

医論第184号

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Oxalate synthesis from hydroxypyruvate in vitamin-B6-deficient rats  
(ビタミン B6 欠乏ラットにおけるヒドロキシピルビン酸からのシュウ酸代謝)

氏名 Yaovolak Teerajetgul 印

## 論文要旨

【目的】 ビタミン B6 欠乏食で飼育したラットを対象に、ヒドロキシピルビン酸を静脈投与し、内因性シュウ酸産生に関する研究をしました。

【方法】 雄性ウイスターラット 12 匹を無作為に 2 群に分け、コントロール食あるいはビタミン B6 欠乏食にて 3 週間飼育しました。ラットを静脈麻酔下に、尿量が充分確保できるように輸液をし、ヒドロキシピルビン酸 100 mg (960.6  $\mu$  mol) を 10 分間で静脈投与し、尿サンプルを静脈投与直前と投与 5 時間後まで 1 時間ごとに採取しました。尿中シュウ酸、グリコール酸、クエン酸などを、キャピラリー電気泳動で測定しました。

【結果・考察】 コントロール食とビタミン B6 欠乏食の両群とも、ヒドロキシピルビン酸投与後に尿中シュウ酸排泄は 2 時間でピークに達し、尿中グリコール酸の排泄は 1 時間でピ

ークに達しました。尿中シュウ酸とグリコール酸の時間毎の排泄量は、コントロール食群よりビタミンB6欠乏食群で高値を示しました。投与後5時間の尿中シュウ酸とグリコール酸の排泄量は、コントロール食群で、ヒドロキシピルビン酸の投与量 ( mol/mol ) の 0.68% ( 6.56  $\mu$  mol ) と 0.53% ( 5.10  $\mu$  mol ) 増加し、ビタミンB6欠乏食ラット群では投与量の 2.43% ( 23.36  $\mu$  mol ) と 0.79% ( 7.59  $\mu$  mol ) 増加しました。尿中クエン酸の時間毎排泄量は、コントロール食群よりビタミンB6欠乏食群でベースラインおよび全ての時間で著しく低値を示しました。結論として、ヒドロキシピルビン酸投与により尿中のグリコール酸とシュウ酸の排泄が増加し、ビタミンB6欠乏食群のシュウ酸排泄はコントロール食群の3.6倍と著明な増加を示した。これはグリオキシル酸解毒酵素であるアラニン:グリオキシル酸アミノ基転移酵素 (AGT) はビタミンB6を補酵素とするために、その欠乏状態ではグリオキシル酸をグリ

シンに解毒できないので、グリオキシル酸が LDH によりシュウ酸に代謝され、その産生が増加する。シュウ酸の前駆物質として知られるヒドロキシプロリンは、ミトコンドリアでグリオキシル酸に代謝され、グリコール酸の増加をともなわないでシュウ酸が増加する。ヒドロキシピルビン酸は肝細胞においてグリコール酸に代謝され、グリコール酸がペルオキシゾームに取り込まれて、グリオキシル酸となるため、グリコール酸の増加をともなう。また、ビタミン B6 欠乏群は著しい低クエン酸尿を呈する。この過シュウ酸尿と低クエン酸尿が結石形成の原因として重要な意味を持つと考えられる。

平成 19 年 12 月 7 日

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	Yaovalak Teerajetgul
論文審査委員	審査日	平成 19 年 12 月 7 日	
	主査教授	石川 元	印
	副査教授	苅谷 研一	印
	副査教授	植田 真一郎	印
(論文題目)			
OXALATE SYNTHESIS FROM HYDROXYPYRUVATE IN VITAMIN B6-DEFICIENT RATS (ビタミン B6 欠乏ラットにおけるヒドロキシピルビン酸からの シュウ酸産生について)			
(論文審査結果の要旨)			
上記の論文について慎重に審査を行い、次のような結果を得た。			
研究の背景と目的			
シュウ酸カルシウムが尿路結石成分の中では最も多く、尿路結石患者の多くは明らかな代謝異常を示さず、生活習慣がその原因と考えられている。尿中にシュウ酸排泄が多い(過シュウ酸尿)と、シュウ酸カルシウム結石が形成され易い。また、経口摂取されるシュウ酸前駆物質が体内でシュウ酸に代謝され、その尿中排泄に重要な影響を及ぼすことが知られている。シュウ酸の前駆物質であるグリオキシル酸は肝細胞のアラニン:グリオキシル酸アミノ基転移酵素 (AGT) の働きによりグリシンへと代謝されるが、その際に補酵素としてビタミン B6 を必要とし、ビタミン B6 欠乏状態では過シュウ酸尿になり易いことが知られている。本研究では、それを検証するために、ビタミン B6 欠乏食で飼育したラットを対象に、シュウ酸前駆物質であるヒドロ			

キシピルビン酸を静脈投与後のシュウ酸産生に関して研究した。

#### 研究内容

雄性ウィスターラット 12 匹を無作為に 2 群に分け、コントロール食あるいはビタミン B6 欠乏食にて 3 週間飼育した。ラットを静脈麻酔下に、尿量が充分確保できるように輸液をし、ヒドロキシピルビン酸 100 mg (960.6  $\mu$  mol) を 10 分間で静脈投与し、尿サンプルを静脈投与直前と投与 5 時間後まで 1 時間ごとに採取した。尿中シュウ酸、グリコール酸、クエン酸などを、キャピラリー電気泳動で測定した。その結果、コントロール食とビタミン B6 欠乏食の両群とも、ヒドロキシピルビン酸投与後に尿中シュウ酸排泄は 2 時間でピークに達し、尿中グリコール酸の排泄は 1 時間でピークに達した。尿中シュウ酸とグリコール酸の時間毎の排泄量は、コントロール食群よりビタミン B6 欠乏食群で高値を示した。投与後 5 時間の尿中シュウ酸とグリコール酸の排泄量は、コントロール食群で、ヒドロキシピルビン酸の投与量 (mol/mol) の 0.68% (6.56  $\mu$  mol) と 0.53% (5.10  $\mu$  mol) 増加し、ビタミン B6 欠乏食ラット群では投与量の 2.43% (23.36  $\mu$  mol) と 0.79% (7.59  $\mu$  mol) 増加した。尿中クエン酸の時間毎排泄量は、コントロール食群よりビタミン B6 欠乏食群でベースラインおよび全ての時間で著しく低値を示した。

#### 研究成果の意義と学術的水準

申請者はキャピラリー電気泳動法による尿中シュウ酸とその関連物質を経時的に詳細に測定した。ビタミン B6 欠乏食をラットに与えることで過シュウ酸尿を呈する再現性の良いラットのモデルを作製した。本研究では、ヒドロキシピルビン酸 100 mg 静脈投与により尿中のシュウ酸とグリコール酸の排泄が増加し、ビタミン B6 欠乏食群のシュウ酸排泄量はコントロール食群に比較して、シュウ酸は 3.6 倍、グリコール酸は 1.5 倍と著明な増加を示した。これはグリオキシル酸解毒酵素であるアラニン:

グリオキシル酸アミノ基転移酵素(AGT) がビタミン B6 を補酵素とするために、その欠乏状態ではグリオキシル酸をグリシンに解毒できないので、グリオキシル酸が LDH によりシュウ酸に代謝され、シュウ酸産生が増加すると考えられた。一方、シュウ酸の前駆物質として知られるヒドロキシプロリンは、ミトコンドリアでグリオキシル酸に代謝され、グリコール酸の排泄増加をともなわないでシュウ酸が増加すると報告されている。これとは明確に異なり、ヒドロキシピルビン酸は肝細胞においてグリコール酸に代謝され、グリコール酸がペルオキシゾームに取り込まれ、グリオキシル酸となるため、グリコール酸の尿中排泄増加をともなう。また、ビタミン B6 欠乏群は著しい低クエン酸尿を呈することを確認した。この過シュウ酸尿と低クエン酸尿が結石形成の原因として重要な意味を持つと考えられる。これらの結果は、結石形成のメカニズムと予防を考える上で重要であり、国際的に評価できるものと考えられる。

以上により、本研究は学位授与に十分に値するものであると判断した。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A4とし縦にして左横書きとすること。
  - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。