

尿酸カルシウム結石症における  
尿酸膜輸送機能異常に関する研究

研究課題番号 01570887

平成元年度科学研究費補助金  
(一般研究C) 研究成果報告書

平成5年3月

研究代表者 岡田裕作

(滋賀医科大学・泌尿器科学講座・助教授)



## はしがき

近年、尿路結石症の治療は各種の内視鏡的手技や体外衝撃波結石破碎法の発展とともに大きく変革した。しかし、その成因の多くは未だ不明な点が多い。過去、われわれの施行した尿路結石全国疫学調査で、全尿路結石のうち95%は上部尿路結石であり、その中でも蓚酸カルシウムを含有する結石は75%を占め大きくもっとも重要であることを明らかにしてきた。しかも、蓚酸カルシウム結石は、働き盛りの青・壮年層に罹患率、再発率とも高く、良性疾患とはいえ個人に与える苦痛は大きく、国家的にみてもその経済的損失は多大である。

結石形成の病態は、結石構成成分物質の代謝、結石促進因子、抑制因子の解析など種々の方面から検討されているが、いまだ十分な解明がされたとは言い難い。われわれは、蓚酸カルシウム結石形成過程で、蓚酸の代謝異常の果たす役割りはカルシウムに比較してもより大きいと報告されており、蓚酸代謝について特に取り上げた。

蓚酸代謝を考える上では、蓚酸の腸管上皮からの吸収、肝臓における蓚酸の産生機構にかかわる酵素系の問題、腎臓における蓚酸排泄が重要な意味を持つ。そのうちでも、腸管上皮や腎尿細管上皮の刷子縁の蓚酸輸送異常がその病態に深く関わっていることは十分に考えられる。しかし、どちらの上皮を利用するにしても刷子縁を得て蓚酸輸送異常をみる実験系はきわめて複雑であり、容易でない。1986年Baggioらは、蓚酸カルシウム結石患者において赤血球膜において蓚酸透過性の亢進があることを報告した。このことは、腸管上皮や腎尿細管上皮の蓚酸輸送異常が、同じ生体膜である赤血球膜にも表現されていることを示唆するものであった。本研究は、蓚酸カルシウム結石症の成因をこのような膜病としてとらえ、腸管上皮、腎尿細管上皮の刷子縁膜の代わりに、広く利用可能な赤血球膜を用いて、赤血球膜における蓚酸の輸送機能機構を検討した。しかし、今回の一連の研究では、当初の予想に反して期待された、一貫性のあるデータを得ることができなかった。ヒト赤血球膜を用いて物質の輸送機能を知ろうとする試みは、生理的条件の保持や測定の簡便化等、解決されるべき問題も多い。今後、分子生物学的アプローチを用いた解析に期待される。

終わりに本研究の文部省科学研究費補助金の助成に深謝する。

## 研究組織

研究代表者： 岡 田 裕 作 （滋賀医科大学・助教授）

## 研究経費

平成元年度	1, 0 0 0	千円
平成2年度	6 0 0	千円
平成3年度	3 0 0	千円
計	1, 9 0 0	千円

## 研究発表

### (1) 学会誌等

1. 西淵繁夫、岡田裕作、吉田 修：ラット腎刷子縁小胞における蓚酸の efflux および陰イオン交換による蓚酸輸送系の検討。日本腎臓学会誌 31:57-65, 1989.
2. 岡田裕作：尿路結石の疫学—特殊な尿路結石について—。泌尿器外科 3:939-944, 1990.
3. 竹内秀雄、岡田裕作、吉田 修、小西 平、友吉唯夫：尿酸水素アンモニウム結石の構築。泌尿器外科 2:491-496, 1989.
4. 吉田 修、岡田裕作、竹内秀雄：“腎・尿管結石”治療の進歩と問題点 本邦における尿路結石症の動向。治療 71:1479-1484, 1989.
5. 竹内秀雄、岡田裕作、吉田 修、新井 豊、友吉唯夫：結石にともなう尿路感染症 1. 尿路感染の意義について。泌尿紀要 35:749-754, 1989.
6. 竹内秀雄、岡田裕作、吉田 修、小西 平、友吉唯夫、中原正城：結石にともなう尿路感染症 2. 結石内感染に対する抗菌剤の効果について。泌尿紀要35:755-761, 1989.
7. 吉田 修、岡田裕作、竹内秀雄、松田公志、堀井泰樹：特集・体内結石 尿路結石 疫学的考察と治療の変遷。診断と治療 77:1925-1929, 1989.
8. 岡本圭生、岡田裕作、大石賢二、竹内秀雄、吉田 修：最近22年間の小児尿路結石症例についての臨牀的検討。泌尿紀要 35:1881-1886, 1989.
9. Osamu Yoshida, Yusaku Okada: Epidemiology of urolithiasis in Japan: a chronological and geographical study. Urol. Int., 45:104-111, 1990.
10. 井上 均、若林賢彦、小西 平、岡田裕作、竹内秀雄、友吉唯夫：腺腫と別腺に嚢腫を合併した原発性上皮小体機能亢進症の1例。泌尿紀要 36:1197-1202, 1990.

- 1 1 . 小西 平、国保昌紀、成田充弘、片岡 晃、新井 豊、岡田裕作、友吉唯夫：経皮的腎碎石術に合併し超選択的腎動脈塞栓術にて治癒した腎仮性動脈瘤の1例。 泌尿紀要37:1299-1302, 1991.
- 1 2 . Konishi T, Kushima M, Okada Y, Tomoyoshi T and Kojima O: Morphological and functional changes of the kidney after extracorporeal shock wave lithotripsy evaluated by computed tomography and <sup>99m</sup>Tc-DTPA scintigraphy. Jpn J Endourol ESWL 4:215-221, 1991.
- 1 3 . 竹内秀雄、松田公志、荒井陽一、岡田裕作、吉田 修：原発性上皮小体機能亢進症の臨床的検討－手術適応と手術手技についての考察－。 泌尿紀要 37:1191-1195, 1191.
- 1 4 . Mayumi Kushima, Taira Konishi, Eimei Tsuda, Tenyo Tsuda, Yusaku Okada, Tadao Tomoyoshi: Analysis of difficult renal and ureteral stone cases treated by extracorporeal shock wave lithotripsy monotherapy. Jpn. J. Endourol. & ESWL 5(1):67-72, 1992.
- 1 5 . Kohri K, Shikawa Y, Iguchi M, Kurita T, Okada Y, Yoshida O: Relationship between the incidence of infection stones and the magnesium-calcium ratio of tap water. J Urol, 1993 (発表予定)

## (2) 口頭発表

- 1 . 岡田裕作：尿路結石治療の統計的考察。  
第19回日本腎臓学会西部部会 ワークショップ、平成元年6月、大津市。
- 2 . 岡田裕作、堀井泰樹、竹内秀雄、吉田 修：わが国における尿路結石症の現況と変遷－Ca含有結石について。 第78回日本泌尿器科学会総会、平成2年6月14日、札幌市。
- 3 . 堀井泰樹、竹内秀雄、岡田裕作、吉田 修：わが国における尿路結石症の現況と変遷－尿酸結石。 第78回日本泌尿器科学会総会、平成2年6月14日、札幌市。
- 4 . 竹内秀雄、堀井泰樹、岡田裕作、吉田 修：わが国における尿路結石症の現況と変遷－Mg含有結石について。 第78回日本泌尿器科学会総会、

平成2年6月14日、札幌市。

5. 岡田裕作：日本における尿路結石症の変遷と疫学的検討．卒後・生涯教育プログラム、結石の再発予防をどうするか． 第78回日本泌尿器科学会総会、平成2年6月14日、札幌市。
6. 小西 平、國保昌紀、成田充弘、片岡 晃、新井 豊、岡田裕作、友吉唯夫：経皮的腎碎石術に合併し超選択的腎動脈塞栓術にて治癒した腎仮性動脈瘤の1例． 第134回日本泌尿器科学会関西地方会、平成2年9月8日、大阪市。
7. 小島 修、石田 章、小西 平、岡田裕作、友吉唯夫：ESWLに合併した腎被膜下血腫の4例． 第133回日本泌尿器科学会関西地方会、平成2年12月1日、高槻市。
8. 新井 豊、小西 平、岡田裕作、友吉唯夫、竹内秀雄：Ureaplasma urealyticumによるラット実験的膀胱結石． 第2回日本尿路結石症研究会、平成3年9月6日、三重縣長島町。

## 研究成果

尿酸カルシウム結石は、全尿路結石の2/3以上を占めるが、その病態はなお不明な点が多い。近年、尿酸の腸管上皮からの吸収異常、あるいは腎尿細管の腎刷子縁の輸送異常がその病態に深く関わっていることが明らかにされてきている。本研究は、尿酸カルシウム結石の成因を膜病(membrane disease)としてとらえ、腸上皮、腎尿細管上皮の刷子縁膜の代わりに、広く利用可能な赤血球膜を用いて赤血球膜における尿酸の輸送機能機構を検討するものである。

実験動物には雄ウィスター系ラットを用い、赤血球膜の分離精製法を検討した。Baggioらの方法(Baggio B et al.: New Engl J Med 314:599-604, 1986)では、赤血球膜内の諸物質に干渉を受ける可能性があるために、赤血球ghost cell作成を試みた。リン酸緩衝液下に洗浄後、50mOsm低張液中にて高速遠沈した後、pH7.4、摂氏30度にてre-ceilngさせghost cellを作り、その形態を蛍光顕微鏡下に観察し、良好なghost cellの形態を確認した。また、ブドウ糖を使い赤血球膜の安定性も確認した。われわれは、先のラット腎刷子縁膜小胞を用いた実験において、尿酸輸送は温度依存的に行われる部分と、温度非依存的に行われる部分があることを証明し、前者はcarrierを介した輸送機構であることを確認した。

そこで、上記の方法でghost化した赤血球膜においても同様な動態をとるものかをみるために、尿酸をはじめとする陰イオンの輸送(flux rate)につき、種々の条件下に検討した。まず、赤血球内外に陰イオン勾配(赤血球内Cl<sup>-</sup>イオン濃度>外Cl<sup>-</sup>イオン濃度)下における尿酸の取り込みを測定した。反応の終了は腎刷子縁膜小胞にて行った、millipore急速濾過法および遠心沈澱法にて行った。本法にてghost化した赤血球への尿酸の取り込みの測定は可能であるが、この実験手技では種々の修飾が加わり複雑な操作を要するために、臨床応用は困難と考えられた。

次にBaggioらの原法に準じてflux rateを測定してみた。本法では、より生理的条件下での尿酸輸送担体の機能測定が可能であるが、平衡定数を求めるために、最長24時間までの測定が必要である。手技を簡便化するために遠心沈澱法で赤血球をsolutionと分離することにより反応を終了させた。沈澱赤血球を直接シンチレーションカウンターにて比放射能を測定した。Solution中の尿酸量を同じく比放射能の測定により求め、別に測定した赤血球浮遊液のヘマトクリット値から、

赤血球内に取り込まれた尿酸量を算出した。

本実験の問題点は、反応速度が急速なため、0℃で実験を行う必要があり、目的とする尿酸輸送担体の機能が測定されていない可能性があること、採血から測定まで種々の環境、異なった条件で保存された赤血球を用いた実験では再現性のあるデータが得られないことが明らかとなった。

今回の一連の研究では、当初の予想に反して期待された結果が得られなかった。本領域のリーダーシップをとっているBaggioらのグループ、Menonらのグループいずれからも新しい知見の報告はない。

しかし、ヒト赤血球膜を用いて尿酸など諸物質の輸送機能を知ろうとする試みは、生理的条件の保持や測定の簡便化等、解決されるべき問題も多いが、分子生物学上避けては通れないものと思われる。

一方、エチレングリコールと合成活性型ビタミンDを用いたラット尿酸結石モデルによる結石発症の機序を電顕的観察により、経時的に追求したが、本モデルでは、実験開始第1週目より腎尿細管上皮の変化をみることが明らかになった。今後さらに、赤血球膜の尿酸輸送の変化もみられるか検討を要する。