

審査の結果の要旨

氏名 松浦 恭兵

腎臓結石症の患者は増加の一途を辿っているが、有望な新規治療薬は未だ開発されていない。本研究は腎臓結石症に対する新規治療法を提案するものであり、結晶成長の抑制による病態改善という臨床応用可能なメカニズムを明らかにした。

腎臓結石は尿路中に結石が生じる尿路結石の一つに分類され、食生活の急激な欧米化などの影響によって男女ともに増加し、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%と言われており、こちらも非常に高い値で推移している。

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。結石自体の大きさとしては数mmのものから10mm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、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として、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。析出したCaOx結晶は腎尿細管上皮細胞の表面に付着し、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シュウ酸負荷などによって、細胞表面上へ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、そこへ結晶が更に付着していき、結果的に結石の成長・蓄積が促進されることも少なくない。

このような結石形成における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。

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。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-a、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晶沈着が起こるため、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、次第に腎臓内を含む全身に結晶沈着や石灰化が起こり、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移植などが挙げられるが、こちらも依然として有望な新規治療薬は報告されていない。

このような各腎疾患は進行によって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。

よって本論文は博士 (医学) の学位請求論文として合格と認められる。