



Title	HEPATOCYTE GROWTH FACTOR (HGF) HAS PROTECTIVE EFFECTS ON CRYSTAL-CELL INTERACTION AND CRYSTAL DEPOSITES.
Author(s)	鄭, 則秀
Citation	大阪大学, 2006, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46323">https://hdl.handle.net/11094/46323</a>
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、<a href=" <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> ">大阪大学の博士論文について</a>をご参照ください。

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

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

Osaka University

氏名	鄭則秀
博士の専攻分野の名称	博士(医学)
学位記番号	第20138号
学位授与年月日	平成18年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当 医学系研究科臓器制御医学専攻
学位論文名	HEPATOCYTE GROWTH FACTOR (HGF) HAS PROTECTIVE EFFECTS ON CRYSTAL-CELL INTERACTION AND CRYSTAL DEPOSITS. (肝細胞増殖因子は結晶細胞間相互作用および結晶付着に対して保護作用を有する)
論文審査委員	(主査) 教授 奥山 明彦 (副査) 教授 堀 正二 教授 米田 悅啓

### 論文内容の要旨

#### [目的]

シュウ酸カルシウム結石の形成は1)品質の過飽和、2)結晶核形成、3)結晶成長・凝集、4)結石形成といったプロセスを経ている。結晶核形成と結晶成長・凝集の過程でシュウ酸カルシウム結晶と尿細管上皮細胞のinteractionは重要な因子の1つで、結晶が上皮細胞に付着し、endocytosisの後に細胞傷害が起こり、細胞傷害によりさらに結晶の上皮細胞への付着が促進され、結晶核形成と結晶成長・凝集を促進すると考えられている。(Crystal-Cell Interaction)

HGFは肝再生因子としてだけでなく腎、肺、胃、血管系など様々な組織、器官において再生因子、組織維持因子としての生理活性を持っている。そして腎尿細管上皮細胞に対しても増殖促進、遊走促進、形態形成誘導、抗アポトーシス、血管新生促進等の作用がある。これまでに In vitroにおいて、HGFが腎尿細管上皮細胞のアポトーシス抑制効果を示し、ラット急性尿細管壊死モデルにおいて HGFは尿細管修復に先立って速やかに誘導され、HGFの投与により尿細管再生を促進する事が報告されている。

そこでシュウ酸やシュウ酸カルシウム結晶による尿細管上皮細胞の傷害に対して HGFは、有効ではないか?また Crystal-Cell Interactionにおいても効果があるのではないか?といった点について注目し、検討を行った。

#### [方法]

- 1) シュウ酸、シュウ酸カルシウム結晶による細胞傷害およびアポトーシスに対する HGFの効果を検討した。MDCK 細胞を 6well culture dish で confluent になるまで培養し各濃度の HGF を投与し、シュウ酸カリウム溶液又は COM 結晶溶液を添加し、経時的に培養上清の LDH 値を測定、また細胞を回収しフローサイトメトリーで測定した。
- 2) 腎尿細管上皮細胞におけるシュウ酸カルシウム結晶の付着に対する HGF の影響を検討した。MDCK 細胞を 6 well culture dish に confluent になるまで培養し、種々の濃度の HGF とシュウ酸カルシウム結晶溶液を加え 15 分 incubate。細胞に付着していない結晶を除去し、細胞に付着している結晶を 6 規定塩酸溶液で溶解しカルシウム濃度を原子吸光分析で測定。結晶量を定量し、付着抑制活性を計算した。
- 3) ラット結石形成モデルにおける HGF による結石形成抑制効果に関する検討を行った。ラット結石形成モデルは

10週齢の雄性SDラットに0.5%EGを自由摂取、 $0.5\mu\text{g}$  vit. D3を隔日強制投与した。HGFの投与方法はプラスミドを前頸骨筋に筋注しelectroporationを行った。ラットは、次の3群に分けた。HGF(+)群：結石形成モデルにHGFの入ったプラスミドを投与、HGF(-)群：結石形成モデルにHGFの入っていないプラスミドを投与、ノーマルコントロール群。ラットは1日目にelectroporation、7日目に24h蓄尿施行後、屠殺し腎臓を摘出した。

#### [成績]

- 1) In vitroにおいてHGFはシュウ酸カリウム、シュウ酸カルシウムによる細胞傷害抑制作用を有することを確認した。
- 2) In vitroにおいてHGFには、シュウ酸カルシウムによるアポトーシスを抑制する傾向にあったが、シュウ酸カリウムによるアポトーシス抑制では有意差を認めなかった。
- 3) HGFによるシュウ酸カルシウム結晶付着抑制が認められた。
- 4) 結石形成ラットはHGF投与により体重減少、尿量増加、尿中シュウ酸、尿中Ca排泄量増加に抑制傾向を認めだが有意差は認めなかった。
- 5) 結石形成ラットはHGF投与により結石形成の抑制が認められた。
- 6) 結石形成ラットはHGF投与により尿細管細胞のアポトーシスを抑制する傾向にあった。

#### [総括]

以上の結果よりHGFはアポトーシス（細胞傷害）を抑制する事により結石形成を抑制する可能性が示唆された。今後HGFと結石形成に関連した作用機序に関しての更なる検討が必要であると考えられた。

### 論文審査の結果の要旨

尿路結石の治療は体外衝撃波結石破碎術を主とする外科的治療が中心であるが、最近、再発予防の重要性が認識されてきている。尿路結石の中心はシュウ酸カルシウム結石であり、再発予防の確立のためには、結石形成のメカニズムの解明が不可欠である。このメカニズムにおいてシュウ酸カルシウム結晶と腎尿細管上皮細胞による相互作用が重要な因子の一つであると考えられている。

本研究ではイヌの遠位尿細管細胞であるMDCK細胞を用い、HGFがシュウ酸やシュウ酸カルシウムによる細胞傷害、アポトーシスや細胞への結晶の付着を抑制し、ラット結石形成モデルにおいてもHGFが結石形成とアポトーシスを抑制することを明らかにした。そしてHGFが細胞傷害性アポトーシスを抑制することにより結石形成を抑制することが示唆された。

本研究がシュウ酸カルシウム結石の治療や予防に対して大いに貢献するものになると考えられ、学位に値するものと考えられる。