

論文の内容の要旨

論文題目 結晶成長抑制に基づく新規腎臓結石治療法の開発

氏名 松浦 恭兵

腎臓結石 (Kidney stone, Renal stone) は尿路中に結石が生じる尿路結石の一つに分類され、その成因は多岐にわたる。生活習慣や食生活の急激な欧米化などの影響によって過去 50 年の間に男女ともに増加し、非常に高い頻度で発生している疾患である。日本国内においては、2005 年の全国疫学調査における年間罹患率が、腎臓結石が含まれる上部尿路結石症では 1965 年と比較すると約 3 倍に増加していた。また腎臓結石症の再発率は、初発から 5 年以内に最大で 50%とされており、こちらも非常に高い値で推移している。肥満、糖尿病、高血圧を伴うメタボリックシンドロームは結石形成の強いリスクファクターと考えられており、また結石患者は高血圧、急性腎障害 (AKI: Acute kidney injury)、慢性腎臓病 (CKD: Chronic kidney disease) などのリスクを抱えることとなる。

腎臓結石のうち、割合として約 80%がシュウ酸カルシウム (CaOx: Calcium Oxalate) やリン酸カルシウムおよびその混合物、10%がストルバイト、9%が尿酸、残りがシスチンや尿酸アンモニウムで構成されている。このうち CaOx は無水物、一水和物 (COM: Calcium oxalate monohydrate)、二水和物 (COD: Calcium oxalate dihydrate)、三水和物 (COT: Calcium oxalate trihydrate) の 4 つの形態をとりうるが、結石中においては熱力学的に安定である COM や COD が主に存在している。また結石自体の大きさとしては数 mm のものから 10 mm を超えるものまで大小様々であるが、基本的に小さな結晶は尿中へと自然に排出されるが、排泄されずに留まった結石がその後の疾患を引き起こす事となる。

生体内における結石の形成過程は以下のように考えられている。まず水分の再吸収などによって尿中において結晶構成物質の過飽和度が高まると、核形成が起こり、安定した結晶となり析出する。これが結石症としての最初のステップとなる。尿細管管腔内で析出した CaOx 結晶は腎尿細管上皮細胞の表面に付着し、その表面上で以下のような相互作用をすることが明らかになっている。まず、結晶自身による細胞への傷害や、過剰なシュウ酸負荷などによって、細胞表面上へ負に帯電した膜成分であるホスファチジルセリンなどが露出する。そこに付着した結晶が尿細管上皮細胞の内腔側に留まることで、凝集・成長が進み、最終的に結石として蓄積する。またこの際に一部の結晶は上皮細胞にエンドサイトーシスされ、リソソーム内で溶解されたり、基底膜表面にトランスサイトーシスされたりした後に、再び腎間質部分で結石生成の原因となることも確認されている。また、結晶の取り込みにより細胞が傷害を受け、上皮細胞が死滅し、細胞破片が放出されることで、結晶に付着し糊のような役割を果たす。そこへ結晶が更に付着していき、結果的に結石の成長

および形成が促進されることも少なくない。

このように、結石形成の過程では、尿中の過飽和生成以外にも、結晶の細胞への付着や、それに続く尿細管上皮細胞の損傷、および結晶の凝集・成長などがそれぞれ重要なプロセスであると考えられている。これらの各プロセスをターゲットとした治療法の開発は長きにわたって進められているが、レーザーや衝撃波を用いて結石を直接破砕する外科的・内視鏡的治療や、食生活および尿 pH の改善などを目的とした栄養指導以外に、腎結石の発生・再発を有効に防止し、結石を除去する医学的治療法は臨床に到達していないのが実情である。その結果、腎臓結石および関連疾患の年間治療費は、現在米国だけでも 20 億ドル以上となっており、日本も含めて各国で増加の一途をたどっている。このように当該領域において、新規治療法の開発は急務であると言える。そのような中で、本論文は腎臓結石症に対する複数の治療候補薬の中から高い効果が期待される治療候補薬 X を発見し、その腎結石病態に対する病態抑制メカニズムを明らかにしたものである。

本論文の実験ではグリオキシル酸 (Glyoxylic acid: GOx) を連日腹腔内投与することによって腎結石病態を誘導するマウスモデルを用いた。投与された GOx は肝臓内でシュウ酸へと代謝され、この過剰に産生されたシュウ酸がカルシウムと結合することで結石となる。本モデルは遺伝子欠損など特別な操作を必要としないものであり、2007 年に Okada らによって報告された。まず、本論文では先行研究から得られた知見を基に選定した各候補薬を用いて、腎結石病態を誘導したマウスに対して投与実験を行った。その結果、所定のタイムポイントにおける結石蓄積量を減少させ得る候補薬を複数見出した。その際、候補薬の投与による結石蓄積量の減少に伴って、腎臓での KIM-1 や NGAL などの尿細管傷害マーカーや、IL-1b、TNF- α 、IL-6 など炎症性マーカーの値が改善されていた。また各タイムポイントで採取した血清のクレアチニンや尿素窒素の値も投与群では改善が見られたことから、候補薬の病態に対する有用性が示された。

次に、そのうち最も病態抑制効果の高かった候補薬 X について、病態抑制メカニズムなどの解明を目的として更なる詳細な検討を行った。まず *in vitro* において CaOx 結晶を析出させる系を用い、その際に候補薬を添加することで結晶に変化が見られるかを確認した。その結果、特に候補薬 X が結晶成長の阻害効果を有していた。さらに、複数の候補薬の比較検討において、この *in vitro* で見られた結晶成長の阻害効果と、*in vivo* で見られた投与による病態抑制効果の程度は同傾向であった。それ故に、結晶成長の抑制という作用が生体内への候補薬投与による病態抑制に寄与していることが明らかになった。これまでに *in vitro* において結晶成長を抑制する物質の検討はなされていたが、その知見を臨床応用が可能な形で報告したケースは非常に少ない。

今回見出した候補薬 X は生体内において恒常的に発現が見られるタンパク質であり、治療薬として投与する際の毒性などのリスクは非常に小さいと考えられる。腎結石症の外科的治療後の再発予防薬としても応用可能であると考えられ、これまでに報告がなかった有望な新規治療薬となり得る物質である。その他にも期待される疾患治療への応用例として、

AGT (Alanine: glyoxylate aminotransferase) などの欠損により肝臓内にグリオキシル酸が蓄積する原発性高シュウ酸尿症が挙げられる。この疾患では過剰なシュウ酸産生によって腎臓を含む全身での結石沈着が起こるため、今回採用したマウスモデルはそのような病態を模したものと言える。症状の程度や進行の個人差は大きいですが、次第に腎臓内だけでなく全身に結晶沈着や石灰化が見られるようになり、腎臓においては末期の腎不全へと進行するリスクがある。治療法としては腎結石症と同様のものや肝臓の移植治療などが挙げられるが、依然として有望な新規治療薬は報告されていない。

腎結石症や先述した原発性高シュウ酸尿症を含む各腎疾患は進行によって末期の腎不全へと悪化するリスクを孕んでいるが、人工透析による治療へと移行した際には患者の QOL の著しい低下が起こるだけでなく、かかる医療費も増大する。そのため、個人の単位で考えた場合でも、国家という単位で考えた場合でも、予防から再発防止に至るまでの新規治療薬は非常に重要なものであると言える。このような観点からも、本論文によって明らかになった知見を基にし、腎結石症を含めた様々な疾患に対する創薬に向けて、今後の更なる発展が期待される。