

| | |
|---------------|---|
| 氏 名 (本 籍) | 木 崎 徳 |
| 学 位 の 種 類 | 医 学 博 士 |
| 学 位 記 番 号 | 医 第 9 7 0 号 |
| 学 位 授 与 年 月 日 | 昭 和 5 2 年 2 月 2 3 日 |
| 学 位 授 与 の 要 件 | 学 位 規 則 第 5 条 第 2 項 該 当 |
| 最 終 学 歴 | 昭 和 4 4 年 3 月 東 北 大 学 医 学 部 医 学 科 卒 業 |
| 学 位 論 文 題 目 | 尿 路 結 石 形 成 に 関 す る 尿 中 α_1 -globulin 領 域 の 蛋 白 の 役 割 に つ い て 特 に 血 清 α_1 Globulin 領 域 の 蛋 白 の CaCO_3 凝 集 効 果 |

(主 査)

論 文 審 査 委 員 教 授 石 田 名 香 雄 教 授 吉 沢 善 作

教 授 佐 藤 寿 雄

論文内容要旨

尿路結石の発生因子については幾多の報告がなされているが、その発生機序についての報告は皆無に等しい。今回、私は正常ヒト血清を用いて、硫酸分画及びDEAE-Cellulose Columnによる分画にて得られた各画分が、 CaCO_3 Suspensionに及ぼす沈降、凝集及び ζ -Potentialの変動の面から検討し、特に α_1 Globulinの領域の蛋白が、尿路結石の発生に及ぼしている役割についてのモデル実験を行なった。

先ず、硫酸分画については、正常ヒト血清280mlに、最終濃度が10%、20%、30%になるように硫酸を加え、それぞれの濃度で得られた沈澱を順に画分1、画分2、画分3とし、30%硫酸加の上清より得られた画分を画分4とした。また別の血清280mlを用いて、34%になるように硫酸を加えて沈澱を起こしたものの上清について、50%及び68%硫酸飽和にて得られた画分を、それぞれ画分5及び画分6として、各画分について、 CaCO_3 Suspension粒子の沈降及び ζ -Potentialの変動について測定した。その結果、画分4が最も低濃度で、沈澱及び ζ -Potentialの変化を起こしたので、さらに画分4について、DEAE-Cellulose Columnによる分画を行ない、 P_1 、 P_2 、 P_3 及び P_4 の4つの画分を得た。この4つにつき、同じように測定したところ、 P_3 が最も低濃度で沈降及び ζ -Potentialの変化が認められた。すなわち、 CaCO_3 Suspensionに及ぼす凝集効果は、 P_3 が最も強いことが判明したので、 P_3 に含まれる蛋白の同定のためCellulose Acetate膜を用いて電気泳動を行ない、Amido Black 10B染色を行なったところ、Albumin及び α_1 Globulin領域に一致する蛋白を同定し得た。また、別のこれにPSA染色を施したところ、 α_1 Globulin領域に、薄くではあるが、PAS陽性が認められた為、シアロ糖蛋白の存在が疑われた。また、 P_1 、 P_2 、 P_4 の電気泳動では、 P_1 は γ Globulin領域の蛋白で CaCO_3 に及ぼす凝集効果は殆んどなく、 P_2 は β Globulin領域の蛋白で凝集効果は弱く、 P_4 はAlbuminを主体とする領域の蛋白で凝集効果は P_3 に次いだが、当教室木村と共に以前に行なった牛血清Albuminとほぼ同様の成績を得たので、これはAlbuminによる凝集と思われた。

Albuminは直鎖状の構造を持つため、 CaCO_3 の凝集は理解できるが、 α_1 Globulinは球状の構造を有するとされ、この凝集が α_1 Globulin単独で示されるものか、Albuminとの共存で、はじめて示されるものかについては今後検討したい。

次に、臨床面から検討すると、腎疾患時及び正常者にも尿中蛋白は証明されているが、腎疾患時は相対的にAlbuminの排泄量が多いことが知られている。ところが、非感染性の尿路結石患者の尿中には α_1 Globulinが多量に排泄されるとするBoyceの報告がみられる。それによれば、尿中 α_1 Globulin濃度は 5×10^{-4} %ないし 10^{-4} %となり、今回の私の実験成績とよく一致する。しかし、尿中蛋白は血清由来とは言え、血中の蛋白と全く同一ではないかも知れないが、尿路結石の発生には、これら尿中の蛋白が多大の関与をしているものと考えられた。

審査結果の要旨

尿路結石の発生に関してはmatrix substanceと呼ばれる尿中有機物が尿中 colloid に作用して、その表面電位 (ζ -potential として測定し得る)を低下させることより、凝集が起り、この凝集、沈降したものに適当な運動エネルギーが附加された時に凝塊が形成され、これが核となって結石が形成されていくとの説が有力である。

このようなmatrix substanceとなり得る尿中排泄物のうち、これまで主として酸性ムコ多糖類が注目されてきた。しかし、尿中排泄物のうち、albuminなどの蛋白も弱いながらも凝集作用をもつことが知られている。

本論文はこのような尿中蛋白が尿路結石の発生にどのような役割をもつかを、血清蛋白を分画し、得られた各画分の尿中 colloid に対する凝集、沈降能力を炭酸カルシウム suspension 液の sedimentation rate および ζ -potential にて測定し、結石形成に強く作用している蛋白を検索したものである。

実験材料としては正常ヒト血清を用いて、まず硫酸分画を行った。最終濃度が10, 20, 30%になるように硫酸を加えた際の沈澱と30%硫酸加の上清より、それぞれ画分を得、さらに別の血清にて50%飽和、68%飽和の硫酸分画を行い、それぞれの画分を得た。これらの粗分画の蛋白画分をCaCO₃ suspensionに加えた際の sedimentation rate の亢進と ζ -potential の変化についてみると、30%硫酸を加えた際の上清より得られた画分が最も低い濃度で sedimentation rate の亢進と ζ -potential の低下が起り、この画分が最も凝集、沈降作用が強いことが判明した。そこでこの画分をDEAE, cellulose column にて再分画し、この中に含まれるどの種類の蛋白がこのような作用をもつか検討した。この画分をDEAE cellulose columnに加えた後、0.01M, 0.05M, 0.1M phosphate buffer および 0.1M phosphate buffer+0.1M NaCl 溶液で、この順に溶出すると、4つの画分に明らかに分画される。それらを溶出された順にP₁, P₂, P₃ および P₄ と名付け、CaCO₃ suspension の sedimentation rate および ζ -potential に対する作用をみると、P₃ が最もその作用が強く、P₄ がこれについだ。P₁, P₂ は殆んどCaCO₃ suspension に対して凝集、沈降作用を示さなかった。

そこでこれらの画分がいかなるものか cellulose acetate 膜にて電気泳動して検討した。P₁ は γ -globulin 領域の蛋白のみであり、P₂ は β -globulin 領域の蛋白が主体であり、これらの蛋白はCaCO₃ suspension に対する凝集作用は殆んどなく、結石形成には殆んど関与していないと考えられた。P₃ および P₄ には明瞭な albumin の存在が認められた。P₃ には著明な α_1 -globulin 領域の蛋白の存在が認められた。これらの成績は α_1 -globulin 領域の蛋白あるいは albumin と α_1 -globulin 領域の蛋白の共存によって強力な凝集作用を示すものと考えられた。したがって本論文は尿中 α_1 -globulin 領域の蛋白が尿路結石発症の重要な因子であることを実験的に示したものであり、充分学位授与に価するものと考えられる。