UP-397 MDCK細胞を用いたシュウ酸結石形成の試み

浜松医大 医学部 泌尿器科¹⁾

大田原 佳久¹⁾ 影山 慎二¹⁾ 高山 達也¹⁾ 鈴木 和雄¹⁾
藤田 公生¹⁾

【方法】我々は、MDCK細胞の長期培養で細胞基底側にリン酸カルシウム結石が産生されることを報告してきた。今回、ヒト腎結石モデルとしてのシュウ酸結石の形成が、本細胞培養により産生されるかどうかを検討した。【材料と方法】MDCK細胞をコラーゲンマトリックス上に単層培養し、標準培地のイーグルMEM培地に各種濃度のアスコルビン酸、シュウ酸およびシュウ酸カルシウム結晶をそれぞれ加え、2ヶ月以上、同一シャーレ上で2～3日毎に培地を交換して培養を行った。【結果】アスコルビン酸添加培地においては、通常のpH7.2では本剤の結晶の析出が見られ、形成された結石はリン酸カルシウムであった。シュウ酸添加群では0.01mMでも細胞の毒性がみられ、細胞の変性が強く、結石は形成みられなかった。シュウ酸カルシウム結晶添加群では、細胞上に多くの結晶を見ることができたが、基底側に産生された結石はリン酸カルシウムであった。【考案・結語】今回の実験ではシュウ酸カルシウム結石の前駆物質であるアスコルビン酸、直接成分であるシュウ酸、MDCK細胞が取り込みするとされるシュウ酸カルシウム結晶を用いて、シュウ酸結石の産生を試みたが、本各条件ではシュウ酸結石の産生は見られなかった。今後さらにシュウ酸結石産生条件の設定の検討が必要であると考えられた。

MDCK細胞 シュウ酸結石 結石形成

UP-398 蓚酸カルシウム結石形成における細胞-結晶間相互作用のin vivo実験に適したモデルの検討

旭川医科大学 医学部 泌尿器科¹⁾

ウィスコンシン医科大学 医学部 内科²⁾

山口 聡¹⁾ 奥山 光彦¹⁾ 八竹 直¹⁾ Wiessner John H.²⁾

Hasegawa Andrew T.²⁾ Mandel Neil S.²⁾

【目的】尿路結石に関わる種々の結晶と腎上皮細胞の相互作用は、主に腎細胞培養系を用いた*in vitro*の実験で検討されている。従来、広く行われている蓚酸カルシウム結石誘発実験は、腎結石形成を主な目的とするため、腎細胞への障害が必発である。われわれは、これらの実験系を見直し、結晶-細胞間相互作用の*in vivo*実験に適した条件を検討した。【方法】実験1；Ethylene Glycol(EG) + NH₄Cl(1.0%)、実験2；EG単独（EG濃度は、各々の実験で0.1, 0.2, 0.4, 0.8 vol.%に設定）をそれぞれ6週齢SDラットに投与した。投与期間別に、各種尿・血液生化学検査、尿pH、尿中蓚酸カルシウム結晶形成の有無、腎組織内蓚酸カルシウム結晶（結石）沈着の有無を検討した。【結果】実験1；EG濃度と投与期間に依存して、尿中蓚酸排泄量、蓚酸カルシウム結晶形成と腎内蓚酸カルシウムの沈着は増加、平行して腎障害が進行した。実験2；実験1に比し、尿中蓚酸動態の変化は全体に軽度で、腎障害はほとんど認めなかった。【考察】EG濃度や投与期間を工夫することにより、尿中に蓚酸カルシウム結晶のみが出現し、腎細胞への障害を最小限に抑制した実験系の確立は可能と考えられた。

蓚酸カルシウム結石 結晶-細胞間相互作用 実験モデル

UP-399 蓚酸カルシウム結石形成ラット腎臓におけるBikuninおよびHSPG (syndecan)の発現について

久留米大学 医学部 泌尿器科学教室¹⁾

江口 善朗¹⁾ 井上 通朗¹⁾ 松尾 光哲¹⁾ 飯田 如¹⁾ 松岡 啓¹⁾
野田 進士¹⁾

【目的】Heparan sulfate (HS)およびbikuninは強力なCaOx結晶凝集阻止物質として知られている。われわれは、HS proteoglycan (HSPG)である syndecan、および bikunin がラット腎臓に発現すること、蓚酸結石形成ラットの腎臓において有意に各々の発現の亢進が見られることを報告してきた。今回、それらの発現の局在を知る目的で以下の検討を行った。【材料と方法】1) 正常飼育ラット、蓚酸結石形成食による飼育1週および2週のラット腎（結石群）より髓質と皮質をわけて採取し、それぞれについてmRNAを抽出後に Quantitative competitive PCR を行いそれぞれの発現量を比較検討した。2) 上記のラットそれぞれの腎臓を免疫染色しsyndecanとbikuninの発現の局在を検討した。【結果とまとめ】髓質が皮質に比して蛋白レベル・mRNAレベルともに有意に syndecan、bikuninの発現が亢進していた。これらの傾向は結石群1週目より2週目で顕著であった。結石介在部位周囲の尿細管に一致して syndecan と bikuninの発現の亢進が認められ、結石形成に関連してこれらの発現亢進が起こっていることが推察された。

蓚酸カルシウム結石 Bikunin HSPG

UP-400 尿中結石形成関連因子の重複の検討

稲城市立病院 泌尿器科¹⁾ 東海大学東京病院²⁾ 東海大学³⁾

松崎 章二¹⁾ 松下 一男²⁾ 渡辺 聡²⁾ 臼井 幸男³⁾ 恩田 一³⁾

【目的】高カルシウム尿、高蓚酸尿、低クエン酸尿、低マグネシウム尿、高尿酸尿は重要な尿中結石形成関連因子である。これらの因子は重複して存在することがあり、これらの因子の重複について検討した【対象】対象は尿路結石患者116名（男性95名、女性21名、48.3±13.2歳）で、24時間尿中の蓚酸、クエン酸、マグネシウム、尿酸、カルシウム排泄量を測定した。【結果】検査数は1095回、一人平均9.5回であった。高カルシウム尿の頻度は重複を含めて0.306、高蓚酸尿0.536、低クエン酸尿0.353、低マグネシウム尿0.279、高尿酸尿0.252であった。二因子が重複する頻度は平均0.06で、高蓚酸尿と高カルシウム尿の重複の頻度が最も多く、0.086であった。三因子が重複する頻度は平均0.02で、高蓚酸尿と高カルシウム尿と高尿酸尿の重複が最も多く、0.053であった。四因子が重複する頻度は平均0.01で、高蓚酸尿と低クエン酸尿と高カルシウム尿と高尿酸尿の重複が最も多く、0.022であった。五因子の重複の頻度は0.007であった。【考察】尿中結石形成関連因子の重複では、高蓚酸尿と他の因子が重複する例が多かった。高蓚酸尿の頻度が他の因子に比べて、極めて多いことが原因と考えられた。

尿中結石形成関連因子 重複