

# 家畜の血清 amylase に関する臨床学的研究

## II 家畜の血清 amylase isozyme の検出

森園 充・仮屋喜弘・西山実光

(1972年8月22日受理)

### Clinical Studies on Serum Amylase in Domestic Animals

#### II Detection of Isozymes of Serum Amylase in Domestic Animals

Mitsuru MORIZONO, Yoshihiro KARIYA and Sanemitsu NISHIYAMA

(Laboratory of Veterinary Medicine)

## 緒 言

乳酸脱水素酵素の多様性が1957年 VESELL & BEARN<sup>1)</sup> および WIELAND & PFLEIDERER<sup>2)</sup> によってほとんど同時に発見されて以来、電気泳動およびクロマトグラフィーの技術の進歩と共に、isozyme の研究も一段と活発になって来た。

isozyme の中でも、乳酸脱水素酵素とアルカリフォスファターゼについては、すでに臨床化学診断用に多くの応用面が見出されている。

amylase isozyme の研究に関しては、その多くが遺伝学の分野でみられており、臨床的なものは、わずかに MCGEACHIN & LEWIS<sup>3)</sup>、和嶋<sup>4)</sup>、長内と小峰<sup>5)</sup> による急性膵炎、肝炎時の amylase isozyme の変化についての報告が散見される。

一方家畜の血清 amylase isozyme については、イヌ、ブタ、ウサギ、ウシなどで報告されているが、いずれも臨床的なものではない<sup>6)7)8)</sup>。

現在、isozyme 検出には主として電気泳動法が応用され、その支持体の多くは寒天ゲル又は澱粉ゲルであり、ポリアクリルアミドを使用した DISC 電気泳動法を利用したものは少ない。

著者らは今回 DISC 電気泳動法により、家畜の血清 amylase isozyme の定量的検出を試みたので、その成績の概要を報告する。

## 材料および方法

### 1. 実験動物および使用血清

実験に使用した動物は、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、

マウスの5種である。ウマは本学馬術部で飼育されているもの6頭、ウシは本学農学部農場で飼育されているホルスタイン6頭、鹿児島県畜産試験場の黒毛和牛17頭、ホルスタイン10頭の計33頭、イヌは雑犬33頭、ブタは鹿児島市食肉センターで屠殺された29頭、マウスは ICR-JCL, ♀, 62日令, 体重24.0~30.5g のもの10匹を使用した。

採血および血清分離は前報<sup>13)</sup>と同じ操作で行なった。

### 2. isozyme 検出法

a) DISC 電気泳動法：定電圧定電流装置および電気泳動槽はエムエス機器KKのものを使用、デンストメーターは明日香工業KKのOZUMOR—82型を使用した。ゲルの組成および作製法はDAVISの原法<sup>9)</sup>に準拠し、供試血清量はTable 1に示す通り、家畜の種類により異なる。泳動条件はカラム当たり4mAで、泳動時間は60~90分である。

b) ゲルの縦断法：ゲル縦断のためFig 1に示すような特別の装置を考案した。この装置はプラスチック製の円筒で、内径がゲルの直径と同程度のもの(体温計のケースを流用した)を半分縦断し、一端に脱脂

Table 1. Volume of serum added for the present disc electrophoresis and incubation period

Species	Serum Volume.	Incubation Period
Horse	0.02 ml	8—10 hrs.
Cattle	0.01 ml	60—90 min.
Pig	0.0032 ml	40—60 min.
Dog	0.0032 ml	30—50 min.
Mouse	0.0032 ml	30—50 min.

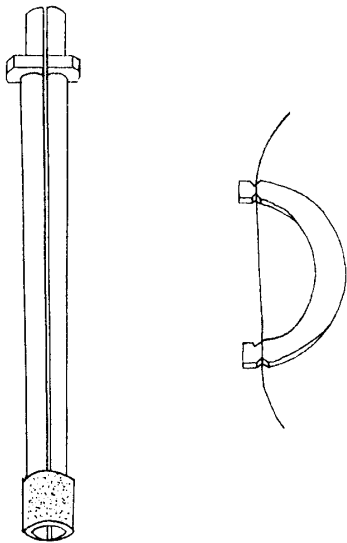


Fig. 1. Diagram of gel cutter

綿を充填し、ゴムバンドで固定したものと、プラスチック製の枠に清浄な、なるべく細い毛髪を弓の弦状に固定したものからなる。切断操作は、ゲルを円筒内に入れ、毛髪をケースの縦裂にそって上方より下方に向け、毛髪の弦を左右に動かしながらゲルを切断する。切断したゲルの半分は蛋白染色に、他の半分は amylase isozyme 検出に供試した。

c) 蛋白染色とデンストメトリー法：蛋白染色は aniline blue 0.5 g/dl 溶液を用い、染色法と脱染色法は DAVIS の方法<sup>9)</sup> によった。デンストメトリーは、フィルターの波長 610 m $\mu$ 、スリット巾 0.2 mm、スリット長 2.0~2.5 mm、試料送り速度 40 mm/min の条件で、血清蛋白のない透明なゲル部分を吸光度零の位置に合わせて行なった。

d) amylase isozyme 検出法とデンストメトリー法：amylase isozyme 検出には、和嶋<sup>9)</sup> の寒天ゲルによる方法を応用した。但し incubation 時間については明確な分画を作るために、家畜の種類によって差があるため、Table 1 に示す通りに行なった。本染色は保存に耐えないため、直ちにデンストメトリーし、染色の状態は写真又は模写によって記録した。デンストメトリーの条件は、フィルターの波長 570 m $\mu$ 、スリット幅 0.2 mm、スリット長 2.0~2.5 mm、試料送り速度 40 mm/min とし、血清の流れていない濃青色にヨードデンプン反応を起しているゲル部分を最大吸光度 1.4 に合わせて行なった。

### 3. 血清 amylase の測定法・各 isozyme の分画活性値および易動度の算出法

血清 amylase 総活性値の測定は、Ujihira Sasaki の DNSA 法で行い、isozyme 分画の活性値は、デンストメトリーによって得られた各分画の濃度と pattern が描かれている記録紙を用い、各分画の面積を記録紙のます目を数えることによって求め、全分画の総面積に対する百分率と血清 amylase 活性値とから算出した。易動度は albumin (以下 alb と略す)の易動距離を 100 とした時の各 isozyme 分画の相対的易動距離をもって表わした。各分画は易動度の大きいものから順に Am1, Am2, Am3, Am4, と仮称した。

### 4. 数値の処理

実験により得られた数値については、平均値、標準誤差、変動係数により統計的に処理した。

## 実験成績

### 1. ウマ

ウマは活性値が低く、本実験に用いた方法では測定不能と思われるが、血清量を 0.02 ml に増量し、incubation 時間を 8~10 時間に延長することにより、わずかに分画らしいものが現われる。この分画は考察で述べるように amylase isozyme と考えることは危険であるため、ここでは易動度の大きいものから、band 1, band 2 と呼ぶ、いずれの band も活性が弱く、デンストメトリーが困難なため、肉眼で判定するに止めた。

各 band の模式図は Fig 2 に示してあるが、band 1 は供試したすべてのウマに見出され、band 2 は 1 頭だけに存在した。各 band の易動度は band 1 が平均 45.4、band 2 は 20.1 である。

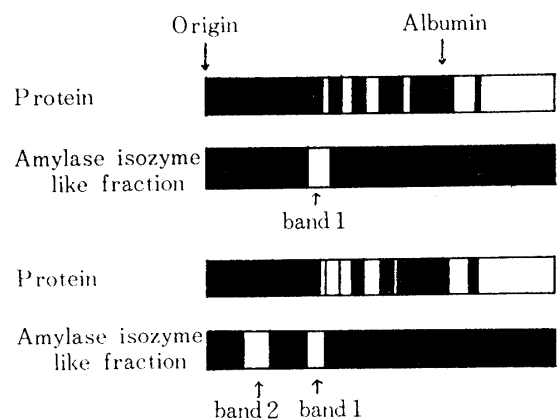


Fig. 2. Diagrammatic representation of the electrophoretic pattern of horse serum,

## 2. ウ シ

ウシには4~8個の分画が見られ、平均して5.64個であった。これは本実験で使用した家畜の中で最も多い。各分画のうち活性値の大きいものは通常4個あり、この中の1個が欠けたり、別に1個見られたりして複雑である。分画の分布も易動度にして1~80までの間にバラバラに存在し、他の家畜のように一定のtypeに分けることは困難であった。そこで、ここでは分画のデンストメトリーした記録図を記載するに止めた。(Fig 3)

ウシでは泳動させる血清量が多いためと思われるが、albの位置にヨード澱粉反応を受けずに白く見えるbandがしばしば見られた。これらのbandはヨード液を濃くし(0.02Nヨード液)、30~60分作用させることにより消失した。またこれらalb位のbandの色調はわずかに青味を帯びており、globulin(以下globと略す)位に存在するamylase isozyme分画の淡

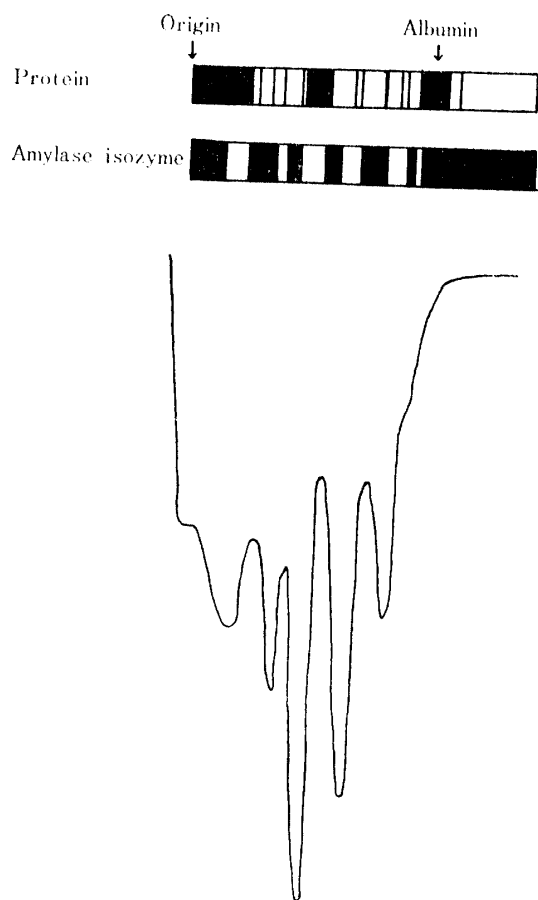


Fig. 3. Diagrammatic representation of the electrophoretic pattern of cattle serum amylase and protein,

Table 2. Number of serum amylase isozymes classified by breed of cattle

Breed	No. of cattle	No. of isozymes					Mean
		4	5	6	7	8	
Japanese Black	17	2	8	4	2	1	5.53
Holstein	16	0	5	10	1	0	5.75
Total	33	2	13	14	3	1	5.64

褐色とは明らかに識別できた。

黒毛和牛とホルスタインとの分画数を比較すると、分画数の平均は前者が5.53個、後者が5.75個と後者がわずかに多い。また前者には5個の分画を持つものが最も多く、後者では6個の分画を持つものが多数を占める(Table 2)

## 3. ブ タ

ブタには4種の分画が認められた。測定した29頭のうち、Am 1は26頭に、Am 2が13頭、Am 3は29頭、Am 4は25頭に見られた。これらの分画の易動度はTable 3に示す通りであるが、Am 1が61で最も大きく、他の3つの分画はかなり小さく、20~37の間に位置している。

ブタのamylase zymogramはその分画の組合せによって5種のtypeに分けられた。そのtypeはFig 4に示し、zymogramはFig 5~Fig 9に示す。Type IはAm 1, Am 2, Am 3, Am 4からなり、Type IIは

Table 3. Mobilities of serum amylase isozymes in pig

Isozyme	Total of isozymes	$\bar{X}$	SE
Am-1	26	61.1	0.3
Am-2	14	35.3	0.5
Am-3	29	28.6	0.3
Am-4	25	21.4	0.4

Type	Origin	Albumin	No. of animals	incidence (%)
Type I	↓	↓	7	24.1
Type II			1	3.4
Type III			2	6.9
Type IV			15	51.9
Type V			4	13.8

Fig. 4. Diagrammatic representation of various types of pig serum amylase isozyme and incidence (%) of individual type.

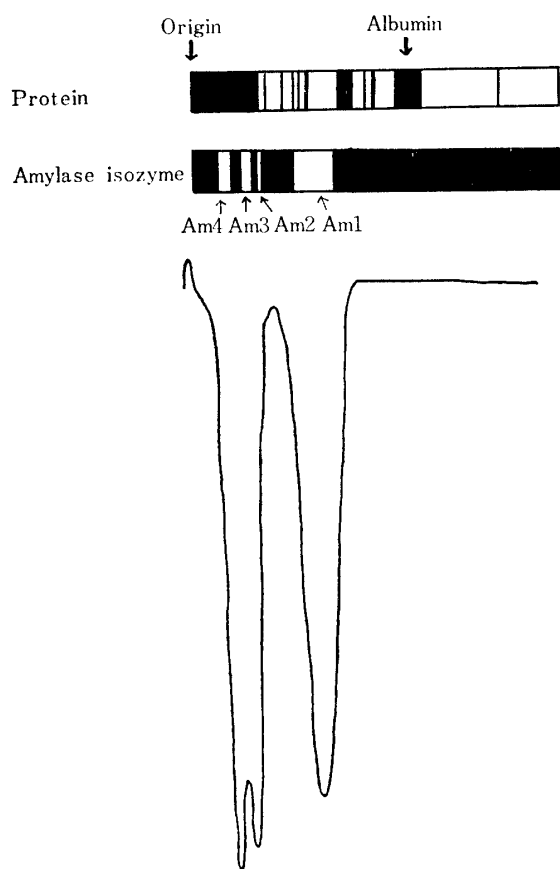


Fig. 5. Diagrammatic representation of the electrophoretic pattern of pig Type I serum amylase and protein.

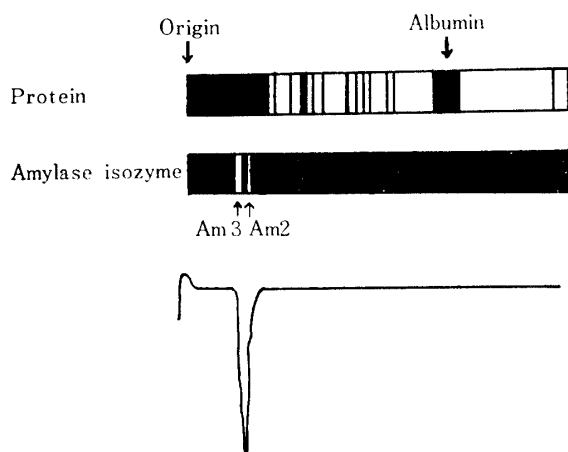


Fig. 6. Diagrammatic representation of the electrophoretic pattern of pig Type II serum amylase and protein.

Am3, Am4, Type III は Am2, Am3, Am4, Type IV は Am1, Am3, Am4, Type V は Am1, Am2, Am3 からなる。各 type の出現頻度は Type IV が最も高く、ついで Type I, Type V の順で、Type II と Type III は低い。

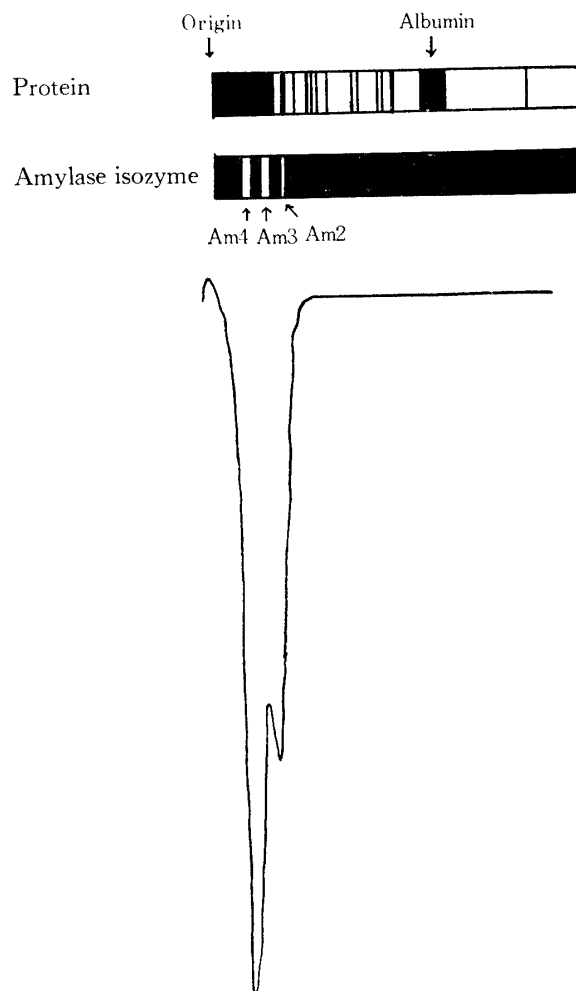


Fig. 7. Diagrammatic representation of the electrophoretic pattern of pig Type III serum amylase and protein.

type ごとの血清 amylase 活性値と各分画活性値は Table 4 に示す通りである。血清 amylase 活性値は Type I, Type IV, Type V と比較して Am1 の欠除している Type II, Type III がかなり低い活性値を示しているのが特徴である。また各分画活性値は Am1 が最も強く、ついで Am4, Am3, Am2 の順となる。

#### 4. イヌ

イヌの isozyme 分画は 3 種類が観察される。各分画の易動度は Table 5 に示す通りであるが、3 種ともすべてが易動度が 40 以内にあり、原点に近い位置に存在している。

イヌの amylase zymogram においては 2 種の type に分類される。その図と出現百分率は Fig 10 に示す通りであるが、すべてのイヌが 2 個ずつの isozyme を持っており、Type I は Am1 と Am2 からなり、

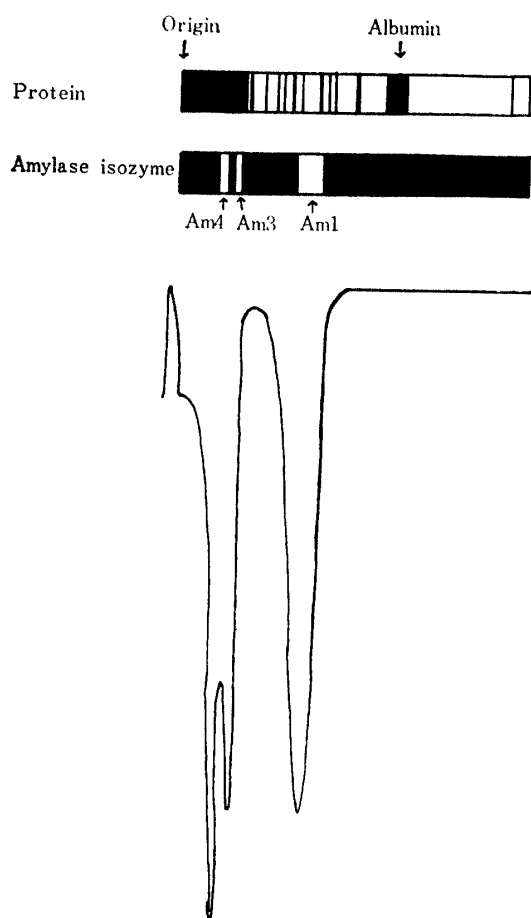


Fig. 8. Diagrammatic representation of the electrophoretic pattern of pig Type IV serum amylase and protein.

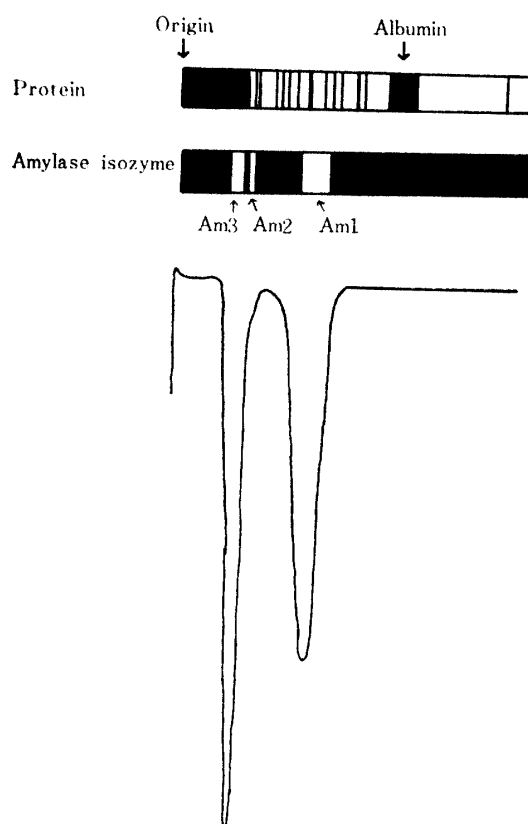


Fig. 9. Diagrammatic representation of the electrophoretic pattern of pig Type V serum amylase and protein.

Table 4. Fractional and total values in the various types of serum amylase zymogram in pig (DNSA units by Ujihira-Sasaki)

Type	No. of animals	Isozyme				Total
		Am-1	Am-2	Am-3	Am-4	
Type I	7	*65.8±13.3	8.7±3.4	54.5±7.7	36.3±8.5	165.3±16.5
Type II	1	0	0	12.8	94.2	107.0
Type III	2	0	6.2	45.6	34.2	86.0
Type IV	15	72.0±9.9	0	32.6±5.6	49.0±7.2	156.7±8.2
Type V	4	90.8±19.6	4.7±2.0	68.5±9.9	0	174.8±12.8

\* Mean ± standard error

Table 5. Mobilities of serum amylase isozymes in dog

Isozyme	Total of isozymes	$\bar{X}$	SE
Am-1	24	34.5	0.3
Am-2	26	27.2	0.3
Am-3	2	18.0	—

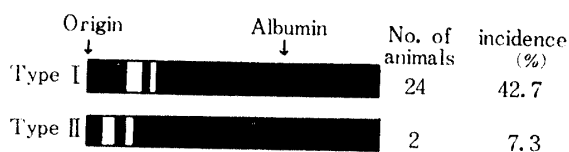


Fig. 10. Diagrammatic representation of various types of dog serum amylase isozyme and incidence (%) of individual type.

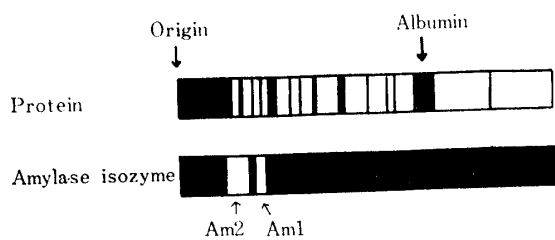


Fig. 11. Diagrammatic representation of the electrophoretic pattern of dog Type I serum amylase and protein.

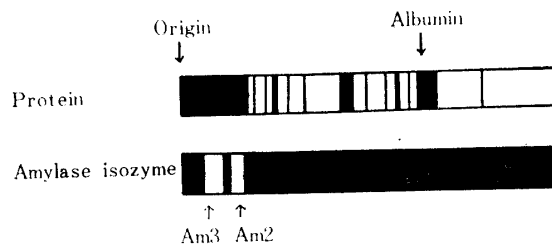


Fig. 12. Diagrammatic representation of the electrophoretic pattern of dog Type II serum amylase and protein.

Table 6. Fractional and total values in the various types of serum amylase zymogram in dog

Type	No. of animals	Isozyme			Total
		Am-1	Am-2	Am-3	
Type I	24	*17.9±3.0	79.9±3.7	0	97.8±4.4
Type II	2	0	10.2	106.8	119.0

\* Mean±standard error

Type IIはAm2とAm3からなる。これらのtypeの分画の模式図とデンストメトリーによる記録図はFig 11とFig12に示す通りである。

Type I, Type IIの各分画の活性値はTable 6に示してあるが、両typeとも易動度の小さい分画が高い活性値を示している。この傾向は本実験で使用したすべてのイヌについて観察された。

## 5. マウス

マウスの分画は4種類認められた。これらのisozymeの易動度はTable 7に示す通りであるが、すべての分画は易動度44—8の間にあり、Am1とAm2, Am3とAm4とは互いに接近して存在する。

本実験に使用したマウスは10匹ともすべて同じ

Table 7. Mobilities of serum amylase isozymes in mouse

Isozyme	Total of isozymes	$\bar{X}$	SE
Am-1	10	37.7	2.7
Am-2	10	28.9	0.7
Am-3	10	17.4	0.6
Am-4	10	9.5	0.4

Table 8. Values of serum amylase isozymes in mouse (DNSA units by Ujihira-Sasaki)

Isozyme	Total of isozymes	$\bar{X}$	SE
Am-1	10	6.8	0.9
Am-2	10	161.4	9.2
Am-3	10	41.1	14.7
Am-4	10	56.8	6.7

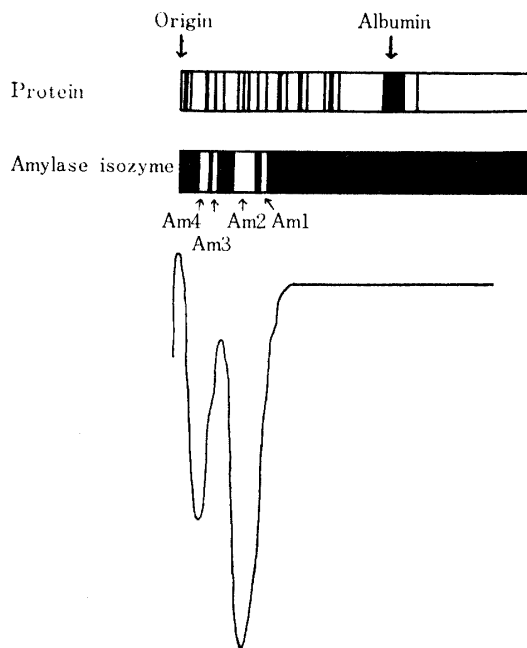


Fig. 13. Diagrammatic representation of the electrophoretic pattern of mouse serum amylase and protein.

type を有し、その模式図とデンストメトリーによる記録図は Fig13 に示す。各 isozyme の活性値は Table8 に示す通りであるが、Am2 が最も大きく、ついで Am4, Am3, Am1 の順となる。しかし特に活性値の近似した Am4 と Am3 では、時に順位が逆を示す場合も見られた。

### 考 察

DISC 電気泳動法による amylase isozyme の検出法

として小野・永吉・望月<sup>10)</sup>はゲル内に澱粉を混入し、低温で通電し、そのまま incubation した後、管からゲルを取り出し、ヨード澱粉反応によって検出する方法をコムギ胚乳中の amylase で行なっている。著者らは本実験に先立ち、本法を家畜の血清に応用を試みたが、分画が不鮮明で好ましい結果は得られなかった。ROBINOVITCH & SREEBNY<sup>11)</sup>はスライドガラスに澱粉薄膜を作り、その上に泳動したゲルを載せ澱粉膜と反応させ、その澱粉膜を PAS 染色し amylase isozyme を検出している。この方法は澱粉と酵素との反応時間が短かく、ゲル内での酵素の拡散の程度が少なくてすむこととスライドガラス上に isozyme 分画を得るために、デンストメトリーが容易に行なえるなどの利点が考えられ今後検討を試みたい。

本実験で著者らは和嶋<sup>4)</sup>の塞天ゲルによる方法を DISC ゲルに応用したが、上記二法を含めて、これらはいずれも amylase isozyme をヨード澱粉反応を利用して検出する方法であり、これらの方法に共通する欠点として、ヨード澱粉反応が、蛋白、pH などによる影響で不安定であり、さらに amylase isozyme 分画が、青い地に淡褐色の部分として染色されるために、デンストメトリーに際して、基準点が高く、負の濃度を測定しなければならず、ために各 isozyme 分画の活性値測定に際しての誤差が大きくなる。

本実験で使用した方法で、同一血清を 22 回同時に測定した結果では、最も変動の大きい分画で、変動係数 33.14% と高い数値を示している。これら測定値の不安定性は染色方法をかえることで改善できるのではないかと考えられ、JOSEPH<sup>12)</sup>らの検出法は興味を持たれる。

本実験で amylase isozyme 検出に用いた DISC ゲルは、和嶋の原法の寒天ゲルに比べて肉厚のため、澱粉基質緩衝液を浸透させる時間も、ヨード染色する時間も長くなり、その間に酵素がゲル内で拡散し、分画が不鮮明になってくる。この現象は incubation 時間の長さによっても同様であり、特に incubation 時間の長いウマ、ウシでは問題になる。また incubation 時間を短縮させる目的で、泳動血清量を多くすれば蛋白の分画あるいは isozyme の分画が不鮮明になってしまう。いずれにしても和嶋の方法はこれらの問題点を抜きにすれば、JOSEPH らの方法のような高価な試薬を必要とせず、また ROBINOVITCH & SREEBNY の方法のように特別な澱粉基質膜を作製する必要がないなどの点では、臨床検査としての有利性を持つものと考えられる。

ウマの amylase isozyme の分画は極めて不鮮明である。血清 amylase 総活性値で、ウマはウシの  $\frac{1}{2}$ ~ $\frac{1}{3}$  であり、この割合から考えて、同量の血清を泳動した場合、incubation 時間をウシの 2~3 倍にすれば、ウシと同程度の鮮明度を持つ amylase isozyme の分画が得られる筈であるが、実際にはその数倍の時間を要し、しかも 1~2 個の不鮮明な分画しか得られない。前報<sup>13)</sup>の考察で述べたように、馬の血清中には  $\alpha$ -amylase は存在せず、澱粉を加水分解するのは maltase であるという報告<sup>14)15)</sup>と前報で得られたウマの amylase 活性値がいずれの測定法でも、家畜の中で最も低い値を示していることから、上述の DISC ゲルに辛うじて検出される不鮮明な分画は、amylase ではなく、maltase の分画を示すものではなからうかと考えられる。

血清 maltase は本実験に使用したマウスを除くすべての家畜に存在するといわれている。従ってウマ以外のウシ、ブタ、イヌの本実験で得られた amylase isozyme 分画の中には、maltase 分画が含まれている可能性がある。しかし maltase が澱粉を加水分解する能力は amylase に比較すれば、極めて微弱なものと考えられ、ウシ、ブタ、イヌの血清 maltase 活性がウマより極端に高くない限り影響はないものとする。このことは泳動血清量 0.02ml, incubation 2~3 時間という条件では、馬の isozyme 分画は発現せず、ウシ、ブタ、イヌ、マウスではウマに比べて泳動血清量も少なく、incubation 時間も短いことなどから、容易に肯定される。

ウシについては、ASHTON<sup>16)17)</sup>が澱粉ゲルを用いて測定し、3 個の分画があることを報告している。これは著者らの 4~8 個と比較してかなりの差があるが、これは澱粉ゲルと DISC ゲルの蛋白分離能力の差が主因をなすものと感える。黒毛和牛とホルスタインとの isozyme 分画数はその平均においてわずかにホルスタインが多いが、これが品種間の差によるものかどうかは本実験結果からは何ともいえない。

ブタに関しては、SCHMID<sup>7)</sup>、大石ら<sup>8)</sup>、ANDRESEN<sup>18)</sup>が澱粉ゲル電気泳動法を用いて測定し、4 種の isozyme が存在することを報告している。これは本実験結果と一致する。しかし彼等は易動度を測定していないので本実験のそれぞれの isozyme 分画と対応させることはできない。SCHMID<sup>7)</sup>はドイツのランドレースの amylase zymogram に 8 種の type を示している。本実験に供試した豚の品種には特に留意しなかったが、ランドレース系雑種が主体を占めるとされる著者ら

の成績では、5 種の type が証明された。今後更に頭数をふやせば type も多くなるものと考えられる。ブタにおける type ごとの血清 amylase 総活性値では Type I, Type IV, Type V に対し、AmI の欠除している Type II, Type III が著しく低い活性値を示しているが、このことは AmI が血清 amylase 総活性値の中で大きな部分を占めていることを表わしている。しかしこれら Type II, Type III は例数が少なく、合せてわずかに 3 例に見出される現象であり、type と総活性値との関係について論及することは、時期尚早とも思われるが、このことがブタの amylase 総活性値の個体差を大きくしている原因とも考えられる。個体差が大きいことは正常値の範囲を拡げ、臨床的に応用する場合の支障となる。すなわち正常範囲が広いと、正常値の低い個体における病的活性値の上昇が正常範囲の上限に隠蔽され、正常なものとして看過される危険性がある。従ってこれらの点については今後例数をふやし、Type II, Type III の出現頻度、品種との関連性などと併せて検討を行ないたい。

イヌについては BERK<sup>6)</sup>が濾紙と Sephadex G-75 で測定し、 $\gamma$ -glob の位置に amylase 活性の極めて強い部分とほかに  $\alpha$  と  $\beta$ -glob の位置に活性の存在する部分を示している。本実験の 3 種の分画は、その易動度から BERK らの  $\gamma$ -glob 位の分画と対応するものと考えられる。

マウスの血清 amylase isozyme に関する報告は見られない。本実験では 4 種の isozyme 分画が検出され、その zymogram より全く同一の type であることが判った。これは供試したマウスがすべて同一系統に属する純粋種であるためと思われる。

血清 amylase isozyme はヒトの急性膵炎および唾液腺炎の場合  $\gamma$ -glob 位の分画が顕著に増大し、肝障害では alb 位の分画が減少あるいは消失するといわれ<sup>4)</sup>また肝炎例ではさほどの変化は認められなかった<sup>5)</sup>という報告もある。著者らの家畜における全実験例を通じて、alb 位に存在する amylase isozyme 分画は見られず、わずかにウシの実験において、しばしば alb 位に amylase isozyme らしい band が証明されたが、その色調は淡青色で、ほかの amylase isozyme 分画が淡褐色を呈するのと明かに異なっている。上述の人の実験例はすべて寒天電気泳動であり、著者らが家畜で行った実験は DISC 電気泳動である。従って alb 位に amylase isozyme 出現の有無が支持体ないしは動物種の相異によるものかどうかは判断し難いがウシの alb 位に出現する amylase isozyme らしい band は充分な



ヨードを反応させることにより消失し、本来の glob 位に存在する amylase isozyme 分画の褐色調が増強することから、少なくとも amylase でないことは確実である。著者らの本実験でのヨード液による染色は、20分から30分までの比較的長い時間にわたっているが、寒天ゲルなどの支持体を異にするものでは、普通1分間程度である。この時間的な差異がヨードの量的不足と同様な結果をもたらしているとも考えられる。BERK<sup>6)</sup>らは血清を熱処理し、酵素活性を失わしめた後でも、alb の位置ではヨード澱粉反応が阻害され、あたかもその部分に amylase の活性が存在しているような反応を示したことを報告し、BERK<sup>6)</sup>ら、UJIHIRA & SEARCY<sup>19)</sup>は電気泳動後に分画抽出した sample を saccharogenic method で測定した結果では、alb 位には amylase 活性は見られなかったと報告していることよりヒトの肝障害時に減少または消失するといわれる alb 位の amylase isozyme と称する band は amylase 以外の factor による公算が大きい。さらに和嶋<sup>4)</sup>が血清 alb 濃度の減少と alb 位の amylase isozyme の消失とは密接な関係があることを指摘していること、一方肝障害時に血清 alb が減少することは臨床化学的に周知の現象であることから考えて、alb 位の amylase isozyme 様 band を呈する本態、換言すればヨード澱粉反応を阻害する非 amylase 物質は血清 alb 自身であろうと考えられる。

血清 amylase zymogram は種々の type を持ち、これが遺伝的法則に従っており、家系や血統により一定の pattern を持つことから、育種学の面においても、種の起源の判定や、純血種の同定に應用されている<sup>7)16)</sup>。本実験において、ブタ、イス、マウスの amylase isozyme の定量的検出においては一定の傾向が得られたが、本実験の目的である臨床的意義づけのためには、さらに問題点が指摘される。

amylase isozyme の診断的應用について、長内・小峰<sup>5)</sup>は現在ヒトで行われている血清蛋白分画に対応して amylase を分画することには疑問を持ち、amylase isozyme にはそれぞれ特有の分画法を定め、これに基づいて例数を重ね、詳細な観察を行えば、より適確な変動を数量的に把握できるのではないかと述べている。しかしながら家畜においては種類により amylase isozyme の様相が著しく異なり、ヒトと同様には行かない。ただ本実験結果よりイスとマウスについてはその様相がヒトと同様に単純で一定の傾向を有するので臨床的應用の可能性を有するものと考え、ブタについては amylase zymogram に一定の傾向を有するが遺

伝的要素が強く反映して個体差が大きく、診断的意義を持たせるためには個別に健康時の調査成績を必要とし、実際的には応用性に乏しいものと考えられる。草食獣のウシについては amylase zymogram に一定の傾向が得られず、今後更に検討を必要とし、ウマについては前報に引つづき本実験結果からも血清中の amylase の存在自体に問題があり、臨床的意義は乏しいものとする。

## 要 約

DISC 電気泳動法により、家畜の血清 amylase isozyme の定量的検出を行なった結果、つぎの知見が得られた。

1. 家畜の血清 amylase isozyme は、ウシで4～8個、ブタで2～4個、イスで2個、マウスで4個検出され、それぞれの isozyme については alb との相対移動度を測定した。
2. 血清 amylase zymogram よりブタで5種の type に、イスで2種の type に分類され、マウス (ICR—JCL) は同一の type を示した。
3. ブタ、イス、マウスにおいては各 isozyme の活性値を得た。ブタでは Am1 が最大の活性を有し、Am1 を欠く2つの type では血清 amylase 総活性が著しく低く、その程度はほかの type の約1/2である。
4. ウシの血清 amylase zymogram については、一定の傾向が得られず、ウマについては、本法による血清 amylase isozyme の検出は困難であった。
5. ウマの血清 amylase の測定は臨床的意義を有しないものと考えられた。

## 文 献

- 1) VESELL, E. S. & BEARN, A. G. : *Proc. Exptl. Biol. & Med.*, **94**, 96 (1957)
- 2) WIELAND, T. & PFLEIDERER, G. : *Biochem. Z.*, **329**, 112 (1957)
- 3) McGEACHIN, R. L. & LEWIS, J. P. : *J. Biol. Chem.*, **234** (4) 795-798 (1959)
- 4) 和嶋毅 : 医学と生物学., **67** (6) 298-301 (1963)
- 5) 長内マサコ., 小峰仙一 : 生物物理化学., **14** (1) 31 (1969)
- 6) BERK, J. E., SEARCY, R. L., HAYASHI, S. & UJIHIRA, H. : *J. Amer. Med. Ass.*, **5**, 389-393 (1965)
- 7) SCHMID, D. O. : *Zbe. Vet. Med.*, **15** (9) 990-994 (1968)
- 8) 大石孝雄, 阿部恒夫, 茂木一重 : 日畜会報., **41** (7) 364-371 (1970)
- 9) DAVIS, B. J. : *Ann. New York Acad. Sci.*, **121**, 404-427 (1964)

- 10) 小野一, 永吉照人, 望月明: 兵庫農科大学. 神戸大学農学部研究報告, **8** (2) 107-110 (1968)
- 11) ROBINOVITCH, H. R. & SREEBNY, L. M. : *Archs oral Biol.*, **14**, 935-949 (1969)
- 12) JOSEPH, R. R., OLIVERO, E. & RESSLER, N. : *Gastroenterology*, **51** (3) 377-382 (1966)
- 13) 森園充, 仮屋喜弘, 西山実光: 鹿大農学術報告. **23**, 249-256 (1972)
- 14) FRANZINI, C. & BONINI, P. A. : *Experientia*, **25** (6) 597-598 (1969)
- 15) LIEBERMAN, I. & ETO, W. H. : *J. Biol. Chem.*, **225**, 899-908 (1957)
- 16) ASHTON, G. C. : *Genetics*, **51**, 431-437 (1965)
- 17) ASHTON, G. C. : *Nature*, **182**, 65-66 (1958)
- 18) ANDRESEN, E. : *Science*, **153**, 1660-1661 (1966)
- 19) UJHIRA, I. & SEARCY, R.L. : *Clin. Chem.*, **11** (2) 98-112 (1965)

### Summary

Sera of domestic animals were subjected to disc electrophoresis on acrylamide gels for the detection of their amylase isozymes. The results obtained are summarized as follows.

1) Four to eight, two to four, two and four amylase isozymes were detected in the sera of cattle, pigs, dogs and mice respectively, and the relative electrophoretic mobility of each isozyme to albumin fraction was measured.

2) Five, and two types of patterns of serum amylase isozymes were detected in the sera of pigs and dogs respectively; while one type only was detected in mice (ICR-JCL).

3) The values of the respective amylase isozymes could be obtained in pigs, dogs and mice. In pigs the activity of fraction Aml was most prominent, and the total serum amylase activity in the two types not having fraction Aml was very low, showing about half the value in the other types.

4) The serum amylase zymogram of cattle showed no regular pattern, while detection of serum amylase isozymes in horses was difficult in the present experiment.

5) The measurement of serum amylase activity in horses was supposed to be of little clinical significance.