2</sub> 圧で Hb より結合能の大きいことが特徴であり、また

CO 解離曲線 (Fig. 2) では Hb より CO との結合能の低いことがわかっている。Hb, Mb とも数億年前に進化した共通の primitive chain より進化の過程において構造的に修飾されてきたもので、Mb は Hb より早期のものと推定されている (Ingram, 1961)<sup>20</sup>。最近、著者ら<sup>21</sup> はヒトの Mb は霊長類のうち高等なものの、すなわち hominoidea と称するグループの Mb と分子構造的に identical であることを発見し、この推定を裏づけることができたが、詳細についてはここで述べない。Mb の分子構造は分子生物学のモデルとして比較的良好に研究されていて、Fig. 3 に示すような tertiary structure を有し、アミノ酸の chain によるラセン構築も知られている (Fig. 4)。

## Myoglobin 尿の原因

### 血中に遊離した Mb の運命

Mb は正常では血中に見いだせないが、何らかの筋障害によって血漿中に遊離した Mb は少量ならば肝で処理され 20mg/dl をこえたと腎より排泄される。Mb によって血漿が着色するには 40mg/dl に達する必要があるから、この低腎排泄閾値のために、血漿が着色することは実際にはまれである。比較の意味で Hb の場合を述べると、これは血漿中に遊離しても、肝で合成され  $\alpha_2$ -globulin 分割にある血中 haptoglobin が結合して肝で処理してくれる。しかし haptoglobin の予備能には限度があり、だいたい 100~150mg/dl (血漿濃度) の Hb を処理し得るにとどまるためそれを越えてはじめて Hb 尿が出現する。具体例を挙げるならば、体重 50kg のヒトで循環血漿量を 3,500ml、ヘマトクリットを 50% とすると、100g の筋が挫滅破壊された場合 0.35g の Mb が遊離し、Mb 尿の生ずる血漿濃度 20mg/dl となる。一方、異型血液輸血に起因する血管内溶血の場合、Hb 量を 14g/dl とすると 25ml の血液が溶血を起こすと遊離 Hb 量は 3.5g、すなわち血漿濃度は 200mg/dl となり、Hb 尿による腎障害が惹起されるレベルに達する (Fig. 5)。

### Myoglobin 尿の分類

Mb 尿は特発性に原因不明で出現することもあるが、基礎疾患があって、一症候として見られることもあり、原因は多岐にわたるが、いちおう Table 2 のようにまとめることができよう。そのうち主なものについて Mb 尿という立場から概観しておきたい。

#### Crush syndrome (ザメツ症候群)

第 2 次世界大戦および朝鮮戦争に際して四肢筋の広汎なザメツを伴った戦傷者に多数のいわゆる renal

Table 2 Classification of myoglobinuria

- |                                                   |
|---------------------------------------------------|
| I. Traumatic Myoglobinuria                        |
| (a) Crush Syndrome                                |
| (b) Exertional (Excessive Stress)                 |
| (c) Postural Pressure                             |
| (d) High Voltage Accident                         |
| II. Nontraumatic Myoglobinuria                    |
| (a) Arterial Occlusion with Ischemia              |
| (b) Convulsive Attacks                            |
| (c) Myoglobinuric Myositis                        |
| (d) Muscular Dystrophy                            |
| (e) Familial Paroxysmal Myoglobinuria (Paralytic) |
| —Idiopathic Recurrent Rhabdomyolysis              |
| (f) McArdle's Syndrome                            |
| (g) Intoxication                                  |
| 1. Haff's Disease (Bay Sickness, Sweden)          |
| 2. Barbiturate                                    |
| 3. Licorice                                       |
| 4. Favism                                         |
| 5. Alcoholism                                     |
| (h) Dermatomyositis                               |

shut down が発生したことから注目されるようになった。平和時代になると自動車事故の犠牲者にみられることが多くなった。ただし注意しておくべきことは筋傷害の全部に必ず Mb 尿をきたすものではないということである。crush syndrome の場合 Mb 尿を惹起する仕方に 2 通りがあるという。ひとつは筋壊死 (myonecrosis) を伴うものである。壊死は乏血性のこともあり感染性 (とくに Clostridium 菌による) のこともあり、この場合は Mb 尿の程度とショックの程度とは必ずしも平行しない。他のひとつは筋壊死を伴わないものである。これはショックによる乏血性の筋傷害により Mb が血中に遊離されるのである。crush syndrome の死亡者では Mb の脱離した筋肉はいわゆる脱色筋の外観を呈し、魚筋 (fish-meat muscle) とよばれて Mb 含有量は 0.3~1.0g/kg 非乾燥筋重量 (正常筋 3.6~4.2g/kg) と低下する。

#### 動脈閉塞 (arterial occlusion)<sup>22)</sup>

外傷性あるいは非外傷性に動脈の閉塞が起こり、筋が阻血状態に陥ると Mb が筋細胞から遊離する。さらに動脈が再開通すると Mb の血中放出が著明となり Mb 尿となる。

#### McArdle's syndrome

遺伝的に筋の phosphorylase を欠くために起こるという。短時間の運動で筋の疼痛を伴った痙攣発作を起こし、Mb 尿をきたす。筋グリコーゲンは増加して

いる。Schmid & Hammaker<sup>36)</sup> には3例を報告しているが Mb 尿はいずれも一過性であったと述べている。

#### Idiopathic paroxysmal myoglobinuria または idiopathic recurrent rhabdomyolysis

1910年 Meyer-Betz により報告されたのが初めて現在まで約60例が報告されている。各年令層にみられ、男女比は4対1、10%に明らかな遺伝性が証明されている。誘因としては運動、アルコール性飲料<sup>34)</sup>、飢餓、低糖質食、糖尿病性アシドーシスなどがあり、特徴的症状は筋肉痛のあとで尿がマホガニー色に着色することである。Mb 尿性ネフローゼのため急性腎不全が30%に到来し、ために死亡率は20%に達する。低K血症、心筋障害を伴うこともある。筋生検で壊死、脂肪置換、筋線維の萎縮などをみとめる。

本症の原因については諸説があるが、主なものは現在のところ酵素欠陥説と胎児 Mb 説とである。前者は酵素障害のために glycogenolysis および oxidative phosphorylation に障害があるというもので、後者は成人にとっては異常 Mb である胎児 Mb の残存のため酸素利用の障害があり oxidative phosphorylation が影響をうけるというもので最近では本説の支持者が多いが、また胎児 Mb そのものの存在を否定する学者もあり議論が多い。著者らは正常成人と正常胎児の筋からそれぞれ Mb を純粋に抽出し spectrophotometry を行なったが Fig. 6 のごとく正常胎児 Mb (F-Mb) は成人 Mb (A-Mb) にみられる2つのピークを欠き、また電気泳動によっても Fig. 7 のごとく成人 Mb よりも泳動性が迅速である。Mb は2つに分離して minor fraction のあることを示している。そして Hb よりも泳動が遅い。さらに成人および胎児 Mb を別々に column chromatography にかけてみると (Fig. 8)、胎児 Mb はひとつのピークを有するに對し、成人 Mb は3つのピークにわかれるのである。また胎児 Mb は80%硫酸に対する溶解性が成人 Mb より劣るという Hb に近い性質をもっている。また上述の電気泳動における易動性も成人 Mb と Hb の中間を示すということからもわれわれは胎児 Mb の存在を肯定し、Perkoff<sup>9,10,11,34)</sup> の胎児 Mb 説の妥当性を信ずるのである。ちなみに血液においても胎児 Hb ( $\alpha_2\gamma_2$ ) が生後20週では90%まで、40週ではほぼ完全に、成人 Hb ( $\alpha_2\beta_2$ ) に置換されるが、Mb でも同様のことがあり、先天的にこの転換が障害されると胎児 Mb が残存することになると考えられる。

#### 外科手術に基因する Mb 尿

たとえば手術時の体位として knee-chest 位を6時

間続けたあと7日目に Mb 尿性腎障害のため無尿になった例がある。また心臓手術をうけた16例の患者中6例の術後第1日目尿に、0.015~0.105 mg/ml と低濃度ではあるが Mb を証明したという報告がある (Kagen, L. J.)<sup>33)</sup>。この場合の Hb の起源は不明であるが心臓の可能性を肯定している。

#### 進行性筋萎縮症

本疾患でも Mb 尿をきたすことがある。これも著者らは Mb の分子異常すなわち molecular disease と考えているが、ここでは詳しくは述べない<sup>15,16)</sup>。

#### Mb 尿性筋炎 (myoglobinuric myositis)

このなかには皮膚筋炎の場合も含まれるが、最近では自己免疫疾患と考えられているので Mb 尿は自己免疫反応の結果であるのか、あるいは Mb 自体がなにか抗原性を有しているためなのか今後興味ある問題と思われる。

#### 中毒による Mb 尿

Mb 尿が史上はじめて記載された Haff's disease というのがあるが、スウェーデンでは bay sickness と称されたことからわかるとおり、北欧セルローズ工場廃液中の arsine が原因で、魚介類を通じて人体に影響していたわけで現在いう公害病のひとつであった。

Gross ら<sup>29)</sup> は licorice という一種の甘草の根を1日30~40g 食べた家婦に著明な低K血症と Mb 尿のみられた1例を報告している。licorice の有効成分である glycyrrhizic acid が直接 Mb 尿の原因となったのか低K血症に続発したものは明らかでない。

### **Myoglobin 尿性腎障害の病理**

まず Mb 尿性腎障害の典型的な場合として、crush syndrome で急性腎不全をきたした腎の組織像をみてみよう。Fig. 9~14 は自動車事故による広汎な筋ザメツの結果起こった crush syndrome で無尿となり、事故後1週間目に尿毒症で死亡した25才男子の剖検より得た腎組織である。これは本質的に crush syndrome 以外の myoglobinuric nephropathy の場合と異なるものではない。

Myoglobinuric nephrosis という名もあるごとく、著明な変化は尿管にみられる。尿管管、とくに集合管に色素性物質が充満している (Fig. 9)。これは組織化学的には Hb と区別がつかず、ベンチジン、ヘマトキシリン・エオジン、Masson 三重染色、磷タングステン酸ヘマトキシリン染色ともに同一態度を示すのであるが、H-E 染色の場合、Mb は色調がやや淡明で茶

褐色を帯びている。尿細管上皮は一部壊死を呈し、また部分的に管腔内に剥離している (Fig. 10)。また尿細管内に沈澱した Mb は微細顆粒状の形態をとるため一見赤血球との混同が問題となるが、Mb の方がずっと小さく形も不規則である。小血管内の赤血球との対比でこれは明らかに示されている (Fig. 11)。間質には浮腫が強く、一部尿細管上皮の水腫状変化も認められる (Fig. 12)。やや拡張した Bowman 氏囊の内腔に無構造の沈着物を認める場所もあるが糸球体毛細管自体には著変はない (Fig. 13)。この部位では Mb が尿細管におけるほど明瞭な沈澱物の形態を示さないのは pH の影響と考えられる。そのような糸球体の周辺では近位曲尿細管にも Mb が充満している (Fig. 14)。本症例では急性に経過したため炎症性細胞浸潤や組織球、肉芽腫性変化はなく、また尿細管の再生像は認められない。

以上のような腎組織所見から、重症な腎機能障害を説明できるであろうか。Mb 円柱による単純な尿細管填塞につづく機械的な尿流阻止、その上部のネフロンは拡張ということだけでは形態的な裏づけとしては不足におもわれる。Mb 円柱のないネフロンでは機能障害が起こりえないはずである。であるから、広汎な糸球体濾過液の停滞が生じ、腎阻血から乏尿という経過をたどるという考えが妥当とおもわれる。さらに尿細管による Mb の逆拡散による再吸収もこの機序に加わ

っていることは間違いない。なおひとつ、糸球体に到達する前の Mb は溶解しているが、濾過液では酸性のため沈澱し、はじめて腎障害の起こることは、家兎に Mb を infuse して実験的に Mb 尿性腎不全を起こせるのが尿が酸性のときのみであることから証明されており (Horowitz)<sup>32)</sup>、このことは治療にも関係のあることである。すなわち尿をアルカリ性にする処置を講ずれば、Mb の溶解性を高め腎障害を軽減することが可能である。

## Hb 尿と Mb 尿の鑑別

尿を遠沈して上澄に着色があっても非蛋白性の異常色素、たとえば porphyrin, alkapton, 薬物色素などの存在を除外するためスルフォサリチル酸試験を行なっておく。その確実な方法は、尿 1ml に 3ml の 3% スルフォサリチル酸を加え、よく混和して遠沈し、上澄が正常尿の着色であれば色素は Hb か Mb となる。

新鮮 Mb 尿でも空中に放置すると Mb は酸化されて Met-Mb となるため茶褐色または黒色に近い色となる。しかし Hb も同様の変化を示すので色調からは判別はできない。Mb 尿患者と Hb 尿患者を臨床的に鑑別するには Table 3 のごとき項目について調べれば見当がつくが、やはり実際に排泄された尿について確かな生化学的診断をくだすことが重要であると思う。そのうちの主なものを簡単に述べておく。

Table 3 Clinical differentiation of myoglobinuria and hemoglobinuria

|    |                                | Myoglobinuria | Hemoglobinuria |
|----|--------------------------------|---------------|----------------|
| 1. | Signs and symptoms             | Muscle pain   | No muscle pain |
| 2. | Serum bilirubin                | Normal        | Elevated       |
| 3. | Hemolytic appearance of plasma | No            | Yes            |
| 4. | Reticulocyte counts            | Normal        | Elevated       |
| 5. | SGOT, SGPT                     | Elevated      | Normal         |

## 硫 安 法

Mb が Hb よりも  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  に対する溶解性の大きいことを利用したもので、とくに 80% 飽和液で Mb はなお溶解しているが Hb は不溶性の沈澱をつくる。

新鮮尿 5ml に 3.0g の  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  を加えて混和溶解さす。これで尿は硫安で 80% 飽和する。尿を遠沈し上澄になお着色があれば Mb が存在し、正常尿の色になっていれば Hb である。

新鮮尿によらないときは尿を dil. NaOH にて pH 7.0~7.5 に調整して氷室に入れておけば 2 カ月後でも検査にたえる。新鮮尿が望ましいのは、Mb が変性すると、80% 飽和液で Hb とともに沈澱してしまうからである。

## Spectrophotometry

- ① 被検尿を濾過して細胞成分を除く。
- ② 濾液に 80% 飽和になるように  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  を加え (100ml ならば 60g),  $\text{NH}_4\text{OH}$  にて pH 8.0 に調整し、氷室に 12 時間放置する。
- ③ Celite をとおして濾過する。濾液に着色あればそれは Mb である可能性が強い。沈澱物あれば Hb であり、これに少量の  $\text{H}_2\text{O}$  を加えて溶解させる。
- ④ ③で得た液を dist.  $\text{H}_2\text{O}$  で透析し、Nessler 試薬により陰性になるまで  $\text{NH}_4\text{OH}$  を除く。
- ⑤ 被検体の量が大であれば polyethylene glycol で濃縮する。
- ⑥ Tris buffer (pH 8.6) で 8 時間透析。

⑦ spectrophotometry を 500~640 m $\mu$  の範囲で行ない、吸収曲線をつくる。

Fig. 15 のように Met-Mb の最大吸収部が Met-Hb よりも赤色の方へ片寄り、ピークの位置が Mb: 542/582, Hb: 540/577 付近にみとめられる。

#### 電気泳動法

前項と同様の方法で抽出した色素蛋白液を電気泳動するが、澱粉ゲル電気泳動法が最適である。buffer としては EBT buffer を用いるが次の組成が適当であろう。すなわち stock buffer として

|             |       |
|-------------|-------|
| EDTA (acid) | 0.02M |
| ホウ酸         | 0.5M  |
| TRIS        | 0.9M  |

を調製しておき、gel buffer としてはこの20倍希釈液 (pH 8.6) を、陰極 chamber には7倍に、陽極 chamber には5倍に希釈したものをを用いる。泳動は氷室内で、10 volts/cm の電圧にて16~20時間行なう。できれば対照として標準 Hb および Mb を同時に泳動することが望ましい。Fig. 7, 16 のように Mb は Hb より泳動距離が極端に短い。

#### 血清 haptoglobin 証明による Mb 尿の診断

患者血清に正常 Hb を加えたものを電気泳動する。もし患者が Hb 尿を排泄したのであれば、その原因としての hemolysis のために、Hb と結合して haptoglobin (Hp) がすでに消費されているので、Hb は単独に Hb として泳動する。ところが患者が Mb 尿を排泄していれば溶血は起こっていないから血漿中に Hp が存在していて、加えた Hb と Hb-Hp complex をつくる。これは  $\beta$ -1-globulin と同じような泳動態度を示し、泳動距離が Hb 単独の場合よりずっと短い (Fig. 17)。

#### 免疫学的方法

ふつうの化学的方法で証明できない程度の微量の尿中 Hb, Mb を区別する方法として最近推賞されている。immunodiffusion (Ouchterlony 法) と microflocculation の2方法がふつう行なわれ、後者のほうがはるかに鋭敏である。

抗血清のつくり方：ヒト Mb 抗原液としては Mb 1g (乾燥重量) を生食 20ml の割に溶かしたもの、ヒト Hb 抗原液としては、血液に5倍量の蒸留水を加えて溶血して得た Hb 液 1.6ml に 0.9ml の割で生食を加えたものをを用いる。体重 1½~2kg の家兎の足趾、前後左右計 16カ所に上述の抗原液に同量の Freund's complete adjuvant を加えた混合液のおおの 0.1ml を注射する。すなわち総量 1.6ml となる。第21日目に抗原液に同量の生食を加えて薄めた液 0.5ml を耳静

脈注射、さらに第23日目にも同様の操作をくり返す。第30日目に耳静脈より 10ml、第37日目に同じく耳静脈より 20ml の採血を行なう。採取した家兎血液を室温に1~2時間放置後 clot を試験管壁から離し、氷室に一夜置く。2,000rpm, 10分間遠沈して血清をとり、56°C 30分間加温して補体を非活性化したのち -10°C に保存する。

Immunodiffusion plate の作り方：Difco Bacto-Agar を phosphate saline buffer に 0.5~0.6% の割で加え、煮沸して溶かす。buffer (pH 7.4) の組成は

|                                                     |         |
|-----------------------------------------------------|---------|
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O | 5.1g    |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>                     | 0.64g   |
| NaCl                                                | 8.5 g   |
| sodium azide                                        | 0.2 g   |
| dist H <sub>2</sub> O                               | 1,000ml |

あるいは簡単に

|                        |         |
|------------------------|---------|
| NaCl                   | 8.5g    |
| sodium azide           | 0.2g    |
| dist. H <sub>2</sub> O | 1,000ml |

としてもよい。

直径 9.0cm の Petri 皿に 3mm の厚さになるよう agar を流しこむ。そのためには約 8ml を要する。かたまったのち Feinberg agar gel cutter で Fig. 18 のように well をつくり試料をいれる。われわれは直径 0.8cm とし、中央の抗血清と抗原との中心間距離を 1.4cm としている。フタのうらに湿った濾紙を貼り agar の乾燥を防ぎ、室温に16~72時間置く。沈降線は電燈をとおして観察する。抗原が弱いと沈降線は抗原に近寄ってくる。そのほか agar 濃度があまり高いと反応は鋭敏に出ない。また抗原の希釈に agar を溶かしたのと同じ phosphate saline buffer を用いるとよい。この方法だと 10 $\mu$ g/ml の Mb でも証明できる。

Microflocculation 法：上述と同様、乾燥を防いだ Petri 皿内に置いたガラス板上で 0.02 ml の抗血清に 0.05ml の被検尿を加えて行なう。両者とも完全な溶液でないとは判定を見誤るので戸過してから行なうとよい。対照として非免疫家兎血清についても行なう。この方法はさらに鋭敏で 0.04  $\mu$ g/ml の Hb または Mb をも証明することができる。

結果の判定：抗血清は特異的であって交叉反応はなく、Hb と Mb とが免疫学的に判然と鑑別できる。

#### Millipore filter method

Pore size 75Å で戸過を試みると、分子量 50,000 を境界とするので、Mb なら完全に戸過され、Hb はされない。著者らは能率を上げるため、pressure filter

を用いている (Fig. 19).

#### Sephadex G-50 または75によるゲル透過

被検尿を対照 Hb 液と混じて Sephadex G-50 または75カラムにて, 0.05M NaCl 液を流してクロマトグラフィーを行なうとき, Hb のバンドの上に, 別の明確なバンドがひとつ生ずれば, それは Mb である (Fig. 20).

### ま と め

腎不全の1原因となりうる myoglobinuria について総説的に述べた。すなわち, myoglobin の生化学, myoglobinuria の原因について概説し, myoglobin 尿性腎障害の病理については crush syndrome の腎組織像を示しながら説明を加えた。さらに, hemoglobin 尿と myoglobin 尿の鑑別法に関して最近の知見といささかの経験を紹介した。

(稿を終えるにあたり, 加藤教授の御校閲に感謝する。なお, 本論文の要旨は, 1966年11月3日, 第17回日本泌尿器科学会中部連合地方会において, 特別講演として発表した。)

### 参 考 文 献

Myoglobin の生化学に関するもの

- 1) Åkeson and Theorell, H.: Arch. Biochem. & Biophysics, **91** : 319, 1960.
- 2) Biörck, G.: "On myoglobin and its occurrence in man", Medical Nobel Institute, Stockholm, 1949.
- 3) Biörck, G. and Paléus, S.: Biochemical Clinics "The Heart", p. 9, The Reuben H. Donnelly Corp., New York, 1963.
- 4) Christensen, E. H.: "Muscle as a tissue", p. 187, McGraw-Hill, New York, 1964.
- 5) Fitch, W. M.: J. Mol. Biol., **16**: 17, 1966.
- 6) Haggis, G. H. et al.: "Introduction to Molecular Biology" pp 280~299, John Wiley & Sons Inc., New York, 1964.
- 7) Hudgins, P. C., Whorton, C. M., Tomoyoshi, T. and Riopelle, A. J.: Nature, **212** : 693, 1966.
- 8) Ingram, V. M.: Nature, **189** : 704, 1961.
- 9) Perkoff, G. T. et al.: J. Biol. Chem., **237**: 2820, 1962.
- 10) Perkoff, G. T.: New Eng. J. Med., **270** : 263, 1964.
- 11) Perkoff, G. T.: J. Lab. & Clin. Med., **67**:

585, 1966.

- 12) Steiner, R. F.: "The Chemical Foundation of Molecular Biology", p 204, D. Van Nostrand Comp. Inc., New York, 1965.
- 13) Sunderman, F. W. & Sunderman, F. W. Jr.: "Hemoglobin: Its Precursors and Metabolites", J. B. Lippincott Comp., Philadelphia, 1964.
- 14) Watson, H. C. & Kendrew, J. C.: Nature, **190** : 670, 1961.
- 15) Whorton, C. M., Hudgins, P. C. and Connors, J. J.: New Eng. J. Med., **265** : 1242, 1961.
- 16) Whorton, C. M., Hudgins, P. C., Connors, J. J. and Nadas, A. S.: South. Med. J., **56** : 583, 1963.
- 17) 栗生陽次郎: 四国医学雑誌, **22** : 168, 1966.
- 18) 三好和夫ほか: 神経研究の進歩, **9** : 317, 1965.

Myoglobin 尿に関するもの

- 19) Bailie, M. D.: New Eng. J. Med., **271** : 186, 1964.
- 20) Benoit, F. U. et al.: Ann. Int. Med., **61** : 1133, 1964.
- 21) Berenbaum, M. C., Bird, C. A. and Moreland, J. D.: Lancet **1** : 892, 1955.
- 22) Blondheim, S. H. et al.: J. A. M. A., **167** : 453, 1958.
- 23) Bowden, D. H. et al.: Medicine, **35**: 335, 1956.
- 24) Denson, H. B.: Am. J. Med., **29** : 534, 1960.
- 25) Diamond, I. & Aquino, T. I.: New Eng. J. Med., **272** : 834, 1965.
- 26) Erlenborn, J. W. and Pilz, C. G., J. A. M. A., **181** : 1111, 1962.
- 27) Farmer, T. A., Jr.: New Eng. J. Med., **264** : 60, 1961.
- 28) Gross, E. G., Dexter, J. D. and Roth, R. G., New Eng. J. Med., **274** : 602, 1966.
- 29) Hampers, C. L. and Prager, D.: Ann. Int. Med., **60** : 476, 1964.
- 30) Heitzman, E. J., Patterson, J. F. and Stanley, M. M.: Arch. Int. Med., **110** : 155, 1962.
- 31) Hipp, H. R. and Shukers, C. F.: Ann.

- Int. Med., 42 : 197, 1955.
- 32) Horowitz, H. I. et al., New Eng. J. Med., 262 : 1116, 1960.
- 33) Kagen, L. J. : Ann. Int. Med., 67: 1183, 1967.
- 34) Perkoff, G. T. et al. : New Eng. J. Med., 274 : 1277, 1966.
- 35) Schaar, F. E. : A. M. A. Am. J. Dis. Child., 89 : 23, 1955.
- 36) Schmid, R. and Hammaker, L. : New Eng. J. Med., 264 : 223, 1961.
- 37) Singer, K. et al. : Blood, 10 : 979, 1955.
- 38) Tavill, A. S. et al. : New Eng. J. Med., 271 : 283, 1964.
- Myoglobin 尿性腎障害の病理に関するもの
- 39) アメリカ陸軍省医務局重症者研究班編：創傷の作用と影響（訳），p.191, 240, 医歯薬出版，東京，1952.
- 40) Allen, A. C. : "The Kidney", p. 375, Grune & Stratton, New York, 1962.
- 41) Bywaters, E. G. L. and Stead, J. K. : Quart. J. Exp. Physiol., 33 : 53, 1944.
- Hemoglobin, Myoglobin の電気泳動に関するもの
- 42) Hoerman, K. C. : Blood, 17 : 409, 1961.
- 43) Marsh, C. L. et al., Tech. Bullet. Regist. Med. Technol., 34 : 1, 1964.
- 44) Prasad, A. S. et al.: Ann. Int. Med., 62: 87, 1965.
- 45) Singer, K. et al. : Blood, 6 : 413, 1951.
- Myoglobin 尿の免疫学的診断に関するもの
- 46) Heller P. et al. : J. Lab. Clin. Med., 59 : 401, 1962.
- 47) Naylor, G. R. E. and Adair, M. E. : J. Immunol., 88 : 401, 1962.
- 48) Kagen, L. J. and Christian, C. L. : Am. J. Physiol., 211 : 656, 1966.
- 49) Kagen, L. J. and Gurevich, R. : Immunology, 12 : 667, 1967.
- 50) Kagen, L. J. and Gurevich, R. : Immunology, 13 : 201, 1967.
- 51) Luginbuhl, W. H. : Am. J. Clin. Path., 38 : 487, 1962.
- 52) Rozman, M. J., Peterson, J. A. and Adams, E. C., Jr. : Inv. Urol., 1 : 518, 1964.
- 53) Rozman, M. J. and Adams, E. C., Jr. : Inv. Urol., 4 : 436, 1967.
- 54) Strausser, H. R. et al. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 122 : 621, 1966.
- 55) Yakulis, V. J. and Heller, P. : Am. J. Clin. Path., 37 : 253, 1962.

(1968年5月31日受付)

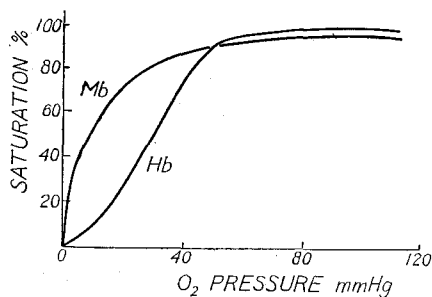
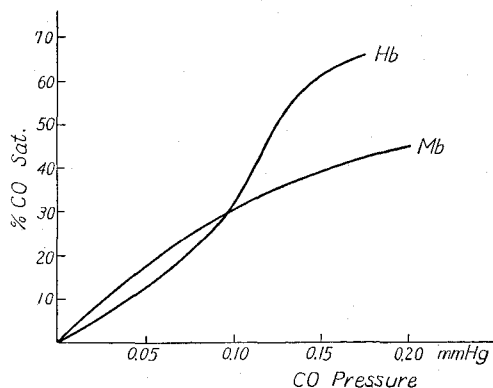
Fig. 1 O<sub>2</sub> dissociation curve, 38°C pH 7.40.

Fig. 2 CO-dissociation curve at body temp. &amp; pH 7.40.

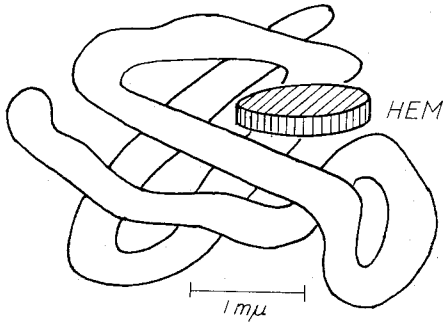


Fig. 3 Tertiary structure of myoglobin.

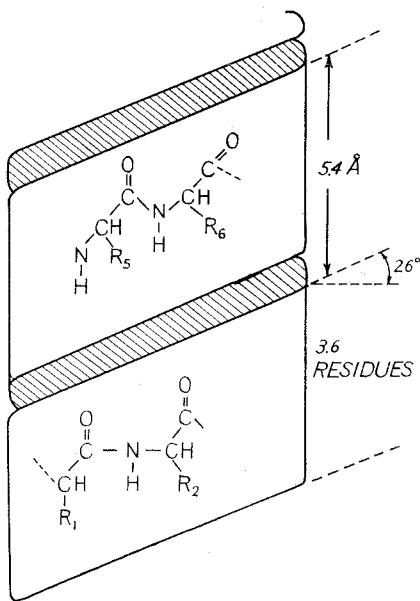


Fig. 4  $\alpha$ -Helix of myoglobin.

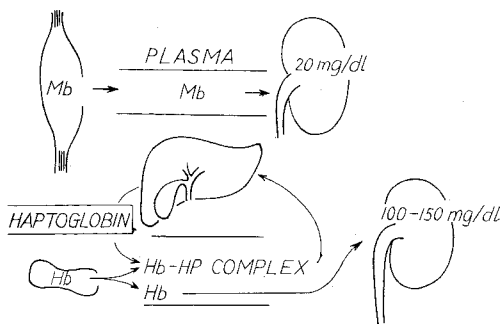


Fig. 5 血漿中に遊離した Mb と Hb の運命 (数字は腎閾値).

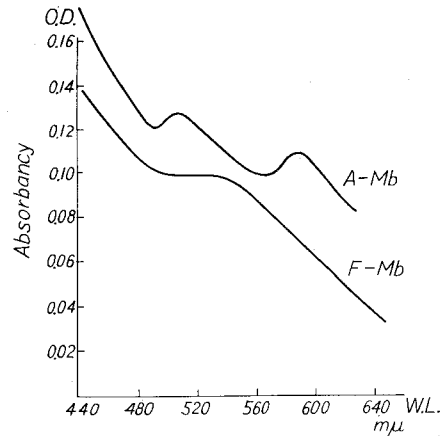


Fig. 6 Met-myoglobin spectrum, 1cm light path, pH 8.6.

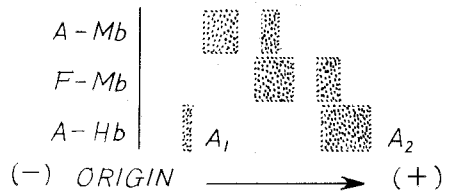


Fig. 7 Electrophoresis (starch gel), pH 8.6.

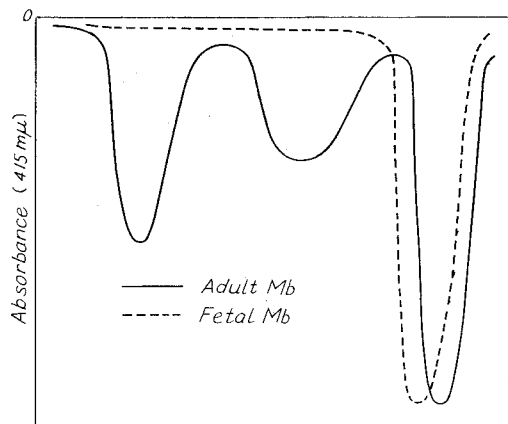


Fig. 8 Column chromatography of Adult and Fetal Mb (TRIS, pH 7.8, DEAE-cellulose).

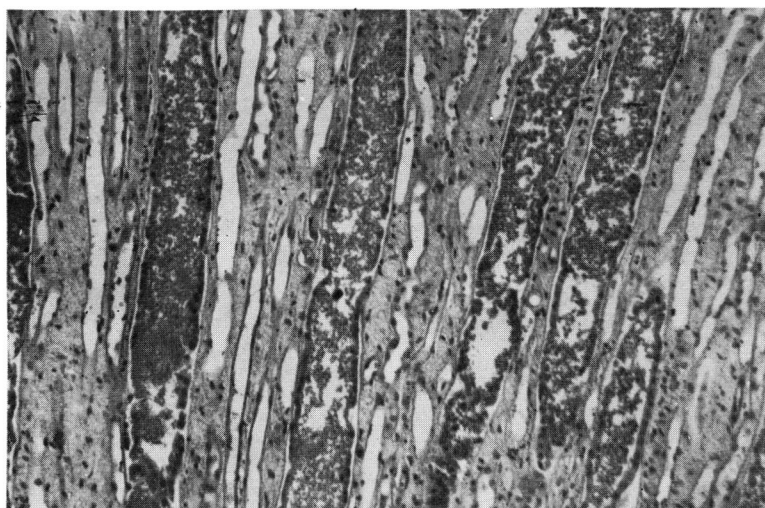


Fig. 9 Myoglobin in the renal tubuli (H-E stain,  $\times 150$ ).

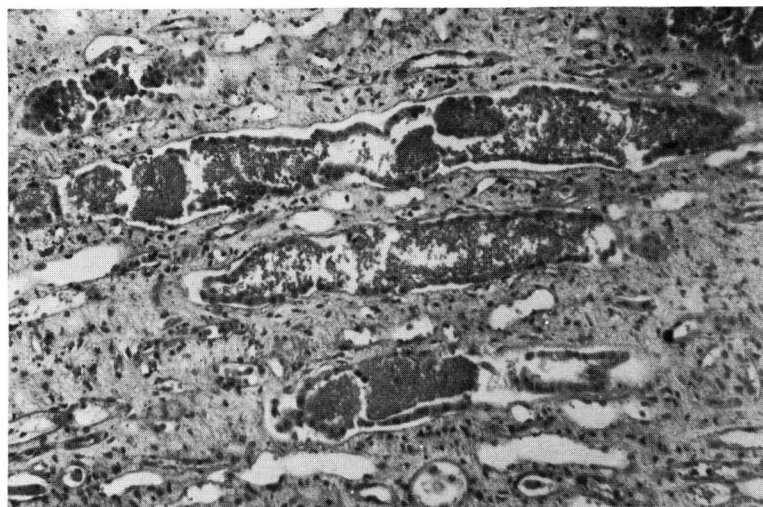


Fig. 10 Focal necrosis and desquamation of the tubulus epithelium (H-E stain,  $\times 150$ )

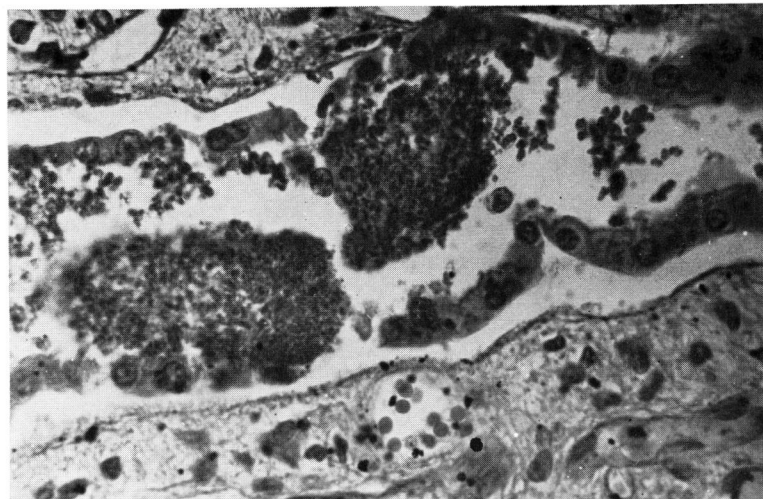


Fig. 11 Contrast of myoglobin particles to erythrocytes in size (H-E stain,  $\times 600$ ).

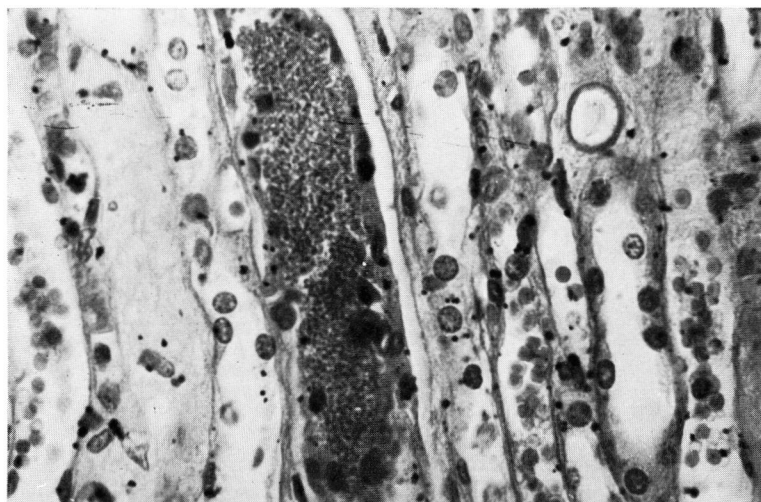


Fig. 12 Interstitial edema and hydropic change of the tubulus epithelium (H-E stain,  $\times 600$ ).

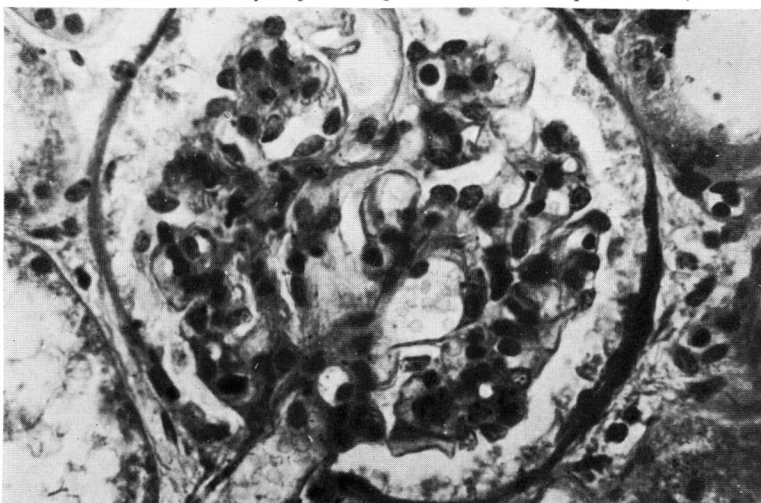


Fig. 13 Amorphous material in the dilated Bowman's space and the rather intact glomerular capillaries (H-E stain,  $\times 600$ ).

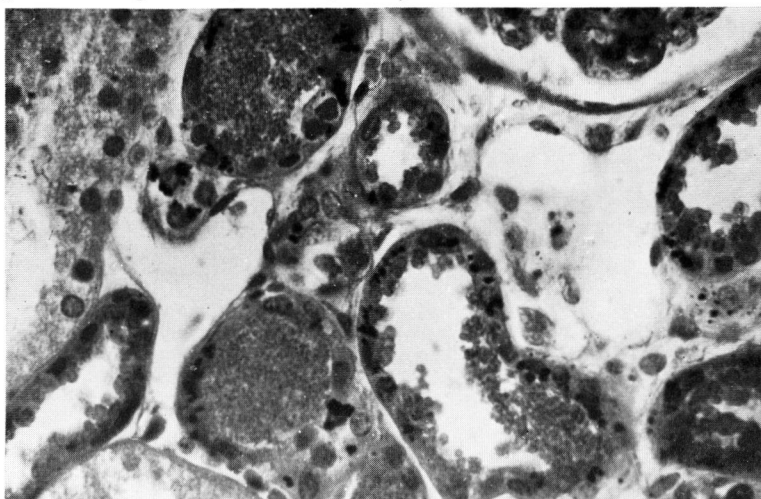


Fig. 14 Proximal convoluted tubuli filled with myoglobin (H-E stain,  $\times 600$ ).

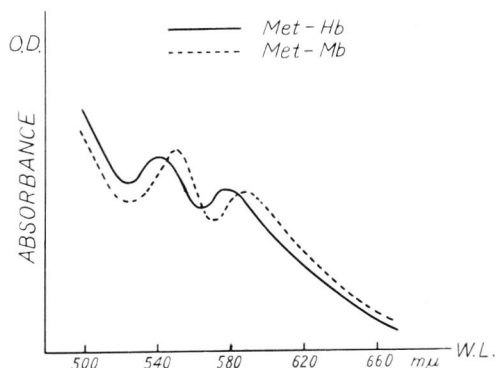


Fig. 15 Spectrophotometric curve.

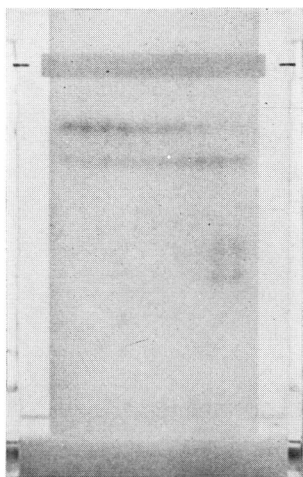


Fig. 16 Descending starch-gel electrophoresis of Mb, and mixture of Mb &amp; Hb (two samples of the right side). Myoglobin has slow mobility (pH 8.6, 20 hrs).

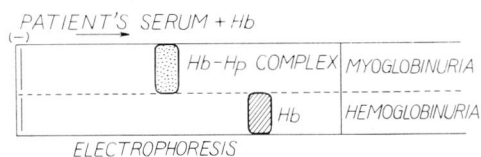


Fig. 17 Serum haptoglobin in myoglobinuria and hemoglobinuria.

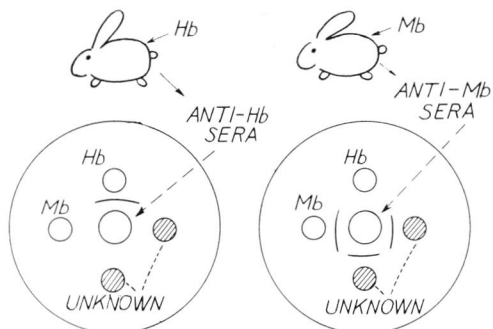


Fig. 18 Immunodiffusion (Ouchterlony) for diagnosis of myoglobinuria.

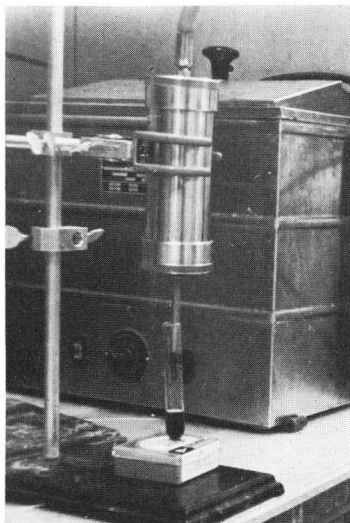


Fig. 19 Pressure filter funnel を用いた myoglobin の millipore filtration (Metricel Type PEM, pore size 75Å 使用).



Fig. 20 Separation of myoglobin (the upper band) and hemoglobin (the lower band) with Sephadex G-75 column chromatography (0.005M NaCl).