Electron Probe X-ray Microanalyser による 尿路結石内無機元素の分布に関する研究

第2報 磷酸カルシウム結石および尿酸結石

十和田市立中央病院泌尿器科 木 村 行 雄
(部長: 木村行雄博士)

STUDIES ON DISTRIBUTION OF INORGANIC ELEMENTS IN URINARY STONES BY ELECTRON PROBE X-RAY MICROANALYSER

Report 2. Calcium Phosphate Stone and Uric Acid Stone

Yukio Kimura

Department of Urology, Towada City Hospital, Towada, Japan

(Director: Dr. Y. Kimura)

In the previous paper, the distribution of inorganic ions in the calcium oxalate stone and calcium oxalate and calcium phosphate stone examined by electron probe X-ray microanalyser (E.P.M.A.) was reported. In this paper distribution of inorganic ions in the calcium phosphate stone and uric acid stone was studied by using E.P.M.A.

The results obtained are as follows:

1. Calcium phosphate stone.

In the outer portion of the stones, Ca, P, Mg, Na and K were distributed homogeneously, although a slightly uneven distribution was seen for Mg, Na and K. No particular structure was seen corresponding to the distribution of these ions.

As to the nucleus of calcium phosphate stones, two types were observed: In one type the quantity and quality of inorganic ions contained in the nucleus (Ca, P, Mg, Na and K) are almost the same as those seen in the outer portion of the stone, indicating no difference between the nucleus and outer portion of the stone in their inorganic constituents. In another type, the inorganic constituents of the nucleus were different from those of the outer portion. In this case, S, Al and Cl were contained in the nucleus in addition to Ca, P, Mg, Na and K. S and Cl were situated in different portions of the nucleus from Mg, Na and K.

2. Uric acid stone.

Two types of uric acid stone were observed. One type contained no inorganic ions. Another type contained Ca, Na and K in the outer portion of the stones. In the latter, Na and K were deposited in the different layers, showing a striped pattern.

結 言

前報¹⁾では尿酸カルシウム結石および尿酸カルシウムと磷酸カルシウムの混合結石の中で構成無機元素がどのように分布しているか electron probe x-ray microanalyser (EPMA と略す) にて検討した成績を報告したが, 本報では磷酸カルシウム結石および尿酸結石について検討した成績を報告する。

検査対象

手術的に摘出し, 赤外線分光分析およびX線回折にてその主成分を確めた磷酸カルシウム結石および尿酸結石各10個を検査対象とした。

検査方法

前報¹⁾と同じ方法にて検査用 sample を作成し, EPMA および位相差顕微鏡による検討を行なった。

図1 磷酸カルシウム結石の外層部

a) 位相差顕微鏡像 (10×10倍)
b) EPMA back scattering image
位相差顕微鏡像では網目状の構造が認められるが
back scattering image では一様な構造を示してい
る。

成 績

1) 磷酸カルシウム結石

まず磷酸カルシウム結石の外層についてみると、図1, aは外層部の位相差顕微鏡像の代表例で黒を基調とし、赤、緑の色調を持った物質が認められ、この間に網目状の構造が認められるが、back scattering imageでは一様な構造を示している(図1, b)。今回の検査の対象とした磷酸塩結石はX線回折ではいずれも carbonate apatite であったが、EPMA 定性分析では Ca, P, Mg, Na およびKの各 peak が認められた(図2)。これら各元素の EPMA x-ray scanning でみると、Ca, P はむしろ、Mg, Na およびKも特に局在を示さなかった(図3)。

つぎに核の部分についてみると、この場合もX線回折では carbonate apatite であったが、EPMA では2通りの結石のあることが判明した。

まず、第1のものは、核の部分の EPMA 定性分析を行なうと、この部分に存在する Ca, P, Mg, Na およびKの分布と濃度は外層と殆んど変わらず(図4)、核も外層もその構成無機元素には本質的な差異のないものであった。第2の場合は核の定性分析により Ca, P, Mg, Na, K, Cl, S および Al と多数の元素の存在が認められる型である(図5)。この型の EPMA x-ray scanning では Ca, P は一様に存在するが、Mg, Na, Al, と S, Cl とは存在する場所が異なることが判明した(図6)。このような元素が sample 作成時の contamination では

図2 磷酸カルシウム結石外層部の EPMA 定性分析

Ca, P, Na, K, Mg の各 peak が認められる。(Ca, P, Na, K, Mg の各 Kα, Kβ はそれぞれの元素の存在と濃度を示す)。

患者：遠○■■■, 50才, 男性

15kV, 1.85×10^{-8} A, 4 mm—2 cm/min, 3×10^2 Linear, Beam 30μ。

横軸：X線発生源より分光結晶までの距離 (mm)

縦軸：X線の強度 (1 目盛 3 cps)

図3 磷酸カルシウム結石外層部の EPMA X-ray Scanning Image

a) Ca $K\alpha$ の x-ray scanning image b) P $K\alpha$ の x-ray scanning image
 c) Mg $K\alpha$ " " d) Na $K\alpha$ " "
 Ca, P, Mg, Na のどの元素も一様に存在し、特に局在を示さない。

図4 磷酸カルシウム結石の核の EPMA 定性分析 (1)

図2と同一結石で記録。図2と同様に Ca, P, Mg, Na およびKの存在が認められ、その濃度も同じであった。

患者：遠○■■■，50才，男性

15kV, 1.85×10^{-8} A, 4 mm—2 cm/min, 3×10^2 Linear, Beam 30μ.

横軸：X線発生源より分光結晶までの距離 (mm)

縦軸：X線の強度 (1 目盛 3 cps)

図5 磷酸カルシウム結石の核の EPMA 定性分析

Ca, P, Mg, Na, K の他に S, Cl, Al, Si の peak がみられる. このうち, Si は標本作成時の汚染である.

患者: 渡○XXXXXXXXXX, 54才, 男性
15kV, 1.85×10^{-8} A, 4 mm—2 cm/min, 3×10^2 Linear, Beam 30 μ .
横軸: X線発生源より分光結晶までの距離 (mm)
縦軸: X線の強度 (1 目盛 3 cps)

図6 磷酸カルシウム結石の核の EPMA X-ray Scanning Image.

- ↑ a) Ca K α の x-ray scanning image
 b) 説明図
 c) P K α の x-ray scanning image
 d) Mg K α " "
 e) S K α " "
 f) Na K α " "
 g) Cl K α " "
 h) Al K α " "

図5と同一標本で記録, Ca, P は標本の脱落した部分を除き一様に分布している. Na, Mg および Al は図の左上方より右下方に向って帯状に薄くなっており, この部に一致してSとClが高濃度に存在している.

← 図7 磷酸カルシウム結石の核の Mg と S の定性分析

図5, 6と同一標本. Mg と S の定性分析を電子線を固定し, 試料を50 μ /min 速度で走査させて記録. Mg の存在するところにはは存在しないし, また S の存在するところには Mg は存在しない.

図8 尿酸結石の位相差顕微鏡像, EPMA Back Scattering Image.

a) 位相差顕微鏡像
b) EPMA back scattering image.

位相差顕微鏡では結石外層が縞状になっているのがみられるが、核は粒状になっている。back scattering image では外層は一樣にみえるが、核はやはり粒状になっている。比較的内方にカルシウム塩を含む部分 (b) の白い部分) が周囲と明瞭な境界をもって粒として存在している。これは図12, c の Ca の分布と一致し、カルシウム塩を含んでいることが証明される。

図9 尿酸結石外層部の EPMA 定性分析 (1)

無機元素は全く存在しないのが認められる。
 患者：吉○■■■, 35才, 男性
 15kV, 1.85×10^{-8} A, 4mm—2cm/min, 3×10^2 Linear, Beam 30μ .
 横軸：X線発生源より分光結晶までの距離 (mm)
 縦軸：X線の強度 (1目盛3cps)

図10 尿酸結石の外層部の EPMA 定性分析 (2)

Na とKの著明な peak と Ca の小さい peak が認められ、これらの元素の存在を示している。

患者：中○■■■，43才，男性

15kV, 1.85×10^{-8} A, 4mm—2cm/min.

横軸：X線発生源より分光結晶までの距離 (mm)

縦軸：X線の強度 (1目盛3cps)

図11 尿酸結石の外層部における Na とKの分布

Na $K\alpha$, K $K\alpha$ および Ca $K\alpha$ でそれぞれ電子線を固定し、試料を50 μ /min の速度で走査させて記録。Ca は1カ所へのみ高濃度に検出されるが、その他の場所では薄く、場所によりその濃度は変化しない。しかし、Na とKの peak は交互に現われ、縞状に分布しているのが認められる。図10と同一標本

ないかどうか判定するため、結石の存在しない部分を含めて scanning すると、Mg, Na, K, Al, S および Cl はその存在の具合より結石内のものであることを確認出来たが、定性分析でみられた Si (図5) は結石外でも認められ、Sample 作成時の汚染であることが判明した。このように Mg, Na, Al に対して、S, Cl は別の場所に存

在するように見えたので、さらに確めるため、S と Mg をそれぞれの group を代表させ、電子線ビームを固定し、試料を一方方向に移動した際のこれら元素の存在をみると、図7にみられるようにSの存在するところにはMgは存在せず、またMgの存在するところにはSは存在しないことが認められた。

2) 尿酸結石

外層は位相差顕微鏡で図8, aのように層状構造がみられるが、back scattering image でも図8, bにみられるように層状構造がみられる。そして中央の核の部分は粒状になっているのが認められた。カルシウム塩の混入のある場合には尿酸結石に磷酸塩が混入したときと同様に尿酸の部分に明瞭な境界をもった粒状の相をなして存在するのが認められた (図8, b)。

尿酸結石には EPMA 上2つの型が認められた。その第1型は結石の核にも外層にも無機元素が全く認められないものであり (図9)，第2型は核にはやはり無機元素が認められないが、外層には無機元素の認められるものである (図10)。第1型は純粋な尿酸より構成されていると考えられる。第2型についてみると、外層の EPMA 定性分析では Na, K, Mg, Ca の peak がみられ、これらの元素の存在を示していた。

この尿酸結石の特異な点は、上述したように Na とKが強く検出されるが、この2つの元素は入り乱れることなく交互に縞状に存在していることであった (図11)。EPMA x-ray scanning imageでも Na とK は交互に層状構造をとって存在していることが認められた (図12)。

図12 尿酸結石外層部の EPMA X-ray Scanning Image

Ca は外層に粒状の相をなして存在しているのが認められた (図8, b, 図12, c)。

核の部分の定性分析では無機元素は検出されず、有機物のみより構成されていることを示した。

考 按

磷酸カルシウムは尿中の pH が酸性にかたむくときには brushite として析出し、アルカリ性にかたむくときには apatite として析出するとされるが²⁾、どのような無機元素がどの部位に存在するか検討した報告は少ない。

今回の研究では磷酸カルシウム結石 (X線回折では carbonate apatite) の外層における無機元素は Ca, P, Mg, Na および K が認められた。Ca, P に加えて Mg, Na および K の存在は、骨において hydroxyapatite の結

晶が形成される際に結晶とそれに接する液面で陽イオン、陰イオンの交換が起ることが報告されているが³⁾⁴⁾、結石においても同様のことが起るためと考えられる。Ca, P を含めて、これらの元素は濃度の差が多少あつても一様に存在し、特に局在、あるいは特別な構造を持たないことが判明した。

一方、核についてみると、2通りのものが認められた。その1は構成無機元素の種類と分布が外層と殆んど変わらないもので、核と外層に本質的な差異のないものである。第2のものは外層と核とが異つた構成元素をもつものである。すなわち、外層にみられた Ca, P, Mg, K, Na の他に S, Cl, Al などが認められている。前者の場合における結石の形成には一般的なことしか云えな

いが、後者の場合には結石の発生に際し、まず Al, Cl, Sなどを多量に含んだ尿が出される。そして、 AlCl_3 , CaCl_2 などは晶質の表面電位を減少させることが知られており⁵⁾⁶⁾、これらの元素をもつた化合物の直接作用、あるいは塩酸、硫酸イオンなどによる pH の変化などを介して磷酸カルシウムが析出する可能性が考えられる。この析出の際に、これらの元素も析出物内に取り込まれ、種々の元素の集積した結石の核が形成されたものと思われる。

この際、Mg, Na, Al と S, Cl とは存在する部位が異なることより、磷酸カルシウム結晶の構造がそれぞれ異なることが推定される。

つぎに尿酸結石についてみると、尿酸結石は一般に尿酸を核として晶出し、尿酸塩を含まぬものは少いとの報告⁷⁾もあるが、無機塩の存在は認められないとの報告⁸⁾もある。

今回の研究では尿酸結石の核の部分も有機物で形成され、特に尿酸塩あるいは磷酸塩などが核となる必要はないように思われる。外層部に関しては、尿酸カルシウムを含まない結石はなく、その場合、尿酸と尿酸カルシウムは同時に析出することなく、交互に結晶するとの報告がみられる⁷⁾。

今回の成績では図 8, 12にみられるように Ca の磷酸塩あるいは尿酸塩は尿酸とは同時に析出せず、層状になっており、さらに拡大してみると、Ca は尿酸塩の中に明瞭な境界をもつ粒状の相として存在し、尿酸塩の部分とは明瞭に分れているのが認められた。

さらにこのような記載は全くみられないが、尿酸結晶に含まれる Na と K は同時に沈着せず、縞状に存在する特徴を持っている。尿酸の結晶構造がその時によつて Na が入り易い場合と、K が入り易い場合とがあることが考えられるが、どのような状態のとき Na あるいは K が入り易い結晶が出来るか不明である。

結 語

手術的に摘出し、赤外線分光分析およびX線回折にてその成分を確めた磷酸カルシウム結石および尿酸結石における無機元素の分布状態を electron probe x-ray microanalyser および位相差顕微鏡にて観察し、下記のような成績が得られた。

1) 磷酸カルシウム結石 (carbonate apatite)

外層では磷酸カルシウムが一樣に存在し、多少の濃淡の差はあつても特別な分布はみられなかつた。また磷酸カルシウム結石には Mg, Na および K が混在している

のが認められたが、これらの元素は結石外層に一樣に存在し、この場合にも特別な分布様式は認められなかつた。

核については磷酸カルシウムに Mg, Na, K が外層とほぼ同程度に混入しており、外層と基本的に変らないものと、上記の Ca, P, Mg, Na, K の他に S, Cl, Al などが含まれているものがあり、これらは核と外層ではその構成々分の異なることがあることが判つた。なおこの場合、これら元素は一樣に存在せず、S, Cl と Mg, Na, Al は存在する場所が異なることが判明した。

2) 尿酸結石

赤外線分光分析およびX線回折でその成分が確められた尿酸結石には EPMA で核も外層も有機物、すなわち尿酸より成るものと、核には無機元素は含まれないが、外層には Ca, Na, K の含まれるものがあることが判明した。後者の場合には Na と K は一樣に存在せず、交互に縞状をなして存在していた。

稿を終るに臨み、本研究に種々御便宜をおはからい下さった秋田大学医学部泌尿器科学教室土田正義教授、また EPMA の御指導を賜った弘前大学理学部由井俊三教授に深謝致します。さらに尿路結石の薄片作成に御協力いただいた秋田大学医学部附属病院歯科井上温夫博士に感謝致します。なお、本論文は第44回日本泌尿器科学会東部連合総会（於秋田市）にて特別講演として発表したものの一部を加筆したものである。

文 献

- 1) 木村行雄: Electron Probe X-ray Microanalyser による 尿路結石内無機元素の分布に関する研究. 第1報. 尿酸カルシウム結石. 日泌尿会誌, 投稿中.
- 2) Elliot, J.S.: Solubility and crystalization in urinary stone disease. in Urinary Stone Research Symposium, Hodgkinson and Nordin, p. 199, Churchill, London, 1968.
- 3) Newman, W.F. and Neuman, M.W.: The chemical dynamics of bone mineral. p. 55, University of Chicago Press, Chicago, 1958.
- 4) Pak, C.Y.C. and Bartter, F.C.: Ionic interaction with bone minerals. I. Evidence for an isoionic calcium exchange with hydroxyapatite. Biochem. Biophys. Acta (Amst.), **141**, 401—409, 1967.
- 5) Maki, T. and Suzuki, N.: On mechanism of coagulation and solidification of gallstone ingredients in bile. Tohoku J. exp. Med., **84**, 259—273, 1964.
- 6) Maki, T. and Suzuki, N.: Experimental study

on the mechanism of formation of calcium carbonate stones. Tohoku J. exp. Med., **88**, 181—193, 1966.

- 7) 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3編. 尿酸, チスチン結石.

日泌尿会誌, **46**, 263—275, 1955.

- 8) 高崎悦司, 田中康信: **Electron Probe Micro Analyser** による尿石の分析, 臨泌, **28**, 617—620, 1974.

(1979年3月3日受付)