

神奈川県学校・腎疾患管理研究会 医師部会・第33回研究会

日 時：平成14年12月7日(土) 15時～17時

場 所：神奈川県予防医学協会

講 演

「尿中酵素及び尿中低分子蛋白質の経時的測定による腎機能の傾向予測」 慢性腎不全例での検討

尿中低分子蛋白質・尿中酵素の測定の意義

講 師 神奈川県予防医学協会 検査第1部 臨床検査科 渡 邊 和 子

座 長 神奈川県予防医学協会 検査科長 金 子 治 司

尿中酵素及び尿中低分子蛋白質の経時的測定による 腎機能の傾向予測 慢性腎不全例での検討

(財)神奈川県予防医学協会 検査第1部

渡 邊 和 子
青 木 芳 和

(株)メコム

五 十 嵐 す み 子

小児腎疾患総合管理研究所

酒 井 糾

はじめに

慢性腎不全は長い期間をかけて徐々に腎機能を喪失し、ついに透析への経過をたどる疾患である。治療は透析に至るまでの期間を可能な限り長引かせることに主眼がおかれている。このため腎機能検査による経過観察が非常に重要であり、特に腎機能低下を早期に示唆する検査は意義が高い。腎機能の長期モニターとしては、血清クレアチニン(CRTN)・血清尿素窒素(BUN)赤血球数(RBC数)などが用いられてきた¹⁾。しかし、近年になって尿中N-acetyl-D-glucosaminidase(尿中NAG²⁾・尿中₁マイクログロブリン(尿中₁MG)³⁾・尿中₂マイクログロブリン(尿中₂MG)⁴⁾などが測定されるようになってきた。今回我々は、慢性腎不全患者の経過観察に、従来の項目に尿中₁MGを加えることで、病態変化をより早期に把握出来ることを確認した。

検討対象および方法

当協会腎外来を継続受診している患者のうち、経過観察中に透析に入った3名を含む成人男性4名、女性2名の慢性腎不全患者を対象とし、平成

3年6月～9年3月および平成11年1月～14年3月までの約9年間経過観察を行った。検討項目は、尿中NAG・尿中₁MG・尿中₂MG・BUN・CRTN・血清総蛋白(TP)・RBC数の7項目とした。CRTNは、平成5年3月まではJaffe法、それ以降は酵素法にて測定した。BUNは酵素法、TPはピウレット法で、平成8年3月までは生化学自動分析装置RX-20(日本電子)それ以降は生化学自動分析装置7250(日立)にて測定した。RBC数は全自動血球数算定装置STKS(コールター社)にて測定した。尿は早朝尿を用い、NAGはソジオ3,3,-ジクロロフェノールスルホンフタレイニルN-アセチル-D-グルコサミニド(CPR-NAG)を基質としたNAGレートテストシオノギ塩野義で、₁MGはLA-₁-マイクログロブリン(栄研)(栄研化学)にてラテックス免疫比濁法で、尿中₂MGはエクステル-₂-マイクログロブリン(協和メディックス)にてラテックス免疫比濁法でCOBAS FARA(ロッシュ社)を用いて測定した。結果は尿中NAG・尿中₁MG・尿中₂MGの測定値を尿中CRTNで補正したINDEXで表わした。

結果

慢性腎不全患者3名の検査値の推移を図1～図3にグラフ化して示した。図1のグラフは、経過

観察中CRTNが2.0mg/dℓを超えることがなく安定していた観察開始時31歳の女性である。平成3年6月を測定開始時点とし、横軸に経過観察中の月数を示した。尿中α1MGと尿中NAGは、ほぼ同じ

図1 女性K・K

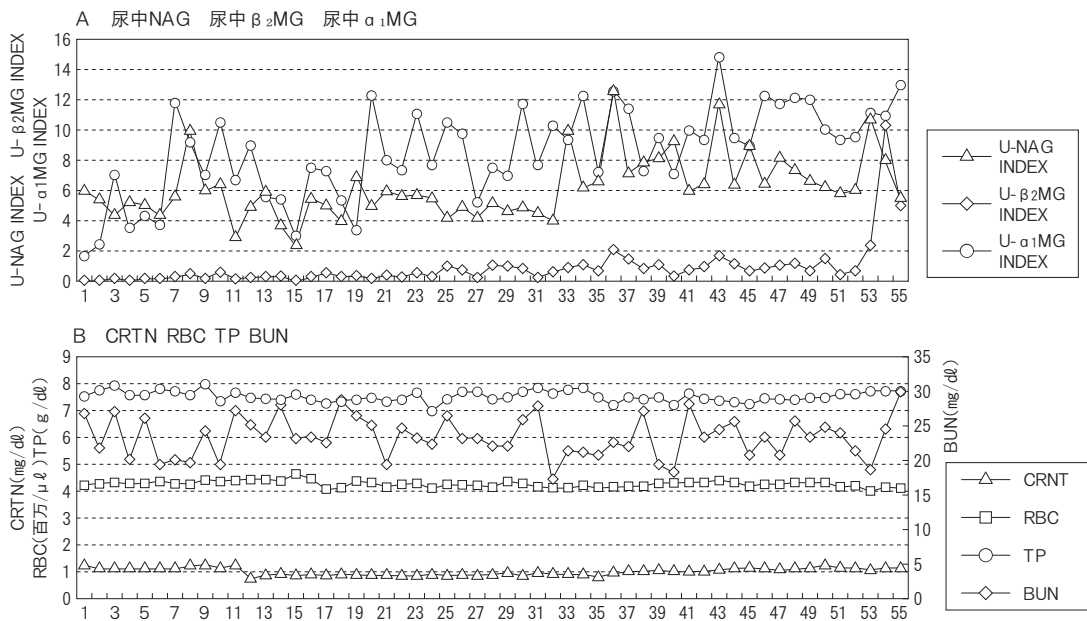


図2 透析 男性 S・N

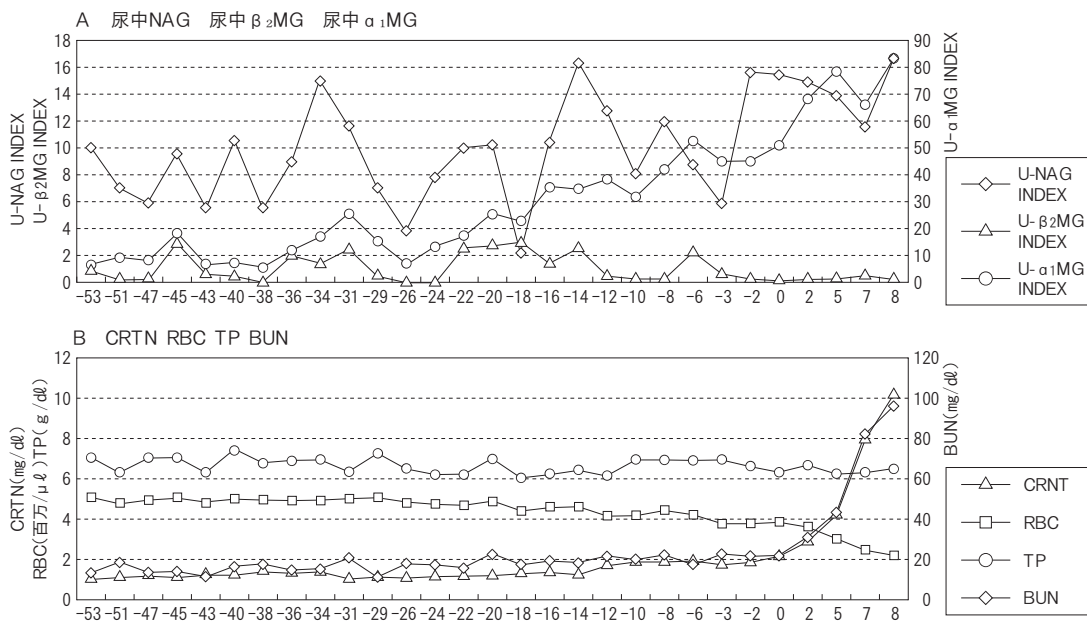
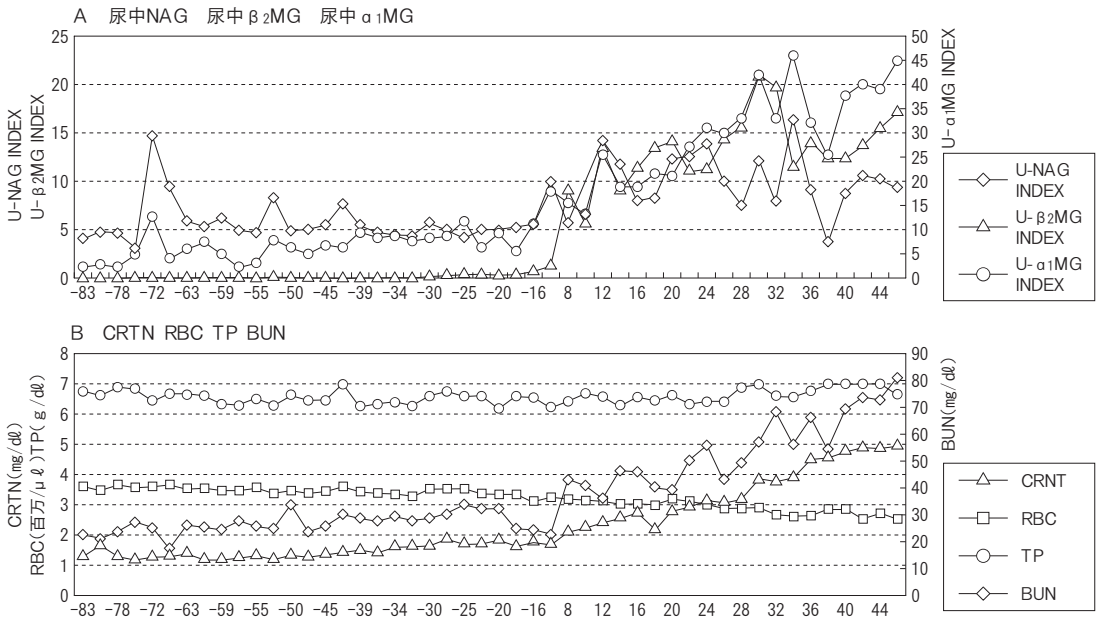


図3 男性 M・S



動きをしながら非常に緩やかな上昇を認めた。尿中 β_2 MGは53ヶ月目に急激な上昇を認めた。他の項目は、変動を認めなかった。

図2には、観察中の平成8年7月、44歳で透析に入った男性患者の経過を示した。図2～図3は、CRTNが継続して2.0mg/dlを超えた時点を0ヶ月とし、横軸に経過観察中の月数を示した。

CRTNが継続して2.0mg/dlを超えてから8ヶ月目に透析となった。尿中 α_1 MGはCRTNの上昇より38ヶ月早く上昇、BUNはCRTNと同時期に上昇を認めた。RBC数は3ヶ月前から減少を認めた。CRTNが透析前68～33ヶ月にならないと増加が認められなかったのに対し、尿中 α_1 MGはCRTNの上昇よりさらに44～24ヶ月前から増加し、腎不全の増悪をより早期に把握できることを確認した。

図3は、男性患者の経過である。CRTNが継続して2.0mg/dlを超えてから50ヶ月目の平成14年10月61歳で透析に入った。他の透析となった方と同様に尿中 α_1 MG・BUN・CRTNの上昇が認められた。尿中 α_1 MGは、CRTNが継続して2.0mg/dlを超える57ヶ月前から上昇が認められた。BUNは16ヶ月前、尿中 β_2 MGはCRTNと同時期から上昇を認めた。この間RBC数は、緩やかな減少傾向を認めた。

経過を図で示さなかったが、その他の3名についても同様に尿中 α_1 MGはCRTNの上昇に先立って上昇を認めた。

IV 考察

今回の結果では、尿中 α_1 MGは、尿中NAGや β_2 MGに比べて、腎機能の荒廃を最も良く反映しているものと考えられた。尿中 α_1 MG、尿中 β_2 MGなど低分子蛋白は尿細管障害・機能低下の指標として知られている。尿中 α_1 MG・尿中 β_2 MGは糸球体濾過率(GFR)の低下をよく反映し、CRTNの上昇に先行して上昇する。しかし β_2 MGは、酸性尿中では不安定であり、悪性腫瘍や肝疾患など血中 β_2 MGが上昇する疾患においても尿中 β_2 MG排泄増加をきたすため、その特異性に問題があると言われている。⁴⁾尿中NAGは、ほぼ腎由来で、特に腎近位尿管上皮細胞内に高濃度に存在する酵素であり、尿管障害の指標とされている。²⁾NAGは尿管細胞のライソゾームに局在する酵素であるため、尿管細胞が破壊されると尿中出现する。しかし尿管が荒廃し細胞数が減少した慢性腎不全の状態では尿中NAGはむしろ低下した(図3)。しかも、CRTNの上昇に伴ったデータの変動

は認められず、尿中NAGによる病態の把握は困難であると思われた。尿中₁MGはCRTNが継続して2.0mg/dlを超える87~24ヶ月前より、BUNは44~0ヶ月前より上昇を認めた。BUNは、蛋白の摂取量や代謝、尿量、腎の循環動体などの影響を受け⁵⁾、またその増加の度合は尿中₁MGに比べ小さいことを考えると、慢性腎不全の経過観察に尿中₁MGを追加することで、より早期に確実に病態の増悪を把握できることが示唆された。

まとめ

- 1 . 尿中₁MGは、尿中₂MG、NAGに比べて腎機能をよく反映していると考えられる
- 2 . 尿中₁MG、BUNは、CRTNの上昇に先だって上昇した
- 3 . 腎不全の経過観察に尿中₁MGを追加することで早期に増悪を把握できることが示唆された

〔参考文献〕

- 1) 飯田喜俊,二瓶宏:腎臓病のマネージメントチームアプローチと患者指導の実際,110-111,医学書院,1992
- 2) 佐野紀代子,宇野恵美子:尿中NAG活性測定の基礎的検討および腎機能検査との関連性,臨床病理,56(特集),111-121,1983
- 3) Itoh Y, Kawai T:Human₁-microglobulin: its measurement and clinical significance. J Clin Lab Analysis, 4, 376, 1990
- 4) Revillard JP, et al: ₂-microglobulin:structure, metabolism, and alternations in diseases, p7 Wichitig, Milano, 1989
- 5) 黒川清:腎臓病学,53-55,医学書院,1995

尿中低分子蛋白質・尿中酵素の測定の意義

(財)神奈川県予防医学協会 検査第1部

渡 邊 和 子

近年、蛋白尿が尿細管間質傷害に関与していることがわかり、従来、糸球体傷害の結果、間質傷害がおこると思われていたが、それよりも早い時期から間質傷害がおこっていることが明らかになってきた。尿細管機能障害の指標としては、低分子蛋白質が、また尿細管細胞傷害の指標としては、尿中N-acetyl-β-D-glucosaminidase (尿中NAG) が測定されている。これらの検査はより早期に尿細管間質傷害を把握するために、ますます重要になると思われる。今回、低分子蛋白質および尿中尿細管間質傷害酵素について測定の意義を簡単にまとめた。

1. 尿中低分子蛋白質¹⁾

分子量が6万ダルトン以下のいわゆる低分子蛋白質は、糸球体基底膜を比較的容易に通過して血漿から糸球体ろ液に移行し、近位尿細管にて約95%が再吸収され、異化される。そのため正常では実際に尿中に排泄される低分子蛋白の濃度は極めて低くなる。しかし、尿細管が障害を受けその機能が低下すると、尿細管での再吸収を受けることなく尿中に排泄されることとなり、腎糸球体で

のろ過機能と尿細管での再吸収・異化機能によって尿中排泄量が左右され、尿細管機能を鋭敏に反映することから尿細管機能の簡易検査として利用されている。低分子蛋白質としては、尿中₂MGや₁MGが一般的に測定されている。主な尿中低分子蛋白質を表1²⁾に示す。

(1) ₂マイクログロブリン (₂MG)³⁾

分子量11600の100個のアミノ酸から構成された単体ポリペプチドで、生体内のほとんどの有核細胞で産生され、血液、尿、体液中に微量に存在している。尿中₂MGは、腎糸球体で血液からろ過されたもので、尿細管でそのほとんどが再吸収され異化されるため、正常では微量にしか存在しない。尿細管が種々の疾患で障害されると、近位尿細管での再吸収能が低下するため尿中への排出量が増加する。また、悪性新生物など腎疾患以外の原因で血中₂MGが上昇すると、糸球体での₂MGのろ過量が増大し、尿細管の再吸収閾値を越えるため尿中への排出量は増加するので注意が必要である。尿細管の再吸収能の低下は、比較的早期から明確に出現するため、尿細管障害の早期診断法として日本では広く利用されている。しかし、₂MG

表1 主な尿中低分子蛋白質 (文献2より引用)

蛋白質	分子量	移動度	尿中濃度	主な機能
β ₂ -マイクログロブリン	11800	β ₂	0.1mg/day以下	HLA抗原のL鎖
ユーリンプロテイン1	14000	α ₂	20 μg/day以下	Clara細胞分泌蛋白
リゾチーム	15000	post-γ	1.1mg/day以下	白血球酵素
レチノール結合蛋白	21000	α ₁ ~α ₂	0.2mg/day以下	ビタミンA担送
α ₁ -マイクログロブリン	30000	α ₁	5~6mg/day以下	免疫抑制機能
L鎖(2量体)	44000	α ₂ ~γ	—	免疫グロブリンL鎖
β ₂ -糖蛋白I(アポH)	50000	β ₂	242±132 μg/ℓ(随時尿)	カイロミクロン・VLDL・HDL中に存在

は、酸性尿中では非常に不安定で、酸性プロテアーゼによって速やかに分解されてしまうため、pHの確認が重要で、pH5.5以下の尿は、水酸化ナトリウム溶液などを用いて速やかに調整する必要がある。したがって、膀胱にたまっていた早朝尿を検体として用いた場合、すでに α_2 MGが分解されてしまい測定値が低くなってしまふ可能性がある。

(2) α_1 マイクログロブリン (α_1 MG)⁴⁾

分子量30000、糖量約20%の特異な物理化学的性状を有する比較的新しく検査領域に登場した蛋白質で、遊離型の低分子 α_1 MGとIgAと結合した高分子型(結合型) α_1 MGがほぼ同率の割合で存在している。低分子型(遊離型)の α_1 MGは主に肝臓で産生され、極めて短時間に腎糸球体基底膜を通して近位尿細管で再吸収、異化される。高分子型 α_1 MGは、産生部位、異化組織などは全く不明である。尿、髄液など種々の体液中に分布するが、低分子 α_1 MGの異化組織は腎であり、糸球体過剰の低下を反映して上昇し、24時間クレアチンクリアランスと負の相関が認められる。 α_1 MGはクレアチンが100L/日以下になると上昇が認められ、クレアチンは50L/日以下でないことと上昇しないことから、糸球体過剰の低下を鋭敏に反映していると考えられる。また尿中 α_2 MGと比較して、腎前性の変動が少なく、低いpHでも安定で変性せず、排泄量が多いため測定しやすい等の利点がある。

2. 尿中酵素⁵⁾

腎機能検査として利用されている酵素には、尿中N-acetyl- β -D-glucosaminidase (尿中NAG)⁶⁾、

GTP、LDH、アラニンアミノペプチダーゼなどがある。このなかでもNAGは、尿蛋白が陰性の時期からすでに尿中NAGの活性が認められることからその有用性が定着している。NAGは、分子量13万~14万で、ヒト臓器に広く分布し、糖蛋白やムコ多糖類の分解に関与し、リソソームに存在する。分子量が大きいため、血清中のNAGは正常では尿中に排泄されることはなく、尿中NAGは、ほぼ腎由来で特に近位尿細管上皮細胞に高濃度に存在するといわれている。尿中NAG活性は、腎疾患、糖尿病、急性肝炎、多発性骨髄腫、白血病、前立腺炎、精液の混入等で上昇する。検体は、4 また

は-20℃で2週間は安定だが、pH8.0以上のアルカリ尿およびpH4.0以下の酸性尿では失活する。

3. シスタチンC⁷⁾

最近注目されている分子量13000の塩基性低分子蛋白質である。体内でCystein proteaseの機能を抑制するanti-proteaseとして働き、酵素による細胞質および組織の障害を抑制、細菌およびウイルスの増殖の抑制、炎症時マクロファージ由来のCystein proteaseを抑制することで生体防御を行っている。腎糸球体で過剰に、近位尿細管で再吸収されるため、血中シスタチンCの濃度は腎糸球体過剰に依存している。細胞内外の環境変化に影響されず、常に一定の割合で全身の有核細胞で産生分泌されているため、性差、年齢差がなく腎前性の影響を受けず、塩基性蛋白であるため糸球体基底膜の荷電変化を鋭敏に反映すると考えられる。クレアチンのようにクリアランスをとる必要がなく、血清だけの測定で腎糸球体過剰機能の推定が可能であり、クレアチンにかわる腎機能の指標として有用性が高いのではないかと注目されている。

以上、近年測定されるようになってきた尿中低分子蛋白および酵素について概説した。今後、さらにこれらの項目が利用されるためには測定においては標準化が、臨床においてはエビデンスの蓄積が必要である。

〔参考文献〕

- 1) 河合忠:尿中低分子蛋白,臨床検査,8,829-834,1988
- 2) 伊藤喜久:尿中低分子蛋白,検査と技術,6,78,1992
- 3) Revillard JP, et al: α_2 -microglobulin: structure, metabolism, and alternations in diseases, p7 Wichtig, Milano, 1989
- 4) Itoh Y, Kawai T: Human α_1 -microglobulin: its measurement and clinical significance. J Clin Lab Analysis,4,376,1990
- 5) 杉野信博,河合忠:尿細管異常の検査と臨床,115-116,宇宙堂八木出版,1987
- 6) 佐野紀代子,宇野恵美子:尿中NAG活性測定の基礎的検討および腎機能検査との関連性、臨床病理,5(特集),111-121,1983
- 7) 内田孝夫,後藤明子:尿中シスタチンC測定による腎症の新しい早期診断法の開発,臨床検査機器・試薬,2(6),807-816,1997