

〈原著〉

尿路結石症患者をスクリーニングするための 尿濁度測定による簡易検査法の構築

川上 保子^{1),3)}、平塚 信夫¹⁾、久保田 亮¹⁾、金森 きよ子¹⁾、下村 弘治¹⁾、
小林 剛²⁾、木原 和徳²⁾、芝 紀代子¹⁾、佐藤 健次³⁾

A simple method for selecting patients with urinary tract calculi by measuring the turbidity of the urine

Yasuko Kawakami^{1),3)}, Nobuo Hiratuka¹⁾, Ryo Kubota¹⁾, Kiyoko Kanamori¹⁾,
Hiroji Shimomura¹⁾, Takeshi Kobayashi²⁾, Kazunori Kihara²⁾,
Kiyoko Shiba¹⁾ and Kenji Sato³⁾

Summary Urinary tract calculi can be detected by measuring the turbidity of urine. Potassium oxalate and calcium chloride were added to urine (final concentration, 2 mmol/L); subsequently, the solution was mixed immediately and left undisturbed for 5 min at room temperature. Turbidity was measured at 660 nm. The urine of healthy subjects and patients with urinary calculi was assessed. The latter were classified into patients experiencing the first episode of calculi and those with recurrent calculi. The absorbance of the urine of patients with urinary calculi was 0.489 (0.327) [mean (SD)] (calcium oxalate proportion >95%) and that of healthy subjects was 0.179 (0.079). Hence, the turbidity of the urine of patients with urinary calculi was significantly high ($p > 0.05$). There was no difference in the turbidity of the urine of healthy subjects and that of patients with recurrent calculi. Nevertheless, this method is useful for selecting patients with urinary calculi

Key words: Calcium oxalate, Urinary tract calculi, Urinary turbidity test

¹⁾文京学院大学 保健医療技術学部 臨床検査学科
〒113-0023 東京都文京区向丘2-4-1

²⁾東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科 泌尿器科学

³⁾東京医科歯科大学大学院 保健衛生学研究科 形態生態情報解析学

受領日 平成22年2月3日

受理日 平成22年2月8日

¹⁾Health Science Technology, Department of Clinical Laboratory Medicine, Bunkyo Gakuin University, Bukyo-ku, Tokyo 113-0023, Japan

²⁾Urology Graduate School of Medical and Dental Sciences, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

³⁾Anatomy and Physiological Science, Graduate School of Health Care Sciences, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan

I. 緒言

尿路結石にはシュウ酸カルシウム結石、リン酸カルシウム結石、リン酸アンモニウムマグネシウム結石、尿酸結石、シスチン結石など様々なものがあるが、その中ではシュウ酸カルシウムを含む結石が最も多く全体の約80%を占めている¹⁾。従って、尿路結石症患者尿中のシュウ酸、カルシウムの測定は臨床に欠かせない検査項目となっている^{2,4)}。

しかし、尿路結石の生成は、尿中のシュウ酸、カルシウムの他、尿酸などの結石形成促進因子及びクエン酸やマグネシウムのような結石形成抑制因子によって影響され、それら総ての因子の働きが尿路結石生成に関与するものと考えられている⁵⁾。

尿路結石症の診断を行う上でこれらの関連項目を全て測定するのが望ましいが容易ではない。又、現在治療の主流は体外衝撃波結石破碎治療(ESWL)であるが再発率が高いことなどから尿路結石症の発症・再発が予知できる簡便な測定法の開発が要望されている。

そこで我々は、一つの試みとして、尿に微量の一定量のシュウ酸カリウムおよび塩化カルシウムを添加混合し、生成した僅かなシュウ酸カルシウムの濁り(以後、濁度という)を測定する方法を考案し、この方法を用いることにより尿路結石患者尿と健康人尿との相違が判別できるかどうかを検討したので報告する。

II. 対象および方法

1. 対象

東京医科歯科大学医学部附属病院泌尿器科を受診した尿路結石症患者13名(26歳~74歳、男性10名、女性3名)の随時尿、健康者15名(年齢25歳~74歳、男性9名、女性6名)の随時尿を用いた。尿は測定時まで-80℃で保存したものを加温(37℃)して溶解後、混和して使用した。検体採取においてはインフォームドコンセントを得た。

2. 濁度測定

シュウ酸カリウム一水和物(特級、和光純薬工業(株))を10 mmol/L、塩化カルシウム(特級、和光純薬工業(株))を100 mmol/Lの濃度に調製した。これらを終濃度2 mmol/Lになるよう尿に添加し、ミキサーを用いて5秒間混和後セルに移し、5分間静置して濁度(吸光度)をUVmini-1240V(島津製作所)を使用して波長660 nmで測定した。

3. 結石成分の同定及び成分比率測定

結石の一部(中心部分)を取り、臭化カリウムを加えて粉碎後、錠剤成形し赤外線分析(赤外線吸収スペクトロフォトメトリー)を行い、成分の同定および成分比率を算出((株)エスアールエルへ委託)した。

Table 1 The patient profiles

Patient No.	Sex	Age	Primary/Recurrent calculi	Proportion of different components in the urine
1	F	65	Primary	Calcium Oxalate>98%
2	M	36	Primary	Calcium Oxalate>98%
3	M	45	Primary	Calcium Oxalate>98%
4	M	74	Primary	Calcium Oxalate>98%
5	M	26	Primary	Calcium Oxalate, 97%/Calcium Phosphate, 3%
6	M	56	Primary	Calcium Oxalate, 95%/Calcium Phosphate, 5%
7	M	42	Primary	Calcium Oxalate, 85%/Calcium Phosphate, 15%
8	F	44	Primary	Calcium Oxalate, 84%/Calcium Phosphate, 16%
9	F	61	Primary	Calcium Oxalate, 82%/Calcium Phosphate, 18%
10	M	70	Primary	Calcium Oxalate, 81%/Calcium Phosphate, 19%
11	M	62	Recurrent	Calcium Oxalate>98%
12	M	42	Recurrent	Calcium Oxalate, 92%/Calcium Phosphate, 4%
13	M	60	Recurrent	Calcium Oxalate, 78%/Calcium Phosphate, 22%

Ⅲ. 結果

1. 結石成分の同定及び成分比率

患者13例の尿路結石の成分の同定および成分

比率をTable 1に示した。シュウ酸カルシウム結石の割合が多く、95%以上を占めたものは53.9% (7例/13例)、80%以上を占めたものは92.3% (12例/13例)であった。1例のみシュウ酸カルシウムが78%であったが、13例全例がシュウ酸カルシウムを主成分とする尿路結石であった。

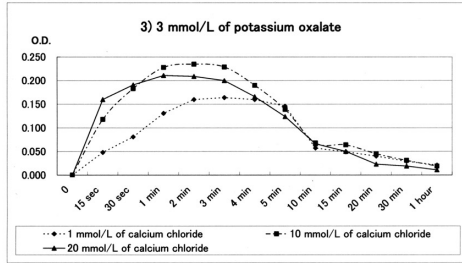
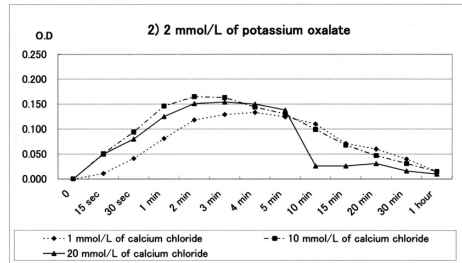
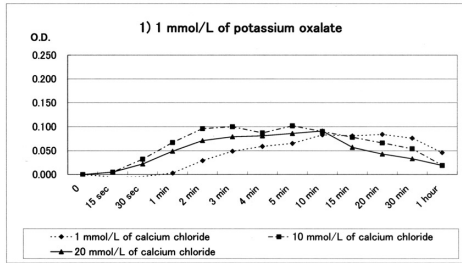


Fig. 1 Effect of different concentrations of potassium oxalate and calcium chloride on the turbidity of the urine of healthy subjects.

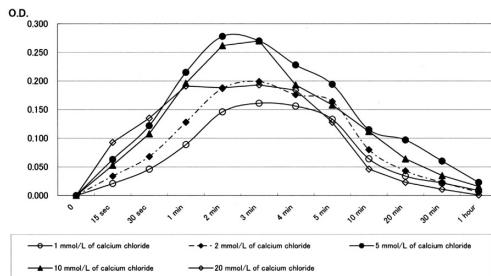


Fig. 2 Effect of different concentrations of calcium chloride and 2 mmol/L of potassium oxalate on the turbidity of the urine of healthy subjects.

2. 濁度測定のための至適条件検討

濁度測定においてシュウ酸カリウム液と塩化カルシウム液を添加する際の至適濃度の設定を行った。シュウ酸カリウムの終濃度を1、2、3 mmol/Lの3濃度、塩化カルシウムの終濃度を1、10、20 mmol/Lの3濃度に設定して濁度を測定した。その結果をFig. 1に示した。シュウ酸カリウムの終濃度が1 mmol/Lの時は塩化カルシウ

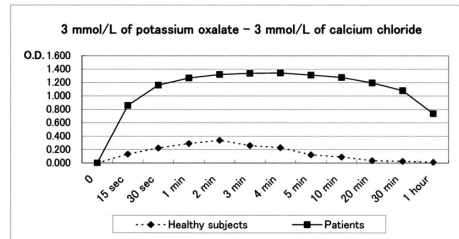
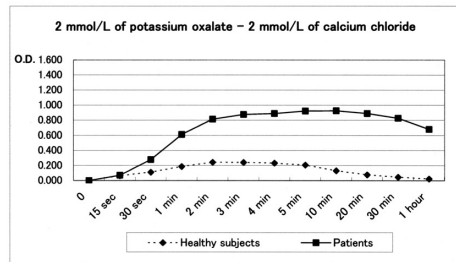
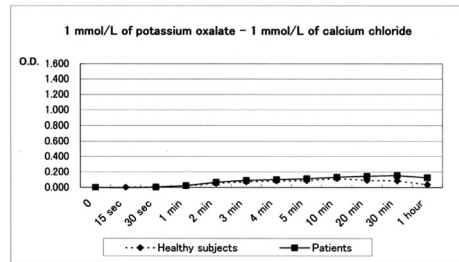


Fig. 3 Comparison of the turbidity of the urine of healthy subjects and patients with urinary tract calculi.

Table 2 Results of the turbidity test

		N	Turbidity (mean) (O.D.)
Healthy subjects		15	0.179
Patients with urinary tract calculi	Urinary tract calculi	13	0.339 ※
	Calcium Oxalate ≥ 95%	7	0.489 ※
	Calcium Oxalate ≥ 85%	5	0.152 ※
	Primary		
	Calcium Oxalate ≥ 95%	6	0.537
	Calcium Oxalate ≥ 85%	4	0.119
Recurrent			
Calcium Oxalate ≥ 95%	1	0.199	
Calcium Oxalate ≥ 85%	1	0.288	

※ $p < 0.05$

ムの濃度が増加しても、濁度に大きな変化は見られなかった。この傾向はシュウ酸カリウム濃度が2 mmol/L、3 mmol/Lと増加しても同様であった。このことから濁度は塩化カルシウムの濃度には依存せず、シュウ酸カリウム濃度に依存して増加することがわかった。シュウ酸カリウム2 mmol/L濃度の時が0~0.15と吸光度の性能が一番良い吸光度変化を示した。このことからシュウ酸カリウムの濃度は2 mmol/Lを採用することとした。

シュウ酸カリウム濃度を2 mmol/Lとした時に塩化カルシウム濃度を1、2、5、10、20 mmol/Lとした場合の濁度の違いをみた。Fig. 2に示した通り塩化カルシウムは1、2、5 mmol/Lと濃度が高くなるにつれて濁度が上昇したが10 mmol/L以上になると逆に低下した。Fig. 1及びFig. 2の結果から、濁度の強さは主にシュウ酸カリウムの濃度によることが分かった。

さらに、濁度において健常人尿と尿路結石症患者尿とに差が認められなければ検査法としては使用できない。そこで、シュウ酸カリウムと塩化カルシウムの終濃度を1、2、3 mmol/Lに設定し尿路結石症患者尿、健常者尿に添加して経時の変化を観察し、その結果をFig. 3に示した。

シュウ酸カリウムと塩化カルシウムをそれぞれ終濃度1mmol/Lになるように添加したのについて濁度の安定する5分後の値をみると、患者尿と健常者尿の濁度はそれぞれ吸光度で0.114、0.090と21%の違いであった。シュウ酸カリウムと塩化カルシウムの濃度を増すごとにその差は大きくなり、2 mmol/Lでは、吸光度で0.923、0.206と78%、3 mmol/Lでは吸光度で

0.122、1.312で91%と差が更に大きくなった。3 mmol/Lでは、患者尿の濁度が吸光度の1.00を超えることから、測定精度が悪くなることが考えられ、これらの結果を総合し、シュウ酸カリウムと塩化カルシウムの終濃度を2 mmol/Lになるように添加する方法を採用した。測定時間は濁度が安定する5分後の吸光度を測定することとした。

3. 濁度

濁度測定の結果をTable 2に示した。健常人尿15例の濁度は 0.179 ± 0.079 (平均値 \pm SD)であり、シュウ酸カルシウム結石症患者の濁度は 0.339 ± 0.290 であった。赤外線分析においてシュウ酸カルシウムの比率が95%以上の尿路結石症患者尿の濁度は 0.489 ± 0.327 であり、シュウ酸カルシウムの比率が85%以下の尿路結石症患者尿の濁度は 0.152 ± 0.078 であった。尿路結石症再発患者尿の濁度は 0.238 ± 0.046 であり、初発患者尿の濁度は 0.370 ± 0.328 であった。

健常者尿と比較した結果、シュウ酸カルシウムの比率が95%以上の尿路結石症患者尿の方が $p < 0.05$ で有意に高値であった。また、シュウ酸カルシウムの比率が95%以上の初発患者尿の方が $p < 0.05$ で有意に高値であることがわかった。また、シュウ酸カルシウムの比率が95%以上の尿路結石症患者尿の方がシュウ酸カルシウムの比率が85%以下の尿路結石症患者尿よりも $p < 0.05$ で有意に高値である結果が得られた。初発患者と再発患者とを比較した結果には有意な差は見られなかった。

Ⅳ. 考察

今回の実験で濁度を測定することにより尿路結石症患者尿と健常者尿とを鑑別することが可能であることがわかったが、これを更に実用化していくためには濁度の日内、日差変動による再現性などの詳細な事項を検討する必要がある。また、食事による影響や治療薬との関連についても検討していきたい。

尿路結石の80%はカルシウム結石であるが、これは、尿中のカルシウムと食物に含まれているシュウ酸が結合して、結晶化したものである。通常、シュウ酸とカルシウムは腸の中で結合し、便として排泄される。しかし、腸内で動物性脂肪やタンパク質に含まれる脂肪酸がカルシウムと結合して排出されてしまうと、余剰のシュウ酸は腸で吸収され腎臓を経て排泄される。そこで尿中のカルシウムと結合し結晶となる。また、近年のカルシウム不足も要因の一つであり、腸でシュウ酸と結合するカルシウムが不足すると余剰のシュウ酸は腎臓で尿中のカルシウムと結合し、結石が形成される⁶⁾。胆石、膵炎と並んで、3大激痛の病気のひとつに数えられる尿路結石症は年々増加しており⁷⁾、その再発率の高さ⁸⁾からも尿路結石形成の要因を究明することは大変重要であり、急務である。

本研究では、尿路結石生成機序の解析検討の一つとして、尿中に一定濃度のシュウ酸カリウムおよび塩化カルシウムを添加混合した時の濁度(吸光度)を測定することにより、尿路結石症患者尿と健常者尿の濁度の差異を検討した。その結果、シュウ酸カルシウムの比率が95%以上の患者と健常人およびシュウ酸カルシウム比率95%以上の初発の患者とに有意な差($p < 0.05$)が見られたことは興味深い結果であった。再発患者では健常人との間に差異が認められなかった。このことは、再発患者尿中にシュウ酸カルシウム結石形成を阻止する因子が存在するためと思われ⁹⁻¹¹⁾、これを解明するために、尿路結石症患者尿中タンパクの分析を行っていきたいと考えている。

Ⅴ. 結語

本研究により、適切な試薬を尿路結石症患者

尿に添加混合して得られる結石尿濁度測定法は尿路結石症の発症の危険度・初発・再発をある程度推定し得る有用な方法であることが確かめられた。今後、症例を増すことにより検出率を更に高めて行きたいと考える。

文献

- 1) 日本泌尿器科学会, 日本Endourology, ESWL学会, 日本尿路結石症学会編: 尿路結石症診療ガイドライン, 20-21, 金原出版株式会社, 東京, (2007)
- 2) Strauss AL, Coe FL, Parks JH: Formation of a single calcium stone of renal origin. Clinical and laboratory characteristics of patients. Arch Intern Med, 142: 504-507, 1982.
- 3) Klugman V, Favus MJ: Diagnosis and treatment of calcium kidney stones. Adv Endocrinol Metab, 6: 117-142, 1995.
- 4) Tiselius HG: An improved method for the routine biochemical evaluation of patients with recurrent calcium oxalate stone disease. Clinica Chimica Acta, 122: 409-418, 1982.
- 5) Kulaksizoglu S, Sofikerim M, Cevik C: Impact of various modifiers on calcium oxalate crystallization. International Journal of Urology, 14: 214-218, 2007.
- 6) Borghi L, Schianchi T, Meschi T, Guerra A, Allegri F, Maggiore U, Novarini A: Comparison of two diets for the prevention of recurrent stones in idiopathic hypercalciuria. N Engl J Med, 346: 77-84, 2002.
- 7) 日本泌尿器科学会, 日本Endourology, ESWL学会, 日本尿路結石症学会編: 尿路結石症診療ガイドライン, 17-19, 金原出版株式会社, 東京, (2007)
- 8) Strohmaier WL: Course of calcium stone disease without treatment. What can we expect? Eur Urol, 37: 339-44, 2000.
- 9) Koide T, Takemoto M, Itatani H, Takaha M, Sonoda T: Urinary macromolecular substances as natural inhibitors of calcium oxalate crystal aggregation. Investigative urology, 18: 382-6, 1981.
- 10) Merchant ML, Cummins TD, Wilkey DW, Salyer SA, Powell DW, Klein JB, Lederer ED: Proteomic analysis of renal calculi indicates an important role for inflammatory processes in calcium stone formation. Am J Physiol Renal Physiol, 295: F1254-8, 2008.
- 11) Honda M, Yoshioka T, Yamaguchi S, Yoshimura K, Miyake O, Utsunomiya M, Koide T, Okuyama A: Characterization of protein components of human urinary crystal surface binding substance. Urol Res, 25: 355-360, 1997.