

運動後の尿蛋白成分変化に関する スポーツ医学的研究

新潟大学医学部衛生学教室（主任：山本正治教授）

杉本英夫

Changes of Urinary Protein Components after the Physical
Exercise from the Viewpoint of Sports Medicine

Hideo SUGIMOTO

*Department of Hygiene and Preventive Medicine,
Niigata University School of Medicine, Niigata, Japan
(Director: Prof. Masaharu YAMAMOTO)*

In order to gain a better understanding of the merits and demerits of sports, the urinalysis of healthy persons before and after running was undertaken. Urine samples were collected from male students before and after 10km running at the maximal speed. The samples were analyzed by measurement of total protein (TP) concentration, sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) and Western blotting. The followings were observed;

- 1) TP concentrations of the control group (before running) were less than 30mg/dl.
- 2) TP concentrations elevated following running with their peaks immediately or 1 hour after running, then decreased approximately to the control levels within 3 hours.
- 3) Total protein excretion within 3 hours was 62~1,089mg (353.1 ± 265.56 mg (mean \pm SD)). Furthermore, TP excretion of 15(83.3%) of 18 subjects was less than 500mg.
- 4) SDS-PAGE and Western blotting showed that albumin was the main protein band in the urine which was collected before and 3 hours after running. However, α_2 -macroglobulin, immunoglobulin G and transferrin were seen in the peak fraction of TP concentration, in addition to albumin,

It is concluded that the runners should decrease the intensity and/or duration of exercises, when one or both of the following changes in urinalysis appeared;

Reprint requests to: Hideo SUGIMOTO,
Faculty of Education, Niigata University,
Ikarashi, Niigata 950-21, JAPAN.

別刷請求先: 〒951-21 新潟市五十嵐二の丁
新潟大学教育学部

杉本英夫

- 1) Total protein excretion within 3 hours after running was more than 500mg.
- 2) Other protein band(s) with higher molecular weight than albumin, were seen by SDS-PAGE at higher concentration in the urine collected 3 hours after running than before running, in addition to albumin.

Key words: sports medicine, physical exercise, urinalysis, urinary protein, electrophoresis, Western blotting

スポーツ医学, 運動負荷, 尿分析, 尿蛋白, 電気泳動, ウェスタンブロッティング

略語表

Alb	アルブミン
α_2 -M	α_2 -マクログロブリン
β_2 -m	β_2 -ミクログロブリン
IgA	免疫グロブリン A
IgG	免疫グロブリン G
LZM	リゾチーム
Mb	ミオグロビン
RBP	レチノール結合蛋白
Tf	トランスフェリン
TP	総蛋白
BPB	ブロムフェノールブルー
CBB	クマシーブリリアントブルー
SDS	ラウリル硫酸ナトリウム
PAGE	ポリアクリルアミドゲル電動泳動
SDS-PAGE	SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動
Tris	トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン

被検者のそれに対する適応性などが, ある種の運動負荷中あるいは負荷後に以下の方法で研究されている.

1) 生理学的研究法

- ① 呼吸器系 (肺気量分画, 換気量, 血液ガス分析, 呼気分析など)
- ② 循環器系 (脈拍数, 心拍数, 心電図, 血圧など)
- ③ 筋系 [筋電図, 筋生検 (運動負荷とは時間的な関係はとくに持たない)]
- ④ サーモグラフィ
- ⑤ その他 (体温, 発汗など)

2) 生化学的研究法

- ① 血液成分の分析
- ② 尿成分の分析
- ③ 筋組織化学的分析
- ④ その他の体液分析

ここに記した方法のうちには高額な機器を要するものや, 医師の協力を要するものがある. そのような研究は小規模な研究グループには不可能である. 一方, 尿は被検者に苦痛を与えずに, かつ特別高価な準備を要せず採取できる. そこで, 尿成分の研究について述べてみたい.

2. 尿成分の分析に関する研究

尿成分のうち蛋白は以下のように臨床的スクリーニングの目的でスポーツ医学の領域でも測定されている.

1) 学童検診のスクリーニングとして尿の総蛋白 (TP) 濃度が測定されている.

2) 世界有数の長寿国である日本では, 糖尿病, 高血圧, 肥満などの成人病が増加してきて, これらの予防と治療のための運動処方に応用されだしている. この場合の経過観察の1因子としての尿の TP 濃度が測定されている.

3) 運動負荷と尿蛋白の関連した研究では TP 濃度のほかに Alb, β_2 -m, Mb などの特定の蛋白も測定されている.

運動負荷前後の尿蛋白に関する研究では, Poortmans

はじめに

最近スポーツはめざましく普及してきている. スポーツをする人々は学童, 競技選手, 愛好者と多彩である. その一方では, スポーツに伴う障害, 事故, 突然死を含めた死亡事故などが多くなってきたことも事実である. 「はたして, スポーツは健康の回復, 維持, 増進のために有益か」. この単純な疑問を多くの人が抱いている. この疑問に対する明確な解答を提出することはかなり困難と思われるので, 著者はスポーツが生体に与える影響から検討することにした.

1. スポーツ医学の研究手法

検討方法を決定する前に現在一般的に行われているスポーツ医学の研究手法を簡単に列記しておきたい. 疾患とは関係なしに, 各種のスポーツが生体に及ぼす影響や,

と Vancalck の報告¹⁾ がよく知られている。彼らは19～21才の健康な女性15名の all-out 負荷前後の尿中の TP, Alb, β_2 -m の濃度を測定したところ、これら3者は負荷後に一過性に増加していた。この実験は被検者の生理による尿成分の汚染がない時を選んでなされた。このほかに Poortmans と Labilloy²⁾ は20才前後の男子学生を被検者にして、100 m, 400 m, 3,000 m を(それぞれ異なる日に)全力で走らせて、負荷前(1時間)および負荷後(30分)に採取した尿の TP と Alb の濃度を測定したところ、両者はすべての例で負荷後に増加していた。その増加の大きさは 400 m, 3,000 m, 100 m の順であった。そこで彼らは、尿蛋白の増加には運動強度のほうが運動持続時間よりも大きく作用するとした。これらの研究から、彼らは運動によって腎糸球体の透過性が増し、かつそれが尿細管の再吸収能を越えるために、尿蛋白の排泄が増加したと考えた。

著者も運動負荷後の尿蛋白の変化について検討を行って来た。即ち、県内のある中学校の各学年からクラブ活動群と非クラブ活動群を各々男子7人ずつ各人の了解を得て選び、8時と16時に採取した尿の蛋白を検討した。この研究では定期学校検診での異常のない生徒が行うクラブ活動(サッカー、バスケット、陸上競技、水泳であり、放課後約2時間)が、尿蛋白にどのような影響をあたえるかをみるための検討であった。

その結果は、① TP 濃度は(平均値±標準偏差)で示すとクラブ活動群は8時採取尿で(1年, 37.3±1.92 mg/dl; 2年, 44.5±3.75 mg/dl; 3年, 40.1±0.96 mg/dl), 16時採取尿で(1年, 45.0±12.62 mg/dl; 2年, 54.9±11.60 mg/dl; 3年, 49.0±0.67 mg/dl), 非クラブ活動群では8時採取尿で(1年, 45.4±12.12 mg/dl; 2年, 43.1±3.70 mg/dl; 3年, 42.0±3.07 mg/dl), 16時採取尿で(1年, 49.8±18.99 mg/dl; 2年, 50.1±3.01 mg/dl; 3年, 49.8±2.18 mg/dl)であった。② SDS-PAGE ではほとんどの例で Alb が主ではかの蛋白バンドは痕跡程度であったが、数例では Alb よりも高分子量域と低分子量域の各々に数本の蛋白バンドが明確に認められた。

ここでは、クラブ活動の有無によって尿蛋白には質的にも量的にも明らかな差は認められなかった³⁾。この結果はクラブ活動による生体への負担が軽いのか、採尿の時間によるのか、さらに検討する必要があることが示唆された。

そこで、著者は運動負荷には多くのスポーツの基礎である走運動を選んだ。さらに、運動負荷の強度と持続時

間にある程度の定量性を持たせる意味から、Poortmans と Labilloy の報告²⁾ を参考にして、ここで扱う被検者達がよく行っている 10 km 走前後の尿の TP 濃度と SDS-PAGE 像の変化を検討することにした。なお、 β_2 -m, LZM, RBP などの低分子蛋白は腎糸球体を自由に通過し、尿細管より再吸収され⁴⁾、尿中濃度も低いので、著者は主に Alb 以上の分子量の蛋白に焦点を置いた。

さらに、健康人の運動負荷後の尿蛋白の排泄のメカニズムを探るために、すでにメカニズムのわかった糖尿病性腎症患者の尿蛋白を SDS-PAGE で分析した⁵⁾⁶⁾。

材料と方法

1. 材料

1) 健康人の尿

N大学の男子学生(陸上競技部員10人、バスケットボール部員8人)より10 km 全力走の前[1時間(対照として使用した)]および後(可能なかぎり直後、1時間、3時間)に採尿したものを健康人の尿とした。尿は中間尿を採取した。これらの試料は採取直後に防腐剤として NaN₃(終濃度 0.1%)を添加して、直ちに低温(約4℃)に保存した。さらに、その日のうちに3,000(/1分間)回転10分間遠心後に分離した上清を同様に低温保存し、1週間以内に分析した。

2) 糖尿病患者の尿

糖尿病患者の尿は、新潟県内の病院の内科の臨床検査に使用した24時間尿から1部提出されたものである。1)と同様に、採取した日に遠心分離して得た上清を低温保存し1週間以内に分析した。尿蛋白量は1～2 g/24時間であった。

3) 試薬

グリシン(特級)、塩酸(特級)、アクリルアミド(電気泳動用)、N,N'-メチレンビス(アクリルアミド)(Bis, 電気泳動用)、N,N,N',N'-テトラメチルエチレンジアミン(TEMED, 電気泳動用)、過硫酸アンモニウム(APS, 特級)、グリセロール(特級)、アミドブラック10B(一級)、メタノール(一級)、酢酸(一級)、Tween 20(化学用)、4-クロロ-1-ナフトールは和光純薬の製品を使用した。トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタン(Tris)、ラウリル硫酸ナトリウム(SDS)、牛血清アルブミン(BSA)はSigma Chemical Co.の製品、Coomassie Brilliant Blue R 250(CBB-R)はFluka AGの製品、過酸化水素は三菱瓦斯化学の製品を使用した。SDS-PAGEの分子量マーカーにはコスモ・バイオの

myosin (200 kd), phosphorylase b (97.4 kd), bovine serum albumin (68 kd) を使用した。

ウサギ抗ヒト IgG 抗体, ウサギ抗ヒト IgA 抗体, ウサギ抗ヒトトランスフェリン抗体は DAKO JAPAN CO. の製品。ヤギ抗ヒトアルブミン抗体, ヤギ抗ヒト α_2 -マクログロブリン抗体, ベルオキシダーゼ標識ヤギ抗ウサギ IgG 抗体は Miles-YEDA の製品, ベルオキシダーゼ標識ウサギ抗ヤギ IgG 抗体は ICN Immunobiologicals の製品を使用した。

4) ニトロセルロース膜

Western blotting では Toyo Roshi の membrane filter (CAT. NO., AO45A224D; pore size, 0.45 μ m; diameter, 220×220 mm) を使用した。

2. 方 法

1) 尿 TP 濃度の測定

和光純薬の Micro TP-Test wako で測定した。この測定原理は pyrogallol red-molybdenum (VI) (PR-M と略す) は赤色の錯体で 470 nm に最大吸収をもつが, 蛋白と結合して [PR-M-蛋白複合塩] になると青色を呈し最大吸収が 604 nm となることを応用したものである。実際はこのキットではヒト Alb (100 mg/dl) を蛋白標準液として 600 nm の吸収を測定して蛋白濃

度を算出している。

2) SDS-PAGE

尿試料を当量のトリス緩衝液 [20 mM Tris-HCl (pH 6.8) -20% glycerol -2% SDS -0.005% bromphenol blue] と混和し, 沸騰水中で2分間加熱した後水冷した。この試料を Laemmli の方法⁷⁾ に準じて SDS-PAGE (7.5% acrylamide, 0.2% bisacrylamide gel) で分析した。電気泳動用緩衝液には, 0.025 M Tris-0.192 M glycine (0.1% SDS), pH 8.3 を使用した。電気泳動は 10 mA で14~16時間行った。電気泳動後ゲル内の蛋白は, 染色液 (CBB-R 0.25 g, メタノール 500 ml, 酢酸 100 ml に水を加えて 1 l にしたもの) で3~4時間染色した後, 脱色液 (メタノール 250 ml, 酢酸 70 ml に水を加えて 1 l にしたもの) を数回替えて脱色した。

3) Western blotting

Western blotting は Towbin らの報告⁸⁾, 桜林と荒川の報告⁹⁾, 今井の方法¹⁰⁾ に準じて行った。上記の2)と同様にして, 還元剤非存在下の条件で SDS-PAGE を行った後, ゲル内で分子量に依存して分離された蛋白は, 電気泳動的にニトロセルロース膜に転写した。転写後, ニトロセルロース膜の1レーンは Amido Black 10

Table 1 Characteristics of subjects

Subject No.	Age (years)	Height (cm)	Weight (kg)	Best records of 10 km run (minutes. seconds)
1	22	171.0	58.0	32.42
2	22	170.0	56.0	33.58
3	21	170.0	55.0	32.36
4	21	174.0	57.0	35.24
5	20	165.0	56.0	34.16
6	20	177.0	65.0	38.40
7	19	167.0	61.0	36.18
8	18	165.0	55.0	35.15
9	19	171.0	62.0	40.16
10	21	165.0	60.0	38.35
11	22	181.0	58.0	38.52
12	22	177.0	68.0	37.49
13	21	164.0	60.0	41.05
14	21	186.0	81.0	41.23
15	20	184.0	72.0	40.17
16	20	178.0	72.0	39.35
17	19	186.0	72.0	39.11
18	18	168.0	63.0	40.45

B (Amido Black 10B 2g, メタノール 100ml, 酢酸 50ml に水を加えて 1ℓ にした) で染色した. 脱色は 7% 酢酸で行った. ニトロセルロース膜の残りのレーンは 3% BSA でブロックした. 以後の操作で桜林と荒川の報告⁹⁾ と異なるところは, ベルオキシダーゼの基質に 4-クロロ-1-ナフトールを用いたことである.

結 果

1. 運動負荷前後の尿 TP 濃度の経時的変化

健康人の運動負荷前後の尿 TP 濃度の経時的変化を知るために, 陸上競技部の学生10名とバスケットボール部の学生8名の 10km 全力走前後の尿を採取した. この18名の各被検者の年齢, 身長, 体重, 10km 走の最高記録を **Table 1** に示した. 採取した尿の TP 濃度の経時的変化を検討し, その結果を **Fig. 1** に示した. なお, ここでは, 両グループの比較が目的ではないため, 結果はまとめて示した. 採取したすべての尿は肉眼的に血尿は認められなかった. しかしながら, **Fig. 1** の 10km 走終了直後 (この実験全般において 5~15分であった) の TP 濃度が 192 mg/dl, 150 mg/dl であった 2 例では, 尿が濃黄色を呈していたことから濃縮尿と思われた. この実験で次の所見を得た.

1) 運動負荷前後の経時的尿 TP 濃度は, 運動負荷前 (BEFORE, 7.4 ± 6.63 mg/dl), 運動負荷終了直後 (5-15MIN, 46.8 ± 51.16 mg/dl), 運動負荷終了 1 時間後 (1H, 41.4 ± 29.60 mg/dl), 運動負荷終了 3 時間後 (3H, 10.1 ± 5.97 mg/dl) であった.

2) 運動負荷終了 3 時間後には尿 TP 濃度は負荷前の値に戻るか, またはその近傍の値になっていた.

3) 運動負荷終了後の尿 TP 濃度のピークは直後か 1 時間後に認められた.

ここで TP 濃度を尿クレアチニン濃度で補正しなかったのには理由がある. 即ち, ここで使用するクレアチニンの測定法は Jaffé 法であり, 本法は非クレアチニン Jaffé 反応物質によって測定値に誤差が生じるからである¹¹⁾¹²⁾.

2. 運動負荷後の尿蛋白の排泄量

「材料と方法」に記したように, 中間尿を採取したため, 尿量は平均的な量に統一した, 即ち, 運動負荷終了直後は 30 ml, 1 および 3 時間後は 50 ml とした. 各被検者の尿蛋白量を尿蛋白濃度と尿量から算出して, 各採取時点 (5-15MIN, 1H, 3H) の蛋白量とそれらを合計した [(5-15MIN)+1H+3H] 総蛋白量 (TOTAL) として **Fig. 2** に示した. 結果は以下のとおりである.

1) 運動負荷終了直後に採取した尿の蛋白量は 12~579 mg (140.5 ± 153.97 mg) であった. 500 mg 以上の尿蛋白排泄量を認めた者は 1 名のみであった.

2) 運動負荷終了 1 時間後に採取した尿の蛋白量は 45~500 mg (207.2 ± 147.99 mg) であった. ここでも, 500 mg 以上の蛋白排泄は 1 名に認められた. この被検者は運動負荷終了直後にも蛋白排泄量が 500 mg 以上であり, **Fig. 1** で 5-15MIN の TP 濃度が 192 mg/dl の例であった.

3) 運動負荷終了 3 時間後に採取した尿の蛋白量は 1.0~

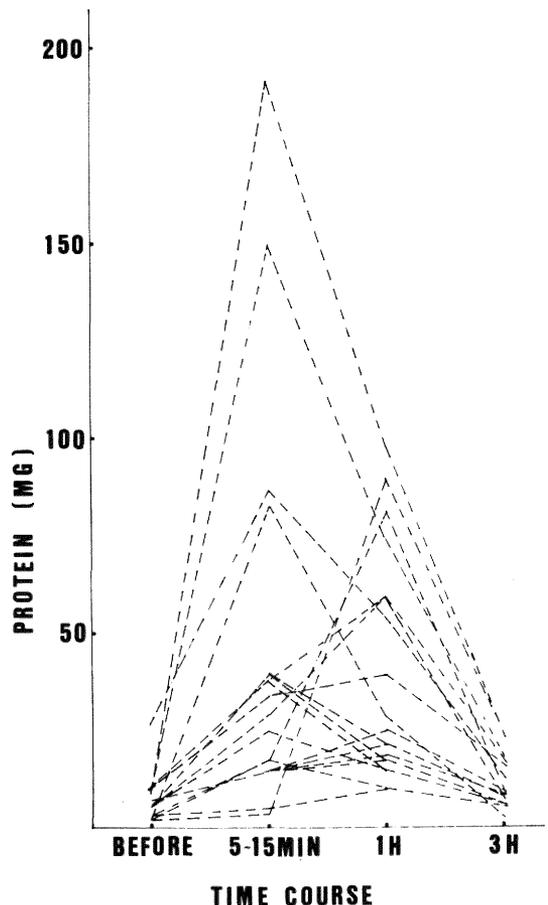


Fig. 1 Concentrations of urinary total protein before and after 10km running. BEFORE, before running (1 hour; used as a control group). 5-15MIN, 1H and 3H are 5-15 minutes, 1 hour and 3 hours after running, respectively.

12.0 mg (5.1 ± 2.98 mg) であった。

4) 運動負荷終了後3時間における尿の総蛋白排泄量 (Fig. 2, TOTAL) は $62 \sim 1,089$ mg (353.1 ± 265.56 mg) であった。総蛋白排泄量は18人中15人 (83.3%) で 500 mg 未満であった。

3. 尿蛋白の SDS-PAGE 像のパターン

各被検者の尿蛋白の SDS-PAGE 像はほぼ近似していたことから、全例は示さず、TP 濃度のピークが 150 mg/dl を示した被検者の例を Fig. 3 に示した。ここで、蛋白バンドは分子量の大きい方 (Fig. 3 では上部) から P1, P2, P3, P4, P5 と呼ぶことにした。この実験結果から以下のことが判明した。

1) 運動負荷前の尿においては P5 が主成分で、ほかの蛋白バンドはほとんど認められなかった。

2) 運動負荷終了後の TP 濃度がピークの尿 (5-15 MIN か 1H) には、P1 から P5 までの5本の蛋白バンドが認められた。さらに、P5 は運動負荷前よりもバンドが濃くなり、濃度が増したことが明らかとなった。ただし、TP 濃度が低い場合には P1 と P3 は痕跡程

度であった。一方、P5 よりも低分子量域にも蛋白バンドが1~2本認められた。

3) 運動負荷終了後3時間に採取した尿では、P5 以外の蛋白バンドはほとんど認められなかった。

なお、データとしては示さなかったが、走運動負荷は Poortmans と Labilloy の報告²⁾と同様に 100 m, 400 m, 3000 m とし、その直後、1時間後、3時間後に採取した尿の TP 濃度、SDS-PAGE 像も検討した。TP 濃度のピークは走運動負荷終了直後または1時間後に採取した尿に認められた。それぞれのピークを示した試料の SDS-PAGE 像はほとんど Fig. 3 と同じであった。これらの走運動負荷実験から、負荷後の尿の TP 濃度と蛋白の SDS-PAGE 像の変化は、量的には差があるが質的にはほぼ似たパターンであった。

4. Western blotting による蛋白バンドの同定

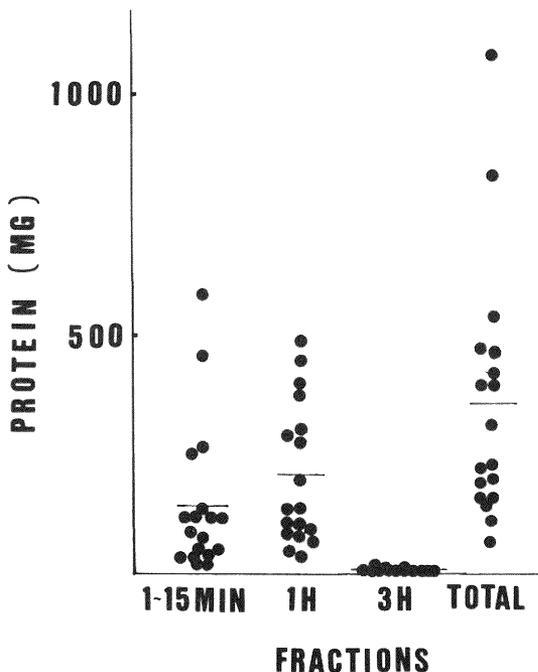


Fig. 2 Protein excretion at each collection time and total amount of each subject after 10km running.

Mean value in each fraction is indicated by the horizontal bar.

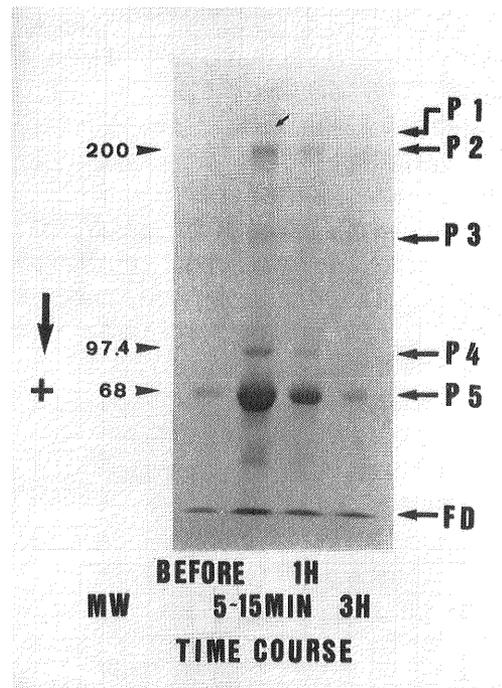


Fig. 3 SDS-PAGE patterns of urinary protein before and after 10km running.

Protein bands are designated as P1, P2, P3, P4 and P5 from the high molecular weight region (top). MW, molecular weight markers: myosin (200 kd), phosphorylase b (97.4 kd) and bovine serum albumin (68 kd). FD, front dye (BPB).

Western blotting により P1 は α_2 -M, P2 は IgG, P4 は Tf, P5 は Alb と同定された (Fig. 4). 抗 IgG 抗体と反応した蛋白バンドは数本認められたが, P2 は分子量が約 160,000 であったことから IgG (heavy chain 2 本+light chain 2 本), P3 は IgG の誘導体と考えられた. データとしては示さなかったが, IgG とほぼ同じ位置に, 少量ながら IgA を認めた.

5. 糖尿病患者の尿蛋白の SDS-PAGE 像

糖尿病患者の尿蛋白の SDS-PAGE 像には, 学生の走運動負荷後の尿の SDS-PAGE 像に認められた蛋白バンド (Fig. 3 の P1 から P5 までの 5 本) のほかに, X1 から X6 までの蛋白バンドが認められた (Fig. 5). ところが, Fig. 3 とは異なり, Alb よりも低分子量域には蛋白バンドを認めなかった.

考 察

スポーツがめざましく普及した今日でも, 「スポーツは健康に有益かそれとも有害か」と言う単純な疑問に, 人は明確に解答できるわけではない.

この問題を解き明かすために多くの研究者は, 「はじめに」で述べたような方法で研究を行っている.

著者は, この問題の直接的な解析は困難なために, 運

動負荷を行った場合に生体に起こる変化を検討した. そのパラメータとしては尿の TP 濃度および蛋白の SDS-PAGE 像の変化を選んだ. 尿蛋白は主に血液に由来し, 一部は尿路に由来しているが, 血液よりも全般に蛋白濃度が薄くて試料として扱いやすいことのほかに, 尿は被検者に苦痛を与えずに, かつ血液よりも大量に採取できるなどの利点がある. さらに, TP 濃度の測定や SDS-PAGE による分析は同時に多検体を処理することが出来て便利である.

なお, 運動によって蛋白尿が出現する事実はよく知られている¹³⁾¹⁵⁾. また, 尿中には Alb 以下の分子量の蛋白は多く知られている¹⁶⁾⁻¹⁹⁾ が, 著者は尿の TP 濃度と特に Alb 以上の分子量の蛋白の SDS-PAGE 像に

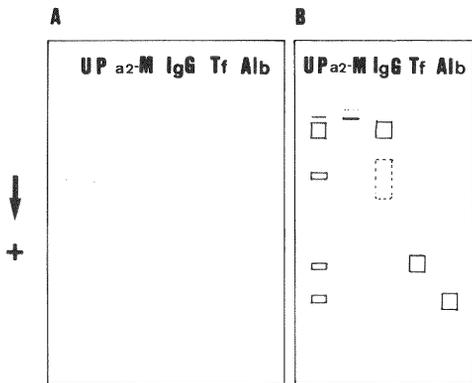


Fig. 4 Identification of protein bands by Western blotting.

A, electrophorogram; B, drawing. UP, SDS-PAGE pattern of urinary protein transferred to nitrocellulose membrane. a2-M, alpha 2-macroglobulin; IgG, immunoglobulin G; Tf, transferrin; Alb, albumin. Corresponding antibody against each of these four proteins was used as the first antibody.

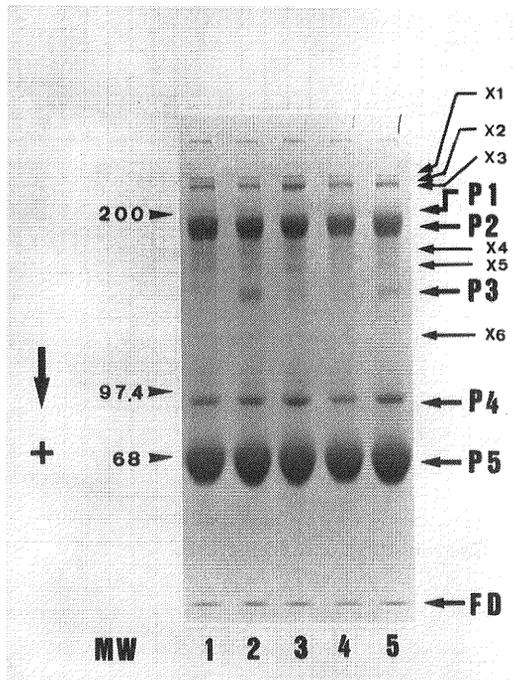


Fig. 5 SDS-PAGE patterns of urinary protein collected from five patients with diabetes mellitus.

Each patient excreted urinary protein 1~2g/day. Urine samples were diluted ($\times 10\sim 15$) with 0.9% NaCl solution before SDS-PAGE. Other protein bands (X1-X6) were observed in diabetic patients, in addition to those protein bands (P1-P5 in Fig. 3) observed in the healthy persons. FD, front dye (BPB).

焦点を置いて検討した。

その結果、運動負荷（10 km 走）後の尿中には Alb をはじめ α_2 -M, IgG, Tf などが増加したことを認めた。TP 濃度のピークは運動負荷終了直後か1時間後であった。運動負荷前の尿には Alb が主ではかの成分は殆ど認められなかった。上記の4種の蛋白のうち、 α_2 -M は急性相反応物質（acute phase reactants, APR）の1つであり、かつ protease inhibitor 活性をもつ分子量約820,000の高分子蛋白である。APR は生体が感染や外傷などの刺激を受けてから血液中出现するまでには、反応の早いものでも数時間を要する²⁰⁾。

一方、IgG は抗体蛋白の代表的なものである。成体が感染などの刺激を受けてから、抗体が血液中に増加するには少なくとも数日を要する²¹⁾²²⁾。

Alb と Tf は血清蛋白（運搬蛋白、酵素、血液凝固系蛋白、免疫グロブリン、補体などに大別されている）のうちの運搬蛋白に属する。これらの濃度が正常時に1時間前後で大きく変動することはない²³⁾²⁴⁾。そのうえ、ここで負荷した10 km 程度の走運動では、発汗による血液の濃縮等によって血清 TP 濃度が上昇しても数%以内と推定される²⁵⁾。以上のことから総合的に考えると、著者が対象とした尿における一過性の蛋白の増加は、分子量によるろ過の選択性の低下も含めた腎糸球体の一過性の透過性昂進と推定された。

また、運動負荷終了後から3時間の間に尿に排泄された蛋白の総量は62 mg~1,089 mg であった。500 mg 以上の排泄は陸上競技部の学生3人に認められた。尿蛋白量に応じて臨床的には① <200 mg/日 (normoproteinuria), ② 200~500 mg/日 (microproteinuria), ③ >500 mg/日 (macroproteinuria) と分類されている²⁶⁾。また、運動負荷後の一過性の蛋白尿は、蛋白尿の分類では、広義の無症候性蛋白尿に含まれる。無症候性蛋白尿の場合は、学童の集団検診や成人の経過観察においても、100 mg/dl (1日1g) を生理的限界として、これ以上の場合には、さらに厳重な経過観察や組織学的な検索がなされている²⁷⁾²⁸⁾。今回の実験では、運動負荷終了後3時間の尿蛋白量を測定したが、1日の間にはこの3時間以外にも排尿するわけであるから、この種の運動負荷を行った日には、さらに多くの蛋白が排泄されることになる。尿蛋白の量のみに着目して、運動負荷終了後3時間の尿蛋白量を1日量と仮定すると、macroproteinuria に相当する被検者が3人いたことになる。しかしながら、それは一過性であった。

一方、健常人の運動負荷後の尿の SDS-PAGE 像を

糖尿病性腎症の患者のものと比較すると以下のことが認められた。

1) 健常人の運動負荷後の尿蛋白のバンドに相当するバンドはすべて糖尿病性腎症の患者の尿蛋白に認められ、かつ Alb より高分子量域には前者よりも後者に多くのバンドが認められた。

2) 全蛋白に対して、Alb よりも低分子量域に認められる蛋白量の比率は健常人の運動負荷後の尿のほうが糖尿病性腎症の尿よりも大きかった。

いま記した1)の所見から、運動負荷を行うと健常人でも一過性に腎糸球体による蛋白の透過性が増加するが、ここで扱った糖尿病性腎症の患者よりもその透過性の選択性は維持されていると推定される。

一方、2)の所見は、健常人の運動負荷後には腎尿細管による蛋白の再吸収も見掛け上、一過性に低下し、糖尿病性腎症では糸球体の障害の割には尿細管の障害が軽いことを示唆するものであろう。

従って、健常人の運動負荷による腎糸球体による蛋白の透過性の増加も、尿細管による蛋白の再吸収の見掛け上の低下も「一過性」であることが重要であると考えられる。

ところで、以上の尿変化をスポーツ医学的にどのように解釈を行うかが、この研究で大切である。そのために、まず、スポーツの目的について述べ、次にスポーツの運動負荷量との関連で、今回の結果の解釈を行いたい。

スポーツは次のようないろいろな目的でなされている。即ち、① 競技、② 職業、③ 趣味、④ 体力維持及び増進、⑤ その他、などである。

競技スポーツや職業スポーツでは、時には肉体的障害を被ることを覚悟で戦うこともある。しかし、趣味や体力維持及び増進を目的とした場合には、傷害は避けたいものである。著者の今回の研究で被検者となった陸上競技部及びバスケットボール部の学生は、比較的競技スポーツを目的とした者と見なしてよからう。陸上競技部の学生は、10 km 全力走程度の走運動は1シーズン中に10回前後は行っている。その後の数日間は多少疲労を訴えるが、1週間以内に特に支障なく回復するのが通常である。バスケットボール部の学生にしても、5 km 走程度の全力ではないがよくトレーニングにとり入れている。そして、トレーニングや競技をしながら特に支障なく生活している。傷害を伴わなければ、少なくとも彼らの健康にはマイナスにはなっていないと思われる。

前述のように、Poortmans と Labilloy²⁾ は、100 m, 400 m, 3,000 m を全力で走った場合には、400 m 走後

に尿蛋白が最も増加したと報告している。著者も確かめたが、これらの走運動終了3時間後には尿 TP 濃度はほぼ走運動前の値になっていた。また、全力の 10 km 走後の尿 TP 濃度の増加は全力の 400 m 走後の増加より小さかった。尿蛋白陽性疾患の 1 例として示した糖尿病性腎症の例では、1 日の蛋白排血量が 1 g を越えていた。前述の臨床的な分類によれば、macroproteinuria (>500 mg/日) に相当する病態である²⁶⁾。さらに、この蛋白量が継続して喪失している。一方、健常人である被検者では、走運動後の尿蛋白の増加は一過性であった。

以上のことから、健常人がスポーツの目的を「趣味と体力維持及び増進」という、広い意味の健康の維持と増進にした場合は、以下の尿所見のうち一つ以上が認められた際に、運動負荷量の限界と見なして運動負荷量を減ずることが適切と考えられる。

1) 運動終了直後から 3 時間の尿 TP 量が 500 mg を越えたとき。

2) 運動終了 3 時間後の尿に SDS-PAGE で Alb よりも高分子の蛋白が運動前の尿よりも明らかに多く出現しているとき。

これらのことは、生体の蛋白動態のうち特に尿蛋白の研究から導かれた結論であるが、さらにスポーツを安全に行うためには、適切かつ総合的なメディカルチェックを受ける必要のあることは言うまでもない。

謝 辞

稿を終えるにあたり、ご指導、ご校閲を賜りました山本正治教授に心から感謝申し上げます。また、直接実験を初め色々ご指導をいただいた新潟県立がんセンター新潟病院佐藤豊二臨床検査部長、糖尿病患者の尿を提供していただいた新潟県立がんセンター新潟病院佐藤幸示内科部長に感謝致します。また、本研究中、ご助言いただいた医動物学教室関川弘雄講師に感謝致します。

参 考 文 献

- 1) Poortmans, J.R. and Vancaelck, B.: Renal glomerular and tubular impairment during strenuous exercise in young women. *Eur. J. Clin. Invest.*, **8**: 175~178, 1978.
- 2) Poortmans, J. R. and Labilloy, D.: The influence of work intensity on postexercise proteinuria. *Eur. J. Appl. Physiol.*, **57**: 260~263, 1988.
- 3) 杉本英夫, 永田 晟, 山本正治, 佐藤豊二: 尿成分の分析による学童の生体負担の検討. *保健の科学*, **32**: 125~127, 1990.
- 4) 河合 忠: 尿中低分子蛋白. *臨床検査*, **32**: 830~834, 1988.
- 5) Mogensen, C.E., Christensen, C.K. and Vittinghus, E.: The stages in diabetic renal disease. With emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy. *Diabetes*, **32** (Supple 2): 64~78, 1983.
- 6) 下条信雄, 北橋 繁, 小林紀崇, 中 恵一, 奥田清, 佐藤利彦, 藤井 暁: 免疫比濁法による尿中微量アルブミンの測定と糖尿病患者における臨床的意義. *臨床検査機器・試薬*, **9**: 699~704, 1986.
- 7) Laemmli, U.K.: Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, **227**: 680~685, 1970.
- 8) Towbin, H., et al.: Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: Procedure and applications. *Proc. Natl. Sci. USA*, **76**: 4350~4354, 1979.
- 9) 桜林郁之介, 荒川正明: Western blotting 法による抗原および抗体の分析. *生物物理化学*, **28**: 369~373, 1984.
- 10) 今井利夫: Western blotting 法. 遺伝子・タンパク質 実験操作プロット法 (口野嘉幸, 平井久丸, 桜林郁之介, 編集), ソフトサイエンス社, p. 221~235, 1987.
- 11) Jaffé, M.: Über den Niederschlag welchen Pikrinsäure in normalen Harn erzeugt und über eine Reaction des Kreatinins. *Z. Physiol. Chem.*, **10**: 91~400, 1886.
- 12) Datta, P., Graham, G.A. and Schoen, I.: Interference by IgG paraproteins in the Jaffe method for creatinine determination. *Am. J. Clin. Pathol.*, **85**: 463~468, 1986.
- 13) Leube, W.: Über die Ausscheidung von Eiweiss im Harn des gesunden Menschen. *Virkows. Arch. Pathol. Anat. Physiol.*, **72**: 145~157, 1878.
- 14) Castenfors, J.: Renal function during prolonged exercise. *Ann NY Acad Sci.*, **301**: 151~159, 1977.
- 15) Poortmans, J.R.: Postexercise proteinuria in humans: facts and mechanisms. *JAMA*, **253**: 236~240, 1985.
- 16) 原田東美子, 初瀬川薫, 森千鶴子, 金森きよ子, 佐

- 野紀代子: 尿蛋白分画に関する研究. 1) 基礎的検討及び正常尿蛋白分画. 生物物理化学, **28**: 245~250, 1984.
- 17) 桜井秀子, 須藤優子, 稲毛博美, 渡辺孝太郎, 小山哲夫, 成田光陽, 東条静夫: Polyacrylamide gradient gel electrophoresis と electrophoretic blotting 法による尿蛋白分析法の検討. 生物物理化学, **30**: 251~255, 1986.
- 18) 鈴木好文, 岡田敏夫, 内記三郎: 尿蛋白の HPLC 分析. 臨床検査, **32**: 849~856, 1988.
- 19) 奥田和美, 菅野 浩, 下条文武, 荒川正昭: 尿細管性蛋白尿の電気泳動分析 (免疫反応による泳動成分の同定). 生物物理化学, **29**: 349~354.
- 20) 和合治久: 急性相蛋白とは. 日本臨牀, **45**: 1002~1009, 1987.
- 21) **Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Watson, J.D.:** Molecular biology of the cell. Garland Publishing, Inc. New York, p. 951~1012, 1983.
- 22) 河合 忠: 免疫グロブリンの基本構造と多様性. 日本臨牀, **48** (1990年増刊号): 202~210.
- 23) **Judah, J.D.:** Synthesis and secretion of serum albumin. Plasma protein secretion by the liver (Glaumann, H., Peters, T. Jr. and Redman, C. eds), Academic Press, 1983: p. 311~330.
- 24) **Morgan, E.H.:** Synthesis and secretion of transferrin. Plasma protein secretion by the liver (Glaumann, H., Peters, T. Jr., and Redman, C. eds), Academic Press, 1983: p. 331~355.
- 25) 井川幸雄: 代謝面からみた中高年者の運動. モダン メディシン, **79**(6): 36~45, 1979.
- 26) **Viberti, G. and Keen, H.:** The patterns of proteinuria in diabetes mellitus. Relevance to pathogenesis and prevention of diabetic nephropathy. Diabetes, **33**: 686~692, 1984.
- 27) 村上陸美, 植田 穰: 学校検尿陽性者の管理. 日本医師会雑誌, **97**: 416~420, 1987.
- 28) 小出 輝: 成人の無症候性蛋白尿. 日本医師会雑誌, **97**: 405~409, 1987.

(平成3年12月18日受付)