

蓚酸カルシウム沈澱物形成のカルシウム電極による簡便測定法 漢方製剤による抑制効果

日高 三郎,^{a)}阿部 公生,^{a)}竹内 良夫,^{b)}劉 勝彦^{c)}

^{a)}福岡歯科大学口腔生化学, ^{b)}日本医科大学微生物免疫学, ^{c)}株式会社ツムラ・学術部

A simple method for the study of the formation of calcium oxalate precipitates Inhibitory effects by Kampo medicines

Saburo HIDAKA,^{a)} Kimio ABE,^{a)} Yoshio TAKEUCHI^{b)} and Sheng Yan, LIU^{c)}

^{a)}Department of Oral Biochemistry, Fukuoka Dental College

^{b)}Department of Microbiology and Immunology, Nippon Medical School, ^{c)}Tsumura Co. Ltd.

(Received May 10, 1991. Accepted September 17, 1991)

Abstract

The authors measured the formation of calcium oxalate precipitates using a calcium electrode. The validity of the direct assay of free calcium concentration using a calcium electrode was confirmed by conductometric titration. This method was found to be simple and easy. We used this method to study various chemical substances, urine, saliva and seven kinds of Kampo (Chinese traditional medicines prescribed for kidney diseases) which influence the formations of calcium oxalate precipitates and complex with calcium.

While urine, saliva and seven kinds of Kampo medicines showed an inhibitory effect on the formation of calcium oxalate precipitates, Hachimi-jio-gan, Gorei-san, Boi-ogi-to, Eppi-ka-jutsu-to and Inchin-ko-to also showed the increase of equivalent point with calcium ion.

Key words conductometric titration, calcium ion concentration, crystal inhibiting activity, complex formation, calcium oxalate crystal, Kampo medicine.

Abbreviations EGTA, ethyleneglycol-bis-(β -aminoether) *N,N'*-tetraacetic acid; Mes, 2-(*N*-Morpholino) ethanesulfonic acid; ANOVA, analysis of variance.

緒 言

口腔内の異所性石灰化症としては、歯石症¹⁾と唾石症²⁾が知られている。これらの疾患にみられる結石の結晶は主にリン酸カルシウムから構成されている。しかし稀ではあるが腎結石³⁾の構成成分である蓚酸カルシウム結晶が高蓚酸尿症や蓚酸症の患者の歯肉や歯髓や歯に沈着することが知られている^{4,5)}。

今日臨床治療に用いられている漢方製剤は多年にわたる臨床経験に基づいて工夫されたものであり、その種類は多種にわたり、証という独特のパラメーターに従って投与される。また、必ずしも即効性と

は言えないが副作用が少ないこともあり、臨床的に有効であると臨床医に評価されている方剤も少なくない。著者ら⁶⁾は最近リン酸カルシウム沈澱物形成の研究に新しい方法を取入れ、漢方薬による沈澱物形成抑制効果についても研究した。しかし、蓚酸カルシウム沈澱物形成抑制効果に関する漢方薬の研究はまだ発表されていない。

ところで、これまでに用いられている蓚酸カルシウムの結晶形成を *in vitro* で測定する方法としては、coulter counter⁷⁾、自動滴定機⁸⁾、rotary evaporator⁹⁾ またはアイソトープでラベルした蓚酸¹⁰⁾ などがある。しかし、これらの方法はいずれも高価な機械と煩雑な手順を必要とする。そこで、我々は多

*〒814-01 福岡市早良区田700番地
700, Ta, Sawara-ku, Fukuoka 814-01, Japan

数の薬剤のスクリーニングテストを目的として、カルシウム電極を用いた簡便な方法を工夫し *in vitro* で蔞酸カルシウム結晶生成反応を測定した。本論分ではこの簡便法の詳細を報告すると共に、この方法を用いて、腎臓疾患治療に用いられている7種の漢方製剤の蔞酸カルシウム結晶形成に及ぼす効果も検討したので報告する。

材料と方法

(1) 蔞酸カルシウム沈澱物形成のカルシウム電極による測定と導電率滴定：遊離のカルシウムイオン濃度はpHメーター（F-7型、堀場、東京）に接続したカルシウム電極（93-20型オリオンリサーチ社、U.S.A.）を用いて電極電位（mV）で測定した。すなわち、0.5 mMの蔞酸カリウム溶液を100 mlの1.5 mM Mes緩衝液（pH 6.2）と混合し、温度条件 $23 \pm 0.1^\circ\text{C}$ で攪拌しながら100 mMの硝酸カルシウム溶液を50 μl づつ加えて滴定した。その場合、計測は硝酸カルシウム溶液を加えて1時間後に行った。また0.08 MのKClを添加した塩化カルシウム溶液を用いてカルシウム標準検量線を作製した。導電率測定は、導電率計（CD-35MI、エムエス機器株式会社、大阪）とセル（CDC-122型、エムエス機器株式会社、大阪）を用いて同様の条件で行った。

(2) 滴定初期の遊離カルシウムイオン量と導電率の変化量の測定：0.1 mMの硝酸カルシウム溶液に0.125, 0.250, 0.500, 0.750, または1.00 mMの蔞酸カリウム溶液を加え、それぞれ $23 \pm 0.1^\circ\text{C}$ で攪拌して混合した。混合開始1時間後の溶液における遊離カルシウムイオン濃度は上記と同様にしてカルシウム電極を用いて測定した。また、導電率の変化量は混合前と混合して1時間後の導電率の差（ $\Delta\mu\text{S}$ ）であらわした。

(3) X線回折：0.5 mMの蔞酸カリウム溶液と、0.5 mMの硝酸カルシウム溶液を1.5 mM Mes緩衝液（pH 6.2）に加えて混合し $23 \pm 0.1^\circ\text{C}$ で1時間攪拌して反応させたのち、0.3 μm のメンブレンフィルター（ザルトリウス、東独）を用いて濾過した。得られた沈澱物を室温で乾燥した後、粉末X線回折装置（D-6C型、理学電機、東京）でそのパターンを測定した。X線回折実験は、 CuK_2 線源、Niフィルター、25 kV、10 mA、スリット幅1-0.3-1の条件下で行い、市販の蔞酸カルシウム・1水和物（whewellite）との比較で同定した。

(4) 尿と唾液の採集：5名のヒト成人男子尿は朝

食前の新鮮尿を採集し、その日のうちに実験に用いた。同じく5名のヒト成人男子唾液は遠心管に採集し、遠心して食物残渣などを除いた上清を実験に用いた。尿は1 mlを唾液は3 mlを100 mlの0.5 mM蔞酸カリウム/1.5 mM Mes緩衝液（pH 6.2）に加えた。尿を加えることにより反応溶液のpHが低下したので、1NのKOHを用いてpH 6.2として用いた。

(5) カルシウム含有溶液の測定：尿、唾液、漢方製剤のように、カルシウムやその他の電解質を含んでいる溶液については、カルシウム電極を用いてカルシウムイオン濃度の変化を測定した。その場合、滴定を行う前に、試料溶液中に含有されているカルシウムイオン濃度を測定した。越婢加朮湯（含有する混合生薬エキス量1.2 mg/ml）ではカルシウムイオン濃度はおよそ160 μM であったので、それ以上のカルシウムを加えなかったが、越婢加朮湯以外はそれぞれに最終濃度がおよそ100 μM となるように不足分のカルシウムイオンを加えた。次いで、蔞酸カリウム（0.5 mM）を加え、 $23 \pm 0.1^\circ\text{C}$ で1時間攪拌して反応させた後、再び溶液のカルシウムイオン濃度を測定した。100 μM のカルシウムを0.5 mMの蔞酸に加えた時の遊離カルシウムイオン濃度は $48 \pm 1.6 \mu\text{M}$ であった。同じく、160 μM のカルシウムのを0.5 mMの蔞酸に加えた時、それは $50 \pm 0.82 \mu\text{M}$ であった（Fig. 1参照）。越婢加朮湯以外の6種の漢方製剤と尿と唾液は $48 \pm 1.6 \mu\text{M}$ より遊離カルシウムイオン濃度が有意に大きい時、越婢加朮湯のみは $50 \pm 0.82 \mu\text{M}$ よりそれが有意に大きい時、結晶成長抑制作用ありと判定した。当量点もカルシウム電極を用いて測定し、含有していたカルシウム濃度を実験値に加えた補正值を当量点とした。

(6) 尿、唾液、漢方製剤水溶液の滴定：最終濃度がそれぞれ尿1%，唾液3%，漢方製剤は（含有する混合生薬の乾燥エキス量として）1.2 mg/mlとなるように、1.5 mM Mes緩衝液（pH 6.2）で希釈し、 $23 \pm 0.1^\circ\text{C}$ で攪拌して、0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 mMの硝酸カルシウム溶液を用いて滴定した。また、pHを1N KOHでpH 6.2に調整して滴定した。

(7) 試薬：EGTA（Ethylenglycol-bis-(β -aminoethylether) *N,N'*-tetraacetic acid）とMes(2-*N*-Morpholino) ethansulfonic acid）はシグマ社（U.S.A.）から、ヘパリンナトリウム塩（158 U/mg）は和光純薬（大阪）から購入した。腎治療及び尿路結石治療に使用されている7種の漢方製剤¹¹⁾八味地

黄丸(腎炎), 五苓散(ネフローゼ, 浮腫・むくみ, 尿毒症), 防己黄耆湯(腎炎, ネフローゼ, 浮腫・むくみ), 越婢加朮湯(腎炎, ネフローゼ, 浮腫・むくみ), 真武湯(ネフローゼ), 猪苓湯(腎炎, 浮腫・むくみ, 腎臓結石症), 茵陳蒿湯(ネフローゼ)はツムラ(東京)より提供を受けた。そのほかの試薬はすべてナカライ・テスク(京都)の製品を用いた。

(8) 統計: 実験は少なくとも三回行い, 平均値 $\pm$ S.D. であらわした。統計的検定はANOVAとScheffe's Testを用いた。 $p < 0.05$ の時, 有為差ありと見なした。

結 果

1. カルシウム電極法と導電率測定法

Fig. 1に示した様に, 導電率の変化と遊離カルシウムイオン濃度の変化との間に一致が見られた。検

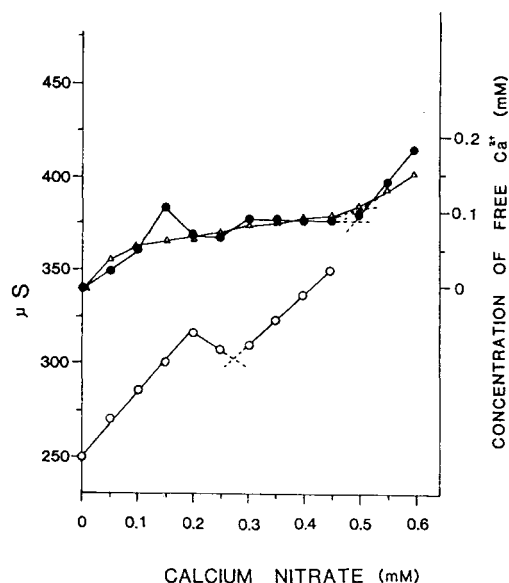


Fig. 1 Titration curve between potassium oxalate and calcium nitrate. The left ordinate represents the conductivity and the right ordinate represents the concentration of free calcium ion(Δ) measured by calcium electrode. The abscissa represents the volumes of calcium nitrate added. Experimental conditions: The concentration of oxalate was 0.25($\circ$) and 0.5($\bullet$) mM. The final volume of the assay solution which contained 1.5 mM Mes buffer (pH 6.2) was 100 ml. The reaction mixture was stirred at $23 \pm 0.1^\circ\text{C}$. The titration was carried out by adding 0.05 mM calcium each time beyond the equivalent point. The equivalent point was determined by drawing a perpendicular line to the abscissa from a cross point of broken line.

査物質を加えた時, この当量点の値が正常値からずれることはカルシウムイオンまたは蓚酸イオンと強い相互作用をする化学種の存在を示すものである。そこで著者らは特にこの当量点からの正のずれを検査物質のカルシウムに対する錯体形成能の指標として用いた。尿, 唾液, 漢方製剤の場合のように, 滴定前に高いカルシウム濃度の溶液の滴定には, カルシウム電極を用いて結晶成長抑制能と錯体形成能を測定した。その場合, 含有していたカルシウム濃度を実験値に加えた補正值を当量点として用いた(後述)。

導電率滴定は滴定の進行に伴う溶液の導電率の変化を測定して滴定曲線を描き, これによって終点を決定する滴定法である。Fig. 1に示した様に, 溶液の導電率の変化は蓚酸カリウムと硝酸カルシウム溶液の混合により起きた。この場合, 溶液中から除去される蓚酸イオンと新たに加えられる硝酸イオンの極限当量導電率を比較すると硝酸イオンの方が小さいので, 蓚酸カルシウム結晶ができることにより溶液の導電率は当量点に達するまで低下するはずである。しかしながら, 滴定初期(0.1-0.2 mM カルシウムを加えた時)には導電率は増加を示した。即ち, この導電率の増加は蓚酸カルシウム結晶成長抑制を示していた(後述)。

2. 滴定初期のカルシウム消費量と導電率の変化量との比較

滴定初期には直ちに結晶となりにくいために, 導電率が増加した。この増加の様子は, Fig. 2に示したように, 蓚酸カリウム濃度と逆比例の関係にあった。この時の遊離のカルシウムイオン濃度は導電率増加量と相関していた($r = 0.97$)。この様に, 初期の導電率の増加は結晶成長抑制を示すものであった。0.1 mMのカルシウム溶液を加えた時の遊離カルシウムイオン濃度と導電率の変化量を結晶生成の指標として用いた。著者らが用いた条件では, 対照は 48 ± 1.6 と 21 ± 1.0 (Table 1)であり, これよりも大きな値のときは結晶成長抑制もしくは蓚酸イオンと強い錯体形成能ありとみなした。これより小さい値のときは結晶成長促進もしくはカルシウムと強い錯体形成能あるものと判断した。

3. X線回折像

著者らが用いた条件では生成する結晶は, Fig. 3に示す様に, 14.9° , 24.3° , 30.1° に特有のピークを有する蓚酸カルシウム・1水和物(whewellite)であった。蓚酸カルシウム・2.5水和物(weddellite)の混在はなかった。

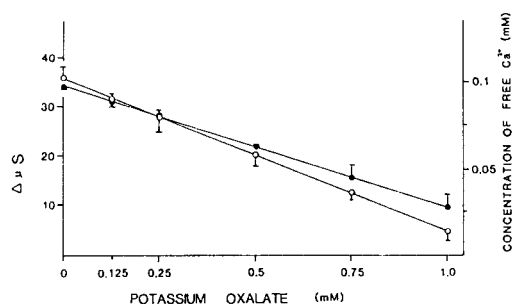


Fig. 2 The changes of conductivity expressed as function of oxalate concentration. The left ordinate represents the changes of the conductivity(○) and the right ordinate represents the changes of the concentration of free calcium ion(●). The concentration of calcium was always 0.1 mM and the concentration of oxalate varied 0.125 to 1.00 mM. The experimental conditions were the same as shown in Fig. 1. Values are expressed as the mean $\pm$ S.D.

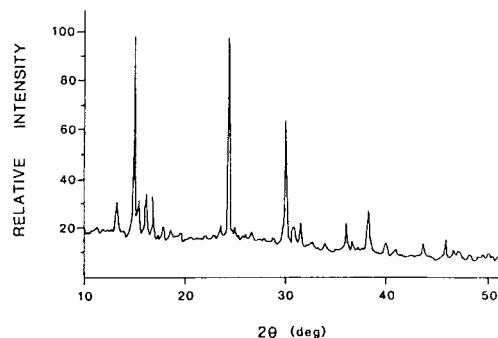


Fig. 3 The X-ray diffraction pattern of calcium oxalate. The precipitated samples were obtained by filtration through a membrane filter 1 hr after mixing 0.5 mM calcium with 0.5 mM oxalate. This diffraction pattern was identical to that of calcium oxalate monohydrate (whewellite).

Table I Effects of various agents on the formation of calcium oxalate.

Additives	Concentration used	Addition of 0.1mM Ca^{2+}		Equivalent point (mM)	
		(A) ($\Delta\mu\text{S}$)	(B) (μM)	(A)	(B)
None	0	21 ± 1.0	48 ± 1.6	0.48 ± 0.02	0.49 ± 0.01
EGTA	0.25 mM	$10 \pm 1.6^*$	$22 \pm 1.1^*$	$0.75 \pm 0.04^*$	$0.76 \pm 0.04^*$
Heparin	0.2 mg/ml	$38 \pm 1.9^*$	$100 \pm 5.1^*$	$1.2 \pm 0.11^*$	$1.2 \pm 0.09^*$
Magnesium	0.25 mM	$37 \pm 1.6^*$	$97 \pm 3.2^*$	ND ^{a)}	0.45 ± 0.03
Pyrophosphate	0.25 mM	$10 \pm 1.3^*$	$21 \pm 1.0^*$	$0.65 \pm 0.03^*$	$0.66 \pm 0.04^*$

The calcium oxalate formation was measured by the calcium electrode (B) and the conductometric titration (A). The calcium nitrate (0.1 mM) added to 0.5 mM potassium oxalate. The conductivity and concentration of free calcium ion was measured at zero time and at 1 hr. The titration was carried out by adding 50 μl of 100 mM calcium nitrate at each time (0.05 mM) into 100 ml of 0.5 mM potassium oxalate using a conductivity meter and a calcium electrode. Additives were added to the reaction mixture 1 hr before the titration. The experimental conditions were the same as shown in Fig. 1.

^{a)} ND: Not determined.

* Indicates significant difference ($p < 0.05$).

4. 種々の物質の効果

導電率滴定法とカルシウム電極法の比較のため種々の化学物質を用いて測定を行った。Table I に示した様に、これら両者の測定法で一致した結果が得られた。EGTA とピロリン酸の初期導電率 ($\Delta\mu\text{S}$) と遊離カルシウムイオン濃度は、対照が 21 ± 1.0 と 48 ± 1.6 であるのに比べそれぞれ約半分 の値であった。さらに、当量点も 1.4-1.6 倍に増加 していた。マグネシウムとヘパリンの場合は、明ら かに両方の方法で $\Delta\mu\text{S}$ も遊離カルシウム濃度も 2

倍対照より大きくなり、結晶抑制作用があった。しかし、ヘパリンは当量点を増加させたが、マグネ シウムは対照と差がなかった。

カルシウム電極法の信頼性が導電率滴定法により 確かめられたので、これ以降の反応の測定はカルシ ウム電極法を用いて行った。

5. ヒト尿及び唾液の効果

Table II に示した様に、実験に用いたヒト尿及 び唾液には結晶成長抑制活性があった。当量点につ いては、両方共に対照と差がなかった。

Table II Effects of urine, saliva and Kampo medicines on the formation of calcium oxalate.

Samples or medicines	Concentration used	Free Ca^{2+} (μM)		Equivalent point (mM)
		Before	After 1hr	
None	0	$<5 \pm 0.82$	48 ± 1.6	0.49 ± 0.010
Urine	1 %	68 ± 2.4	$73 \pm 2.4^*$	0.49 ± 0.005
Saliva	3 %	78 ± 1.6	$70 \pm 2.4^*$	0.51 ± 0.010
Hachimi-jio-gan	1.2 mg/ml	49 ± 4.1	$68 \pm 4.1^*$	$0.54 \pm 0.014^*$
Gorei-san	1.2 mg/ml	24 ± 3.3	$68 \pm 2.4^*$	$0.56 \pm 0.005^*$
Boi-ogi-to	1.2 mg/ml	60 ± 4.1	$68 \pm 1.6^*$	$0.60 \pm 0.010^*$
Eppi-ka-jutsu-to	1.2 mg/ml	160 ± 4.9	$140 \pm 4.1^*$	$0.68 \pm 0.005^*$
Sinbu-to	1.2 mg/ml	47 ± 1.6	$68 \pm 0.82^*$	0.51 ± 0.005
Chorei-to	1.2 mg/ml	26 ± 2.4	$75 \pm 4.1^*$	0.51 ± 0.029
Inchin-ko-to	1.2 mg/ml	68 ± 2.4	$73 \pm 2.4^*$	$0.57 \pm 0.010^*$

The concentration of free Ca^{2+} was determined by measuring the calcium ion concentration before titration and 1 hr after mixed with 0.5 mM oxalate. They had been adjusted to 0.10 mM calcium, but only Eppi-ka-jutsu-to had not added any more calcium ions because its 1.2 mg/ml solution already exceeded 100 μM calcium concentration. The equivalent point was measured using a pH meter. The titration was carried out by adding each time 50 μl of calcium nitrate (0.05 mM) into 100 ml of 0.5 mM potassium oxalate. The experimental conditions were the same as shown in Fig.1.

*Indicates a significant difference ($p < 0.05$).

6. 漢方製剤の効果

Table II に示した様に、越婢加朮湯、防己黃耆湯、茵陳蒿湯、八味地黄丸、五苓散は対照に比べ当量点が大きくなり顕著なカルシウムとの錯体形成能を示しており、結晶成長抑制作用も見られた。猪苓湯と真武湯には結晶成長抑制が見られたが当量点では対照と差がなかった。なお、固剤である乳糖は実験に用いた条件では 1.4-4.8 mg/ml の範囲で含まれていた。しかし、乳糖の 10 mg/ml でも何ら初期滴定のカルシウム濃度と当量点に影響はなかった。

考 察

カルシウムイオンに対し、強力なキレート形成能を持つ EGTA の場合、加えたカルシウムイオンを奪ってしまうので初期滴定の遊離カルシウムイオン濃度と $\Delta\mu\text{S}$ は、対照 (Table I) に比べ低下し、カルシウムイオンと安定な錯体を形成するので、当然ながら当量点は大きくなった。ヘパリンには結晶成長抑制作用が知られているが¹²⁾同時にカルシウムと錯体を形成することは明らかであった。マグネシウムもピロリン酸も結晶成長抑制作用のあることが知られており³⁾、マグネシウムの場合は明らかに、初期遊離カルシウムイオン濃度と $\Delta\mu\text{S}$ に対照と差が見られ、結晶成長抑制作用があった。in vitro ではマグ

ネシウムは水溶性の蓚酸マグネシウム錯体 $[\text{Mg}(\text{C}_2\text{O}_4)_2]^{-2}$ 及び溶解性の蓚酸マグネシウムを形成するため、カルシウム蓚酸塩の溶解性を増大させることが知られている。¹³⁾ マグネシウム存在下では蓚酸カルシウムが沈澱しにくくなるため、導電率計による測定では、当量点が大きく負の方向にずれて対照の半分となった。このため、マグネシウムの場合には、カルシウム電極を用いてカルシウム濃度変化を直接に測定することによって正しい当量点を得ることができた (Table I)。一方、ピロリン酸は EGTA に類似してカルシウムと錯体を形成し、当量点が大きくなり、かつ滴定初期の遊離カルシウムイオン濃度と $\Delta\mu\text{S}$ が小さくなった。

尿中のクエン酸塩、ピロリン酸塩、コンドロイチン硫酸塩、リボ核酸塩が結石阻止活性を担っていることが知られている。³⁾ 同様に唾液にも結晶成長抑制物質の存在が示唆された。唾液中ではカルシウムと親和性のある蛋白質ないしペプチドがリン酸カルシウム沈澱物形成を阻害している。¹⁴⁾

カルシウムのキレート剤、結石溶解剤として用いられている EGTA、結石成長抑制作用のあるピロリン酸と比較すると、検討した 7 種の漢方製剤の滴定初期における結晶成長抑制効果は全製剤が有意であったが、当量点で見ると錯体形成には真武湯と猪苓湯以外の 5 種類の製剤、すなわち、八味地黄丸、

五苓散, 防已黄耆湯, 越婢加朮湯および茵陳蒿湯が抑制的に作用した。これらのうちには, 越婢加朮湯の様にピロリン酸と同等の効果を持つものもあった(当量点は越婢加朮湯で 0.68 ± 0.005 , ピロリン酸で 0.66 ± 0.04)。これらの結果から, 実際腎臓病治療に用いられている漢方薬にはカルシウム結石形成を抑制する効果がある可能性が示唆された。

しかし, 猪苓湯は, 今回の著者らの *in vitro* の実験では蓚酸カルシウム形成抑制能は弱かったのに (Table II), ラットを用いた実験では抗尿路結石効果が報告されているので,¹⁵⁾ その *in vivo* 効果は利尿作用にあると考えられる。

越婢加朮湯の抑制効果は他の有効な漢方製剤と比較しても著明であった。その構成成分は石膏, 麻黄, 蒼朮, 大棗, 甘草, 生姜の6種類である。¹¹⁾ このうち甘草は蓚酸カルシウム沈澱物形成に対して抑制効果の強い防已黄耆湯と越婢加朮湯に含有されていた (Table II)。甘草には強いリン酸カルシウム沈澱物形成阻害効果が知られているので (日高, 投稿準備中), この蓚酸カルシウム形成に対する強い抑制効果も甘草のはたらきによるのかもしれない。

この様に7種類の漢方製剤が whewellite 結晶形成を抑制することが本実験より明かであったが (Table II), 歯周組織に沈着する蓚酸カルシウムは, 本実験に用いられた1水和物である whewellite であり,¹⁶⁾ 歯石中にもこの結晶が存在するという報告がある。^{17,18)} このことは, 用いた漢方製剤が口腔内の蓚酸カルシウム沈澱物形成の抑制の目的のために, 適用される可能性を高めるものである。さらに, 漢方製剤の口腔内適用については, 今回の *in vitro* での実験結果はかなり direct に参考になると思われる。その場合, 唾液による影響と漢方製剤の口腔内滞留時間という factor を考慮する必要がある。それに比べ, 腎臓の結石治療ということについては, 経口投与した後, 消化管を通過するうちに吸収されて, さまざまの modification を受けるので, *in vitro* の結果とは大幅に違っていると考えられる。

結 論

蓚酸カルシウム沈澱物形成反応のカルシウムイオン電極による測定は, 簡単でありしかも信頼性の高いデータが得られることが明かであった。著者らは当量点と滴定初期のカルシウムイオン濃度の変化量を錯体形成と結晶成長抑制を示す指標として用いた。このカルシウムイオン電極法の信頼性は導電率

滴定法により, 種々の化学物質を蓚酸カルシウム形成反応に用いることで確認することができた。ヒトの尿や唾液あるいは漢方製剤のようにあらかじめカルシウムを含有している溶液の測定にはカルシウム電極を用いてそれらの蓚酸カルシウム形成反応に対する効果を簡単に検査することができた。

7種類の漢方製剤のうち真武湯と猪苓湯以外の5種類の漢方製剤には強い蓚酸カルシウム結晶形成抑制効果が認められた。これらは, 口腔の蓚酸カルシウム結晶形成抑制剤として用いられる可能性を示唆するものである。

謝 辞

蓚酸カルシウム粉末のX線回折にご協力いただきました九州大学教養部地質学教室の石田清隆博士, 実験技術と論文作製にあたりご助言をいただきました同化学教室の吉村和久博士に深く感謝いたします。なお, 本研究の一部は株式会社ツムラからの研究助成金によった。

文 献

- 1) Mandel, I.D. : Calculus formation and prevention : An overview. *Comp. Cont. Educ. Dent.* 8 (Suppl), 235-241, 1987.
- 2) Anneroth, G., Eneroth, C.-M. and Isacson, G. : The relation of lipids to the mineral components in salivary calculus. *J. Oral Path.* 6, 373-381, 1977.
- 3) Fleisch, H. : Inhibitors and promoters of stone. *Kidney Int.* 13, 361-371, 1978.
- 4) Wysocki, G.P., Fay, W.P., Ulrichsen, R.F. and Ulan, R. A. : Oral findings in primary hyperoxaluria and oxalosis. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 53, 267-272, 1982.
- 5) Moskow, B.S. : Periodontal manifestations of hyperoxaluria and oxalosis. *J. Periodontol.* 60, 271-278, 1989.
- 6) Hidaka, S., Abe, K. and Liu, S.Y. : A new method for the study of the formation and transformation of calcium phosphate precipitates : Effects of several agents and Chinese folk medicines. *Archs oral Biol.* 36, 49-54, 1991.
- 7) Desmars, J.F. and Tawashi, R. : Dissolution and growth of calcium oxalate monohydrate : Effect of magnesium and pH. *Biochem. Biophys. Acta.* 313, 256-267, 1973.
- 8) White, D.J.Jr., Christoffersen, J., Herman, T.S., Lanza-laco, A.C. and Nancollas, G.H. : Effects of urine pretreatment on calcium oxalate crystallization inhibition potentials. *J. Urol.* 129, 175-179, 1983.
- 9) Rose, G.A. and Sulaiman, S. : Tamm-Horsfall mucoproteins promote calcium oxalate crystal formation in

- urine : Quantitative studies. *J. Urol.* **127**, 177-179, 1982.
- 10) Koide, T., Takemoto, M., Itatani, H., Takaha, M., Sonoda, T. : Urinary macromolecular substances as natural inhibitors of calcium oxalate crystal aggregation. *Invest. Urol.* **18**, 382-386, 1981.
- 11) ツムラ漢方製剤エキス顆粒 (医療用) - 総合カタログ. ツムラ (東京), 1990.
- 12) Crawford, J.E., Crematy, E.P. and Alexander, A.E. : The effect of natural and synthetic polyelectrolytes on the crystallization of calcium oxalate. *Aust. J. Chem.* **21**, 1067-1072, 1968.
- 13) Tschöpe, W. and Ritz, E. : Diagnostik der Nephrolithiasis. *Dtsch. med. Wschr.* **110**, 381-384, 1985.
- 14) Grøn, P. and Hay, D.I. : Inhibition of calcium phosphate precipitation by human salivary secretions. *Archs oral Biol.* **21**, 201-205, 1976.
- 15) 小川由英 : 尿路結石に対する漢方製剤の科学的解析に関して. *漢方医学* **9**, 119-122, 1985.
- 16) Fantasia, J.E., Miller, A.S., Chen, S.-Y and Foster, W. B. : Calcium oxalate deposition in the periodontium secondary to chronic renal failure. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* **53**, 273-279, 1982.
- 17) Jensen, A.T. and Dano, M. : Crystallography of dental calculus and the precipitation of certain calcium oxalate. *J. Dent. Res.* **33**, 741-750, 1954.
- 18) Unmack, A. and Rowles, S.L. : Constituents of dental calculus from sheep. *Nature* **197**, 486-487, 1963.