

尿石症の成因に関する研究

第II編 実験的異物結石について

京都大学医学部泌尿器科学教室（主任：稲田 務教授）

助手 松 尾 光 雄

BASIC STUDIES ON THE CAUSE OF UROLITHIASIS

II EXPERIMENTAL FOREIGN BODY STONE FORMATION

Mitsuo MATSUO

*From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyoto University**(Director : Prof. T. Inada, M. D.)*

Using various nuclei, observations were made on formation of calculi. The results are summarized as follows.

1) *In vitro* experiments proved to produce stones by dipping nuclei into urine. The nuclei dipped in urine of patients with urolithiasis crystallized salt more markedly than in urine of normal subjects.

2) *In vivo* studies of foreign body bladder stone showed that crystallization varied with nature of the used nuclei. Crystallization was hardly occurred especially with siliconized nuclei. As sex difference, male animals produced larger and more crystalline calculi than females, of which cause was supposed to be attributed to anatomical difference the lower urinary tract. In addition, increase in urinary stream was proved to act as inhibition of calculus formation.

結 言

尿石症の成因に関する実験的研究としては第I編においても考察を行なった様に多岐にわたる種々の方法が述べられている。私は前編では特に Vitamin D, 蔞酸, Carbonic Anhydrase Inhibitor の投与によって腎に石灰沈着を形成し、その機序について生化学的ならびに組織化学的研究を行ない、結石の核形成との関連性において若干の考察を加えた。さらに本編では形成された核が如何なる過程によって結石まで成育するかとの点について基礎的研究を行なったので報告する。

まず *in vitro* においてラット尿、正常人尿、尿石尿の中に各種の核を浸漬して、核表面の結晶付着状態、結石成育の様相を観察して、各尿

における各種核の成績を比較検討したところ特に核物質表面の性状と結石発育との間に興味ある結果を見出した。また正常人尿と尿石尿との間にも明らかな相違がみとめられた。

ついでラット膀胱内に異物を挿入して *in vivo* における結石形成実験を行ない、核の特異性、性別、尿量、感染などによる影響について検討を加えて興味ある結果をえた。また実験方法についても Vermeulen 法に若干の改良を加えたので併せて報告する。

実験1 *in vitro* における尿内異物
浸漬による結石形成実験

実験材料および実験方法

a ラット尿内浸漬実験

体重 150~200g のウィスター系雌性ラットを日本

配合飼料社製飼育用飼料 CLEA CE-2 にて飼育し、水分は自由摂取とした尿を採尿器（飼育器の下に採尿管をとりつけたもの）にて採尿し、防腐剤としてトルエンを数滴加えた尿を集積して使用し、異物としては亜鉛円板を用い、次の3群にわけて実験した。

i) 直径約 3mm, 厚さ 1mm, 重量約 60mg の亜鉛円板 5 個を上記尿 25ml をビーカーに入れ尿中に浸漬したもの。

ii) 同上の亜鉛円板にシリコン油にて表面加工 Siliconization したものを i) と同様尿中に浸漬した。シリコン加工法はシリコン油にキシレンを加えて 10%シリコン溶液とし、この溶液中に加工物を浸し 60°C 孵卵器中にて乾燥した。

iii) 上記尿を蒸留水にて 2 倍にうすめ 50ml とし、その中にシリコン加工を行わない亜鉛円板を浸漬したもの。

以上いずれも室温（約 20°C）に置き、毎日尿を交換し、浸漬核に対する結晶沈着状態を逐日観察した。

b. 正常人尿、尿石尿内浸漬実験

京大泌尿器科教室員よりえられた正常人尿と、泌尿器科入院尿石患者よりえられた尿石尿とを使用した。各資料とも 1 日の尿量 1,000~1,500ml, pH 約 6.2~6.8 で、尿中カルシウム、燐 1 日量が正常範囲のものを使用した。尿石尿としては尿石成分が尿酸塩よりなるものを選び、主として肉眼的に血膿尿をみとめない手術前の尿を使用した。一部は術後のものも用いられた。実験観察が比較的長期にわたったので、両尿とも必ずしも同一症例の尿のみとはかぎらなかった。

上記正常人尿および尿石尿を各々 500ml づつビーカーにとり、これにトルエンを数 ml 加えたものに異物核として適当な大きさの亜鉛板、綿糸、絹糸、尿管石、人膀胱石、ネラトンゴム、ポリエチレン管を両尿中に浸漬した。ビーカーは口に栓をして 37°C 孵卵器中に置き、尿は 1~2 日毎に交換し、浸漬核に対する結晶沈着状態を 1 カ月毎に核をデンケータにて乾燥後重量測定し観察した。

なお尿 pH 測定は島津 pH メーター、Ca 測定は EDTA によるキレート滴定法、燐測定は Fiske Subbarow 法、結石成分定性は日本分光機による赤外分光分析法によった。

実験成績

a. ラット尿による実験では 24 時間後にはビーカー底に白色結晶の沈澱をみたが、i) ii) iii) とともに核には全く変化を認めない。7 日後、14 日後、21 日後も肉眼的には殆んど各種核とも変化を認めない。約 30 日頃より i) の亜鉛円板表面に白色の微細結晶状の沈着

をみた。しかし ii), iii) には結晶状の沈着は全く認められなかった。その後 i) の亜鉛円板には結晶状の沈着物が著明に増加し、40 日後には結石と考えられる程度の結晶沈着を認めるにいたった。

ii) のシリコン加工したものおよび iii) の 2 倍稀釈したものでは 40 日の観察でも結晶沈着は全く認められなかった（図 1）

b. 約 1 カ月頃より正常人尿、尿石尿ともに茶褐色泥状の沈着物を認め、3 カ月頃までは同程度に沈着量を増すのみで、両者間に殆んど重量の差を認めなかった。

核の種類別にみると、亜鉛は両者ともに殆んど沈着を認めず、5 カ月にわたる観察によっても殆んど重量に変動はなく、むしろ重量減少の傾向さえ見られた。綿糸、絹糸には結晶沈着が著明で特に 2 カ月以降では重量の増加が急速となり、かつ尿石尿においてその傾向が著しかった。その他の尿管石、膀胱石、ゴム、ポリエチレンは亜鉛と糸との中間の態度を示した。すなわち 4~5 カ月より肉眼的にみて尿石尿の方に白色の結晶の沈着を認める様になり、亜鉛を除いてすべての核に尿石尿の方に同程度の沈着を認めた。その代表的な核の重量増加を図 2 に示す。5 カ月後の結石の外観を示すと図 3 のごとく尿石尿では明らかに塩の析出傾向が強くみられた。沈着塩を分析した結果、尿石尿では尿酸カルシウム+燐酸カルシウムの混合物であり、これは一般の尿石に最もよくみられる成分と同じであった。一方正常尿における結晶は燐酸カルシウムであった（表 1）

実験 2 各種核、各種条件下におけるラット膀胱内異物結石形成実験

実験材料および実験方法

a. 膀胱内異物結石と核の特異性について
体重 150~200 g のウィスター系雄性ラットを CLEA CE-2 飼料で飼育し、自由飲水とした。

核として約 3mm 径の亜鉛円板、シリコン加工した亜鉛円板（前述）、同様の大きさのネラトンゴム、シリコン加工ゴムを使用した。各核ごとに 30 匹のラットを使用した。これらの核を膀胱内に挿入し、40 日後に屠殺して結石重量および細菌感染の有無を調べた。感染のあったものは除外した。なお結石重量は生じた結石をデンケータ中にて乾燥した後 Torsion Balance にて重量を測定し、核の重量を差引いた値とした。

膀胱内異物挿入法としては、はじめ Vermeulen らの方法¹¹²⁾ を主として行なった。すなわち下腹部正中切開にて経腹膜的に膀胱に達し、膀胱前壁より頂部に

次に核の種類別に結石の発育状態を観察する。

シリコン加工亜鉛核およびシリコン加工ゴム核の数を除き、全例に結石を生じた。亜鉛円板核のものは平均 85mg と最も重く、次にネラトンゴム核の平均 52mg、シリコン加工ゴム核の平均 25mg は明らかに一番重量が少なく、殆んど結石形成がみられないものが3例もみられた(表2, 図4) シリコン加工ゴム核の中で約50個(径 1~3mm 球状)位の多発性小結石を生じたものが1例あったが、核には全く結晶の沈着をみなかった。

表2 異物結石 核の種類と結石重量 (mg)

核の種類 例数	核の種類			
	亜鉛	シリコン加工亜鉛	ネラトンゴム	シリコン加工ゴム
1	49	3	5	1
2	60	2	39	2
3	65	11	49	5
4	75	50	48	9
5	85	54	57	15
6	86	59	59	24
7	89	70	73	30
8	99	76	85	43
9	105	76	53	59
10	135	59		59
11	86			

生じた結石は球状白色、表面結晶状雑で、中等度に硬かった(図5) 分析の結果磷酸マグネシウムアンモンを成分とするものが多かった。

b. ウィスター系ラットでは雌雄間に尿の水、晶質成分に差を認めない。40日後の雌雄別の亜鉛円板による異物結石重量は表3, 図6に示す様に、雄では 44mg ~110mg に分布し平均 75mg±5.2mg、雌では 30mg ~80mg で平均 61mg±5.8mg であり、重量に関しては雌雄間に有意の差を認めなかった。

しかしながら結石の表面の性状は雌雄別では全く異なり、雄においては表面雑で粗大、結晶状であったのに反し、雌では白色平滑であったのは甚だ興味ある所見と考えられる(図7)

結石成分は雌雄ともに磷酸マグネシウムアンモンであった。

c. 尿量増加の目的で行った10%葡萄糖液投与群では対照群1日量 5~10ml に対して 15~30ml と約3倍の増加がみられた。

表3 膀胱内異物結石 性別の影響 (mg)

例数	性別	
	雄	雌
1	100	60
2	50	62
3	90	75
4	90	40
5	105	50
6	110	45
7	60	80
8	62	56
9	82	86
10	86	70
11	60	40
12	75	50
13	50	45
14	45	30
15	55	2

表4 尿流量の異物結石形成に対する影響

	Zn (例数20)	シリコン加工 Zn+10% Glucose	シリコン加工 Zn+10% Glucose + Proteus
結石形成 Rat 数	16	15	12
結石 平均重量 mg	78.2mg	23.6mg	30.0mg
死亡数	4	5	8
尿量 ml/day	5~10ml	15~30ml	15~30ml

シリコン加工亜鉛核葡萄糖液投与群中2例には全く結石形成がみられなかったが、残るものは全例に結石を生じた。生じた結石重量は亜鉛核では平均 78.2mg、シリコン加工亜鉛核は平均 47mg(前述)であるのに対し10%葡萄糖液で利尿をつけたものでは23.6mg と利尿をつけない自由飲水のものと比較して重量が明らかに少なかった。また Proteus 感染群における平均重量は 30.0mg で、これも非利尿症例に比べて著明に小さい値を示した。ただ Proteus 感染群では約40%が14日以内に死亡した。

考 按

核を使用した尿石の発育実験としては Vermeulen¹¹¹⁻¹¹⁸⁾, 為政¹⁰³⁾, 加藤ら⁵¹⁾ の一連の研究があげられる。亜鉛円板, 尿石等を膀胱内に挿入し, 種々条件下にて異物結石を作ったもので, その成績を要約すると 1) 異物核はその種類によって特異性のみられる事, 2) 尿量を増加させると異物結石が出来ない事および結石の溶解も可能である事, 3) 尿の pH による影響が大きく, 4) 感染特に尿素分解菌の存在により形成されやすい, 5) 性ホルモンの影響がみられる事等である。これらはすべて特殊条件下であり, 臨床的にみた場合, すでに生じた自然排出しない尿石の各種条件下における運命を知るには非常に有用である。これらは臨床的に尿石の溶解, 増大の防止, 自然排出の可能性に利用し得る点や再発予防の面で重要な意味がある。私はこれらの事実に興味をいただき, 核存在下における尿石の成因究明のため 2, 3 の基礎的研究を行なった。まず in vitro における実験の結果につき検討を行なってみると, ラット尿による亜鉛円板核浸漬実験では尿石形成が可能であり, 同じ核でもシリコーン化して撥水性を持たせたものでは結石が出来ず, 尿を稀釈した場合では同一日数では何れの核でも結石が出来なかった。

人尿を使用した同種の実験では正常人尿, 尿石尿ともに結石形成をみたが, 尿石尿の場合には塩の析出傾向が著明であり, 核の種類により析出量に差を認めた。表面積の大きい綿糸, 絹糸において結石重量は最も大きく, 尿石, ゴム等では中等度で同じ程度であった。

ラット尿では結石形成を示した亜鉛円板に人尿では沈着がほとんどみられなかったのは意外であった。核の種類に対する沈着性に対しては正常人尿, 尿石尿間に差を認めなかった。

亜鉛核がラット尿, 人尿の間に示した結石形成における特異的な相違については, ラット尿による沈着塩の組成は磷酸マグネシウムアンモンであり, 人尿のそれは主として磷酸カルシウム, 一部碳酸カルシウムであって, この析出塩の成分の差および尿成分の差によるものである。

う。

以上の事から in vitro でも核存在下では塩の析出がおこる事が証明された。本実験に使用された尿は尿 pH, 尿中カルシウム, 尿中磷が正常範囲内にあったがこの尿石尿において塩の析出傾向が正常尿よりも強かった事より, 尿石は或る種の尿成分の相違によりおこるものと推定されるが, その原因については尚不明である。これらの結果は McGeown^{67) 68)}, Mukai⁷⁶⁾ らのクル病軟骨試験によると尿に good urine, evil urine が存在し, 後者は尿石尿に多く見られるという事実と一致する。

ラットによる膀胱内異物結石実験については, 先に述べた様に Vermeulen らの詳細な報告があるので詳しくは文献にゆずる事にして簡単に述べる。核性状の問題に関しては Vermeulen¹¹¹⁾ はパラフィン等の水にぬれにくいものは核として適さないと述べているが, 私の実験結果でもシリコーン加工した核では明らかに結石の重量が少なく, 結晶が沈着しにくかった。この事より臨床的に泌尿器科領域で使用される留置カテーテルにしばしば塩の沈着がみられ, 頻回の交換を必要とするが, この留置カテーテルにシリコーン加工したものを使用すれば, その交換の時期を延長出来る可能性があると考えられる。私はネラトンカテーテルをシリコーン加工して好成績をえたが, これについては稿を改めて述べる。

尿石の男女別の頻度についてみると稲田^{46) 47)} らによれば男性に多く, 男女比は 8 : 1 であり, この理由については未だ不明であると述べている, 性と異物結石との関係について Vermeulen¹¹⁵⁾ は Holtzman Rat を使用して膀胱内異物結石を作り, 雄では磷酸マグネシウムアンモン, 雌では磷酸カルシウムよりなる結石を得ているが, これは雌雄により尿中 Mg, Ca の濃度に軽度の差がみられるためであろうといった。ウィスター系ラットでは雌雄でこの様な尿成分にはほとんど差をみないが, 私の結果では結石重量には有意の差がみられなかったにもかかわらず表面の性状に明らかな相違がみられた。この事は雌雄によるホルモンの影響も全く除外は出来な

いが主として尿路の解剖学的相異により、雄に尿の停滞が強いのが原因であろうと考えたい。男女間の尿石の頻度の差もホルモン環境、ストレスの相異などとあわせて尿路の解剖学的相異が主たる原因と思われる。

尿量と結石形成のとの関係については尿中難溶塩が低濃度であれば当然塩の析出傾向は減少する。Vermeulen¹¹⁾らは10%葡萄糖液を投与した場合異物結石は予防され、結石を挿入した結果では溶解したと述べている。私の結果では尿量は約3倍となり、結石は大部分に生じたが各種核ともに明らかに抑制効果がみられた。この効果は尿素分解菌感染時でも同様であったので、臨床的に尿石症に持続的に尿量を増加させればその発育を抑制する可能性がある事を示すと考えられる。

最後に異物結石形成法について私の経験を述べる。Vermeulen¹¹⁾は彼の方法で斃死率は5%位であるといっているが、私が彼の方法に準じて行なってみた所、斃死率が非常に高く、同時に核を数個入れた場合や夏期では特に多く、時には70%が斃死するという結果であった。その死因を探究した所、縫合部よりの尿浸潤による腹膜炎と推定された。したがって初めはガーゼドレーン、ビニールチューブ留置を行なったが効果を認めなかった。教室の本郷、桐山⁴⁴⁾はCyanoacrylate系接着剤を家兎膀胱切開創に使用し良好な結果を得たが、結石発生のため人間の尿路には使用出来ないと述べている。私も同様の接着剤を使用した結果著効を認め、悪条件下でも斃死率を5%以下に減少せしめ得た。接着剤により結石が生じる事があるが、もともと異物挿入実験であるので何ら差支えないものと考えられる。腹膜、筋膜、皮膚にも同様に使用する事により、手術時間の短縮等良好な結果を

得た。以上の経験よりラットによる膀胱内異物結石実験には接着剤の使用が便利と考えられるので推奨する次第である。

結 語

尿中に存在する核が尿石に成育する過程を観察し、これに対して影響を与えると考えられる2, 3の条件について検討を加えて次の様な結果をえた。

1) *in vitro*の実験ではラット尿、正常人尿および尿石尿を使用した。亜鉛などの核を浸漬したところ結石の形成をみたが、シリコーン加工したものでは結石形成が阻害され、綿糸、絹糸などの表面積の大きな核では促進された。

尿石尿においては正常人尿より塩の析出傾向が一般に顕著であった。

2) ラット膀胱内異物結石形成による*in vivo*の実験でも核の種類により特異性がみられ、特にシリコーン加工したものでは結石が出来にくかった。

性別では雄動物の方に粗大結晶状の結石形成がみられ、この原因は下部尿路の解剖学的相異によるものであると推定した。

また葡萄糖液投与により尿量を増加せしめたものでは尿石形成は抑制され、尿素分解菌感染尿においても尿量の増加は尿石形式に阻止的に働いた。

稿を終るにあたり、御指導並びに御校閲をいただいた恩師稲田教授に深甚の謝意を表します。また御援助、御鞭撻をいただいた酒徳助教授に感謝いたします。

尚本論文の要旨は第16回日本泌尿器科学会中部連合地方会、第54回日本泌尿器科学会総会の宿題報告の一部として報告した。

参考文献は一括して第Ⅲ編に付した。

(1966年4月25日受付)

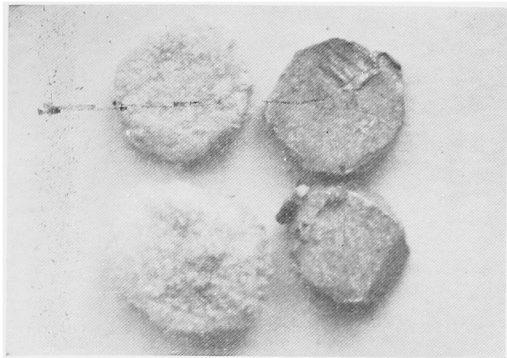


図1 ラット尿内浸漬異物結石
 左側2筒は亜鉛核で白色微細な結晶がみられる
 右上はシリコン加工亜鉛核
 右下は亜鉛核で2倍稀釈尿でいずれも結晶沈着をみない

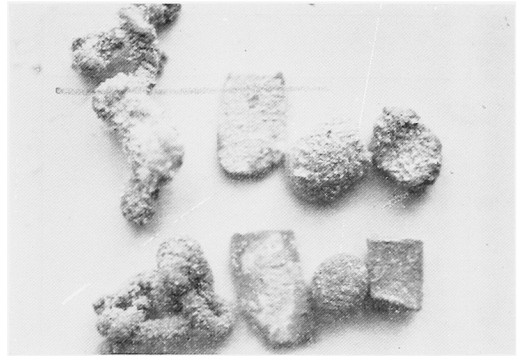


図3 人尿内浸漬異物結石
 上段は尿石尿内に下段は正常尿内に各種核を浸漬したもので、尿石尿群に結晶沈着が著明である。核は左より綿糸、亜鉛、膀胱結石、ネラトソコムで綿糸には著明に結晶沈着がみられる

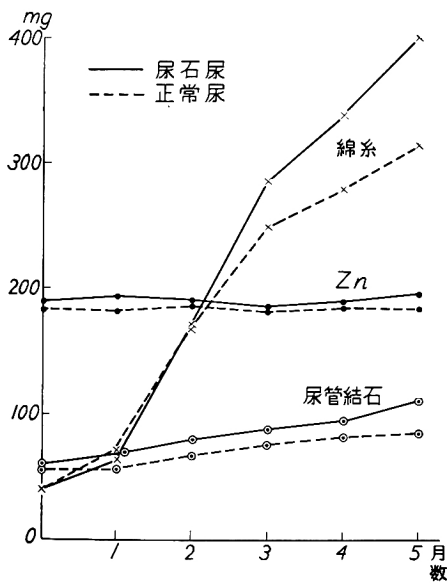


図2 尿石尿による試験管内異物結石重量

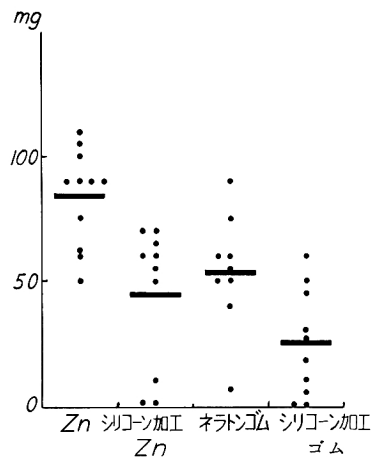


図4 核種類別膀胱内異物結石重量

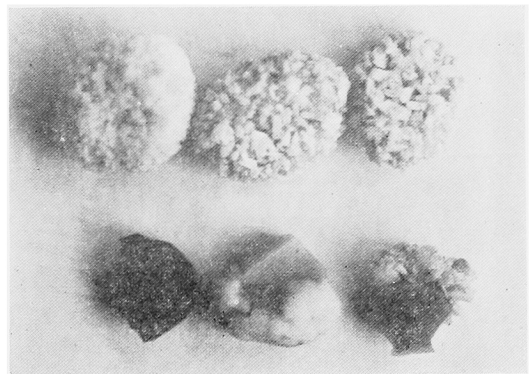


図5 膀胱内異物結石
 上段はネラトソコム核
 下段はシリコン加工ゴム核で、左端のものは全く結石形成をみない

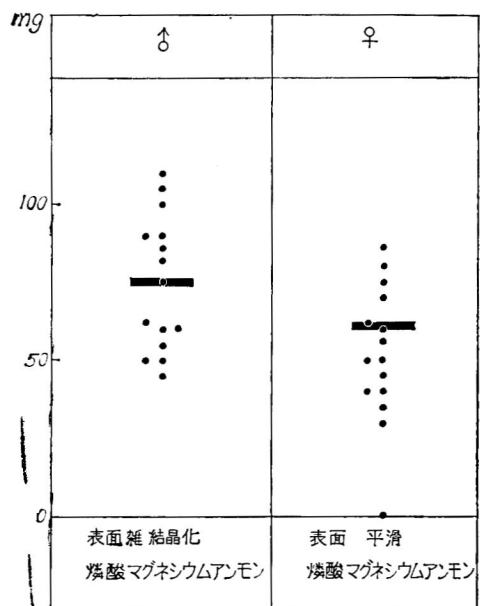


図6 膀胱内異物結石の重量と性状（性別）

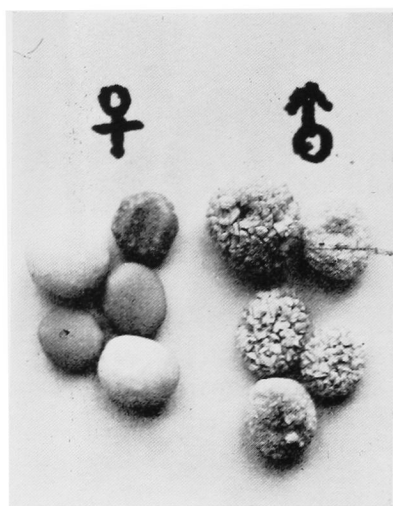


図7 膀胱内異物結石（性別の影響）
♀は表面平滑である
♂は粗大、雑であり結晶状態が全く異なる