

機関番号：23903

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2010

課題番号：21791522

研究課題名（和文） メタボリックシンドロームから見た尿路結石形成機序の解明とPPAR作動薬の予防効果

研究課題名（英文） Mechanism of urinary stone formation approach by PPAR agonists and metabolic syndrome.

研究代表者

小林 隆宏 (KOBAYASHI TAKAHIRO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号：90534743

研究成果の概要（和文）：結石形成モデルラットにおいて、PPAR γ 投与群ではコントロール群より結石形成抑制効果が認められた。OPN、MCP1、CD68 といった結石・炎症関連遺伝子の発現は低下しており、酸化ストレス関連遺伝子であるSODの発現は上昇していた。尿中シュウ酸・クエン酸の排泄量や、APNの発現に差は見られなかった。

PPAR γ 作動薬はシュウ酸代謝に働いて結石形成を抑制するのではなく、抗酸化作用により結晶形成を抑制することが示唆された。

研究成果の概要（英文）：In lithiasis model rats, urolithiasis suppressant effect was accepted from control group in the PPAR γ administrated group. The expression of gene OPN, MCP1 and CD68 decreased, and the expression of the SOD rose. The difference was not seen in quantity of excretion citrate and urinary oxalic acid.

It was concern that PPAR γ agonist reduced urolithiasis by antioxidant action.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2010年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科学

キーワード：尿路結石、メタボリックシンドローム、高脂肪食、脂質代謝改善薬

1. 研究開始当初の背景

【尿路結石の疫学と予防】

2005年のわが国の全国疫学調査では、尿路結石症の生涯罹患率は、わが国では100人

中10人にも達し、この40年間で発生頻度が約3倍までも増えたことが報告され、今後も増加の一途をたどると予想される。しかし予防薬として認可されているものは、酸化マグ

ネシウムとクエン酸製剤のみであり、尿路結石の成因の解明と予防薬の開発は急務である。

【尿路結石とメタボリックシンドロームの関連】

前述の疫学調査における尿路結石の罹患率調査では、尿路結石症と脂質代謝との関係に興味深いデータが認められる。国民栄養調査から得られた肥満および中性脂肪・コレステロールの性差別年齢分布は、尿路結石の罹患率と高い相関を示す。結石モデルラットに高脂肪食を摂取させる研究では、肥満化により結石形成が明らかに促進され、また血清アディポネクチンが低下した。CTにより尿路結石症患者と健常者の腹部大動脈石灰化をスコア化し比較した結果、若年男性と高齢女性において結石患者の石灰化が有意に多かった。

【尿路結石形成に対するメタボリックシンドローム治療薬の効果】

私たちの研究では、結石マトリックスの主成分であるオステオポンチン(OPN)が、結石形成に重要であることを見いだしており、また結石形成にはOPNを介したマクロファージの関与が示唆されている。

動脈硬化やメタボリックシンドロームにおいて、OPN発現を介したマクロファージによる微小炎症が存在しており、この炎症がインスリン抵抗性に影響を与えていると考えられている。メタボリックシンドローム治療薬であるPPAR作動薬は、マクロファージに作用して血漿中のOPN濃度の低下を引き起こすことや、尿中pHを上昇させることが確認されており、尿路結石形成に対し、抑制的な影響を与えることが期待される。

2. 研究の目的

メタボリックシンドローム治療薬であるPPAR作動薬が尿路結石形成に及ぼす影響を、

尿路結石形成モデル動物を使用して解析するとともに、PPAR作動薬が尿路結石予防薬となりうるかについて、そのメカニズムの解明とともに検証する。

3. 研究の方法

2009年度

8週齢・雄SDratを、コントロール群、1%エチレングリコール(EG)群、1%EG+PPAR α (fenofibrate 30mg/kg/day)群、1%EG+PPAR γ (pioglitazone 10mg/kg/day)群、1%EG+PPAR α +PPAR γ 群の4群とした(N=6)。EGは自由飲水とし、fenofibrate、pioglitazoneは経管投与を行った。14, 28日目にsacrificeし、採血、採尿を行い、結晶を観察した。

2010年度

8週齢のSDラットをコントロール群、EG群(1%エチレングリコール自由飲水)、EG+PGZ群(エチレングリコール自由飲水+ピオグリタゾン10mg/kg/day投与)に分け、投与7, 14, 28日目に腎組織・血液・24時間尿の採取をした。

結石形成の評価：偏光顕微鏡による結石形成量の計測と、Pizzolato染色による観察を行った。

血液・尿生化学：血中及び24時間尿生化学を調べ比較した。

関連遺伝子の検討：免疫組織染色と定量RT-PCRにて、結石・炎症関連遺伝子(OPN・MCP-1)、酸化ストレス関連遺伝子(SOD)、脂質代謝関連遺伝子(APN)の発現評価を行った。

4. 研究成果

2009年度

EG群に比べてEG+PPAR α 群では腎尿細管管腔内へのCaOX結晶沈着は促進し、EG+PPAR γ 群では抑制された。EG+PPAR α +PPAR γ 群はEG+PPAR α とEG+PPAR γ 群の間であったが、

結晶沈着の促進作用が強かった。EG+PPAR α 群では投与初期の尿中シュウ酸排泄が増加した。EG+PPAR γ 群はEG群に比べオステオポンチンの発現は低下し、抗酸化作用の亢進を認めた。

2010年度

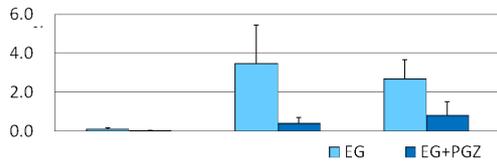


図1 結石形成 左から7,14,28日目EG群に比べEG+PGZ群では著明に結石形成の抑制が認められた。(図1)

PPAR γ 投与群ではpizzolato染色にて、EG群と同様に結晶は腎皮髄境界部の尿細管腔内に観察されたが、集塊は小さく、周囲に細かな結晶が散在していた。(図2)

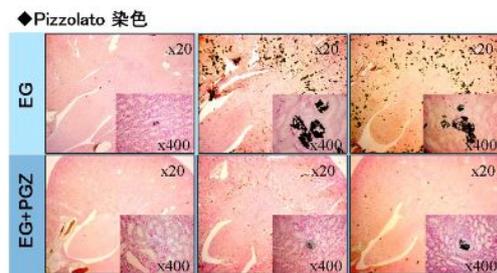


図2 腎臓における結石形成 (pizzolato染色)

左から7,14,28日

さらにPPAR γ 投与群ではOPN、MCP1、CD68といった結石・炎症関連遺伝子の発現は低下しており、酸化ストレス関連遺伝子であるSODの発現は上昇していた(図3、4)。しかし、尿中シュウ酸・クエン酸の排泄量や、APNの発現に差は見られなかった。

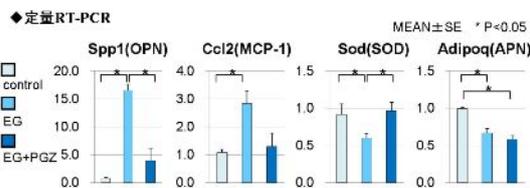


図3 腎組織における各種遺伝子発現(RT-PCR)

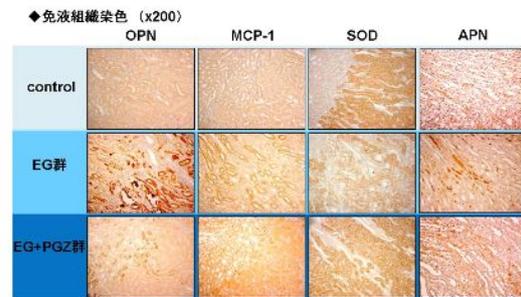


図4 腎組織における各種免疫染色

PPAR γ は、NF- κ B・AP-1・STATといったシグナル伝達経路による炎症反応を抑制する働きを持つといわれており、PPAR γ の活性化により、ヒト末梢血中の単球が抗炎症作用を持つM2マクロファージに分化するとも言われている。

今回の結果ではPGZの投与により炎症関連遺伝子であるOPNやMCP-1の発現が低下していた。

シュウ酸や脂質代謝での有意差は認められず、直接的に抗炎症・抗酸化作用をもたらし、結石形成を抑制したと考えられた。

◆Effect of PPAR γ activation around renal tubular cells

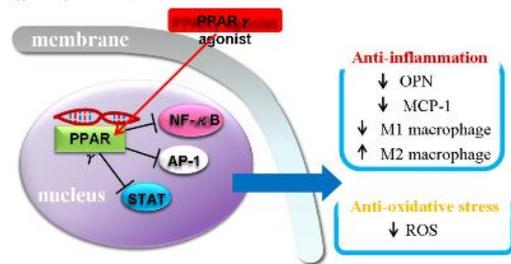


図5 腎尿細管におけるPPAR γ 作用模式図以上のことよりPPAR γ 作動薬はシュウ酸代謝に働いて結石形成を抑制するのではなく、抗酸化作用により結晶形成を抑制することが示唆された(図5)。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者に

は下線)

〔雑誌論文〕(計2件)

- ① 小林 隆宏 : PPAR作動薬はサブタイプにより腎へのシュウ酸カルシウム結晶沈着に対する効果が異なる 日本泌尿器科学会誌 査読無 101:463, 2011
- ② Kobayashi Takahiro : The Mechanism of Renal Stone Formation and Renal Failure Induced by Administration of Melamine and Cyanuric Acid. Urol Res. 査読有 38:117-125, 2010

〔学会発表〕(計2件)

- ① 小林 隆宏、岡田 淳志、安井 孝周、伊藤 恭典、戸澤 啓一、郡 健二郎 : PPAR 作動薬はサブタイプにより腎へのシュウ酸カルシウム結晶沈着に対する効果が異なる。第 53 回日本腎臓学会学術総会、2010.6.16-18、神戸市
- ② 小林 隆宏、岡田 淳志、藤井 泰普、新美 和寛、濱本 周造、広瀬 真仁、伊藤 恭典、戸澤 啓一、郡 健二郎 : PPAR 作動薬はサブタイプにより腎へのシュウ酸カルシウム結晶沈着に対する効果が異なる。第 98 回日本泌尿器科学会総会、2010.4.27-30、盛岡市

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小林 隆宏 (KOBAYASHI TAKAHIRO)

名古屋市立大学・大学院医学研究科・研究員

研究者番号 : 90534743