

【目的】 尿路結石は、90%以上の無機成分と数%の有機成分で構成されている。その形成過程は、結晶核形成、成長、凝集、石灰化を辿ると考えられてきたが、その詳細な機序は未だ解明されていない。本研究の目的は、尿路結石の成長機序を解明するために、隕石学・鉱物学の技術を応用した尿路結石内の無機成分と有機成分の二次元マッピング法を開発し、さらにこの分析技術によって無機成分と有機成分の分布・構造の関係性を見出すことである。

【方法】 10 サンプルのシュウ酸カルシウム結石から、平面研磨によって構造観察や成分分析が可能な厚さ 20 μm の薄片を作製し、以下の研究を行った。研究 1：偏光顕微鏡を用いた尿路結石の結晶構造を観察した。研究 2：フーリエ変換赤外分光分析 (FT-IR) を用いた無機成分の分布構造解析を行った。研究 3：蛍光免疫染色を用いた有機成分 (osteopontin (OPN)、Renal prothrombin fragment 1 (RPTF-1)、calgranulin A (Cal-A) の分布構造解析を行った。

【結果】 まず代表的なサンプル 1 を評価した (図)。研究 1：偏光顕微鏡観察の光学的特徴から、結石中心部では、層状構造を呈した結晶領域 (A)、直径 50 μm の結晶で構成された領域 (B)、辺縁部では、直径 10 μm 以下の結晶で構成された領域 (C) に分類できた。研究 2：研究 1 の領域 (A)、(B) では、シュウ酸カルシウム一水和物 (COM) 99%に対して、領域 (C) では、二水和物 (COD) 40%を含んでいた。研究 3：領域 (A) では、OPN、RPTF-1 のみが層状かつ数 μm 均一の間隔で分布していた。領域 (B) (C) では OPN、RPTF-1 は結晶内に分布するものの、Cal-A は結晶粒界に分布していた。

さらに我々は 10 サンプルの追加分析から、尿路結石を構成する COM、COD 結晶の種類、およびそれぞれの結晶サイズ・構造の類似性から 4 つの Type に分類した。結石中心部では、数 μm 大の COM 結晶から成る顆粒状領域 (Type1) と、数十 μm 大の COM 結晶 から成るモザイク状領域 (Type2) を確認した。辺縁部では、数 nm 大の COM 結晶から成る層構造領域 (Type3) と、数十 μm 大の COD 結晶から成る領域 (Type4) を確認した。Type1 と Type2 では、OPN、RPTF-1 は結晶内部に、Cal-A は結晶粒界に分布していた。Type3 では、OPN、RPTF-1 は数 μm 均一な周期で、Cal-A は不均一な周期で層状に分布していた。Type4 では、OPN は結晶内を点状かつ直線状に、RPTF-1 は線状かつ縞状に分布していた。

【結論】 今回我々は、隕石学・鉱物学で用いられた技術を応用することで、尿路結石の無機成分・有機成分の二次元マッピング法を開発した。この手法により COM、COD の無機成分における OPN、RPTF-1、そして Cal-A の局在を初めて可視化することに成功した。また複数のサンプル分析結果から、尿路結石を構成する COM、COD 結晶の種類・サイズ・構造には類似性があり、その分類別の結晶においての 3 つの有機成分の分布に違いがあることがわかった。有機成分の局在の違いから、無機成分に対する相互作用が異なることが考えられた。

薄片切片を用いた有機成分マッピング

