ヒト尿の蓚酸カルシウム結晶形成能に関する研究

第1報 Aggregometer を用いた測定法の基礎的検討

和歌山県立医科大学泌尿器科学教室 (主任: 大川順正教授)

吉 田 利 彦

STUDIES ON CALCIUM OXALATE CRYSTALLIZATION PROPENSITY IN HUMAN URINE

1. Basal Studies for The Measurement Using An Aggregometer

Toshihiko Yoshida

Department of Urology, Wakayama Medical College

(Director: Prof. T. Ohkawa)

A simple method was described for studying calcium oxalate crystallization and estimating its crystallization propensity in human urine using an aggregometer for measuring thrombocyte aggregation. Calcium oxalate crystallization which was produced by adding freshly prepared sodium oxalate solution (1mM final concentration) into the standard solution of calcium chloride dihydrate or filtered human urine, was determined according to turbidity of the aggregometer. The variable process of calcium oxalate crystallization was continuously described as the turbidity curve on a recorder.

The results were as follows:

- 1) The turbidity increased in proportion to the concentration of standard calcium solution.
- 2) The turbidities were significantly decreased both by adding of sodium citrate and magnesium chloride dihydrate into the standard calcium solution or human urine, indicating that both inhibitors prevented the calcium oxalate crystallization.
- 3) In human urine, the turbidity at 20min. was calculated as an index after adding sodium oxalate solution, and the index (turbidity max) was defined to evaluate the calcium oxalate crystallization propensity.
- 4) There was a higher correlation between the turbidity max and the urinary ionized calcium concentration than between the turbidity max and the urinary total calcium concentration.
- 5) The turbidity max was correlated with the total volume of calcium crystals which were counted using a Coulter counter for human urine.

It is established that the aggregometer is very useful and convenient for studying calcium oxalate crystallization. There are two possibilities as regards the means to elucidate the pathogenesis of calcium oxalate crystallization in human urine and to study the efficacy of stone prophylaxis.

要旨: 血小板凝集能測定用 aggregometer を用いた蓚酸カルシウム結晶形成能測定法を考案し, その基礎的検討を行った。カルシウム標準液あるいは尿に一定量の蓚酸を添加することにより蓚酸カルシウム結晶形成を惹起し, それに基づく混濁度の変化を aggregometer を用いて経時的に測定した。本法を用いて, 以下の結果を得た。

- 1) 混濁度はカルシウム標準液の濃度に依存した。
- 2) 本法によりクエン酸およびマグネシウムの結晶形成抑制効果が明らかに観察された。
- 3) 反応20分後の混濁度 turbidity max を尿の蓚酸カルシウム結晶形成性能の指標として選択することが適切であることを確認した。
- 4) Turbidity max と尿中総カルシウム濃度およびイオン化カルシウム濃度との間には正の相関関係が示されたが, 特に後者との相関性は前者に比べより良好であった。
- 5) Coulter counter を用いて測定した尿中カルシウム結晶量と, その尿の turbidity max との間には

比較的良好な正の相関関係が認められた。

6) Aggregometer を用いた測定法は、ヒト尿の尿酸カルシウム結晶形成能を評価するひとつの有力な方法となり得ることが示唆された。

結 言

尿路結石の発生機序および原因の解明を目的とした、ヒト尿の結晶形成能に関する検討、特に尿中尿酸カルシウム結晶形成能の検討は、古くから様々な手段および方法が用いられ、多面的になされて来ているが、臨床的に有用でしかも簡便な結晶形成能測定法の報告はいまだみられないようである。

そこで今回、著者はヒト尿の尿酸カルシウム結晶形成能を検討する手段として、血小板凝集能測定用 aggregometer を用いた新しい実験系を作製し、詳細な基礎的検討を行った。その結果ならびに本法を用いての尿酸カルシウム結晶形成能測定の有用性についての考察等を記載する。

原理および実験方法

本来、aggregometer は一定波長での透過率の測定により、血小板凝集能を測定するものである¹⁾が、今回著者は尿酸カルシウム結晶形成による混濁度の経時的变化を測定するためにこれを用いることにした。使用した aggregometer は、HEMA TRACER 1, MODEL PAT-4M (二光バイオサイエンス社)であり、4チャンネル凝集計と記録計で構成され、凝集計の光源は発光ダイオード、および受光部はシリコンフォトセルで、測定波長は660nm が用いられている。なお、測定用セルの大きさは7φ×50mm で、その中に1φ×5mm のマグネットスターラーバーを入れると常時1,000rpm で攪拌され、更に測定部は37℃の恒温槽となっている。

セル内に、0.15M Tris-HCl Buffer (pH 6.0) で溶解した塩化カルシウム標準液あるいは、遠沈した後に0.45μm のフィルター (DISMIC-25, 東洋濾紙) で濾過した24時間尿200μl を入れ、0.15M Tris-HCl Buffer (pH 6.0) 25μl あるいは同溶液で溶解した test substance 25μl を加え、aggregometer にセットし37℃の一定温度下で攪拌しつつ、0.15M Tris-HCl Buffer (pH 6.0) の溶液で作製した10mM 尿酸カルシウム25μl (最終濃度; 1mM) を反応させた (Fig. 1)。この反応により尿酸カルシウム結晶が形成され、これに基づく混濁度の変化を経時的に測定した。なお、透過率0%すなわち混濁度100%の設定は25mM 硫酸銅溶液で行い、他方、透過率100%すなわち混濁度0%は、塩化カ

Fig. 1 Method of estimation of calcium oxalate crystal formation using aggregometer

ルシウム標準液で設定された。

以上の aggregometer を応用した尿酸カルシウム結晶形成能を評価する実験系を用いて、以下の点につき検討した。

- 1) 各種濃度の塩化カルシウム標準液を用いた場合の混濁度の経時的变化曲線の解析、およびその結晶形成に消費されたカルシウム量の検討
- 2) 4mM 塩化カルシウム標準液あるいは尿に、クエン酸、マグネシウムおよびピロリン酸を test substance として加えた時の、その混濁度に及ぼす影響に関する検討
- 3) 尿を用いた場合の混濁度の経時的变化曲線の解析
- 4) 24時間尿における尿酸ナトリウム添加20分後の混濁度と、その尿中の各種結石関連物質との相関性の検討
- 5) 尿中に既に存在するカルシウム結晶量と、その尿の尿酸ナトリウム添加20分後の混濁度との相関性の検討

なお、カルシウムおよびマグネシウムは原子吸光分析 (AA-630-12, 島津製作所)、イオン化カルシウムは Robertson の方法²⁾にほぼ準じて電極法で測定され、尿酸は Post-labelling 法を用いた高速液体クロマトグラフィ³⁾、クエン酸はクエン酸リアーゼを用いる方法⁴⁾、リンは Fiske-Subbrow 法、尿酸は Uricase-Catalase 法 (ウリカラー, 小野薬品) を用いて各々測定された。

また、尿中のカルシウム結晶量は、Coulter Counter (Industrial Model D, Coulter Electronics Limited,

Fig. 2 Outline of procedure for counting calcium crystals in urine using Coulter Counter

England)を用いて、Robertsonの方法⁵⁾にほぼ準じて行った (Fig. 2). すなわち、53μmのフィルターで濾過した24時間尿を2分して、一方には、その尿のpHに調整したEDTAを加えることによりカルシウム結晶を溶解し、他方には、やはりその尿のpHに調整した同量の0.15M Tris-HCl Bufferを加えた。そして、この両者の結晶量をそれぞれ Coulter Counterで測定し、両者の差を求めその尿の結晶量とし、次に Fig. 2に示す計算式で求めた。

結 果

1) 各種濃度の塩化カルシウム標準液を用いた場合の混濁度の経時変化曲線およびその結晶形成に消費されたカルシウム量

4mM 塩化カルシウム標準液での経時変化曲線を Fig. 3に示す。蔭酸ナトリウム添加後ただちに結晶形成に基づく透過率の減少が起こり始め、これは30秒で最高に達し、その後わずかな上昇を示し、約20分でほぼ一定値となった。1分30秒以後の混濁度の減少は、顕微鏡的観察の結果、結晶の凝集が進行することによるものと考えられた。また、この時みられる蔭酸カルシウム結晶は2水和物より1水和物の方が多数を占めた。

塩化カルシウム標準液の濃度を、4mM, 2mM, 1mM および0.5mMと変化させた場合の結果を Fig. 4に示す。カルシウム濃度の低下とともに、結晶形成の減少による混濁度の低下が認められた。また、蔭酸ナトリウム添加前のカルシウム濃度と、添加20分後の反応液

Fig. 3 Aggregometer pattern of a standard calcium solution (4mM CaCl₂)

Fig. 4 Influence of calcium concentration on calcium oxalate crystal formation

Fig. 5 Relationship between ΔFCa and final calcium concentration

のフィルター濾液中のカルシウム濃度との差、すなわち、蔭酸カルシウム結晶形成に使われたと考えられるカルシウム量を ΔFCa とすると、各カルシウム濃度と ΔFCa の関係は Fig. 5に示したごとくになった。

2) 4mM 塩化カルシウム標準液あるいは尿に test substanceを加えた場合の混濁度に及ぼす影響

4mM 塩化カルシウム標準液に、2mM, 4mM および

Fig. 6 Effects of sodium citrate, $MgCl_2$ and sodium pyrophosphate on calcium oxalate crystal formation in 4mM $CaCl_2$ solution

8mM のクエン酸 3 ナトリウムをそれぞれ加えると、クエン酸添加量の濃度依存的に混濁度の減少が認められ、8mM クエン酸では、混濁度は 0 を示し、ほぼ完全に結晶形成が抑制されているものと考えられた (Fig. 6a). 同様に、塩化マグネシウムを加えた場合にも濃度依存的な結晶形成の抑制効果が認められた (Fig. 6b). 一方、ピロリン酸ナトリウムを加えた場合には、クエン酸やマグネシウムの添加時とは異なる pattern を描き、その尿酸カルシウム結晶形成抑制効果は乏しいものと思われた (Fig. 6c).

次に、ヒト尿を用いて、同様にクエン酸 3 ナトリウムあるいは塩化マグネシウムを加え、結晶形成の抑制効果を検討した。塩化カルシウム標準液の場合と同様な抑制効果がみられ (Fig. 7), ΔFCa の値で検討すると、8mM クエン酸および 20mM マグネシウムの添加ではともにその値は 0 を示し、従って、その結晶形成は完全に抑制されたものと考えられた。

3) 尿を用いた場合の混濁度の経時的变化曲線の解析

Fig. 8 に、尿を使用した時の典型的な pattern を示す。塩化カルシウム標準液の場合とは若干異なった曲

Fig. 7 Effects of sodium citrate and $MgCl_2$ on calcium oxalate crystal formation in urine

Fig. 8 Aggregometer pattern of urine

線を示し、その混濁度は、尿酸ナトリウム添加後、漸次増加し一定値に到達した。この経時的变化を顕微鏡的に観察すると、形成される尿酸カルシウム結晶はほとんど正八面体の 2 水和物であり、反応初期の小さな結晶が次第に大きな結晶に成長していき、やがてこれらの結晶は凝集を開始するが、塩化カルシウム標準液の場合とは異なり、さほど大きく凝集した結晶の形成は認められなかった。

ヒト尿を用いて得られた曲線の解析は、その性質上、尿酸ナトリウム添加 20 分後の混濁度 turbidity max, 尿酸ナトリウム添加後の混濁開始までの lag time, および混濁開始から 1/2turbidity max に至る曲線の傾き $1/2max/T1/2max$ の 3 点により評価されるのが妥当と考えられた。また、同時に施行した多数例による検討結果から、これらの 3 者間には明らかな相関関係 (Fig. 9) がみられることが明らかとなったため、以後の評価は最も簡便な turbidity max を代表的な指標として検討することにした。

4) 24 時間尿の turbidity max とその尿中の各種結

Fig. 9 Relationships of turbidity max, lag time and $1/2\text{max}/T\ 1/2\text{max}$

(a) Relationship between turbidity max and lag time

(b) Relationship between turbidity max and $\frac{1}{2} \text{max} / T \frac{1}{2} \text{max}$

石関連物質との相関性

Turbidity max と尿中総カルシウム濃度の相関および turbidity max と尿中イオン化カルシウム濃度の相関を、各々 Fig. 10a および Fig. 10b に示した。両者とも有意な正の相関を示したが、特に turbidity max と尿中イオン化カルシウム濃度の間には、より良好な相関性が得られた。

他方、turbidity max と尿酸、マグネシウム、クエン酸、リンおよび尿酸の各々の尿中排泄濃度との間には有意な相関性は認められなかった。

5) 尿中に既に存在するカルシウム結晶量とその尿の turbidity max との相関性

尿中に存在する $3\mu\text{m}$ 以上のカルシウム結晶の総数とその尿の turbidity max の間には、正の相関関係がみられ (Fig. 11a), またカルシウム結晶の総体積量と turbidity max の間にも同じく正の相関関係が得られ

Fig. 10 Relationship between turbidity max and calcium concentration (total and ionized calcium concentration)

(a) Relationship between turbidity max and total calcium concentration

(b) Relationship between turbidity max and ionized calcium concentration

た (Fig. 11b) が、特に後者の相関性の方が前者に比べ優れていた。

考 察

尿路結石の発生機序および原因の解明は、古くから様々の手技および方法が用いられ多面的に検討されて来ているところである。特に、尿路結石中多数を占める尿酸カルシウム結石形成に関しては、今までに数多くの研究および検討がなされているにもかかわらず、現在までにいまだ充分解明されていないといっても過言ではない。

尿路結石症が何故におこるのだろうと考える時の最も素朴な疑問は、“Why some people have stone disease and others do not”⁷⁾ ということであり、そしてこの難問に対する対応は、古くは Howard⁸⁾ が “evil

Fig. 11 Relationships between turbidity max and preexistent crystals in individual urines

(a) Relationship between turbidity max and total number of crystals

(b) Relationship between turbidity max and total volume of crystals

urine”と“good urine”と表現しているのを始めとして、現在まで常に論議し続けられてきている問題である。

尿路結石の成因を解明するために、多くの先人たちが種々の実験や検討を行ってきている。まず、有名な実験である Thomas and Howard⁹⁾による、くる病ラットの軟骨を尿に加え mineralizing propensity を検討した実験を始めとする、尿への直接的操作を用いて結晶の形成され易い尿なのか否か、更には結晶を成長させ易い尿なのか否かを検討した報告 (Sutor¹⁰⁾, Gill¹¹⁾, Pak and Holt¹²⁾) が多数みられる。その後、Robertson らは saturation-inhibition index¹³⁾あるいは relative probability of forming stones¹⁴⁾といった結石形成の risk の総合的な評価法を考え、また、Tiselius¹⁵⁾¹⁶⁾は risk factor の数式化による相対を示し

ている。しかしながら、いずれの方法も優れた面を持っている反面、ほとんどのものが手技が非常に複雑であるため臨床のルーチン検査としては不適と考えられ、更には、inhibitor や promotor として重要な一部が除外され評価されているもののみられ、これらは尿の性状を総合的に評価するものとは考え難いと思われる。

Sutor (1976)¹⁷⁾は塩化カルシウム溶液に尿酸ナトリウムを添加し、毎分毎にその溶液の混濁度を比濁計で測定しそれらを plot することにより、尿酸カルシウム結晶形成を検討する実験系を考案するとともに、これを応用したクエン酸ナトリウムおよびヘパリンの inhibitory activity を報告している。しかしながら、この方法は非常に煩雑であり、かつ、単に inhibitory activity を検討する目的だけの実験系と思われる。

今回ここに記載された著者の方法は、同様に尿酸カルシウム結晶形成をその混濁度の変化で経時的に、かつ、動的に計測され得るものであり、極めて簡便で、個々の尿のもつ性状、すなわち尿酸カルシウム結晶を形成し易い“evil urine”か否かを的確に評価し得るひとつの方法であろうと考えられる。

本法は尿酸カルシウム結晶形成を混濁度で観察するものであるが、結晶形成から凝集の一部までを総合的に評価するものである。すなわち、何ら inhibitory substance を含まない塩化カルシウム標準液の場合では、尿酸ナトリウム添加後急速に混濁度が最高に達するが、その後凝集が進行し大きな aggregated crystal を形成するため、混濁度は低下する現象が認められた。しかし、尿を用いた場合にはこのような pattern はみられず、尿酸添加後の混濁度は漸次増加しその曲線は plateau に達した。すなわち、尿の場合にはある程度の結晶凝集の進行はみられたものの、大きな aggregated crystal は形成され得なかった。また、形成される尿酸カルシウム結晶にも違いがみられ、塩化カルシウム標準液に尿酸を添加した場合には 1 水和物、尿の場合には 2 水和物が大部分を占めた。以上の塩化カルシウム標準液と尿における結晶凝集および結晶形の差異は、尿中には様々な inhibitory ability をもつ物質が含まれるということに起因するものと推察される。

結晶形成の inhibitor と云われているものについて本法を用いて検討したが、クエン酸およびマグネシウムの両者で、濃度依存的な尿酸カルシウム結晶形成に対する抑制効果が認められた。ピロリン酸では、塩化カルシウム標準液を用いた場合 control に比べ尿酸添加 20 分後の混濁度はかえってやや高値になったが曲線

の pattern の変化が認められた。すなわち、control では結晶凝集の進行による混濁度の減少という現象が認められたが、ピロリン酸を加えた場合にはこの現象が抑制される傾向がみられたことから、ピロリン酸の場合は尿酸カルシウム結晶の形成機転ではなく凝集機転を抑制している可能性が示唆された。以上の結果より、本法は各種 inhibitor あるいは promotor を研究する上において、有用な評価法になり得るものと確信された。

尿中の各種結石関連物質とその尿の turbidity max との相関性について検討したところでは、尿中カルシウム濃度と有意な正の相関性が認められ、更にこれは総カルシウム濃度よりイオン化カルシウム濃度との相関性がより強く示された。尿路結石症における尿中カルシウム排泄量の重要性を述べる報告は古くから多数みられるが⁽¹²⁾⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾、最近では尿路結石症患者の尿中イオン化カルシウム排泄量および濃度はともに正常人に比べ有意に高値を示したとして、総カルシウムよりイオン化カルシウムの重要性を指摘する報告もみられる²⁰⁾。尿中総カルシウム濃度よりイオン化カルシウム濃度の高値が結石形成の risk を高くするものと考え得るならば、今回の実験結果は極めて納得のでき得るものであり、同時に、尿酸カルシウム結晶形成能のひとつの指標として turbidity max が有用であることを示唆するものと思われた。

従来より尿路結石症と結晶尿に関する報告は多数みられる。Robertson^{21)~23)}および鈴木²⁴⁾は、正常人に比べ再発性尿路結石患者の尿中には大きなかつ凝集された結晶が多く、結晶の総体積量が有意に高値を示したと報告しており、尿路結石形成における結晶尿の risk を指摘している。今回の実験結果では turbidity max と結晶量とは比較的良好な正の相関性が得られ、これも turbidity max が尿酸カルシウム結晶形成能をよく反映することを示す結果と考えられた。

結 語

ヒト尿の尿酸カルシウム結晶形成能を検討する手段として、血小板凝集測定用 aggregometer を用いた新しい実験系を作製し、その基礎的検討を行った。塩化カルシウム標準液あるいは尿に一定量の尿酸ナトリウムを添加することにより尿酸カルシウム結晶形成を惹起し、その混濁度の変化を aggregometer を用いて経時的に測定した。本法を用いて以下の結果を得た。

1) 塩化カルシウム標準液を用いた場合、標準液のカルシウム濃度の低下とともに混濁度の低下が認めら

れ、また、反応前後のカルシウム濃度の測定から計算された消費カルシウム量の減少が認められた。

2) 4mM 塩化カルシウム標準液あるいは尿にクエン酸ナトリウムあるいは塩化マグネシウムを添加した場合、両者ともに濃度依存的な結晶形成の抑制効果が混濁度の低下として認められた。

3) 尿を用いた場合の混濁度の経時的变化曲線を解析し、尿酸添加20分後の混濁度を turbidity max で表わし結晶形成能の指標とした。

4) Turbidity max と尿中総カルシウム濃度あるいはイオン化カルシウム濃度との間には正の相関関係が示されたが、特に後者との相関性は前者に比べより良好であった。

5) 尿中に存在するカルシウム結晶量とその尿の turbidity max との間には比較的良好な正の相関関係が認められた。

以上の結果より、本法は結晶形成過程に関与する inhibitor あるいは promotor の研究に活用でき得ることが実証され、また、尿の尿酸カルシウム結晶形成能を評価する1つの方法となり得る可能性が示唆された。

稿を終えるに臨み、御指導と御校閲を賜りました恩師大川順正教授に厚く感謝の意を表しますとともに、種々御指示、御助言を頂いた戎野庄一講師、森本鎮義講師ならびに研究生上原正樹氏に感謝致します。

なお、本論文の要旨は第34回日本泌尿器科中部連合総会および第74回日本泌尿器科総会において発表した。

文 献

- 1) 三品頼甫：アグリゴメーター。検査と技術，6，54—58，1978。
- 2) Robertson, W.G.: Measurement of ionized calcium in biological fluids. Clin. Chim. Acta, 24, 149—157, 1969.
- 3) 戎野庄一，北川道夫，森本鎮義，宮崎善久，南方茂樹，安川 修，大川順正：尿路結石症における尿酸代謝の研究 1. High Performance Liquid Anion Exchange Chromatography による尿中尿酸の測定。日泌尿会誌，74，1598—1605，1983。
- 4) 安川 修，高松正人，戎野庄一，森本鎮義，吉田利彦，大川順正：尿路結石症におけるクエン酸代謝の研究 1. クエン酸リアーゼを用いた尿中クエン酸の測定。日泌尿会誌，76，1848—1854，1985。
- 5) Robertson, W.G.: A method for measuring calcium crystalluria. Clin. Chim. Acta, 26, 105—110, 1969.
- 6) 森本鎮義：尿路結石症における尿中カルシウムイオン活量の研究 第2報 尿酸カルシウム結晶形成

- との関連ならびにマグネシウムおよびクエン酸による影響について. 日泌尿会誌, 76, 998—1005, 1985.
- 7) Burns, J.R. and Finlayson, B.: Why some people have stone disease and others do not. In *Stones Clinical Management of Urolithiasis*, Roth, R.A. and Finlayson, B., p. 3—7, Williams & Wilkins, Baltimore/London, 1983.
 - 8) Howard, J.E.: Urinary stone. *Cand. Med. Ass. J.*, 86, 1001—1007, 1962.
 - 9) Thomas, W.C. Jr. and Howard, J.E.: Studies on the mineralizing propensity of urine from patients with and without renal calculi. *Tr. Assoc. Am. Physicians*, 72, 181—187, 1959.
 - 10) Sutor, D.J.: Growth studies of calcium oxalate in the presence of various ions and compounds. *Brit. J. Urol.*, 41, 171—178, 1969.
 - 11) Gill, W.B., Silvert, M.A. and Roma, M.J.: Supersaturation levels and crystallization rates of calcium oxalate from unines of normal humans and stone formers determined by a ^{14}C -oxalate technique. *Invest. Urol.*, 12, 203—209, 1974.
 - 12) Pak, C.Y.C. and Holt, K.: Nucleation and growth of brushite and calcium oxalate in urine of stone-formers. *Metabolism*, 25, 665—673, 1976.
 - 13) Robertson, W.G., Peacock, M., Marshall, R.W., Marshall, D.H. and Nordin, B.E.C.: Saturation-inhibition index as a measure of the risk of calcium oxalate stone formation in the urinary tract. *New. Engl. J. Med.*, 294, 249—252, 1976.
 - 14) Robertson, W.G., Peacock, M., Heyburn, P.J., Marshall, D.H. and Clark, P.B.: Risk factors in calcium stone disease of the urinary tract. *Brit. J. Urol.*, 50, 449—454, 1978.
 - 15) Tiselius, H.G.: An improved method for the routine biochemical evaluation of patients with recurrent calcium oxalate stone disease. *Clin. Chim. Acta*, 122, 409—418, 1982.
 - 16) Tiselius, H.G.: Different estimates of the risk of calcium oxalate crystallization in urine. *Eur. Urol.*, 9, 231—234, 1983.
 - 17) Sutor, D.J.: A simple method for studying the formation of calcium oxalate. *Brit. J. Urol.*, 48, 177—182, 1976.
 - 18) 森本鎮義, 戎野庄一, 北川道夫, 宮崎善久, 大川順正: 尿路結石患者における過カルシウム尿症の検討. 日泌尿会誌, 74, 770—776, 1983.
 - 19) 戎野庄一, 北川道夫, 森本鎮義, 宮崎善久, 安川修, 深谷俊郎, 大川順正: 尿路結石症における risk factor の研究. 泌尿紀要, 31, 1—5, 1985.
 - 20) 南方茂樹, 森本鎮義, 吉田利彦, 安川修, 深谷俊郎, 上原正樹, 戎野庄一, 大川順正: 尿路結石症における尿中イオン化カルシウムの検討. 第36回泌尿器科中部総会, 京都, 1986.
 - 21) Robertson, W.G., Peacock, M. and Nordin, B.E.C.: Calcium oxalate crystalluria and urine saturation in recurrent renal stone-formers. *Clin. Sci.*, 40, 365—374, 1971.
 - 22) Robertson, W.G. and Peacock, M.: Calcium oxalate crystalluria and inhibitors of crystallization in recurrent renal stone-formers. *Clin. Sci.*, 43, 499—506, 1972.
 - 23) Robertson, W.G., Peacock, M. and Nordin, B.E.C.: Calcium crystalluria in recurrent renal stone-formers. *Lancet*, 2, 21—24, 1969.
 - 24) 鈴木孝治: 尿路結石症の研究. 蓚酸カルシウム結石患者における結晶凝集の検討. 日泌尿会誌, 72, 842—855, 1981.

(1987年6月10日受理, 特別掲載)