

Donaggio 反応及び尿微量蛋白定量法に関する研究

第 1 報

大学生の運動負荷前後尿中の Donaggio 反応値,
 α_1 -acid glycoprotein 濃度, Albumin 濃度の変動

岡山大学医学部公衆衛生学教室 (指導: 緒方正名教授)

松 井 義 典

(昭和55年 8 月29日受稿)

Key words: Donaggio reaction
 α_1 -acid glycoprotein
Albumin

緒 言

肉体労働に伴う生体負担度の問題は、作業現場の労働には不可欠であった。一方現在では、メーター監視作業などの精神的負荷による負担度も重要視されるに到っている。一方発育期にある、中・高校生の課外活動としてのスポーツによる生体負担度は、生徒の健康管理上重要な問題となっている。

現在までに生体負担度の測定法には、生理学的測定法として、フリッカー値¹⁾の如く、主として感覚機能や反射機能²⁾を検査する方法、生化学的測定法として血液³⁾や尿中の物質⁴⁾⁻⁶⁾の変動を測定する方法³⁾⁻⁶⁾、また精神医学的あるいは心理学的測定方法⁷⁾や、自覚症状⁸⁾⁹⁾を測定する方法がある。

尿による生体負担度の測定法は、材料が得やすく、被検者に与える負担が少ないため、広く用いられている方法である。現在、肉体作業による生体負担時において、尿中に排泄量の変動のみられる物質としては、微量蛋白質 (Donaggio 陽性物質を含む)、乳酸、クレアチニン、尿酸、磷酸等がある。特に Donaggio 反応¹⁰⁾は筋肉労働による生体負担度の尿による測定法として広く用いられているが、その反応陽性物質

は、血清に由来する α_1 -acid glycoprotein¹¹⁾⁻¹³⁾ 及び一部 Zn α_2 -glycoprotein¹²⁾ 又は α_2 -HS glycoprotein¹³⁾ であると言われている。

今回は、サッカー合宿選手における、ランニング運動負荷後にあらわれる、Donaggio 反応陽性物質量、 α -acid glycoprotein 濃度、Albumin 濃度の増加についての検討を行なった。その成績をここに報告する。なお、測定材料としては、疲労前後における、spot尿の実測値及び比重補正值を用いた。

実験材料並びに実験方法

A. 被検者と尿の採集

夏期において19歳~24歳の7名の合宿選手について、午前中約2時間、午後約2時間のランニング負荷を行なった。毎日の運動量はほぼ同一であった。尿試料は、走行前及び走行後30分に採取した。

B. 実験方法

1. Donaggio 反応値の測定

Donaggio・佐藤法¹³⁾の中山氏変法¹⁴⁾により、分光光度計で精密な測定を行なった。

尿を pH5.6に5%酢酸で調整後、100℃で5分間加熱除蛋白し、1.5倍希釈系列を作る。次いで1万倍メチレンブルー (Merk 製) を 0.5ml 入

れてよく振る。次に4%モリブデン酸アンモニウムを0.5ml入れてよく振り、37℃の恒温槽で1時間反応させる。2500回転/minで遠心した後、上清を610nmで吸光度を測定した。そして検量線〔図1〕より Donaggio 値を求めた。

2. α_1 -acid glycoprotein 濃度の測定

Single radial immuno diffusion (S.R.I.D.) Mancini 法¹⁵⁾に準じて行なった。

1.5%の Ager gel (pH8.6, $\mu=0.05$ のペロナール buffer 50cc, 純水50cc, Ager 1.5g)に1/50容量の特異抗血清 (Behringwerk standard human anti serum)を55℃で混じた。3mmの穴に5 μ lの尿を入れ、室温で24時間反応させた後、タンニン酸処理(反応終了後、生食に24時間洗い、調製直後の1%タンニン酸溶液をゲル表面に注いで10分間放置し、純水で30分間隔で2回洗った。)後直径を測定した。

3. Albumin 濃度の測定

S.R.I.D. Mancini 法¹⁶⁾に準じ、 α_1 -acid glycoprotein と同様に行なった。

4. 尿比重1.024補正法

D.Z. 型蛋白計(共栄製作所)を用いた。

$$\text{尿比重補正值} = \frac{\text{測定値}}{\text{spot 被検尿の比重} - 1.0000}$$

×24

実 験 結 果

1. Donaggio 値の変化

作業前の値は、ほぼ不変であるが、作業後の増加量は、1,2,3,4日と減少を示している。また、2日休暇後の7日目はやや増加した。運動量がほぼ等しいにかかわらず、1日目の運動負荷後 Donaggio 値の高いこと(表1)は、運動負荷量がほぼ等しいので訓練効果と関係あるかもしれない。〔図2A〕に比重補正値の経日変動を示す。作業後の増加量は、対応のある場合の検定を行なった際において、実測値の変動はいずれの日も1%以下の危険率で有意であった。比重補正値も、1%以下の危険率であり、3日目は5%以下の危険率で、有意の変化を示した(表1A)。

2. 尿中の α_1 -acid glycoprotein 量の変化

〔図2B〕は比重補正値の経日変動を示す。練習2日目がやや少ないことを除いては、作業

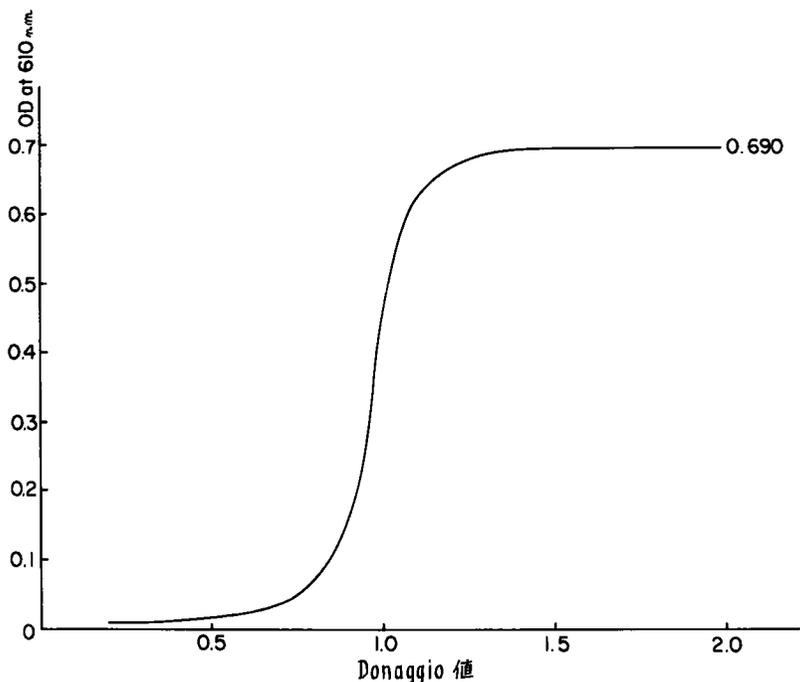


図1 Donaggio 値と残留メチレンブルー濃度(吸光度)との関係(検量線)

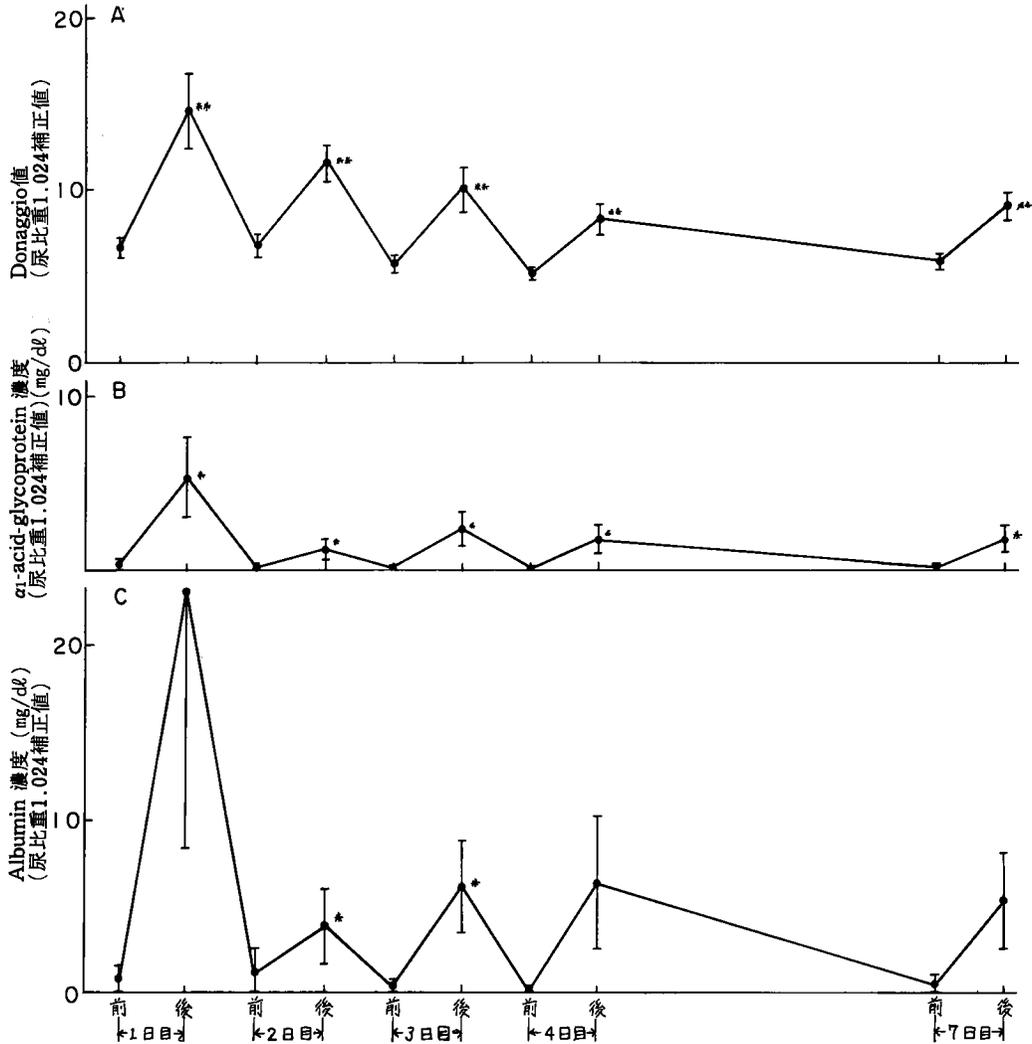


図2 合宿練習におけるランニング前後尿の Donaggio 値, 尿中 α_1 -acid-glycoprotein 濃度及び尿中 Albumin 濃度 (尿比重1.024補正值) の経日変動

後の増加量は対応のある場合の検定において、実測値、比重補正值共に5%以下の危険率で有意であった(表1B)。

3. Albumin 濃度の変化

Albumin 濃度の変化は、ほぼ α_1 -acid glycoprotein と平行関係を示していた。〔図2C〕に尿比重補正值の経日変化の変動を示す。しかしながら第1日の後においては、極めて高い値が一例あったので、平均値の標準誤差は極めて高い値を示した。作業後の増加量は対応のある場合の検定において、実測値、比重補正值共に、2日目と3日目のみが5%以下の危険率で有意

の増加を示した(表1C)。

考 察

現在まで、スポーツ後の Donaggio 値についての報告^{16)~19)}はあるが、中山氏変法での連続量として表わした精密な測定報告はない。また、 α_1 -acid glycoprotein 濃度や Albumin 濃度についての報告は、比較的認められていない。

今回の成績では、Donaggio 値の増加と平行して、 α_1 -acid glycoprotein 濃度と Albumin 濃度が増加することが認められた。また、運動量がほぼ等しいにかかわらず、その排泄濃度が、

表 1 A 合宿練習におけるランニング前後の Donaggio 測定値及びその尿比重1.024補正值の経日変動の統計値

Donaggio 値

	1 日 目			2 日 目			3 日 目			4 日 目			7 日 目		
	前	後	差	前	後	差	前	後	差	前	後	差	前	後	差
m	8.85	22.85	13.99	9.15	17.87	8.73	7.27	14.08	6.80	6.53	10.87	4.35	8.26	13.10	4.84
u	3.26	18.95	18.47	4.27	6.82	5.26	2.98	9.42	8.53	2.47	5.38	4.42	3.02	5.22	6.60
σ	3.18	18.52	18.05	4.16	6.63	5.12	2.91	9.20	8.34	2.42	5.25	4.32	2.94	5.08	6.43
$\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$	0.68	3.95	3.85	0.95	1.52	1.17	0.62	1.96	1.78	0.52	1.12	0.92	0.67	1.17	1.48
n	22	22	22	19	19	19	22	22	22	22	22	22	19	19	19
t	3.55**			7.23**			3.50**			4.47**			3.20**		

Donaggio 値の尿比重1.024補正值

	1 日 目			2 日 目			3 日 目			4 日 目			7 日 目		
	前	後	差	前	後	差	前	後	差	前	後	差	前	後	差
m	6.63	14.50	7.87	6.81	11.52	4.71	5.74	10.00	4.26	5.05	8.22	3.17	5.83	9.01	3.17
u	2.26	10.63	10.04	2.78	4.32	3.29	2.07	5.81	5.25	1.56	3.79	3.17	1.57	3.43	4.03
σ	2.21	10.39	9.81	2.71	4.20	3.20	2.02	5.67	5.13	1.52	3.69	3.09	1.52	3.33	3.91
$\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$	0.47	2.22	2.09	0.62	0.96	0.73	0.44	1.24	1.12	0.34	0.83	0.69	0.36	0.78	0.92
n	22	22	22	19	19	19	21	21	21	20	20	20	18	18	18
t	3.68**			6.24**			3.74**			4.52**			5.10**		

** 対応ある検定で1%以下の危険率で有意

表 1 B 合宿練習におけるランニング前後の α_1 -acid glycoprotein 濃度(mg/dl)及びその尿比重1.024補正值の経日変動の統計値 α_1 -acid glycoprotein 濃度

	1 日 目			2 日 目			3 日 目			4 日 目			7 日 目		
	前	後	差	前	後	差	前	後	差	前	後	差	前	後	差
m	0.23	8.78	8.55	0.11	1.66	1.55	0.06	3.52	3.46	0.03	2.35	2.32	0.06	2.63	2.56
u	0.55	18.20	18.20	0.34	2.96	2.91	0.28	6.33	6.34	0.13	4.58	4.58	0.19	5.16	5.19
σ	0.54	17.74	17.74	0.33	2.88	2.83	0.27	6.19	6.21	0.12	4.48	4.47	0.18	5.02	5.05
$\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$	0.12	3.97	3.97	0.08	0.66	0.65	0.06	1.32	1.32	0.03	0.96	0.95	0.04	1.15	1.16
n	20	20	20	19	19	19	22	22	22	22	22	22	19	19	19
t	2.101*			2.32*			2.55*			2.38*			2.15*		

 α_1 -acid glycoprotein 濃度の尿比重1.024補正值

	1 日 目			2 日 目			3 日 目			4 日 目			7 日 目		
	前	後	差	前	後	差	前	後	差	前	後	差	前	後	差
m	0.16	5.26	5.10	0.09	1.15	1.06	0.05	2.41	2.36	0.02	1.75	1.73	0.04	1.74	1.70
u	0.39	10.49	10.49	0.30	2.14	2.09	0.21	4.23	4.25	0.11	3.39	3.38	0.12	3.50	3.52
σ	0.38	10.22	10.23	0.29	2.08	2.04	0.21	4.13	4.15	0.10	3.31	3.31	0.12	3.41	3.43
$\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$	0.08	2.29	2.29	0.07	0.48	0.47	0.04	0.88	0.88	0.02	0.71	0.71	0.03	0.76	0.77
n	20	20	20	19	19	19	22	22	22	22	22	22	20	20	20
t	2.17*			2.22*			2.63*			2.39*			2.18*		

* 対応ある検定で5%以下の危険率で有意

表1C 合宿練習におけるランニング前後の尿中 Albumin 濃度(mg/dl)及びその尿比重1.024補正値の経日変動の統計値

Albumin 濃度

	1 日目			2 日目			3 日目			4 日目			7 日目		
	前	後	差	前	後	差	前	後	差	前	後	差	前	後	差
m	1.13	39.08	37.95	1.53	5.64	4.11	0.48	9.03	8.55	0.09	8.37	8.28	0.50	7.57	7.07
u	5.11	120.27	115.32	6.65	14.36	8.20	2.24	19.17	17.34	0.43	24.50	24.09	2.18	18.14	16.19
σ	4.99	117.50	112.67	6.48	13.97	7.98	2.19	18.73	16.94	0.42	23.93	23.53	2.12	17.66	15.76
$\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$	1.06	25.05	24.02	1.49	3.20	1.83	0.47	3.99	3.61	0.09	5.10	5.02	0.49	4.05	3.62
n	22	22	22	19	19	19	22	22	22	22	22	22	19	19	19
t	1.54			2.19*			2.31*			1.61			1.90		

Albumin 濃度の尿比重1.024補正値

	1 日目			2 日目			3 日目			4 日目			7 日目		
	前	後	差	前	後	差	前	後	差	前	後	差	前	後	差
m	0.84	22.92	22.08	1.15	3.75	2.60	0.33	5.95	5.62	0.06	6.26	6.20	0.43	5.25	4.83
u	3.83	70.28	66.56	5.00	9.64	5.09	1.54	12.53	11.24	0.30	18.34	18.06	1.86	12.45	10.80
σ	3.74	68.66	65.03	4.87	9.38	4.96	1.50	12.24	10.98	0.29	17.92	17.64	1.81	12.12	10.51
$\frac{\sigma}{\sqrt{n}}$	1.80	14.64	13.86	1.12	2.15	1.14	0.32	2.61	2.34	0.06	3.82	3.76	0.42	2.78	2.41
n	22	22	22	19	19	19	22	22	22	22	22	22	19	19	19
t	1.56			2.23*			2.34*			1.61			1.95		

* 対応ある検定で5%以下の危険率で有意

経日的にやや減少する傾向を有することは、訓練効果と関連があるかもしれない。

なお、Donaggio 値と α_1 -acid glycoprotein 濃度と Albumin 濃度の相関については、次報で述べる予定である。

今回は実験の精密化をはかるために、spot尿であるので、実測値及び尿中の他の有機無機排泄物濃度と比較して、比重1.024補正値を用いたが、経日変化を観察すれば、すべての日において、Donaggio 値、 α_1 -acid glycoprotein 濃度は、平行して変化するが、Albumin 濃度は5日の測定日のうち2日のみが、明らかに平行関係が認められた。

運動前の毎日の値がほぼ等しいことは、このスポーツにおいては、蓄積疲労は比較的少なかった。

なお、尿微量蛋白の排泄量がエネルギー代謝率と平行関係にあることは、緒方、松田らによって報告されている²⁰⁾。

また、Donaggio 反応値が肉体的負荷による血液酸性化、血圧上昇、副腎皮質ホルモンの増加により増加することは、既に証明されている²¹⁾

が、これらの事実より、Donaggio 反応と尿中蛋白質の増加が平行していることは推定可能である。

なお、運動前の値が特にあがっていないことにより、本合宿訓練では尿検査に関するかぎり、前日の運動負荷による変化が翌日に持ち越されることはなかったと考えられる。

結 論

夏期19~24歳の大学生のランニング前後における Donaggio 値、 α_1 -acid glycoprotein 濃度、Albumin 濃度の変動を測定し、以下の成績を得た。

- 1) Donaggio 値は、実測値並びに比重補正値共にいずれの日も、ランニング後に1%以下の危険率で有意の増加を示した。
- 2) 尿中 α_1 -acid glycoprotein 濃度は、いずれの日もランニング後に5%以下の危険率で有意の増加を示した。
- 3) 尿中 Albumin は、5日の練習日の中で3日目と4日目のみ有意の増加を示した。
- 4) ランニング負荷前後の Donaggio 値と α_1 -

acid glycoprotein 濃度が、経日的な運動後に統計的に有意の増加を全日に認めたことは、Donaggio 反応陽性物質と α_1 -acid glycoprotein の密接な関係を示すものと考えられる。

5) 運動負荷後の尿中 Donaggio 値, α_1 -acid glycoprotein 濃度, 尿中 Albumin 濃度の比較

から、スポーツの生体負荷量を考えて健康管理をする必要があると考えられる。

稿を終るにあたり、御指導と御校閲を頂いた緒方正名教授に深謝いたします。

文 献

1. 橋本邦衛：フリッカー値の生理学的意味と測定上の諸問題，産業医学 5, 9, 3—16, 1963.
2. 増田充：膝蓋腱反射閾値法，疲労判定のための機能検査法，桐原葆見・橋本邦衛・大島正光他編，同文書院，pp.161—164, 1962.
3. 佐藤徳郎，福山富太郎：全血及び血漿（血清）比重，疲労判定のための機能検査法，桐原葆見・橋本邦衛・大島正光他編，同文書院，pp.33—39, 1962.
4. 佐藤徳郎：Donaggio 反応（標準法），疲労判定のための機能検査法，桐原葆見・橋本邦衛・大島正光他編，同文書院，pp. 121—124, 1962.
5. 大田原一祥・緒方正名：尿微量蛋白による疲労測定法，疲労判定のための機能検査法，桐原葆見・橋本邦衛・大島正光他編，同文書院，pp. 318—319, 1962.
6. 横堀栄・高松すみ子：17-ketosteroids，疲労判定のための機能検査法，桐原葆見・橋本邦衛・大島正光他編，同文書院，pp. 322—326, 1962.
7. 増田充：連続反応時法，疲労判定のための機能検査法，桐原葆見・橋本邦衛・大島正光他編，同文書院，pp. 292—294, 1962.
8. 吉竹博：疲労感の評定，労働科学，45, 422—435, 1969.
9. 吉竹博：疲労研究における疲労感の意義，産業疲労，労働科学研究所，東京，pp. 3—17, 1973.
10. Direttore, D.A.: Alcune Indagini sulla fatica a determinare la capacita' o meno nell' orina di produrre unparticolare fenomeno. *Bull. Soc. Ital. Biol. Sper* 8, 1456—1459, 1933.
11. 緒方正名，望月義夫：濾紙電気泳動法による尿蛋白質及び Donaggio 反応，赤松・神明反応陽性物質に関する研究，日本衛生学雑誌，13, 181—187, 1958.
12. Poortmans J. R.: Further studies on thermosoluble proteins in serum and urine. *Clin. Chim. Acta.* 30, 671—678, 1970.
13. 大森祥夫：運動後尿 Donaggio 反応陽性物質の同定，体力科学，27, 117—123, 1978.
14. 佐藤徳郎：Donaggio 反応（標準法）疲労判定のための機能検査法，桐原葆見・橋本邦衛・大島正光他編，同文書院，pp.121—124, 1962.
15. 中山達夫：光電光度計による Donaggio 反応標準法の精密化と簡易化とについて，総合医学，10, 37—39, 1953.
16. Mancini, G. Carbonara, A.O. and Heremans, J. F.: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* 2, 235—254, 1965.
17. 緒方正名，望月義夫，那須昭三：サッカー試合における尿疲労反応の研究，体力科学，7, 179—184, 1957.
18. 緒方正名，只友淳雄，吉本弘満，三島四郎，佐藤和人，木村晋，横山衛，小林喬三，進藤貞義，人見硬：Ergometer 負荷量と疲労反応の関係について，岡山医学会雑誌，74, 1.2.3 合併号，219—221, 1962.
19. 菅波茂：高校生のスポーツによる生体負担度，体力科学，25, 64—70, 1976.
20. 菅波茂：高校生の疲労自覚症状について，岡山医学会雑誌，89, 195—217, 1977.
21. 緒方正名，松田昭：尿微量蛋白の新定量法およびエネルギー代謝率と尿蛋白排泄量との関係，労働化学，

42, 794—798, 1966.

22. 田辺昇平：疲労判定法としての尿 Donaggio 反応に関する研究，岡山医学会誌，71，1959.

Studies on Donaggio Reaction and Micro-determination of urinary protein
Part I. Variation of urinary titer of Donaggio Reaction concentration
of α_1 -acid glycoprotein and albumin
in the urine of a medical school students before and after their runnings
Yoshinori MATSUI

Department of Public Health, Okayama University Medical School

(Director : Prof. M. Ogata)

For studies of factors which have influence to Donaggio-titer of α_1 -acid glycoprotein and albumin in urine, the effect of running in summer was researched and following results were obtained.

- 1) Increase in both actual and corrected to a urine density of 1,024 Donaggio titer was observed in the urine after a marathon running. (P=0.01 throughout all days.)
- 2) Increase in both actual and corrected urinary α_1 -acid glycoprotein was observed with students in the urine after a marathon running.
- 3) Increase in urinary albumin was observed second and third day of 5 days after a marathon running.
- 4) Discussion was made on High Level of urinary Donaggio-titer and glycoprotein and albumin. after running in the first day.