



Title	Fibronectin as a Potent Inhibitor of Calcium Oxalate Urolithiasis
Author(s)	辻畑, 正雄
Citation	大阪大学, 2001, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/42691
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

氏	名	つじ	はた	まさ	お	雄
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)					
学 位 記 番 号	第 1 5 8 7 1 号					
学 位 授 与 年 月 日	平成 13 年 2 月 13 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	Fibronectin as a Potent Inhibitor of Calcium Oxalate Urolithiasis (尿酸カルシウム結石形成におけるフィブロネクチンの役割)					
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 奥 山 明 彦					
	(副査) 教 授 宮 坂 昌 之 教 授 荻 原 俊 男					

論 文 内 容 の 要 旨

〔目的〕

尿酸カルシウム (CaOx) 結石の形成過程に関して、これまで結晶の核形成、成長、凝集について検討されてきたが、近年 CaOx 結晶と尿細管上皮との interaction の重要性が指摘されている。このうちフィブロネクチン (FN) は、細胞外マトリックスや体液中に存在する多機能的糖蛋白であり、尿中にも排泄されており、in vitro において CaOx 結晶の細胞内への取り込みを抑制するという報告がある。しかし FN が、CaOx 結石形成過程に能動的に関与しているか否かについては不明である。そこで FN が、CaOx 結石形成に及ぼす影響について検討を加えた。

〔方法ならびに成績〕

(1) FN の CaOx 結晶表面吸着物質中の存在

健康成人男子全尿より CaOx 結晶表面吸着物質 (Crystal Surface-Binding Substance=CSBS) を作製して、CSBS 中の FN の存在を Western Blot 法により検討したところ、230kDa のバンドを検出し、CSBS 中に FN の存在を確認した。

(2) ラット結石形成モデル腎における FN の発現

雄 Wister ラット 20 匹を 4 群に分類しつぎの実験を行った。

- ・ 12週間連日蒸留水とサラダオイルを隔日投与 (コントロール A 群)
- ・ 12週間連日エチレングリコールとサラダオイル隔日投与 (コントロール B 群)
- ・ 12週間連日エチレングリコールとビタミン D₃隔日投与 (モデル A 群)
- ・ 尿管を結紮して水腎を作製 (モデル B 群)

von Kossa 染色では、モデル A 群にのみ CaOx 結晶の沈着を認めた。つづいて、免疫組織化学的染色により FN の発現を検討したところ、モデル A 群の CaOx 結晶が付着した尿細管に FN の強い発現を認めたが、他の 3 群では FN の特異な発現がみられなかった。

(3) ラット結石形成モデル腎中の FN 含有量

それぞれの群の組織中の FN 量を測定するため、腎組織をホモジナイズして遠沈、上清中の FN を ELISA 法により測定した。結石形成モデル腎であるモデル A 群の FN 含有量は、他の 3 群に比べて有意に増加していた。

(4) MDCK 細胞における CaOx 結晶刺激による FN の分泌量変化

in vitro における FN と CaOx 結晶の関係を検討するため、MDCK 細胞を CaOx 結晶で刺激して、FN の分泌量の変化を検討した。confluent の状態の MDCK 細胞に CaOx 結晶を加え、24時間37℃で incubate し、細胞から蛋白を抽出して ELISA 法により FN を測定した。コントロールとしては Latex beads で細胞を刺激した。MDCK 細胞の FN 量は、Latex beads による刺激よりも CaOx 結晶刺激で有意に分泌増加がみられた。

(5) FN の CaOx 結晶成長阻止活性

CaOx 結晶成長阻止活性を Seed crystal 法で測定した。尿中 FN の生理的濃度での成長阻止活性は9.9%しか認めなかった。

(6) FN の CaOx 結晶凝集阻止活性

CaOx 結晶凝集阻止活性を血小板凝集機能測定装置 Hema Tracer202で測定したところ、尿中 FN の生理的濃度における凝集阻止活性は47.7%であった。

(7) FN の CaOx 結晶－尿細管細胞付着阻止活性

confluent の状態の MDCK 細胞に、CaOx 結晶と FN を混合した懸濁液を加え15分間反応させた後、細胞に付着していない結晶を洗浄除去した。付着している結晶を塩酸で溶解した後、その Ca 濃度を原子吸光分析法により測定し、付着結晶量を定量化して、結晶付着阻止活性を算出した。尿中 FN の生理的濃度における結晶付着阻止活性は35.1%であった。

〔総括〕

以下の知見より、FN は CaOx 結晶の刺激により生体内で過剰分泌され、CaOx の結晶凝集および結晶付着を抑制する CaOx 結石形成の inhibitor の一つである可能性が強く示唆された。

(1) CaOx 結晶表面吸着物質中に含有されている。

(2) ラット結石形成モデル腎において CaOx 結晶が付着した尿細管細胞に強い発現を認め、腎組織中ではコントロール群や水腎モデル群に比べ含有量が有意に増加している。

(3) CaOx 結晶の刺激により MDCK 細胞での有意な分泌増加を認める。

(4) CaOx 結晶凝集阻止活性および付着阻止活性を認める。

論文審査の結果の要旨

尿酸カルシウム結石抑制因子に関する研究は、年々増加する尿酸カルシウム結石症の成因の解明および予防の確立への一助になりうると考える。Fibronectin は尿酸カルシウム結晶の刺激により腎尿細管細胞で過剰分泌され、尿酸カルシウム結晶凝集および結晶付着を抑制する尿酸カルシウム結石形成抑制因子の一つである可能性が示唆された。本研究は尿酸カルシウム結石症の成因解明に繋がるものであり、学位の授与に値すると考えられる。