

学 位 論 文 題 名

尿水 N-acetyl- β -D-glucosaminidase の
糖尿病性腎症診断指標としての臨床的意義

学位論文内容の要旨

I 目 的

糖尿病性腎症は顕性化すると、回復、進行を停止させることは困難とされている。また、腎症の発症には素因があると考えられているので、治療・進行阻止のためには、早期の確実な診断指標が求められている。本研究では尿中N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG), γ GTP 活性、微量蛋白、アルブミンおよび血中・尿中 β 2-microglobulin (BMG)を様々な段階の腎症を有する糖尿病患者で測定し、またNAG活性と腎症の経過との関連を調べ、診断指標としての価値について検討した。

II 対象および方法

対象とした患者は、北大病院第2内科・苫小牧市立病院・斗南病院・市立札幌病院に通院または入院中の糖尿病患者のべ323例である。

NAGはM-cresol sulfon-phthaleinyl-N-acetyl- β -D-glucosaminideを基質としたMCP-NAG法で測定した。同測定法の基礎検討では intra-assay および inter-assay で再現性がよ

く、希釈試験でも尿の成分が干渉しないこと、また試料の保存性もよいことが確認された。 γ GTPは、血清と同様に γ -glutamyl-p-nitroanilide を基質とした比色法で、BMGは免疫酵素測定法で、尿蛋白はCoomassie Brilliant Blue G250を用いた色素結合法で、また尿中微量アルブミンは免疫比濁法で測定した。

Ⅲ 結 果

A) 尿中NAGの糖尿病性腎症の早期診断指標としての有用性

103例の糖尿病患者で、NAG、尿中蛋白、血中・尿中BMGを測定すると、NAGは健常者 3.3 ± 1.6 U/g. cr. にたいし糖尿病患者では尿蛋白陰性者でも 7.9 ± 4.8 U/g. cr. と高値を示し、間欠性蛋白尿・持続性蛋白尿と腎症の進行に従い上昇した。BMGは持続性蛋白尿以上のより進んだ腎症の患者ではじめて上昇した。

B) NAGと糸球体機能・尿細管機能との関係

NAGと血中・尿中BMGとの間には、それぞれ $r = 0.58$ ($p < 0.01$)、 $r = 0.47$ ($p < 0.01$) の正相関を認めた。

C) 糖尿病のコントロール状態がNAG値およびアルブミン排泄に与える影響

NAGとHbA1cとの相関は、尿蛋白陰性(20例)、間欠性蛋白尿(26例)、持続性蛋白尿(25例)のすべての群で、それぞれ $r = 0.65, 0.44, 0.60$ で有意な正相関を認めた。また、入院治療を行った初診糖尿病患者14例では、1ヶ月間にHbA1cは $8.61 \pm 1.76\%$ から $7.36 \pm 0.87\%$ に改善するとともにNAGも 11.6 ± 6.6 U/g. cr. から 8.6 ± 5.7 U/g. cr. に改善した。

HbA1cと尿中アルブミン排泄量を測定した47例では、尿蛋白陰性の22例で正相関($r = 0.51$, $p < 0.02$)を認めるのに対し、すでに顕性の腎症を認める患者では相関はなかった。

D) NAGと尿中 γ GTPについて

NAGおよび γ GTPと同時に尿中アルブミン・血中BMG・HbA1cを測定した48例の糖尿病患者では、NAGはそれぞれと $r = 0.37, 0.55, 0.43$ と正相関を示すのに対し、 γ GTPはそのいずれとも相関を認めなかった。また、NAGと γ GTPとの間に相関を認めなかった。

比較のため腎尿細管障害性の明らかなCis-platinを含む癌化学療法を受けた2症例でNAGと γ GTPを同時に経時的に測定した。いずれの症例でもNAGと γ GTPは、Cis-platin投与日から数日間平行して大量に尿中に排泄された。

E) NAGを目的変数とした重回帰分析

糖尿病患者34例を対象に、NAGを目的変数とし、年齢・罹病期間・血中BMG・HbA1c・FBG・BUN・クレアチニン・尿中アルブミン・ γ GTPを説明変数として重回帰分析を行なった。このうち偏相関係数でも有意な因子は、血中BMGとHbA1cであった。

F) NAG高値が持続した患者の腎機能予後

18ヶ月間にわたり定期的に通院し経過観察し得た78例の患者を対象に、前後でのBMGの上昇、即ち Δ BMGを目的変数とし、全測定NAGの平均値(ave-NAG)、全測定HbA1cの平均値(ave-HbA1c)とを説明変数として重回帰分析を行なった。 Δ BMGとave-NAG、ave-HbA1cとの偏相関係数は、それぞれ0.512($p < 0.000$), -0.272($p < 0.017$)と有意を示し、ave-NAGはBMGの上昇と相関を認めた。

IV 考案および結語

糖尿病性腎症は糖尿病の慢性合併症のなかで生命予後を左右する点で重要である。しかし、一度蛋白尿などの出現をみ顕症となると不可逆的であり、その進展防止も困難である。このような腎症の早期発見のためにNAG、 γ GTP、BMG、尿中総蛋白、尿中微量アルブミンなどを様々な段階の腎症を有する糖尿病患者で測定し、その有用性について検討した。この中でNAGは、尿中蛋白の排泄増加に先行して異常を呈し、顕性腎症となるとさらに増加した。また、尿蛋白・アルブミン・血中BMG・尿中BMGと相関を認めることから早期診断指標としての有用性が示唆された。NAGは近位尿細管ライソゾームに多量に存在し、腎障害のとき尿中に出現するNAGアイソザイムは、主としてB型で尿細管に存在するものと一致し、また糸球体で濾過される通常の蛋白より分子量大いことから、尿中のNAGは尿細管の障害により遊出したものが主と考えられる。BMGはより進んだ腎機能障害を有する段階となりはじめて異常を示した。これに対し γ GTPはCis-platinによる腎障害ではNAGと同様に尿中排泄が増加するのに糖尿病性腎症では診断価値をもたなかった。 γ GTPは近位尿細管細胞の刷子縁に存在するとされており、尿細管障害でも障害のされ方に差異があるのかもしれない。

NAGは腎症の指標として有力視される一方、HbA1cともよく相関するため、その評価には糖尿病のコントロール状態も考慮する必要がある。尿中に排泄されるNAGアイソザイムを検討した結果によれば、NAG I(B)は尿細管障害を反映し、NAG II(A)は高血糖を反映している

との報告もあり、アイソザイムを簡単に分別測定する方法を開発すれば、さらに尿中NAG測定
の臨床的意義は高まるものと思われる。

18ヶ月間NAG, BMG, HbA1cの経過をみた78例の糖尿病患者（うち3例は血液透析に移行）
で、血中BMGの上昇に関するNAGとHbA1cの寄与を重回帰分析で分析すると、NAGは
BMGの上昇に対し促進的に関与した。

これらの結果は、腎尿細管障害が糖尿病性腎症の初期から存在し、NAG活性の測定が糖尿病
性腎症の早期診断指標として有用であることを示唆するものと考えられる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 中 川 昌 一

副 査 教 授 石 橋 輝 雄

副 査 教 授 小 林 邦 彦

学 位 論 文 題 名

尿中 N-acetyl- β -D-glucosaminidase の

糖尿病性腎症診断指標としての臨床的意義

糖尿病性腎症は顕性化すると、その進行を停止させることは困難とされている。そのため、早期治療には確実な診断指標が必要である。本研究は、腎尿細管ライソゾームに存在し尿中に逸脱するN-acetyl- β -D-glucosaminidase(NAG)を中心として、尿細管刷子縁酵素 γ -GTP、尿中蛋白・アルブミンおよび血中・尿中 β 2-microglobulin(BMG)などを様々な段階の腎症を有する患者で測定し、また一部の患者では腎症の経過との関連を調べ、診断指標としての価値について検討したものである。

その結果、

(1)103例の糖尿病患者でNAG、尿中蛋白、血中・尿中BMGを測定すると、NAGは健常者 3.3 ± 1.6 U/g. cr. に対し糖尿病患者では尿蛋白陰性者でも 7.9 ± 4.8 U/g. cr. と高値で間欠性蛋白尿・持続性蛋白尿と腎症の進行に従いさらに上昇し、糖尿病性腎症の早期診断指標としての有用性が示唆された。これに対し BMGはNAGより進んだ段階の腎症指標と考えられた。可逆的な腎症の範囲と考えられる microalbuminuria(<30 mg/g. cr.)とNAGの間には正相関を認めた($r=0.40$, $p<0.05$)。

(2)NAGと血中・尿中BMGとの間にはそれぞれ $r=0.58(p<0.01)$, $r=0.47(p<0.01)$ の正相関を認め、NAGは糸球体機能・尿細管機能と相関する。

(3)糖尿病のコントロール状態とNAGとの関連を検討すると、NAGとHbA_{1c}との間には尿蛋白陰性(20例)、間欠性蛋白尿(26例)、持続性蛋白尿(25例)のすべての群で、それぞれ $r=0.65, 0.44, 0.60$ で有意な正相関を認めた。また、初診糖尿病患者14例では1ヶ月の教育入院中にHbA_{1c}が $8.61\pm 1.76\%$ から $7.36\pm 0.87\%$ に改善すると同時にNAGも $11.6\pm 6.6\text{U/g.cr.}$ から $8.6\pm 5.7\text{U/g.cr.}$ に低下し、NAGは糖尿病のコントロール状態も反映し変動する。

HbA_{1c}と尿中アルブミンとの間には、尿蛋白陰性の22例では正相関($r=0.51$, $p<0.02$)を認めたが、すでに顕性腎症となった患者では相関を認めなかった。

(4)NAGおよび尿中 γ -GTPと同時に尿中アルブミン・血中BMG・HbA_{1c}を測定した48例の糖尿病患者では、NAGがそれぞれと $r=0.37, 0.55, 0.43$ の有意な正相関を認めるのに対し、 γ -GTPはそのいずれとも相関が無かった。比較のため腎尿細管障害性の明らかなシスプラチンを含む癌化学療法を行なった2症例でNAGと γ -GTPを経時的に測定すると、両者は平行して尿中に出現した。糖尿病性腎症と薬物性腎障害でのNAGと γ -GTPの結果の違いには、両者の局在部位の違い、障害のされ方の違いが関係している可能性があるが、詳細は不明である。

(5)糖尿病患者34例を対象に、NAGを目的変数、年齢・罹病期間・血中BMG・HbA_{1c}・FBG・BUN・クレアチニン・尿アルブミン・ γ -GTPを説明変数として重回帰分析を行なった。この中で偏相関係数でも有意な因子は血中BMGとHbA_{1c}のみで、この結果からもNAGは腎障害と同時に糖尿病のコントロール状態も反映し変化することが示された。

(6)18ヶ月間にわたり定期的に通院し経過観察し得た78例の患者を対象に、前後でのBMGの上昇・即ち Δ BMGを目的変数(Y)とし、NAGの平均値(ave-NAG; X_1)・HbA_{1c}の平均値(ave-HbA_{1c}; X_2)を説明変数として重回帰分析を行なった。 Δ BMG

とave-NAG, ave-HbA_{1c}との偏相関係数は、それぞれ0.512(p=0.000), -0.272(p=0.017)で有意を示し、回帰式は $Y=0.0548 X_1 - 0.1065 X_2 + 0.2009$ で示され、重相関係数Rは 0.5360(p=0.0000), 寄与率 0.2873となった。この結果はNAG高値の続いた患者ではBMGも上昇すること示す。

以上の結果から、腎尿細管障害が糖尿病性腎症の初期から存在し、尿中NAG活性の測定は糖尿病性腎症の早期および予後診断指標としても有用と考えられた。

試問に際し石橋教授より尿中NAGのisozyme型、試料の測定の前処置について、小林教授より糖尿病性腎症での糸球体病変と尿細管病変との関係およびBMG測定の意義について質問があったが、申請者は概ね適切な答弁をした。また副査の石橋教授、小林教授による本研究に関しての審査と面接を受け、合格と判定された。

以上により、本論文は学位授与に値するものと判定した。