The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Investigation of the possible role of glycosaminoglycans and sialic acid in urine in calcium oxalate urolithiasis
Author(s)	吉村, 一宏
Citation	大阪大学, 1998, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41213
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【 38 】

氏　　名	吉村一宏（よしむらかずひろ）
博士の専攻分野の名称	博　士（医　学）
学位記番号	第　14035　号
学位授与年月日	平成10年4月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文名	Investigation of the possible role of glycosaminoglycans and sialic acid in urine in calcium oxalate urolithiasis **(蓚酸カルシウム結石症における尿中グリコサミノグリカンおよびシアル酸の果たす役割についての研究)**
論文審査委員	(主査) 教授　奥山　明彦 (副査) 教授　堀　正二　　教授　祖父江憲治

論文内容の要旨

【目的】

ヒト尿中には，おもな高分子物質として糖蛋白のほかにムコ多糖であるグリコサミノグリカン（GAG）が存在し，これら高分子物質の中にはアミノ糖の一種であるシアル酸が含まれていることが知られている。シアル酸は尿中では尿中高分子物質の構成単位の一つとして存在するものと遊離型のシアル酸として存在するものとがあると考えられている。また，蓚酸カルシウム結石中に含まれるマトリックス成分の中にもこれらの高分子物質が含まれている。蓚酸カルシウム結石は結晶の核形成，成長，凝集の段階を経て形成されると考えられているが，われわれは蓚酸カルシウム結石形成における尿中GAGおよびシアル酸の果たす役割を明らかにすることを目的として以下の検討を行った。

【方法ならびに成績】

健常成人男子全尿を濾過したのちこれに塩化カルシウムおよび蓚酸ナトリウムを添加し，全尿中で蓚酸カルシウム結晶を生じさせ，われわれが既に報告している方法により尿中蓚酸カルシウム表面吸着物質(CSBS)を作成した(Urol Res 18, 387-392, 1990)。このようにして得られた試料をGAG分解酵素のひとつであるヘパリチナーゼでGAG成分を消化分解した。GAG消化分解後は低分子分解物を除去し凍結乾燥させてヘパリチナーゼ消化後の試料とした。また，これとは別にシアル酸の分解酵素であるシアリダーゼを用い緩衝液中でCSBSと反応させ同様に凍結乾燥し試料とした。さらにCSBSの一部は酵素を使用し蛋白成分を分解した。

酵素分解前後でのCSBSについてseed crystal法に準じin vitroでの結晶成長阻止能を^{14}C標識蓚酸を用い測定比較した。また，これらの試料中に含まれる蛋白量，GAG量についても測定した。ヘパリチナーゼ消化前後でのCSBSについてはイオンクロマトグラフィーをおこない，各フラクションの蛋白量，GAG量を測定した。

つぎに，健常成人男子と成人男子蓚酸カルシウム結石症患者各々15例の全尿について，尿中のシアル酸を比較検討した。健常成人男子の年齢は24歳から41歳まで平均33歳，男子結石症患者は21歳から69歳まで平均45歳であり，各々の症例について24時間蓄尿をおこない尿中の総シアル酸濃度，1日のシアル酸排泄量，結合型および遊離型のシアル酸の比率，in vitroでの結晶成長阻止能を測定した。

ヘパリチナーゼ消化によりCSBS中に含まれるGAG量は消化前の約25%に減少した。ヘパリチナーゼ消化前後のイオンクロマトグラフィーを比較すると蛋白量に大きな変化はなかったが，GAG量はヘパリチナーゼ消化により低下し，消化後は一部に小さなピークを認めるのみであった。CSBSの蓚酸カルシウム結晶成長阻止能をヘパリチナーゼ処理前後で蛋白濃度別に比較すると消化後に阻止活性が約20～40%低下した。プロナーゼEによる蛋白分解によってもCSBSの蓚酸カルシウム結晶成長阻止活性は低下した。さらに，ヘパリチナーゼおよびプロナーゼEの2つの酵素でCSBSを処理した場合，蓚酸カルシウム結晶成長阻止活性は低下するものの高濃度では十分な阻止活性が認められた。

この2つの酵素による処理後も阻止活性を示すGAGを同定するためにイオンクロマトグラフィーでGAGのピークとして認められたフラクションについてHLPCを用いさらに検討を加えたところ，デルマタン硫酸の特異的消化酵素であるコンドロイチナーゼBを用いた場合に明瞭な不飽和二糖のピークが認められた。

CSBS中には10 mgあたり90 μgのシアル酸が含まれていたが，シアリダーゼ処理前後で蓚酸カルシウム結晶成長阻止活性に差はみられなかった。また，健常成人男子と成人男子蓚酸カルシウム結石症患者の全尿での1日シアル酸排泄量，尿中シアル酸濃度ともに両群間に有意差を認めなかった。全尿中総シアル酸のうち遊離型シアル酸の占める割合は前者で58.4%，後者で50%であり有意差はみられず結合型，遊離型シアル酸ともに蓚酸カルシウム結晶成長阻止活性を示さなかった。

【総括】

蓚酸カルシウム結晶表面に吸着する尿中GAGはおもにヘパラン硫酸であり，強い蓚酸カルシウム結晶成長阻止作用を示したが，わずかながらデルマタン硫酸も含まれており，デルマタン硫酸も単独で結晶成長阻止作用を示した。

尿中に含まれるシアル酸には蓚酸カルシウム結晶成長阻止作用がなく，健常群と結石症群とのあいだに差がないことから，蓚酸カルシウム結石形成には積極的には関与しないことが示唆された。

論文審査の結果の要旨

ヒト尿中には，高分子物質として糖蛋白のほかにムコ多糖であるグリコサミノグリカンが存在し，これら高分子物質の中にはアミノ糖の一種であるシアル酸が含まれていることが知られている。本研究は蓚酸カルシウム結晶成長過程において，尿中グリコサミノグリカンのうちヘパラン硫酸がもっともつよく蓚酸カルシウム結晶成長を阻害することを明らかにした。また，デルマタン硫酸も結晶成長阻止作用を有することを示しており，尿中シアル酸については結晶成長阻止作用がないことを示唆している。尿中のグリコサミノグリカンのうちヘパラン硫酸とデルマタン硫酸がおもに蓚酸カルシウム結晶成長に阻害的に作用することを明らかにした意義は大きく，今後の尿路結石症の基礎的研究を進めてゆくうえで重要な業績であり学位の授与に値するものと考えられる。