

腎臓のろ過機能を理解するための 中空糸膜を利用した実験の開発

西川 洋史
埼玉県立進修館高等学校

高校生物で学ぶ腎臓に関わる生徒実験にはブタ腎臓の解剖があり、形態学的な理解を促す。しかし、腎臓の生理機能を理解するには物質的レベルで捉える実験が必要である。本研究では、中空糸膜のろ過キットを用いた腎臓のろ過機能を模した実験系を開発した。具体的にはグルコース、卵黄アルブミン、食塩を含む溶液を血漿に見立て、各成分のろ過前後の濃度変化を検尿試験紙と電子塩分計で判別可能な濃度及び操作方法を検討した。

キーワード：電子塩分計，腎臓，検尿試験紙，中空糸膜

1. はじめに

高等学校の生物基礎では、体液や免疫・ホルモンなどヒトの生理学に関わる単元において腎臓機能について学習する。腎臓に関する生徒実験は一般的にブタ腎臓の解剖を挙げることができる。具体的には、通常の解剖による内部構造の把握の他、腎動脈から墨汁やメチレンブルーを注入した組織の一部を顕微鏡観察し、糸球体を確認するなどの作業がある。いずれも形態学的な理解を目的としている。しかし、腎臓の生理機能を体験的に学習するには、ろ過や再吸収を物質的レベルで捉える活動が必要だろう。つまり物質の分離や定量又は半定量的な測定の実施が求められる。そこで本研究では人工透析装置ダイアライザーの素材である中空糸膜を用いたろ過器具(図1)と検尿試験紙を活用し、糸球体における限外ろ過を模した実験系を検討した。



図1 中空糸膜と注射器によるろ過キット

2. 測定方法の検討

2.1. 塩分の検出

溶液中の塩分測定は塩分計「電子塩分計SO-304 WH」(株式会社タニタ，東京)で行った。この電子塩分計は、電極が物体に近くなると測定値に大きな誤差が生じる。ろ過後に採集できる溶液は少ないため、誤差を生じない液量を求める必要があった。そこで0.9%食塩(ヒトの生理食塩水の濃度に合わせた)をビーカーに入れ、測定値に及ぼす電極とガラス壁面との距離を検討した。次に中空糸膜でろ過した溶液をフィルターの通過液量10mLごとにフラクションに分け、ろ過前後の測定の誤差について検討を行った。

2.2. グルコースの検出

尿糖試験紙「新ウリエースGa」(テルモ株式会社，東京)によるグルコース検出を検討した。本試験紙は検尿検査用であるため、グルコース溶液に適用できるか確認する必要があった。グルコース溶液は0.5, 1.0, 5.0, 10g/L溶液を調製し、中空糸膜によるろ過前およびろ過後の溶液を100 mLビーカーに30 mL程度入れた。尿糖試験紙をグルコース溶液に浸漬後、30秒待ってから色調表と比較した。

2.3. タンパク質の検出

尿たんぱく試験紙「マイウリエースT」（テルモ株式会社，東京）によるタンパク質検出を検討した。本試験紙が検出のターゲットにするタンパク質は，主にアルブミンである。試薬としてのヒトアルブミンは高価であるため，卵黄アルブミンを代替として使えるか確認を行った。具体的には卵黄アルブミン溶液0.31, 0.63, 1.3, 2.5 g/Lの希釈系列を調製し，中空糸膜のろ過前後の溶液の濃度測定を行った。

3. 結果

3.1. 塩分測定によるろ過方法

電子塩分計による塩分測定では，ビーカー壁面とセンサー部分の距離が測定に及ぼす影響について検討した（図2）。0.9%食塩水をセンサー先端とビーカー壁面を接触させると0.5%になった。センサー先端が壁面から約5 mm離れているときは0.7%，15 mm以上離れると0.9%となった。この条件は100 mLでは40 mL以上，50 mLビーカーでは30 mL以上の液量が必要であることを示す。



図2 電極とビーカー壁面の距離と塩分の関係

電極の位置を把握後，中空糸膜内部に残留する水分の影響について検討した。0.9%食塩水を中空糸膜でろ過した場合，0~10 mLのフラクションは0.5%，10~20 mLのフラクションは0.8%となった。これは元の溶液よりも低い値である。20~30 mLのフラクションからは0.9%になった。このことから中空糸膜でろ過した溶液は，最初の20 mLは測定に使用できないことが分かった。

3.2. 中空糸膜ろ過前後のグルコース濃度

尿糖試験紙を中空糸膜によるろ過前後の溶液に浸漬すると，グルコース0.5, 1.0, 5.0, 10 g/L溶液のいずれにおいても，検査紙の色調に変化は見られなかった（図3）。

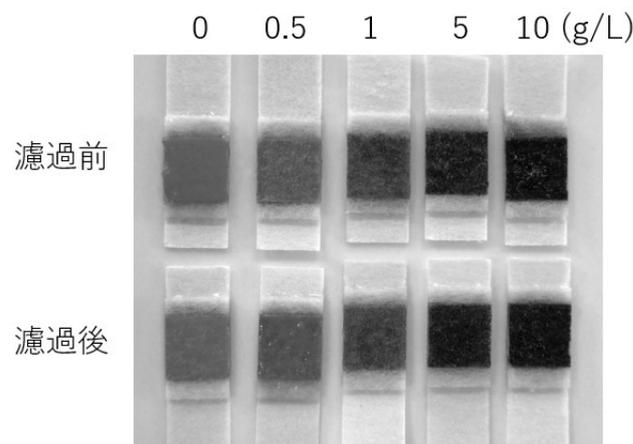


図3 中空糸膜によるろ過前後のグルコース濃度変化

3.3. 中空糸膜ろ過後のタンパク質濃度

尿タンパク質検査紙をろ過前後の溶液に浸漬すると，0.31, 0.63, 1.3, 2.5 g/Lのいずれの濃度でもろ過後の溶液は色が薄くなる（濃度が下がる）ことが分かった。特に1.3と2.5 g/Lでは，ろ過前後の色の差が大ききく，生徒にも視認しやすいと考えられた。この結果は，タンパク質は中空糸膜を通過できないことを示し，糸球体の限外ろ過と対応させることができる。

4. 考察

本研究では，中空糸膜によるろ過によりグルコースと食塩に濃度変化は見られなかったが，卵黄アルブミンタンパク質は明らかに減少することを確認した。このことは本キットで使われている中空糸膜はグルコースと食塩を透過するが卵黄アルブミンタンパク質は透過させないことを示す。糸球体から排出される原尿の主成分は，水分，グルコース，アミノ酸，電解質（ナトリウム，カリウム，リン，マグネシウムなど）尿素である。一方，赤血球や血漿に含まれるアルブミンタンパク質はろ過されない。本研究では原尿に含まれる成分としてグルコースと食塩（再吸収

の理解で注目すべき物質)、アルブミンタンパク質(糸球体から漏出しない)を用いており、糸球体におけるろ過(原尿の生成)を模したモデル実験と言える。腎臓のろ過機能に関する実験は数少ないため、本実験はこれを補完する実験の一つになるだろう。

謝辞

本研究で用いた中空糸膜教材は、東レ株式会社の理科教育プログラム「最先端の水処理技術を実感できる 中空糸膜を使った実験教材「水の中の粒子について考えよう」を活用しました。ご提供に感謝致します。