尿酸カルシウム結石形成におよぼす尿 pH と酸塩基平衡の影響

久留米大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 江藤耕作教授)

飯 田 如

EFFECTS OF URINARY pH AND ACID-BASE BALANCE ON THE FORMATION OF CALCIUM OXALATE STONE

Shizuka Iida

Department of Urology, Kurume University School of Medicine
(Director: Prof. K. Eto)

The effects of urinary pH and acid-base balance on the calcium oxalate stone formation was investigated by two experiments.

24-hr urine samples were collected from 15 recurrent CaOx stone formers, 9 single stone formers and 6 age-matched controls. Inhibitory effect of 1% urine in various pH (4.0~9.0) were calculated by a seed crystal method. In the seed crystal system, there were no significant differences in the inhibitory activity of aggregation (Ia) and in the inhibitory activity of size (Is) for each pH of metastable solution between the stone former group and the control group. However, the value of Ia and Is showed a tendency of rise in proportion to a rise in pH.

Rats model for calcium oxalate urolithiasis were fed with three different diets (1% NH_4Cl , 5% NaHCO_3 and 8% NaHCO_3 diet) for three weeks. On the fourth week, 24-hr urine samples were collected. In the animal experiment, calcium oxalate stone formations were predominantly recognized in the kidney of the 1% NH_4Cl diet group. The biochemical data showed an increase of urinary calcium and oxalate, and a decrease of urinary citrate.

These results suggest that low urinary pH and metabolic acidosis are promoters of the calcium oxalate stone formation.

Key words: calcium oxalate stone, urinary pH, acid-base balance

要旨: 尿酸カルシウム結石形成に対する, 尿 pH と酸塩基平衡のおよぼす影響について, 尿酸カルシウム結石患者の24時間尿を用いた *in vitro* の実験系と, ラット結石モデルを用いた *in vivo* の実験系より検討を試みた。

in vitro 実験: 健常者 6 名, 単発性尿路結石患者 9 名, 再発性尿酸結石患者 15 名に対して 24 時間の蓄尿をおこなった。得られた検体に対して, Coulter counter による seed crystal method を用い, 1% 尿希釈系における inhibitory activity of aggregation (Ia), inhibitory activity of size (Is) を算出した。その結果, Ia, Is とも健常人群と結石患者群間に有意差を認めなかったが, pH 上昇にともなって, ともに高くなる傾向にあった。

in vivo 実験: 体重 200g 前後の Wistar 系雄性ラットをもちい, 0.5% ethylene glycol 含有水と 1 α -(OH) D_3 製剤を 3 週間投与した。尿 pH を変化させるに当たって, 25 匹ずつ 3 群に分けて, それぞれ 1% NH_4Cl 含有食 (A 群), 5% NaHCO_3 含有食 (B 群), 8% NaHCO_3 含有食 (C 群) を投与した。その結果, 腎における尿酸カルシウム結石形成は, A 群において抑制されず, B 群, C 群においては, 結石形成は有意に抑制されていた。生化学検査では, A 群において, 尿中カルシウムおよび尿酸の増加と尿中クエン酸の減少が認められた。以上より, 代謝性アシドーシスと尿 pH の低下が, 尿酸カルシウム結石形成に促進的に働いていることが示唆された。

キーワード: 尿酸カルシウム結石, 尿 pH, 酸塩基平衡

結 言

尿路結石形成機転における尿 pH の変化は、尿中結石関連物質の saturation level に強く影響をおよぼすことにより、結石構成成分の決定の際の重要な factor と考えられる。たとえば、尿酸結晶は、酸性尿において析出しやすく、リン酸カルシウム結晶やリン酸マグネシウムアンモニウム結晶はアルカリ尿で析出しやすいことが知られている。尿酸カルシウム結晶は、酸性尿にて析出しやすいといわれるが、その理由については、酸性側における尿中 inhibitor の活性低下¹⁾や、尿酸イオンがカルシウムイオンと結合し尿酸カルシウム塩を生じやすい²⁾ことが知られている。しかし、尿酸カルシウム結晶の形成機転における尿 pH の影響についてはある程度は解明されているものの、尿 pH を規定している酸塩基平衡を検討した報告には、接し得なかった。そこで、今回は、in vitro の実験系（実験 1）により、pH の変化が尿酸カルシウム結晶形成にどのような影響をおよぼすかを検討した。さらに、in vivo の実験系（実験 2）では、実際に尿酸カルシウム結石形成モデルをもちいて、同様の検討をし、若干の知見を得たので報告する。

対象および方法

実験 1：

健常者 6 名、単発性尿路結石患者 9 名、再発性尿路結石患者 15 名（いずれも尿酸カルシウムまたは尿酸カルシウムと磷酸カルシウムの混合結石で、感染や内服薬投与のないもの）に対して、濃塩酸 90mmol を加えて、24 時間蓄尿を常温にておこない、pH 2.25～2.95 に調整後、実験に供するまで -70℃ で凍結保存した。

実験当日、恒温槽にて 37℃ で解凍した後、マグネチックスターラーにて攪拌しつつ、8mol/l NaOH にて pH 6.0 に調整し、paper filter (Watman No. 3) にてろ過し、さらに 0.45μm millipore filter に通し、細胞成分を除去した尿を実験に使用した。

seed crystal method は、Robertson ら³⁾、Ryall ら⁴⁾、鈴木ら⁵⁾の方法に準じて 1% 尿希釈系で検討した。すなわち、Ca-OX metastable solution (CaCl₂ : 1mM/l, Na₂C₂O₄ : 0.2mM/l, NaCl : 0.15M/l, 10mM/l sodium cacodylate) を作製後、各々 100ml ずつビーカーに分け、pH 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0, 9.0 に調整し、再度 0.45μm millipore filter を通したものに Ca-OX crystal suspension (半井薬品：Ca-OX monohydrate 100mg を生食 100ml に投入し、超音波にて 30 分処理) を 2.5ml ずつ添加し、添加直後と、マグネチッ

クスターラーにて 1 時間攪拌後の各 size 毎の結晶数を、Coulter Multisizer にて測定し、尿を 1% 濃度となる様添加した時の結晶の変化と比較した。アパーチャー径は 100μm とし、2～50.8μm の 16channel 分割の結晶数を interface を介して、personal computer に送り、直ちに各 size 毎の結晶数、体積、全結晶数、平均粒子径、累積度分布などを算出し、data は直接フロッピーディスクに入力した。これらの data を用い、Inhibitory activity of aggregation (Ia), Inhibitory activity of size (Is) を求め、健常者と結石患者間で比較した。なお統計学的検討は、Wilcoxon test にておこなった。

実験 2：

体重 200g 前後の Wistar 系雄性ラットを用い、結石形成については、岡田ら⁷⁾の方法に準じた。すなわち、Fig. 2 に示すごとく 0.5% ethylene glycol 含有水を自由摂取させ、1α-(OH)D₃ 製剤（アルファロール：中外製薬）0.5μg を胃ゾンテにて隔日投与した。尿 pH を変化させるため、普通飼料 (CE-2：日本クレア) を用い、1% NH₄Cl 含有食 (A 群)、5% NaHCO₃ 含有食 (B 群)、8% NaCHO₃ 含有食 (C 群) をそれぞれ作成した。それぞれのラットは、一定期間普通食にて飼育後、無作為に 25 匹ずつ 3 群に分けて、前述の特別食を投与し飼育した。それぞれのラットは、実験開始前と 4 週目に 6 時間および 24 時間の蓄尿をおこない、尿 pH、尿中カルシウム、リン、マグネシウム、尿酸、クエン酸、クレアチニンの測定および尿路感染の有無を調べた。さらに、実験開始後 2 週目、3 週目にも 6 時間の蓄尿を行い、尿 pH の測定と検尿をおこなった。なお、蓄尿の際は、代謝ケージにて 1 匹ずつ飼育した。尿 pH は pH メーターにて測定し、尿中尿酸排泄量は、尿酸酸化酵素を用いた尿中尿酸測定キット (Sigma)、クエン酸はクエン酸リアーゼを用いた方法⁸⁾、尿中カルシウム、リン、マグネシウムは比色法、クレアチニンは Jaffe' 法により測定した。屠殺は、4 週目におこなった。屠殺の際、膀胱を微小電極（ユニックメディカル）を用いて穿刺し、尿 pH を測定した。採血は、腹部大動脈よりおこない、血中カルシウム、リン、マグネシウム、尿素窒素、クレアチニン、血液ガスを測定した。腎摘出後、結石形成の有無を軟線撮影にて調べ、右腎は H.E. 染色を、左腎は組織中カルシウム、マグネシウム含有量を原子吸光分光光度計にて測定した。なお、形成された結石は赤外線分光分析をおこなった。なお、実験途中で死亡もしくは尿路感染を合併したものは除外し

Fig. 1 Inhibitory activity in various pH

A) Inhibitory activity of aggregation (Ia). SSF: single stone formers, RSF: recurrent stone formers. B) Inhibitory activity of size (Is)

た。

なお、本実験の統計学的検討は student's t test によった。

結 果

実験 1

Ia, Is とも、それぞれの pH において、健常人と結石患者間に統計学的有意差を認めないものの、pH の上昇にともなう高くなる傾向にあった (Fig. 1A, 1B)。

実験 2

尿中結石関連物質の測定結果を Table 1 に示す。なお、測定条件の違いによる誤差を少なくするため、クレアチニンによる補正をおこなった。

A, B, C 群の間で統計学的有意差を認めたのは、尿酸、クエン酸であり、カルシウムに関しては有意差は認めなかった。

尿酸は A 群に対して B 群 ($p < 0.05$), C 群 ($p < 0.01$) はそれぞれ有意に低値であった。

Table 1 Urinary calcium, phosphate, magnesium, citrate, creatinine and urine volume.

	Pre (n=61)	GroupA (1% NH ₄ Cl) (n=23)	GroupB (5% NaHCO ₃) (n=19)	GroupC (8% NaHCO ₃) (n=19)
U-Ca/U-Cr (mg/day)	0.083±0.010	0.264±0.064	0.197±0.045	0.166±0.042
U-P/U-Cr (mg/day)	3.548±0.117	2.460±0.211	2.374±0.221	2.543±0.190
U-Ox/U-Cr (mg/day)	0.104±0.043	0.415±0.072	0.210±0.036	0.145±0.020
U-Mg/U-Cr (mg/day)	0.359±0.033	0.329±0.082	0.419±0.058	0.311±0.051
U-Cit/U-Cr (mg/day)	7.591±0.662	3.354±0.915	6.245±0.668	5.996±0.689
U-Cr (mg/day)	5.968±0.221	7.505±0.741	9.735±0.495	9.322±0.735
U-Vol (ml/day)	15.1±0.9	44.7±3.7	18.2±1.8	15.0±2.2

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ (mean±S.E.)

Table 2 Serum urea nitrogen, creatinine, calcium, phosphate and base excess in each group.

	GroupA (1% NH ₄ Cl) (n=23)	GroupB (5% NaHCO ₃) (n=19)	GroupC (8% NaHCO ₃) (n=19)
S-UN (mg/dl)	69.6±4.7	26.0±1.6	22.4±1.4
S-Cr (mg/dl)	1.1±0.1	0.4±0.1	0.4±0.1
S-Ca (mg/dl)	11.5±0.2	10.2±0.1	10.0±0.1
S-P (mg/dl)	10.5±0.5	6.9±0.2	7.2±0.3
Base Excess	-6.8±1.9	+1.5±0.8	+2.9±0.9

** $P < 0.01$ (mean±S.E.)

Fig. 2 Protocols of the animal experiment.

クエン酸は、A 群では、B 群($p<0.05$)および C 群($p<0.05$)に対して有意に低値を示した。

尿中リン、マグネシウムに関しては、3 群間に統計学的有意差は認めなかった。

尿量については、A 群では、他の 2 群に比較して有意 ($p<0.01$) に増加していた。

血中カルシウム、リン、マグネシウム、Base Excess、尿素窒素、クレアチニンの測定結果を Table 2 に示す。

血中カルシウム、リンは、A 群は B、C 群に比較して

Table 3 Calcium and magnesium content of the kidney.

	GroupA (1% NH ₄ Cl) (n=23)	GroupB (5% NaHCO ₃) (n=19)	GroupC (8% NaHCO ₃) (n=19)
Ca (μ g/g·tissue)	4494 $\pm$ 235	331 $\pm$ 171	134 $\pm$ 46
Mg (μ g/g·tissue)	144 $\pm$ 11	187 $\pm$ 12	170 $\pm$ 18

** P<0.01 (mean $\pm$ S.E)

それぞれ有意 ($p<0.01$) に高値を示した。

また、血中尿素窒素およびクレアチニンは、A 群において、他の 2 群に比較していずれも高値を示し、結石形成によると思われる腎機能の低下が示唆された。

Fig. 3 The change of urinary pH in each group.

Fig. 4 Urinary sediments in each group.

A) 1%NH₄Cl diet group. Large crystals of calcium oxalate are observed in rat's urine. ($\times 200$). B) 5% NaHCO₃ diet group. Calcium oxalate crystals and magnesium ammonium phosphate crystals are observed. ($\times 200$). C) 8% NaHCO₃ diet group. Magnesium ammonium phosphate crystals are observed, and there are no crystals of calcium oxalate. ($\times 100$).

Fig. 5 The soft X-ray film in each group.

A) 1% NH_4Cl diet group. Stones are shown in the renal pelvis and there are many calcium depositions in the renal parenchyma. B), C) 5% & 8% NaHCO_3 diet group. There is no calcium deposition.

Base Excess は、A 群では代謝性アシドーシス、C 群では代謝性アルカローシスを呈していた。

また、実験中 A 群において、2 週目以後摂食量の減少と体重増加の抑制が認められ、屠殺時のラットの体重は、A 群 269.1 ± 8.9 , B 群 325.0 ± 6.9 , C 群 311.6 ± 7.6 (mean $\pm$ S.E.) であり、A 群は B 群および C 群に比較して有意 ($p < 0.01$) に低値であった。

腎組織中のカルシウムおよびマグネシウム含有量についての検討では、カルシウムは、A 群で有意 ($p < 0.01$) な増加を認めたが、マグネシウムについては、3 群間に統計学的有意差は認めなかった (Table 3)。

尿 pH の経時変化については、A 群は、実験開始後 2 週目より有意 ($p < 0.01$) に pH の低下を認め、4 週目まで酸性尿が持続した。B 群は pH 7.00 前後で推移し、C 群は 3 週目までは B 群と有意差は認めないものの、4 週目では 7.67 ± 0.94 と B 群に比較して有意 ($p < 0.05$) に高い pH の値を示した (Fig. 3)。

Fig. 4 は 3 群のそれぞれの尿沈渣の所見を示している。A 群では大型の尿酸カルシウム結晶を認め、一部結晶の凝集もみられた。B 群では尿酸カルシウム結晶に加えて、リン酸マグネシウムアンモニウム結晶の出現が認められた。C 群では尿酸カルシウム結晶は認められず、リン酸マグネシウムアンモニウム結晶のみ認められた。

摘出した腎臓の軟線撮影では、A 群において、23 匹中 13 匹 (56.5%) に、乳頭部を中心に腎盂内にも明らかな結石形成を認めた。一方、B 群、C 群では、石灰沈着は抑制され、結石形成を認めたものはなかった (Fig. 5)。

Fig. 6 Macroscopic appearance of the rat kidney (1% NH_4Cl diet group). Calcium oxalate stones are shown in the renal pelvis, papilla and ureter. (white arrow)

Fig. 6 は、A 群の摘出腎の肉眼所見である。腎盂内および尿管に結石形成を認め、水腎症を呈している。なお、得られた結石の成分は、赤外線分光分析の結果、すべて尿酸カルシウムであった。

H.E 染色 (偏光顕微鏡像) では、A 群において全例に腎乳頭部をはじめ尿細管内に多数の結晶沈着を認めた。また結晶形成にともなう尿細管の閉塞による尿細管腔の拡張もみられた。一方 C 群においては、結晶沈着は完全に抑制されていた (Fig. 7)。

考 察

尿酸カルシウム結石形成における尿 pH の影響につ

Fig. 7 Light microscopic findings in the rats kidney. (H.E. stain)
 left side: 1% NH_4Cl diet group. Calcium oxalate crystals developed in the
 papillary region and renal tubules of rats. right side: 8% NaHCO_3 diet group.
 Calcium oxalate crystallization is completely inhibited in the rats kidney.

いては、現在まで多くの研究がなされている。Tiselius¹¹⁾は、希釈尿および全尿をもちいた実験系で検討をおこない、尿希釈系では、pH 6.0を境界としてそれより高いpHではinhibitorの活性が上昇傾向にあり、その変化は、pH 5.5~7.5のあいだで最も大きかったと述べている¹⁾。また、全尿系では、Ca-Ox-crystallization risk (CaOx-CR)を算出し、pH 4.5~5.5のあいだで最も高く、pH 4.5以下とpH 6.0以上では尿酸カルシウム結晶の溶解度が増加すると述べている⁹⁾。Gregory¹²⁾は、犬とsmall bowel bypass patientsを対象として、それぞれ NH_4Cl または NaCO_3 を投与し検討したところ、 NH_4Cl 投与群にて尿pHが5.9以下になったとき尿酸カルシウム結晶形成を認め、 NaHCO_3 投与群では尿pH 7.8~8.1のとき尿酸カルシウム結晶形成は有意に抑制されたと報告している。今回著者らは、実験1において、Coulter counter法により、健常者と結石患者の1%尿がもつinhibitory activityが、pHの変化にどう影響されるかを検討した。その結果、健常者と結石患者の間に有意差は認められないものの、再発性結石患者においても健常者と

同様に、pH 6.0を境にそれより高いpHでは、inhibitory activityが上昇する傾向にあった。この結果は、Tiseliusらの考えを支持するものである。しかし、今回は1%尿での比較であり、今後全尿系での検討が必要と思われた。

実験2において、ラット腎結石形成モデルをもちい、尿pHを変化させるため1% NH_4Cl 含有食、5%および8% NaHCO_3 含有食を投与した。尿pHについては、蓄尿によるものだけでなく、屠殺時に膀胱内の尿を微小電極にて測定し、spot尿のpHとして比較した。その結果、spot尿についても、A群は、B群、C群に比擬して有意に低値を示した。また、1% NH_4Cl 含有食投与群では全例に結石形成が認められ、5%および8% NaHCO_3 含有食投与群では有意に結石形成が抑制されるという結果を得た。これについては以下に示す尿中結石関連物質の変化が影響していると考えられる。

1) 尿中カルシウム排泄量について

尿中カルシウム排泄量は、今回3群間に統計学的有意差は認めなかった。しかし、腎組織中のカルシウム

含有量については、1%NH₄Cl 含有食投与群と比較して、5%および8%NaHCO₃含有食投与群では有意に低値を示した。

一般に代謝性アシドーシスのときは、尿中カルシウム排泄量は増加する。その発生機序については、アシドーシスによる骨からのカルシウム動員に加えて、腎尿細管のカルシウム再呼吸が、近位尿細管のみならず、遠位尿細管においても抑制されるため¹⁰⁾とされており、アシドーシスによる直接作用といわれている¹¹⁾。

1%NH₄Cl 投与群では、活性型 Vit. D₃の腸管および骨への作用により高カルシウム血症が生じ、さらに、代謝性アシドーシスによる影響が加わったため、著明な腎組織内カルシウム沈着をきたしたと考えられる。一方、5%および8%NaHCO₃投与群では、逆に骨からのカルシウム動員が抑制され、さらに尿細管からのカルシウム排泄も抑制されたため、カルシウム排泄量が減少したものと考えられる。また、尿中カルシウム排泄量において、3群間に有意差が認められなかった理由として、1%NH₄Cl 含有食投与群では、結石形成による腎機能低下が影響していると考えられる。

2) 尿中尿酸排泄量について

今回の検討では、1%NH₄Cl 含有食投与群において、他の2群に比較して尿酸排泄量が有意に増加していた。この理由として、次のような理由が考えられる。第一に、アシドーシス環境下での肝臓における内因性尿酸代謝に関与する酵素の活性化がおこる結果、内因性尿酸の産生量が増加するためである。内因性尿酸代謝には、キサンチンオキシダーゼ(XOD)、グリコール酸オキシダーゼ(GOD)、乳酸デヒドロゲナーゼ(LDH)の3つの酵素が関係しているといわれる^{12)~15)}。これらの酵素活性は、いずれもpH依存性であり、pH 6.0~7.0の間で最も活性が高いといわれる¹⁶⁾。今回は、血中の尿酸濃度や肝細胞レベルでの酵素活性についての検討は、おこなっていないので詳細は不明である。しかし、1%NH₄Cl 投与群では他の2群に比較して腎機能の有意な低下を示しているにもかかわらず、尿酸排泄量の有意な増加が認められたことは、内因性尿酸の産生亢進によるものである可能性は十分推定されることである。そして、第二に結石形成により、早期に腎臓質機能の障害がおこり、尿濃縮力の低下による多尿をきたし、飲水量が増えることで、結果的に尿酸の前駆物質であるエチレングリコールの摂取が増加したことも理由のひとつと考えられる。以上2つの理由より、代謝性アシドーシスの存在は、尿中へ

の尿酸排泄を促進する可能性が示唆された。

また、当教室のNodaら¹⁷⁾はラットをもちいた実験的尿酸カルシウム結石モデルに尿酸含有食を併用投与したところ、尿酸含有食のみ投与した群に比較して、尿中尿酸排泄量が有意に増加し、尿酸カルシウム結石形成が促進されたと述べている。この理由として、尿pHの低下に伴い尿酸結晶が析出しやすくなり、その結果heterogenous nucleationが生じ、尿酸カルシウムの結晶化が促進されるためとしており、今回も同様の機序が関与している可能性があると考えられる。

3) 尿中クエン酸排泄について

今回の検討では、1%NH₄Cl 含有食投与群では実験開始前に比較してクエン酸排泄量は著明に減少しており、5%および8%NaHCO₃含有食投与群では減少の程度は軽度であった。

尿中クエン酸排泄量は、酸塩基平衡の変化にもっとも影響されるといわれている¹⁸⁾。そしてその調節の中心となるのは、腎尿細管細胞の細胞質内とミトコンドリア内との間にみられる、クエン酸濃度とpHの隔差である。つまり、アシドーシスのときには、このpHの隔差が大きくなりクエン酸濃度もクエン酸回路の代謝量の変化に伴い高くなるために、尿細管細胞内へのクエン酸の取り込み量が増加し、その結果尿中へのクエン酸排泄量は減少する。アルカローシスの時には、全く逆の効果による¹⁸⁾¹⁹⁾と考えられる。今回の実験結果も、同様の機序が関与しているものと考えられる。

4) マグネシウム排泄量について

マグネシウムは、尿酸カルシウム結晶の溶解度を増す作用があるといわれている²⁰⁾。しかし、今回の検討では、尿中マグネシウム排泄量および腎組織中マグネシウム含有量のいずれについても、3群間に有意差は認められず、pHの影響は受けにくいものと考えられる。

以上、in vitro と in vivo において検討を加えたが、まず尿pHの変化は、その尿自体に存在するinhibitorの活性に強く影響しているものと考えられた。さらに、尿pHを決定する重要な因子のひとつである酸塩基平衡は、尿中への結石関連物質の排泄量に強く影響することがわかった。この内、尿酸カルシウム結石形成のための促進因子と考えられるのは、代謝性アシドーシスでの尿酸およびカルシウム排泄量の増加とクエン酸排泄量の減少である。特に、尿酸に関しては、代謝性アシドーシスにおいて肝臓での産生が亢進するという報告は、われわれの知り得た限りにおいて見あたらない。今後、これらについて、さらに詳細な検討を加え

たいと考えている。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜った恩師江藤耕作教授に感謝の意を表します。また、細部にわたり直接御指導、御協力を頂きました野田進士助教授をはじめ、終始ご協力頂いた教室各位に深謝いたします。

なお、Coulter counter 法については、金沢医科大学泌尿器科、鈴木孝治助教授の御指導によるものであり、ここに深謝の意を表します(本論文の要旨は、第78回日本泌尿器科学会総会で発表した。)

文 献

- 1) Tiselius, H.G.: The effect of pH on the urinary inhibition of calcium oxalate crystal growth. *B.J. Urol* 53: 470—474, 1981.
- 2) Gregory, J.G., Hoy, M.M., Park, K.Y. and Feigl, A.: The effect of urinary pH on the saturation of calcium and oxalate and on urinary crystal formation. *Urolithiasis, Clinical and basic research*, edited by Smith, L.H., Robertson, W.G. and Finlayson, B.: pp.489—492, Plenum Press, New York, 1981.
- 3) Robertson, W.G., Peacock, M. and Nordin, B.E. C.: Inhibitors of the growth and aggregation of calcium oxalate crystals in vitro. *Clin. Chim. Acta* 43: 31—37, 1973.
- 4) Ryall, R.L., Ryall, R.G. and Marshall, V.R.: Interpretation of particle growth and aggregation patterns obtained from the coulter counter: a simple theoretical model. *Invest. Urol* 18: 396—400, 1981.
- 5) Ryall, R.L., Bagley, C.J. and Marshall, V.R.: Independent assessment of the growth and aggregation of calcium oxalate crystals using the coulter counter. *Invest. Urol* 18: 401—405, 1981.
- 6) 鈴木孝治, 山口智正, 宮澤克人, 谷口利憲, 下 在和, 津川龍三: Coulter counter を用いた尿酸カルシウム結晶の凝集能測定腎と透析. 臨時増刊号, 腎尿路結石のすべて: pp. 492—496, 東京医学社, 東京, 1987.
- 7) 岡田裕作, 川村寿一, 野々村光生, 郭 俊逸, 吉田修: カルシウム含有結石の成因に関する実験的ならびに臨床的研究: (I) エチレンジグリコール, 1α (OH) D_3 投与によるラット腎結石発生実験モデル. *泌尿紀要* 31: 565—577, 1985.
- 8) 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.
- 9) Berg, C. and Tiselius, H.G.: The effect of pH on the risk of calcium oxalate crystallization in urine. *Eur. Urol* 12: 59—61, 1986.
- 10) 小椋陽介: 酸塩基平衡と Ca, P 代謝, 酸塩基平衡, 越川昭三編, 第1版, pp. 183—195, 中外医学社, 東京, 1987.
- 11) Sutton, R.A.L.: Disorders of renal calcium excretion. *Kid. Int* 23: 665—673, 1983.
- 12) Richardson, K.E. and Farinelli, M.P.: The pathways of oxalate biosynthesis. *Urolithiasis*, edited by Smith, L.H., Robertson, W.G. and Finlayson, B.: pp. 855—863, Plenum Press, New York, 1977.
- 13) Gibbs, D.A. and Watts, R.W.E.: An investigation of the possible role of xanthine oxidase in the oxidation of glyoxylic acid to oxalate. *Clin. Sci.* 31: 285—297, 1966.
- 14) Richardson, K.E. and Tolbert, N.E.: Oxidation of glyoxylic acid to oxalic acid by glycolic acid oxidase. *J. Biol. Chem* 236: 1280—1284, 1961.
- 15) Duncan, R.J.S.: The disproportion of glyoxylate by lactate dehydrogenase. *Arch. Biochem. Biophys.* 201: 128—136, 1980.
- 16) 市山 新, 前多英子, 柳川 真, 川村寿一, 多田茂: 尿酸生成の生化学, 尿路結石の成因としての尿酸代謝並びに治療法の進歩—多田茂名誉教授追悼講演集一, 川村寿一編, pp. 1—42, 三重大学医学部泌尿器科学教室, 三重, 1987.
- 17) Noda, S., Hayashi, K. and Eto, K.: Oxalate crystallization in the kidney in the presence of hyperuricemia. *Scanning Microscopy* 3: 829—836, 1989.
- 18) Simpson, D.P.: Citrate excretion: a window on renal metabolism. *Am. J. Physiol* 244: 223—234, 1983.
- 19) Wright, S.H., Kippen, I. and Wright, E.M.: Effect of pH on the transport of Krebs cycle intermediates in renal brush border membranes. *Biochim. Biophys. Acta* 684: 287—290, 1982.
- 20) Elliot, J.S. and Eusebio, E.: Calcium oxalate solubility; The effect of inorganic salts, urea, creatinine and organic acids. *Invest. Urol* 3: 72—76, 1965.

(1990年11月19日受理, 特別掲載)