

## 糖尿病性腎症の早期診断に対するアルギニン負荷試験の有用性

奈良県立医科大学第1内科学教室

金内雅夫, 土肥和紘, 西浦公章, 中島靖夫  
石井健司, 川野貴弘, 石原京子, 石川兵衛

### DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF ARGININE LOADING TEST IN THE EARLY STAGE OF DIABETIC NEPHROPATHY

MASAO KANAUCHI, KAZUHIRO DOHI, KIMIYAKI NISHIURA, YASUO NAKASHIMA,  
KENJI ISHII, TAKAHIRO KAWANO, KYOKO ISHIHARA and HYOE ISHIKAWA

*The First Department of Internal Medicine, Nara Medical University*

Received May 30, 1991

**Summary :** Diagnostic significance of arginine loading test in the early stage of diabetic nephropathy is evaluated in relation to the histological findings of renal biopsy specimens. The subjects were 30 diabetics, divided into 3 groups (D0, D I and D II) according to the stage of glomerular diffuse lesion based on Gellman's criteria. Glomerular filtration rate (GFR), urinary albumin and urinary  $\beta 2$  microglobulin ( $\beta 2$ MG) were measured before and after 30g arginine loading by intravenous infusion.

Before arginine loading, GFR was significantly lower in D I and D II than in D0, the excretion of urinary albumin was significantly higher in D II than in D0, and the excretion of urinary  $\beta 2$ MG was significantly higher in D II than in D0 and D I. After arginine loading, GFR was significantly lower in D II than in D0, and the excretion of urinary albumin was significantly higher in D I and D II than in D0, however, no significant difference was seen in the excretion of urinary  $\beta 2$ MG among these three groups.

These results suggest that the arginine loading test is one useful method for diagnosis of early diabetic nephropathy.

#### Index Terms

arginine loading test, diabetic nephropathy, renal biopsy, urinary albumin

#### はじめに

糖尿病性腎症の組織学的進行程度を正確に評価する方法は腎生検に限られるが、腎生検は容易に実施できる検査ではないので、それにかわる非侵襲的指標の開発が望まれている。近年、尿中アルブミンの測定が腎症の早期診断法として有力視されてきた<sup>1)</sup>。しかし著者ら<sup>2)</sup>は、尿中アルブミン排泄と腎生検所見とを対比させたところ、アルブミンの単独測定では腎病変の重症度を正確に予測し得ないことを明らかにした。その根拠は、尿中アルブミン排泄が糸球体における漏出量

によって規定されるばかりか、尿細管の蛋白再吸収機能によっても修飾を受けるからである。

ところで、塩基性アミノ酸の一種であるアルギニンには尿細管の蛋白再吸収機能を抑制する作用のあることが知られている<sup>3)4)</sup>。そこで今回、著者らはアルギニン負荷前後の尿中アルブミン排泄量を測定し、糖尿病性腎症の早期診断に対する本試験の有用性について検討した。

#### 対象と方法

##### 1. 対象

対象は、奈良県立医科大学第1内科に通院中の糖尿病患者で、試験紙法による尿蛋白が陰性の腎生検施行例30例である。その内訳は男性12例、女性18例、年齢は37~65(平均55)歳であった。なお、男性10例、年齢22~36(平均30)歳の健康人を対照(C)群とした。

## 2. 方法

(1)アルギニン負荷試験：早朝空腹時に完全排尿後、以後の安静1時間の尿を採取した(負荷前期)。つぎに10%アルギニン溶液(森下製薬社製)300mlを1時間かけて静脈内投与し、終了直後に採尿した(負荷後期)。

(2)測定項目：負荷前期および負荷後期について、糸球体濾過値(GFR)を内因性クレアチニンクリアランス法で、尿中 $\beta_2$ ミクログロブリン( $\beta_2$ MG)を免疫比濁法で、尿中アルブミンをRIA法で測定した。

(3)腎生検所見：腎生検組織をPAS染色により観察し、びまん性病変の程度をGellmanら<sup>5)</sup>の基準によってD0からDIVの5段階に分類した。ただし、今回の対象症例にはDIII以上を示すものは1例も含まれなかった。

(4)推計学的処理：推計学的処理は、t検定、分散分析、Scheffeの多重比較法、 $\chi^2$ 検定に拠った。

## 成 績

1. GFR, 尿中 $\beta_2$ MG排泄量および尿中アルブミン排泄量と糸球体病変の関係

### (1)アルギニン負荷前期

GFRは、D I群とD II群がC群に比して有意に低く、かつD I群とD II群がD 0群に比して有意に低か

った。尿中 $\beta_2$ MG排泄量は、D II群がC群に比して有意に高く、かつD II群がD 0群とD I群に比して有意に高かった。尿中アルブミン排泄量は、D I群とD II群がC群に比して有意に高く、かつD II群がD 0群に比して有意に高かったが、D 0群とD I群間、D I群とD II群間には有意差がなかった(Table)。

### (2)アルギニン負荷前後の変化

GFRは、アルギニン負荷前後で有意の変化を示さなかった。尿中 $\beta_2$ MG排泄量は、アルギニン負荷後に増加し、負荷前と比べてC群では331倍、D 0群では332倍、D I群では289倍、D II群では189倍に増加した。尿中アルブミン排泄量は、アルギニン負荷後に増加し、負荷前と比べてC群では6.8倍、D 0群では2.7倍、D I群では3.4倍、D II群では2.0倍に増加した(Table)。

### (3)アルギニン負荷後期

GFRは、D I群とD II群がC群に比して有意に低く、かつD II群がD 0群に比して有意に低かった。尿中 $\beta_2$ MG排泄量は、C群および糖尿病の各群間に有意の差を示さなかった。尿中アルブミン排泄量は、D I群とD II群がC群に比して有意に高く、かつD I群とD II群がD 0群に比して有意に高かった(Table)。

2. 尿中アルブミン排泄の異常値症例と糸球体病変の関係

### (1)アルギニン負荷前期

尿中アルブミン排泄のcut off値は、C群の平均+2SD値(117ng/ml・GFR)とし、それを超えるものを異常値症例と定義した。尿中アルブミン排泄の異常値症例は、D 0群では11例中4例(36%)、D I群では12例中9例(75%)、D II群では7例全例(100%)で

Table. Changes in glomerular filtration rate, urinary  $\beta_2$  MG and urinary albumin before and after arginine loading test

Items	Arginine loading test	Healthy volunteers (n=10)	D <sub>0</sub> (n=11)	D <sub>I</sub> (n=12)	D <sub>II</sub> (n=7)
GFR (ml/min)	Before	122±29	113±34	75±17 <sup>b,d</sup>	75±23 <sup>b,c</sup>
	After	122±24	98±23	83±18 <sup>b</sup>	68±19 <sup>b,c</sup>
$\beta_2$ MG (ng/mlGFR)	Before	0.9±0.3	1.0±0.5	1.9±0.8	6.0±7.0 <sup>a,c,e</sup>
	After	279.7±73.5	322.4±89.3	489.9±141.2	386.9±168.1
albumin (ng/mlGFR)	Before	71±23	172±174	563±647 <sup>a</sup>	1105±561 <sup>b,d</sup>
	After	488±206	474±194	1939±1344 <sup>b,c</sup>	2228±913 <sup>b,d</sup>

<sup>a</sup>p<0.05 vs. healthy volunteers

<sup>b</sup>p<0.01 vs. healthy volunteers

<sup>c</sup>p<0.05 vs. D<sub>0</sub>

<sup>d</sup>p<0.01 vs. D<sub>0</sub>

<sup>e</sup>p<0.05 vs. D<sub>I</sub>

あった (Fig. 1). 尿中アルブミン排泄異常の陽性率は, D 0 群と D I 群間 ( $\chi^2=3.486$ ,  $p=0.062$ ), D I 群と D II 群間 ( $\chi^2=2.078$ ,  $p=0.150$ ) ともに有意差がなかった. したがって各群間の判別は不可能であった.

(2)アルギニン負荷後期

尿中アルブミン排泄の cut off 値は, C 群の平均 + 2SD 値 ( $900\text{ng/ml}\cdot\text{GFR}$ ) とし, それを超えるものを異常値症例と定義した. 尿中アルブミン排泄の異常値症例は, D 0 群では 11 例中に 1 例も存在しなかったが, D I 群では 12 例中 11 例 (92%), D II 群では 7 例全例 (100%) が該当した (Fig. 2). 尿中アルブミン排泄異常の陽性率は D 0 群と D I 群間 ( $\chi^2=19.326$ ,  $p=0.000$ ) では D I 群が有意に高く, D I 群と D II 群間 ( $\chi^2=0.616$ ,  $p=0.432$ ) では差がなかった. したがってアルギニン負荷後期では D 0 群と D I 群間の判別が可能となった.

考 察

1. アルギニン負荷の意図

腎における蛋白保持能は, 糸球体濾過と尿細管再吸

収の両者によって規定されている. たとえば,  $\beta_2\text{MG}$  は, 糸球体濾過量の 99% 以上が尿細管で再吸収されるが, 尿細管障害時には再吸収機能の低下によって尿中排泄が増加する<sup>6)</sup>. 一方, アルブミンは主として糸球体病変依存性の尿中排泄動態を示すと考えられているが, 糸球体濾過量の 90% 程度が尿細管において再吸収を受けるとい<sup>7)</sup>. つまり, 終末尿のアルブミン排泄量が糸球体病変の重症度を直接反映するという確証はなく, 終末尿から得られる情報は常に尿細管機能に修飾された所産とみるべきである.

糸球体の傷害程度を正確に評価するためには, 原尿成分の分析が理想的と考えられるが, 原尿の採取は臨床例では不可能である. 一方, 1975 年に Mogensen ら<sup>8)</sup>は, 健常人に塩基性アミノ酸であるアルギニンを静脈内投与したところ, 尿中  $\beta_2\text{MG}$  排泄が 280 倍まで著増することを見出した. しかも, この現象は, GFR の増加に基づくものでなく, 尿細管再吸収の阻止に起因することが立証された<sup>4)</sup>. そこで彼は<sup>8)</sup>は糖尿病患者に種々の塩基性アミノ酸を負荷して, 尿中アルブミン排泄の変化率から腎症の初期病変を判断しようと試み

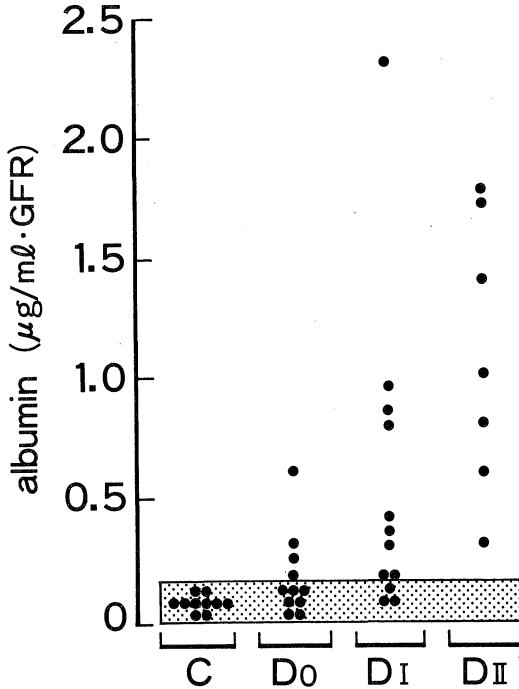


Fig. 1. Excretion of urinary albumin before arginine loading test in control group (healthy volunteers) and diabetics with specific stage of glomerular diffuse lesions.

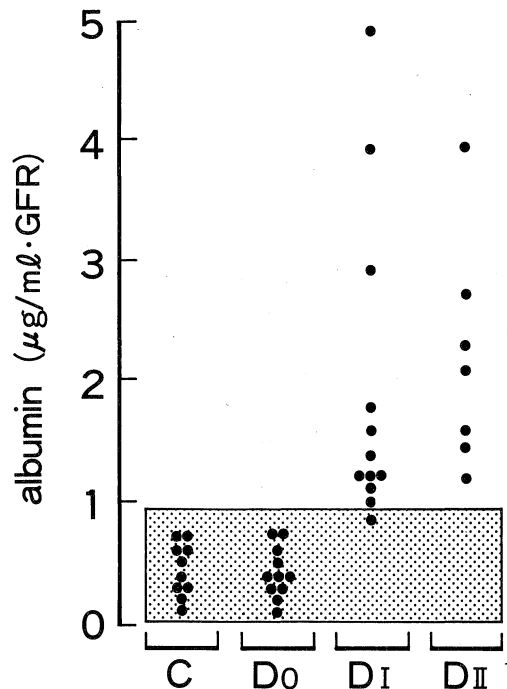


Fig. 2. Excretions of urinary albumin after arginine loading test in control group (healthy volunteers) and diabetics with specific stage of glomerular diffuse lesions.

たが、その試みは失敗に終わっている。本邦では、新里<sup>9)</sup>が各種腎疾患を対象にアルギニン負荷時の尿中 $\beta_2$ MG排泄について検討しているが、尿中アルブミンは測定されていない。塩基性アミノ酸負荷に関する以後の検討は少なく<sup>10)11)</sup>糖尿病性腎症について腎組織所見と対比した成績は見当たらない。

## 2. 負荷量の設定

アルギニン負荷による尿細管再吸収抑制効果は、尿中 $\beta_2$ MG排泄の増加率から評価し得る。Mogensen<sup>3)</sup>の原法によると、尿中 $\beta_2$ MG排泄はアルギニン負荷量に依存して漸増し、3g投与時には負荷前値の32倍に増加し、12g投与時には280倍に達した。新里<sup>9)</sup>は、アルギニン12g投与時に尿中 $\beta_2$ MG排泄が負荷前値の191倍に増加したと報告している。また英<sup>12)</sup>は、アルギニン2g投与時に尿中 $\beta_2$ MG排泄の増加率が1.3倍にすぎなかったと述べている。

今回、われわれの採用した方法は、市販の下垂体機能検査用試薬(10%アルギニン300ml)を1時間かけて点滴静注するものである。このアルギニン30gの負荷量は、下垂体機能検査における常用量<sup>12)</sup>であり、かつ重篤な副作用を生じないとされており、糖尿病性腎症に対しても安全に投与し得るものである。本研究における尿中 $\beta_2$ MG排泄増加率は、健常人で331倍、糖尿病患者では189~322倍に達した。この成績はアルギニン30g負荷が尿細管再吸収機能を高度に抑制することを示唆している。

## 3. 尿細管機能抑制の機序

本試験の機序について、Mogensen<sup>3)4)</sup>は尿細管細胞表面における蛋白とアルギニンの競合作用であると推論しているが、現在のところ立証されていない。一方、アルギニンは成長ホルモン<sup>13)</sup>などの分泌を刺激する作用を有するので、これらの内分泌因子を介する機序も想定される。たとえば糖尿病患者では、成長ホルモンの過剰分泌がグルコース代謝の阻害とソルビトール蓄積を介して、細小血管症の形成を促進する可能性が指摘されている<sup>13)14)</sup>。また、糖尿病患者はアルギニン負荷時にグルカゴンの分泌過多を示すという<sup>15)</sup>。グルカゴンの腎に対する生理的役割については十分に解明されていないが、最近、ヘレン係路上行脚の尿細管細胞にグルカゴン受容体の存在が証明された<sup>16)</sup>。アルギニン負荷に対する内分泌応答が尿細管機能にどのような影響を及ぼすかについては、今後の課題として残される。

## 4. 診断的価値

近年、微量アルブミン尿の検出が糖尿病性腎症の早

期診断指標として有用視されている<sup>1)</sup>。しかし、著者ら<sup>2)</sup>は、微量アルブミン尿の有無が腎組織病変の重症度と必ずしも一致しないことをすでに報告している。以来われわれは、腎組織病変の重症度判別を目的とした非侵襲的指標の確立について検討を重ねてきた<sup>17)18)</sup>。その成績を要約すると、尿中 $\beta_2$ MGと尿中酸可溶性蛋白(ASP)はともにD0群・D1群に比してDII群で高値を示したが、D0群とD1群間に明らかな差を示さなかった<sup>17)</sup>。尿中酵素についても、NAG活性、LAP活性および $\gamma$ -GTP活性はいずれもD0、D1、DIIの3群間に有意差を示さなかった<sup>18)</sup>。さらにアルブミン、ASP、 $\beta_2$ MGおよびNAG活性の4項目を同時測定した場合でも、腎組織病変の判別率は55%にとどまった<sup>2)</sup>。つまり、安静時尿を用いた場合に、D1群とDII群の判別は $\beta_2$ MGやASPの排泄動態から可能であったが、D0群とD1群の判別はきわめて困難といわざるを得なかった。

今回のアルギニン負荷尿を用いた成績についてみると、尿中アルブミン排泄量はD0群と比べてD1群で有意に高かった。しかもD0群では11例全例がcut off値以下を呈したのに対し、D1群では12例中11例(92%)がcut off値を超えていた。これらの観察から、糖尿病性腎症の早期における病態として、以下の仮説が推量される。①糸球体局所におけるアルブミンの漏出量は、D0群と比べてD1群で明らかに増加している。しかし、②尿細管再吸収機能に予備力があるため、D1群ではアルブミンの過剰濾過に対応して再吸収量も亢進している。その帰結として、③尿中アルブミン排泄量はみかけ上、D0群とD1群に差を示さない。

以上の成績から、アルギニン負荷試験は、尿細管における蛋白の再吸収過程を阻止することにより、糸球体濾過直後に近似のアルブミン排泄動態を評価し得るために、D0群とD1群の識別に極めて有効な手段であると考えられる。

## ま と め

尿蛋白陰性を呈する糖尿病患者30例を対象にアルギニン負荷前後の糸球体濾過値(GFR)、尿中 $\beta_2$ ミクログロブリン( $\beta_2$ MG)排泄量および尿中アルブミン排泄量を測定し、腎生検組織所見と対比した。なお腎生検組織は糸球体びまん性病変の程度をGellmanの基準によりD0群11例、D1群12例、DII群7例に分類した。

1)アルギニン負荷前期では、GFRはD1群とDII

群がD 0群に比して低く、尿中 $\beta_2$ MG排泄量はD II群がD 0群とD I群に比して高く、尿中アルブミン排泄量はD II群がD 0群に比して高かった。

2)アルギニン負荷後期では、GFRはD II群がD 0群に比して低く、尿中 $\beta_2$ MG排泄量は各群間に差を示さなかったが、尿中アルブミン排泄量はD I群とD II群がD 0群に比して高かった。

3)尿中アルブミン排泄異常の陽性率は、アルギニン負荷前期においてはD 0群とD I群間、D I群とD II群間ともに差がなかったが、アルギニン負荷後期においてはD I群がD 0群に比して高く、D I群とD II群間には差がなかった。

以上の成績から、アルギニン負荷試験は糖尿病性腎症の組織病変を予測するための非侵襲的診断法として有用であり、なかでもD 0群とD I群の判別に有効な手段になると考えられる。

本論文の要旨は第29回日本腎臓学会総会(1986年11月、東京)と第30回日本糖尿病学会総会(1987年5月、東京)において発表した。

## 文 献

- 1) **Mogensen, C. E.**: Urinary albumin excretion in diabetes. *Lancet* **ii**: 601-602, 1971.
- 2) **金内雅夫, 西浦公章, 竹中義正, 中島靖夫, 石井健司, 川野貴弘, 土肥和紘, 石川兵衛, 杉本和夫, 土肥祥子, 森山忠重**: 糖尿病性腎症における尿中アルブミン測定の意義. *奈医誌*. **39**: 551-557, 1988.
- 3) **Mogensen, C. E., Vittinghus, E. and Sϕ lling, K.**: Increased urinary excretion of albumin, light chains, and  $\beta_2$ -microglobulin after intravenous arginine administration. *Lancet* **ii**: 581-583, 1975.
- 4) **Mogensen, C. F. and Sϕ lling, K.**: Studies on renal tubular protein reabsorption. Partial and near complete inhibition by certain amino acids. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **37**: 477-486, 1977.
- 5) **Gellman, D. D., Pirani, C. L., Soothill, J. F., Muehrcke, R. C. and Kark, R. M.**: Diabetic nephropathy. A chemical and pathologic study based on renal biopsies. *Medicine* **38**: 312-367, 1959.
- 6) **Ganthier, C., Ngyed-Simonnet, H., Vincent, C., Revillard, J. P. and Pellet, M. V.**: Renal tubular absorption of  $\beta_2$ -microglobulin. *Kidney Int.* **26**: 170-175, 1984.
- 7) **Bernard, A., Amor, A. O., Viau, C. and Lanwerys, R.**: The renal uptake of proteins. *Kidney Int.* **34**: 175-185, 1988.
- 8) **Mogensen, C. E., Vittinghus, E. and Sϕ lling, K.**: Abnormal albumin excretion after two provocative renal tests in diabetes. *Kidney Int.* **16**: 385-393, 1979.
- 9) **新里 健**: Arginine 負荷における尿細管性蛋白変動の意義. *日腎誌*. **25**: 1349-1365, 1983.
- 10) **岡 徹, 大規 眞, 藤井正俊, 中村隆彦, 末広逸夫, 岡林克典, 馬場茂明**: アミラーゼの腎尿管における動態. *日消誌*. **83**: 96-100, 1986.
- 11) **英 肇, 南條輝志男, 田畑宏道, 森田 一, 久保一紀, 菊岡弘芳, 近藤 溪, 三家登喜夫, 宮村敬**: 糖尿病性初期腎症における尿中微量アルブミン,  $\beta_2$ -microglobulin, NAG の臨床的意義. 糖尿病性合併症 **1**: 97-103, 1988.
- 12) **宮下正弘, 金子兼三, 山田幸男, 柴田 昭, 佐藤宏**: 視床下部・下垂体疾患におけるアルギニン負荷試験の臨床的意義. *診断と治療* **67**: 1010-1016, 1979.
- 13) **高橋千恵子**: 糖尿病患者における Arginine 負荷後の成長ホルモン分泌についての研究. *東女医大誌*. **44**: 516-531, 1974.
- 14) **北田雅久, 安田圭吾, 武田則之, 三浦 清**: 糖尿病患者におけるアルギニン負荷試験時の血漿成長ホルモン反応. *日内分泌誌*. **65**: 558-571, 1989.
- 15) **関根万喜男**: 糖尿病ならびに各種内分泌疾患患者におけるアルギニン負荷試験, とくに血漿膵グルカゴンおよびインスリンの反応について. *東女医大誌*. **47**: 1158-1173, 1977.
- 16) **Butlen, D. and Morel, F.**: Glucagon receptors along the nephron. *Pflugers Arch.* **404**: 348-353, 1985.
- 17) **金内雅夫, 澤井冬樹, 平山俊英, 湯村文敏, 濱口尚重, 西浦公章, 土肥和紘, 石川兵衛**: 糖尿病性腎症における尿中酸可溶性蛋白の臨床的意義. *日腎誌*. **28**: 1329-1336, 1986.
- 18) **金内雅夫, 土肥和紘, 西浦公章, 竹中義正, 中島靖夫, 石井健司, 川野貴弘, 石川兵衛**: 糖尿病性腎症における尿中酵素測定の意義. *奈医誌*. **40**: 719-726, 1989.