

## Wistar rat における加齢による糸球体の変化

—糸球体基底膜及び糸球体上皮細胞に注目して—

玉井 仁

腎糸球体構成細胞のうち糸球体上皮細胞は他の細胞に比べて分裂能がないことと、糸球体上皮細胞の基底膜からの脱落が契機となり、基底膜とポーマン囊上皮の癒着がおこり、糸球体硬化病変が形成されていくことを、我々は Wistar 系 rat を用いて証明してきた。分裂能を有さない糸球体上皮細胞を経時的に観察することによって、加齢による糸球体上皮細胞の変化を捉え、糸球体上皮細胞脱落をもたらす因子を解明することができると考え、生後 1 週から 100 週までの正常 Wistar 系 rat を用いて、血管極と尿管極を通る面での糸球体基底膜長と、一糸球体あたりの糸球体上皮細胞数を計測し、同細胞の超微形態学的観察を行った。

加齢の結果、糸球体基底膜長、糸球体体積は統計学的に有意差を持って増大したが、一糸球体あたりの糸球体上皮細胞数はその生涯を通じて 170 前後で不変であった。被覆すべき基底膜面積の増大した高齢ラットの糸球体において、糸球体上皮細胞の細胞内構造に変化を認めた。高齢ラットでは糸球体上皮細胞の剝離、係蹄とポーマン囊上皮の癒着、硬化病変を認めた。

Wistar 系 rat においては、糸球体基底膜が生涯にわたって延び続けるにもかかわらず、糸球体上皮細胞はその数が生涯一定であるため、その物理的なギャップによって上皮細胞の老化、変性、脱落がおこりやすく不可逆的糸球体硬化を形成することが考えられる。

(平成 7 年 10 月 25 日採用)

## Alteration of Glomerulus Due to Aging in a Strain of Wistar Rats

Hitoshi TAMAI

Using normal Wistar strain rats of which the life span is about 2 years, our study group previously reported that podocytes revealed no evidence of proliferation, recently suggested that the process of progressive glomerulosclerosis is contingent upon the development of epithelial cell defects. In order to clarify the details of adaptive processes of podocytes in proportion to the kidney enlargement, the author examined the number of podocyte per glomerulus length of glomerular basement membrane (GBM), and glomerular volume using normal Wistar strain rats throughout life-time.

I detected that glomerular volume kept on increasing with age, and that the mean

number of podocytes per glomerulus remained constant during the experimental period.

That is to say, the potential surface area of GBM covered by a single podocyte kept on increasing over time.

To sum up, in Wistar-strain rats, I showed that, although GBM keeps expanding, podocytes remain constant in number throughout life-time. Because of this physical gap, I suggested that aging and degeneration of podocytes and their detachment from the GBM may readily occur and the glomeruli undergo irreversible changes which finally lead to the glomerular sclerosis. (Accepted on October 25, 1995)

*Kawasaki Igakkaishi 21(3) : 215-224, 1995*

**Key Words** ① Podocyte

② Glomerular basement membrane

③ Number of podocyte

④ Glomerular sclerosis

## 緒 言

腎糸球体を構成する細胞は、メサンジウム細胞、内皮細胞、糸球体上皮細胞およびポウマン囊上皮細胞である。これらの細胞は糸球体構造の維持と共に、血流の調節、物質の濾過に関与し、糸球体腎炎をはじめとする種々の病態においてこれらの細胞が反応性に増殖、消退していくことが知られている。慢性的な糸球体病変は、形態学的に糸球体硬化像を形成し、これが進行すると不可逆的硝子化糸球体の形態像を示すに至る。糸球体硬化の定義は、メサンジウム基質の増加、基底膜の不整、糸球体濾過面積の減少、消失とされており<sup>1)</sup>、その成立機序については様々な意見が述べられている。

糸球体上皮細胞から糸球体硬化の要因を指摘した報告は、Osawa<sup>2)</sup>が糖尿病性腎症における不可逆的な糸球体硬化に糸球体上皮細胞の障害が大きく関与しているとする発表のほか、糸球体肥大により糸球体上皮細胞が糸球体基底膜から剝離する等の形態変化が糸球体硬化の端緒として重要であるとする意見<sup>3)</sup>などに端を発し、最近では腎摘ラット、Adriamycin投与ラットなど急速に糸球体障害を起こしたモデルにおいても糸球体上皮細胞は分裂せずその数は一定であり、糸球体肥大による上皮細胞欠損が硬化の原因であるといった報告が相次いでなされている<sup>4),5)</sup>。Kriz

らも糸球体上皮細胞を Achilles' heel of the glomerulus として糸球体硬化病変の形成に同細胞が強く関与していると指摘している<sup>6)</sup>。

一方、出生後の動物腎で糸球体上皮細胞の分裂増殖が殆どないことも明らかにされている<sup>7),8)</sup>。また、高齢自然発症高血圧ラットの観察で雄にのみ巣状硬化性病変 (FGS) の認められることが報告されている<sup>9)</sup>。しかし、糸球体上皮細胞の数が生涯を通じてどう変化するのは、今のところ明らかでない。従って老齢動物における糸球体硬化病変の発現過程を詳細に検討することによって、不可逆的糸球体硬化過程の機序を明らかにすることができると思われる。そこで、著者は Wistar rat の生理的な加齢に伴う糸球体体積、糸球体基底膜長、糸球体上皮細胞数の変化および糸球体上皮細胞の形態学的な変化と共に、それらと不可逆性糸球体病変の発現との関連性について検討した。

## 対象と方法

### 1. 対 象

糸球体基底膜長の計測及び硬化糸球体出現率の計測

雄 Wistar 系ラット、生後1週、4週、7週、9週、10週、13週、35週、39週、43週、80週、100週齢 (日本クレア社、大阪) 各3匹ずつを使用した。動物は一般飼料 (MF-オリエンタ

ル酵母)と飲料水を自由摂取させ、室温下に飼育した。

**実験2.** 糸球体体積及び一糸球体あたりの糸球体上皮細胞数の計測

雄 Wistar 系ラット, 生後7週, 14週, 22週, 40週, 60週, 100週齢の各3匹ずつを使用した。

**実験3.** 糸球体上皮細胞の超微形態観察

雄 Wistar 系ラット, 10週と100週齢の各3匹ずつを使用した。

## 2. 方法

**実験1.** 糸球体基底膜長の計測及び硬化糸球体出現率の計測

エチルエーテルによる吸入麻酔下で, ラットの心尖部にカニューレを留置, 生理食塩水で灌流した後腎臓を摘出, ブランアルコールで固定し, 脱水後, パラフィン包埋を行った。2 $\mu$ mに薄切後, 脱パラフィンを行いPAS染色を施した。血管極と尿管極を結ぶ赤道面上で観察可能な糸球体10個を各ラット毎に選り検討した。光学顕微鏡400倍観察下で, Automatic Image Analyzer (IBAS, ZEISS, Germany) を用いて糸球体基底膜長を計測した (Fig. 1)。有意差の検討は, Wilcoxon の符号付順位検定を用いて行い, 危険率5%以下を有意差ありとした。検討した糸球体は, 腎皮質外側1/2に存在するものを対象とした。

各週齢5切片以上, 合計1000糸球体を観察し, 硬化糸球体出現率を求めた。なお, ここで対象糸球体は, 皮質全層に存在するものとし, 腎皮質外側1/2, 及び内側1/2に分けて計測した。

**実験2.** 糸球体体積及び一糸球体あたりの糸球体上皮細胞数の計測

エチルエーテルによる吸入麻酔下で, ラットの心尖部にカニューレを留置, 生理食塩水で灌流した後, 2.5% glutaraldehyde で灌流固定した。その後腎臓を摘出, エポキシ包埋し, 1 $\mu$ mに薄切後1%トルイジンブルー染色を施した。IBASを用いWeibelらの方法<sup>10)</sup>に従い, 各ラットの糸球体容積(VG)は50個の糸球体について,

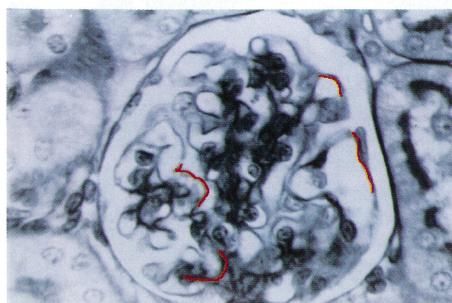


Fig. 1. A glomerulus which is cut along equatorial surface linking the urinary pole and vascular pole. PAS stain.  $\times 400$ . Tracing glomerular basement membrane (red line).

一糸球体あたりの糸球体上皮細胞数(Npod/G)は各ラット10個の糸球体について計測した。Weibelらの方法は切片上の糸球体の断面積から, 体積を推定するものであり, 理論的な仮定と計算法が簡便であり, 多数の糸球体を計測して信頼できる推定値を得るのに適している。すなわち, Figure 2に示すように, IBASにより糸球体係蹄の外側によって囲まれた面積(Tuft area)を求め, これより糸球体容積を算出, さらに糸球体上皮細胞の核面積/Tuft area比, その切片に観察される糸球体上皮細胞の核数を求め, 一糸球体あたりの糸球体上皮細胞数を算出した。

以下, 算出式を示す。

$$VG = \beta/k (AG)^{3/2}$$

$\beta = 1.38$  : shape coefficient

$k = 1.1$  : size distribution coefficient  
for spheres

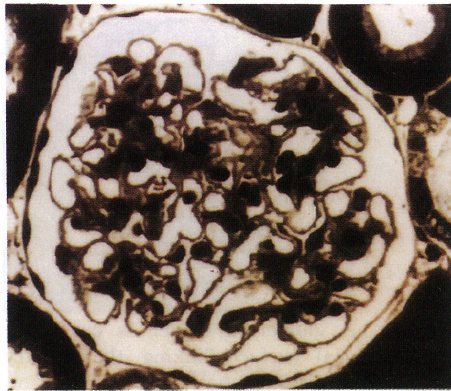
VG : mean tuft volume

AG : glomerular tuft area

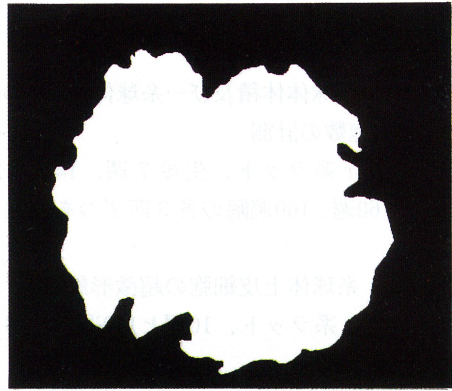
$$Npod/G = k/\beta (Na^3/Vv^{1/2}) \times VG$$

Npod/G : absolute number of  
podocytes/glomerulus of  
average volume

NA : profile density of visceral epithelial cell nuclei



A



B



C

Fig. 2.

A : 1- $\mu$ m thick epoxy sections stained with 1% toluidine blue.

B : The glomerular cross-sectional area.

C : The profile area of podocyte nuclei.

$V_v$  : volume density of the nuclei with  
in the glomerular tuft

$k = 1$  : size distribution coefficient

$\beta = 1.5$  : dimensionless shape coefficient

なお、本実験群では対象とした糸球体はすべて硬化がなく、腎皮質外側 1/2 に存在する表在糸球体を計測に用いた。有意差の検討は、Wilcoxon の符号付順位検定を用いて行い、危険率 5% 以下を有意とみなした。

### 実験 3 . 糸球体上皮細胞の超微形態観察

エチルエーテルによる吸入麻酔下で、ラットの心尖部にカニューレを留置、生理食塩水で灌流した後、2.5% glutaraldehyde で灌流固定し、腎臓を摘出、2% 四酸化オスミウム液にて後固定を行いエタノール系列にて脱水を行い、Epon-

812にて包埋し超薄切後電子染色を施し、JEM-2000 (日本電子) にて観察した。また、足突起間隙と足突起の幅を Osawa の方法<sup>11)</sup> にてその計測部位を決定し、計測した。すなわち、係蹄末梢に注目して上皮細胞足突起が基底膜に垂直に接し、基底膜の三層構造の明らかな部分のみに限定して足突起間隙と足突起の幅を各週齢10糸球体以上、計100ヵ所計測した。有意差の検討は、Wilcoxon の符号付順位検定を用いて行い、危険率 5% 以下を有意とみなした。なお、対象とした糸球体は、腎皮質外側 1/2 に存在する表在糸球体とした。

## 結 果

実験 1 . 糸球体基底膜長の計測及び硬化糸球体出現率の計測

生後1週ラットの糸球体基底膜長は $611.9 \pm 118.7 \mu\text{m}$ であった。その後加齢と共に糸球体基底膜長は延長し続け、生後100週ラットでは $2658.4 \pm 154.3 \mu\text{m}$ で、検討した各週ラットにおいて生後1週ラットの糸球体基底膜長に対し有意差を持って延長していた。また、10週齢と13週齢の群間を除くすべての群間で有意差を認めた (Fig. 3)。

硬化糸球体は100週齢にのみ認められた。出現頻度は腎皮質外側1/2で2.4%、内側1/2で6.2%であった。

**実験2.** 糸球体体積及び一糸球体あたりの糸球体上皮細胞数の計測 (Table 1)

生後7週ラットの一糸球体あたりの糸球体上皮細胞数は $151 \pm 15$ 個、生後100週ラットでは $181 \pm 13$ 個であり、両群間に有意差はなかった。一方、糸球体体積の検討では、生後1週ラットの $0.74 \pm 0.06 \mu\text{m}^3 \times 10^6$ から漸次増大を続け、生後100週ラットでは $2.94 \pm 0.09 \mu\text{m}^3 \times 10^6$ であり、両群間に有意差を持って糸球体体積の加齢に伴う増大を認めた。生後加齢の結果、糸球体体積は有意差を持って増大するにもかかわらず、一糸球体あたりの糸球体上皮細胞数は一定であった。このことは、一つの糸

球体上皮細胞が被覆すべき係蹄面積が加齢に伴い拡大することを示している。

**実験3.** 糸球体上皮細胞の超微形態学的観察 (Fig. 4, 5)

実験1の結果のとおり、100週齢ラットでは基底膜の延長とともに糸球体上皮細胞は引き延ばされ、巨大空胞様構造の出現とその周辺細胞質の菲薄化、足突起の融合、細胞質内円形顆粒構

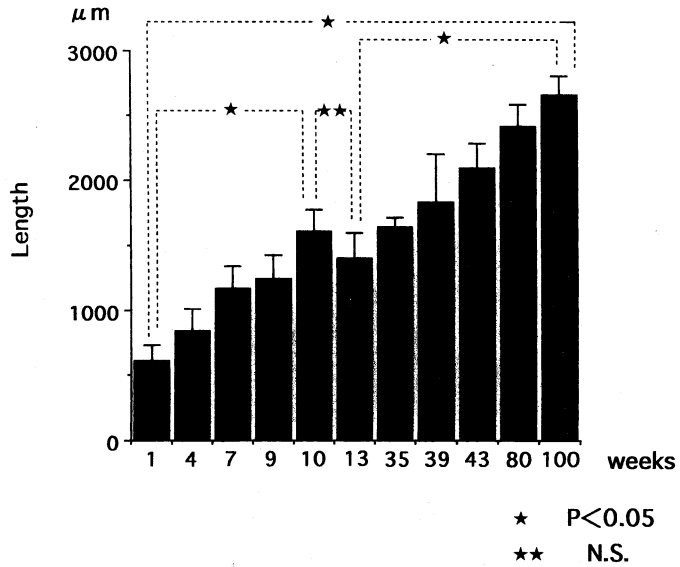


Fig. 3. Length of GBM

Table 1. Morphometric Parameters of Podocytes

	7W	14W	22W	40W	60W	100W
VG ( $\mu\text{m}^3 \times 10^6$ )	0.74±0.06	0.84±0.04	1.49±0.07	1.42±0.03	2.36±0.12	2.94±0.09
Npod/G	151±15	141±12	151±20	150±12	160±15	181±13

All values are expressed as averages ± SD.

VG: average glomerular tuft volume.

Npod/G: average number of podocytes per glomerulus.

☆ ——— P < 0.05

☆☆ ——— N.S.

造の出現, 上皮細胞の基底膜から離開, 剝離消失が認められ, 露出された基底膜部分を覆うようにポーマン囊上皮由来と思われる異型細胞が伸展被覆し係蹄内腔を閉塞に至らしめ, いわゆる糸球体硬化病変を形成するに至った (Fig. 6). 足突起間隙の幅は10週齢ラットで  $26.3 \pm 3.1$  nm, 100週齢ラットで  $24.2 \pm 4.4$  nm, 足突起幅は10週齢ラット  $221.89 \pm 38.94$  nm で, 100週齢ラットで  $215.58 \pm 23.9$  nm と両者に有意差を認めなかった (Fig. 7).

### 考 察

腎糸球体はメサンジウム細胞, 糸球体上皮細胞, 内皮細胞及びポーマン囊上皮細胞から構成されているが, これらの細胞は分裂能に乏しいといわれてきた<sup>4),5),7),8)</sup>. そのなかでも糸球体上皮細胞は生涯一代限りであり分裂しにくい細胞と考えられている<sup>7),8)</sup>. すなわち, Pabst と Sterzel は<sup>3</sup>H-thymidine を用いて Sprague-Dawley rat の糸球体構成細胞の細胞周期を計測しているが, 糸球体上皮細胞にはアイソトープの取り込みが認められなかったとしている<sup>7)</sup>. また, Sakaki と Osawa は S 期細胞周期に細胞に取り込まれる Bromodeoxyuridine (BrdU) を使用して Wistar 系ラットの糸球体構成細胞の細胞動態を検討したところ, 糸球体上皮細胞には BrdU の染色性を認めず, 成熟後の同細胞には分裂能がないと結論している<sup>8)</sup>. このように糸球体上皮細胞はその形態からもまた細胞動態からも高度に分化した細胞であり, 糸球体形成後は分裂能を有さず, 出生後は一代限りの細胞であると考えられている.

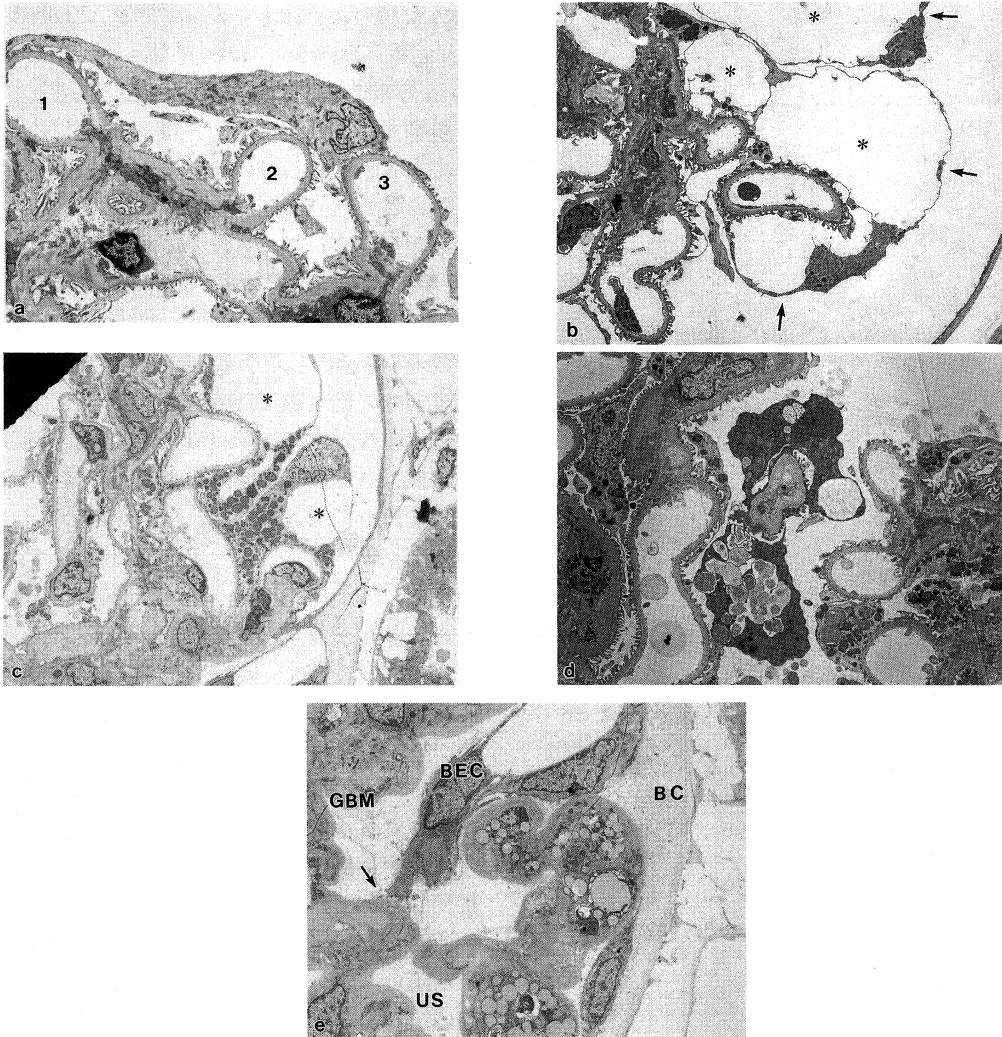
著者の検討結果でも一糸球体あたりの糸球体上皮細胞数は正常 Wistar 系ラットにおいて週齢に拘わらず, 170前後でありこの結論を裏付けている. 前述のように正常 Wistar 系ラットにおいてはその後より加齢に伴う糸球体基底膜長の延長を認めたが, 一つの糸球体上皮細胞が被覆できる濾過面積には限界があると考えれば, このように拡大し続ける濾過面積を被覆すべき糸



Fig. 4. Transmission electron micrograph of 10 weeks rat podocyte. Podocytes are located above the corresponding capillary.  $\times 4000$

球体上皮細胞の数が一定であれば, 糸球体上皮細胞はどの様にして被覆すべき基底膜面の拡大に順応するのであろうか. この点を解明するために係蹄末梢部における上皮細胞足突起幅と足突起間隙の計測を行ってみた. その結果, 足突起間隙幅と足突起幅は10週齢ラットと100週齢ラットの間には有意差はなかった. このことは, 10週齢ラットと100週齢ラットの間で4倍以上に増大した係蹄面積を一定数の糸球体上皮細胞が被覆するためには, 2次突起及び3次突起の延長に伴う足突起の絶対数が加齢に伴って増加する必要があることを示している.

さて, 糸球体上皮細胞障害を主要原因とする進行性糸球体硬化症の動物モデルは, 大きく2つに分けられる. 一つは, Puromycin aminonucleoside, adriamycin あるいは benzidine などを用いて糸球体上皮細胞障害を起こさせるものであり<sup>12)-18)</sup>, もうひとつは, 腎臓部分摘出ラットをもちいたものである. 両モデルとも急速な糸球体上皮細胞障害が起こり FGS 病変の形成を見る. これらのモデルを用いて一糸球体あたりの糸球体上皮細胞数を検討した報告には, Nagata と Kriz<sup>4)</sup> と Fries ら<sup>5)</sup> の報告がある. Fries らは adriamycin を投与したラットに部分的腎摘除術を行い, Nagata と Kriz は, 片腎摘ラットを作成し検討している. 両者とも, 糸球体体積の増大にもかかわらず糸球体上皮細胞の絶対数は不変であった. 雄 Munich-Wistar



**Fig. 5.** Transmission electron micrographs of 100 weeks rat podocytes.  
 (a) Hypertrophic podocyte. At least three capillary profiles (1-3) are served by the same podocyte.  $\times 2500$   
 (b) Hugel stretching podocyt cell-body (arrows). The attenuated cytoplasm bulges to pseudocysts (stars).  $\times 1500$   
 (c) Pseudocysts (stars), dense droplets in the podocyte cytoplasm are observed.  $\times 1500$   
 (d) Many dark staining dense droplets in strongly atrophic podocyte.  $\times 2000$   
 (e) The denuded GBM being covered by Bowman's epithelial cell (arrow).  $\times 2500$   
 GBM : glomerular basement membrane  
 BC : Bowman's capsule  
 BEC : Bowman's epithelial cell  
 US : urinary space

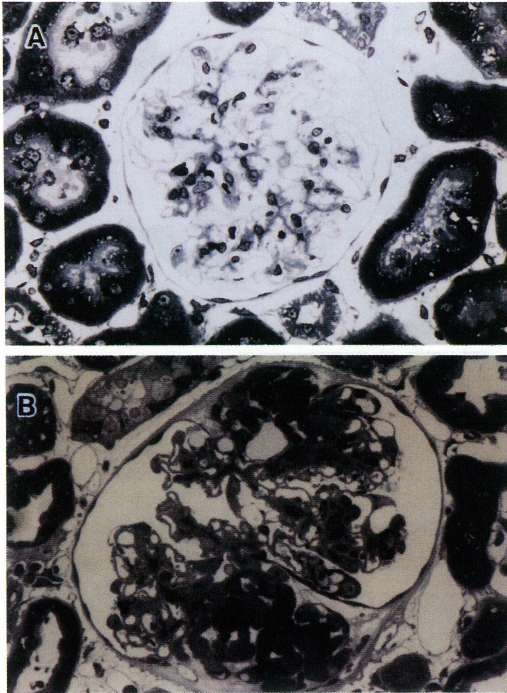
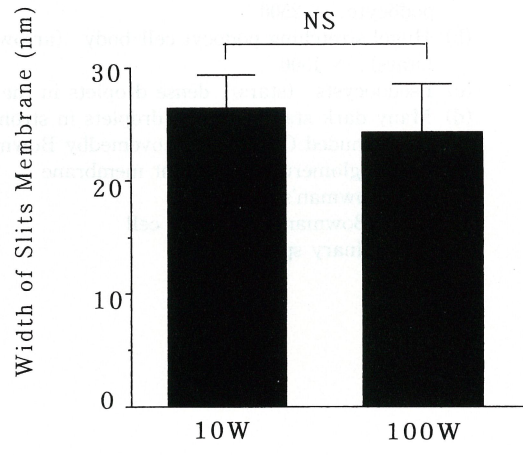
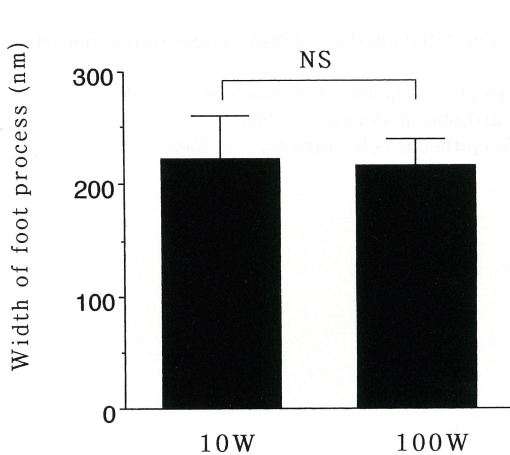


Fig. 6. Light micrographs of glomerular profiles 14 weeks (A) and 100 weeks (B). Toluidine blue stain.  $\times 400$ . The glomeruli undergo irreversible changes resulting in segmental glomerular sclerosis (B).

rats を用いた Fries らの検討では、130前後、雄 Sprague-Dawley rats を用いた Nagata と Kriz の報告では170前後であった。両者とも、糸球体肥大による上皮細胞欠損が糸球体硬化の原因であると報告している。また、Kihara<sup>9)</sup>らは高齢自然発症高血圧ラットの観察で雄にのみ巣状硬化性病変が認められることを報告しているが、糸球体肥大との関連には言及していない。雌 Sprague-Dawley rats を用いて糸球体構成細胞の数のみを検討した John らの検討では、糸球体上皮細胞の絶対数は180前後である<sup>19)</sup>。

著者の検討では、Wistar rat においては加齢の結果、糸球体基底膜長および糸球体体積は有意差を持って増大したが、糸球体あたりの糸球体上皮細胞数は生涯を通じて170前後と一定であった。加齢に伴って糸球体基底膜は拡大していき、これを覆うために同上皮細胞はその細胞質をのぼしていき、しかし一つの糸球体上皮細胞が覆うことのできる糸球体基底膜面積には限界があり、その限界に達したときは、ほかの何らかの誘因が加わった場合に容易に糸球体上皮細胞は基底膜より剝離脱落すると考えられ、この変化を契機に、FGS 病変が形成されていくと推測される。Nagata と Kriz は腎摘ラットにおいて、その糸球体上皮細胞に細胞質の菲薄化、Pseudocyst formation、足突起の融合、糸球体基底膜からの剝離を認めているが、著者も高齢 Wistar rat において同様の変化を認めた。



W : weeks

Fig. 7.

W : weeks



糸球体上皮細胞が基底膜より剝離する条件を考えた場合、先に述べたように adriamycin 投与ラットに代表される代謝性因子と糸球体肥大にその原因を求める機械的因子とに分けられるが、高齢 Wistar rat においては後者がその主因を占めていると考えられる。すなわち、Wistar rat において加齢という観点から糸球体の変化を考えると、生涯にわたって延長し続ける基底膜と、これを被覆する糸球体上皮細胞に分裂能がない、という2点が、糸球体上皮細胞に由来する糸球体硬化病変形成の重要な要因であり、この2つの要因に基づく形態学的変化を加齢による糸球体の変化と考えてよいと思われる。

このような糸球体硬化における糸球体肥大の役割を示唆する成績は、ヒトにおいても散見される。少数のネフロンに著名な肥大を特徴とする Oligomeganephronia は高度な巣状糸球体硬化像を呈する腎不全疾患として知られている。また、逆流性腎症や片腎症例においても、糸球体肥大の程度と、糸球体硬化度および腎機能障害の程度の間に関連が見られている<sup>20)~21)</sup>。さらに、初回腎生検で微小変化型ネフローゼ症候群 (MCNS) と診断された症例中、経時的腎生検で巣状糸球体硬化 (FGS) と診断が推移した症例は、経時的腎生検でも MCNS と診断された症例に比し、初回腎生検時の糸球体サイズが有意に大きかったとする Fogo らの成績<sup>22)</sup> は、ヒトにおいてもまた糸球体肥大が糸球体硬化の risk factor となっている可能性や、糸球体肥大を促進する何らかの因子が FGS の発症早期から関与している可能性などを示唆しており注目に値する。糸球体肥大から糸球体硬化への進展機序を

考えたとき、前述のごとく、糸球体肥大によって生じた糸球体係蹄表面の増加に対し、これを被覆すべき上皮細胞の細胞数が恒常的であるため十分な足突起形成の新生をなし得ず、完全には対応し切れなくなって、上皮細胞が糸球体基底膜から剝離する、いわゆる上皮細胞欠損の機構が糸球体硬化発現の病因の一つであると考えることが出来よう。

## 結 論

経時的な Wistar rat の観察で、

- 1) 糸球体の血管極と尿管極を通る面での基底膜長、及び糸球体体積は加齢に伴い増大したが、糸球体上皮細胞数は生後7週齢から100週齢まで不変であった。
- 2) 延び続ける糸球体基底膜を生涯その数が一定である糸球体上皮細胞が被覆するために、物理的機械的刺激が同細胞にかかり糸球体基底膜から剝離する可能性が示唆された。
- 3) 上皮細胞が糸球体基底膜から剝離する、epithelial cell defects 形成は糸球体硬化の病因である可能性が示唆された。

稿を終えるにあたり、大澤源吾教授の直接のご指導とご校閲に深く感謝するとともに、川崎医科大学電子顕微鏡センターの各位からもご指導をいただきましたことに感謝いたします。

なお、本論文の要旨は第13回国際腎臓学会(1995年、マドリッド)、及び第37回日本腎臓学会総会(1994年)で報告した。

## 文 献

- 1) Border WA, Okuda S, Nakamura T: Extracellular matrix and glomerular disease. *Semin Nephrol* 9: 307-371, 1989
- 2) Osawa G: Diabetic nephropathy. *Jpn J Nephrol* 31: 412-414, 1989
- 3) Yoshida y, Fogo A, Ichikawa I: Glomerular hemodynamic changes vs. hypertrophy in experimental glomerular sclerosis. *Kidney Int* 35: 654-660, 1989
- 4) Nagata M, Kriz W: Glomerular damage after uninephrectomy in young rats. II. Mechanical stress

- on podocytes as a pathway to sclerosis. *Kidney Int* 42 : 148-160, 1992
- 5) Fries JWU, Sandstrom DJ, Meyer TW, Rennke HG : Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulate progressive glomerulosclerosis in the rat. *Lab Invest* 60 : 205-218, 1989
  - 6) Kriz W, Elger M, Nagata M, Kretzler M, Uiker S, Hagemann IK, Tenschert S, Lemley KV : The role of podocytes in the development of glomerular sclerosis. *Kidney Int* 45 Suppl. 42 : S-64-S-72, 1994
  - 7) Pabst R, Sterzel RB : Cell renewal of glomerular cell types in normal rats. An autoradiographic analysis. *Kidney Int* 24 : 626-631, 1983
  - 8) Sasaki T, Osawa G : A kinetic study of the glomerular cells of developing and mature rat kidneys using an anti-bromodeoxyuridine monoclonal antibody. *Jpn J Nephrol* 35 : 1213-1219, 1993
  - 9) Kihara I, Yaoita E, Yamamoto T : Cellular processes of glomerular adhesion in aged rats. *Acta Medica et Biologica* 38 : 69-80, 1990
  - 10) Weibel ER : *Stereological Methods. Practical Methods for Biological Morphometry.* London, Academic Press, 1979
  - 11) Osawa G, Kimmelstiel P, Seiling V : Thickness of glomerular basement membrane. *Am J Clin Path* 45 : 7-20, 1966
  - 12) Venkatachalam MA, Cotran RS, Karnovsky MJ : An ultrastructural study of glomerular permeability in aminonucleoside nephrosis using catalase as a tracer protein. *J Exp Med* 132 : 1168-1180, 1970
  - 13) Ryan GB, Karnovsky MJ : An ultrastructural study of the mechanism of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 8 : 219-232, 1975
  - 14) Caulfield JP, Reid JJ, Farquhar MG : Alterations of the glomerular epithelium in acute aminonucleoside nephrosis. Evidence for formation of occluding junctions and epithelial cell detachment. *Lab Invest* 34 : 43-59, 1976
  - 15) Bertani T, Poggi A, Pozzoni P, Delaini F, Sacchi G, Thoua Y, Mecca G, Remuzzi G, Donati MB : Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats : sequence of pathologic events. *Lab Invest* 46 : 16-23, 1982
  - 16) Weening JJ, Rennke HG : Glomerular permeability and polyanion in adriamycin nephrosis in the rat. *Kidney Int* 24 : 152-159, 1983
  - 17) Grond J, Weening JJ, Elema JD : Glomerular sclerosis in nephrotic rats. Comparison of the long-term effects of adriamycin and aminonucleoside. *Lab Invest* 51 : 277-285, 1984
  - 18) Grond J, Weening JJ, Van Goor H, Elema JD : Application of puromycin aminonucleoside and adriamycin to induce chronic renal failure in the rat. *Contrib Nephrol* 60 : 83-93, 1988
  - 19) John FB, Mary CS, Sharon DR, Graeme BR : Total numbers of glomeruli and individual glomerular cell types in the normal rat kidney. *Cell Tissue Res* 270 : 37-45, 1992
  - 20) El-Khatib MT, Becker GL, Kincaid-smith PS : Morphometric aspects of reflux nephropathy. *Kidney Int* 32 : 261-266, 1987
  - 21) Bhathena DB, Julian BA, McMorro RC, Baenler RW : Focal sclerosis of hypertropied glomeruli in solitary functioning kidneys of humans. *Am J Kid Dis* 5 : 226, 1985
  - 22) Fogo A, Hawkins EP, Berry PL, Glick A : Glomerular hypertrophy in minimal change disease-predicts subsequent progression to focal glomerular sclerosis. *Kidney Int* 38 : 115-123, 1990