

尿中 cystatin C 測定 of 臨床的意義

中居 恵子*¹ 菊池 正幸*² 大森 聡*³ 斎藤 憲祐*⁴
諏訪部 章*¹

Evaluation of urinary cystatin C as a marker of renal dysfunction

Keiko NAKAI*¹, Masayuki KIKUCHI*², So OMORI*³,
Kensuke SAITO*⁴, and Akira SUWABE*¹

*¹Department of Laboratory Medicine, *³Department of Urology, Iwate Medical University,

*²Department of Clinical Laboratory, Iwate Medical University Hospital, Iwate,

*⁴Marketing Department, Dade Behring Limited, Tokyo, Japan

要 旨

背 景：尿中の低分子蛋白質(LMWP)の測定は、尿細管での再吸収が障害される結果増加するため尿細管障害の診断に使われる。この目的で用いられる LMWP に β_2 -microglobulin (β_2 mG), α_1 -microglobulin (α_1 mG) などがある。血中 cystatin C は糸球体濾過値の有用なマーカーとして知られているが、尿中の LMWP としての特性はあまり検討されていない。尿中 cystatin C の臨床的有用性について評価した。

対象と方法：種々の腎機能の患者 130 例、健常者 62 例、腎実質性急性腎不全 1 症例、および腎前性急性腎不全 1 症例を対象とし尿検体を採取した。尿中 cystatin C, β_2 mG, α_1 mG は immunonephelometry 法で測定された。creatinine clearance (Ccr) が種々の腎機能の患者 130 例で施行された。creatinine (CRE) は enzyme assay 法で測定された。

結 果：種々の腎機能の患者 130 例を Ccr によって、I 群(15 例, Ccr < 30 ml/min), II 群(30 例, 30 ≤ Ccr < 70 ml/min), III 群(85 例, Ccr ≥ 70 ml/min) の 3 群に分け、24 時間の尿中の排泄量を求めた結果、cystatin C, α_1 mG は I, II, III 群間で Ccr の低下により有意な増加を認めたが、 β_2 mG では有意ではなかった。I 群, III 群間の cystatin C の増加の割合は、きわめて大きかった。cystatin C および β_2 mG の fractional excretion (FE) を同様の群で算出したところ、両者とも Ccr の低下により I, II, III 群間で有意に増加したが、I 群, III 群間の FE cystatin C の増加の割合は FE β_2 mG に比べ大きかった。健常者 62 例の随時尿を用い、CRE と cystatin C, β_2 mG および α_1 mG 各々の濃度の関連をみたところ、CRE と cystatin C には他の 2 者に比べて良い相関が認められた。1 例ずつの検討ではあるが、腎実質性急性腎不全における尿中 cystatin C の増加は、 β_2 mG を含む他の LMWP に比べて大きく、腎前性急性腎不全例では小さかった。

考 察：LMWP の nephron における濾過、再吸収の機構の詳細はいまだ不明の部分が多いが、cystatin は他の LMWP と異なる特性を有し、臨床における有用性が示唆された。

Background : Urinary excretion of some low molecular weight proteins (LMWPs) is used as an indicator of tubular dysfunction, since they are increased by the damage of tubular reabsorption. Although serum cystatin C is known to be a sensitive marker for GFR, the property of urinary cystatin C as a LMWP has not been fully observed. We evaluated the clinical utility of urinary cystatin C.

*¹ 岩手医科大学臨床検査医学講座, *³ 同 泌尿器科学講座, *² 同 附属病院中央臨床検査部, *⁴ デイドベーリング株式会社マーケティング部
(平成 18 年 5 月 25 日受理)

Methods : Urine samples were collected from 130 patients with various degree of renal dysfunction, 62 healthy subjects, and 2 patients with acute renal failure, one with renal acute renal failure, the other with prerenal acute renal failure. Urine levels of cystatin C, β_2 -microglobulin (β_2 mG), and α_1 -microglobulin (α_1 mG) were measured by immunonephelometry. Creatinine clearance (Ccr) tests were conducted on 130 patients with renal dysfunction. Creatinine (CRE) was measured by enzyme assay.

Results : The daily urinary excretions of cystatin C and α_1 mG were increased significantly in patients with $Ccr < 30$ ml/min (group I), compared to those in patients with $30 \leq Ccr < 70$ ml/min (II), and $Ccr \geq 70$ ml/min (III). Although the mean daily excretion of β_2 mG increased as Ccr decreased, the significant difference was not observed. The rate of increase in the mean value between III and I was extremely high in cystatin C. Fractional excretions of cystatin C and β_2 mG calculated in the same groups increased significantly in I compared to II and III. The rate of increase in the mean value was higher in cystatin C. Regression analyses between urine CRE and each three LMWP gave the best correlation coefficient for cystatin C in healthy subjects. While in one patient with renal acute renal failure, the rate of increase in urine cystatin C was higher than that of other LMWPs, in another patient with prerenal acute renal failure, the rate of increase in urine cystatin C was low.

Conclusions : Although details of urinary movement of LMWPs in nephrons have not been clearly elucidated, the urinary cystatin C seems to have distinctive properties, and to be useful for the evaluation of renal injury.

Jpn J Nephrol 2006 ; 48 : 407-415.

Key words : urinary cystatin C, urinary low molecular weight protein, renal dysfunction, acute renal failure

緒 言

分子量 60,000 dalton 以下の低分子蛋白質 (LMWP) は糸球体基底膜で濾過され、そのほとんどが近位尿細管で再吸収、異化分解される。したがって、その血中濃度は糸球体濾過機能によって規定され、尿中排泄量は糸球体での濾過や尿細管での再吸収の状態に変化すると一般的に考えられている。これらの状態を把握するために、現在広く測定使用されている低分子蛋白質には β_2 -microglobulin (β_2 mG), α_1 -microglobulin (α_1 mG), cystatin C などがある。

LMWP の血中濃度は糸球体濾過値の低下に伴って上昇するが、腎外性の影響も受ける。 β_2 mG は悪性腫瘍の際に上昇し、 α_1 mG は肝障害で低下する。したがって、尿中の排泄量もその影響を受ける。cystatin C は腎外性の影響が少ないことが知られている^{1,2)}。

LMWP の尿中排泄量は尿細管障害の際に尿細管での再吸収、異化分解が障害される結果増加する。糸球体に病変がある場合も LMWP の尿中排泄量は増加する。糸球体濾過の際の透過選択性が失われて中分子蛋白質が濾過されるようになり、これらの負荷量が尿細管の再吸収、異化分解能を超える結果である。

われわれは、近年開発された immunonephelometry により尿中 cystatin C を測定しその有用性を評価した³⁾。今回われわれは、健常者、腎機能障害例、腎不全例における尿中 cystatin C を測定し、他の LMWP と比較するとともに、その臨床的有用性について検討した。

対象と方法

尿中 cystatin C は latex nephelometry により測定された。ヒト cystatin C に対する polyclonal 抗体を感作した latex 粒子を用いた N-latex cystatin kit を使用し⁴⁾、測定装置は BN-ProSpec (Dade Behring) を使用した。尿中 β_2 mG, 尿中 α_1 mG, albumin も immunonephelometry 法で BN-ProSpec (Dade Behring) により測定された。creatinine (CRE) は enzyme assay 法 (ニットーボーメディカル) で測定された。

1) 尿中 cystatin C および他の LMWP の排泄量と creatinine clearance (Ccr)

種々の腎機能の患者 130 例 (男性 83 例, 女性 47 例) を Ccr によって I 群 (15 例, 男性 7 例, 女性 8 例, $Ccr < 30$ ml/min), II 群 (30 例, 男性 22 例, 女性 8 例, $30 \leq Ccr < 70$ ml/min), III 群 (85 例, 男性 54 例, 女性 31 例, $Ccr \geq 70$ ml/min) の 3 群に分け、24 時間の尿中の cystatin C, β_2 mG, α_1 mG の排泄量を測定、計算した。さらに、この 130 例の Ccr とこれらの LMWP の 24 時間排泄量の関連をみた。

2) 尿中 cystatin C および β_2 mG の fractional excretion (FE) と Ccr

1) と同様の 3 群を対象として cystatin C および β_2 mG の fractional excretion (各々 FE cystatin C, FE β_2 mG) を算出した。さらに、これら 130 例の Ccr と LMWP の FE の関連をみた。

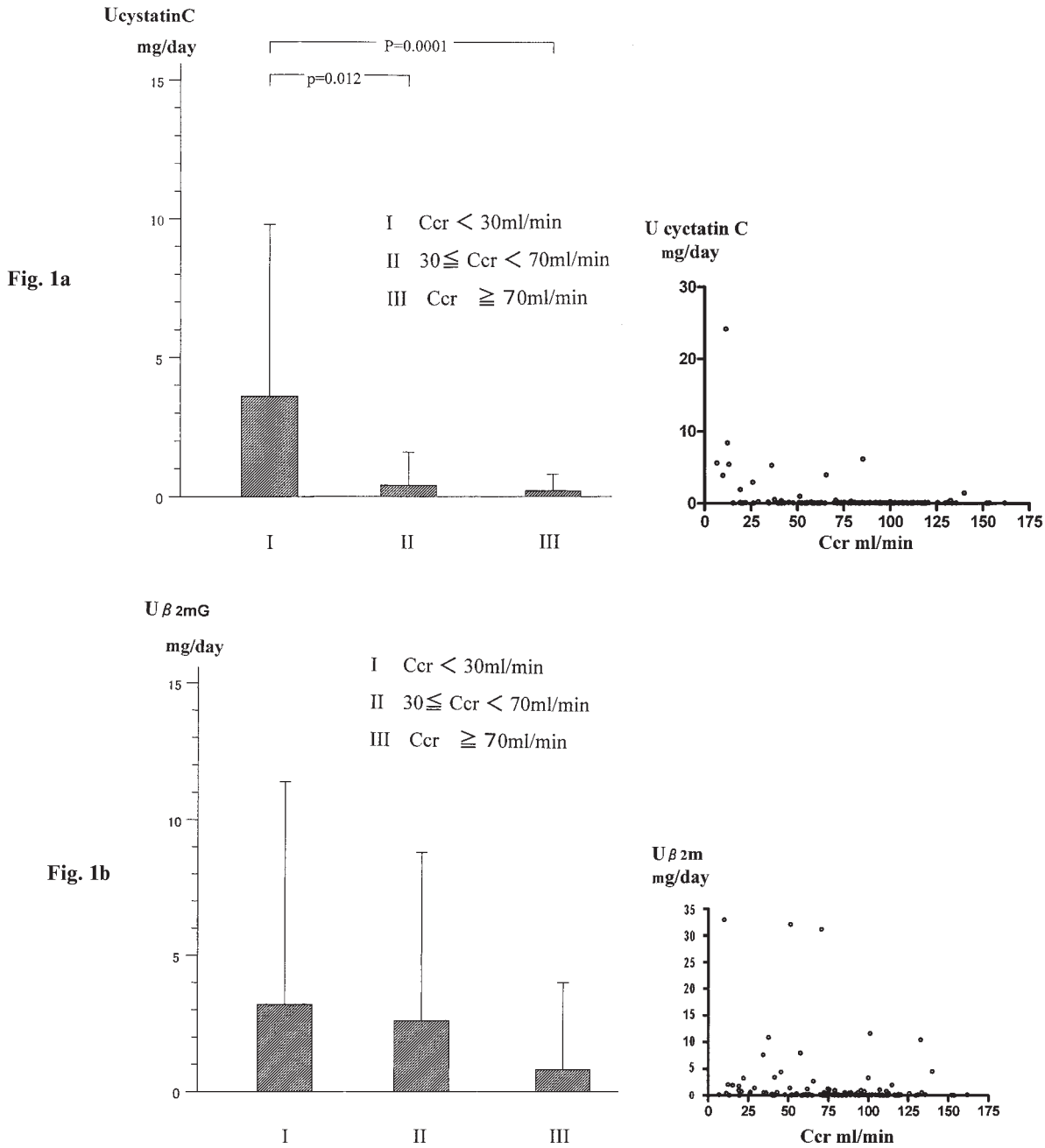


Fig. 1. Daily urinary excretion of cystatin C(a), β_2 mG(b) in patients with various degree of renal dysfunction (n=130)

Relationships between urinary excretions of each LMWP and Ccr were shown on the right side of each figure.

3) 健常人随時尿における CRE と cystatin C, β_2 mG, α_1 mG

健常人 62 例の随時尿(尿蛋白定性陰性, 尿中 albumin 30 mg/l 以下)を用い, CRE と cystatin C, β_2 mG, α_1 mG を測定し, CRE とこれら 3 種の LMWP の濃度の関連をみた。検体量の関係で, cystatin C 60 例, β_2 mG 61 例, α_1 mG 62 例となっている。

4) 急性腎不全症における尿中 cystatin C および他の LMWP の推移

腎実質性腎不全 1 例および腎前性腎不全 1 例における随時尿中の cystatin C, β_2 mG, α_1 mG, NAG を測定して血中 CRE 濃度, Ccr とともにその推移をみた。

今回の検討に際し, 急性腎不全患者の検体は同意を得て採取し, 他の検討には日常検体および職員検診の廃棄検体

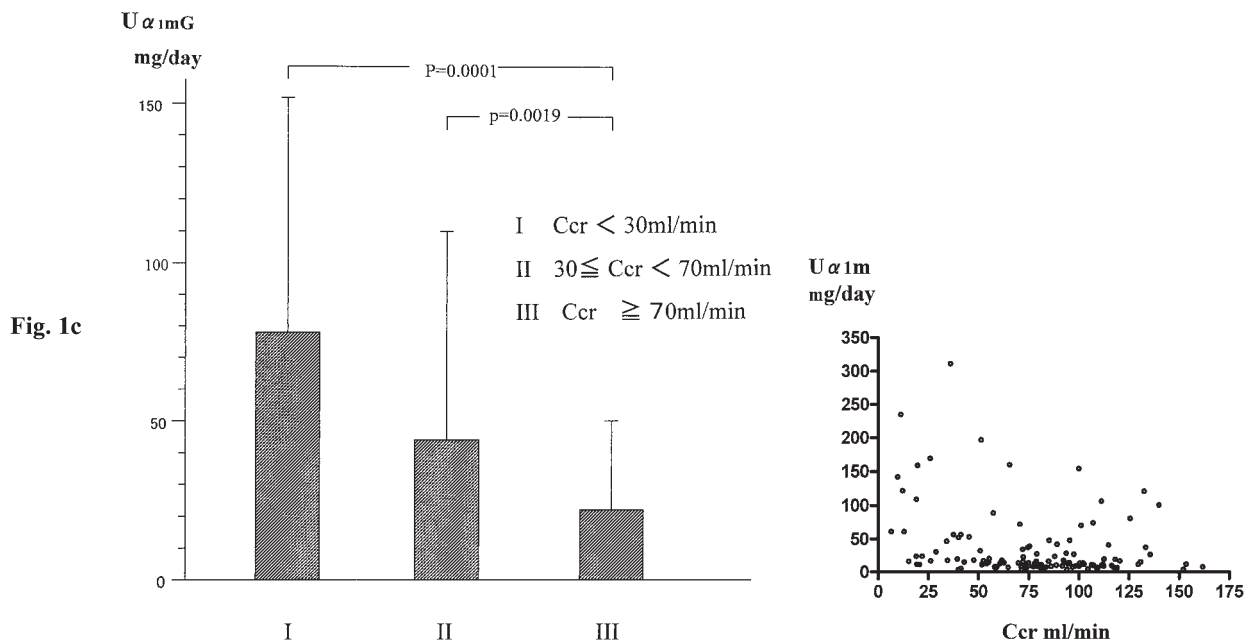


Fig. 1. Daily urinary excretion of α_1 mG in patients with various degree of renal dysfunction (n=130). Relationship between urinary excretion of α_1 mG and Ccr was shown on the right side of each figure.

を用いた。

データ解析には t 検定と回帰分析を用いた。

結 果

1. 尿中 cystatin C および他の LMWP の排泄量と Ccr

cystatin C の尿中排泄量は I 群で 3.500 ± 6.289 mg/day, II 群で 0.401 ± 1.168 mg/day, III 群で 0.148 ± 0.676 mg/day であり, Ccr の低下により増加するが I 群での上昇が大きく, II, III 群との差が大きかった。I, II 群間 ($p=0.012$) と I, III 群間 ($p=0.0001$) で有意差を示した (Fig. 1a)。 β_2 mG の排泄量は I 群で $3,114.2 \pm 8,308.5$ μ g/day, II 群で $2,494.0 \pm 6,221.9$ μ g/day, III 群で $947.6 \pm 3,750.1$ μ g/day であり, Ccr の低下とともに増加したが, I, II, III 群間で有意差は認めなかった (Fig. 1b)。 α_1 mG の尿中排泄量は I 群で 78.71 ± 71.49 mg/day, II 群で 42.71 ± 67.20 mg/day, III 群で 21.66 ± 27.72 mg/day と Ccr の低下とともに増加し, I, III 群間 ($p=0.0001$) と II, III 群間 ($p=0.0019$) で有意差を認めた (Fig. 1c)。I 群の III 群に対する平均値の増加の割合は cystatin C で 23.6 倍, β_2 mG で 3.3 倍, α_1 mG で 3.6 倍であり, cystatin C できわめて大きかった。横軸に Ccr を縦軸に各々の LMWP の 24 時間排泄量をプロットした図を各々の横に示した。 β_2 mG, α_1 mG に比べ,

cystatin C の排泄量の変化は Ccr がかなり低下した例で大きいことがこの図からもわかる。

2. 尿中 cystatin C および β_2 mG の FE

FEcystatin C は I 群で 5.390 ± 8.145 %, II 群で 0.345 ± 0.956 %, III 群で 0.174 ± 0.377 % と Ccr の低下により増加するが, I 群での上昇が II, III 群に比べて大きかった。I, II 群間 ($p=0.002$) と I, III 群間 ($p<0.001$) で有意差を示した (Fig. 2a)。FE β_2 mG は I 群で 2.956 ± 8.175 %, II 群で 1.576 ± 3.602 %, III 群で 0.377 ± 1.223 % と Ccr の低下とともに増加し I, III 群間 ($p=0.006$) と II, III 群間 ($p=0.009$) で有意差を認めた (Fig. 2b)。I 群の III 群に対する平均値の増加の割合は cystatin C で 31.0 倍, β_2 mG で 7.8 倍であった。横軸に Ccr を縦軸に LMWP の FE をプロットした図を各々の横に示した。FE β_2 mG に比べて FEcystatin C の変化は Ccr がかなり低下した例で大きいことがこの図からも同様に認められる。

3. 健常人随時尿中における CRE と cystatin C および他の LMWP

回帰分析では CRE 濃度と cystatin C 濃度の間には $\text{cystatin C} = 0.39\text{CRE} + 9.68$ ($r=0.796$), CRE 濃度と β_2 mG 濃度の間には $\beta_2\text{mG} = 0.35\text{CRE} + 26.45$ ($r=0.270$), CRE 濃度と α_1 mG 濃度の間には $\alpha_1\text{mG} = 0.03\text{CRE} + 1.84$ ($r=0.296$) の関係が成り立ち, CRE と cystatin C の間には良い相関が認められた (Fig. 3a, b, c)。

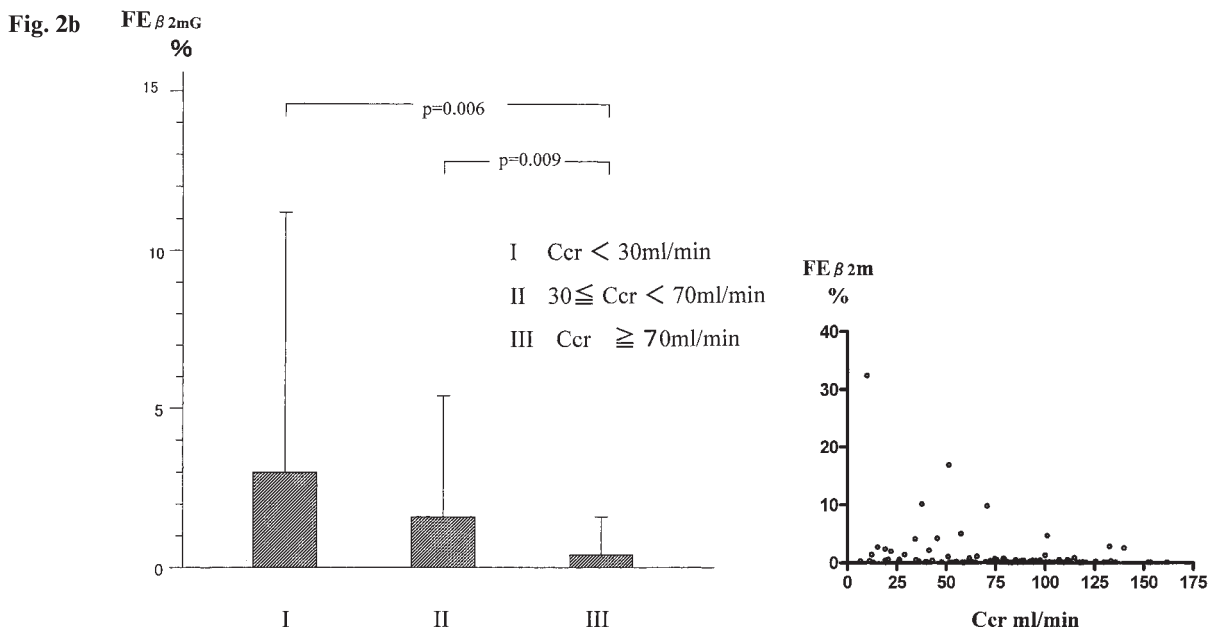
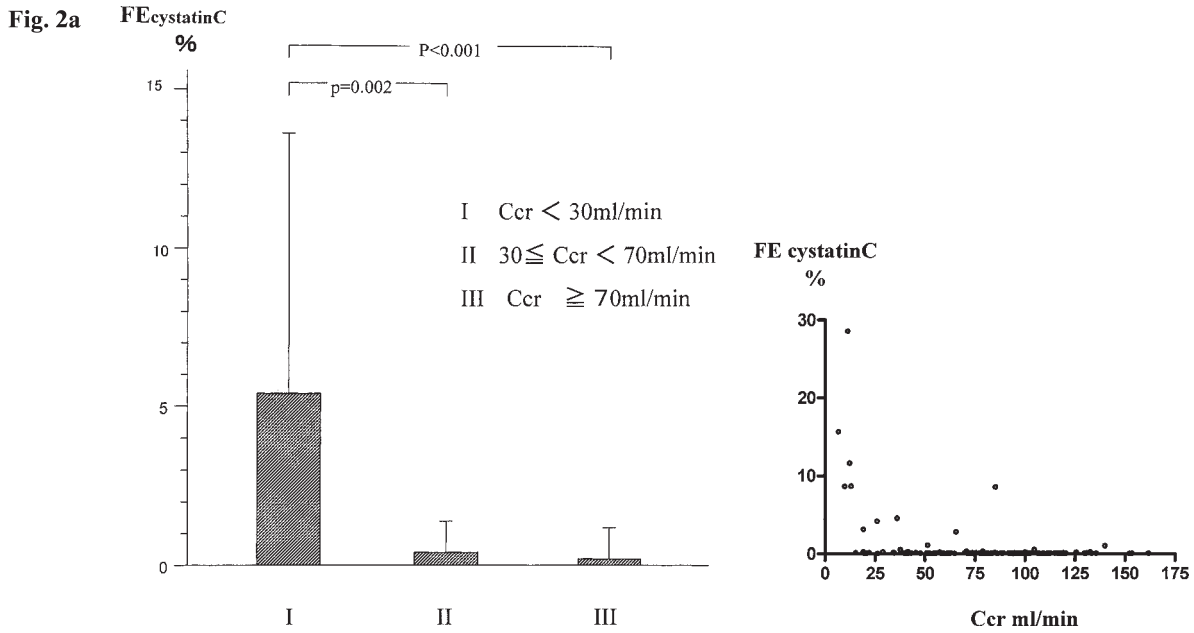


Fig. 2. Fractional excretion of cystatin C(a) and β₂ mG(b) in patients with various degree of renal dysfunction (n=130)

Group I ~ III are same as Fig. 1.

Relationships between FEs of each LMWP and Ccr were shown on the right side of each figure.

4. 急性腎不全における尿中 cystatin C および他の LMWP の推移

Fig. 4a に腎実質性急性腎不全の症例を示した。上腸間膜動脈の血栓症後のショックに伴う急性腎不全であり、病歴より急性尿細管壊死をきたしたものと考えられる。無尿の状態であった。血液透析療法開始後、および透析離脱後の随時尿での LMWP および NAG を経時的に測定した。

初回の測定で cystatin C 167 mg/l, β₂mG 103,000μg/l, α₁mG 338 mg/l, NAG 36.1 IU/l といずれも高値を認め、経過とともに減少している。血中 CRE も 3.5 mg/dl から最終的に 0.9 mg/dl まで低下している。各種 LMWP および NAG の基準値上限(cystatin C 0.118 mg/l, β₂mG 250μg/l, α₁mG 10 mg/l, NAG 5.0IU/l)からの上昇の割合は cystatin C で1,415.3 倍と最も大きく、β₂mG で 412

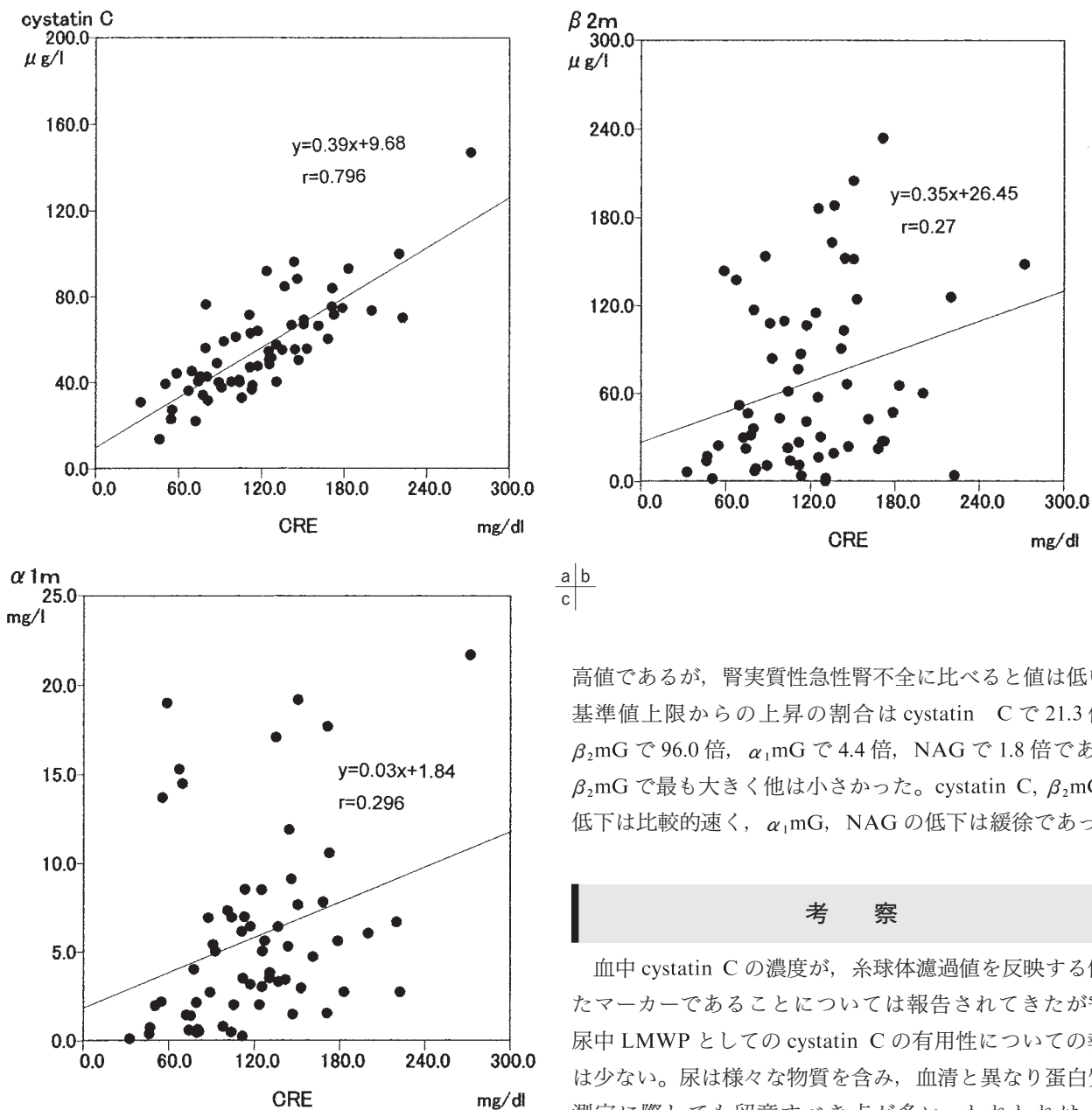


Fig. 3. The correlation between urine CRE concentration and each three LMWP concentration in healthy subjects

a : cystatin C, b : β_2 mG, c : α_1 mG

倍, α_1 mG で 33.8 倍, NAG で 7.2 倍と小さかった。cystatin C が経過中, 急速に低下するのが認められる。

Fig. 4b に腎前性急性腎不全の症例を示した。急性 enterocolitis による diarrhea の後に起きたものである。血中 CRE も 3.5 mg/dl まで上昇していた。このときの FE_{Na} は 0.13% である。尿中 cystatin C 2.51 mg/l, β_2 mG 24,000 μ g/l, α_1 mG 43.7 mg/l, NAG 8.91 U/l といずれも

a | b
c |

高値であるが, 腎実質性急性腎不全に比べると値は低い。基準値上限からの上昇の割合は cystatin C で 21.3 倍, β_2 mG で 96.0 倍, α_1 mG で 4.4 倍, NAG で 1.8 倍であり, β_2 mG で最も大きく他は小さかった。cystatin C, β_2 mG の低下は比較的速く, α_1 mG, NAG の低下は緩徐であった。

考 察

血中 cystatin C の濃度が, 糸球体濾過値を反映する優れたマーカーであることについては報告されてきたが^{5,6)}, 尿中 LMWP としての cystatin C の有用性についての報告は少ない。尿は様々な物質を含み, 血清と異なり蛋白質の測定に際しても留意すべき点が多い。われわれは, immunonephelometry による尿中 cystatin C の測定について基礎的検討を行い報告してきた³⁾。その結果, 今回用いた尿中の cystatin C の測定方法の精密さ, 正確さは良好であった。従来, 尿中の LMWP として広くわが国で使用されている β_2 mG は酸性尿中で不安定であることが知られ^{7,8)}, Yamamoto らは酸性プロテアーゼのなかで主として cathepsin D が β_2 mG の分解に関与していることを示唆している⁹⁾。Grubb らは, 尿中の cystatin C は蛋白分解酵素によってしばしば分解されるために安定性に問題があるとしている^{10,11)}。われわれの検討³⁾では cystatin C は β_2 mG に比べてより安定であった。cystatin C は精漿中に高濃度に含まれることが報告されており^{11,12)}, われわれの検討で

Fig. 4a

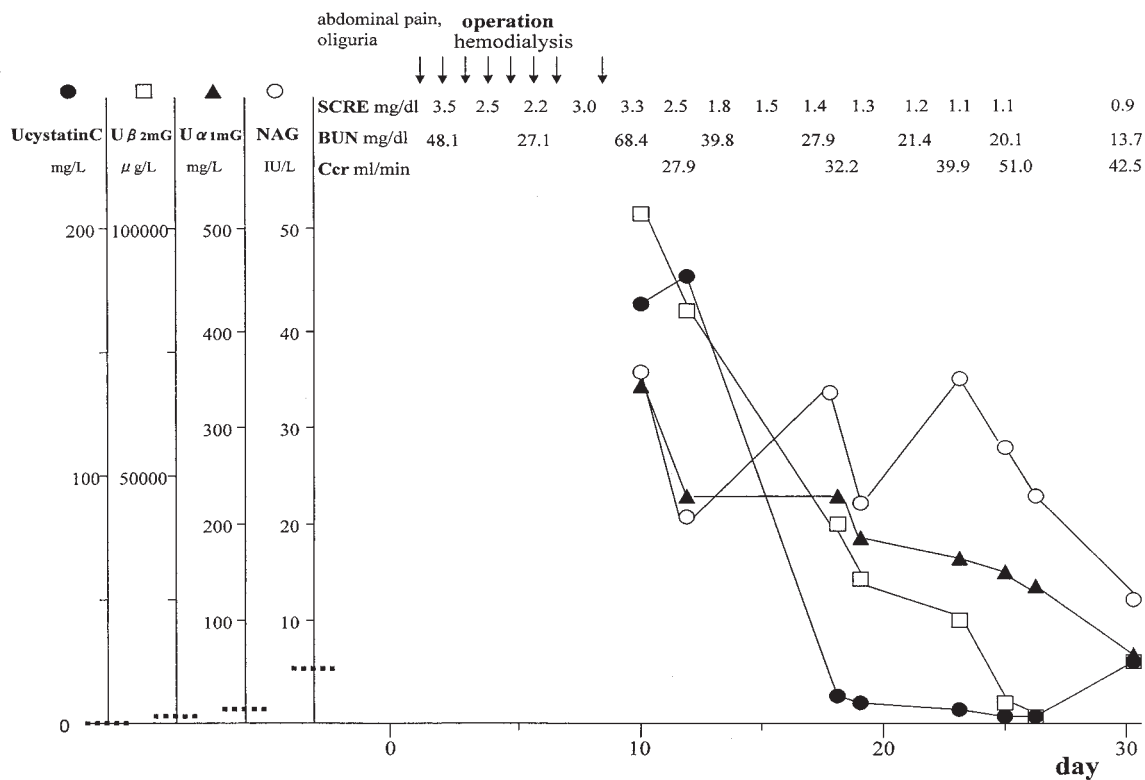


Fig. 4b

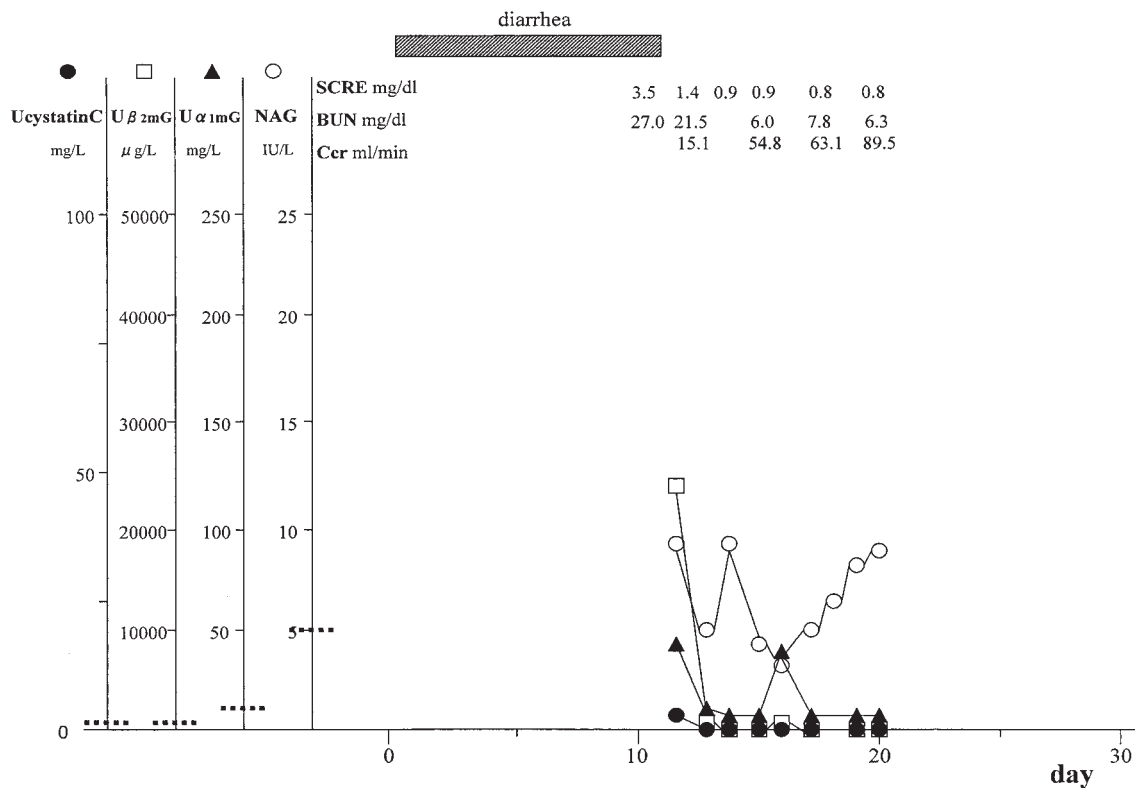


Fig. 4. Time courses of urine cystatin C, β_2 mG, α_1 mG and NAG levels in patient with renal acute renal failure (a), and in patient with prerenal acute renal failure (b)

SCRE : serum creatinine concentration, BUN : serum urea nitrogen concentration

Horizontal dotted lines indicate the upper reference limits for each LMWP and NAG. (cystatin C 0.118 mg/l, β_2 mG 250 μ g/l, α_1 mG 10 mg/l, and NAG 5.0 IU/l)

も³⁾28,600 $\mu\text{g}/\text{l}$ と高濃度であった。男女差の検討では尿中の濃度に有意差はなかったものの、考慮すべき結果であった。これらの cystatin C の尿中の測定について留意すべき点を考慮したうえで今回の検討を行った。

尿中 cystatin C と他の LMWP の 24 時間排泄量は Ccr の低下により増加した。3 種の LMWP のなかで有意な増加を認めたのは cystatin C と $\alpha_1\text{mG}$ であり、 $\beta_2\text{mG}$ に関しては Ccr の異なる 3 群間で有意な差は認められなかった。 $\beta_2\text{mG}$ は先に述べたように安定性に問題があり、今回の結果もそれを反映していると思われた。さらに、悪性腫瘍などの原疾患による血中濃度の変化も間接的に尿中の排泄量に影響を与えている可能性も否定できない。尿中の $\alpha_1\text{mG}$ は安定性に優れていることが知られている^{3,10,13)}。これらの結果は、背景にある病態は不明であるが部分的には糸球体病変における排泄量の増加を示したものと考えられる。すなわち、糸球体濾過の際の選択性が失われ、中分子蛋白質も濾過されるようになり、これらの負荷量が尿細管の再吸収、異化分解能を超える結果である。cystatin C で最も変化が大きく、Ccr が最も低下した群で上昇の割合が大きかった。FE を cystatin C と $\beta_2\text{mG}$ で計算した結果、両者とも Ccr の低下に伴い有意に増加を認めた。変化の割合は cystatin C で大きく、Ccr が最も低下した群で上昇の割合が大きかった。さらに、健常人随時尿中の CRE 濃度と cystatin C、 $\beta_2\text{mG}$ 、 $\alpha_1\text{mG}$ 濃度の関係をみた回帰分析では、CRE と cystatin C の間に他の 2 者に比べてきわめて良い相関が認められた。Ccr の低下した症例で尿中の cystatin C の FE が著しく増加することは Tian ら¹⁴⁾ も報告しており、尿中の CRE 濃度と cystatin C 濃度の相関が他の蛋白と比べてよいことは後藤ら¹⁵⁾ も報告している。

Sumpio ら¹⁶⁾ は、ラットを用いた実験で近位尿細管の microvilli と endocytic sites の蛋白の再吸収モデルを仮定し、蛋白の net charge に加えて、蛋白分子や近位尿細管の管腔の構造が濾過された蛋白の再吸収の重要な要因となる可能性を述べている。彼らのこの仮説のなかで、microvilli と endocytic sites は陰性の表面荷電に覆われており、陽性の電荷を持つ蛋白はこれらの部位に結合し再吸収されるとしている。この際、cationic residues が再吸収の決定条件として重要としている。近位尿細管での蛋白の取り込みの機構に関しては、Wall ら¹⁷⁾ も endocytosis の過程で行われることを述べている。しかし、詳細についてはいまだ不明の部分も多い。分子量 13,359 kD の cystatin C の等電点は 9.3 であり¹⁰⁾ 塩基性の蛋白である。したがって糸球体基底膜を通過しやすく、近位尿細管でも再吸収されやすい条

件を備えていると考えられる。後藤ら¹⁵⁾ は、尿細管における蛋白の再吸収に関与する因子として蛋白表面に露出している塩基性アミノ酸残基数などをあげ、cystatin C がそのアミノ酸配列残基中にアルギニンとリジンを含有する蛋白であることが尿細管における再吸収を容易にする要素であり、かつ強塩基であり、糸球体基底膜で透過されやすいため再吸収後も尿中の排泄量が多いことが cystatin C と CRE が良い相関を示す要因となっていることを示唆している。尿中 cystatin C の排泄量や FE cystatin C が Ccr のかなり低下した症例で大きく変化することもこのことを示唆する所見と考えられる、すなわち、糸球体基底膜がかなり障害され、中分子蛋白質の尿細管への負荷量が大きく増加した時点で尿細管における cystatin C の再吸収が低下することも考えられるが、推測の域を出ない。近年では近位尿細管における蛋白の再吸収に関して、多機能 endocytosis 受容体(megalyn, cubilin)が同定され、分子機序が解明されつつある。特に低分子蛋白質については、その機構が動物実験や培養細胞を用いた実験で明らかにされつつある^{18~20)}。今後、種々の低分子蛋白質再吸収機構の解明が期待される。

今回、急性尿細管壊死をきたしたと考えられる腎実質性急性腎不全の 1 症例における尿中 cystatin C の増加は他の LMWP および酵素に比べて大きく、回復の経過とともに急速に減少し、病態をよく反映していると思われた。臨床例では尿細管にのみ限局した障害は少なく、糸球体の病変も伴うようになる。この症例でも血中 CRE、BUN、Ccr が糸球体濾過機能の回復を反映し、変動している。それに比し、腎前性急性腎不全の 1 症例はいずれの LMWP、酵素も腎実質性急性腎不全例に比べると低く、cystatin C の増加は少なかった。これらの結果は、尿中 cystatin C が腎不全の病態を他の尿中 LMWP、酵素に比べ、よく反映することを示唆し、腎実質性急性腎不全と腎前性急性腎不全の鑑別にも役立つ可能性を示しているものと思われた。ただし、症例数は 1 例ずつと少なく、さらに今後の検討を要する。また、今後、尿細管障害を主体とする多くの症例を対象にした検討も必要である。

低分子蛋白質の糸球体、尿細管における動態は、前に述べたように不明の点が多いが、尿中の cystatin C の測定は種々の病態を判断する手段の一つとして役立つものと思われた。

結 語

- 1) 尿中 cystatin C 測定の基礎的検討の結果を踏まえ、その臨床的意義を検討した。
- 2) 尿中 cystatin C の排泄量は Ccr が低下すると増加し、その割合は β_2 mG, α_1 mG より大きかった。
- 3) FEcystatin C は Ccr が低下すると増加し、FE β_2 mG に比べ増加の割合は大きかった。
- 4) 尿中 CRE と cystatin C の濃度の間には他の LMWP に比べて良い相関が認められた。
- 5) 症例数は1例ずつと少ないが、腎実質性急性腎不全例における尿中 cystatin C の増加をみたところ、 β_2 mG を含む他の LMWP に比べて大きく、腎前性急性腎不全例では β_2 mG よりきわめて小さかった。
- 6) LMWP の糸球体、尿細管における濾過、再吸収の機構の詳細はいまだ不明の部分も多いが、等電点が高い cystatin C はその構造上の特性も関与してか、現在臨床的に使用されている LMWP とはその動態を異にし、今回の臨床例の検討からも診断上の有用性が示唆され、今後の更なる検討が必要と考えられた。

文 献

1. Simonsen O, Grubb A, Thysell H. The blood serum concentration of cystatin C (γ -trace) as a measure of the glomerular filtration rate. *Scand J Clin Lab Invest* 1985; 45: 99-101.
2. Grubb A, Simonsen O, Sturtfelt G, Truedsson L, Thysell H. Serum concentration of cystatin C, Factor D and β_2 -microglobulin as a measure of glomerular filtration rate. *Acta Med Scand* 1985; 218: 499-503.
3. 菊池正幸, 中居恵子, 佐藤倫郎, 遠藤重厚, 諏訪部 章, 斎藤憲祐. Immunonephelometry による尿中 cystatin C の測定と臨床的有用性. *日本臨床検査自動化学会誌* 2005; 30: 54-60
4. Erlandsen EJ, Rander E, Kristensen JH. Evaluation of the Dade Behring N Latex Cystatin C assay on the Dade Behring Nephelometer II System. *Scand J Clin Lab Invest* 1999; 59: 1-8
5. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO, Price CP. Serum cystatin C measured by automated immunoassay; A more sensitive marker of changes in GER than serum creatinine. *Kidney Int* 1995; 47: 312-318.
6. Hayashi T, Nitta K, Uchida K, Honda K, Kobayashi H, Kawashima A, Yumura W, Nihei H. Clinical assessment of serum cystatin C as a marker of glomerular filtration rate in patients with renal diseases. *Clin Exp Nephrol* 2000; 4: 133-136.
7. Ogawa H, Saito A, Oda O. Detection of novel β_2 -microglobulin in the serum of hemodialysis patients and its amyloidogenic predisposition. *Clin Nephrol* 1988; 30: 159-163.
8. Evrin P, Wibell L. The serum level and urinary excretion of β_2 -microglobulin in apparently healthy subjects. *Scan J Clin Lab Invest* 1972; 29: 69-74.
9. Yamamoto H, Yamada T, Itoh Y. Probable involvement of cathepsin D in the degradation of β_2 -microglobulin in acidic urine. *Clin Chem Lab Med* 2000; 38: 495-499.
10. Grubb A. Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids. *Clin Nephrol* 1992; 38: S20-27.
11. Abrahamson M, Barrett AJ, Salvesen G, Grubb A. Isolation of six cysteine protease inhibitors from human urine. Their physicochemical enzyme kinetic properties and concentrations in biochemical fluids. *J Biol Chem* 1986; 261: 11282-11289.
12. 伊藤喜久. 精漿由来の尿中蛋白. *臨床検査* 1998; 42: 1127-1129.
13. Yu H, Yanagisawa Y, Forbes MA, Cooper EH, Crookson RA, MacLennan IC. Alfa-1-microglobulin: an indicator protein for renal tubular function. *J Clin Pathol* 1983; 36: 253-259.
14. Tian S, Kusano E, Ohara T, Tabei K, Itoh Y, Kawai T, Asano Y. Cystatin C measurement and its practical use in patients with various renal diseases. *Clin Nephrol* 1997; 48: 104-108.
15. 後藤明子, 内田壱夫. 糸球体血圧マーカーとしての尿中シスタチンC測定による腎症の早期発見法. *機器・試薬* 1998; 21: 619-628.
16. Sumpio BE, Maack T. Kinetics, competition, and selectivity of tubular absorption of proteins. *Am J Physiol* 1982; 243: F379-392.
17. Wall DA, Maack T. Endocytic uptake, transport, and catabolism of protein by epithelial cells. *Am J Physiol* 1985; 248: C12-20.
18. 斎藤亮彦, 竹田徹朗, 下条文武. 近位尿細管における蛋白の再吸収—多機能エンドサイトーシス受容体 megalin および cubilin の役割—. *腎と透析* 2002; 53: 563-568.
19. Leheste JR, Rolinski B, Vorum H, Hilpert J, Nykjaer A, Jacobsen C, Aucouturier P, Moskaug JO, Otto A, Christensen EI, Willnow TE. Megalin knockout mice as an animal model of low molecular weight proteinuria. *Am J Pathol* 1999; 155: 1361-1370.
20. Saito A, Kazama JJ, Lino N, Cho K, Sato N, Yamazaki H, Orlando RA, Tabata Y, Gejyo F. Subcutaneous transplantation of megalin-expressing cells facilitates the metabolism of β_2 -microglobulin in renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 825A.