泌尿器科診療におけるレーザー顕微鏡の応用

平川真治、宮川征男

鳥取大学医学部泌尿器科

Clinical Applications of the Laser Microscope for Urology

Shinji Hirakawa and Ikuo Miyagawa

Department of Urology, Tottori University School of Medicine, Yonago

Abstract: In recently, the confocal reflecting laser microscope (CRLM) has been used in our department for clinical urology, particularly patients with hematuria or male infertility, without requiring fixation and staining. Dysmorphic red blood cells are found in the urine of patients with glomerular bleeding, on the other hand isomorphic red cells characterize non-glomerular or urological bleeding. In this study, urine specimens from 50 patients with hematuria were collected (group A). Thirty three patients had urological disease and 17 had nephritis. The CRLM of the urine specimens showed a marked morphological difference between dysmorphic and isomorphic erythrocytes. The sensitivity and specificity for urological disease by CRLM were 100% and 93.9%, whereas those for nephritis were 100% and 76.5%. Urine specimens from 37 pediatric patients with hematuria (group B) were also observed by the CRLM: 35 had a glomerular disease, and 2 had a non-glomerular origin. Of 35 patients with glomerular disease, only 8 cases (22.9%) were classified as dysmorphic pattern and 11 (31.4%) were diagnosed as mixed pattern. The reason why of this result was supposed that 26 cases were already recieved treatment, and dysmorphism of urinary red cells with glomerular bleeding may be changeable corresponding with the condition of glomerular disease. By the way, semen specimens from 27 fertile men and 14 infertile men were collected. The sperm showed some morphological differences between fertile men and infertile men by the CRLM. It was supposed that the good sperm had narrow sperm head, long sperm midpiece and wide acrosomal region of sperm head. From these results, it seems like that the CRLM makes it simpler and easier to evaluate the morphology of the erythrocyte in urine and sperm. The CRLM can be a good assistant diagnostic modality for patients with hematuria and investigative modality for male infertility.

Key words: laser microscope, confocal reflecting laser microscope, hematuria, male infertility

I 緒言

血尿の原因疾患の診断において、まず重要なことは、その血尿が糸球体性か非糸球体性なのかを鑑別することである。一般的に、糸球体性の場合は尿中赤血球が変形しており、非糸球体性の場合は正常赤血球がみられる¹⁾²⁾。この尿中

赤血球の形態診断には、以前から、位相差顕微鏡や走査型電子顕微鏡などが用いられてきたが^{1)~3)}、位相差顕微鏡は解像度が低く、観察にかなりの熟練を必要としており、また、走査型電子顕微鏡は固定などの前処置が煩雑であるため

いずれも日常診療においてルーチン検査にはなりにくいのが現状である。最近、当教室では、無固定、無染色で観察できるレーザー顕微鏡（レーザーテック社製）を用いて、血尿患者の尿中赤血球の形態をルーチンに観察しているので、それについて報告する。

また、男性不妊症患者の精子の形態に関する研究についても、このレーザー顕微鏡を用いているので、それについてもあわせて報告する。

II 目的

血尿患者の尿中赤血球形態ならびに男性不妊症患者の精子形態の観察にレーザー顕微鏡を用い、その有用性を検討するものである。

III 対象

1) 血尿患者

1990年11月から1991年2月までに当科に受診した血尿患者50例（A群）および1992年12月から1993年6月までに当科に受診した小児血尿患者37例（B群）を対象とした。

2) 男性不妊症患者

最近当科に受診した男性不妊症患者14例を対象とし、自然妊娠のあった正常男性27例を対照とし比較検討した。

IV 方法

血尿患者の新鮮尿10 mlを1500回転、5分間遠沈し、その沈渣を一滴、鏡張りしてあるスライドガラスの上におとし、カバーガラスをかけ、無固定、無染色で、レーザー顕微鏡を使用し、観察した。肉眼的血尿の場合は遠沈せず、そのままスライドガラスの上におとした。レーザー

顕微鏡としてはレーザーテック社製の1LM01か1LM11を使用した。このレーザー顕微鏡による尿中赤血球の形態診断をレーザー検尿と称している（図1）。また、モニター上の倍率は最大7200倍か6400倍だが、1440倍か1280倍あるいは3600倍か3200倍が尿中赤血球の観察に適している（表1）。排尿後1～2時間の新鮮尿なるべく用いるようにし、Thielらの分類⁴⁾にもとづいて30～50個（最低30個）の赤血球の形態を判定し、その検体の血尿由来を推定したが、一検体の評価に要する時間は5分以内であった。現在、判定基準として、石原らの報告⁵⁾にもとづき、尿中変形赤血球が70%以上を占める場合を糸球体性、正常赤血球が70%以上の場合を非糸球体性、両者の中間を混合型と判定している。

一方、精子の形態診断に際しては、手淫によって採取した精液を30～60分間室温に放置し、均質化したところで、その一滴を鏡張りしてあるスライドガラスの上におとし、カバーガラスをかけ、無固定、無染色で、レーザー顕微鏡で観察し、ビデオに収録し、それをコンピューターを用いて画像解析した。

V 結果

1) 血尿患者

まず、レーザー検尿における尿中正常赤血球像と変形赤血球像の例を図に示す（図2, 3）。A群の50例に関してはすでに報告されているが、33例が泌尿器科疾患、17例が腎炎の患者であった⁶⁾。レーザー検尿の泌尿器科疾患に対する感度は100%、特異度は93.9%であり、また、腎炎に対する感度は100%、特異度は76.5

%であった(表2,3)。一方、B群の小児例では、37例中35例が糸球体性疾患で、そのうち8例(24.2%)がレーザー検尿で糸球体性のパターンを示したのみだった(表4)。この原因として、35例中26例が治療開始後の症例であったため、治療により血尿のパターンが変わった可能性が示唆された。実際、治療前と再燃の計6例中5例(83.3%)が糸球体性のパターンを示していたし、治療前後の経過の追えた2例では、治療前の糸球体性から治療後混合型にパターンが変わっていた。

2) 男性不妊症患者

レーザー顕微鏡でみた正常精子像を図に示す(図4)。男性不妊症患者では、すでに報告したように⁷⁾、精子頭部の最大幅が $3.4\mu\text{m}$ (mean)と正常男性の $3.1\mu\text{m}$ に比べて有意に広く($P<0.05$)、精子中片の長さは $4.2\mu\text{m}$ と正常男性の $4.5\mu\text{m}$ に比べて有意に短かった($P<0.05$)。また、精子頭部のアクロゾーム領域の頭部全体表面に占める割合は男性不妊症でやや低い傾向にあり、一方、精子頭部の最大長は両者間で差がなかった。

図1 レーザー検尿の方法

表1 TVモニター上の倍率

object lens	final magnification	
	1LM01	1LM11
5X	360X	320X
10X	720X	640X
20X	1440X	1280X
50X	3600X	3200X
100X	7200X	6400X

図2 レーザー顕微鏡で見た正常赤血球像

図3 レーザー顕微鏡で見た変形赤血球像

表2 泌尿器科疾患に対する感度と特異度

		positive	negative	total
urological disease	+	31	2	33
	-	0	17	17
total		31	19	50

positive=isomorphic pattern
negative=dysmorphic + mixed pattern
sensitivity=100%, specificity=93.9%

表3 腎炎に対する感度と特異度

		positive	negative	total
nephritis	+	13	4	17
	-	0	33	33
total		13	37	50

positive=dysmorphic pattern
negative=isomorphic + mixed pattern
sensitivity=100%, specificity=76.5%

表4 B群のレーザー検尿の結果

diagnosis	morphology of urinary RBC			
	dysmorphic	isomorphic	mixed	unknown
glomerular diseases	8	14	11	2
hemorrhage cystitis		1		
menstruation		1		
total <n=37>	8	16	11	2

(unknown: because of the lack of numbers of RBC (<30))

図4 レーザー顕微鏡で見た正常精子像

VI 考察

例外もあるが、糸球体性(内科的)血尿では尿中に変形赤血球、非糸球体性血尿では正常赤血球がみられるとされている¹⁾²⁾。この尿中の赤血球の形態を観察するために、位相差顕微鏡や走査型電子顕微鏡などが用いられているが^{1)~3)}、いずれも日常診療でのルーチン検査にはなっていないのが現状である。

一方、尿中変形赤血球は正常赤血球にくらべ平均赤血球容積が小さい(小球性血尿)ことから、自動血球計数装置などを用いて、尿中赤血球容積分布を調べる方法が報告されているが⁸⁾、尿中の非赤血球成分をも一緒に分析してしまう欠点がある。

今回、リアルタイム共焦点型レーザー顕微鏡を用いて尿中赤血球形態を観察したが、従来の方法に比べて簡便で、染色や固定の必要性がなく、画像が鮮明であり、得られた結果も従来の

報告に比べ遜色なかった⁶⁾。

生きている精子を飯野らがレーザー顕微鏡を用いて観察して以来⁹⁾、当教室でもレーザー顕微鏡を用いて精子の形態を研究しているが、良い精子は頭部が狭く、中片が長く、頭部のアクロゾーム領域の頭部全体表面に占める割合が大きいなどということが推測されており⁷⁾、さらに研究が進められている。

VII 結論

レーザー顕微鏡は血尿患者の尿中赤血球形態ならびに男性不妊症患者の精子形態の観察に有用であると考えられた。

VIII 文献

- 1) Birch, D.F. et al.: Hematuria : glomerular or non-glomerular? Lancet. ii: 845-846, 1979.
- 2) Fassett, R.G. et al.: Detection of glomerular bleeding by phase-contrast microscopy. Lancet. i : 1432-1434, 1982.
- 3) Fairley, K.F. et al.: Hematuria : a simple method for identifying glomerular bleeding. Kidney Int. 21 : 105-108, 1982.
- 4) Thiel, G. et al.: Glomerulare erythrozyten im urin. Med. Wschr. 116: 790-797, 1986.
- 5) 石原幸宏・他: 血尿を起こす小児疾患をどう診るか. 小磯謙吉・他編集: 血尿の診かた 治しかた. pp46-52, 金原出版, 東京, 1992.
- 6) Miyagawa, I. et al.: Detection of glomerular bleeding by the confocal scanning laser microscope. Akt. Urol. 24(sup.): 89-91, 1993.
- 7) Sofikitis, N. et al.: New morphometric criteria for normal spermatozoa obtained by confocal scanning laser microscopy : application in male infertility clinic. J. Urol. 147(sup.): 322A (abstract), 1992.
- 8) Shichiri, M. et al.: Use of auto-analyser to examine urinary-red-cell morphology in the diagnosis of glomerular hematuria. Lancet. ii: 781-782, 1986.
- 9) Iino, A. et al.: Application of color laser microscope for observing living biological specimens. Cytobios. 60: 7-10, 1989.