

感染結石の構築—とくに核部構築について

滋賀医科大学医学部泌尿器科学教室（主任：友吉唯夫教授）

竹	内	秀	雄
小	西		平
高	山	秀	則
友	吉	唯	夫

STRUCTURAL STUDIES OF INFECTION STONES :
STRUCTURE OF THE NUCLEIHideo TAKEUCHI, Taira KONISHI, Hidenori TAKAYAMA
and Tadao TOMOYOSHI*From the Department of Urology, Shiga University of Medical Science**(Director: Prof. T. Tomoyoshi)*

The composition and structure of nuclei of infection stones were investigated. Twenty seven out of 40 renal stones were found to contain struvite and/or carbonate apatite in the nuclei as well as peripheral layers, and 13 contained calcium oxalate. Some bladder stones also contained different substances in the nuclei.

In some infection stones whose architecture was studied in thin section and with scanning electron microscopy, we found large numbers of bacteria in the nuclei composed of struvite and/or apatite. Though we could find no bacteria within the nuclear parts composed of oxalate, we found them in apatite layers outside the nuclei.

Urea-splitting bacteria are suggested to participate both in the initial formation of struvite stones and in the diversion of oxalate stones into phosphate stones. Such bacteria may play important roles in stone formation, not only as promoters of crystalization of struvite and apatite but also as a component such as of an organic matrix.

Key words: Urinary calculi, Infection, Nuclei, Bacteria, Architecture

緒 言

感染結石 infection stone の構成は結晶成分としてリン酸マグネシウムアンモニウム (MAP, struvite) とリン酸カルシウム (CaP, carbonate apatite), 有機成分としてムコ蛋白, 細菌よりなるが¹⁾, その成因は尿素分解細菌の感染による尿性状の変化によるとされる^{2,3)}. この結石の場合, 結石の発生と増大が同じ機序であるか, すなわち尿路感染が先行し, これが原因で結石が発生したのか, ほかの成分の結石ができ, その後に尿路感染が加わり, 感染結石として増大したかの問題がある. また感染結石自体の発生過程も不明

である.

そこで感染結石の構築について, とくに核部の成分を調べ, 内外層と比較して, その構築について検討したので報告し, 結石発生の機序について考察を加える.

対象および方法

滋賀医科大学泌尿器科にて手術的に得られた結石のうち, 結石外層部の成分を分析し, MAP および CaP を主成分とする腎結石 (主にサンゴ状結石) および膀胱結石を選んだ. これらの結石を超軟X線装置 (ソフテックス CMB-2) にて撮影すると, Fig. 1 のごとく

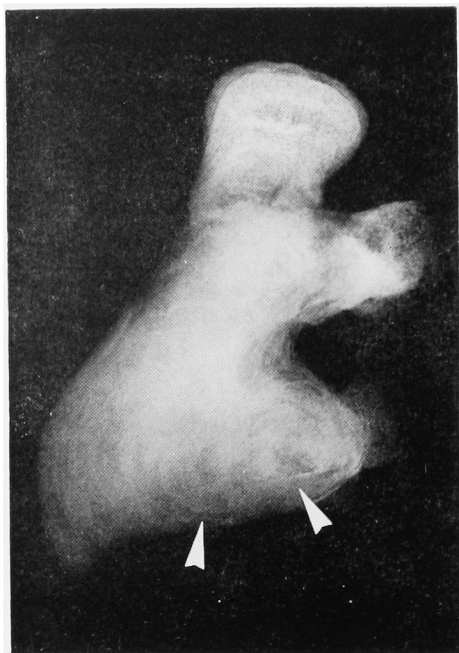


Fig. 1. Roentgenograph of a staghorn calculus shows nuclear parts (arrows) surrounded with laminar layers.

核部の局在が判明する。そこで核部を含むように結石を切り、断面での核部および周辺への発育状況を観察し、核部および内層の成分を分析した。結石の成分の分析は赤外線分光分析にておこない、CaPの場合、炭酸塩の含有の有無は化学分析にて carbonate apatite と hydroxyl apatite を区別した。なお多発結石の場合には最大のものについて調べた。

一部の結石について薄切標本を作成し、PAS染色にて観察した。また立体構築をみるため、走査電顕での観察もおこなった。薄切標本は日本地科学社(京都)にて厚さ約 60μ の切片が作られ、走査電顕の標本は数日間の自然乾燥後金パラジウムのコーティングの後、日立 S900 型走査電顕にて観察した。

調べた結石の内訳は腎結石40例(このうち両腎結石2例)、膀胱結石5例である。外層部の成分は MAP および CaP であるが、MAP を多く含むもの、CaP を多く含むものなど多様であり、一部の結石にはリン酸水素マグネシウム $MgHPO_4 \cdot 3H_2O$ を含むものもみられた。炭酸塩の反応はほとんど全例に認められた。

なお今回調べた結石の一部は結石内細菌の培養もおこなわれ、その結果は先に発表した¹⁾。

結 果

1. 結石断面の肉眼的所見と核部成分

腎結石の核部は多くの例で腎盂内に認められるが、腎杯や腎杯基部、腎盂尿管移行部にみられるものもあった。核の数も多くは1コであるが、2コのものもあり、また1コの核から生長増大し、途中で別の小結石 daughter stone を包み込むような形で生育するものもみられた。

Fig. 1 の X-ray に示された結石は2コの核を含み、核部の形態はひょうたん状であり、これを中心として層構造をとりつつ発育している様子がわかる。

Fig. 2 A の結石は核部が腎盂中央部にあり、断面では核部および内層部は灰白色で、茶褐色の層と交互になっており、周辺部は茶褐色の層が密になっている。結晶成分はどの部も CaP および MAP であるが、後におこなった薄切標本(PAS染色)での観察では茶褐色調の強い部分は PAS 陽性の有機成分の多いところであった。

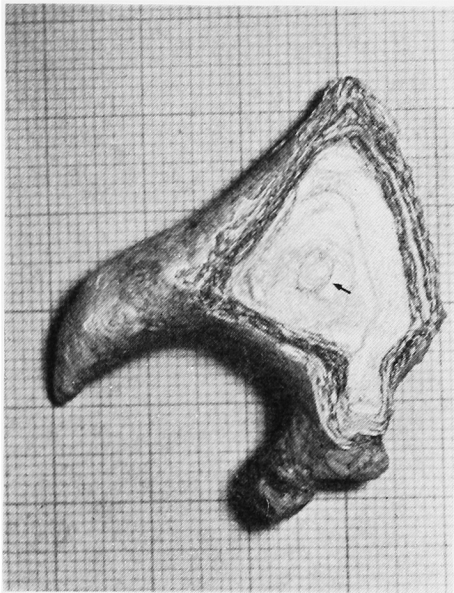
Fig. 2B は X-ray にて下腎杯頭部に不整形の大きな核部分があり、これを切った断面であるが、ほかの部分と異なった不整形の核部が確認され、形態的に蓆酸カルシウム(CaOX)と推察され、後の分析にて CaOX(2水化物)が確認された。また同結石は上腎杯部には小結石を包みこんだと推察される構造がみられる。

核部の成分が外層部と同じリン酸塩結石では、核部の大きさは比較的小さいが、核部が CaOX の場合、蓆酸結石の大きさと同義であろうが、大きさはさまざま、長径約 20 mm のものから数 mm のものまでみられた。

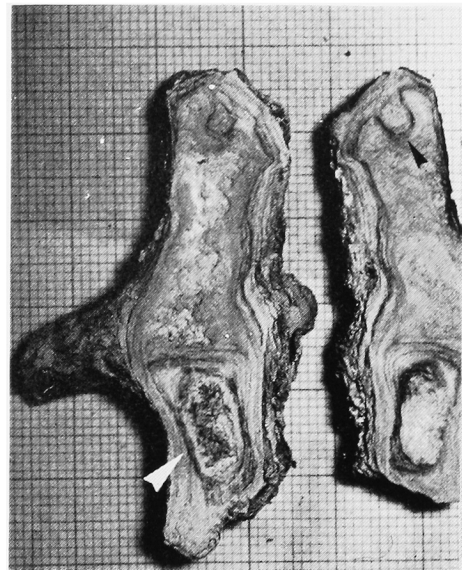
膀胱結石では、核部はほぼ中心部にあり、断面は腎結石と同様に核部を中心に層構造をとっていた。しかし核部の成分の異なるものもみられた。Fig. 3 は3つの異なる層よりなり、核部は CaP(この場合炭酸塩なく、hydroxyl apatite と推定)が主成分、内層は CaOX(1水化物)、外層部は MAP および CaP(carbonate apatite)であった。

腎結石および膀胱結石の核部成分をまとめてみると、Table 1 のごとくである。腎結石40例中27例が同一成分であり、13例は核部が CaOX(1水化物6例、2水化物7例)であった。両腎結石2例は左右とも核部成分は同一で、MAP であった。膀胱結石3例が核部も同一成分であったが、2例は外層部と異なった成分であった。

以上より感染結石には2種のものがあることが判明



2 A



2 B

Fig. 2. Cut surface of a staghorn calculus A. A small nucleus (arrow) in the mid portion corresponding with renal pelvis. B. A large nuclear part is seen in the lower calyceal portion. note (white arrow) difference between the nuclear part and peripheral layers. A daughter stone (black arrow) is suggested to be embedded in the upper calyceal portion.

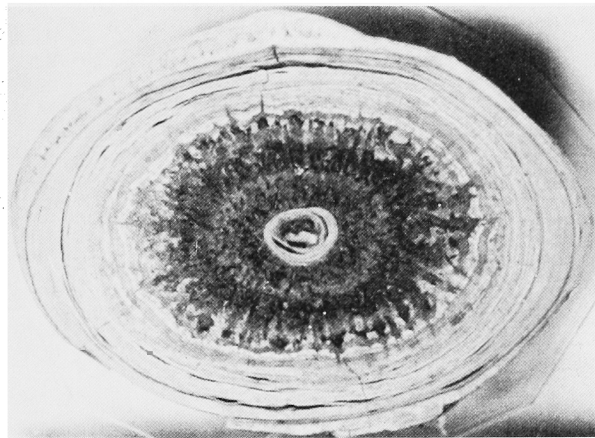


Fig. 3. Large bladder stone consists of three different layers.

Table 1. Composition of infection stones

	outer layer	inner layer	nucleus	No. of case
kidney stone	MAP and/or CaP		MAP and/or CaP	27
	MAP and/or CaP		CaOX (monohydrate dihydrate)	$\frac{6}{7}$ 13
bladder stone	MAP and/or CaP		MAP and/or CaP	3
	MAP		CaOX(monohydrate)	1
	MAP	CaOX(monohydrate)	CaP*	1

MAP : magnesium ammonium phosphate, struvite

CaP : calcium phosphate, carbonate apatite CaP* : hydroxyl apatite

CaOX : calcium oxalate, whewellite or weddellite

した。すなわちひとつは核部と外層部が同一成分のもの、ほかは核部と外層部の成分の異なるものである。前者を primary infection stone とすれば、後者は secondary infection stone というべきものである。そこでつぎに、primary infection stone については核部を中心に構築を調べ、secondary infection stone についてはおもに核部から外層部の移行部について構築を調べた。

2. 核部の構築について

1) primary infection stone

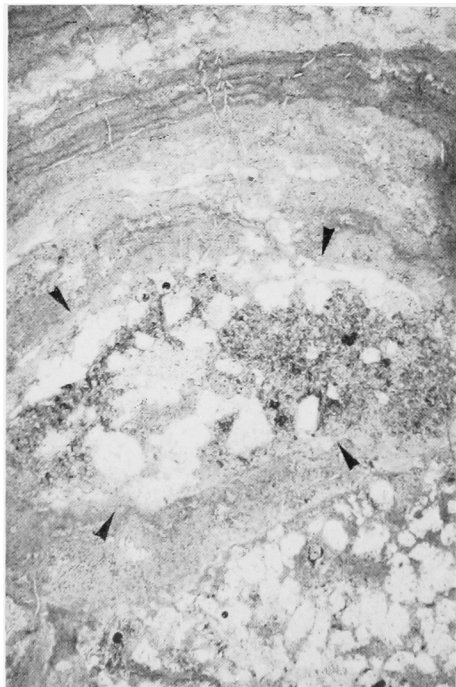
腎結石の薄切標本 (PAS 染色) での観察では、核部は比較的有機成分が少なく、結晶成分の多いものや、逆に有機成分に富んだものがみられた。Fig. 4 A は Fig. 2 A の結石の核部のものであるが、核の大きさは約 1×2 mm で、あまり PAS に染まらず、大きな MAP と思われる結晶と顆粒状の CaP の球形体 spherulite よりなっていた (Fig. 4B)。この球形体は中央に凹みがみられ、あたかも赤血球のようであった。Fig. 5A は Fig. 1 の核部のものであるが、核の大きさは約 1×1 mm で PAS 陽性の有機成分が多くを占め、強拡大では Fig. 5B のごとく、この有

機成分は大きさおよび形態よりほとんどすべて細菌の集塊と思われた。

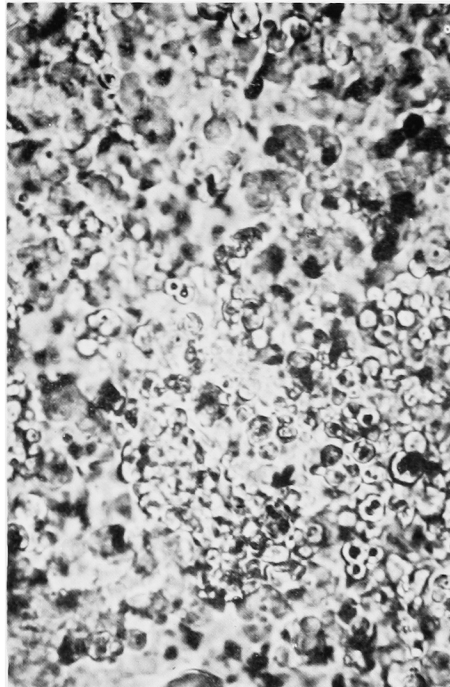
膀胱結石の核部も腎結石とはほぼ同様であった。Fig. 6 は2つの核 (長径約 1 mm のものと 1.3 mm のもの) をもち、有機成分に比較的富んでいるのがわかる。

走査電顕での観察では、核部は MAP や CaP の結晶成分のほか、Fig. 7 のごとく多数の細菌の集塊や有機性器質 (matrix) がみられた。この結石の内層からは *Proteus mirabilis* が培養されたが、これらの細菌は細胞壁が不整で、表面には apatite の小結晶が沈着しており、細菌そのものは死骸と推察された。また別の結石の核には Fig. 8 のごとく、多数の球形の apatite が集合しており、結晶と結晶の間隙はさらに小さな結晶で満され、また細菌も認められた。この集合した apatite の球形体の断面は 2~3 層の層構造を示し、ひとつの層は小さな顆粒状の小結晶よりなっており、中心部には細菌様物質が認められた。この小さな顆粒状の結晶は apatite の最小単位とみられる。

2) secondary infection stone



4 A



4 B

Fig. 4. A. Thin section of a renal stone (same as Fig. 2A) A nucleus contains large amount of crystalline and small amount of organic substance. Size of the nucleus is about 1.0×1.5 mm (PAS stain, $\times 20$). B. The nucleus is composed of numerous apatitic spherulites ($3 \sim 6 \mu$ in diameter). ($\times 400$)

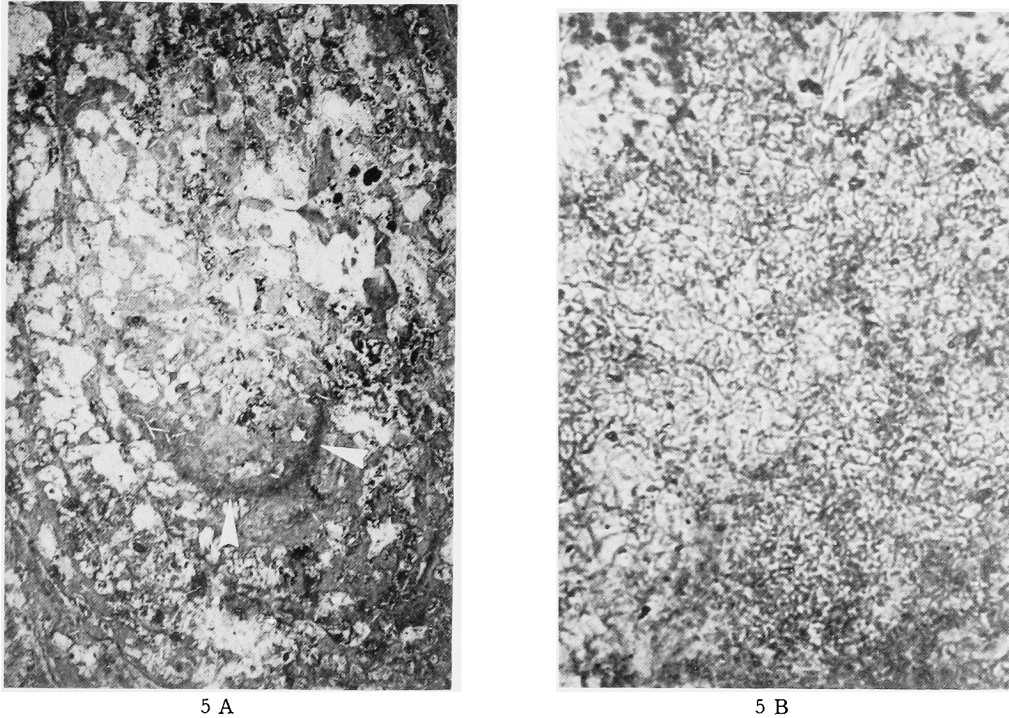


Fig. 5. A. Thin section of a renal stone. Nuclear part (arrows) is composed of large amount of organic substance. (PAS stain $\times 20$). B. Large numbers of bacteria are seen in the nucleus. ($\times 400$).

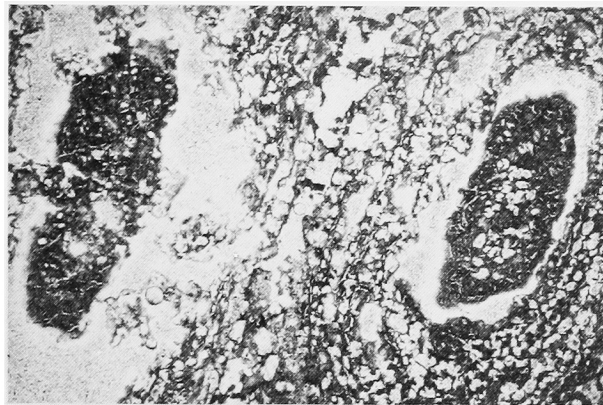


Fig. 6. Thin section of a bladder stone shows two nuclei. ($\times 20$).

核部が CaOX の場合、一般の蔘酸結石の核と同じであるが、Fig. 9 のごとく不定形の核部とその中に最小単位の核がみられた。核は結晶成分と有機成分よりなり、これを有機成分が包み込むように核部を形成し、この核部を多数の CaOX の結晶がとりこみ、有機物や CaP (この場合 hydroxyl apatite と推定) を混じつつ放射状に、あるいは層状に発育していた。しかし蔘酸結石の内部には細菌様物質は認め

られなかった。

CaOX の核部とこれをとりかこむリン酸塩の外層部分の移行部は CaOX が 1 水化物、あるいは 2 水化物かにより形態が異なっていた。すなわち 1 水化物の場合には、移行部は比較的鮮明であるが、2 水化物の場合には Fig. 2 B のごとく肉眼的にも移行部は不規則不鮮明であり、走査電顕での観察では、Fig. 10A のごとく CaOX の結晶部分の間に apatite の結晶

部分が付着しており、この apatite の部分には Fig. 10 B のごとく有機成分とともに多数の桿菌が見い出された。

考 察

感染結石の治療および予防を考える上で、その結石がどのようにしてできたかを調べることはとくに重要である。そのひとつの方法として摘出された結石の構

築を調べると、結石形成の過程がある程度推察できる。われわれは感染結石の構築、とくに核部の構築について調べ、その結果、外層部が MAP や CaP のリン酸塩結石のなかで、核部成分が CaOX のものが

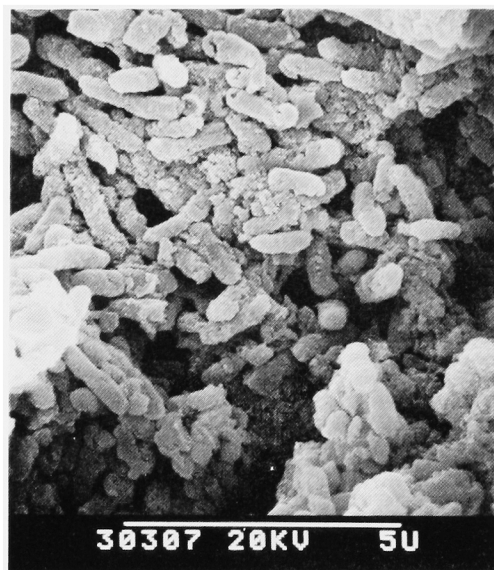


Fig. 7. Scanning electron micrograph of a renal stone infected by *Proteus mirabilis* shows large numbers of rods in the nuclear part.



Fig. 8. Scanning electron micrograph of the nuclear part of a renal stone infected by *Proteus mirabilis*. Apatitic spherulites, composed of large numbers of crystalline, contain bacteria-like substances (white arrows). Bacteria bodies (black arrows) are also found.

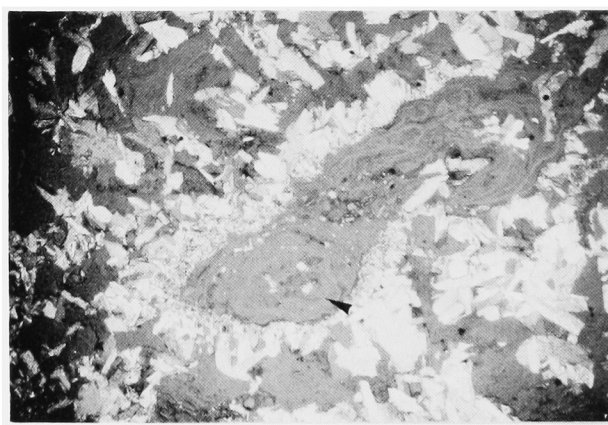


Fig. 9. Thin section of the nuclear part of a struvite stone. The nuclear part is composed of mainly calcium oxalate. In the center of the nuclear part a small nucleus (arrow) is seen. It is composed of crystal component and organic substance. (PAS stain, polarized light, $\times 20$).

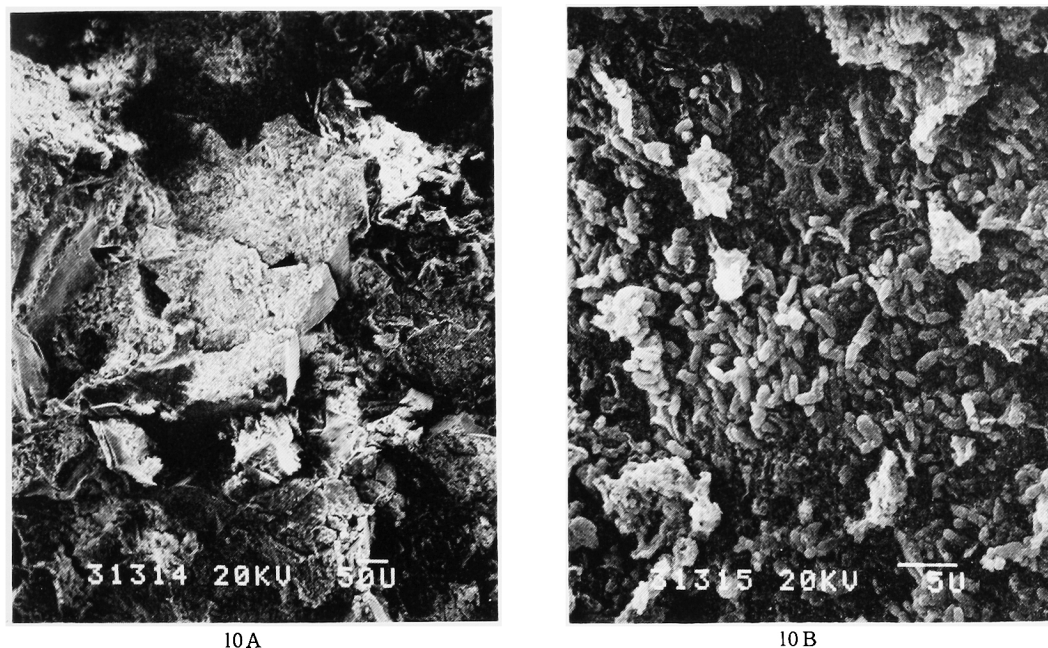


Fig. 10. A. Scanning electron micrograph of fracture surface outside of the nuclear part. Apatitic parts (arrow) are seen among the oxalate crystals. B. High magnification of the apatitic part (arrow in Fig. 10A). Large numbers of rods and organic substances are seen.

約 1/3 に見られた。リン酸塩結石の核部成分が外層部と異なる場合もあることはこれまで指摘されているが^{2,4-7)}、どれくらいの頻度であるかの報告はないようである。

CaOX を核部とする感染結石は初め蔭酸結石が形成され、後に尿路感染が加わり、感染結石として発育したものと考えられる。したがって外層部と核部の成分が同一のものは初発結石の形成の原因は尿路感染であり、これを primary infection stone と呼べば、CaOX を核部とする感染結石は secondary infection stone と呼ぶべきと考えられる。

primary infection stone の場合、初め 1～2 コの直径約 1 mm の球形～長球形の核を形成し、これをひとつの核部とし同心円状に層構造をとり、さらに小結石を含みつつしだいに増大し、腎結石ではサンゴ状の形態をとるにいたる。これらの核は結晶成分として CaP (carbonate apatite) および MAP (struvite)、有機成分として matrix、細菌などより成り、外層部とまったく同一成分であるが、結晶成分の多いものや有機成分の多いものなどさまざまである。核形成の機序の詳細は不明であるが、尿素分解細菌の感染によりアンモニア濃度の上昇、尿 pH の変化（アルカリ化）、尿中 Ca, P, Mg の濃度あるいはクエン酸、さらにムコ蛋白やムコ多糖類などの濃度、これらの尿中での状

態が複雑にからみあい、matrix の形成、結晶析出、凝集と最小単位の核を形成すると推察される。調べられた結石のほとんどの核に細菌が見いだされたことはとくに重要で、ウレアーゼ産生による尿性状の変化をもたすだけでなく、自らも核の一成分として核形成に関与しているものと思われる。すなわち細菌自体も matrix としての役割をはたしているものと考えられる。Fig. 8 にみられる菌体様物質を包み込む apatite の形態からもこのことが推察される。すなわち 1 コの細菌を中心とし、これに顆粒状の apatite の小結晶が沈着し、1 コの apatite の球形体を形成する。この球形体が多数凝集し、MAP の結晶や細菌を混じて核を形成したものと思われ、核構成の基本単位のひとつとも考えられる。核内の細菌の培養をおこなっていないので、生きているかどうかは不明であるが、走査電顕での観察にて、菌体表面の結晶沈着や不整破壊像より菌体は死骸と思われる。しかしわれわれはこれまで感染結石での細菌培養により、深層部に細菌が生きて存在していることを証明しており¹⁾、核内の細菌もすくなくとも一部は当初生きていたかもしれない。なお核内での菌体の存在を示した報告はこれまでないようである。

secondary infection stone の場合、核部はほかの成分の結石であるが、その核内部には細菌は見られず、

Table 2. Nucleus of infection stone

	composition of nucleus			genesis of initial stone formation
	crystal	matrix	bacteria	
primary infection stone	MAP CaP (carbonate apatite)	+ ~ #	#	bacterial infection (urea-splitting)
secondary infection stone	CaOX CaP (hydroxyl apatite)	+	-	metabolic disorder
	UA			

核部をとりまく CaP の内層からは見られ、これは二次的に感染が加わり、結石成分が変化した証拠とみられる。そしていちど感染し、リン酸結石に移行した結石はほとんどすべて感染結石として増大し、ふたたび CaOX などの結石に戻ることはないといわれる⁵⁾。実際外層部の一部に CaOX の結晶沈着が見られることがあるが、わずかである。これはいちど尿素分解細菌に汚染されると感染は持続し、尿性状が変化し、MAP あるいは CaP の急速な沈着を促し、雪ダルマ式に結石は増大するためであろう。また逆に CaOX はアルカリ尿にて析出しにくいためかもしれない。

尿酸結石の内部に細菌がみられることがあるが^{1,8)}、多くの場合 E. coli のような非尿素分解細菌であり、結石形成とは直接関係はなく、たまたま感染が加わったものにすぎない。また表面にも細菌付着がみられるが、この場合も多くは非尿素分解細菌である。しかし、ときに *Proteus mirabilis* や *Staphylococcus* などの尿素分解細菌の感染もみられ、手術せずに放置した場合将来感染結石へと移行する可能性が十分にあり、臨床とくに注意すべきである。

以上2種の infection stone は Table 2 のごとくにとまてることができる。これらの結石の再発予防において、primary の場合には尿路感染の基礎疾患を探し出し、これを治療すべきであるし、secondary の場合には尿酸結石が再発する可能性があり、Ca 代謝や尿酸代謝の異常を調べるべきであろう。

結 語

リン酸マグネシウムアンモニウムまたはリン酸カルシウムを主成分とする感染結石の核部について、成分および構築を調べた。

参 考

1) 腎結石40例のうち27例は核部も外層部と同じリン酸塩であったが、13例は尿酸カルシウムを核部成分としていた。膀胱結石にも核部成分の異なるものがみられた。

2) 核部が同一成分の感染結石では、構築は外層部とはほぼ同一で核内に多数の細菌がみられ、細菌自体も核形成に重要な役割を演じていると考えられた。

3) 尿酸カルシウムを核部成分とする感染結石では核部内に細菌は認められず、核部外側の移行部に細菌が認められ、尿酸カルシウム結石に感染が加わり感染結石に変化したものと考えられた。

4) 同一成分の感染結石を primary infection stone とすれば、成分の異なる感染結石は secondary infection stone と呼ぶべきもので、再発予防にはそれに応じた原因を探しこれを除去すべきである。

本論文の要旨の一部は第71回日本泌尿器科総会において発表した。また本研究の一部は文部省科学研究費補助金一般研究C課題番号58570656によった。

文 献

- 1) 竹内秀雄・小西 平・高山秀則・友吉唯夫・岡田裕作・桐山畜夫・吉田 修：感染結石における結石内細菌と結石構築について。泌尿紀要 30：479～487, 1984
- 2) Resnick ML : Evaluation and management of infection stone, Urologic Clinics of North America 8：265～276, 1981
- 3) Griffith DP : Struvite stones, Kidney international 13：372～382, 1978
- 4) Herring LC : Observations on the analysis of ten thousand urinary calculi, J Urol 88：545～562, 1962
- 5) Prien EL : Crystallographic analysis of urinary calculi a 23-year survey study, J Urol 89：917～924, 1963
- 6) 鳥越 漸：尿路結石の偏光顕微鏡的研究。特に構造について、第Ⅱ編酸性磷酸カルシウム結石、磷酸アンモニウムマグネシウム結石。日泌尿会誌 46：251～262, 1955
- 7) Bastian HP and Gebhardt M : The varying

composition of the nuclues and peripheral
layers of urinary calculi, Urol Res 2: 91~
95, 1974

8) Thompson and RB Stamey TA: Bacteriology
of infected stone. Urol 2 : 627~633, 1973
(1984年4月24日受付)