

尿酸カルシウム結石患者における血中尿酸濃度について

三重大学医学部泌尿器科学教室 (主任: 多田 茂教授)

保 科 彰

PLASMA OXALATE CONCENTRATION IN CALCIUM
OXALATE STONE FORMERS

Akira HOSHINA

*From the Department of Urology, Mie University, School of Medicine**(Director: Prof. S. Tada, M.D.)*

A sensitive, simplified method for plasma oxalate determination by gas chromatography is described. After deproteinizing the plasma with 3N HCl and 20% sulfosalicylic acid, the oxalate was methylated, extracted and analysed by gas chromatography. This method has three advantages i.e., smaller sample size (plasma 5.0 ml), rapidity (takes less than 3 hours) and accuracy. The recovery rate of oxalate added to plasma was $91.42 \pm 11.31\%$ (SD) and the coefficient of variation of replicate determinations was 4.18%. The minimum detectable concentration of oxalate was 0.3 $\mu\text{g/ml}$ (oxalate peak was higher than 5 mm).

The mean oxalate concentration under fasting conditions from 16 healthy subjects was 1.37 ± 0.39 $\mu\text{g/ml}$ (SD), while that from 31 calcium oxalate stone formers was 1.45 ± 0.39 $\mu\text{g/ml}$ (SD). There was no significant difference in plasma oxalate concentration between the two groups.

The dietary influence of oxalate on plasma and urinary oxalate was investigated in 5 healthy subjects and 5 calcium oxalate stone formers. When 100 g spinach (total oxalate 545.5 mg, soluble oxalate 381.5 mg) was given, the increase of plasma oxalate concentration was more prominent in stone formers; in stone formers it increased to 142% of control value at 2 hours ($p < 0.05$) after spinach loading, to 163% at 4 hour ($p < 0.01$) and to 232% at 6 hours ($p < 0.01$); while in healthy subjects increased to 119% at 2 hours (ns) after loading, to 144% at 4 hours ($p < 0.05$) and only to 167% at 6 hours ($p < 0.01$).

Urinary oxalate excretion increased promptly between 1 and 2 hours after loading in both groups, reaching peak levels between 2 and 4 hours after loading in healthy subjects and between 4 and 6 hours or later in stone formers.

The mean renal clearance of oxalate was 18.0 ml/min in 6 healthy subjects and 19.0 ml/min in 4 calcium oxalate stone formers. There was no significant difference in oxalate clearance between the two groups. The mean ratio of oxalate/creatinine clearance was 0.22 for stone formers, which was equal to that for healthy subjects.

Key words: Calcium oxalate urolithiasis, Plasma oxalate concentration, Urinary oxalate, Spinach load, Renal oxalate clearance

はじめに

尿路結石症のおよそ2/3を尿酸カルシウム含有結石が占めている。しかしながら、その発生機序については今もって不明な点が多い。近年、尿中尿酸定量法の改良が進むにつれて尿酸の pathogenetic influence についての報告が数多くみられるようになった。当教室では柳川ら¹⁾が gas chromatograph 法による尿中尿酸定量法を確立し、その後、24時間尿中尿酸排泄量および尿中尿酸の日内変動²⁾、また、尿中尿酸排泄量におよぼす食餌の影響について³⁾ 検討をかさねてきた。

血中尿酸定量法は古くより研究されているが⁴⁾、従来の方法は感度が低く、正確さに欠け、必ずしも信頼性の高い方法とはいいがたく、また、手技が煩雑なために routine の検査法とはなりえなかった。最近、酵素法、gas chromatograph 法をはじめとして測定法の改良がなされ感度、正確さともに向上してきたが、いまだに手技が煩雑なために一般にはほとんどおこなわれていないのが現状である。

著者は、柳川らの gas chromatograph 法をもとに血中尿酸定量を試み、少量の試料で、正確に、短時間での測定を可能とした。本論文では、その測定法を報告するとともに、男子尿路結石患者および健常成人男子の空腹時血中尿酸濃度を測定した。また、ホウレン草 100 g を負荷し、負荷後6時間の血中尿酸濃度および尿中尿酸排泄量の変化を経時的に観察し、さらに尿酸クリアランスを求め若干の知見を得たので報告する。

対 象

三重大学附属病院泌尿器科外来および入院患者を対象とした。空腹時血中尿酸濃度測定の対象群として、健常成人男子12名と入院患者のうち腎機能正常で代謝疾患のない男子非結石患者4名の計16名を選んだ。平均年齢は30.6±9.5歳であった。結石群は腎機能正常の男子尿酸カルシウム結石患者31名で、平均年齢は46.4±12.1歳であった。

健常成人男子5名と腎機能が正常な男子尿酸カルシウム結石患者5名にホウレン草 100 g を負荷した。平均年齢はそれぞれ30.8±0.9歳、38.6±12.0歳であった。

また、健常成人男子6名と腎機能が正常な男子尿酸カルシウム結石患者4名に尿酸クリアランスを測定した。平均年齢はそれぞれ31.3±1.6歳、47.5±12.1歳であった。

試 薬

試薬はすべて特級を使用した。

- 1) 3N HCl
- 2) 20% sulfosalicylic acid
- 3) conc. HCl
- 4) methanol
- 5) caprylic acid
- 6) chloroform
- 7) oxalic acid ($H_2C_2O_4 \cdot 2H_2O$)
- 8) stock solution of oxalic acid as $H_2C_2O_4$
 - A: 500 μ g/ml in methanol
 - B: 500 μ g/ml in water
- 9) BAP solution; boric acid 71.9 mmol (4.44 g), allopurinol 17.6 mmol (240 mg) and DL- β -phenyllactic acid 27.1 mmol (4.5 g) made up to 100 ml with distilled water and adjusted to pH 7.4
- 10) ascorbic acid

方 法

I) 測定法

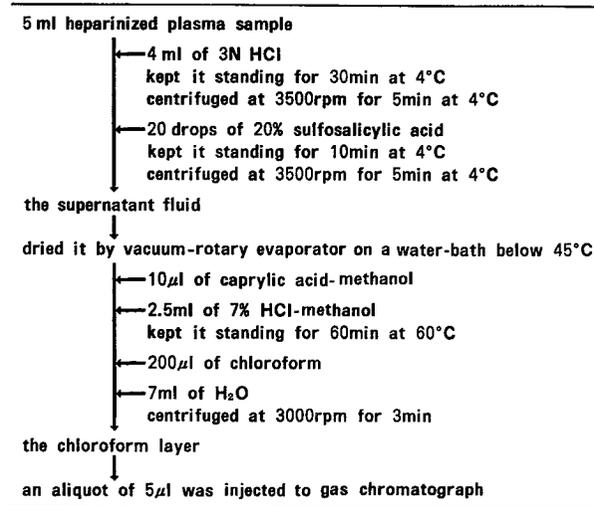
15 ml ヘパリン採血後、速やかに遠心分離し、正確に血漿 5 ml を採取した。3 N HCl を 4 ml 加え、した後 30分間放置 3,500 rpm にて5分間遠心分離した。さらに 20% sulfosalicylic acid を 20滴加え、10分間放置した後 3,500 rpm にて5分間遠心分離した。以上の操作はすべて 4°C でおこなった。除蛋白に要した時間は約1時間であった。除蛋白後の上清の全量をナス型フラスコにとり、rotary-evaporator を用いて 45°C 以下の温浴下で完全乾固させた。これに 7% HCl-methanol (conc. HCl: methanol, 1:4) を 2.5 ml および内部標準物質 (caprylic acid-methanol) を加え、60°C にて60分間放置した。ナス型フラスコより 10 ml の共栓試験管に試料を移し、chloroform を 200 μ l、蒸留水を 7 ml 加え、激しく振とうとした後 3,000 rpm で3分間遠心分離した。上層を除去した後 chloroform 層より 5 μ l の試料を gas chromatograph に注入した (Table 1)。

尿中尿酸定量は柳川ら¹⁾の方法に準じた。

gas chromatograph は Shimadzu GC-9A を、column は 2 m (内径 3 mm) の glass column (column temperature 90°C, injection port temperature 200°C) を、充填剤は Unisole F 200 (Gasukuro Kogyo Co., Ltd) を、carrier gas は窒素ガス (40 ml/min) を、detector は FID を使用した。

II) 空腹時血中尿酸濃度

Table 1. The method of gas chromatographic determination of plasma oxalic acid



検査前日21時より絶食，当日は起床時より絶飲絶食とし，8時に15mlヘパリン採血した。なお，前日の食事内容についてはとくに制限しなかったが，ハウレン草，タケノコなど蓆酸を多量に含有する食物の摂取を禁じた。

Ⅲ) ハウレン草 100g 負荷後の血中蓆酸濃度および尿中蓆酸排泄量の変化

検査前日に低蓆酸（総蓆酸量 44.5 mg, 可溶性蓆酸量 31.5 mg), 低カルシウム (189 mg) 食を摂取させた。飲水量は自由としたが水道水のみとし，当日は起床時より絶飲絶食とした。8時に15mlヘパリン採血すると同時にハウレン草 100g (総蓆酸量 545.5 mg, 可溶性蓆酸量 381.5 mg⁵⁾) と水 200 ml を摂取させ，負荷 1, 2, 4 および 6 時間後に採血するとともに 100 ml の飲水をさせた。また，6時に排尿させ，以後採血時ごとに採尿し尿中蓆酸排泄量を測定した。

Ⅳ) 蓆酸クリアランス

絶食下で7時に排尿させ，同時に 500 ml の飲水をさせた。8時に再度排尿させ9時までの1時間尿を完全蓄尿するとともに8時30分に採血し，蓆酸クリアランスを求め同時間帯の1時間クリアチニンクリアランスと比較検討した。

結 果

I 測定法

1) gas chromatogram

Fig. 1のごとく良好な gas chromatogram が得られた。蓆酸ジメチルおよびメチルカプリル酸の平均保持時間はそれぞれ11.68分，25.63分であった。蓆酸

の前駆物質である glycolate, glyoxylate および ascorbate のそれは9.29分，14.30分および15.44分であった。

2) 標準曲線

stock solution A にて 0, 0.3, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 μg/ml の6種の標準蓆酸溶液のシリーズを作成し，それぞれ5回ずつ測定した。peak の面積比 Ox/IS をY軸に蓆酸濃度をX軸にとると，標準曲線は $y = 0.1241x - 0.0069$ ($r = 0.9990$, $n = 30$) とほぼ原点を通る直線となった (Fig. 2)。

3) 回収試験

stock solution B にて既知量の蓆酸溶液0.5および1.0 μg/ml を作成し，それぞれ6検体に添加して回収率を求めた。平均回収率は $91.42 \pm 11.31\%$ であった (Table 2)。また，5検体につきそれぞれ5回の測定により求めた平均変動係数は4.18%であった (Table 3)。

4) 測定限界

蓆酸の peak の高さが 5 mm 以上のものを測定可能とした。測定限界濃度は $0.3 \mu\text{g/ml}$ であった。

5) 蓆酸の前駆物質が測定値におよぼす影響

蓆酸の前駆物質である glycolate, glyoxylate および ascorbate が測定値におよぼす影響について検討した。

4検体について，glyoxylate の酸化に関与する L-DH, xanthine oxidase および glycolate oxidase を阻害する boric acid, allopurinol および DL-β-phenyllactic acid の混合液 (BAP solution) を採血時に 1.5 ml 添加して蓆酸濃度を測定した。BAP

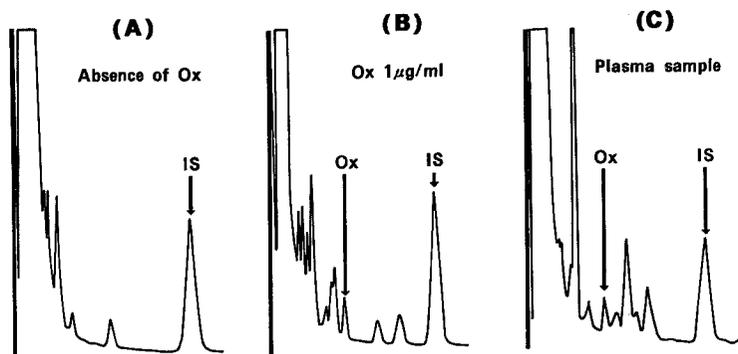


Fig. 1. Gas chromatogram

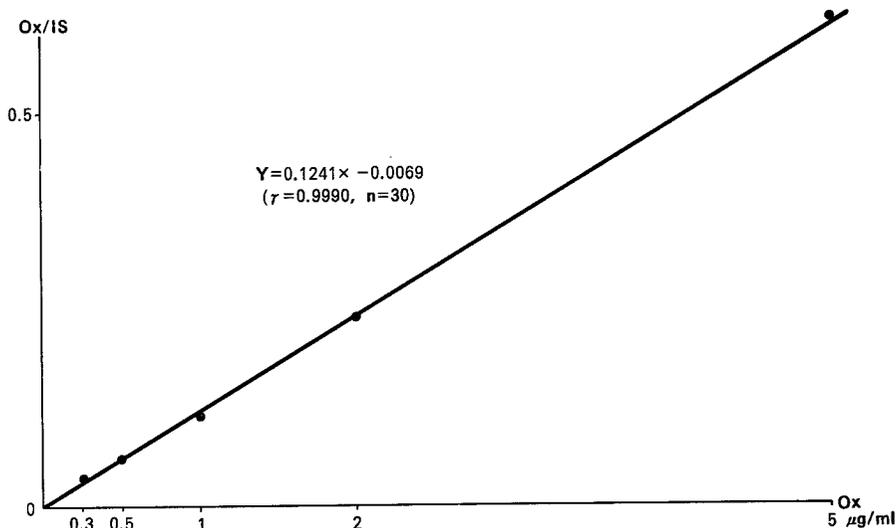


Fig. 2. Standard curve

Table 2. Recovery rate

No.	Ox. Content (µg/ml)	Added Ox. (µg/ml)	Recovery Rate (%)
1	1.02	0	
	1.49	0.5	94.00
	1.93	1.0	91.00
2	1.23	0	
	1.62	0.5	78.00
	2.12	1.0	89.00
3	1.77	0	
	2.33	0.5	112.00
	2.86	1.0	109.00
4	1.80	0	
	2.23	0.5	86.00
	2.68	1.0	88.00
5	2.13	0	
	2.63	0.5	100.00
	2.91	1.0	78.00
6	1.84	0	
	2.31	0.5	94.00
	2.62	1.0	78.00

mean ± SD ; 91.42 ± 11.31%

Table 3. Coefficient of variation

No.	Ox. Content (µg/ml)	Mean (µg/ml)	SD	SD/Mean (%)
1	2.70 2.69 2.55 2.60 2.67	2.64	0.06	2.27
2	1.27 1.27 1.20 1.23 1.19	1.23	0.04	3.25
3	1.47 1.41 1.34 1.34 1.25	1.36	0.08	5.88
4	1.16 1.25 1.11 1.29 1.27	1.22	0.08	6.56
5	1.74 1.68 1.71 1.61 1.69	1.69	0.05	2.96

4.18%

solution 添加時の測定値は $1.62 \pm 0.20 \mu\text{g/ml}$ であり、同一検体における BAP solution 無添加時の測定値は $1.57 \pm 0.25 \mu\text{g/ml}$ であった。それぞれの測定値の間に有意な差は認めなかった。

また、3検体について、ascorbate $60 \mu\text{g}$ を添加して尿酸濃度を測定した。ascorbate 添加時の測定値は $1.78 \pm 0.22 \mu\text{g/ml}$ であり、同一検体における ascor-

bate 無添加時の測定値は $1.79 \pm 0.12 \mu\text{g/ml}$ であった。それぞれの測定値の間に有意な差は認めなかった。

II 空腹時血中尿酸濃度

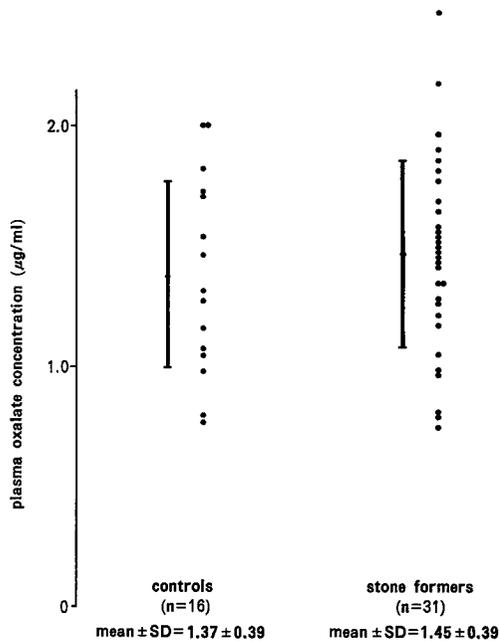


Fig. 3. Plasma oxalate concentration under fasting condition

結石群は $0.74 \sim 2.47 \mu\text{g/ml}$ で平均 $1.45 \pm 0.39 \mu\text{g/ml}$ であり、対照群は $0.79 \sim 2.00 \mu\text{g/ml}$ で平均 $1.37 \pm 0.39 \mu\text{g/ml}$ であった。両群間に有意な差は認めなかった (Fig. 3).

III ホウレン草 100 g 負荷後の血中尿酸濃度および尿中尿酸排泄量の変化

1) 血中尿酸濃度の変化

結石群は負荷前の濃度に対し、負荷 2 時間後に 142% の有意な上昇 ($p < 0.05$) がみられ、4 時間後に 163% ($p < 0.01$)、6 時間後には 232% ($p < 0.01$) に上昇した。いっぽう、対照群は 2 時間後に 119% (ns)、4 時間後に 144% の有意な上昇 ($p < 0.05$) がみられ、6 時間後に 167% ($p < 0.01$) に上昇した。とくに、結石群の 4 ~ 6 時間後の 2 時間における上昇率は 43.2% であり、他の時間帯の上昇率および対照群における各時間帯の上昇率に比し有意に高かった ($P < 0.01$)。また、結石群の 2、4 および 6 時間後の血中濃度は対照群に比し有意に高かった ($P < 0.01$) (Fig. 4).

2) 尿中尿酸排泄量の変化

負荷 1 ~ 2 時間後の 1 時間尿で、結石群は負荷前に対し 282%、対照群は 250% に両群とも有意に増加 ($p < 0.01$) し、4 時間後まで同様の排泄パターンを示した。対照群は 2 ~ 4 時間後の 2 時間尿に排泄 peak がみられたのに対し、結石群は 4 ~ 6 時間後あるいはそれ以後に排泄 peak があると考えられた (Fig. 5).

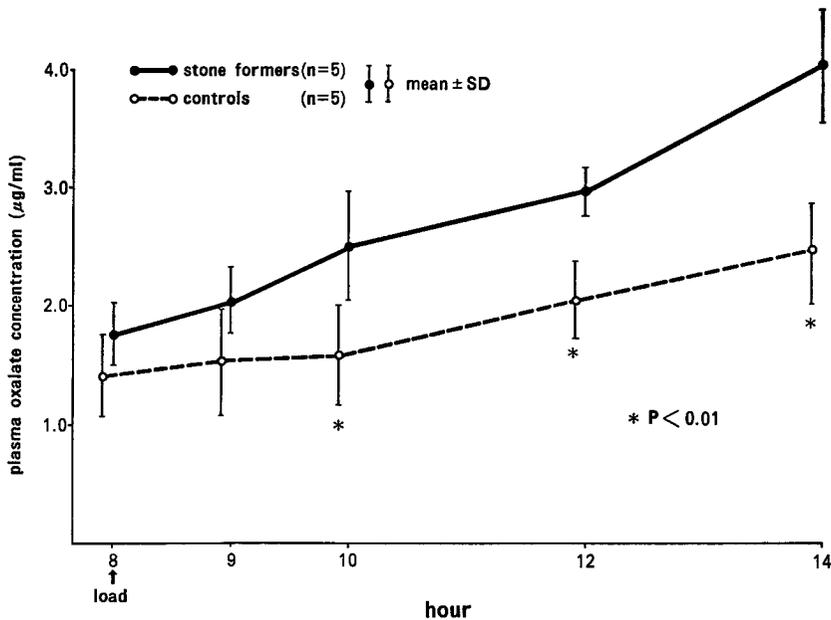


Fig. 4. Plasma oxalate concentration in controls and stone formers following oral load with 100 g spinach

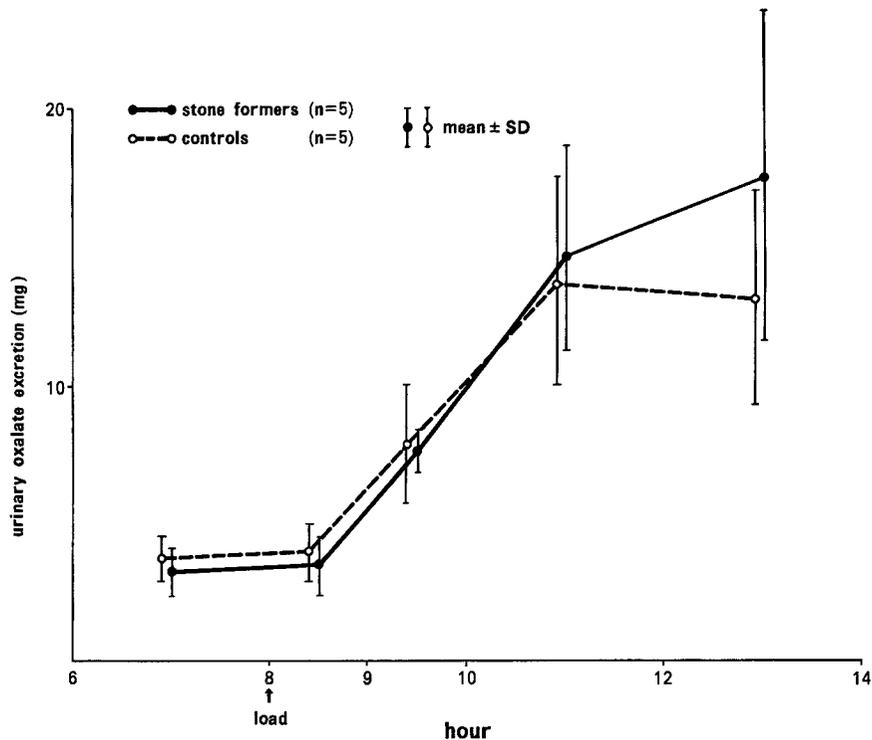


Fig. 5. Urinary oxalate excretion in controls and stone formers following oral load with 100 g spinach

IV 尿酸クリアランス

結石群および対照群の平均尿酸クリアランスは19.0 ml/min および 18.0 ml/min であり、両群間に有意な差は認めなかった。また、クレアチニンクリアランスとの比は両群ともに0.22であった。

考 察

近年、尿酸定量法の進歩とともに尿酸カルシウム結石発生における尿酸の pathogenetic influence が注目されてきている。現在までに、尿中尿酸定量法はほぼ確立され、尿中尿酸排泄量に関してはさまざまな研究がなされ報告されて来た。しかし、血中尿酸に関しては、その定量が困難であったため報告は数少ない。尿中に排泄される尿酸は食餌から吸収され尿中に排泄される外因性のものと、代謝の終末産物として肝で生成され尿中に排泄される内因性のものがある。このうち外因性に由来するものが約10%であり、内因性に由来するものが約90%であるといわれており⁶⁾、尿酸カルシウム結石患者における尿酸の代謝、腸管での吸収および腎での排泄の状態をあきらかにすることはきわめて重要なことと考える。したがって、尿酸が尿中に排泄される前段階にある血中尿酸量を測定すること

は、結石発生機序を解明し、結石発生の予防をおこなううえで重要であると考えられる。

血中尿酸定量法は1930年代初期より報告されているが⁴⁾、それらの方法による血中濃度は30~100 $\mu\text{g/ml}$ と非常に高く、また、信頼性の高い方法とは考えられていない⁷⁾。最近では、(1) chemical method^{8,9)}、(2) isotopic dilution method¹⁰⁻¹⁴⁾、(3) enzymatic method^{7,15-20)}、(4) gas chromatographic method^{21,22)} がおもな測定法として報告されている。本邦では、Sugiura ら¹⁷⁾の colorimetric, enzymic method や Bennett らの radioenzymatic method を改良した小川の方法²⁰⁾が報告されている。isotopic dilution method を除く他の方法による測定値は約1.0~4.0 $\mu\text{g/ml}$ という値で一致をみているが、isotopic dilution method による測定値は一様に低い値を示しており、約10~40倍の差がみられる。現在のところこの差が生ずる原因については究明されておらず、各報告者がそれぞれの data をもとに検討をかさねているのが現状である (Table 4)。

著者は gas chromatograph 法により血中尿酸定量をおこなった。前述のごとく諸家によりさまざまな測定法が報告されているが、一般に手技が煩雑であり

routine の臨床検査法とはいいがたい。今回、著者がおこなった方法は測定試料が血漿 5 ml と少なく、手技も簡単で、artifact をうけることなく、全操作約 3 時間で血中尿酸定量が可能であった。最近の測定法で変動係数があきらかにされているものは Knowles ら¹⁷⁾の 5.0%、Hatch ら¹⁵⁾の 11.5%、Bennett ら¹⁶⁾の 13.3%、Gelot ら²²⁾の 5.5%、Sugiura ら¹⁷⁾の 2.7%、小川²⁰⁾の 9.3% であり、著者は 4.18% であった。また、本法による平均回収率は $91.42 \pm 11.31\%$ 、尿酸の peak の高さが 5 mm 以上とした場合の測定限界濃度は $0.3 \mu\text{g/ml}$ であり、本法は再現性および信頼性の高い方法と考えられ、routine の臨床検査法として十分利用できるものと考ええる。

内因性尿酸は glycine から glyoxylate を経て尿酸にいたるものと、ascorbate から尿酸にいたるもので大半を占め、その他は glycolate や glyoxylate を産生する代謝系に由来するものと考えられている²³⁾。Akçay ら¹⁸⁾は尿酸の前駆物質である glycolate は血漿中に約 $15.2 \mu\text{g/ml}$ 、glyoxylate は約 $2.48 \mu\text{g/ml}$ と尿酸に比しかなり高濃度で存在しており、採血後血液を放置することにより、これら前駆物質が酸化され尿酸に変化していく可能性があることを指摘している。また、Zarembski ら⁸⁾は全血と血清で尿酸濃度を測定し、全血での測定値が高値であったことを報告し、赤血球が採血後の尿酸合成に関与していることを示唆している。そこで、著者は glyoxylate の酸化に関与する LDH、xanthine oxidase および glycolate oxidase を阻害するために BAP solution を作成し、採血時に加え測定をおこなった。その結果、BAP solution 無添加時の測定値との間に有意な差を認めず、glyoxylate による影響はないものと考えた。いっぽう、ascorbate による影響について、Sugiura ら¹⁷⁾は血漿中の ascorbate 濃度が正常範囲内 (1 mg/dl 以下) であれば測定値への影響はないが、血漿濃度が高ければ高いほど尿酸測定値への影響が大であったと報告している。著者は無作為に採血した血漿 5 ml に ascorbate $60 \mu\text{g}$ (1.2 mg/dl) を添加して測定をおこなったが、その測定値に有意な差を認めず、血漿中の ascorbate 濃度が正常範囲内であれば、ascorbate による影響はないものと考えた。したがって、採血後可及的速やかに血漿分離し測定することにより、採血後の尿酸合成による本法におよぼす影響はないものと考えた。

今回、著者は健康成人男子の空腹時血中尿酸濃度を測定し、平均 $1.37 \pm 0.39 \mu\text{g/ml}$ という結果を得た。正常範囲を $\text{mean} \pm 2\text{SD}$ とするならば $0.60 \sim 2.14$

$\mu\text{g/ml}$ となり isotopic dilution method による測定値を除く他の報告とほぼ近似する値であった (Table 4)。尿酸カルシウム結石患者における空腹時血中尿酸濃度についての報告は数少なく、結石群と対照群との間に有意の差がある¹⁹⁾とするものもない^{11, 20)}とするものがある (Table 4)。著者は男子尿酸カルシウム結石患者の空腹時血中尿酸濃度を検討した。その結果、結石群は $1.45 \pm 0.39 \mu\text{g/ml}$ であり、対照群に比し有意な差は認めなかった。しかし、今回対象となったなかで、正常上限と考えた $2.14 \mu\text{g/ml}$ を越えたものは結石群の 2 名であり、臨床的に再発の既往のあるものであった。今回の検討では、結石群と対照群の空腹時血中尿酸濃度に推計学的には有意な差は認めなかったが、前日の食事内容を一定にしていなかったため、今後は一定食事下における空腹時血中尿酸濃度について検討するとともに、さらに症例をかきね結石群の中での型分類についても検討していく予定である。

尿中尿酸排泄量は尿酸摂取量に大きく左右されると考えられているが^{24, 25)}、血中尿酸濃度の変化に関する報告は数少ない。Sugiura ら¹⁷⁾は食後 1 時間で、血中濃度は約 1.5 倍に上昇したと述べている。Butz らは尿酸ナトリウム塩として負荷 (130 および 400 mg/day) し、血中尿酸濃度および尿中尿酸排泄量の変化を観察している。尿酸ナトリウムとして 400 mg/day 投与した場合に尿中排泄量は著明に増加したが、血中濃度には有意な変化はみられなかったと述べている²⁴⁾。また、glycine および protein を負荷した場合には血中濃度、尿中排泄量ともに著明な変化はみられなかったと報告している²⁵⁾。Hatch ら²⁶⁾は ascorbate の負荷により、血中濃度、尿中排泄量ともに有意に増加したと報告している。現在までに、尿酸を負荷しその後の血中尿酸濃度の変化を経時的に観察した報告はない。今回、著者はホウレン草 100 g (総尿酸量 545.5 mg 、可溶性尿酸量 381.5 mg) を負荷し、負荷後 6 時間の血中尿酸濃度および尿中尿酸排泄量の変化を経時的に観察した。また、前日の食事内容を一定にし (総尿酸量 44.5 mg 、カルシウム 189 mg)、前日の食事の影響を除外した。その結果、血中濃度は、結石群では負荷 2 時間後より、対照群では結石群に 2 時間遅れて 4 時間後より有意に上昇した。また、対照群の 6 時間後の血中濃度は負荷前の濃度に対して 167% の上昇であったのに対し、結石群は 4 時間後ですでに 163% の上昇がみられ、6 時間後には 232% に上昇した。そして、結石群の 4～6 時間後の 2 時間における上昇率は他の時間帯のどの上昇率と比較しても有意に高かった。すなわち、結石群は負荷後早い時期より尿酸は吸

Table 4. Comparison of serum or plasma oxalate concentration in controls and stone formers

Author	Method	Controls		Stone Formers	
		No. of Subjects	Serum(S) or Plasma(P) Oxalate ($\mu\text{g/ml}$)	No. of Subjects	Serum(S) or Plasma(P) Oxalate ($\mu\text{g/ml}$)
Zarembski, P.M. et al 1965	fluorimetric	20	(S) 1.35-2.80 (non-fasting)		
Hodgkinson, A. et al 1974	isotopic	m 3	(P) 0.12-0.14	m 15	(P) 0.16 \pm 0.05
Nuret, P. et al 1978	gas chromatographic	20	(S) 1.44 \pm 0.41		
Constable, A.R. et al 1979	isotopic	5	(P) 0.08-0.19	2	(P) 0.15-0.19
Bennett, D.J. et al 1979	radioenzymatic	m 9 m 6	(S) 0.83 \pm 0.24 (P) 0.96 \pm 0.34		
Akçay, T. et al 1980	enzymatic	20	(P) 0.20 \pm 0.15 (non-fasting)		
Butz, M. et al 1980	enzymatic	m 50 f 49	(S) 2.77 \pm 0.79 (S) 3.56 \pm 0.95	S-m 32 f 20 R-m 52 f 26	(S) 3.44 \pm 1.14 (S) 3.90 \pm 1.29 (S) 3.92 \pm 1.20 (S) 3.74 \pm 1.22
Gelot, M.A. et al 1980	gas chromatographic	40	(P) 1.80 \pm 0.79		
Ogawa, Y. 1982	radioenzymatic	m 10 f 5 T 15	(P) 1.37 \pm 0.32 (P) 1.12 \pm 0.68 (P) 1.29 \pm 0.46	m 10 f 5 T 15	(P) 1.03 \pm 0.35 (P) 1.21 \pm 0.51 (P) 1.09 \pm 0.41
Hoshina, A. 1984	gas chromatographic	m 16	(P) 1.37 \pm 0.39	m 31	(P) 1.45 \pm 0.39

m; male
f; female
S; single stone formers
R; recurrent stone formers
T; total

収されやすく、負荷6時間後あるいはそれ以後に吸収能力は最大限に達するものと推測された。いっぽう、対照群における尿酸濃度の上昇は緩徐であり、結石群に比し吸収能力は低いと考えられた。一般に、尿酸は12指腸から結腸にかけて吸収されると考えられているが、その詳細については不明な点が多い。今回の著者の研究では、結石群は対照群に比し尿酸の吸収能力が亢進しているばかりでなく、吸収部位も拡大していることが示唆された。

尿酸負荷後の最大尿中排泄は、Barillaら²⁷⁾や有馬²⁸⁾は2~6時間後であったと述べている。著者の観察でも、両群ともに負荷1~2時間後の1時間尿より有意な増加がみられた。そして、結石群における負荷2時間後の血中濃度が対照群に比し有意に高値となっているにもかかわらず、結石群の2~4時間後の2時間尿における尿中排泄量は対照群と有意な差を認めず、4時間後まで対照群と同様の排泄パターンを示した。そして、対照群では2~4時間後の2時間尿に排泄 peak がみられたのに対し、結石群では4~6時間後あるいはそれ以後に排泄 peak があると考えられ、結石群は対照群に比し尿酸排泄が遅延しているこ

とが示唆された。今回の研究は絶食下でおこなったため、負荷6時間後までの追跡で終わったが、今後は食事内容を検討したうえで、負荷後長時間にわたる経過観察が必要であると考えている。

尿酸の腎での排泄は糸球体ろ過、尿管での分泌および再吸収に左右されることはいうまでもないが、その排泄メカニズムに関しては現在のところほとんど知られていない。1962年、Cattellら²⁹⁾は ^{14}C 尿酸ナトリウムを犬に静注し尿酸クリアランス(Cox)に関する検討をおこなった。その結果、Coxは68 ml/minであり、クレアチニンクリアランスとの比(Cox/Ccr)は1.28であったと報告している。また、Weinmanら²⁹⁾はratで腎のmicropunctureをおこない、尿酸は近位尿管(immediate postglomerular segment)で分泌されていると述べている。Zarembskiら¹⁰⁾は健康成人のCoxは3.9 ml/min、Cox/Ccrは0.034であり、糸球体でろ過された尿酸の約96%が尿管で再吸収されると報告している。いっぽう、Williamsら¹²⁾は健康成人のCoxは169 ml/min、Cox/Ccrは1.64であり、尿酸は尿管で分泌されている可能性を示唆している。今回、著者は男子

Table 5. Comparison of oxalate clearance in controls and stone formers

Author	Method	No. of Subjects	Plasma Oxalate ($\mu\text{g/ml}$)	Cox (ml/min)	Cox/Ccr
Zaremski, P.M. et al 1963	fluorimetric	c 6	3.44-6.89	3.9	0.03
Williams, H.E. et al 1971	isotopic	c 7		169.0	1.64
Hodgkinson, A. et al 1974	isotopic	c 3 s 15	0.12-0.14 0.16 \pm 0.05	249.0 201.0	1.95 1.76
Constable, A.R. et al 1979	isotopic	c 5	0.07-0.13	168.0	1.54
Hoshina, A. 1984	gas chromatographic	c 6 s 4	0.90-1.72 1.24-1.80	18.0 19.0	0.22 0.22

c; controls s; stone formers

蓆酸カルシウム結石患者および健康成人男子の Cox を検討した。その結果、結石群は 19.0 ml/min、対照群は 18.0 ml/min であり、両群間に有意な差は認めなかった。また、Cox/Ccr は両群ともに 0.22 であり、Zaremski らの報告に近い値となった (Table 5)。今回の検討では、蓆酸が糸球体で自由に限外ろ過されると仮定すると、尿細管での再吸収の方が分泌よりも有意であることが推測された。しかし、isotopic dilution method による結果とは、血中蓆酸濃度、蓆酸クリアランスともに約 10 倍の差がみられており、この点については今後さらに検討が必要であると考えている。

結 語

gas chromatograph 法により血中蓆酸定量法を確立し、男子蓆酸カルシウム結石患者および健康成人男子の空腹時血中蓆酸濃度を測定した。また、ホウレン草 100 g を負荷し、負荷後 6 時間の血中蓆酸濃度および尿中蓆酸排泄量の変化を経時的に観察するとともに、蓆酸クリアランスについて検索をおこなった。

1) gas chromatograph 法により少量の試料 (血漿 5 ml) で、短時間 (約 3 時間) での血中蓆酸定量を可能とした。

2) 本法による平均回収率は 91.42 \pm 11.31 % であり、平均変動係数は 4.18 % であった。また、蓆酸の peak の高さを 5 mm 以上とした場合の測定限界濃度は 0.3 $\mu\text{g/ml}$ であった。

3) 結石群 (n=31) および対照群 (n=16) の空腹時血中蓆酸濃度は 1.45 \pm 0.39 $\mu\text{g/ml}$ および 1.37 \pm 0.39 $\mu\text{g/ml}$ であり、両群間に有意な差は認めなかった。

4) ホウレン草 100 g 負荷後の血中蓆酸濃度は、

負荷前の濃度に対し、結石群 (n=5) は 2 時間後より (p<0.05)、対照群 (n=5) は 4 時間後より (p<0.05) 有意に上昇し、6 時間後に結石群は 232% (p<0.01)、対照群は 167% (p<0.01) に上昇した。とくに、結石群の 4~6 時間後の 2 時間における上昇率は 43.2% と高かった。また、結石群における 2、4 および 6 時間後の血中濃度は対照群に比し有意に高かった (p<0.01)。

5) ホウレン草 100 g 負荷後の尿中蓆酸排泄量は負荷 1~2 時間後の 1 時間尿で、負荷前に対し、結石群は 282%、対照群は 250% に両群とも有意に増加し (p<0.01)、4 時間後まで同様の排泄パターンを示した。対照群では 2~4 時間後の 2 時間尿に排泄 peak がみられたのに対し、結石群は 4~6 時間後あるいはそれ以後に排泄 peak があると考えられた。

6) 結石群 (n=4) および対照群 (n=6) の平均蓆酸クリアランスは 19.0 ml/min および 18.0 ml/min であり、両群間に有意な差は認めなかった。また、クレアチニンクリアランスとの比は、両群ともに 0.22 であり、蓆酸が糸球体で自由に限外ろ過されると仮定すると、尿細管での再吸収の方が分泌よりも有意であることが推測された。

7) 今回の研究により、結石群は対照群に比し蓆酸に対する吸収能力が亢進しているばかりでなく吸収部位も拡大していると考えられ、また、尿中への排泄は遅延していると考えられた。

8) 血中蓆酸定量が可能となり、結石群において、腸管での吸収亢進型、肝での代謝亢進型および腎での排泄亢進あるいは遅延型などの型分類が可能であると考えている。

稿を終るにあたり、御指導ならびに御校閲を賜りました恩師、多田茂教授に厚く感謝の意を表すとともに、御協力頂きました教室員諸兄、栄養室の三根 登志子嬢に深謝致します

本論文の要旨は、第72回日本泌尿器科学会総会（徳島・1984年）において発表した。

文 献

- 1) Yanagawa M, Ohkawa H and Tada S: The determination of urinary oxalate by gas chromatography. *J Urol* **129** : 1163~1165, 1983
- 2) 柳川 真: 尿路結石に関する研究. 第2編. 男子 尿酸カルシウム結石患者における尿中尿酸排泄動態. *三重医学* **26** : 476~482, 1983
- 3) 有馬公伸: 尿酸カルシウム結石患者における尿中尿酸量におよぼす食餌の影響に関する研究. *泌尿紀要* **29** : 1587~1603, 1983
- 4) Barrett JFB: The oxalate content of blood. *Biochem J* **37** : 254~256, 1943
- 5) 大川博徳: ガスクロマトグラフィーによる食品中の尿酸の定量. *三重大学教育学部研究紀要* **35** : 117~131, 1984
- 6) Hodgkinson A: Oxalate metabolism and hyperoxaluria. In: *Scientific Foundation of Urology*, ed. by D.I. Williams and G.D. Chisholm, 1st ed., Vol. I, pp. 289~296, William Heineman Medical Books LTD, London, 1976
- 7) Knowles CF and Hodgkinson A: Automated enzymic determination of oxalic acid in human serum. *Analyst* **97** : 474~481, 1972
- 8) Zarembski PM and Hodgkinson A: The fluorimetric determination of oxalic acid in blood and other biological materials. *Biochem J* **96** : 717~721, 1965
- 9) Krugers Dagneaux PGLC, Klein Elhorst J T and OLthuis FMFG: Oxalic acid determination in plasma. *Clin Chim Acta* **71** : 319~325, 1976
- 10) Zarembski PM and Hodgkinson A: The renal clearance of oxalic acid in normal subjects and in patients with primary hyperoxaluria. *Invest Urol* **1** : 87~93, 1963
- 11) Hodgkinson A and Wilkinson R: Plasma oxalate concentration and renal excretion of oxalate in man. *Clinical Science and Molecular Medicine* **46** : 61~73, 1974
- 12) Williams HE, Johnson GA and Smith LH: The renal clearance of oxalate in normal subjects and patients with primary hyperoxaluria. *Clin Sci* **41** : 213~218, 1971
- 13) Constable AR, Joekes AM, Kasidas GP, O'Regan P and Rose GA: Plasma level and renal clearance of oxalate in normal subjects and in patients with primary hyperoxaluria or chronic renal failure. *Clin Sci* **56** : 299~304, 1979
- 14) Prenen JAC, Dorhout MEJ, Boer P, Endeman HJ and Ephraim KH: Oxalic acid concentration in serum measured by isotopic clearance technique experience in hyper- and normo-oxaluric subjects. *Proc EDTA* **16** : 566~570, 1979
- 15) Hatch M, Bourke E and Costello J: New enzymic method for serum oxalate determination. *Clin Chem* **23/1** : 76~78, 1977
- 16) Bennett DJ, Cole FE, Frohlich ED and Erwin DT: A radioenzymatic isotope-dilution assay for oxalate in serum or plasma. *Clin Chem* **25/10** : 1810~1813, 1979
- 17) Sugiura M, Yamamura H, Hirano K, Ito Y, Sasaki M, Morikawa M, Inoue M and Tsuboi M: Enzymic determination of serum oxalate. *Clin Chim Acta* **105** : 393~399, 1980
- 18) Akcay T and Rose GA: The real and apparent plasma oxalate. *Clin Chim Acta* **101** : 305~311, 1980
- 19) Butz M and Kohlbecker G: Oxalate urolithiasis: Significance of serum and urinary oxalate. *Urol Int* **35** : 303~308, 1980
- 20) 小川由英: 尿路結石症における尿酸に関する研究 IV. 尿酸カルシウム結石患者の血中尿酸測定. *日泌尿会誌* **73** : 971~976, 1982
- 21) Nuret P and Offner M: A new method for determination of oxalate in blood serum by gas chromatography. *Clin Chim Acta* **82** : 9~12, 1978
- 22) Gelot MA, Lavoue G, Belleville F and Nabot P: Determination of oxalates in plasma and urine using gas chromatography. *Clin Chim Acta* **106** : 279~285, 1980
- 23) Richardson KE and Farinelli MP: The pa-

- thways of oxalate biosynthesis. In : Urolithiasis, Clinical and Basic Research, ed. by L.H. Smith, W.G. Robertson and B. Finlayson, PP. 855~863, Plenum Press, New York, 1981
- 24) Butz M, Hoffmann H and Kohlbecker G : Dietary influence on serum and urinary oxalate in healthy subjects and oxalate stone formers. *Urol Int* 35: 309~315, 1980
- 25) Butz M, Hoffmann H, Kohlbecker G und Brosig W . Der Einfluß eiweißreicher Diät auf Oxalat im Plasma und Urin und die Bedeutung des Urin-Oxalats für die Calcium-Oxalat-Lithiasis. *Fortschr Urol Nephrol* 14: 43~47, 1979
- 26) Hatch M, Mulgrew S, Bourke E, Keogh B and Costello J : Effect of megadoses of ascorbic acid on serum and urinary oxalate. *Eur Urol* 6: 166~169, 1980
- 27) Barilla DE, Notz C, Kennedy D and Pak CYC : Renal oxalate excretion following oral oxalate loads in patients with ileal disease and with renal and absorptive hypercalciurias. *Am J Med* 64: 579~585, 1978
- 28) Cattell WR, Spencer AG, Taylor GW and Watts RWE : The mechanism of the renal excretion of oxalate in the dog. *Clin Sci* 22 : 43~51, 1962
- 29) Weinman EJ, Frankfurt SJ, Ince A and Sanson S : Renal tubular transport of organic acids. *J Clin Inves* 61: 801~806, 1978
(1984年5月22日迅速掲載受付)