

新しい尿検査試験紙を用いた蛋白/クレアチニン比の臨床的有用性の検討

森下義幸 草野英二 海野鉄男 根本 遵
丹波嘉一郎 安藤康宏 武藤重明 浅野 泰

Estimation of quantitative proteinuria using a new dipstick in random urine samples

Yoshiyuki MORISHITA, Eiji KUSANO, Tetsuo UMINO, Jun NEMOTO, Kaichirou TANBA,
Yasuhiro ANDO, Shigeaki MUTO, and Yasushi ASANO

Department of Nephrology, Jichi Medical School, Tochigi, Japan

Proteinuria is quantified for diagnostic and prognostic purposes and to assess responses to therapy. Methods used to assess urinary protein include 24-hour urine collection (24-Up) and determination of the ratio of protein to creatinine concentration (Up/Ucr) in simple voided urine samples (Up/Ucr quantitative method). However, these methods are costly and time consuming. The Multistix PRO 11 (Bayer Medical Co., Ltd., Tokyo, Japan) is a new urine dipstick that allows rapid measurement of Up/Ucr. Results obtained with the Multistix PRO 11 coincided well with those obtained with the 24-Up method ($\kappa = 0.68$) and the Up/Ucr quantitative method ($\kappa = 0.75$). However, Multistix PRO 11 did not accurately measure moderate to severe proteinuria (≥ 500 mg/g. Cr). Our findings suggest that Multistix PRO 11 is useful for the screening, assessment, and follow-up of mild proteinuria.

Jpn J Nephrol 2004 ; 46 : 59-65.

Key words : proteinuria, the ratio of protein to creatinine concentration(Up/Ucr), a new dipstick, Multistix PRO 11

緒 言

1日尿蛋白排泄量を正確に評価することは腎疾患の診療上きわめて重要である。従来より1日尿蛋白排泄量は主に24時間蓄尿法により評価されている。しかしながら、手技がやや煩雑であり、不完全蓄尿のため検査に適さない検体も認められる。そのため、随時尿の検査から1日尿蛋白排泄量を推定する試みがなされ、随時尿による尿中蛋白/クレアチニン比(以下 Up/Ucr)が1日尿蛋白排泄量と強い相関を示すことが報告され¹⁻⁷⁾、広く臨床の場で用いられている。しかし検査結果を得るまでに時間を要し、特に検診現場や検査施設を持たない小規模な診療施設では結果を速やかに診療に反映できないという問題がある。

近年、Up/Ucrを半定量的に測定できる新しい尿検査試験紙(マルティスティクス PRO, バイエルメディカル社)が開発されその有用性が報告されている⁸⁻¹²⁾。今回われわれは、随時尿におけるUp/Ucr定量法ならびに新しい尿検査試験紙の1日尿蛋白排泄量の推定における臨床的有用性についての検討を行った。

対 象

自治医科大学腎臓内科の外来通院患者からの414尿検体と入院患者からの175尿検体の計589検体を対象とした。腎不全による乏尿症例、不完全蓄尿の検体は除外した。検体は男性326例、女性263例で、年齢は 54.6 ± 16.3 歳(20

～89歳), 疾患内訳は慢性糸球体腎炎 316 例, 糖尿病性腎症 76 例, 腎硬化症 54 例, 多発性嚢胞腎 13 例, ループス腎炎 13 例, 急速進行性糸球体腎炎 15 例, 慢性間質性腎炎 6 例, 慢性腎盂腎炎 9 例, 腎サルコイドーシス 4 例, 腎アミロイドーシス 3 例, 検尿異常 22 例, 高血圧症 14 例, 尿路結石 5 例, その他の疾患 39 例である。

方 法

1. 尿検査法

新しい尿検査試験紙としてマルチスティクス PRO 11 (以下 M-PRO) を用いた。本試験紙は, 従来の試験紙の蛋白質試験部分を高濃度領域 (30, 100, 300, 1,000 mg/dl) とアルブミンに特異的な低濃度領域 (陰性, 15 mg/dl) に分け, さらにクレアチニン試験部分を加えたものである。尿中クレアチニン濃度は銅・クレアチニン複合体によるペルオキシダーゼ様作用に基づき 10, 50, 100, 200, ≥ 300 mg/dl の 5 段階で半定量する。蛋白判定値とクレアチニン判定値の結果から Up/Ucr を求めることができる。Up/Ucr は目視判定法では換算表を用いて行うが, 専用機器 (クリニテック (CT) 50/100/500) を用いれば自動的に計算される。機械判定の場合には蛋白質の高濃度領域の 1,000 mg/dl は検出されない。Up/Ucr は < 80 (正常域), 150, 300, ≥ 500 (mg/g. Cr) の 4 段階に分けて求めることができる。クレアチニン濃度が 10 mg/dl で蛋白濃度が陰性と判断された検体は, 希釈されているため別の機会に再検査することが望ましいと判定され, Normal Dilute と表示される。本検討では CT 500 を用いて Up/Ucr を測定した。M-PRO の蛋白質, クレアチニンおよび Up/Ucr 比の判定段階に対応する定量値を Table 1 に示す。

また対照として, 尿蛋白濃度をピロガロールレッド法, 尿中微量アルブミンをラテックス凝集法, 尿中クレアチニンを Jaffe 法と従来から一般的に用いられている定量法を用い, 尿中アルブミン濃度, 総蛋白濃度, クレアチニン濃度を測定した。希釈尿の取り扱いについては M-PRO 法と統一するため, 定量法では, 尿中アルブミン濃度 8 mg/dl 未満, 尿中総蛋白濃度 30 mg/dl 未満, 尿中クレアチニン濃度 25 mg/dl 未満のすべての条件を満たす検体を Normal Dilute とした。

2. 検体の採取

外来通院患者の場合, 蓄尿は専用容器を使用し院外で 24 時間蓄尿を行った。随時尿は日中来院時 (午前 8 時～午後 3 時) に採取した。入院患者では 24 時間蓄尿と① 早朝

Table 1. Summary of protein, creatinine, Up/Ucr by the M-PRO and quantitative methods

Protein	M-PRO (mg/dl)	Quantitative method (mg/dl)	
	negative	< 8	Albumin
	15	8~29.9	
	30	30~64.9	Total protein
	100	65~199.9	
	300	200~399.9	
	1,000	≥ 400	
Up/Ucr	M-PRO (mg/g.Cr)	Quantitative method (mg/g. Cr)	
	Normal Dilute	Total protein < 30 mg/dl and Creatinine < 25 mg/dl and Albumin < 8 mg/dl	
	Normal	< 80	
	150	80~299.9	
	300	300~499.9	
	≥ 500	≥ 500	
Creatinine	M-PRO (mg/dl)	Quantitative method (mg/dl)	
	10	25	
	50	25~74.9	
	100	75~149.9	
	200	150~249.9	
	≥ 300	≥ 250	

第一尿, ② 昼食後尿 (午後 1 時～5 時), ③ 夕食後尿 (午後 6 時～9 時) を採取した。

3. 検討項目と統計処理

1) 外来通院患者の 58 検体を対象にして, 蓄尿法による 1 日尿蛋白量と随時尿を用いた定量法との相関性を検討した。次に入院患者の 117 検体を対象にして, 蓄尿法による 1 日尿蛋白量と早朝第一尿, 昼食後尿, 夕食後尿を用いた定量法の時間帯別の相関関係について検討した。

2) 入院患者の 175 検体を対象にして, 蓄尿法と M-PRO 法の相関性を検討した。

3) 外来通院患者の 414 検体を対象として, 随時尿を用いて M-PRO 法と定量法の相関性について検討した。

Spearman's rank correlation test, standard linear regression, χ^2 検定, 共分散分析を用いて統計解析を行い, 検定危険率 5% 未満を有意とした。また, standard linear regression によって求められた回帰直線の方向係数を slope として表した。

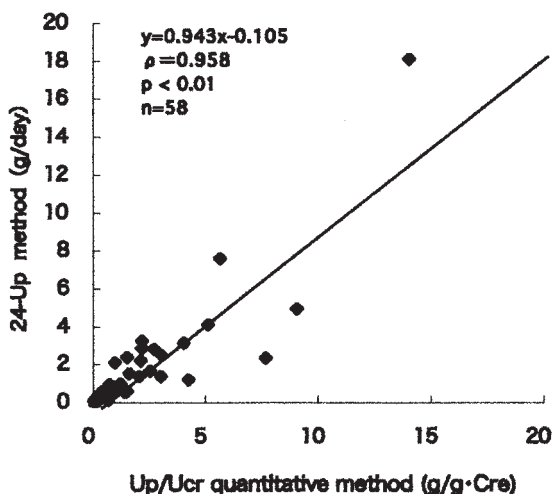


Fig. 1. Correlation between the Up/Ucr quantitative and 24-Up methods

結 果

1) 外来通院患者の 58 検体を対象にしての蓄尿法による 1 日尿蛋白量と随時尿を用いた定量法では、両者の間に強い相関関係($\rho=0.958$, $\text{slope}=0.943$, $p<0.01$)が認められた(Fig. 1)。次に性、年齢、疾患、腎機能、1日クレアチニン排泄量の項目別に層別解析を行った(Table 2, Fig. 2)。すべての項目で有意な相関を認め、項目中の層ごとの相関係数に有意差は認めなかったが、年齢、疾患、腎機能、1日クレアチニン排泄量の項目においては各層で検体の分布に偏りが認められた。

次に入院患者の 117 検体を対象にして、蓄尿法による 1 日尿蛋白量と早朝第一尿、昼食後尿、夕食後尿を用いた定量法の時間帯別の相関関係についての検討では、

早朝尿($\rho=0.901$, $\text{slope}=0.802$, $p<0.01$),

昼食後尿($\rho=0.925$, $\text{slope}=0.792$, $p<0.01$),

夕食後尿($\rho=0.937$, $\text{slope}=0.691$, $p<0.01$)

と、どの時間帯においても強い相関を認めた。slope は早朝尿が 1 に最も近かった。slope の有意差の検定では、早朝尿と夕食後尿では有意差を認めたが、その他の時間帯の比較(早朝尿と昼食後尿、昼食後尿と夕食後尿)では有意差は認めなかった。

また各時間帯での相関係数には有意差は認めなかった(Fig. 3)。

2) 入院患者の 175 検体を対象にした蓄尿法と随時尿を用いた M-PRO 法の相関性を検討した(Table 3)。M-PRO 法と蓄尿法における Up/Ucr の一致率は $\kappa=0.68$ と良好であった。また、175 検体中 5 検体は希釈尿のため M-PRO 法で Normal Dilute(再検査)と判定された。全 5 検体で M-PRO の蛋白試験部分は陰性であったが、蓄尿法では 5 例中 4 例で 200 mg/day 以上の有意な尿蛋白を認めた。

3) 外来通院患者の 414 検体を対象にして、随時尿を用いて M-PRO の蛋白試験部分と定量法の相関性を検討した。M-PRO の蛋白試験部分は低濃度域を尿中アルブミン濃度、高濃度域を尿中総蛋白濃度で表しているため、M-PRO の蛋白定性値との比較を低濃度域は尿中アルブミン

Table 2. Correlation between the Up/Ucr quantitative and 24-Up methods in different groups of patients

		n	ρ	p value
All cases		58	0.958	$p<0.01$
Sex	male	35	0.947	$p<0.01$
	female	23	0.971	$p<0.01$
Age	20~29	8	0.970	$p<0.01$
	30~49	13	0.979	$p<0.01$
	50~69	27	0.974	$p<0.01$
	70~89	10	0.903	$p<0.01$
Disease	Chronic glomerular nephritis	30	0.944	$p<0.01$
	Diabetic nephropathy	9	0.967	$p<0.01$
	Miscellaneous	19	0.946	$p<0.01$
Serum creatinine (S-Cr) (mg/dl)	<2	43	0.946	$p<0.01$
	≥ 2	15	0.932	$p<0.01$
Creatinine excretion (g/day)	≤ 1.0	31	0.961	$p<0.01$
	$> 1.0, \leq 1.5$	19	0.969	$p<0.01$
	> 1.5	8	0.922	$p<0.01$

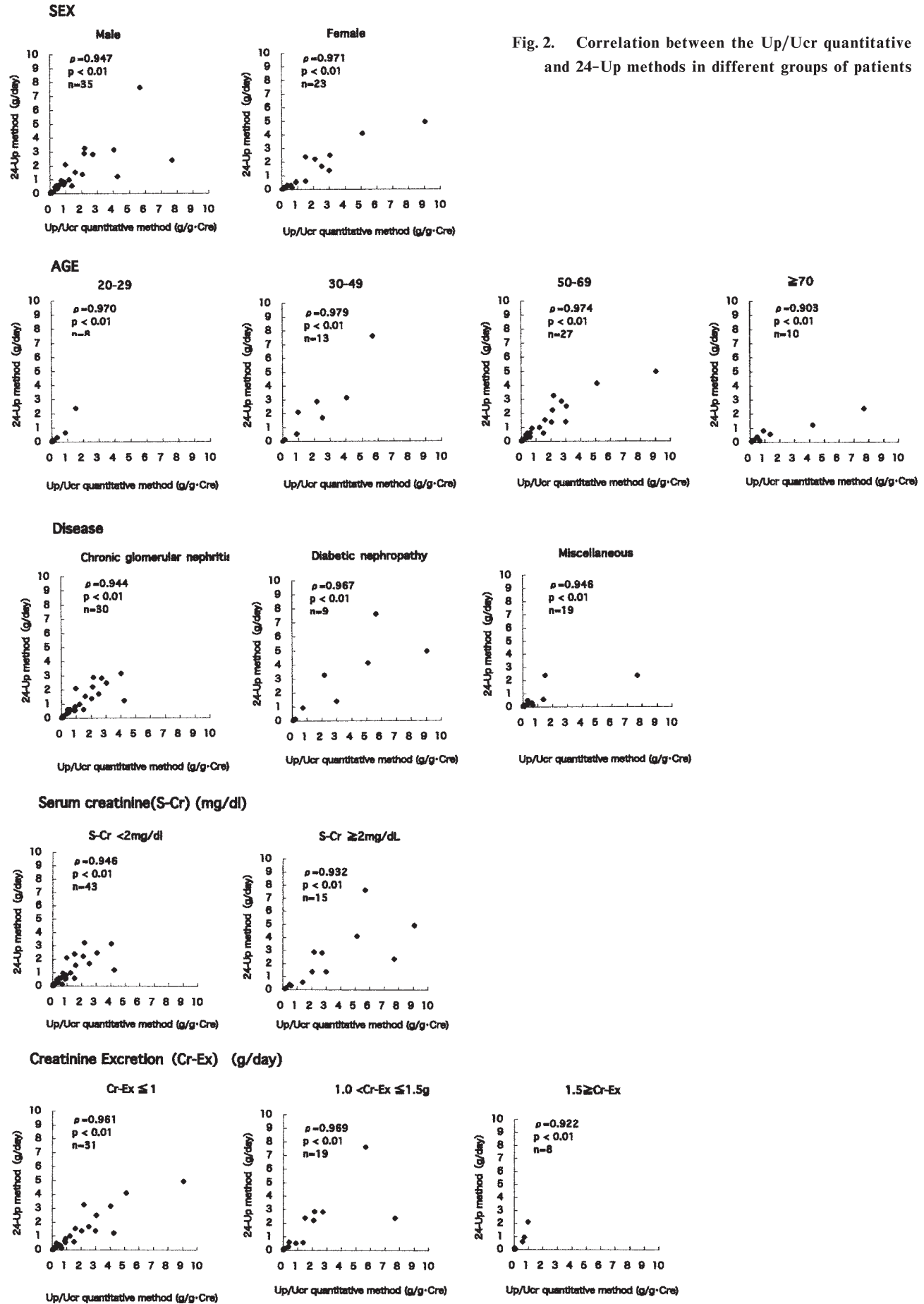


Fig. 2. Correlation between the Up/Ucr quantitative and 24-Up methods in different groups of patients

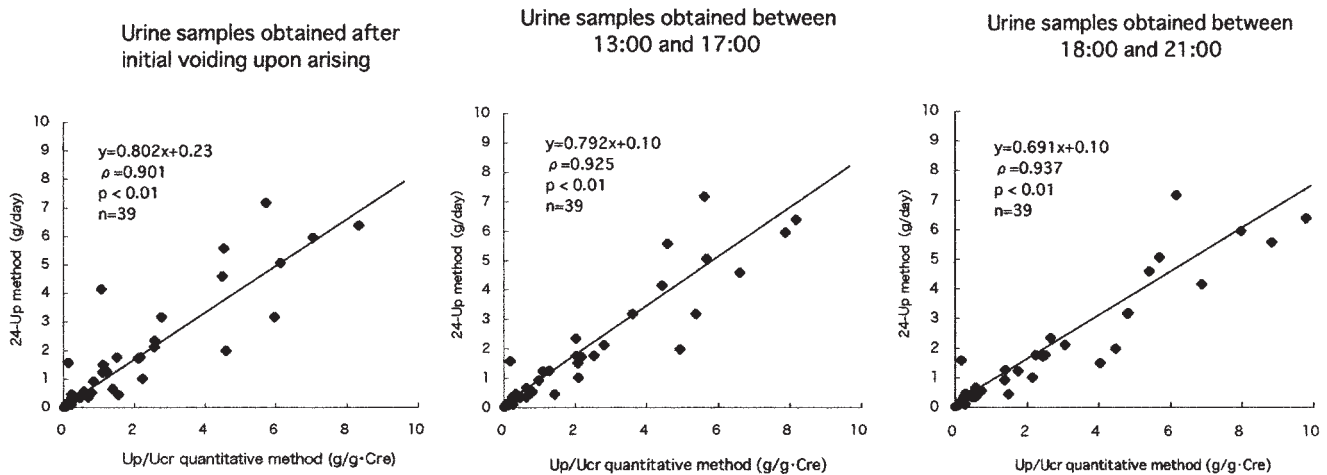


Fig. 3. Correlation between the Up/Ucr quantitative and 24-Up methods at different times of the day

Table 3. Correlation between the Up/Ucr M-PRO and 24-Up methods

		24-UP method (mg/day)				Total
		< 80	80~299.9	300~499.9	≥ 500	
M-PRO method (Up/Ucr) (mg/g · Cr)	Normal Dilute	0	1	4	0	5
	Normal	19	4	0	0	23
	150	1	7	1	0	9
	300	1	4	9	1	15
	≥ 500	0	2	12	109	123
Total		21	18	26	110	175

$\kappa=0.68$ (expect for Normal Dilute)

Table 4. Correlation between urine albumin and protein of the M-PRO and quantitative methods

		Quantitative method (mg/dl)					Total
		Urine albumin		Urine protein			
		< 8	8~29.9	30~64.9	65~199.9	≥ 200	
M-PRO method (protein) (mg/dl)	—	126	8	0	0	0	134
	15	1	12	0	0	0	13
	30	2	60	15	0	0	77
	100	0	0	39	82	3	124
	≥ 300	0	0	0	8	58	66
	Total	129	80	54	90	61	414

$\kappa=0.75$

値、高濃度域は尿中総蛋白値により示した (Table 4)。定量法と M-PRO の蛋白試験部分は尿中アルブミン定量 < 8 mg/dl、尿中総蛋白 65~199.9 mg/dl、≥ 200 mg/dl では良好な相関性を示したが、尿中アルブミン定量 8~29.9 mg/dl、尿中総蛋白 30~64.9 mg/dl の濃度域でばらつきを認めた。全体の一致率は $\kappa=0.75$ と良好であった。次に

M-PRO 法と定量法での Up/Ucr の相関性について検討した (Table 5)。全体の一致率は $\kappa=0.71$ と良好であった。また、414 検体中 16 検体は希釈尿のため M-PRO 法で Normal Dilute と判定された。全 16 検体で M-PRO の蛋白試験部分は陰性であったが、定量法では 16 例中 4 例で 200 mg/g.Cr 以上の有意な尿蛋白を認めた。

Table 5. Correlation between the Up/Ucr M-PRO and quantitative methods

		Up/Ucr quantitative method(mg/g.Cr)					
		Normal Dilute	< 80	80~299.9	300~499.9	≥ 500	Total
M-PRO method (Up/Ucr) (mg/g.Cr)	Normal Dilute	4	8	1	2	1	16
	Normal	0	94	11	0	0	105
	150	0	2	23	0	0	25
	300	0	0	13	24	8	45
	≥ 500	0	0	8	25	190	223
Total		4	104	56	51	199	414

 $\kappa = 0.71$

考 察

従来より1日尿蛋白排泄量は24時間蓄尿法により評価されているが、手技がやや煩雑で、検査に適さない検体も認められる。Shawらは24時間蓄尿の15~30%の検体が不完全蓄尿であったため、検査に適さなかったと報告している¹³⁾。

また、随時尿を用いた尿蛋白検査では従来の尿試験紙による尿蛋白定性や尿蛋白半定量法があるが、尿量や尿の濃縮、希釈により測定値が著しく左右されやすい。随時尿による1日蛋白排泄量を評価する検査としては尿中蛋白/クレアチニン比(Up/Ucr)定量法が有用であり、両者で非常に強い相関が認められることが報告されている^{1~6)}。われわれの検討でも、外来患者の58検体を対象とした蓄尿法と定量法で強い相関関係($\rho = 0.958$, $\text{slope} = 0.943$, $p < 0.01$)を認めた。相関関係の層別解析では性、年齢、疾患、腎機能、1日クレアチニン排泄量の項目において、項目中の各層の相関係数に有意差は認められなかった。腎機能による分類では血清クレアチニン値2 mg/dl程度の中程度の腎機能障害では腎機能正常群と比し蓄尿法との相関関係に有意差を認めず、血清クレアチニン値が4 mg/dl以上の進行した腎障害を認める場合に相関が低くなると報告されている¹⁴⁾。われわれの検討においても、血清クレアチニン値2 mg/dlで分類した腎機能別分類では相関係数に有意差は認められなかった。

しかしながら、年齢、疾患、腎機能、1日クレアチニン排泄量の項目においては各層で検体の分布に偏りが認められ、相関係数に影響を与えた可能性も否定できない。今後、症例数を増やして更なる検討が必要であると考えられる。

また、尿中蛋白排泄量は運動、食事、体位などにより影響を受け、尿中クレアチニン排泄も日内変動があることが

報告されている^{15,16)}。蓄尿法と定量法において随時尿の採尿時間による検討では、Koopmanらは午前6~9時の尿、Kristalらは正午の尿の相関が良かったと報告している^{15,17)}。また、随時尿の採尿時間による差は臨床的には無視できるとの報告もなされている¹⁷⁾。われわれの検討では早朝尿($\rho = 0.901$, $\text{slope} = 0.802$, $p < 0.01$)、昼食後尿($\rho = 0.925$, $\text{slope} = 0.792$, $p < 0.01$)、夕食後尿($r = 0.937$, $\text{slope} = 0.691$, $p < 0.01$)のいずれの時間帯においても強い相関を認めた。また、相関係数が高くslopeが1に近いほど全体の誤差が少なく優れた結果であると考えられるが、本検討では早朝尿のslopeが1に最も近かったが、slopeの差の検定では早朝尿と夕食後尿に有意差を認めたが、その他の時間帯の比較では有意差は認めなかった。また、時間帯ごとの相関係数においても有意差は認められなかった。今後、症例数を増やして更なる検討が必要と考えられる。

次に、入院患者の175検体を対象とした蓄尿法とM-PRO法の相関性の検討では、一致率 $\kappa = 0.68$ と良好な相関性が認められた。

外来通院患者の随時尿414検体を対象としてのM-PROの蛋白試験部分と定量法の相関性の検討において、全体では一致率 $\kappa = 0.75$ と良好な相関性を認めたが、M-PROの15 mg/dlと30 mg/dlにそれぞれ定量法で相当する尿中アルブミン値8~29.9 mg/dl、尿中総蛋白30~64.9 mg/dlの判定値にばらつきが認められた。船曳らや河合らの同様の検討においても、M-PROの蛋白試験部分の15 mg/dlと30 mg/dlで定量法の対応する領域と若干の乖離があることが示されている^{11,12)}。この原因については特定できず、今後の検討課題である。また、M-PRO法は蓄尿法および定量法と比較して手技が簡便で、検査に要する時間も大幅に短縮されていた。しかしながらM-PRO法は半定量法であるため、尿蛋白量が500 mg/day以上認められる症例では尿蛋白量は>500(mg/g.Cr)と画一的にしか判定でき

ない。よって、尿蛋白を中等度以上認める症例での1日尿蛋白排泄量の評価には、M-PRO法で半定量後に定量法を行うなど、M-PRO法と定量法の併用が望ましいと考えられる。

また、希釈尿のためM-PROの蛋白試験部分で陰性であった17検体において、蓄尿法では5例中4例で200 mg/day以上、定量法では12例中4例で200 mg/g.Cr以上の有意な尿蛋白が認められた。このような随時尿における希釈尿の検体については、従来の試験紙法では蛋白尿が偽陰性となる可能性が考えられたが、M-PRO法では再検査の必要性を示すことが可能であり、希釈尿におけるM-PRO法の有用性が示唆された。

結 論

1) 新しい検尿試験紙M-PROを用いて測定したUp/Ucrは蓄尿法、定量法とよく相関し、尿の希釈や濃縮による影響を補正でき、検査に要する時間も短く、手技も容易であり、1日尿蛋白を評価する方法として有用である。

2) M-PRO法は半定量法であり、尿蛋白が500 mg/day以上の症例は一律に判定するため、500 mg/day以上の尿蛋白を認める症例では蓄尿法あるいは定量法との併用による評価が望ましい。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、ご助言、ご協力いただいた自治医科大学臨床病理学教室の伊東紘一教授ならびに自治医科大学附属病院臨床検査部の島田勇技師長に深謝します。

文 献

- Schwab SJ, Christensen RL, Dougherty K, Klahr S. Quantitation of proteinuria by the use of protein-to-creatinine ratios in single urine sample. *Arch Intern Med* 1987; 147: 943-944.
- Ginsberg JM, Chang BS, Matarese RA, Garella S. Use of single voided urine samples to estimate quantitative proteinuria. *N Engl J Med* 1983; 309: 1543-1546.
- Yoshimoto M, Tsukahara H, Saito M, Hayashi S, Haruki S, Fujisawa S, Sudo M. Evaluation of variability of proteinuria indices. *Pediatr Nephrol* 1990; 4: 136-139.
- Abitbal C, Zillerulo G, Freundlich M, Strauss J. Quantitation of proteinuria with urinary protein/creatinine ratios and random testing with dipsticks in nephritic children. *J Pediatr* 1990; 16: 243-247.

- Quadri KHM, Bernardini J, Greenberg A, Laifer S, Syed A, Holley JL. Assessment of renal function during pregnancy using a random urine protein to creatinine ratio and cockcroft-gault formula. *Am J Kidney Dis* 1994; 24: 416-420.
- Tsai W, Tsau Y, Chen C, Sheu J. Correlation between total urinary protein quantitation and random urine sample protein/creatinine ratio in children. *J Formosan Med Saoc* 1991; 90: 760-763.
- Sessoms S, Mehta K, Kovarsky J. Quantitation of proteinuria in systemic lupus erythematosus by use of a random, spot urine collection. *Arthritis and Rheumatism* 1983; 26: 918-920.
- Wallace JF, Pugia MJ, Lott JA, Luke KE, Shihabi ZK, Sheehan M, Buckska JM. Multisite evaluation of a new dipstick for albumin, protein, and creatinine. *J Clin Lab Anal* 2001; 15: 231-235.
- Pugia MJ, Wallace JF, Lott JA, Sommer R, Luke KE, Shihabi ZK, Sheehan M, Buckska JM. Albuminuria and proteinuria in hospitalized patients as measured by quantitative and dipstick methods. *J Clin Lab Anal* 2001; 15: 295-300.
- Croal BL, Finlay D, Davidson E, Mutch WJ, Stephen D, Rothnie L, Dickie A, Newall R. Evaluation of the Bayer Multistix Pro 101s point-of-care urine test. *Point of Care* 2003; 2: 144-148.
- 船曳和彦, 島田 勇, 富野康日己, 河合 忠. 新しい試験紙を用いた蛋白/クレアチニン比の臨床的有用性. *医学と薬学* 2002; 47: 673-680.
- 河合 忠, 富野康日己, 船曳和彦, 小林 豊, 谷亀光則, 細谷龍男, 大野岩男, 山田 明, 原 茂子, 栖原 優, 村上睦美, 土屋正己, 伊藤喜久, 新関紀康, 伊藤機一, 片山善章, 加島準子, 島田 勇. 新しい尿検査試験紙の基礎的および臨床的検討. *医学と薬学* 2002; 47: 775-786.
- Shaw AB, Risdon P, Lewis JJD. Protein-creatinine index and albutix in assessment of proteinuria. *Br Med J* 1983; 287: 929-932.
- Siwach SB, Kalra OP, Sharma R, Singh V, Chopra JS. Estimation of 24 hour protein excretion from single random urine specimen. *Indian J Med Res* 1990; 92: 105-108.
- Koopman MG, Krediet RT, Koomen GCK, Strackee J, Arisz L. Circadian rhythm of proteinuria: Consequences of the use of urinary protein: Creatinine ratios. *Nephrol Dial Transplant* 1989; 4: 9-14.
- Pasternack A, Kuhlback B. Diurnal variations of serum and urine creatine and creatinine. *Scand J Clin Lab Invest* 1971; 27: 1-7.
- Kristal B, Shasha SM, Labin L, Cohen A. Estimation of quantitative proteinuria by using the protein-creatinine ratio in random urine samples. *Am J Nephrol* 1988; 8: 198-203.