

腎温阻血後の尿中 N-Acetyl- $\beta$ -D-Glucosaminidase  
活性値の変動について

近畿大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 栗田 孝教授)

|   |   |    |
|---|---|----|
| 松 | 浦 | 健  |
| 井 | 口 | 正典 |
| 秋 | 山 | 隆弘 |
| 栗 | 田 | 孝  |

URINARY EXCRETION OF N-ACETYL- $\beta$ -D-GLUCOSAMINIDASE  
AFTER WARM ISCHEMIA OF KIDNEYTakeshi MATSUURA, Masanori IGUCHI,  
Takahiro AKIYAMA and Takashi KURITA*From the Department of Urology, Kinki University School of Medicine**(Director: Prof. T. Kurita, M.D.)*

The change in urinary N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG) activity after renal warm ischemia was studied using mongrel dogs. In the control group, urinary NAG activity was stable during all courses of the experiment. Urinary NAG activity was markedly elevated just after the release of the clamp of renal vessels in the warm ischemic group. Renal tubular damage due to warm ischemia was considered to yield the increase in urinary NAG activity. Detection of urinary NAG activity was thought to be useful in evaluating the viability of the preserved kidney.

**Key words:** Urinary NAG activity, Warm ischemia

N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase(NAG)は、腎尿細管細胞に含まれる lysosomal enzyme で、腎実質障害時に尿中へ逸脱して、尿中活性値の上昇することが知られている。これを利用して、さまざまな腎疾患における尿中 NAG 活性値が報告され、腎炎の診断、予後の推定、aminoglycoside 系抗生剤の腎障害のモニタリング、移植腎拒絶反応の診断などに利用されている。われわれは、腎保存における腎 viability の判定に NAG を利用すべく、第1段階として、腎温阻血による急性腎実質障害が尿中 NAG 活性値に反映されるかどうかを検討し、若干の知見を得たので報告する。

## 実 験 方 法

8~16 kg の雑種成犬を用い、pentobarbital 麻酔下に開腹し、左右腎盂に採尿のためのポリエチレン管を挿入した。また、大腿動脈に動脈圧測定および採血用

カテーテルを留置した。静脈路より lactated Linger 液を 3~5 ml/min. で点滴し、時間尿量がほぼ一定になった時点で、パラアミノ馬尿酸 (PAH) 20 mg/kg およびチオ硫酸ナトリウム (Thio) 80 mg/kg を投与し、つづいて 500 ml 中に PAH 12.5 ml, Thio 50 ml, pentobarbital 12.5 ml を含む lactated Linger 液を 6 ml/kg/h で持続点滴し、PAH, Thio の血中濃度を保った。輸液量は 15 ml/kg/h に調節してやや利尿状態におき、安定した麻酔深度、動脈圧をうる事が可能であった。ついで左右腎動脈を同時に遮断し、血流遮断前および血流再開後5時間まで経時的に採血、採尿した。血流遮断時間は、30分(3腎)、60分(4腎)、90分(3腎)とした。また、麻酔、開腹の影響および腎操作が腎機能におよぼす影響をみるため、開腹のみおこなったもの2腎、腎血管周囲の剝離をおこなったもの2腎を作成した。

経時的に採取した検体より, PAH クリアランス ( $C_{PAH}$ ), Thio クリアランス ( $C_{Thio}$ ), 自由水クリアランス ( $C_{H_2O}$ ), NAG, LDH を測定した. 尿中 NAG 活性値測定は, Fig. 1 のごとく, 尿を遠心した上清

を酵素液, 4-methyl-umbelliferyl-N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminide を基質液として,  $37^{\circ}\text{C}$  で1時間反応させた. 反応停止後 NAG により遊離された 4-methyl-umbelliferon を, 日立 MPF-4 分光蛍光光度計にて測定し, unit/ml で表わした.

### Assay of Urinary NAG

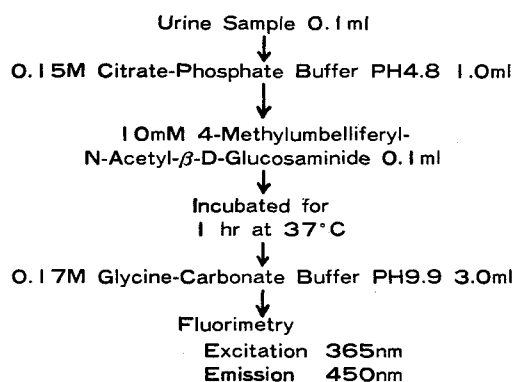


Fig. 1

### 結 果

#### 1. control 群 (Fig. 2, 3)

麻酔, 開腹術のみおこなった群, また腎茎部剝離をおこなった群において各測定値は, 尿量  $25.0 \pm 8.5$  ml/h (mean  $\pm$  S.D.),  $C_{PAH}$  (RPF)  $88.5 \pm 4.5$  ml/min,  $C_{Thio}$  (GFR)  $31.8 \pm 4.3$  ml/min,  $C_{H_2O}$   $34.5 \pm 15.1$  ml/h, NAG  $35.0 \pm 6.4$  u/ml, LDH  $0.75 \pm 0.9$  u/ml で, 以後5時間までの経時的測定で変動はほとんど認められなかったため, これらを control 群として以下の各温阻血群と比較検討した.

#### 2. 温阻血30分群 (Fig. 4, 5)

血流再開後に, 尿量,  $C_{PAH}$ ,  $C_{Thio}$ , とともに一時減少するが, 経時的に徐々に回復する傾向が認められ, 尿

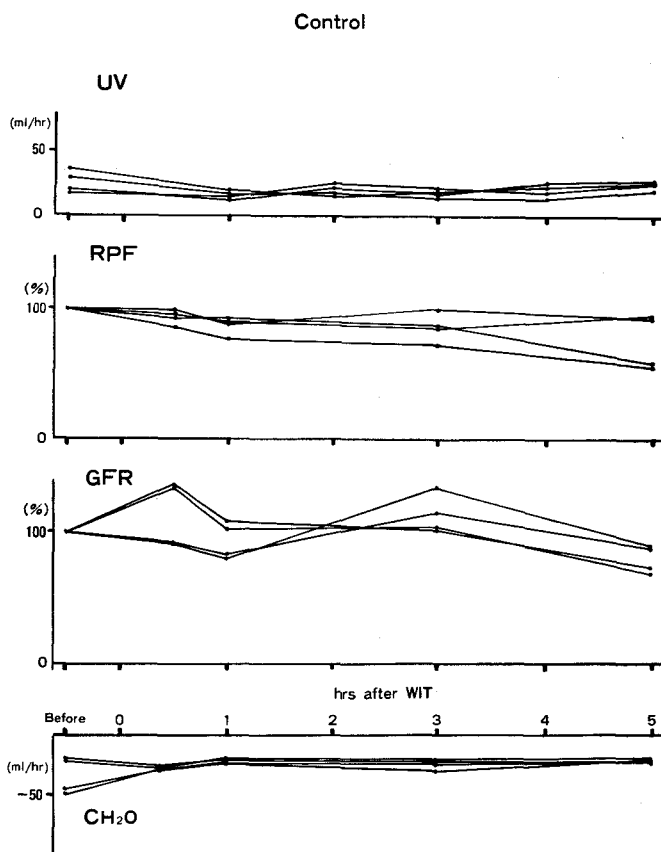


Fig. 2 Changes of urine volume, RPF, GFR and  $C_{H_2O}$  in control group

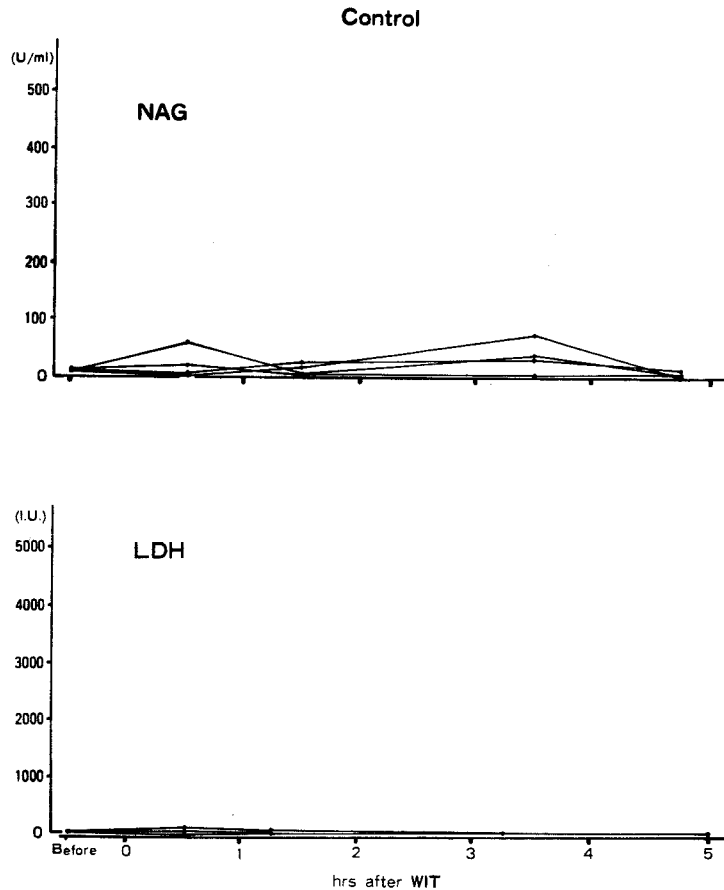


Fig. 3 Changes of urinary NAG and LDH in control group

量は温阻血前値まで回復したが、 $C_{PAH}$ 、 $C_{Thio}$  は約35%の回復にとどまった。 $C_{H_2O}$  の回復はみられず、濃縮能の障害は温阻血急性期には持続していると考えられた。尿中 NAG, LDH は血流再開後早期より著明に増加し、以後経時的に減少傾向が認められたが、5時間後でも高値を示し、NAG  $157.1 \pm 69.2$  u/ml, LDH  $513.0 \pm 261.0$  u/ml であった。

### 3. 温阻血60分群 (Fig. 6, 7)

血流再開後1時間まではほとんど尿流出は認められず、また4時間目以降多尿傾向になるものがあつた。 $C_{PAH}$ 、 $C_{Thio}$ 、 $C_{H_2O}$  は回復傾向を認めず、より高度の腎障害が生じていると思われた。NAG, LDH はともに尿流出初期より高値を示し、徐々に低下したが、温阻血30分群と比較して、腎障害の程度との相関は認められなかった。

### 4. 温阻血90分群 (Fig. 8, 9)

血流再開後5時間まで尿流出はほとんど認められず、腎障害はきわめて高度なものであると考えられた。

NAG は他群と同様に尿流出初期より上昇したが、LDH の変動は少なかった。

### 5. 各群での尿中 NAG 活性値 (Fig. 10)

以上温阻血時間別に尿中 NAG 活性値をまとめると、いずれも血流再開後初期より、尿中 NAG 活性値の上昇が認められた。しかし、各群間で尿量、 $C_{PAH}$ 、 $C_{Thio}$  には差異が認められたものの、尿中 NAG 活性値では、腎障害の程度を示す明らかな差異は認められなかった。

### 6. 温阻血30分群での尿中 NAG 排泄量 (Fig. 11)

血流遮断解除後、比較的安定した尿量の得られた30分間の温阻血群で、単位時間あたりの経時的尿中 NAG 排泄量を、control 群と比較した。NAG 排泄量は、血流再開後早期より上昇し、温阻血による腎尿細管障害を反映して上昇するものと考えられた。

## 考 察

尿中には多種の酵素が含まれ、その意義について多

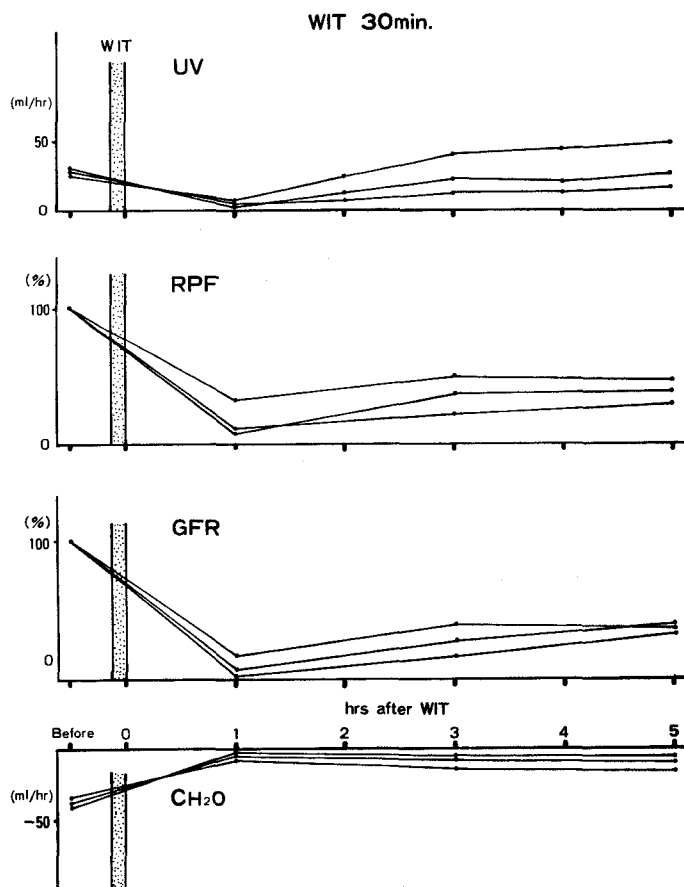


Fig. 4 Changes of urine volume, RPF, GFR and CH<sub>2</sub>O in 30 min. warm ischemic group

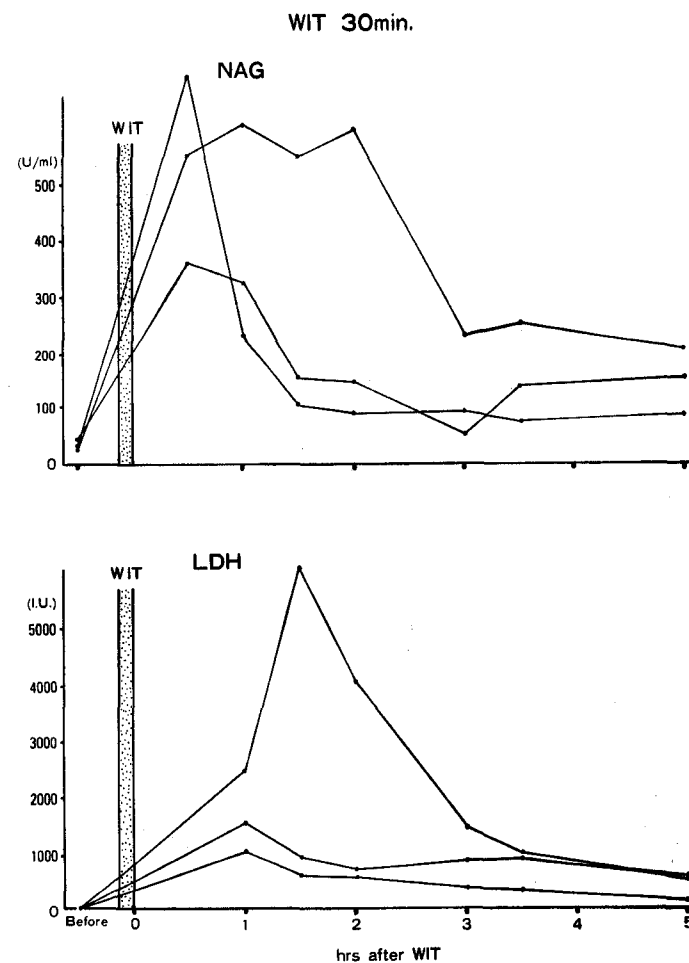


Fig. 5 Changes of urinary NAG and LDH in 30 min. warm ischemic group

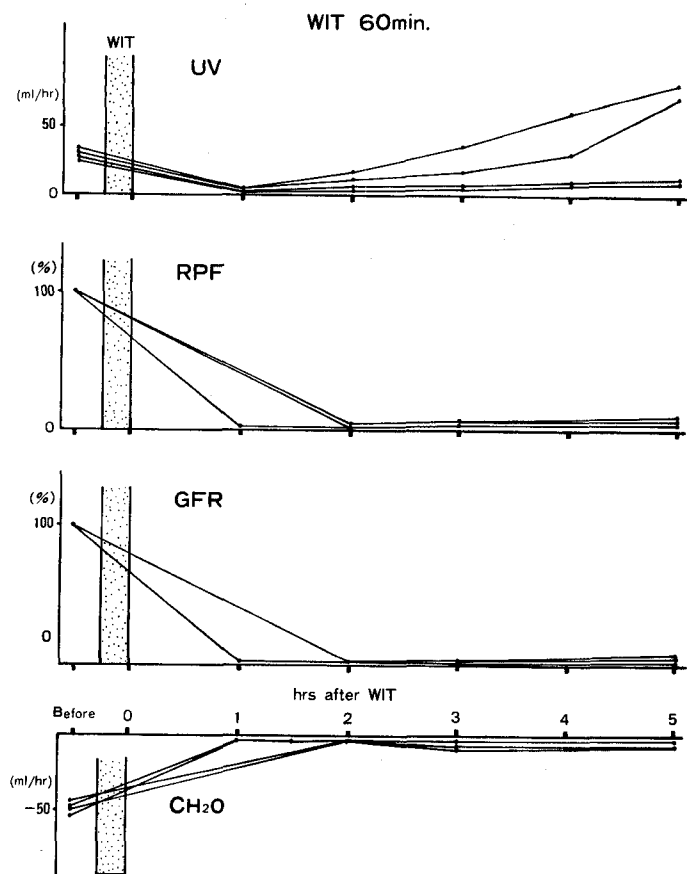


Fig. 6 Changes of urine volume, RPF, GFR and CH<sub>2</sub>O in 60 min. warm ischemic group

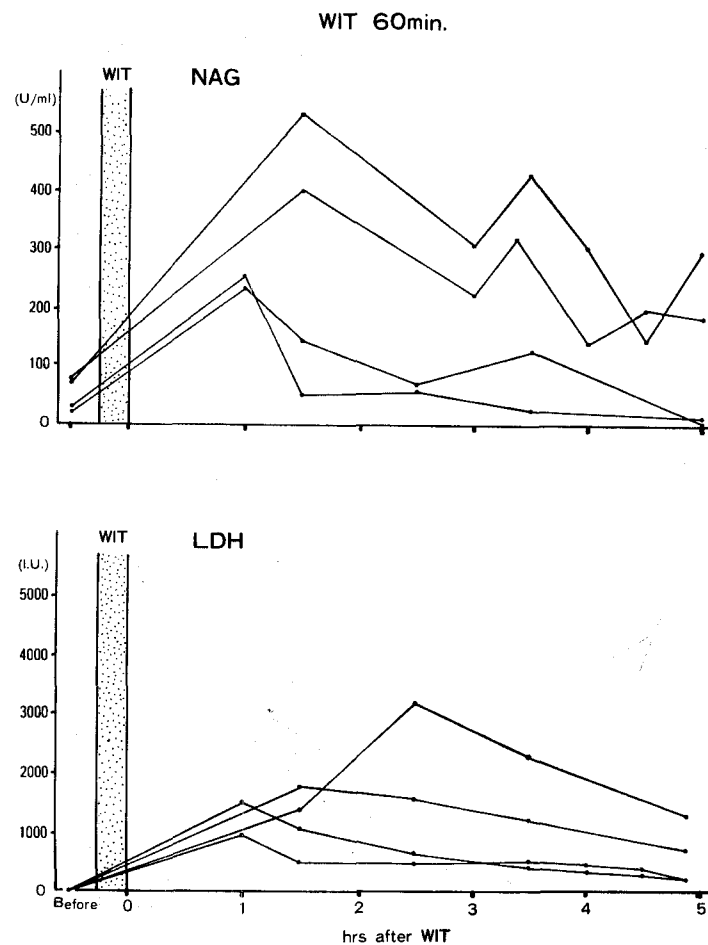


Fig. 7 Changes of urinary NAG and LDH in 60 min. warm ischemic group

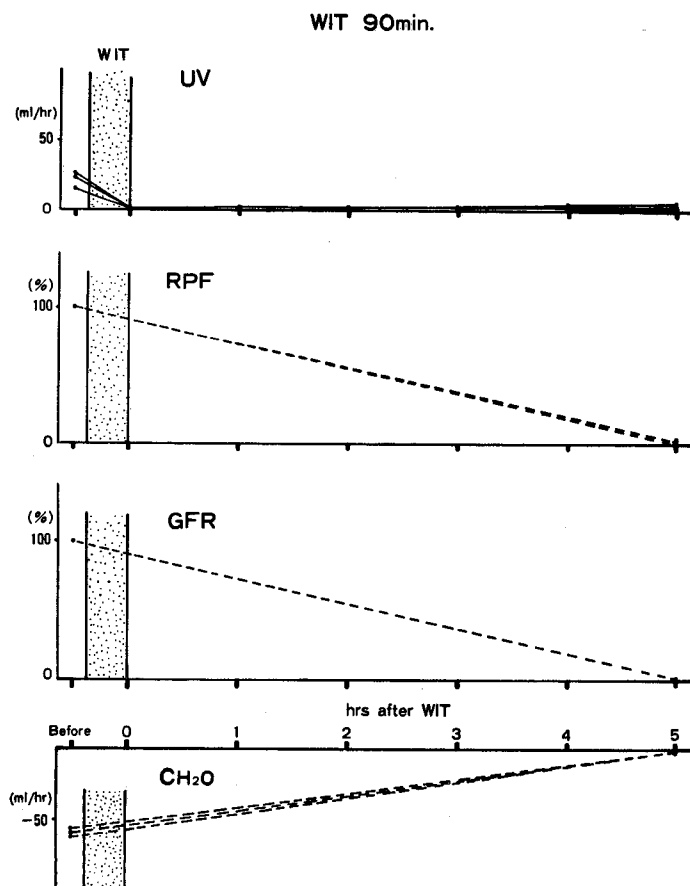


Fig. 8 Changes of urine volume, RPF, GFR and CH<sub>2</sub>O in 90 min. warm ischemic group

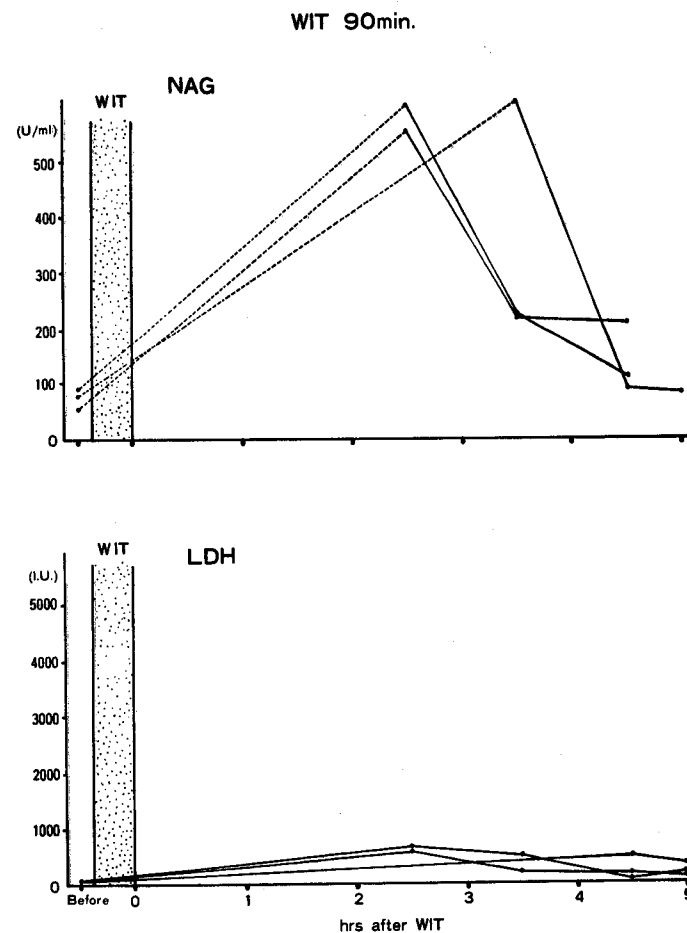


Fig. 9 Changes of urinary NAG and LDH in 90 min. warm ischemic group

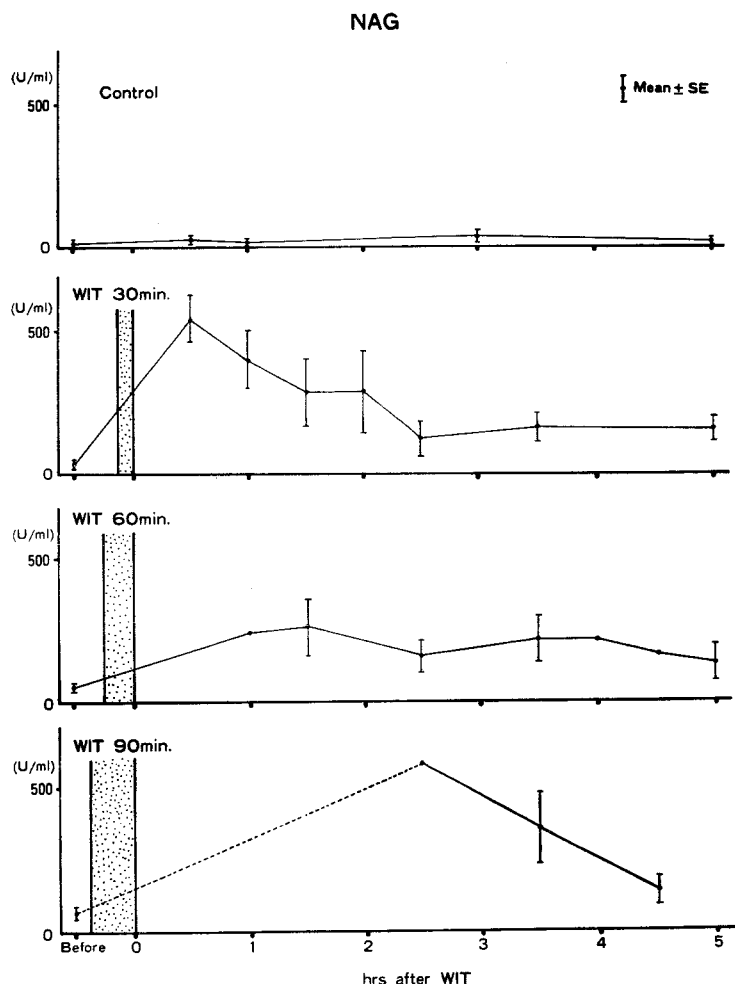


Fig. 10. Changes of urinary NAG activity in control and each ischemic group

くの研究がなされているが、臨床に十分応用されるにはいたっていない<sup>1)</sup>。N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG) は、腎組織、とくに尿細管に多く含まれ<sup>2,3)</sup>、腎実質障害時に尿中へ逸脱する腎組織由来の尿中酵素と考えることができる。Leacock (1961) ら<sup>4)</sup>により、蛍光光度法による測定法が報告されて以来、尿中 NAG の意義についての研究が進み、各種腎疾患、腎実質障害時の尿中 NAG 活性値が測定され、臨床応用がなされ始めている<sup>5-7)</sup>。また、移植腎拒絶反応時における上昇が報告され、拒絶反応の早期診断に利用されている<sup>8,9)</sup>。さらに腎灌流保存時の灌流液中の NAG 活性値により、腎 viability 判定への応用も試みられている<sup>10)</sup>。われわれは、腎保存における腎 viability 判定に尿中 NAG 活性値を応用すべく、まず腎温阻血による急性腎実質障害が尿中 NAG 活性値におよぼす影響を検討した。control 群では温阻血前

後で、尿量、 $C_{PAH}$ 、 $C_{Thio}$ 、 $C_{H_2O}$ 、NAG、LDH にはほとんど変動を認めなかったが、温阻血群では、尿量、 $C_{PAH}$ 、 $C_{Thio}$  でそれぞれの温阻血時間に対応して、腎実質障害の程度を反映すると考えられる結果を得た。腎温阻血による尿中 NAG 活性値の変動をみた研究は、現在まで報告をみないが、われわれの検討では、温阻血解除後初期より尿中活性値の著明な上昇がみられたことより、腎温阻血による急性腎実質障害を反映して、尿細管細胞より逸脱した NAG が尿中へ増加するものと考えられた。しかし、温阻血時間に対応した尿中 NAG 活性値の変動はみられず、腎実質障害の程度が、いかに尿中 NAG 活性値に影響をおよぼすのかは、さらに詳細な検討を要するものと思われた。尿中 LDH も NAG と同様の動きを示し、従来より言われているように、腎実質障害により尿中活性値が上昇した。

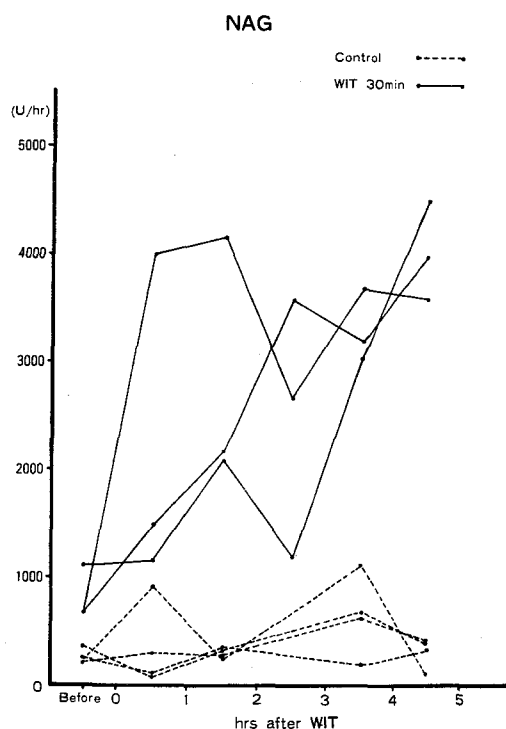


Fig. 11. Urinary NAG excretion in control and 30 min. warm ischemic group

腎保存における組織 viability 判定には、さまざまなパラメーターが検討されているが、逸脱酵素では腎灌流保存時の灌流液中の GOT, GPT, LDH, LDH isozyme などが一般的で、NAG も viability 判定に有用であると報告されている。今回のわれわれの検討で、温阻血による腎実質障害が尿中 NAG 活性値に反映されたことから、腎灌流保存、さらに腎単純冷却保存における、washout の際の尿中 NAG 活性値が、腎 viability 判定の指標となりうる可能性が示唆された。また、NAG には isozyme として A, B 分画があり<sup>11)</sup>、われわれは腎実質障害時における NAG isozyme の尿中排泄パターンについても検討中である。

## 結 語

腎尿細管細胞の lysosomal enzyme である N-acetyl-β-D-glucosaminidase (NAG) が、腎温阻血による腎実質障害を反映して尿中に排泄されるかどうかを検討するため、雑種成犬を用い、温阻血前後で経時的に採尿し尿中 NAG 活性値を測定した。尿中 NAG 活性値は、血流再開後早期より上昇し、腎温阻血により変動することが確認された。しかし、腎実質障害の程度を反映する結果は得られなかった。尿中 NAG 活

性値は、腎保存における腎 viability の判定、さまざまな腎疾患の経過観察へも応用できる可能性があると思われる。

本論文の要旨は、第6回臓器保存研究会において発表した。

## 文 献

- 1) Raab WP: Diagnostic value of urinary enzyme determinations. *Clin Chem* 18: 5~25, 1972
- 2) Taylor DG, Price RG, Robinson D: The distribution of some hydrazes in glomeruli and tubular fragments prepared from rat kidney by zonal centrifugation. *Biochem J* 122: 641~645, 1971
- 3) Dance N, Price RG, Stirling JL: β-galactosidase, β-glucuronidase and N-acetyl-β-glucosaminidase in human kidney. *Clin Chim Acta* 24: 189~197, 1969
- 4) Leabach DH, Walker PG: Studies on glucosaminidase. The fluorimetric assay of N-acetyl-β-glucosaminidase. *Biochem J* 78: 151~156, 1961
- 5) Wellwood JM, Ellis BG, Price RG, Hammond K, Thompson AE, Jones NF: Urinary N-acetyl-β-D-glucosaminidase activities in patient with renal disease. *Brit Med J* 16: 408~411, 1975
- 6) Kunin CM, Chesney RW, Craig WA, England AC, DeAngelis C: Enzymuria as a marker of renal injury and disease: Studies of N-acetyl-β-glucosaminidase in the general population and in patient with renal disease. *Pediatrics* 62: 751~760, 1978
- 7) 浅見 直: 尿中 β-D-N-acetylglucosaminidase の諸性質と小児腎疾患における臨床的意義. *日腎誌* 22: 117~136, 1980
- 8) Wellwood JM, Davis D, Leighton M, Thompson AE: Urinary N-acetyl-β-D-glucosaminidase assay in renal transplant recipients. *Transplantation* 26: 396~400, 1978
- 9) Ellis L, McSwiney RR, Toker SM: Urinary excretion of lysosome and N-acetyl-β-D-glucosaminidase in the diagnosis of renal allograft rejection. *Ann Clin Biochem* 15: 253~260, 1978
- 10) Cohen GL, Ballardie FW, Johnson RWG:

Patterns of lysosomal enzyme release during in vitro kidney perfusion. Brit J Surg 63: 662, 1976

- 11) Geiger B, Navon R, Ben-Yoseph Y, Arnon R: Specific determination of N-acetyl- $\beta$ -D-hexo-

saminidase isozyme A and B by radioimmunoassay and radical immunodiffusion. Eur J Biochem 56: 311~318, 1975

(1982年1月11日受付)

# アレルギー性疾患 慢性肝疾患に……

■グリチルリチン製剤

## 強力ネオミノファーゲンシー

健保略称 強ミノC

●作用

抗アレルギー作用，抗炎症作用，解毒作用，インターフェロン誘起作用，および肝細胞障害抑制・修復促進作用を有します。

●用法・用量

1日1回，1管（2ml，5ml，または20ml）を皮下または静脈内に注射。

症状により適宜増減。

慢性肝疾患には，1日1回，40mlを静脈内に注射。年齢，症状により適宜増減。

●適応症

アレルギー性疾患（喘息，蕁麻疹，湿疹，ストロフルス，アレルギー性鼻炎など）。食中毒。薬物中毒，薬物過敏症，口内炎。

慢性肝疾患における肝機能異常の改善。

包装 20ml 5管・30管，5ml 5管・50管，2ml 10管・100管

※使用上の注意は，製品の添付文書をご参照下さい。

●内服療法には

**グリチル** 錠二号

包装 1000錠，5000錠

健保適用

山本 錠 ミノファーゲン製薬本舗（〒160）東京都新宿区新宿3-1-12