

Volhard 試験における尿中代謝物質の検討

山本 忠志* 住吉 薫** 増原 光彦***

(平成3年9月30日受理)

緒 言

古くから腎障害、肝障害、糖尿病等のスクリーニングテストとして簡便な尿検査が実施されてきている^{1) 2)}。また、学校保健の健康診断に腎炎等の発見を主とした集団的な尿検査の実施^{3) 4)}、さらにスポーツ競技実施時の参加者に対する薬物検査においても尿を検体として検査されている^{5) 6)}。しかしながら集団的に検診を実施する場合、尿採集時の条件、集団行動等の理由から尿以外のものが提出される可能性は完全に否定し得ない。そのため提出された検体が尿であることを確認する必要性において、正常尿に必ず出現する代謝物質であるウロビリノーゲン、内因性クレアチニン、尿素窒素、アミラーゼおよびアンモニア等の存在²⁾を認めなければならないと考える。しかし尿中に存在する代謝物質の濃度は生体の水分摂取量、発汗等の様々な条件による尿排泄量の変動と密接な関係にあるといわれている²⁾。そこで著者等は尿中代謝物質の測定をするにあたり身体条件を一定にするために Volhard の希釈力濃縮力連続試験を実施した。そして排泄された最も希釈れた尿から最も濃縮された尿を対象にウロビリノーゲン、内因性クレアチニン、尿素窒素、アンモニアの尿中代謝物質濃度を測定し、さらに測定に関する検討を行った。また、尿量と各種代謝物質の関係を数理的に分析を試みた。

実験方法

(1) 被検者

年齢20~25歳の健康成人男子7名について行った。各被検者ともに腎障害は認めていない。

(2) Volhard の希釈力濃縮力連続試験の方法²⁾

図1に示す通り、午前7時から翌日の8時までの25時間について行った。試験日は朝食を廃し、午前7時に排尿させ、8時の尿採取後直ちに体重を測定し、約10分位の間にお茶または水を約1000ml飲ませた。後4時間については30分ごと、その後午後10時までは2時間ごとに採取し、それ以降翌朝8時まではまとめて採尿し、直後に体重の測定を行った。試験日の昼食および夕食は正午および午後6時に行い、内容は乾燥腎食(食パンや米飯等で水分を殆ど含まない物)とし、水分は一切取らないようにした。

(3) 各種尿中代謝物質の測定

(a) 尿量および比重

ビーカーで採取後直ちにメスシリンダーにて尿量を計測し、尿比重計(urinometer)にて比重を測定し、温度補正²⁾を行った。

*兵庫教育大学第5部(生活・健康系教育講座) **兵庫教育大学名誉教授

***大阪体育大学(運動生理学教室)

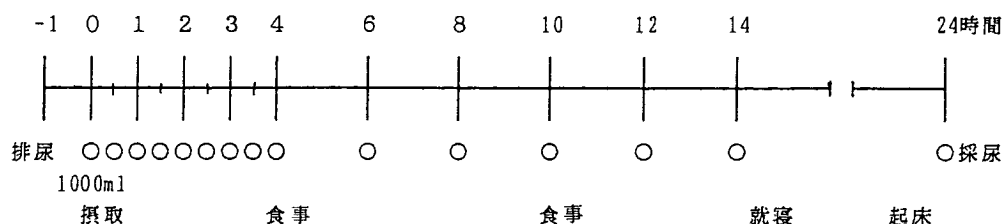


図1. Volhard 希釈力濃縮力連続試験の実施方法

(b) アンモニア

アンモニアテストワコー（和光純薬社製）を用い、藤井・奥田法変法⁷⁾により測定。

(c) 尿素窒素

尿素窒素測定試薬（和光純薬社製）を用い、ウレアーゼ・インドフェノール法⁸⁾により測定。

(d) 内因性クレアチニン

クレアチニンテストワコー（和光純薬社製）を用い、Folin-Wu法⁹⁾により測定。

(e) ウロビリノーゲン

Henry ら¹⁰⁾の改良法により測定。

結 果

1. 尿量

各採取時の尿量の平均と標準偏差および30分値の変化は図2に示す通りである。最高値は水摂取後1時間30分後で 300 ± 82 mlとなり、個人の最高値は同時期に418mlであった。また、水摂取後4時間では 875 ± 182 mlであった。4時間後以降は低い数値で推移し、30分値ではほぼ15~20mlであった。さらに24時間の尿量および体重の変化を見たのが表1である。体重の変化については減少の傾向を示すがその変化は2%以内であった。

2. 尿比重

各採取時の尿比重の平均と標準偏差の変化は図3に示す通りである。水摂取後1時間30分後に最小となり、個人の最小値は1.001であった。それ以降は時間の経過とともに増加を示し、8時間後以降ではほぼ同程度の数値で推移した。最大は24時間後に示され、個人の最大が1.030であった。

3. アンモニア濃度

各採取時のアンモニア濃度の平均と標準偏差の変化は図4に示す通りである。水摂取後1時間30分後に最小となり、以後増加を示した。しかし標準偏差が大きく、ばらつきが認められた。

4. 尿素窒素濃度

各採取時の尿素窒素濃度の平均と標準偏差の変化は図5に示す通りである。水摂取後1時間30分後に最小となり、以後増加を示し、6時間後以降はほぼ同程度で推移した。

5. 内因性クレアチニン濃度

各採取時の内因性クレアチニン濃度の平均と標準偏差の変化は図6に示す通りである。水摂取後1時間30分後に最小となり、以後増加を示すが4時間後まではばらつきが大きく示され、6時間以降はほぼ同程度で推移した。

6. ウロビリノーゲン濃度

各採取時のウロビリノーゲン濃度の平均と標準偏差の変化は図7に示す通りである。水摂取後1時間30分後に最小となり、以後増加を示すが4時間後まではばらつきが大きく示され、6時間後以降はほぼ同程度で推移した。

7. 尿量と比重および各種代謝物質の関係

表2に示す通り、比重との関係については反比例の直線回帰式のもと強い相関を示した。各種代謝物質については片対数の指数関数的回帰式のもと負の相関が強く、内でもクレアチニンとウロビリノーゲンに相関を強く示した。

8. 尿である確認方法について

各種代謝物質の測定においてウロビリノーゲンの測定方法が最も簡便であり、その存在についても赤色を呈したものが尿であると判断できる。

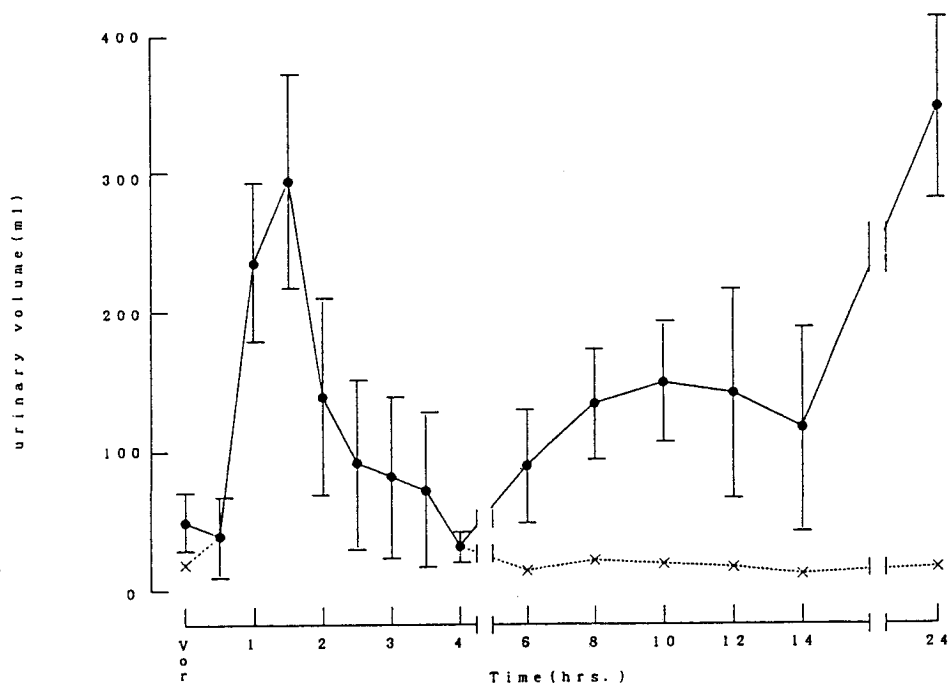


図2. 各採取時の尿量の変化

• : 平均値 I : 標準偏差 : 30分値

表1. 各被検者の24時間尿量および体重の変化

No.	24時間尿量(ml)	(前) 体重(kg)	(後)	差
1	1971	64.8	63.6	1.2
2	1523	54.5	53.8	0.7
3	1473	55.9	55.7	0.2
4	1859	66.0	64.9	1.1
5	1729	74.8	73.3	1.5
6	1481	70.3	69.4	0.9
7	1575	80.8	80.3	0.5

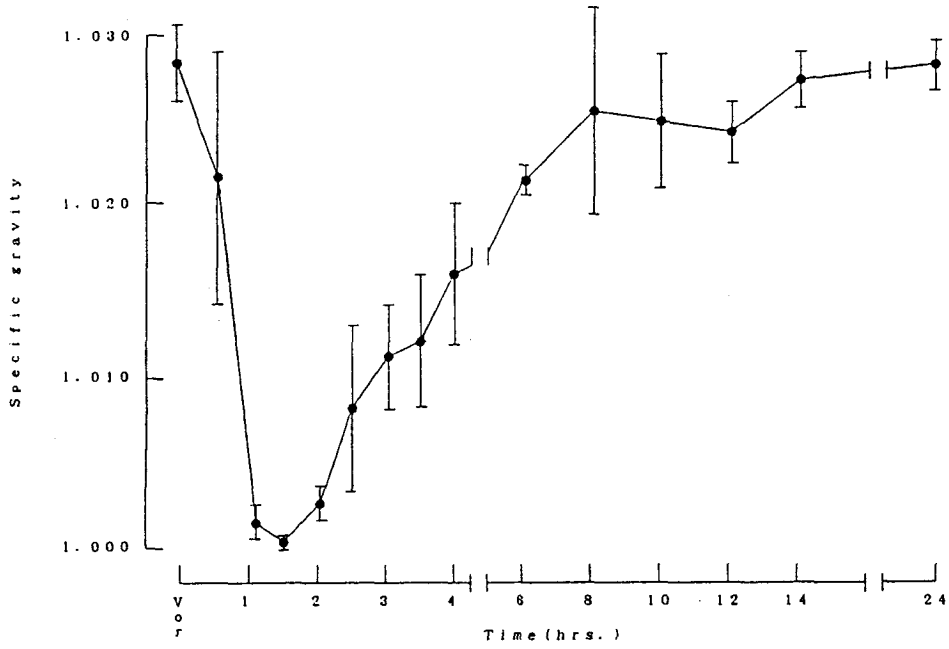


図3. 各採取時の尿比重の変化
 ● : 平均値 I : 標準偏差

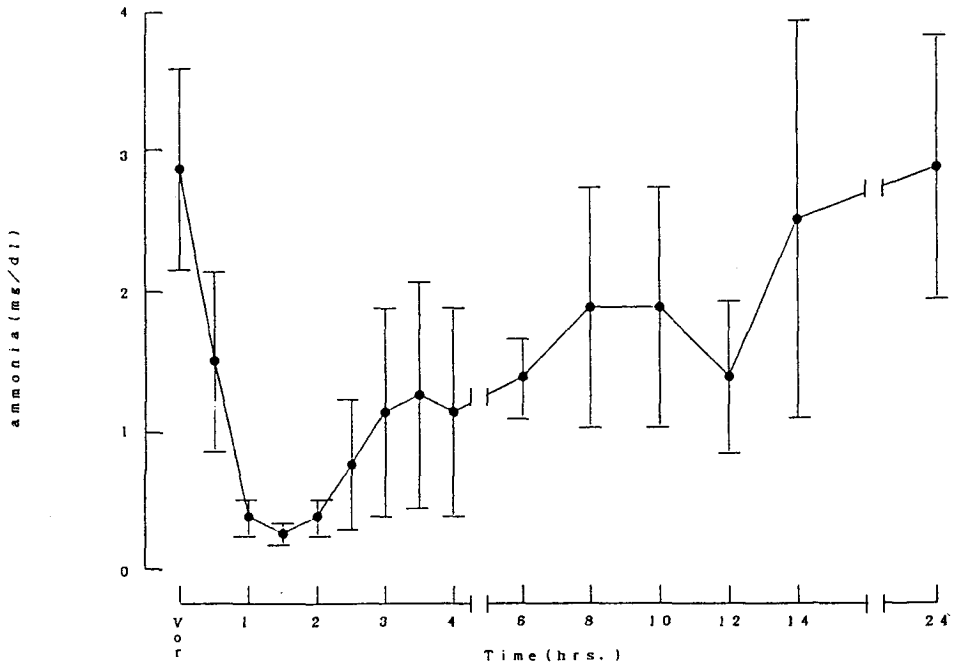


図4. 各採取時のアンモニア濃度の変化
 ● : 平均値 I : 標準偏差

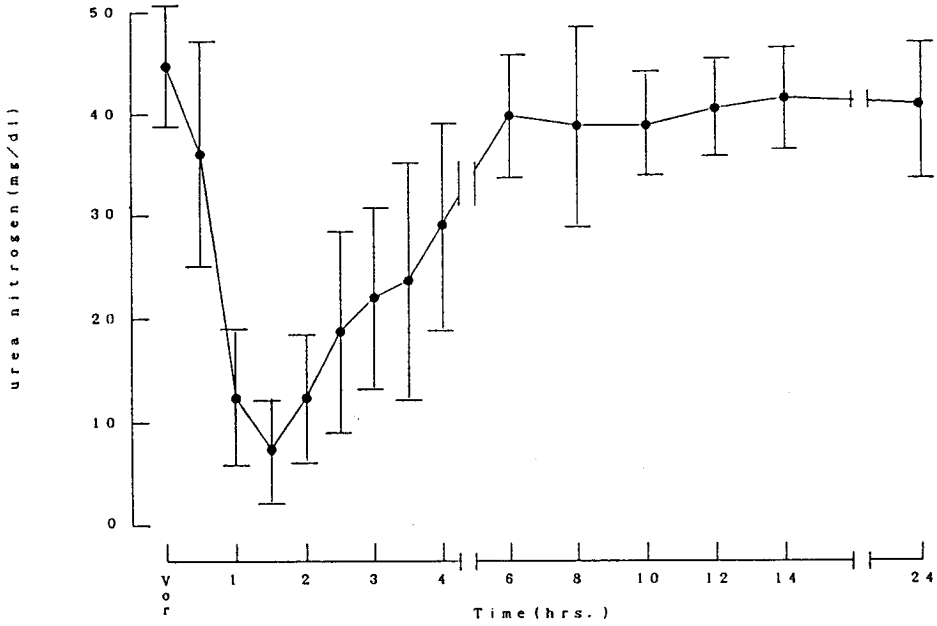


図5. 各採取時の尿素窒素濃度の変化

• : 平均値 I : 標準偏差

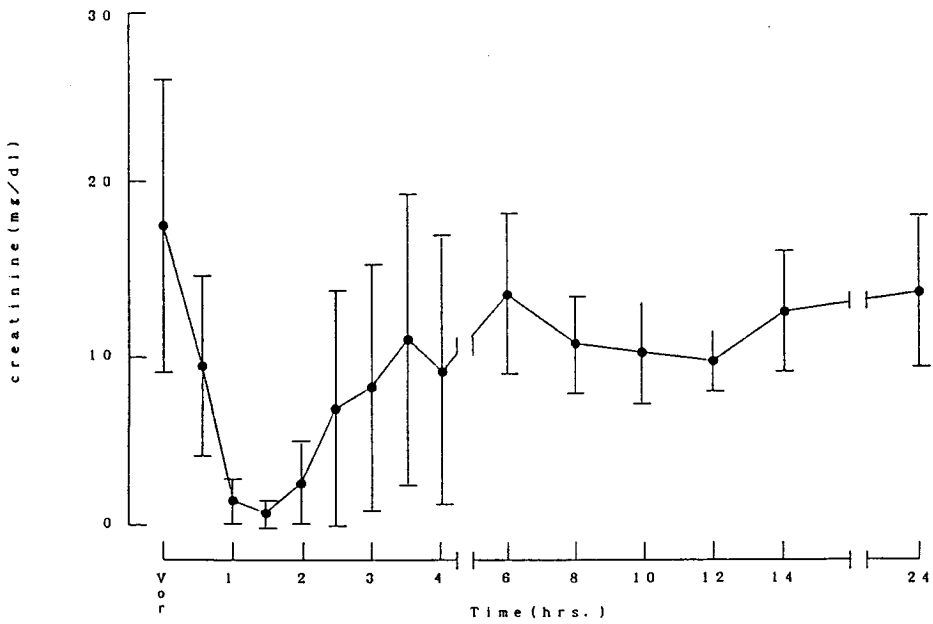


図6. 各採取時のクレアチニン濃度の変化

• : 平均値 I : 標準偏差

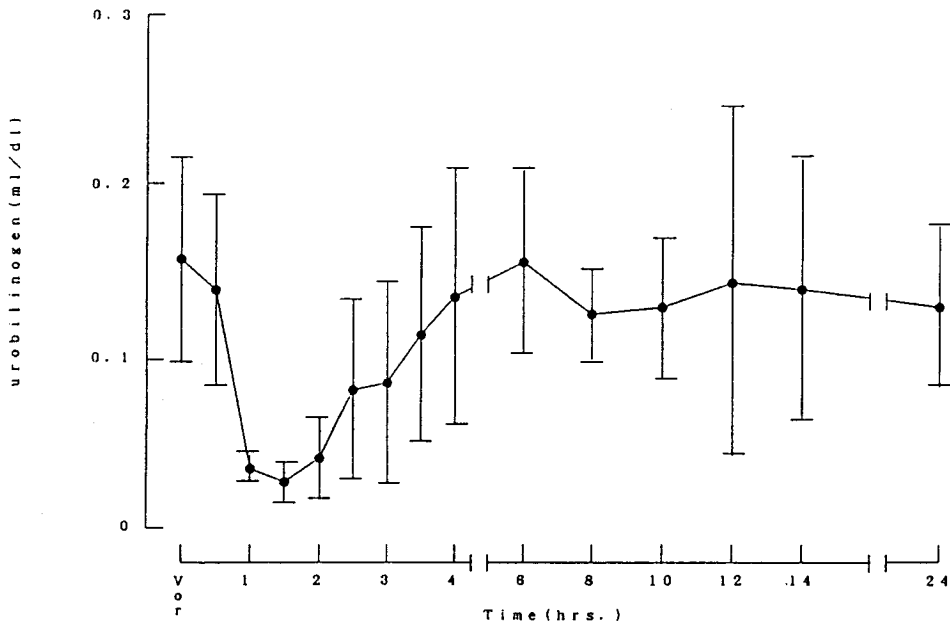


図7. 各採取時のウロビリノーゲン濃度の変化

• : 平均値 I : 標準偏差

表2. 尿量 (x) と比重および各種代謝物質 (y) の関係

	回帰式	r
比重	$y = -0.0001x + 1.031$	-0.998
アンモニア	$y = 2.30e^{-9.08 \times 10^{-3}x}$	-0.899
尿素窒素	$y = 43.97e^{-6.41 \times 10^{-3}x}$	-0.944
クレアチニン	$y = 15.00e^{-9.37 \times 10^{-3}x}$	-0.967
ウロビリノーゲン	$y = 0.16e^{-5.90 \times 10^{-3}x}$	-0.962

考 察

1. 尿生成について

腎の主要な生理作用は、(1) 水分の排泄、(2) 新陳代謝終末産物、とくに含窒素成分の排泄、(3) 電解質の排泄、(4) 体異種物質の排泄、(5) 血液浸透圧・体液量および酸・塩基平衡の調節などであって、生体の内部環境の恒常性の維持がその主要な機能である。これらの腎の作用によって、1日量約1.5lの尿が排泄されることになる^{1) 2) 10)}。今回の実験結果でも24時間尿量を見ると1500ml前後の数値を示していたことは、各被験者が腎機能に関しては正常であることを示すものであると思われる。また、Volhard試験における正常反応の評価²⁾として、(1) 水摂取後初めの4時間にそのほとんどを排泄する。(2) 初めの2時間の排尿量は後の2時間排尿量よりはるかに大きい。(3) 最大半時間尿は初めの2時間以内にみられ、その量は飲水量の1/3より大きいとあり、以上の3項目についての今回の実験結果はすべて正常反応が認められた。さらに、(4) 体重に著変を来さないとの評価についても、今回減少をみたものの小差で留まっているところより、正常反応と判断されると思われる。

2. 尿比重について

尿比重は尿中固形成分の量をもっとも簡単にあらわす数値であり、腎の尿濃縮力が正常に保たれているか、異常物質の排出がないか等がある程度簡単に知ることができる。

健康者の尿比重は随時1回尿では1.002~1.030の間を動揺するといわれている^{1) 2)}。今回の実験結果も同様の変動幅で推移していたが、一部1.001というさらに低い数値を示していた。これは正常反応評価に最低の比重は1.001~1.003に降り、調節域は1.003~1.025より大きいとされており、正常値と判断されることがうかがえる。また、健康者においては尿量と尿比重は常に反比例の関係にあり、尿量が多ければ尿比重は低下し、尿量が少なければ尿比重は増加し、尿色調の濃さと尿比重は平行するといわれている^{1) 2)}。今回の実験結果でも反比例の直線回帰式のもと強い相関を認めた。

3. 尿中代謝物質について

健康な人の尿中にはタンパク・核酸代謝の終末産物や中間代謝物である尿素・尿酸・クレアチニン・アンモニア・アミノ酸等、諸種の有機および無機塩類、解毒物質、微量のビタミン・ホルモン・酵素等を含んでいる^{2) 10)}。これらの物質の量的または質的变化により腎機能のみならずその他の緒器官の機能をも知り得ることができる。

尿検査は、近年簡単な試験紙法によることが多いが、今回は各条件下の尿における代謝物質の定量を行うことにより、存在を確認し、尿量との関係を検索したものである。

アンモニアについては24時間の正常な尿中排泄量は0.3~1.2gといわれており²⁾、今回の測定においても正常範囲内であった。

尿素窒素は1日8~13g、クレアチニンは1~2g、ウロビリノーゲンは0.5~2.0mgが正常な排泄量といわれており²⁾、今回の測定においてすべて正常範囲内であった。

以上の代謝物質についてすべての尿について存在が認められた。しかしその測定法は様々であり複雑なものや測定条件の設定の困難さ等を考慮した場合、今回の代謝物質の存在の確認においてはエールリッヒのアルデヒド反応を利用したウロビリノーゲンの存在を確認するのが最も簡単で、速やかに反応することが示された。最も希釈された尿についても赤色を呈した場合、それがまちがいでなく尿であることを示すものと考えられる。

まとめ

集団的に尿検査を実施する場合、提出された尿が尿以外のものである可能性は否定し得ない。そこで正常尿に出現する代謝物質を確認する必要がある。このようなことをふまえて、著者等は健康成人を対象に Volhard の希釈力濃縮力連続試験を実施し、経時的に採取した尿の尿量、比重、代謝物質としてウロビリノーゲン、クレアチニン、アンモニアおよび尿素窒素の濃度を測定したところ次の結果を得た。

- 1) 尿量は30分値で最大418ml, 最小15mlであった。
- 2) 比重では最小1.001, 最大1.030となり, 正常であることが認められた。
- 3) 各種代謝物質も比重と同様に尿量との間に反比例な関係が認められた。
- 4) ウロビリノーゲン, クレアチニンが尿量との関係において指数関数的な減少のもとに高い相関を示した。
- 5) ウロビリノーゲンの存在を確認する方法が簡単で, 速やかに反応し, 赤色を呈したものを尿と判断し得る。

文 献

- 1) 猪狩 淳：尿検査から何がわかる, 新体育, 47, 657-661, 1977.
- 2) 金井 泉：臨床検査法提要, 金原出版, 1983.
- 3) 後藤英二：学校保健概説, 愛学社, 1973.
- 4) 菊地正一：簡明衛生公衆衛生, 南山堂, 1982.
- 5) Doping, International Olympic Committee medical commission. 1972.
- 6) 運動と薬物, 生理学体系 IX 適応強関の生理学, 1970.
- 7) 奥田拓道, 藤井節郎：最新医学, 21, 622-627, 1966.
- 8) Searcy, R. L. et al : Am. J. Med. Tech. , 33, 1967.
- 9) Henry, R. J. : Clinical Chem. , 287-302, 1966.
- 10) Henry, R. J. et al : Clinical Chem. , 10, 440, 1964.
- 11) 田多井吉之介 他：教養の生理解剖学, 光生館, 1975.

A study on urinary metabolic substances in Volhard Test

Tadashi YAMAMOTO, Kaoru SUMIYOSHI, Mitsuhiro MASUHARA

Urinalysis is carried out to screen for renal diseases, hepatic diabetes mellitus, etc. For example, urine samples are collected during group examinations at schools. Urine is also sampled to check athletes for doping. In group health checks, we cannot rule out that, under some circumstances, some liquids other than urine are labeled as urine samples and sent to laboratories. Therefore, it is necessary to confirm that the samples sent to laboratories are really urine samples. This confirmation can be done by detection of metabolites specific to genuine urine. Bearing all this in mind, we recently examined urine samples for the concentrations of metabolites such as urobilinogen, endogenous creatinine, urea nitrogen and ammonia. Using the Volhard's protocol for 24-hour continuous test of urine diluting and concentrating function, urine was sampled on several occasions during a 24-hour period for determination of urine volume, specific gravity and levels of the above-mentioned metabolites. In this study, urine volume ranged from 15 to 418ml per 30 minutes. Its specific gravity ranged from 1.001 to 1.030. Urinary levels of metabolites were clearly in inverse proportion to urinary specific gravity and volume. Among others, urobilinogen and creatinine levels were particularly stable and had a high correlation with urine volume which showed an exponential decrease with time. In brief, urinary levels of metabolites in genuine urine had a high correlation with urine volume, although they varied slightly depending on life style. Among others, urobilinogen level had a particularly high correlation with urine volume. Urobilinogen in urine can be detected simply using a rapid chromatic response (reddening) to the Ehrlich's aldehyde test.