

〈原著〉

尿路結石症発症および再発予知検査法としての *in vitro* シュウ酸カルシウム結晶生成法

川上 保子¹⁾、山崎 喜子²⁾、佐々木 恭子¹⁾、久保田 亮³⁾、高野 佳美⁴⁾、
酒井 直樹⁵⁾、芝 紀代子¹⁾

An establishment of the predictive testing techniques for urolithiasis recurrence

Yasuko Kawakami¹⁾, Yoshiko Yamazaki²⁾, Kyoko Sasaki¹⁾, Ryo Kubota³⁾,
Yoshimi Takano⁴⁾, Naoki Sakai⁵⁾ and Kiyoko Shiba¹⁾

Summary We tried to establish the generation technique of calcium oxalate crystals by adding a 100 mM calcium chloride (CaCl) water solution and a 10 mM potassium oxalate (PO) water solution into the urine of the patients with urolithiasis. As a result, we demonstrated that the shape of the CaOx crystals generated *in vitro* changed into various crystals which were consisted of calcium oxalate monohydrate crystal (COM), dihydrate crystal (COD), and trihydrate crystal (COT). Especially, the numbers of the COT crystals were confirmed as remarkable, indicating that the numbers were 54.3 ± 31.0 and 33.8 ± 10.6 pieces in the new and relapsed patients compared with 7.24 ± 7.9 pieces in the healthy subjects. In addition, it was suggested that the COT crystals generated *in vitro* were subjected to agglomeration, growth, and inhibition by the existing urine organic constituents.

Key words: Urolithiasis, Calcium oxalate trihydrate crystal

¹⁾文京学院大学 保健医療技術学部 臨床検査学科
〒113-0023 東京都文京区向丘2-4-1

²⁾文京学院大学大学院 保健医療科学研究科 保健医療科学専攻 検査情報解析分野
〒113-8668 東京都文京区向丘1-19-1

³⁾埼玉県立大学 保健医療福祉学部 健康開発学科
〒343-8540 埼玉県越谷市三野宮820

⁴⁾横須賀共済病院 中央検査科
〒238-8558 神奈川県横須賀市米が浜通1-16

⁵⁾横須賀共済病院 泌尿器科
〒238-8558 神奈川県横須賀市米が浜通1-16

受領日 平成26年10月24日

受理日 平成26年12月21日

¹⁾Department of Clinical Laboratory Medicine, Bunkyo Gakuin University,

2-4-1 Mukogaoka, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0023, Japan

²⁾Graduate School of Health Care Sciences, Bunkyo Gakuin University,

1-19-1 Mukogaoka, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0023, Japan

³⁾Department of Health Sciences, Saitama Prefectural University,

820 Sannomiya, Koshigaya, Saitama 343-8540, Japan

⁴⁾Department of Central clinical laboratory, Yokosuka Kyosai Hospital, 1-16 Komegahamadori, Yokosuka, Kanagawa 238-8558, Japan

⁵⁾Department of Urology, Yokosuka Kyosai Hospital, 1-16 Komegahamadori, Yokosuka, Kanagawa 238-8558, Japan

I. 緒言

尿路結石症の発症は生活習慣病（肥満、糖尿病、高血圧）との関連があり、近年メタボリックシンドロームの一つと認識されてきており、戦後の食生活の欧米化の影響もあり患者数の増加が続いている¹⁾。尿路結石症の治療の主流は、体外衝撃波破砕術〔Extracorporeal shock wave lithotripsy (ESWL)〕であり、導入された1995年以降治療法の90%以上を占めているが、治療後の再発率は約65%と高率である。近年、慢性腎疾患〔Chronic Kidney Disease (CKD)〕が末期腎不全〔End-stage kidney disease (ESKD)〕の予備軍として注目されているが、尿路結石症はCKDのリスクファクターのひとつとして明記されている²⁾。しかし、発症のメカニズムはいまだ明らかにされておらず、有効な予防法もなく一度罹患すると再発率が高率であるため、尿路結石症再発を予知出来る簡便な測定法構築が期待されている。

我々は、尿路結石症患者尿に一定量の塩化カルシウム〔Calcium chloride (CaCl)〕とシュウ酸カリウム〔Potassium oxalate (PO)〕を添加し、濁度測定法を考案した³⁾。本研究では、濁度測定法で使用した試薬を用い、尿路結石症の発症、特に再発を予知する簡易検査法の構築のための基礎研究を行うことを目的とした。*In vitro*での結晶生成にあたり、過去に報告があった*in vitro*シュウ酸カルシウム〔Calcium oxalate (CaOx)〕結晶形成の手法をもとに^{4,5)}、結晶を生成する方法を構築し、*in vitro*で形成した結晶の形状の観察および数の算定、健常者尿と尿路結石症患者尿との差異を比較した。

II. 方法と材料

[1] 方法

1. *In vitro*でのCaOx結晶生成法

1) 試薬

①100 mM CaCl水溶液の調製

塩化カルシウム二水和物 (CaCl₂·2H₂O)〔和光純薬工業 (株)、Osaka, Japan〕1.47gを蒸留水に溶解して100 mLとした。

②10 mM PO水溶液の調製

2M塩化ナトリウム (NaCl) 溶液400 mLにシ

ュウ酸カリウム一水和物 [(COOK)₂·H₂O、和光純薬工業 (株)] 0.92gを溶解し、100 mM酢酸ナトリウム (CH₃COONa) 溶液を加えてpH6.1になるように調整し、2M NaCl溶液を用いて500 mLに調整した。

2) 操作法

1.5mLマイクロチューブ〔WATSON (株)、Kobe, Japan〕に100 mM CaCl水溶液10 μLと10 mM PO水溶液100 μLを入れ、さらに、尿検体390 μLを添加後、ミキサーで5秒間混和した。37℃で1時間静置後、10,000 rpm、10分の条件で遠心分離し、遠心後の上清を300 μL除去後、穏やかに混和後、そのうちの15 μLを26 mm×76 mmのスライドガラス〔松浪硝子工業 (株)、Osaka, Japan〕に積載し、18×18 mmのカバークラス〔松浪硝子工業 (株)〕を載せて鏡検した。

2. 尿中無機・有機成分の分析法

1) 無機成分の測定

シュウ酸濃度は、F-キット シュウ酸 [(株) J. K. インターナショナル、Tokyo, Japan] を使用し、酵素法により濃度を測定した。Ca濃度は、N-アッセイL Ca ニットーボー〔ニットーボーメディカル (株)、Tokyo, Japan] を使用し、OCPC法により自動分析装置〔Accute TBA-40FR、TOSHIBAメディカルシステムズ (株)、Tochigi, Japan] にて測定した。Mg濃度は、N-アッセイL Mg-H ニットーボー〔ニットーボーメディカル (株)〕を使用し、酵素法によりCa濃度測定と同様の自動分析装置を用いて測定した。

2) 有機成分の測定

総タンパク質 (TP) 濃度測定試薬はマイクロTPテスト和光〔和光純薬工業 (株)〕、アルブミン (Alb) 濃度測定試薬はN-アッセイTIAマイクロAlb (ニットーボーメディカル) を使用し、ピロガロールレッド法、免疫比濁法により自動分析装置 (Accute TBA-40FR、TOSHIBAメディカルシステムズ) にて測定した。また、Tamm-Horsfall protein (THP) 濃度は、西牧らの方法⁶⁾に準じ、抗ヒトTHPモノクローナル抗体を用いたサンドイッチELISA法で測定した。

3. 統計解析

統計解析ソフトIBM SPSS Ver.19.0 (IBM

Japan, Ltd., Tokyo, Japan) を使用し、Mann-Whitney U検定を実施した。

〔2〕 材料

横須賀共済病院泌尿器科を受診したESWL施行前の尿路結石症患者の随時尿20例（尿路結石症初発患者尿：10例、年齢46～74歳、男性6例、女性4例、尿路結石症再発患者尿：10例、年齢46～83歳、男性8例、女性2例）、対照として健常者随時尿6例（男性6例、年齢47～63歳）を用いた。採取した検体は、解析時まで-80℃で冷凍保存し、解析時は氷上にて自然解凍後室温にもどして使用した。検体採取においては、インフォームドコンセントを得ており、また、本研究は横須賀共済病院（承認年月日：平成22年5月28日）および、文京学院大学の倫理審査委

員会において承認を得た（承認番号:20010-7）。

Ⅲ. 結果

〔1〕 *In vitro*におけるCaOx結晶生成法構築のための基礎検討

1. *In vitro* CaOx結晶生成の確認

*In vitro*においてCaOx結晶の生成が可能かを確認するために、100 mM CaCl水溶液と10 mM PO水溶液を等量混合し、結晶を生成し400倍で鏡検した (Fig. 1-1)。Fig. 1-1-Aに示す様に、ビスケット状のCaOx一水和物〔Calcium oxalate monohydrate (COM)〕結晶、Fig. 1-1-Bの正八面体のCaOx二水和物〔Calcium oxalate dehydrate (COD)〕結晶、Fig. 1-1-Cの針状・樹枝状の結晶であるCaOx三水和物〔Calcium oxalate trihydrate (COT)〕

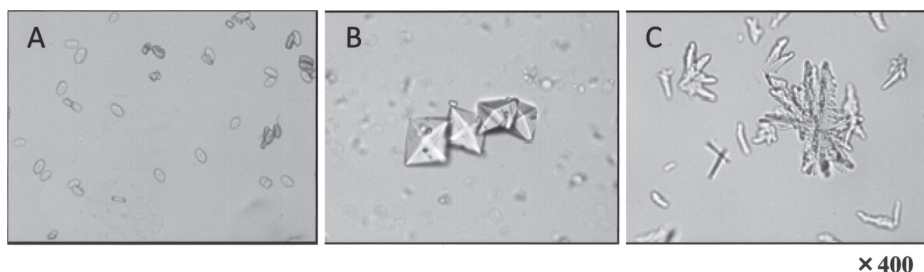


Fig. 1-1 The shape of the calcium oxalate crystals to be generated in vitro.
A: COM (monoclinic prismatic), B: COD (tetragonal bipyramidal), C: COT (needle shape)

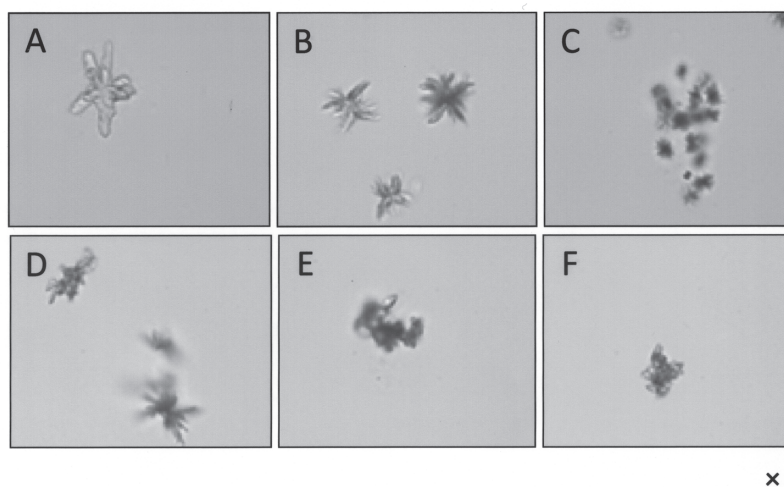


Fig. 1-2 Comparison of the crystal generations caused by the different mixing ratios of a CaCl solution and a PO solution. As for the ratios of 100 mM calcium chloride water solution and 10mM potassium oxalate water solution, that of A was 5:105, B 10:100, C 20:90, D 55:55, E 90:20, F 100:5, respectively.

結晶が観察された。出現したCaOx結晶の比率はおおよそCOM結晶：COD結晶：COT結晶=1：2：7であり、特に、COT結晶の出現が多く認められた。この結果から100 mM CaCl溶液と、10 mM PO溶液の等量混合によって、*in vitro*におけるCaOx結晶の生成が可能であることを確認した。

2. CaCl溶液とPO溶液の混合比による結晶生成の比較

100 mM CaCl水溶液と10 mM PO水溶液の混合の比率を変えることによって生じるCaOx結晶の形態変化を観察した (Fig. 1-2)。10 mM PO水溶液の割合が増加するほど、CaOx結晶は大きな結晶を生成した。一方、100 mM CaCl水溶液の割合が増加するほど、CaOx結晶は小さくなる傾向が見られた。*In vitro*でのCOT結晶生成に適した条件は、どの結晶の形状も針状で形が均一であった条件Bの100 mM CaCl水溶液10 μ Lと10 mM PO水溶液100 μ Lとの混合比であった。

3. インキュベーション温度と時間の検討

インキュベーション温度や時間がCOT結晶生成に影響を及ぼすかを検討した。4 $^{\circ}$ CではCOM結晶とCOD結晶の細かな凝集が見られたが (Fig. 2-1-A)、37 $^{\circ}$ CではCOT結晶のみが観察された (Fig. 2-1-B)。37 $^{\circ}$ Cの条件化でインキュベーション時間を1時間静置したものと、3時間静置したものでは、形態に大きな違いが見られず、いずれにおいてもCOT結晶が観察された (Fig. 2-2)。これらのことから、インキュベーション温度は37 $^{\circ}$ C、時間は1時間が適切であるという結果を得た。

4. 試液の混合順序の違いによるCaOxの変化

試液を混合する順序の違いによって生成されるCaOx結晶形態の違いを6条件についてみた (Fig. 3)。試液①を10 mM PO水溶液100 μ L、試液②を100 mM CaCl水溶液10 μ L、試液③を尿検体390 μ Lとし、条件1は①→②→③、条件2は②→①→③、条件3は②→③→①、条件4は①→③→②、条件5は③→②→①、条件6は③→

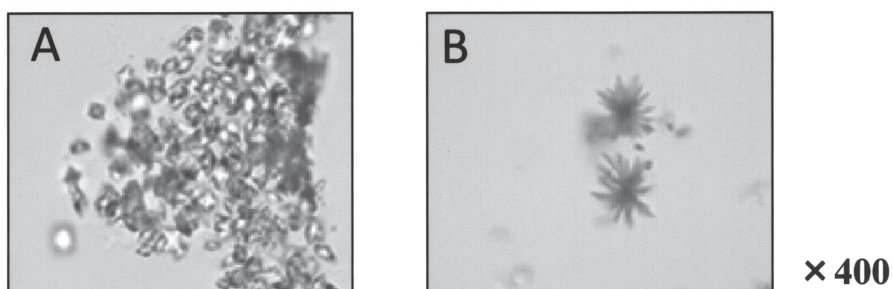


Fig. 2-1 Incubation temperatures which influence on COT crystal generation. A: 4 $^{\circ}$ C, B: 37 $^{\circ}$ C

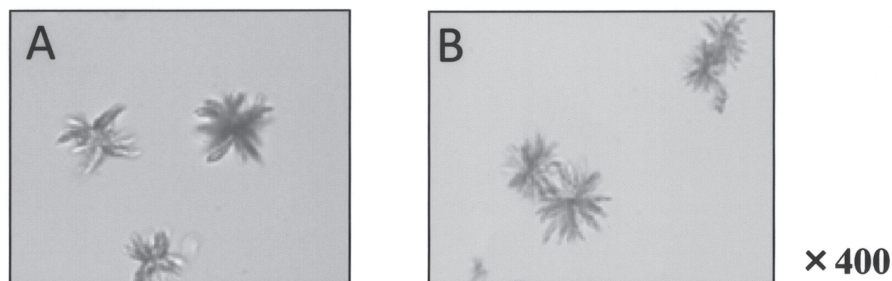


Fig. 2-2 Incubation times which influence on COT crystal generation at 37 $^{\circ}$ C. A: 1h, B: 3h

①→②の順に試液を入れた。条件1ではCOT結晶が優位に出現し、条件2では、COT結晶の他COM結晶、COD結晶が出現した。条件3、4、5、6ではCOM結晶とCOD結晶が存在し、特に、条件3ではCOD結晶が優位に生成された。

5. *In vitro* CaOx結晶生成法を用いた尿路結石症患者尿と健常者尿でのCOD、COTの結晶数の比較

In vitro CaOx結晶生成法では試液を入れる条件を変えることによりCOTを優位に生成したり、COMおよびCOD結晶を生成することが可能であった。臨床現場で尿中から検出されるCaOx結晶はCOM、COD結晶でありCOT結晶は出現しない。そこで、*in vitro*結晶生成条件3に従いCOD結晶を生成して結晶数を比較した。その結果、健常者19.6±16.9個に対し、初発患者は37.8±34.1個、再発患者では27.3±22.0個といずれにおいても有意差は確認されなかった (Table1-1)。次にCOT結晶について比較したところ、健常者では7.2±7.9個に対し、初発患者では54.3±31.0

個、再発患者では33.8±10.6個と、いずれも尿路結石症患者の方が健常者に比べ有意に高値 ($p<0.01$) を示し、初発患者と再発患者間にお

Table 1-1 Numerical comparison of the COD crystal which formed *in vitro*

		Number of crystals
Healthy subject		19.6 ± 16.9
Urolithiasis	First	37.8 ± 34.1
	Recurrence	27.3 ± 22.0

Table 1-2 Numerical comparison of the COT crystal which formed *in vitro*

		Number of crystals
Healthy subject		7.2 ± 7.9
Urolithiasis	First	54.3 ± 31.0
	Recurrence	33.8 ± 10.6

*: $p<0.01$

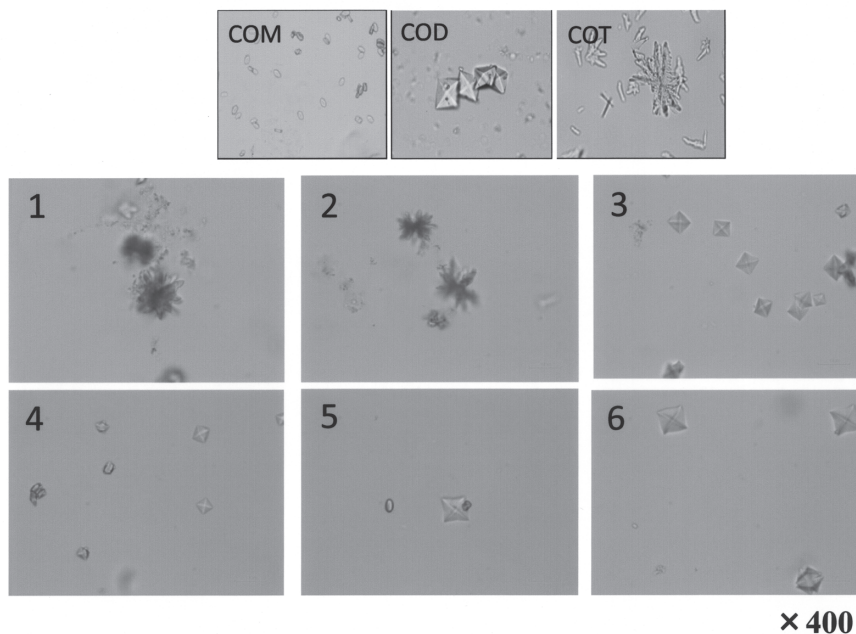


Fig. 3 The changes of CaOx which was generated by the various mixture orders of the test solutions. The test solution ① was set as the 100 μ L of a 10 mM PO water solution, the test solution ② as the 10 μ L of a 100 mM CaCl water solution, and the test solution ③ as the 390 μ L of an urine sample. In the condition 1, the test solutions were filled in the order of ①→②→③; in the condition 2, ②→①→③; in the condition 3, ②→③→①; in the condition 4, ①→③→②; in the condition 5, ③→②→①; and in the condition 6, ③→①→②.

Table 2 Level of urinary inorganic components and organic components of hearthy subjects and urolithiasis.

		(mg/dL)						
		Ox	Ca	Mg	TP	THP	Alb	THP/Alb Ratio
Healthy subject		0.34±0.20	9.3±5.0	5.8±4.1	16.0±6.5	3.1±1.9	0.7±0.8	4.7±2.3
Urolithiasis	First	0.31±0.20*	10.3±5.0	6.5±2.8	6.5±14.4	2.8±2.0	7.2±7.0**	0.4±0.3**
	Recurrence	0.86±0.50***	13.7±10.2	7.1±4.5	27.0±20.0	2.7±2.4	12.2±8.9	0.2±0.3

** : p<0.01, * : p<0.05

いては、初発患者の方が有意に高値 ($p<0.01$) を示した (Table1-2)。また、健常者に比べ、尿路結石症患者では結晶が凝集する様子が確認された。

[2] 構築した *in vitro* での COT 結晶生成方法と算定法

濁度測定法で用いた試薬の濃度と量、尿検体量を基盤として構築した *in vitro* における COT 結晶生成法は、条件 1 である 1.5 mL マイクロチューブに 10 mM PO 水溶液 100 μ L、100 mM CaCl 水溶液 10 μ L、尿検体 390 μ L を順番に添加後、ミキサーで 5 秒間混和し、37℃ で 1 時間静置した。その後、10,000 rpm、10 分の条件で遠心分離し、遠心後の上清を 300 μ L 除去し沈渣を得ることとした。200 μ L の沈渣は静かに良く混和して 15 μ L をスライドグラスに積載し強拡大で観察し、5 視野の結晶数を数え平均結晶数とした。

[3] 尿中無機・有機成分濃度の比較

尿中無機成分と有機物質の測定結果を Table 2 に示した。シュウ酸濃度は、健常者 0.34±0.20 mg/dL に対し尿路結石症初発患者では 0.31±0.20 mg/dL、再発患者では 0.86±0.50 mg/dL であり、健常者より再発患者 ($p<0.05$)、初発患者より再発患者 ($p<0.01$) で有意に高値を示した。Ca 濃度は、健常者 9.3±5.0 mg/dL、初発患者 10.3±5.0 mg/dL、再発患者 13.7±10.2 mg/dL と有意差はみられなかったが、尿路結石症患者において高値例が多くみられた。Mg 濃度は、健常者 5.8±4.1 mg/dL、初発患者 6.5±2.8 mg/dL、再発患者 7.1±4.5 mg/dL でありいずれも有意差はみられなかった。有機成分である TP 濃度は、健常者

16.0±6.5 mg/dL、初発患者 6.5±14.4 mg/dL、再発患者 27.0±20.0 mg/dL であり、THP 濃度においては、健常者 3.1±1.9 mg/dL、初発患者 2.8±2.0 mg/dL、再発患者 2.7±2.4 mg/dL であり、いずれにおいても有意差はみられなかった。Alb 濃度は、健常者 0.7±0.8 mg/dL に対し初発患者では 7.2±7.0 mg/dL と有意に ($p<0.05$) 高値であり、また、再発患者では 12.2±8.9mg/dL と有意に ($p<0.01$) 高値を示した。初発患者と再発患者間には有意な差は見られなかった。さらに、THP/Alb 比においては、健常者 4.7±2.3 に対し初発患者は 0.4±0.3、再発患者は 0.2±0.3 であり、健常者に比べ初発患者と再発患者に有意 ($p<0.01$) な減少が見られた。また、初発患者より再発患者で低い傾向 ($p<0.1$) が見られた。

IV. 考察

我々は、尿路結石症患者尿に一定量の CaCl 溶液と PO 溶液を添加することにより生じた濁度の測定における簡易測定法を考案し、健常者と尿路結石症患者による濁度の違いを見出した³⁾。本研究では、その際に使用した試薬である CaCl 水溶液と PO 水溶液を結晶形成法に応用し、試薬の混合条件である 100 mM CaCl 水溶液 10 μ L、10 mM PO 溶液水 100 μ L、尿 390 μ L を用いることにより *in vitro* による結晶生成を可能にした。

CaOx 結晶は、ビスケット状の COM、正八面体の COD、針状の COT の三つの水和物に変化する形態を有しており⁷⁾、水和物によって吸着力や安定性、化合物周囲の環境による変動も異なる^{8,9)}。COT は最も吸着力が強く、他の水和物に比べると不安定であり COD や COM に還元する傾向

がある¹⁰。構築した*in vitro*結晶生成法において健常者と尿路結石症患者尿では、COM、COD、COTといずれのCaOx結晶も出現したが、COM、COD結晶に比べCOT結晶が最も多く出現した。しかし、臨床現場で尿中から検出されるCaOx結晶はCOM、COD結晶でありCOT結晶は出現しない。そこでCOMとCOD結晶の生成を試み健常者と患者を比較したところ有意な差は見られなかった。一方、構築した*in vitro*によるCOT結晶数は健常者に比べ尿路結石症患者で有意に高値であり、さらに、初発患者が再発患者より有意に高値を示した。このことから、健常者の尿には結晶生成を妨げる作用があるのに対し、尿路結石症患者の尿ではCOT結晶が生成されやすく、凝集しやすい環境にあることが示唆された。

そこで尿中に含有される無機・有機物質と結晶生成との関連を解析するため、健常者と患者尿中の無機成分シュウ酸、Ca、Mg濃度および有機成分TP、THP、Alb濃度を測定し比較した。尿路結石症患者尿中のOx濃度は、健常者より高値であることは既に周知されており、尿路結石症診療ガイドラインの診断項目にも加えられている¹¹が、本研究においてもOx濃度は、健常者と初発患者より再発患者で有意に高値を示した。Ceriniらは、試験管内でCaOx結晶形成を試みた結果、Albが有能な促進媒体であり、核形成を促進していると示唆した¹²。尿中では常にCaOxが過飽和状態にあり、自然にCaOxの結晶が発生しているが、Albが尿細管腔でCaOx結晶の細かい結晶の数を増やすことに関わっており、尿中のCaOxの過飽和を防ぐことが考えられると報告されている¹³。本研究においてAlb濃度が健常人に比べ尿路結石症患者で有意に増加がみられたことと、健常者に比べ尿路結石症患者において結晶数が有意に高値を示したことからAlbの結晶形成促進への関与が疑われた。*In vitro*で生成したCOT結晶について、健常者に比べ、尿路結石症患者では多数であったことについて、Ceriniが報告している様にAlbが結晶の核形成の有能な促進媒体であると仮定すると、Albが吸着力が最も強いCOT結晶の核となり、結晶を寄せ集めて凝集させる可能性が高いのではと考えられた。更に、Alb濃度が健常者より尿路結石症患者において有意に高値であることは、その作用を増大させるものであると考えられる。

Albの促進作用に対して、抑制的に働くのがTHPといわれており、Albの結晶凝集を妨げると共に、結晶を多く含む尿ではTHPは低値を示すとの報告がある¹⁴。本研究において尿中THP濃度は健常者 3.1 ± 1.9 mg/dLに比べ初発患者で 2.8 ± 2.0 mg/dL、再発患者で 2.7 ± 2.4 mg/dLと低値は示したが有意な差はなかった。しかし、THP/Alb比を算出し比較したところ、健常者より尿路結石症患者では低値であり、初発患者より再発患者で低値傾向であった。尿路結石症患者尿中のAlb濃度の増加によるTHP/Alb比の変化はAlbの核形成作用に拍車をかけるのではと考えられた。

V. 結語

*In vitro*におけるCaOx結晶生成法の構築において、100 mM CaCl水溶液と10 mM PO水溶液を混和し、尿を添加することでCaOx結晶の形態がCOM、COD、COT結晶と様々に変化することを明らかとし、特に、COT結晶の存在が顕著に確認された。さらに、*in vitro*で生成した結晶は、尿中有機物の存在によって、凝集や成長、抑制が行われている可能性が示唆された。

健常者と尿路結石症初発患者、再発患者の尿において生成されたCOT結晶数が異なったが、この結晶生成数の違いには尿中Alb濃度およびTHP/Alb比が異なることが影響を及ぼしていることが示唆された。これは過去に報告のない新知見である。今後は、特に、尿中AlbとTHPに着目して詳細に解析し、尿中のこれらの物質のバランスが傾くことと尿路結石形成との関わりを明らかにすることが課題であると考えられる。

本研究により構築した*in vitro*でのCaOx結晶生成法は、尿路結石症発症を予知可能な簡便な検査法になりうる可能性が示された。

参考文献

- 1) Yasui T, Iguchi M, Suzuki S, et al.: Prevalence and epidemiologic characteristics of lower urinary tract stones in Japan. *Urology*, 71: 209-213, 2008.
- 2) 日本腎臓学会編: CKD診療ガイド2012. 日腎会誌, 54: 1031-1189, 2012.
- 3) Kawakami Y, Hiratuka N, Kubota R, et al.: A simple method for selecting patients with urinary tract calculi by measuring the turbidity of the urine. *Journal of*

- Analytical Bio-Science, 33: 242-246, 2010.
- 4) Atmani F, Glenton PA, Khan SR: Identification of proteins extracted from calcium oxalate and calcium phosphate crystals induced in the urine of healthy and stone forming subjects. *Urol Res*, 26: 201-207, 1998.
 - 5) Grover PK, Moritz RL, Simpson RJ, et al.: Inhibition of growth and aggregation of calcium oxalate crystals in vitro a comparison of four human proteins. *Eur J Biochem*, 253: 637-644, 1998.
 - 6) Nishimaki J, Masuda M, Katoh S, et al.: The construction of urinary Tamm-Horsfall Protein assay by enzyme-linked immunosorbent assay and establishment of reference range of healthy subject. *Rinsho Byori*, 56: 862-867, 2008.
 - 7) Thongboonkerd K, Semangoen T, Chutipongtanate S: Factors determining types and morphologies of calcium oxalate crystals: Molar concentrations, buffering, pH, stirring and temperature. *Clin Chimica Acta*, 367: 120-131, 2006.
 - 8) Sikiric M, Filipovic-Vincekovic N, Babic-Ivanci&cacte VV, et al.: Interactions in calcium oxalate hydrate/surfactant systems. *J Colloid Interface Sci*, 212: 384-389, 1999.
 - 9) Daudon M, Reveillaud RJ: Morphological typing of calcium oxalate calculi and Etiopathogenic findings. *Ann Urol*, 19: 299-308, 1985.
 - 10) Tomazic BB, Nanocollas GH: A study of the phase transformation of calcium oxalate trihydrate-monohydrate. *InvestUrol*, 16: 329-335, 1979.
 - 11) 日本泌尿器学会・日本EE学会・日本尿路結石症学会編: 尿路結石症診療ガイドライン. 東京, 金原出版, p58, 2003.
 - 12) Cerini C, Geider S, Dussol B, et al.: Nucleation of calcium oxalate crystals by albumin: involvement in the prevention of stone formation. *Kidney Int*, 55: 1776-1786, 1999.
 - 13) Geider S, Baronnet A, Cerini C, et al.: Pancretic lithostathine as a calcite habit modifier. *J Biol Chem*, 271: 26302-26306, 1996.
 - 14) Maslamani S: Changes in urine macromolecular composition during processing. *J Urol*, 164: 230-236, 2000.