

慢性尿路感染症の尿中ウレアーゼ活性

—とくに尿路結石形成に関連して—

京都大学医学部泌尿器科学教室（主任：吉田 修教授）

竹 内 秀 雄

吉 田 修

富山大学薬学部薬品生物化学教室（主任：長谷純一教授）

竹 部 幸 子

小 橋 恭 一

長 谷 純 一

UREASE ACTIVITY IN INFECTED URINE

—RELATION TO STONE FORMATION—

Hideo TAKEUCHI and Osamu YOSHIDA

*From the Department of Urology, Faculty of Medicine, Kyoto University**(Chairman: Prof. O. Yoshida, M. D.)*

Sachiko TAKEBE, Kyoichi KOBASHI and Jun-ichi HASE

*Faculty of Pharmaceutical Science, University of Toyama**(Director: Prof. J. Hase)*

Alkalinization of urine by urea splitting bacteria is the most important factor for the formation of phosphate calculi.

In 37 patients with chronic urinary infection (urolithiasis 20, indwelling catheter 13, others 4), urinary urease activity, pH and bacteria were investigated.

In 26 of 37 patients, urease activity in the range of 1.3 to 457 m IU/ml was noted.

The pH of the urine with urease is higher (7.36 ± 0.79) than that of urease negative urine (6.24 ± 0.59)

All of *Proteus sp.*, some of *Klebsiella* and *Pseudomonas* were urea splitting. The urease activities of *Proteus* were most powerful.

結 言

正常尿の pH はふつう弱酸性であるが、感染尿ではしばしばアルカリ性に傾く。これは尿中の尿素分解細菌の産生するウレアーゼにより尿素が分解されアンモニアが生じるためである。尿のアルカリ化は尿路結石、主としてリン酸塩結石の形成に重要な要因となっている。われわれもこれまでリン酸塩結石の成因について調べてきたが、ウレアーゼの特異的阻害剤であるヒドロキサム酸が感染尿のアルカリ化およびリン酸塩結石

の形成を抑制することより尿中ウレアーゼ活性がリン酸塩結石のおもな成因であることを報告した^{1,2,3,4}。

慢性尿路感染症において、その治療経過中たびたびリン酸塩結石の形成、増大を認めるがこれは感染治療をよりむずかしくし、さらに腎機能の悪化をもたらすため臨床上重要な問題となっている。したがって感染尿におけるウレアーゼ活性を調べることは結石形成防止のためにも重要なことと思われる。

そこでわれわれは慢性尿路感染症の患者の尿についてウレアーゼ活性、尿 pH、起炎菌などを調べた。

対 象 結 果

当泌尿器科外来 または 入院患者例について 調査した。これらの対象患者は尿路結石症（カテーテル留置患者を含む）20例，長期間カテーテル留置患者13例，その他4例でいずれも難治性の尿路感染症の患者で，少なくとも検査前1週間は特別に抗生剤の投与をうけていない患者を選んだ。

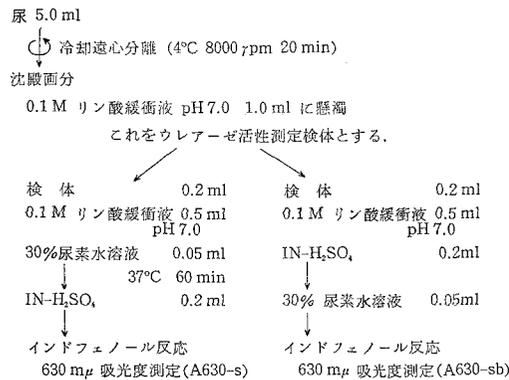
方 法

感染尿の採取：カテーテル留置患者はカテーテルより採取し，その他は導尿にて採取した。

尿 pH 測定：採尿後直ちに pH メーターにておこなった。

細菌検査：起炎菌の同定・定量は当病院中央検査室にておこなった。

ウレアーゼ活性の測定：Fig. 1 に示すごとく尿を冷却遠心分離し，沈殿分画について尿素を添加し一定時間後生じたアンモニア量をインドフェノール反応にて直接比色定量法⁴⁾をおこない，標準曲線より分解された尿素量を算出し，もとの尿 1 ml あたりのウレアーゼ活性 (mIU : 4 urea μ moles/min) を求めた。なお尿中ウレアーゼ活性の高い患者尿3例について上清分画のウレアーゼ活性を求め，尿中におけるウレアーゼ活性の分布を調べた。すなわち尿の上清分画をあらかじめ 0.01 M リン酸緩衝液 pH 7.0 で平衡化した Sephadex G-25 カラム (0.75 \times 29.5 cm) にかけて同じ緩衝液にて溶出し，でてくる蛋白分画についてウレアーゼ活性を測定した。また正常尿3例についても同様の操作をおこなったのちウレアーゼ活性を調べその活性のないことを確認した。



A630-s—A630 を求め標準曲線よりウレアーゼ活性を測定する。

Fig. 1. 尿中ウレアーゼ活性の測定

I. 感染尿の沈殿分画および上清分画のウレアーゼ活性

Table 1 に示すごとく尿中のウレアーゼの大部分は沈殿分画に含まれ上清分画のウレアーゼはごくわずかであった。ただし1例は上清分画に20%のウレアーゼ活性が認められた。沈殿分画は菌体内ウレアーゼ，上清分画は菌体外ウレアーゼと考えられ，尿中の本酵素は大部分菌体にあることがわかった。

Table 1. Bacterial urease in infected urine

patient	Urinary urease	mIU/ml (activity %)
	precipitate (%)	supernatant (%)
F. J.	18.1 (97.1)	0.52 (2.9)
A. H.	108 (98.1)	2.01 (1.9)
K. T.*	149 (80.1)	37.0 (19.9)

* hematuria

II. 感染尿のウレアーゼ活性

Fig. 2 に示すごとく，対象患者37例で，尿路結石

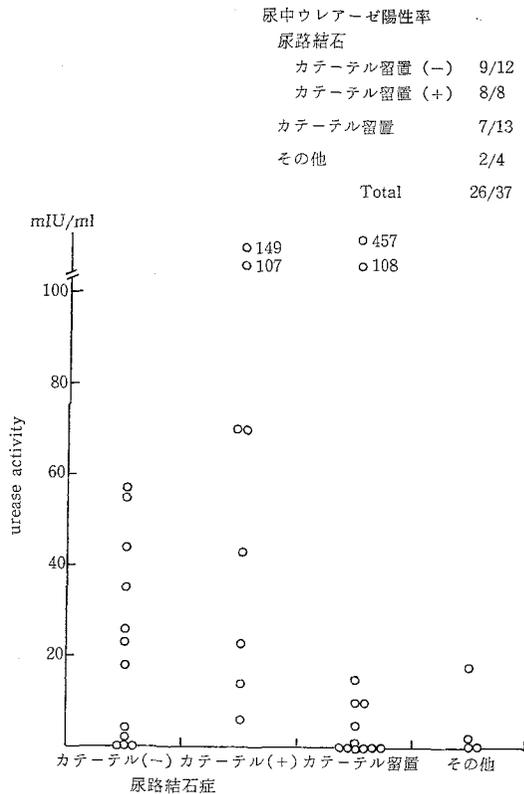


Fig. 2. 感染尿のウレアーゼ活性

症20例中17例に、カテーテル留置患者13例中7例、その他4例中2例 合計26例(70%)にウレアーゼ活性を認め、1.3 mIU/mlの微量から457 mIU/mlまでの範囲であった。また尿pHはウレアーゼ活性のあるものでは比較的高くpH 7.36±0.79 (M±SD)を示し、活性のない場合はpH 6.24±0.59で有意の差が認められた(P<0.01)。

1) 尿路結石症とウレアーゼ活性

感染を伴った尿路結石症ではTable 2に示すごとく、まずカテーテル留置のないものではウレアーゼ活性は12例中9例に認め、平均29 mIU/ml、尿pHは

7.0を越えるものが多く、菌種としては *Proteus* 群が多くみられた。結石患者でカテーテル留置のもの、これは主としてカテーテル留置後結石ができた例であるが、混合感染が多くみられ、ウレアーゼ活性は全例に認められ、その値も比較的高く平均60 mIU/mlで、尿pHもすべて7.0以上で8.0を越える例もみられた。なお手術的に摘出した結石はウレアーゼ活性の認められた患者では、すべてリン酸塩結石であった。

2) カテーテル留置とウレアーゼ活性 (Table 3)

カテーテル留置患者では13例中7例にウレアーゼ活性を認め比較的低活性の低い5例と極端に高い2例がみ

Table 2. 感染性尿路結石とウレアーゼ活性

カテーテル留置(-)				
症 例	病 名	細 菌	/ml	尿 pH ウレアーゼ活性 mIU/ml
N. S.	右 腎 結 石 ^{a)}	<i>Proteus mirabilis</i>	10 ⁴	7.92 1.7
H. K.	右 腎 結 石 ^{a)}	<i>Proteus mirabilis</i>	10 ⁶	7.45 34.7
N. H.	両 腎 結 石 ^{a)}	<i>Proteus mirabilis</i>	10 ⁶	7.23 22.8
K. S.	両 腎 結 石	<i>Klebsiella</i>	10 ⁵	6.13 57.0
S. Y.	左 腎 結 石	<i>Staphylococcus</i>	10 ⁵	6.08 54.6
I. E.	左 腎 結 石 ^{a)}	<i>Proteus mirabilis</i>	10 ⁷	7.64 25.6
W. T.	膀 胱 結 石 前立腺肥大症	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Pseudomonas</i>	10 ⁴ 10 ⁵	5.20 4.4
Y. M.	両 腎 結 石	<i>Morganella</i>	10 ⁶	7.18 43.6
K. M.	右 腎 結 石	<i>Pseudomonas</i>	10 ⁷	7.27 17.8
I. S.	左 腎 結 石	<i>Pseudomonas</i>	10 ⁶	6.50 0
H. K.	左 腎 結 石	<i>Pseudomonas</i>	10 ⁶	6.23 0
T. M.	右 腎 結 石 ^{b)}	<i>E. coli</i>	10 ⁵	6.46 0
カテーテル留置(+)				
症 例	病 名	細 菌	/ml	尿 pH ウレアーゼ活性 mIU/ml
I. K.	左 腎 結 石 前立腺肥大症	<i>Klebsiella</i>	10 ⁵	7.36 5.6
N. A.	右 腎 結 石 右 腎 痿	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Pseudomonas</i>	10 ⁴ 10 ⁷	8.30 13.6
N. H.	両 腎 結 石 右 腎 痿	<i>Pseudomonas</i> <i>Rettgerella</i> <i>Proteus vulgaris</i>	10 ⁶ 10 ⁴ 10 ⁴	7.63 69.9
K. T.	膀 胱 結 石 ^{a)} 前立腺肥大症	<i>Proteus mirabilis</i> <i>Enterococcus</i>	10 ⁷ 10 ⁵	7.45 149.0
N. S.	膀 胱 結 石 前立腺肥大症	<i>Proteus vulgaris</i>	10 ⁷	8.24 106.7
I. H.	膀 胱 結 石 ^{a)} 膀 胱 痿	<i>Klebsiella</i> <i>Proteus mirabilis</i>	10 ⁷ 10 ⁶	7.46 22.8
T. S.	膀 胱 結 石 尿 道 狹 窄	<i>Proteus mirabilis</i> <i>E. coli</i> <i>Enterococcus</i>	10 ⁴ 10 ⁴ 10 ⁵	8.42 69.6
H. S.	右 腎 結 石 右 腎 痿	<i>Enterobacter</i> <i>Pseudomonas</i>	10 ⁵ 10 ⁴	8.12 42.9

a) Mixed stone of struvite and apatite

b) Calcium oxalate

Table 3. 留置カテーテルとウレアーゼ活性

症 例	病 名	細 菌 /ml	尿 pH	ウレアーゼ活性 mIU/ml
K. T.	前立腺肥大症	<i>Klebsiella</i> 10 ⁵	6.52	1.3
K. S.	尿管皮膚瘻	<i>Retigerella</i> 10 ⁴ <i>Morganella</i> >10 ⁷	8.02	10.2
T. K.	前立腺肥大症	<i>Klebsiella</i> 10 ⁵	6.22	0
T. I.	神経因性膀胱	<i>E. coli</i> 10 ⁷	6.90	0
M. T.	神経因性膀胱	<i>Enterobacter sp.</i> 10 ⁶ <i>Enterococcus</i> 10 ⁴	5.75	0
O. M.	尿管皮膚瘻	<i>Pseudomonas</i> 10 ⁵	7.15	0
H. M.	尿管皮膚瘻	<i>E. coli</i> 10 ⁵	6.50	0
A. K.	尿管皮膚瘻	<i>Klebsiella</i> 10 ⁶ <i>Proteus mirabilis</i> 10 ⁵ <i>Enterococcus</i> 10 ⁶	7.49	108.0
M. K.	前立腺肥大症	Gram negative rod 10 ⁶	—	9.8
B. M.	神経因性膀胱	<i>Pseudomonas</i> 10 ⁶	6.76	5.4
N. T.	右 腎 瘻	<i>Morganella</i> 10 ⁵ <i>Pseudomonas</i> 10 ³ <i>Enterococcus</i> 10 ⁵	8.23	457.0
Y. N.	神経因性膀胱	<i>Proteus mirabilis</i> 10 ⁵	—	15.0

Table 4. その他の症例とウレアーゼ活性

症 例	病 名	細 菌 /ml	尿 pH	ウレアーゼ活性 mIU/ml
H. J.	ブルンベリー症候群	<i>Proteus mirabilis</i> 10 ⁷	7.55	18.1
M. A.	尿 道 狭 窄	<i>E. coli</i> 10 ⁷	7.12	2.2
A. O.	前立腺肥大症	<i>Enterococcus</i> >10 ⁷	5.64	0
S. Y.	神経因性膀胱	<i>E. coli</i> >10 ⁷	6.12	0

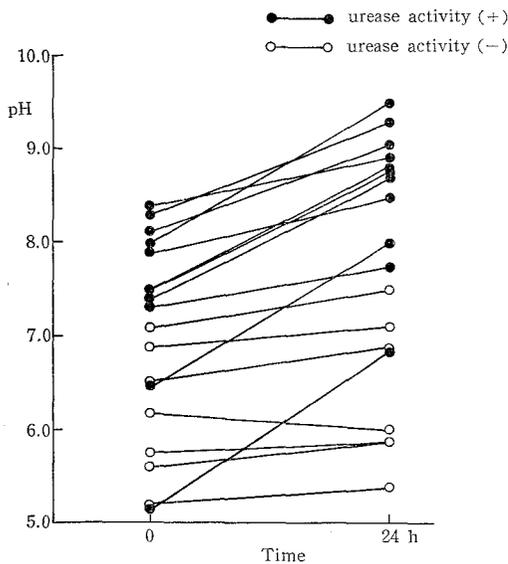


Fig. 3. 感染尿での pH の変化

られた。起炎菌はおもにグラム陰性桿菌で、混合感染は4例にみられた。

3) その他の症例とウレアーゼ活性 (Table 4)

その他では4例中2例にウレアーゼ活性を認めたが比較的低値であった。

Ⅲ. 感染尿における pH の変化

一部の症例についてその感染尿を37°C 24時間保温し尿 pH の変化を調べてみた。Fig. 3 に示すごとくウレアーゼ活性のある尿では pH は著明に上昇し、ウレアーゼ活性のないものではほとんど変化を認めなかった。

考 察

尿路結石症のなかでリン酸塩結石は尿 pH 上昇が重要な要因となっている。尿 pH 上昇は主として尿素分解細菌の感染により尿素が分解されアンモニアが生ずるためである。とくにリン酸マグネシウムアンモン結石は尿 pH 上昇、アンモニア濃度上昇により形成される。また *Proteus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella* 等の尿素分解

細菌は一般に慢性複雑性尿路感染症の場合にみられ、例えばカテーテル留置患者や尿路結石症患者などにみられ、難治性であり結石形成とその増大をきたす。そこでわれわれは慢性尿路感染症の患者について尿 pH、起炎菌、尿中ウレアーゼ活性などについて調べた。

まず尿中のウレアーゼ活性についてであるが、これまで細菌の尿素分解能の検査は尿素培地での培養試験⁵⁾とか、尿培養後に菌体をとり出しウレアーゼ活性を調べる方法⁶⁾があるが、それぞれ培養に時間を要しまた定量的に測定することができない。われわれは尿中に存在するウレアーゼを直接とり出し定量的に測定した。尿中におけるウレアーゼは Table 1 に示すごとく大部分菌体内ウレアーゼで、尿を遠心分離して沈殿中に存在するウレアーゼを測定する方法が適当であると考えられる。本法によって調べた細菌の尿素分解能は Table 5 のごとくで White and Hill⁶⁾ の報告と同様 *Proteus* 群では全例が陽性であるが、*Pseudomonas*、*Klebsiella* は一部比較的弱い活性を認め、*E. coli* は4例中1例にごく弱い活性を認めたにすぎなかった。したがって尿路結石症の原因として *Proteus* 群の感染が最も重要であると考えられる。これは尿路結石症の患者の場合 (Table 2)、20例中17例にウレアーゼ活性を認め、そのうち12例は *Proteus* 群の感染がみられたことから裏づけられる。またカテーテル留置患者では13例中7例にウレアーゼ活性を認め、うち4例に *Proteus* 群の感染をみとめ、こんご結石形成の可能性がじゅうぶんにあると思われる。

Table 5. 尿中細菌の尿素分解能 (尿素分解陽性菌数/全試験菌種数)

<i>Proteus mirabilis</i>	6/6
<i>Proteus vulgaris</i>	1/1
<i>Morganella</i>	1/1
<i>Pseudomonas</i>	1/4
<i>Klebsiella</i>	2/4
<i>E. coli</i>	1/4
<i>Staphylococcus</i>	1/1

慢性尿路感染症 37例中26例 (70%) に 1.3 mIU/ml から 457 mIU/ml のウレアーゼ活性を認め、結石症の患者20例中17例に尿中ウレアーゼ活性を認めたことは結石形成および増大の原因として、またカテ

テル留置患者13例中7例にウレアーゼ活性を認めたことはカテーテルの周囲の塩類付着の原因として重要である。こんご慢性尿路感染症における結石形成の防止対策が考慮されるべきであろう。

結 語

難治性尿路感染症37例 (尿路結石症20例、カテーテル留置13例、その他4例) について尿 pH、細菌、尿中ウレアーゼ活性等を調べた。

1) 尿中ウレアーゼは大部分細菌内ウレアーゼであった。

2) 対象患者37例中26例 (70%) にウレアーゼ活性を認め 1.3 mIU/ml から 457 mIU/ml までの範囲であった。

3) 尿路結石症20例中17例 (85%) に、カテーテル留置患者13例中7例 (54%) にウレアーゼ活性を認め、尿路結石の形成、増大またはカテーテル周囲の塩類の付着の原因として本酵素が重要な因子と考えられた。

4) 尿 pH はウレアーゼ活性の認められたもので比較的高く 7.36 ± 0.79 (M \pm S.D.)、活性のないもので 6.24 ± 0.59 で有意の差がみられた ($P < 0.01$)。

5) 細菌のウレアーゼ活性は *Proteus* 群で全例にみられたが、*Pseudomonas*、*Klebsiella* では一部に比較的弱い活性を、*E. coli* では一部にごく弱い活性をみとめた。結石形成には *Proteus* 群の感染が最も重要であると考えられる。

本論文の要旨は1975年11月第25回泌尿器科中部連合地方会において発表した。

文 献

- 1) 竹内秀雄・高橋陽一・吉田 修・小橋恭一：泌尿紀要，22：115，1976。
- 2) 竹内秀雄・吉田 修・小橋恭一・竹部幸子・長谷純一：泌尿紀要，23：113，1977。
- 3) 小橋恭一・竹部幸子・長谷純一・竹内秀雄・吉田修：日本臨床代謝学会記録，13：61，1977。
- 4) 奥田拓道・藤井節郎：最新医学，21：622，1966。
- 5) Thompson, L., and Schulte, T. L.: Proc. Staff Meetings, Mayo Clinic, 14: 361, 1939.
- 6) White, E. C., and Hill, J. H.: J. Urol., 45: 744, 1941.