高速液体クロマトグラフィーによる蓚酸測定

帝京大学医学部附属市原病院泌尿器科

伊藤 晴夫 小竹 忠 鈴木 文夫 林 裕子

横浜労災病院泌尿器科

山口 邦 雄

DETERMINATION OF OXALIC ACID BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

Haruo Ito, Tadashi Kotake, Fumio Suzuki and Hiroko Hayashi

Department of Urology, Teikyo University School of Medicine, Ichihara Hospital

Kunio Yamaguchi

Department of Urology, Yokohama Rosai Hospital

In order to determine a reliable method for measuring oxalic acid, we carried out a procedure using high performance liquid chromatography. This method proved to be excellent in the case of tea and beer. In the case of urine, however, it had some problem from the aspect of reproducibility, although as far as linearity measurement, dilution test and recovery rate were concerned, accurate results could be obtained. Nevertheless, this method was thought to be unsuitable for routine clinical use, at least at present, for the reasons that it took a long time to perform the measurement, and because of the high cost of the column used in the procedure.

The value of the oxalic acid as determined by this method in 24 hr urine from 12 healthy male volunteers was in the range of 17—47 mg/day (average $\pm$ standard deviation: 25.4 ± 9.0). To correct for their differences of physical constitution, dividing oxalic acid value by body weight rather than by urinary creatinine or body surface area was found to give a more precise value of the norm. From this calculation, it was thought that the normal range of oxalic acid value was 0.6 mg/kg or less.

Key words: oxalic acid determination, urinary oxalic acid, high performance liquid chromatography

要旨: 蓚酸の良い測定法を見出すために、高速液体クロマトグラフィーによる方法についての検討を行った。

高速液体クロマトグラフィーによる方法は茶、ビールに対しては、これらの成分に蓚酸と retention time の近い物質が少ないので、ピークの分離がよく、操作も複雑で無いので、きわめて良い方法である。尿においては測定の直線性、希釈試験、回収率では良い結果が得られたが、再現性においてはやや問題がある。本法は、研究用に少数の検体を測定するには向いているが、測定に時間がかかること、カラムが高価なため、ルーチンの臨床検査には適していない。

本法により測定した12人の健康対照人の一日尿中の蓚酸量は16~47mg(平均 $\pm$ 標準偏差: 25.4 ± 9.0)であった。体格の違いを補正するために蓚酸量を尿中クレアチニン、体表面積、あるいは体重で割ると、後者の変動係数ももっとも小さかった。したがって、体格の違いを補正するには蓚酸量を体重で割るのが良く、この場合の正常範囲は体重(kg)あたり0.6mg以下とするのが良いと思われた。

キーワード: 蓚酸測定, 尿中蓚酸, 高速液体クロマトグラフィー

緒 言

尿路結石の大部分は蓚酸カルシウムを主成分として
いる¹⁾。蓚酸カルシウムの supersaturation に対して、

尿中蓚酸の濃度はカルシウム濃度よりはるかに強い影
響を与える²⁾³⁾。尿中蓚酸濃度はカルシウムの約1/10で
あり、また、カルシウムと蓚酸は可溶性の複合体をあ

る程度形成する。このため、尿酸のわずかな変化は尿酸カルシウム飽和度に重大な影響をおよぼすが、カルシウムの変化はあまり影響しない⁴⁾。尿中尿酸濃度が上昇すると尿酸カルシウム結晶濃度が上昇するが、尿酸濃度が45mg/lを越えると、結晶濃度が急激に上昇する⁵⁾。正常範囲よりもわずかに高いだけで、強い影響を与える。このように、尿中尿酸が、尿酸カルシウム結石形成にきわめて重要な役割を演じているので、mild hyperoxaluriaと表現されるような尿酸の尿中への軽度の排泄増加は重大な意味を持つ⁶⁾。

尿酸カルシウム結石形成においては尿中の尿酸カルシウム結晶の成長を抑制する物質 (inhibitor)⁷⁾も重要であり、この点はシスチン⁸⁾、尿酸、リン酸・アンモニウム・マグネシウム結石がその尿中濃度と尿 pH とでほぼ結石形成が起こるかどうか決まると異なる。

以上より、尿中尿酸の測定は正確でなければならぬことがわかる⁹⁾。尿酸の測定法には種々の問題点があり、多くの方法が報告されている⁹⁾。理想的なものはないのが現状であるが、尿酸分解酵素を用いる方法あるいは高速液体クロマトグラフィー (HPLC)を用いる方法が良いとする論文もある¹⁰⁾¹¹⁾。酵素法にも欠点があり、また、HPLCに関する最近の進歩には著しいものがあるので、今回、HPLCによる測定について検討をおこなった。

対象と方法

HPLCによる茶・ビールの中の尿酸測定

ビールは国産4社5銘柄および外国産2社2銘柄について測定した。試料は超音波洗浄器を使い吸引脱気の後、蒸留水で5倍希釈し、前処理用の TOYOPAK IC-SP (H型)に通した。

茶は烏龍茶6社7銘柄、緑茶2社3銘柄、紅茶2銘柄、どくだみ茶、ほうじ茶それぞれ1銘柄について測定した。試料は蒸留水で3倍希釈し、前処理用の TOYOPAK IC-SP (H型)に通した。

高速液体クロマトグラフはTosoh社8010シリーズを用いた。前処理後の試料100 μ lをHPLC装置に注入する。溶離液は高速イオンクロマトグラフィー用アニオン標準溶離液 (キシダ化学)を超音波洗浄器を使い吸引脱気したものである。流速は1.2ml/min、圧力は20 kg/cm²、カラム温度は40℃である。カラムはTSK guard column (TOSOH)とTSKgel IC-Anion-PW (TOSOH)を直列につないだものである。カラムはその劣化を考慮して15検体で交換した。尿酸イオンの検出はelectroconductivity detectorで行う。定量計算は

図1 尿の前処理法

クロマトグラフィー用データ処理装置 (Chromatocorder 12sic)を用いて、尿酸標準液100mg/lを前述の前処理後、注入して得たクロマトグラムのピーク面積を計算し、未知資料のピーク面積との比率から、未知資料の尿酸濃度を自動的に算出する。

HPLCによる尿中尿酸の測定

尿路結石患者および対照健康人の24時間蓄尿した尿中に含まれる尿酸を測定した。24時間蓄尿は容器にチモール1gを予め加えておき、第1回目の尿を入れたあとに、1.5N 塩酸80mlを加えるようにした。

前処理は図1のごとくに行った。すなわち、尿500 μ lに1.2Nの塩酸20 μ lを加え、渦動攪拌器で3分間混和する。蒸留水で5倍に希釈し、前処理用のカラム TOYOPAK IC-SP (Ag型)に通し、さらに TOYOPAK IC-SP (H型)に通す。前処理が終わった試料100 μ lをHPLC装置に注入する。

防腐剤を尿に加えることが、尿酸測定を阻害するかどうかをみた。加えた防腐剤の種類とその最終濃度は下記のごとくである。イソジン液7ml/l、20%グルコン酸クロルヘキシジン液1ml/l、5%グルコン酸クロルヘキシジン液4ml/l、チモール1g/l、トルエン1ml/l、アジ化ナトリウム1g/l。

尿中カルシウム、マグネシウム、リンはオートアナライザーで測定した (日立 Model 705)。

結果

1) 標準曲線

尿酸カリウムで尿酸の各種濃度の溶液をつくり、尿検体と同じ前処理を行った後、HPLCで測定した。図2に示したごとく、良好な直線性が得られた。

表1 尿中尿酸測定値に対する防腐剤添加の影響

原尿	12.3 mg/l	25.4	34.4
ポビドンヨード液 (7ml/l) 添加	16.1	24.8	39.8
20%グルコン酸クロルヘキシジン (1ml/l) 添加	16.0	17.6	22.3
5%グルコン酸クロルヘキシジン (4ml/l) 添加	10.8	23.2	26.8
チモール (1g/l) 添加	13.1	21.1	38.0
トルエン (1ml/l) 添加	16.3	21.8	36.6
アジ化ナトリウム (1g/l) 添加	9.6	23.9	38.8

図2 検量線

図3 希釈試験

2) 防腐剤添加の影響

各種の防腐剤を加える前後の尿中尿酸を測定した結果を表1に示した。防腐剤による影響は見られなかった。

3) 希釈試験

種々な濃度を示す尿5検体を4/5, 3/5, 2/5に希釈し

表2 HPLCによる測定値の再現性

検体	24時間尿中尿酸測定値 (mg/day)						変動係数 (%)
	1	2	3	4	平均±標準偏差		
1	19.1	15.9	16.4	23.7	18.8± 3.6		19.0
2	34.1	26.5	20.2	39.8	30.2± 8.6		28.5
3	20.1	17.9	22.4	17.1	19.4± 2.4		12.3
4	27.9	14.8	19.3	33.5	23.9± 8.4		35.2
5	21.0	18.4	16.7	6.0	15.5± 6.6		42.5
6	24.9	21.0	14.5	16.5	19.2± 4.7		24.2
7	18.3	16.5	14.6	14.5	16.0± 1.8		11.3
8	22.8	15.7	27.1	18.2	21.0± 5.0		24.1
9	15.6	9.4	12.9	16.5	13.6± 3.2		23.5
10	17.5	21.7	32.5	36.1	27.0± 8.8		32.6
11	27.8	20.7	15.4	48.8	28.2± 14.7		52.0
12	12.4	4.5	4.3	21.1	10.6± 8.0		75.3
					平均		31.7

た。それぞれについて、希釈前および希釈後の尿酸濃度を測定した。図3に示したごとく、良い直線性が得られた。

4) 再現性

12検体の尿を各々4回測定した(表2)。変動係数は11.3~75.3, 平均31.7であった。変動係数は平均値を100とした場合の標準偏差を示しているのので、HPLCによる再現性はきわめて良好とは言えなかった。

5) 回収率

HPLC法による回収率を調べるために、5検体の尿に25mg/l相当分の尿酸を添加して、測定した。加えた溶液量は元の尿の1/10である。さらに、他の5検体について、それぞれ50mg/l, 100mg/l相当分の尿酸を添加して測定した(表3)。以上の3群の平均回収率は、それぞれ92.6%, 96.8%, 93.2%, 総平均は94.2%であった。このように、回収率はかなり良好であった。

6) クロマトグラムについて

HPLCで得られる尿酸のピークは茶、ビールの場合、他の成分より完全に分離し、きれいに描出される

表 3 添加回収率

検体	尿 中 蓚酸量(mg/l)	25mg/l 蓚酸添加	
		測定値(mg)	回収率(%)
1	33.2	57.2	96
2	2.6	27.3	99
3	47.8	70.2	89
4	12.1	36.1	96
5	2.9	32.9	83
	平 均		92.6

検体	尿 中 蓚酸量(mg/l)	50mg/l 蓚酸添加	
		測定値(mg)	回収率(%)
6	21.8	72.7	102
7	20.1	70.7	101
8	28.4	67.2	78
9	18.1	71.2	106
10	37.3	85.8	97
	平 均		96.8

検体	尿 中 蓚酸量(mg/l)	100mg/l 蓚酸添加	
		測定値(mg)	回収率(%)
11	21.8	118.9	97
12	20.1	116.4	96
13	28.4	112.2	84
14	18.1	105.4	87
15	37.3	139.2	102
	平 均		93.2
	総 平 均		94.2%

図 4 HPLC による茶中の蓚酸量測定におけるクロマトグラムの 1 例

(図 4). 尿の場合にも、ほとんどの場合、他の成分と良く分離する(図 5). しかし、多数の検体を測定してカラムが劣化してくると他成分との分離がうまく行かない場合がある。また、基線が 0 に戻らないうちに、蓚酸のピークが始まってしまうことがある(図 6)。さらに、尿、茶、ビールのいずれの場合にも、蓚酸のピークはやや幅広であった。これは正確な測定を妨げる一因となりうることが考えられた。

図 5 HPLC による尿中蓚酸量測定におけるクロマトグラムの 1 例

図 6 HPLC による尿中蓚酸量測定におけるクロマトグラムの一不良例

7) 対照尿の測定

Sigma 社の尿中蓚酸測定キット¹²⁾に附属している 2 種類の oxalate control urine を測定した。蓚酸濃度 16~25mg/l の control urine の HPLC による測定値は 19mg/l、蓚酸濃度 86~126mg/l のものの測定値は 93mg/l であり、いずれの値も説明書に記載されていた範囲内であった。control urine の場合、クロマトグラムにおける蓚酸のピークはきれいに描出された(図

7).

8) 各種の茶，ビール中の尿酸量

市販の缶入り茶中（表4）および缶および壺ビール中（表5）の尿酸含有量を測定した結果を示した。

9) 正常人の尿中尿酸排泄量

尿路結石の既往のない健康男性の24時間尿中尿酸排泄量は17～47mg/日であった。通常、尿酸排泄量の正常範囲としては45mg/日以下とされるが¹³⁾、これをこす

表5 ビール中の尿酸量

種 類	Oxalate (mg/l)
ビール	1 21.5
	2 24.3
	3 9.9
	4 14.0
	5 19.4
	6 7.6
	7 15.3

図7 Sigma社の対照尿のクロマトグラム

表4 各種茶中の尿酸量

種 類	Oxalate (mg/l)
烏龍茶	1 29.5
	2 36.5
	3 31.5
	4 29.0
	5 32.0
	6 26.5
	7 22.5
緑 茶	1 52.0
	2 63.5
	3 56.5
紅 茶	1 44.0
	2 34.5
どくだみ茶	88.0
ほうじ茶	37.5

ものは1人だけであった。これは体が大きいことで説明されると思われる。12例の平均±標準偏差は25.4±9.0であった。体格と尿酸排泄量との関係を見るために、尿酸排泄量を尿中クレアチニン、体重、体表面積あたりに換算した値を表6に示した。これらの変動係数からわかるように尿酸量を体重(kg)で割ることが体格の違いを補正するもっとも良い方法と考えられた。また、この補正值で見ると場合の正常範囲は0.6mg/kg以下が妥当と思われた。

考 察

尿酸は広く自然界に分布している有機酸の一つで化学的に非常に特異な性質をもっている。その化学構造は簡単な2塩基酸で、強酸であり、化学反応は1塩基酸としても、2塩基酸としても反応する。尿酸の測定には種々の困難が伴う。その主なものには、濃度が低いときに sensitivity に欠けること、尿中の他の物質、特にビタミンCによる阻害、これとは逆にビタミンCが nonenzymatically に尿酸に変化すること、測定時間が長いこと、測定用機器が高価であることなどである¹⁴⁾。現在では、とくに正確な測定ができると期待できるのは酵素法、とくに固定化酵素を用いる方法と HPLC 法とされる¹¹⁾。酵素法は特異性が高く、また、多数の検体を処理するのにも適している。しかし、ビタミンCによる阻害の問題がある¹⁵⁾。Kasidas 等の固定化した oxalate oxidase を用いる方法はビタミンCによる阻害を sodium nitrite で除去している。しかし、

表6 尿中尿酸量の尿中クレアチニン、体重、体表面積による補正

対照例 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	変動係数
尿中尿酸量およびその補正值													
尿酸 (mg/日)	19	16	31	34	21	25	17	29	20	28	18	47	35.7(%)
尿酸 (mg)/クレアチニン (g)	14	10	15	18	13	18	12	7	15	17	11	24	30.6
{尿酸 (mg/日)/体重 (Kg)}×100	28	22	35	44	30	31	29	39	33	37	23	56	27.4
尿酸 (mg)/体表面積 (1.73m ²)	11	9	15	18	12	13	11	15	12	15	9	23	30.4

酵素法のさいのビタミンCによる阻害を防ぐ方法を検討した Inamdar によれば、この sodium nitrite の防止効果は不十分という¹⁶⁾。このように、酵素法にも問題点がある。HPLC 法は蓆酸を発色剤と反応させてから測定するものと、イオン交換樹脂を通して、イオンとしてとらえるものがある。後者のほうが操作が簡便なので、今回この方法を検討したわけである。

HPLC によるイオンクロマトグラフィーは多数の検体を一時に処理出来ないこと、カラムが高価であることを除けばよい方法と考えられた。ピークの分離は良くない検体も稀にあることは問題である。これを克服する方法としては次のことがあげられるであろう。すなわち、前処理により他のイオン、とくに蓆酸の直前に溶出してくる硫酸イオンを除く、あるいは、まず蓆酸を含む粗分画を得ることである。前者は難しいと思われるので、シリカゲル、あるいはその他の物質に蓆酸を吸着させ、何らかの溶剤で回収する前処理をすることが考えられる。これについては現在検討中である。

ビタミンCの蓆酸への nonenzymatic な変換は、尿中のビタミンCの濃度、尿 pH、尿の膀胱内滞留時間、保存期間などに影響される¹⁷⁾。尿 pH はわれわれの場合、第1回目の尿を容器に入れた後に塩酸を加えているので、問題は無い。しかし、尿が膀胱内にある間に、あるいは HPLC で測定中に変換するかもしれない。したがって、蓄尿の2日前よりビタミンC製剤などを服用しないようにすることが重要であろう。この注意により、長期間の保存をする場合以外はあまり問題が無いという¹³⁾。

Dionex から市販されているシステムを使って、Menon ら¹⁸⁾は尿中の蓆酸を測った。ここでは anion-exchange precolumn, 2本の separator column, cation-exchange suppressor column の4本を接続して使用している。この方法は操作が簡単であり、正確であるという。しかし、1検体の測定に30分を要するのが欠点である。

HPLC 法は茶、ビール¹⁹⁾などその成分が比較的単純なものの場合にはよい測定法であることが判明した。しかし、蓆酸はその retention time が長いために、クロマトグラム上シャープなピークを描かず、比較的幅広いピークを描く。したがって、測定誤差がやや大きくなる可能性を含んでいる。今回の測定で再現性にやや問題があったのはこのためと考えられた。また、尿中にはきわめて多くの物質が存在し²⁰⁾、また、その組成

には大きな個人差がある。したがって、たとえば結果のところで示したごとく、硫酸イオンが多いとこのピークと蓆酸のピークとを分離することができない事がありえよう。また、カラムが高価なため、経済性に問題がある。したがって、ルーチンの臨床検査に使用するためには前処理法などの改良が必要であろう。

茶中の蓆酸量は茶葉の量、湯の温度、しみださせ時間などにより左右されるであろう。今回は市販の缶入り茶中の蓆酸量を調べた。茶中の蓆酸量は23mg/l~88mg/l、大体35mg/l程度であることが判明した。食物中の蓆酸が吸収される割合は、さまざまであり²¹⁾²²⁾、また、同時に摂取する食物²³⁾あるいは腸内細菌²⁴⁾にも影響される。すなわち、カルシウムを同時にとれば不溶性の蓆酸カルシウムが形成されるために蓆酸の吸収は悪くなるであろう。反対に脂肪の消化が阻害されれば腸管内で脂肪酸がカルシウムと結合し、蓆酸と結合すべきカルシウムが減少するので、蓆酸の吸収は亢進するであろう²⁴⁾。さらには、高カルシウム尿を示す場合にはカルシウムの吸収が亢進しているであろうから、腸管中のカルシウムが減少し、吸収可能な遊離の蓆酸が増加することも考えられる²⁵⁾²⁶⁾。このように、食物の性質、同時に摂取する食物の種類、摂取するヒトの状態などにより影響されるので、一概には言えないが、インスタント茶などに含まれる蓆酸は大体その6%が吸収される²¹⁾。したがって、茶中に含まれるこの程度の蓆酸でも結石形成に影響する可能性は高いであろう。

尿中蓆酸排泄量に関しては厳密な意味での正常値は設定されていない。尿中蓆酸濃度が45mg/lを越えると尿中蓆酸カルシウムの結晶量が急激に上昇する⁵⁾ことも考慮すべきであろうが、1日の尿量が一定でないので、問題は複雑である。いくつかの報告¹²⁾および自験例より正常値は1日量45mg以下とするのが適当と考える。今回の対照例の蓆酸排泄量の平均は25.4mg/日であった。45mg/日以上1例は体格が大きかった。これより、1日の蓆酸排泄量の正常範囲としては、通常言われているように、45mg/日以下で良いと考えられた²⁷⁾。体格による違いを補正する目的で、1日の蓆酸排泄量を、それぞれ、尿中クレアチニン、体重、体表面積²⁸⁾で割ってみると変動係数は24時間蓆酸排泄量を体重で割ったものが最も小さい。したがって、たとえば結石患者と対照者とを比べる場合などはこの補正值を使うのが良いと思われる。高カルシウム尿の定義として、通常は、男女別の1日排泄量が300および250mg以上とするものが使われている。体重(kg)当たり4mg

以上とするものもある²⁹⁾。これと同様に考えれば、高尿酸尿の定義として体重当たり1日0.6mg以上とするのが妥当と思われる。

文 献

- 1) 伊藤晴夫：腎・尿路結石発生機序および分析法。腎と透析，31，23—27，1991。
- 2) Finlayson, B.: Renal lithiasis in review. Clin. N. Am., 1, 181—212, 1974.
- 3) Ito, H., Suzuki, F., Yamaguchi, K., Nishikawa, Y. and Kotake, T.: Reduction of urinary oxalate by combined calcium and citrate administration without increase in urinary calcium oxalate stone formers. Clin. Nephrol., 37, 14—18, 1992.
- 4) Robertson, W.G. and Peacock, M.: The cause of idiopathic calcium stone disease. Hypercalciuria or hyperoxaluria? Nephron, 26, 105—110, 1980.
- 5) Hallson, P.C. and Rose, G.A.: Risk factors for urinary calcium oxalate crystals as revealed by their specific enzymatic assay. Br. J. Urol., 64, 451—457, 1989.
- 6) Robertson, W.G., Peacock, M., Ouimet, D., Heyburn, P.J. and Rutherford, A.: The main risk factor for calcium oxalate stone disease in man: Hypercalciuria or mild hyperoxaluria? In Urolithiasis, Smith, L.H., Robertson, W.G. and Finlayson, B. eds., p. 3—12, Plenum Press, N.Y., 1981.
- 7) 伊藤晴夫，島崎 淳：尿酸カルシウムの結晶成長を抑制する高分子物質についての研究。第3編，尿酸カルシウム結晶成長を抑制する高分子物質について。日泌尿会誌，69，1349—1354，1978。
- 8) Ito, H., Murakami, M., Miyauchi, T., Mori, I., Yamaguchi, K., Usui, T., Shimazaki, J.: The incidence of cystinuria in Japan. J. Urol., 129, 1012—1014, 1983.
- 9) 伊藤晴夫，中川 泰：尿中尿酸の測定法。千葉医学，67，37—42，1991。
- 10) 生間昇一郎，本宮善恢，常深邦彦，平田直也，妻谷憲一，森田 昇，植村天受，金子佳照，守屋 昭，吉田克法，貴宝院邦彦，平尾佳彦，岡島英五郎：高速液体クロマトグラフィー法による尿中尿酸測定法について。日泌尿会誌，79，903—909，1988。
- 11) Millán, A., Grases, J.M. and Grases, F.: Rapid determination of urinary oxalate by high-performance liquid chromatography. J. Chromatogr., 529, 402—407, 1990.
- 12) 鈴木孝治，百成智津枝：尿中尿酸測定キット(シグマ)の有用性。泌尿紀要，33，794—798，1987。
- 13) Watts, R.W.E.: Hyperoxaluric states. in Renal Tract Stone, Wickham, J.E.A. & Buck, A. eds. p. 387, Churchill Livingstone, Edinburgh, 1990.
- 14) Wilson, D.M. and Liedtke, R.R.: Modified enzyme-based colorimetric assay of urinary and plasma oxalate with improved sensitivity and no ascorbate interference: Reference values and sample handling procedures. Clin. Chem., 37, 1229—1235, 1991.
- 15) Rofo, A.M., Pholenz, S.M., Bais, R. and Conyers, R.A.J.: Inhibitory effect of ascorbic acid in oxalate assays involving oxalate decarboxylase. Clin. Chem., 31, 1574—1575, 1985.
- 16) Inamdar, K.V., Raghavan, K.G. and Pradhan, D. S.: Five treatment procedures evaluated for the elimination of ascorbate interference in the enzymatic determination of urinary oxalate. Clin. Chem., 37, 864—868, 1991.
- 17) Coyle, P. and Rofo, A.M.: Improved urinary oxalate method for a centrifugal analyzer. Clin. Chem., 35, 1806, 1989.
- 18) Menon, M. and Mahle, C.J.: Ionchromatographic measurement of oxalate in unprocessed urine. Clin. Chem., 29, 369—371, 1983.
- 19) 伊藤晴夫，林 裕子，山口邦雄，西川泰世，小竹忠：尿路結石の排石促進あるいは再発予防にビール飲用をすすめてよいか。西日泌尿，53，913—916，1991。
- 20) Ito, H. and Coe, F.L.: Acidic peptide and polyribonucleotide crystal growth inhibitors in human urine. Am. J. Physiol., 233, F455—F463, 1977.
- 21) Brinkley, L., MgGuire, J., Gregory, J. and Pak, C.Y.C.: Bioavailability of oxalate in foods. Urology, 17, 534—538, 1981.
- 22) Brinkley, L., MgGuire, J., Gregory, J. and Pak, C.Y.C.: A further study of oxalate bioavailability in foods. J. Urology, 144, 94—96, 1990.
- 23) 伊藤晴夫，山口邦雄，西川泰世，小竹 忠：尿中尿酸排泄に対するカルシウム・クエン酸併用投与の効果。日泌尿会誌，80，1417—1421，1989。
- 24) 伊藤晴夫：ヒト腸内細菌の産生する尿酸分解酵素の部分精製。日泌尿会誌，83，1395—1399，1992。
- 25) 伊藤晴夫：腎結石の食事療法。帝京医学雑誌，11，331—337，1988。
- 26) 伊藤晴夫，小竹 忠，林 裕子，鈴木文夫，植田健，三浦尚人，野村和史，結城崇夫，南出雅弘，池田良一：カルシウム含有尿路結石患者の栄養調査。泌尿紀要，38，9—14，1992。
- 27) 伊藤晴夫：尿検査法。12. 有機酸(3)シュウ酸。検査と技術，20，146—147，1992。

- 28) 伊藤晴夫：尿酸代謝異常と尿路結石．第2篇 尿中尿酸測定法の検討．日泌尿会誌，66，19—26，1975．
- 29) Coe, F.L.: Treated and untreated recurrent calcium nephrolithiasis in patients with idiopathic

hypercalciuria, hyperuricosuria, or no metabolic disorder. *Ann. Intern. Med.*, 87, 404—410, 1977.

(1993年2月22日受付, 6月21日受理, 特別掲載)