

小児尿蛋白の研究：第1報 尿蛋白反応陰性例における尿中蛋白排泄量

佐々木, フサ

<https://doi.org/10.15017/87>

出版情報：九州大学医療技術短期大学部紀要. 4, pp.69-72, 1977-03-25. 九州大学医療技術短期大学部
バージョン：
権利関係：

小児尿蛋白の研究

第1報 尿蛋白反応陰性例における尿中蛋白排泄量

佐々木 フサ

Studies on Urinary Proteins in Children

I. Urinary Protein Excretion in Children with Negative Protein Reaction

Fusa Sasaki

緒言

蛋白尿は腎疾患をはじめ、種々の疾患で見出され、診断面のみならず病態の理解上きわめて有用であるので、種々な方法で分析されている。ことに電気泳動法や、各種クロマトグラフィの進歩、普及にともない、多くの研究成果が報告されている。

一方、正常人の尿中にも微量の蛋白が存在することが、1949年 Gunton ら³⁾により示されて以来、類似の報告がかなりみられる。しかしこれらの報告は、成人における研究であって、健康児ないし腎機能正常の小児における尿蛋白の研究は少なく、ことに、小児における24時間尿中排泄蛋白量を調べた報告は見られない。

著者はこの点をあきらかにする目的で、腎機能正常児における24時間尿中蛋白量を測定し、あわせて比較のために腎疾患々児においてもこれを測定したのでその成績を報告する。

研究の対象と方法

1. 対象：昭和49年4月～11月の時点で九大小児科に入院中の小児22例で、腎疾患で蛋白尿（ズルフオサリチル酸法陽性）著明な群（A群）5例、腎疾患であるが尿蛋白反応陰性群（B群）6例、その他の疾患で尿蛋白反応陰性群（C群）11例である。これらの患児の諸事項を表1、2、3に示した。
2. 採尿：24時間尿としては、午前8時より翌日午前8時までの尿を採取した。蓄尿瓶に3～5mlのトルエンを入れ、5°Cの冷蔵庫に保存し尿量を測定した。
3. 濾過：尿中の細胞成分を除くため、24時間

尿約400mlを東洋濾紙No.2で濾過した。

4. ゲル濾過：尿素、ムチン色素など、尿蛋白変性の原因物質およびFolin法における非蛋白性の発色物質を除くため、更に尿300mlのゲル濾過を行った。ゲル濾過の条件は以下のようである。

カラム：Sephadex G-50

7.5×58cm（下行性）

溶媒：硼酸緩衝液（0.02M, pH8.0, 塩化ナトリウム0.3Mを含む）

溶出液は、フラクション・コレクターで15ml/Tubeの割で分画採取し、280nmにおける吸光度を測定し、蛋白質を含有する分画（実験成績1で述べる）をプールした。

5. 溶出液の濃縮：窒素ガス加圧下で限外濾過法により上記のプール液を濃縮した。セルは、Amicon Model 202, 膜はUM-10を用いた。

6. 蛋白液の濃度測定：Folin法に⁴⁾より行った。Folin法の検量曲線用の標準蛋白としては、正常人血清を用い、Micro-Kjeldahl法により蛋白濃度を測定した。

実験成績

1. 尿のゲル濾過

24時間尿から蛋白部分を分離するにあたり、どの分画をとればよいかを予備的に実験した。即ち、正常人24時間尿297mlと正常人血清3mlとを混じたものをSephadex G-50カラムにかけ、方法の項で述べた要領で分画採取した。この溶出の吸光度曲線は図1のDである。即ち、分画番号20の近傍で蛋白質が溶出され、No41の近傍で一旦基線に近づく。これまでの分画は無

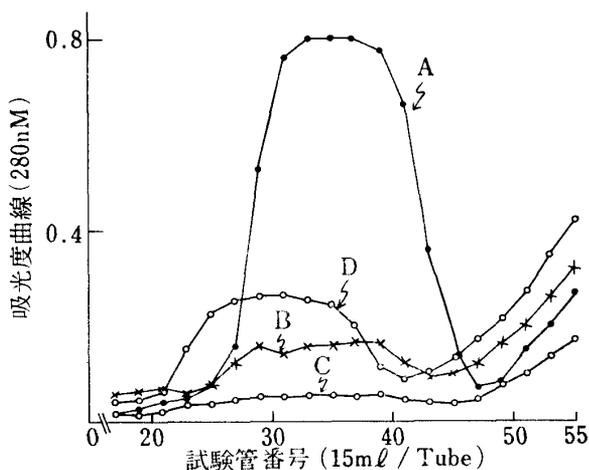


図1 24時間尿の Sephadex G—50によるゲル濾過

- A: 症例H・H (A群)
- B: 症例H・S (B群)
- C: 症例F・O (C群)
- D: 対照 (正常人尿+正常人血清)

色であるが、このあと黄色物質の溶出が始まり、吸光度曲線は急激に上昇する。このNo.20~No.41をプールし、出発量3mlまで濃縮したのについて免疫電気泳動を行ってみると、主要血清蛋白が回収されていることが確認された。

A群、B群、C群の尿につきゲル濾過してみると、何れの場合に於ても、程度の差はあるが、Dと類似の部に一旦ピークが認められ、次いで

黄色物質の流出と共に第2の大きなピークが出現した。これらの代表的な曲線を図1に示す。

この成績から、Aにおける第1のピークに相当する各検体のピークが、尿中蛋白であると考へ、この部分をプール、濃縮後分析した。

2. 24時間尿中排泄総蛋白量 (表1, 2, 3)

24時間尿中に排泄される総蛋白量は、A群に於ては、変動範囲: 1120~4420mg/H, 平均値±標準偏差: 2420±1210mg/H, B群に於ては変動範囲: 9.20~100mg/H, 平均値±標準偏差: 52±29mg/H, また、C群に於ては、変動範囲: 19.2~79.7mg/H, 平均値±標準偏差: 39.1±2.01mg/Hであった。

3. 24時間尿中蛋白濃度 (表1, 2, 3)

24時間尿中総蛋白量は、ある程度尿量に関係があると思われるので、これとは別に、24時間尿中蛋白濃度を求めると表1, 2, 3の右端のようである。

即ち、A群に於ては、変動範囲: 135~260mg/100ml, 平均値±標準偏差: 185±49mg/100ml, B群に於ては、変動範囲: 0.70~12.5mg/100ml, 平均値±標準偏差: 6.3±4.2mg/100ml, またC群に於ては変動範囲: 3.03~12.0mg/100ml, 平均値±標準偏差: 7.2±3.3mg/100mlであった。

表1 腎疾患々児における24時間尿中排泄蛋白量

(尿蛋白反応陽性群) (A群)

氏名	年齢	性	病名	24時間尿量 (ml)	24時間尿中蛋白量 (mg/日)	24時間尿中蛋白濃度 (mg/100ml)
H・T	11才	F	急性腎炎卅	1,700	4420	260
H・H	9才	F	ネフローゼ卅	1,700	2290	135
T・I	9才	F	急性腎炎卅	1,440	2110	147
K・I	8才11カ月	M	紫斑病性腎炎卅	579	1120	193
S・I	9才4カ月	M	腎機能障害+	1,135	2180	191
平均					2420±1210	185±49

表2 腎疾患々児における24時間尿中排泄蛋白量
(尿蛋白反応陰性群) (B群)

氏名	年令	性	病名	24時間尿量 (ml)	24時間尿中 蛋白量 mg/日	24時間尿中 蛋白濃度 mg/100ml
T・M	14才8カ月	M	急性腎炎-	1,570	45.1	2.87
H・F	11才	M	ネフローゼ-	1,750	100	5.71
T・I	10才1カ月	M	急性腎炎-	370	46.2	12.5
H・S	5才5カ月	M	紫斑病性腎炎±	595	53.4	8.90
K・T	3才	M	腎性尿崩症-	1,390	9.20	0.70
M・Y	4才5カ月	F	急性腎炎-	810	58.8	7.26
平均					52±29	6.3±4.2

表3 非腎疾患々児における24時間尿中排泄蛋白量 (C群)

氏名	年令	性	病名	24時間尿量 (ml)	24時間尿中 蛋白量 mg/日	24時間尿中 蛋白濃度 mg/100ml
F・O	7才8カ月	M	筋疾患	1,630	49.4	3.03
K・N	6才	M	糖代謝異常	160	19.2	12.0
Y・T	11才	M	先天性心臓疾患	970	79.7	8.22
H・I	8才2カ月	M	小人症	1,110	30.6	2.76
Y・Y	10才	M	先天性心臓疾患	255	27.4	10.7
Y・W	12才7カ月	F	白血病	700	74.1	10.6
N・T	7才9カ月	M	貧血	600	29.7	4.95
M・S	9才11カ月	F	心筋炎	720	30.5	4.24
M・K	9才11カ月	F	筋無力症	520	29.1	5.60
H・K	1才11カ月	F	シルバー症候群	390	34.3	8.79
E・H	2才11カ月	F	再生不良性貧血	300	26.1	8.70
平均					39.1±20.1	7.2±3.3

考 察

正常人の24時間尿中に排泄される蛋白量は Guntonら³⁾によると $39.0 \pm 5.7 \text{ mg}$, Rigasら⁷⁾によると $30.5 \sim 49.6 \text{ mg}$, 戸田⁹⁾によると $22.7 \pm 10.2 \text{ mg}$ である。これらの測定値は成人において得られたもので、小児では比較する報告がない。

松本ら⁵⁾は蛋白尿を来す疾患児と共に、健康児についても尿蛋白を分析しているが、その例数は3例、分析されたものはアルブミンのみで

ある。千葉ら²⁾は、健康小児の尿の80% Ethanol-Precipitate について研究しているが、研究材料は1小児から得られたものであり、1日尿中の蛋白排泄量については全くふれていない。また、大角⁶⁾も健康児尿蛋白をDEAEセルローズ・カラムクロマトグラフィーで分画したものについて定性的研究を行っているが、これも1日の排泄量には全くふれていない。

従って、著者の今回の報告は、いわゆる尿蛋

白反応陰性小児における24時間尿中排泄蛋白量を測定した最初の報告である。著者の成績は、 $39.1 \pm 20.1 \text{ mg/日}$ 、 $7.2 \pm 3.3 \text{ mg/100ml}$ で、成人における上記の諸報告とほぼ類似の成績とみなすことができる。

また、尿蛋白反応陽性の腎疾患々児群は、尿蛋白反応陰性群に比し、多量の蛋白排泄がみられたが、尿蛋白陰性群では、腎疾患々児と非腎疾患々児との間に、蛋白排泄量の差は認められなかった。

著者が検索したC群は、疾患々児であり、完全な健康児ではないが、ズルフオサリチル酸法による尿蛋白反応は陰性であるので、健康児の24時間尿中蛋白量と、略近い値であることは容易に推定できる。

これらの蛋白の由来および組成は、成人で既に知られているように¹⁾ 血漿蛋白由来のもの、他、腎由来の Tamm and Horsfall³⁾が記載した尿細管由来の高分子性ムコ蛋白が含まれている可能性があるが、今後の研究にまたなければならぬ。

結 語

腎機能正常児11例における24時間尿中排泄総蛋白量を測定し、 $39.1 \pm 20.1 \text{ mg/日}$ 、 $7.2 \pm 3.3 \text{ mg/100ml}$ という成績を得た。比較の目的で蛋白尿高度の腎疾患々児5例および尿蛋白反応陰性の腎疾患々児6例についても同様の測定を行い、それぞれ $2420 \pm 1210 \text{ mg/日}$ 、 $185 \pm 49 \text{ mg/100ml}$ および $52 \pm 29 \text{ mg/日}$ 、 $6.3 \pm 4.2 \text{ mg/100ml}$ という成績を得た。

御指導御協力いただいた九大小児科の合屋長英教授、執行フサヨ看護婦長、瀬川和子副看護婦長、本学富永喜久男教授、大津ミキ助教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Berggard, I.: Studies on the plasma proteins in normal human urine. Clin. Chim. Acta 6: 413-429, 1961.
- 2) 千葉学道, 浅田浩作, 田口修司, 高橋正考, 古川祥子, 中村常雄: 健康小児の尿中80% ethanol-precipitates に関する研究, 一凍結による変化について一, 青森県立中央病院医誌 20: 225-231, 1975.
- 3) Gunton, R. and Burton, A.C.: On the concentration of protein in samples of normal urine measured by its surface activity. J. Clin. Invest. 26: 892-898, 1947.
- 4) Lowry, O.H., Rosebrough, N. J., Farr, A.L. and Randall, R. J.: Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol. Chem., 193: 265-275, 1951.
- 5) 松本修三, 山中政子, 常松喜久子, 尾形邦彦, 高下泰三: 小児の蛋白尿に関する研究. 日本小児科学会誌 71: 1594, 1967.
- 6) 大角勝彦, : 小児尿中蛋白の DEAE Cellulose Column Chromatography. 日本小児科学会誌 71: 1594-1602, 1967.
- 7) Rigas, D. A. and Heller, C. G.: The amount and nature of urinary proteins in normal human subjects. J. Clin Invest. 30: 853-861, 1951.
- 8) Tamm, I. and Horsfall, F. L., Jr.: A mucoprotein derived from human urine which reacts with influenza, mumps, and newcastle disease viruses. J. Exper. Med. 95: 71-97, 1952.
- 9) 戸田邦男: 尿中免疫グロブリンおよび免疫グロブリンフラグメントに関する研究, 一特に陰性例を中心として一, 福岡医誌 65: 561-574, 1974.