

家畜の血清 Alkaline Phosphatase に関する臨床学的研究

I. 家畜の血清 alkaline phosphatase 総活性値の測定

森園 充・北 敏郎・西山 実光

(昭和50年8月28日 受理)

Clinical Studies on Serum Alkaline Phosphatase in Domestic Animals

I. Measurement of Total Serum Alkaline Phosphatase Activity in Domestic Animals

Mitsuru MORIZONO, Toshiro KITA and Sanemitsu NISHIYAMA

(Laboratory of Veterinary Medicine)

緒 言

生体内に数多く存在する phosphatase の中で、 pH 9.0~10.5 に至適 pH をもち、リン酸モノエステルを加水分解してリン酸を遊離する phosphomonoesterase を臨床的には、一般に Alkaline Phosphatase (以下 *Al-P* という)と呼んでいる。

本酵素は哺乳動物においては、腎の近位尿細管、小腸、骨芽細胞、胎盤、肝の毛細胆管、哺乳期の乳腺などの組織において高い活性が見られ、血清中に見られる *Al-P* は、骨^{1,2,3)}、肝^{4,5)}、小腸粘膜^{6,7)}、および胎盤^{8,9)}などに由来することが明らかにされている。

Al-P の構造は、活性中心にセリンをもつ、2つのサブユニットからなり、亜鉛を含む分子量 125,000 の金属酵素¹⁰⁾である。最近ノイラミナーゼに対する作用態度から本酵素の末端にノイラミン酸(シアリン酸)残基が存在することが考えられるようになった。

本酵素の生理的意義については、明らかではないが、従来リン酸モノエステルに作用して、リン酸を遊離することにより、代謝面での燐の着脱に関与していることは、考えられていたが、最近本酵素が上記組織の中で、物質の吸収、透過の旺盛な部位に活性を示すことから、細胞膜を通して、物質の能動輸送にも関与していることが示唆されている。

ヒトにおける血清 *Al-P* の臨床的意義については Kay¹¹⁾ が骨疾患に、Roberts¹²⁾ が肝、胆道疾患特に閉塞性黄疸に、その活性値の著明な上昇を認めたのが最初で、以来これらを中心とする疾患には本酵素の血清中の上昇を確認することが不可欠の検査法となっているが、逆に活性値の低下するものとしては、わずかに先天性代謝異常症としての Hypophosphatasia¹³⁾

が知られているのみである。

一方獣医臨床領域においては、ヒトに準拠して、血液検査の一環として本酵素の測定が行われている。しかし診断の根拠となるべき各家畜の正常値については、報告が少なく、成書にその成績が集計され、記載されているが、その内容に到っては、検査法や表現単位が異なり、その数値も区々であり、加えて家畜別の各測定間における一定の換算基礎を明示したものは、わずかにイヌでの報告が見られるのみであり、家畜別、測定法別に明確に整理された内容のものは見当らず、本酵素の獣医臨床での意義づけは、その基礎的段階において必ずしも確立されているとはいえない。

そこで著者らは健康家畜の血清中における本酵素の正常値を従来から知られている三種の異なる方法で測定し、それぞれの測定値間に関連性を持たせ、獣医臨床の対象となる各家畜の診断的根拠を明確に設定する目的で本実験を行った。

材料および方法

1. 実験動物

実験に使用した家畜は、ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコの5種である。ウマは中央競馬会小倉競馬場の競走馬および本学馬術部使用馬の計63頭で、年齢範囲は3~19才、種別、性別はサラブレッド58頭(♂33, ♀3, ♀22)アラブ1頭(♀)その他4頭(♀2, ♂2)である。ウシは鹿児島市食肉センターにおける屠殺牛と本学の飼育牛の計73頭、年齢範囲は1~8才、種別、性別は黒毛和種63頭(♀9, ♂54)褐毛和種1頭(♀)ホルスタイン9頭(♀8, ♂1)である。ブタは県下末吉屠場で屠殺された50頭で性別は、♀24頭、♂26頭で種別は、はっきりしないが

ランドレース系雑種が主体を占めると考えられる。イヌは県下指宿市地区の飼イヌ 12 頭および鹿児島市の野犬 111 頭, 合計 123 頭を使用した。性別と年齢範囲は 1 才未満のもの 45 頭 (♀ 22, ♂ 23), 1 才以上のもの 78 頭 (♀ 32, ♂ 46) で, 種別は一定しない。ネコは鹿児島市内の飼ネコ 32 頭で何れも在来種で性別および年齢は, 1 才未満 14 頭 (♀ 8, ♂ 6) 1 才以上のもの 18 頭 (♀ 8, ♂ 10) を使用した。実験動物は, 何れも視診と一般所見より健康と思われるもので罹病したものは除外した。

2. 採血, 血清分離および血清の保存

採血は, ウマ, イヌ, ネコの大部分とウシの一部は頸静脈より一部を前腕正中皮静脈から行ない, 屠場におけるブタおよびウシの大部分は, 心臓穿刺により放血されたものを直接試験管に採取した。採血後数時間放置した後 2,500~3,000 rpm, 15 分間の遠心分離により血清を分離した。血清は清浄な試験管に分注し密栓して freezer (-20°C) に凍結保存した。

3. 測定法と測定器械

血清 AL-P 活性値の測定は (1) Kind-King 変法^{14,15)} (以下 K-K 変法という), 表現単位は King Armstrong Unit (以下 KAU) (2) Bessey-Lowry 法^{16,17)} (以下 BL 法という), 表現単位は Bessey-Lowry Unit (以下 BLU) (3) Bodansky 変法^{17,18)} (以下 B 変法という), 表現単位は Bodansky Unit (以下 BU) の 3 種の測定法で行なった。比色には Hitachi 101 型分光々度計を使用した。

4. 測定値の処理

実験により得られた数値については平均値, 標準誤差, 95% 信頼区間, 相関係数, 回帰係数, 回帰直線, 差の有意性の検定などの統計的処理により検討した。

実験成績

1. 各測定法による血清 AL-P 活性値

a) K-K 変法による測定値

本法によるウマ, ウシ, ブタ, イヌ, ネコの血清 AL-P 活性値は Table 1 に示す通りであるが, 平均活性値はウマが最も高く次にウシ, ブタ, イヌ, ネコの順である。イヌとネコの場合, 1 才未満のものを infant, 1 才以上のものを adult と区別して正常値を求めたが, ややイヌの方がネコよりも活性値の高い傾向を示している。

b) BL 法による測定値

本法による各家畜の血清 AL-P 活性値は Table 2 に示す通りである。平均活性値は, K-K 変法と同様に

Table 1. Serum alkaline phosphatase activities in domestic animals. M. K-K (The modification of Kind-King's test)

Species	No. tested	\bar{X}	SE	M
Horse	63	17.4	0.78	15.8-19.0
Cattle	73	9.2	0.63	7.9-10.5
Pig	50	6.6	0.33	5.9-7.3
Dog adult	78	5.8	0.4	5.0-6.6
infant	45	8.8	1.1	6.6-11.0
Cat adult	14	3.9	0.7	2.4-5.4
infant	18	8.6	0.9	6.7-10.5

\bar{X} : mean value (King-Armstrong Unit)

SE: standard error

M: confidence limit of mean

Table 2. Serum alkaline phosphatase activities in domestic animals. B-L (Bessey-Lowry's test)

Species	No. tested	\bar{X}	SE	M
Horse	63	6.2	0.28	5.6-6.8
Cattle	73	2.2	0.1	1.9-2.5
Pig	50	2.1	0.1	1.9-2.4
Dog adult	78	1.6	0.1	1.4-1.8
infant	45	2.3	0.2	1.9-2.7
Cat adult	14	1.2	0.3	0.6-1.8
infant	18	2.6	0.3	2.0-3.2

\bar{X} : mean value (Bessey-Lowry Unit)

SE: standard error

M: confidence limit of mean

ウマ, ウシ, ブタ, イヌ, ネコの順である。本法による測定値は, 数値的にいずれも他の 2 法のものよりも小さい。

c) B変法による測定値

本法による各家畜の血清 AL-P 活性値は Table 3 に示す通りである。家畜間における活性値の高低の傾向は前 2 法と変化はないが, 測定値の数値は BL 法よりは高く, K-K 変法よりは低い数値が全ての家畜に

Table 3. Serum alkaline phosphatase activities in domestic animals. M. B (The modification of Bodansky's test)

Species	No. tested	\bar{X}	SE	M
Horse	63	7.3	0.6	6.1-8.5
Cattle	73	3.1	0.2	2.7-3.6
Pig	50	2.5	0.1	2.3-2.8
Dog adult	78	2.3	0.2	1.9-2.7
infant	45	2.9	0.3	2.7-3.1
Cat adult	14	1.7	0.2	1.2-2.2
infant	18	3.5	0.4	2.6-4.4

\bar{X} : mean value (Bodansky Unit)

SE: standard error

M: confidence limit of mean

において得られた。

2 K-K 変法, BL 法および B 変法による測定間の相関係数と換算値の算定成績は Table 4~8 に示す通りである。いずれも高

い相関性が見られるが, ウマ, ウシにおける K-K 変法と BL 法の相関性が K-K 変法と B 変法との相関性に比して高く, 逆にブタ, イヌ, ネコにおいては, B 変法と K-K 変法との相関性の方が高い値を示してい

Table 4. Statistical data on correlation between the three tests in horse.

Tests	n	r	p	b	Nominated & predicted values	
					Nominated (M. K-K)	Predicted (other test)
M. K-K and B-L	63	+0.79	0.001	+0.29	10 KAU 20 KAU	4.1 BLU 7.0 BLU
M. K-K and M. B	63	+0.67	0.001	+0.53	10 KAU 20 KAU	3.4 BU 8.7 BU

Table 5. Statistical data on correlation between the three tests in cattle.

Tests	n	r	p	b	Nominated & predicted values	
					Nominated (M. K-K)	Predicted (other test)
M. K-K and B-L	78	+0.86	0.001	+0.29	10 KAU 20 KAU	2.5 BLU 5.4 BLU
M. K-K and M. B	78	+0.79	0.001	+0.27	10 KAU 20 KAU	3.4 BU 6.1 BU

Table 6. Statistical data on correlation between the three tests in pig.

Tests	n	r	p	b	Nominated & predicted values	
					Nominated (M. K-K)	Predicted (other test)
M. K-K and B-L	50	+0.65	0.001	+0.32	10 KAU 20 KAU	3.2 BLU 6.4 BLU
M. K-K and M. B	50	+0.76	0.001	+0.28	10 KAU 20 KAU	3.5 BU 5.0 BU

Table 7. Statistical data on correlation between the three tests in dog.

Tests	n	r	p	b	Nominated & predicted values	
					Nominated (M. K-K)	Predicted (other test)
M. K-K and B-L	148	+0.60	0.001	+0.17	10 KAU 20 KAU	2.4 BLU 4.1 BLU
M. K-K and M. B	148	+0.77	0.001	+0.27	10 KAU 20 KAU	3.3 BU 6.0 BU

Table 8. Statistical data on correlation between the three tests in cat.

Tests	n	r	p	b	Nominated & predicted values	
					Nominated (M. K-K)	Predicted (other test)
M. K-K and B-L	32	+0.80	0.001	+0.26	10 KAU 20 KAU	2.9 BLU 5.5 BLU
M. K-K and M. B	32	+0.86	0.001	+0.35	10 KAU 20 KAU	3.9 BU 7.0 BU

Table 9. Serum alkaline phosphatase activities classified by age.

Test	Animal	Age	n	\bar{X}	SE	Significance of difference
M, K-K (KAU)	Dog	adult	78	5.8	0.4	NS
		infant	45	8.8	1.1	
	Cat	adult	14	3.9	0.7	S
		infant	18	8.6	0.9	
B-L (BLU)	Dog	adult	78	1.6	0.1	S
		infant	45	2.3	0.2	
	Cat	adult	14	1.2	0.3	S
		infant	18	2.6	0.3	
M, B (BU)	Dog	adult	78	2.3	0.2	S
		infant	45	2.9	0.3	
	Cat	adult	14	1.7	0.2	S
		infant	18	3.5	0.4	

S: Significant at 5% probability level

NS: Non-significant at 5% probability level

る。両相関性を通じて他の家畜と比べて高い値を示すものは、ネコとウシでその他はウマ、ブタ、イヌの順に低くなっている。

各測定法間の活性値に関連性を持たせるために K-K 変法値に対する BL 法と B変法の各測定法の換算値を算出したが、10 KAU レベルに対する BL 法の換算値は B変法における換算値に比べ、ウマを除いてはいずれも低い値を示している。活性値の高い 20 KAU レベルにおいては、ウマの特異性は見られず、代りにブタのみ高くなりウマを含めて他の家畜においては、いずれも BL 法よりも B変法の方が高い値を示している。両レベルにおける換算値そのものは、BL 法および B変法を通じて各家畜とも大差は見られない。

3. 性別による活性値の比較

ウマ、イヌ、ネコの各 3 法による測定値の雄、雌間の有意差は認められない。ウシ、ブタの去勢雄と雌の間では、いずれもわずかに去勢雄の方が高い数値が見られるが共に有意差は認められなかった。

4. 年齢による活性値の比較 (Table 9 参照)

イヌ、ネコにおいては、年齢の有意差の検討を各 3 法についておこなった。イヌの K-K 変法では差は認められなかったが、BL 法と B変法におけるイヌ、ネコでは infant が adult よりも活性値が高い傾向が認められた。

5. 品種による活性値の比較

黒毛和種とホルスタインとの比較検討を行なったが有意差は認められなかった。

考 察

現在、行なわれている血清 *AL-P* の定量法は磷酸エステルが血清中 *AL-P* によって分解生成される磷酸と非リン化合物を、それぞれ別個に測定する方法すなわち、(1)有機リン酸エステルが分解されて遊離してくる無機リン酸の増加をはかる方法と、(2)色原体となりうるフェノール類などのリン酸エステルを基質とし、これから遊離する *p*-ニトロフェノールを直接比色ないしはフェノールに特異的な呈色反応を起こさせて、その遊離量を測定する 2 つの方法が基本をなしている。

今回使用した方法において B 変法は (1) に属し、BL 法、K-K 変法は (2) に属する方法である。

K-K 変法については、日本消化器病学会、肝機能研究班^{19,20)}の標準法として採択され日本では、ヒトでよく使用されている測定法である。本法の特徴は、緩衝液に緩衝能が大きな炭酸緩衝液を使用していることで血清 *pH* の変動による影響がないとされている。すなわち原法においては、フェニルリン酸を基質とし、*pH* 10 の炭酸緩衝液中で酵素作用を発揮させ、強アルカリにして活性を止めたのち、遊離したフェノールをフェリシアン化カリウムの共存下で 4-アミノアンチピリンと酸化的に縮合させ生成した赤色素を比色測定するという手順になっているが、本原法において 4-アミノアンチピリン添加後十分に混和しないと発色の低下とバラツキを生ずる^{15,21)} という欠点を有するために、本実験で使用した K-K 変法 (渡辺氏らの改良法) においては、酵素活性の安定性を得るため

に基質緩衝液中に最初から 4-アミノアンチピリンを混和し、この条件下でインキュベーションした後フェリシアン化カリウムを加えることにより酵素活性も同時に停止するために、原法での強アルカリ剤の添加や添加後の操作も不要となり、著しく簡易化されている。その後、Lacoste らにより、呈色液の安定化を計るために硼酸緩衝系が導入されているが、本来のフェノールの呈色は、自然光に曝されると変化し易いため、呈色後は遮光に留意し、すみやかに測定する必要がある。

BL 法はヒトの場合、アメリカでは、かなり普及度が高いと言われ操作も本実験に使用した K-K 変法や B 変法に比べて簡単で、また呈色も安定しているが、この呈色調が 405 nm に吸収極大を有するために、溶血血清や、とくに黄疸血清のビリルビンの影響を受けやすいとされている。ウマ、ウシの血清は生理的に carotenemia の状態にありその血清の黄色調はビリルビンよりも過量に存在している carotenoid に由来している²²⁾。従って BL 法の呈色が黄色のため、これらウマ、ウシにおいては血清中の carotenoid の影響があるものと予想されたが、K-K 変法に対する BL 法の換算値が B 変法換算値に比べてウマで高く、ウシで低いという所見が得られたことから carotenoid の影響はまず少ないものとする。しかし乍ら *Al-P* 活性値がウマで特異的に高いという現象は、生理的に他の家畜の 5~10 倍の高い正常値を有するウマの血清ビリルビンが少なからず影響していることは否定できない。従って通常血清 *Al-P* の上昇と血清中の直接ビリルビン値の上昇を伴う肝実質性疾患や閉塞性黄疸での本法の測定値は真の値以上に表現されることが考えられ、さらに血清中の *Al-P* 値は正常な溶血性黄疸においては病的高活性値を呈する惧れがある。またグリシンは血清 *Al-P* の活性を阻害するといわれ²³⁾、BL 法の基質緩衝液にグリシンを使用していることから、本実験成績中 K-K 変法に対する換算値において、BL 法が B 変法よりもウマを除く各家畜を通じて低い数値を示すこと、さらに BL 法の活性の数値が他の 2 法に比べて最も小さいということは、BL 法の基質緩衝液のグリシンの *Al-P* 活性抑制にも一因があるものとする。

B 法は原法では基質緩衝液に緩衝能の弱いバルピタールが使われているが、変法ではこのフォスファターゼの至適 pH 域で緩衝力の強い炭酸 (Na_2CO_3 - NaHCO_3)²⁴⁾ 緩衝液が採用されている。

本法は K-K 変法や BL 法と異なり、試料として用

いる血清中の自然遊離のリンを含めた総リン量を比色定量するので、前 2 法に比べ事前に行なう除蛋白操作と事後処置として、この血清中の自然遊離のリン量を差引く操作が加わり、このために測定手順の煩雑化と測定時間の延長を強いられている。さらに低活性 *Al-P* 測定時に、しばしば盲検のリン量が多く、*Al-P* により分解遊離増量しているはずの総リン量が盲検リン量よりも少ないという矛盾が見られたことは、本法の不安定さを物語る所見といえよう。

獣医臨床領域における血清 *Al-P* は、ヒトの臨床的意義に基づいて測定されているが、その根拠となる対象家畜の正常値の報告が意外に少なく、入手し得た文献で、著者らの 3 つの測定法による成績と完全に対比できたのはイヌのみである。以下畜種別に文献と対比できる正常活性値について検討を加える。

ウマにおける血清 *Al-P* 活性値の正常値は、B 法では Earle²⁵⁾ が生後 6 カ月までの仔ウマについて、生まれて 48 時間以内のもの 109±9.2 BU、6 カ月のもので 17.3±0.9 BU と年齢による活性値の差のあることを報告し、Benjamin²⁶⁾ が 13.8 (6~22) BU、また中島²⁷⁾ が 4~8 BU と正常値を報告しているが、本実験の B 法においては 7.3±0.6 (SE) BU で、中島の成績の上限に近似する成績が得られた。本実験では主にサラブレッドの 3~6 才のウマを使用したために Earle の成績とは比較にならず、また Benjamin の成績の全貌が不明のため、その値の相関については論及できない。

K-K 法では、Jennings & Mulligan²⁸⁾ の 8.6±1.65 KAU (5.1~12.0)、および Kelly²⁹⁾ の 5.1~14.8 KAU といういずれも adult の正常値の報告がある。本実験では 17.4±0.78 (SE) KAU という数値で原法による上述の値よりも高い値が得られたが、これは変法における基質液、呈色液の改善の結果によるものとする。Murakami & Sakurai³⁰⁾ の K-K 変法の改良法による競走馬サラブレッド 2~5 才における血清 *Al-P* 活性値の成績は国際単位で表示されているが、これを KAU に換算すると、2 才 ♂ 27.5 KAU (20.2~35.5) ♀ 24.5 KAU (16.0~31.7)、3 才 ♂ 19.2 KAU (13.0~25.9) ♀ 18.1 KAU (13.5~23.0)、4 才 ♂ 12.4 KAU (10.1~16.5) ♀ 13.9 KAU (10.4~18.1)、5 才 ♂ 11.6 KAU (9.5~14.5)、♀ 12.2 KAU (8.7~28.5) となり、著者らの一括した総活性値を、村上らの年齢区分に従って、細別すると 3 才 ♂ 18.4±4.4 KAU、♀ 20.4±5.1 KAU、4 才 ♂ 17.3±4.5 KAU、♀ 17.5±5.6 KAU、5 才以上 ♂ 13.9

±6.4 KAU, ♀ 11.1±4.3 という値となる。村上らの方法は国際単位で表示するために、インキュベーション温度を 30°C に規制し、K-K 変法本来の 37°C に比べ 7°C も低いという測定条件差はあるが、この両者の換算数値の比較では、著者らの 4 才馬が高いのを除いては、いずれも近似していることが判る。

ウシの血清 *AI-P* 活性値の正常値については、B 法においては大森²⁷⁾ の 5.8 (2.8~8.8) BU という成績のみが見られる。これは著者らの成績の約 2 倍近い数値を示しているが、その違いについては大森の成績の全貌が不明なため検討できなかった。

ウシの K-K 法による活性値の正常値は清水³¹⁾ らの 5.7±3.25 (SD) KAU というホルスタイン種牝牛での成績があるが、年齢が生後 5 カ月令から 15 才の広範囲を一括したもので、著者らの成績よりはかなり低目にでている。これは前述の馬と同様に原法と改善された変法との差に基づくものと考えられる。

正常なウシにおける年齢、性差、種別による血清 *AI-P* 活性値の検討については Parey³²⁾ が Boehringer, Mannheim 法によって測定した成績においては、年齢により差があり、性差はメスの方が高い傾向を示し、種別間による差はないと報告し、Allcroft³³⁾ らの King-Armstrong 変法による測定成績でも明らかに infant が adult よりも高い。本実験での年齢差については infant の供試牛が得られず検討していないが、性差、種別についてはいずれも否定的な結果が得られた。

ブタについては正常活性値の報告が見当らず比較検討はできなかった。

ネコの正常活性値については、僅かに Frank³⁴⁾ の B 法による 3.35 BU (0~7.1) という成績があるのみである。本実験では infant と adult に区分して検討を行ない、infant の方が明らかに高い活性値を有しているが、一括した Frank の成績との対比では、数値的に infant に近い活性値となっている。

イヌにおける B 法の成績では Frank³⁴⁾ の 3~6 BU および Kelly²⁹⁾ の 0.4~4.0 BU が見られるのに対し著者らの adult 1.6±0.1 BU infant 2.3±0.2 BU と数値は前 2 者よりもさらに低い成績が見られた。この事は、B 法ないしは B 変法の低活性のものに対する不安定性に因るものと考えたい。K-K 変法においては Harvey³⁵⁾ の adult 4.1±1.45 (SD) (2.0~8.2) KAU, infant 11.2±2.92 (SD) (6.0~17.9) KAU という成績が見られるが、これは著者らの adult の平均値よりやや低く、infant の平均値よりやや高い数

値となっているが、総体的にはかなり近接した成績である。

BL 法では、Harvey³⁵⁾ が adult 0.6±0.35 (SD) (0.1~1.2) BLU, infant 1.5±0.79 (SD) (0.5~2.5) BLU という成績が見られるが、著者の成績よりはいずれも低い数値を示している。

以上の総活性値の文献との対比において、3 種の測定法の中で、ウマとイヌで見られた K-K 変法のみが近似した数値を呈していることは、K-K 変法の安定性の一端を示唆しているものと考えられる。

血清 *AI-P* 総活性の測定法には多くの方法があり、その活性単位もいろいろな表現法が用いられている。このことは臨床診断上呈示されている正常値と同一方法で行なわれれば問題はないが、異なる方法で測定された場合、表現単位と数値が異なり、検査データの解析、診断上の不都合はまぬがれない。そこでヒトでは、異なる測定値間の関連性をもたせるために単位の換算値が呈示されている^{36,37)}。

獣医領域においては、わずかにイヌにおいて Harvey が K-K 変法、BL 法、King Armstrong 変法、Klein et al. 法間の換算値を算出しているにすぎない。著者らは、本実験成績よりウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコにおいて K-K 変法を対象として B 変法および BL 法の相関係数と換算値を求めた。

まず相関係数については、ウマ、ウシの BL 法が B 法の変相関係数よりも高くブタ、イヌ、ネコにおいては、逆に BL 法よりも B 変法の相関係数の方が高い。このことは、Harvey も述べているように、BL 法における光学的密度が他の方法と比べて低いために、活性の低い場合誤差範囲が広くなり不正確になりやすいことに起因するものと考えられる。すなわち比較的平均活性値が高いウマ、ウシにおいては、相関係数が B 変法よりも高く、平均活性値のウマ、ウシに比べて低いブタ、イヌ、ネコにおいて相関係数が低くなったものと考えられる。

次にイヌにおける Harvey の成績と著者らの KAU と BLU の換算値を比較すると、Harvey の値が本実験よりも約半分の数値となり、かなりの相違がある。これは Harvey の対象となったイヌの実験例数が少なく、しかも実験的に肝障害をおこした病的に活性値の高い血清を使用しているのに対し、著者らの実験では活性値の低い健康犬で、しかも例数がはるかに多いために、BL 法の欠点が強調され、相関係数の低下と換算値の上昇をもたらしたものと考えられる。

本実験のイヌ、ネコにおいて年齢による差の傾向が

認められたことは血清 *AL-P* 活性値の正常値の表現をヒトと同様に adult 値と infant 値に区別して求めることが必要であると考える。ウマ、ウシ、ブタにおいては、年齢別の検体が得られなかったために検討はできなかったがウシでの報告にも同様の結果が見られることから他の家畜においてもこの傾向にあるものと思われるので、これらについては今後さらに検討したい。

ヒトと同一の酵素測定法を家畜に応用する場合、基質の種類と濃度並びに測定条件などが適合しているかどうかが問題となってくる。これに関して Murakami ら³⁸⁾ がウマの *AL-P* についての実験で、酵素は、一般に種並びに器官特異性により同一作用を示すものでも、その起源により至適条件を異にするため、各家畜の至適条件を各測定法において求め、原法と比較検討することが必要であると述べている。

これに従えば *AL-P* の場合、同種家畜の中でも成長中の infant と性成熟後の adult の間に明らかな年齢差が存在することは、血清中の総活性に反映する *AL-P* isoenzyme の臓器由来性の異なっていることを示唆しているもので、厳密には Murakami らのいう家畜別の他に、同種家畜の infant と adult についても 2 様の至適性の検討が必要となってくる。

Murakami らの論拠は酵素化学的研究の面からは至極当然なことであるが、臨床的に血清 *AL-P* 総活性値測定は、肝疾患、骨疾患、その他の疾患を対象とする多目的な意義を有し、普遍的な検査項目にも拘らず、その比重は比較的軽い。最近では総活性値の測定と直接その臓器由来性を探知する isoenzyme レベルにおける測定法を併用することにより診断的価値を昂めていること、さらに酵素化学的にヒトや家畜別に基質特異性が著しく低い血清コリンエステラーゼ^{39,40)} などと異なって *AL-P* の基質特異性は極めて高いことより、対象家畜の多い獣医臨床検査においては、家畜別の至適性の僅少な差に基づく *AL-P* 総活性の数値に多少の起伏はまぬかれないにしても、その増減の傾向には変わりはなく、臨床的意義に聊かも支障はないと思われるので、血清 *AL-P* 総活性値の測定法は、各家畜に共用できる単一のもので臨床検査の煩雑化を避ける意味からも望ましいものと考えられる。

以上の見解から本実験では、ヒトで用いられている方法をそのままの条件で行ない、家畜別の至適性の検討は行っていないが、各家畜の血清中における *AL-P* の本来の性質を損うことなく、その活性値が必要最大限に表現され、操作も比較的容易な方法として、

K-K 変法が適当し、本法により測定された正常値は、獣医臨床における診断的役割を十分に果し得るものとする。

要 約

ウマ、ウシ、ブタ、イヌ、ネコの血清 *AL-P* 総活性値を *K-K* 変法、*BL* 法および *B* 変法の 3 種の方法で測定した結果、次のような知見が得られた。

1. 各家畜の正常活性値は、*K-K* 変法で、ウマ 17.4 ± 0.78 、ウシ 9.2 ± 0.63 、ブタ 6.6 ± 0.33 、イヌ adult 5.8 ± 0.4 、infant 8.8 ± 1.1 、ネコ adult 3.9 ± 0.7 、infant 8.6 ± 0.9 *KAU*、*BL* 法で、ウマ 6.2 ± 0.28 、ウシ 2.2 ± 0.1 、ブタ 2.1 ± 0.1 、イヌ adult 1.6 ± 0.1 、infant 2.3 ± 0.2 、ネコ adult 1.2 ± 0.3 、infant 2.6 ± 0.3 *BLU*、*B* 変法では、ウマ 7.3 ± 0.6 、ウシ 3.1 ± 0.2 、ブタ 2.5 ± 0.1 、イヌ adult 2.3 ± 0.2 、infant 2.9 ± 0.3 、ネコ adult 1.7 ± 0.2 、infant 3.5 ± 0.4 *BU* であった。

2. *K-K* 変法に対する *BL* 法と *B* 変法の相関性は、前者がウマで $r=0.79$ 、ウシで $r=0.86$ 、ブタ $r=0.65$ 、イヌ $r=0.60$ 、ネコ $r=0.80$ 、後者がウマ $r=0.67$ 、ウシ $r=0.79$ 、 $r=0.76$ 、ブタ $r=0.76$ 、イヌ $r=0.77$ 、ネコ $r=0.86$ といずれも強い相関が認められた。

3. *K-K* 変法に対する *BL* 法と *B* 変法による活性値の換算値は、ウマ $10 \text{ KAU} - 4.1 \text{ BLU}$ 、 $20 \text{ KAU} - 7.0 \text{ BLU}$ 、 $10 \text{ KAU} - 3.4 \text{ BU}$ 、 $20 \text{ KAU} - 8.7 \text{ BU}$ 、ウシ $10 \text{ KAU} - 2.5 \text{ BLU}$ 、 $20 \text{ KAU} - 5.4 \text{ BLU}$ 、 $10 \text{ KAU} - 3.4 \text{ BU}$ 、 $20 \text{ KAU} - 6.1 \text{ BU}$ 、ブタ $10 \text{ KAU} - 3.2 \text{ BLU}$ 、 $20 \text{ KAU} - 6.4 \text{ BLU}$ 、 $10 \text{ KAU} - 3.5 \text{ BU}$ 、 $20 \text{ KAU} - 5.0 \text{ BU}$ 、イヌ $10 \text{ KAU} - 2.4 \text{ BLU}$ 、 $20 \text{ KAU} - 4.1 \text{ BLU}$ 、 $10 \text{ KAU} - 3.3 \text{ BU}$ 、 $20 \text{ KAU} - 6.6 \text{ BU}$ 、ネコ $10 \text{ KAU} - 2.9 \text{ BLU}$ 、 $20 \text{ KAU} - 5.5 \text{ BLU}$ 、 $10 \text{ KAU} - 3.9 \text{ BU}$ 、 $20 \text{ KAU} - 7.0 \text{ BU}$ であった。

4. イヌとネコにおいては、infant が adult よりも活性値が明らかに高い傾向が認められた。

5. 各家畜における性差は認められなかった。

6. ウシにおける品種間の差は認められなかった。

7. 3 種測定法の中では、*K-K* 変法が最も適当しているものとする。

文 献

- 1) 三輪清三・小藤田和郎・赤堀四郎・沖中重雄監修：臨床酵素学，284-295，朝倉書店（1964）

- 2) Uleritch, H. *et al.*: *J. Lab. & Clin. Med.*, **38**, 693-704 (1951)
- 3) Popper, H. and Schaffner, F.: *Liver, Structure and Function, Blakiston Division*, **46**, McGraw-Hill (1957)
- 4) Flock, E. V. and Bollman, J. L.: *J. Biol. Chem.*, **175**, 439-449 (1948)
- 5) Tuba, J. and Robinson, M. I.: *ibid.*, **203**, 947-951 (1953)
- 6) Clark, L. C. and Beck, E.: *J. Pediat.*, **36**, 335-341 (1950)
- 7) Keiding, N. R.: *Scand. J. & Clin. Lab. Invest.*, **11**, 106-112 (1959)
- 8) Boyer, S. H.: *Science*, **134**, 1002-1004 (1961)
- 9) Master, Y. M. *et al.*: *J. obstetrics & Gynaecology*, **71**, 735-739 (1964)
- 10) Malamy, M. H. and Horecker, B. L.: *Biochemistry (Wash)*, **3**, 1893 (1964)
- 11) Kay, H. D.: *Brit. J. Exp. Path.*, **10**, 253 (1929)
- 12) Roberts, W. M.: *ibid.*, **11**, 90 (1930)
- 13) Fraser, D.: *Amer. J. Med.*, **22**, 730 (1957)
- 14) Kind, P. R. N. and King, E. J.: *J. Clin. Path.*, **7**, 322-326 (1954)
- 15) 渡辺賢誠・津田登代子・北村元仕: 臨床病理, **15**, 708-712 (1967)
- 16) Bessey, O. A., Lowry, O. H. and Brock, M. J.: *J. Biol. Chem.*, **164**, 321-329 (1946)
- 17) 柴田 進・北村元仕: 日常臨床生化学定量法, 中山書店(1963)
- 18) Bodansky, A.: *J. Biol. Chem.*, **101**, 93-104 (1933)
- 19) 川島震一・高橋善弥太: 最新医学, **18**, 2861 (1963)
- 20) 高橋 暁正・榎本浩昌: 臨床検査, **7**, 407 (1964)
- 21) 松谷 衛・他: 同上, **10**, 3 (1966).
- 22) 森園 充: 鹿大農学術報告, **18**, 177-184 (1968)
- 23) Luke, D. and Wolf, P. L.: *Enzymologia*, **39**, 2, 129-133 (1970)
- 24) King, E. J. and Allott, E. N.: "Micromethods of Blood Analysis", in "Recent Advances in Clinical Pathology", 2nd. ed., by S.C. Dyke, Churchill, London (1951)
- 25) Earle, I. P.: *J. Animal Science*, **11**, 191 (1952)
- 26) Benjamin, M. M.: *Outline of Veterinary Clinical Pathology*, 134, The Iowa State University Press (1961)
- 27) 中村良一: 臨床家畜内科診断学, 289, 養賢堂 (1973)
- 28) Jennings, F. W. and Mulligan, W. J. *Comp. Path.*, **63**, 286-293 (1953)
- 29) Kelly, W. R.: *Veterinary Clinical Diagnosis*, 297, Bailliere Tindall, London (1967)
- 30) Murakami, M. and Sakurai, N.: *Experimental Reports of Equine Health Laboratory*, **7**, 29-32 (1970)
- 31) 清水悦郎・他: 日本獣医学会雑誌, **33**, 112 (1971)
- 32) Parey, P.: *Zbl. Vet. Med. A.*, **14**, 528-547 (1967)
- 33) Allcroft, W.M. and Folley, S. J.: *Biochem. Jour.*, **35**, 254-266 (1941)
- 34) Frank, B.: *The Blood Chemistry of the Dog and Cat*, Gamma Publications, Inc. New York (1960)
- 35) Harvey, D. G.: *J. Small Anim. Pract.*, **18**, 557-566 (1967)
- 36) Deren, J. J. *et al.*: *New England Journal of Med.*, **270**, 1277-1283 (1964)
- 37) 佐々木 禎一・他: 臨床検査, **11** (6), 455-458 (1967)
- 38) Murakami, M. and Sakurai, N.: *Experimental Reports of Equine Health Laboratory*, **5**, 21-26 (1968)
- 39) Mersmann, H. J. and Sanquinetti, B. S.: *Am. J. Vet. Res.*, **35** (4) (1974)
- 40) 椛 秀人・森園充・西山実光: 第80回日本獣医学会講演要旨 (1975)

Summary

As one of the fundamental studies on the enzymatic diagnosis in the field of veterinary medicine, the measurement of total serum alkaline phosphatase-activities in normal horses, cattle, pigs, dogs and cats was carried out by the modification of Kind-King's test, Bessey-Lowry's one as well as the modification of Bodansky's one. The results obtained are summarized as follows.

1. By the modification of Kind-King's test the serum alkaline phosphatase values were found to be 17.4 ± 0.78 , 9.2 ± 0.63 , 6.6 ± 0.33 , 5.8 ± 0.4 (adult dogs) 8.8 ± 1.1 (infant dogs) and 3.9 ± 0.7 (adult cats) 8.6 ± 0.9 (infant cats) King-Armstrong units in horses, cattle, pigs, dogs and cats, respectively.

By Bessey-Lowry's test the enzyme values were found to be 6.2 ± 0.28 , 2.2 ± 0.1 , 2.1 ± 0.1 , 1.6 ± 0.1 (adult dogs) 2.3 ± 0.2 (infant dogs) and 1.2 ± 0.3 (adult cats) 2.6 ± 0.3 (infant cats) Bessey-Lowry units in horses, cattle, pigs, dogs and cats, respectively; while by the modifica-

tion of Bodansky's test, they were found to be 7.3 ± 0.6 , 3.1 ± 0.2 , 2.5 ± 0.1 , 2.3 ± 0.2 (adult dogs) 2.9 ± 0.3 (infant dogs) and 1.7 ± 0.2 (adult cats) 3.5 ± 0.4 (infant cats) Bodansky units.

2. The coefficient of correlation between the activities measured by Bessey-Lowry's test and those by the modification of Kind-King's test was found to be 0.79, 0.86, 0.65, 0.60 and 0.80 in horses, cattle, pigs, dogs and cats, respectively; while the coefficient was found to be 0.67, 0.79, 0.76, 0.77 and 0.86 between the activities measured by the modification of Bodansky's test and those by the modification of Kind-King's test.

Namely, the existence of a fairly strong correlation was confirmed between the activities measured by the three tests.

3. The conversion between the units of the enzyme activities in the three kinds of test, was recognized to be 10 KAU (King-Armstrong Unit)-4.1 BLU (Bessey-Lowry Unit), 20 KAU-7.0 BLU, 10 KAU-3.4 BU (Bodansky Unit), 20 KAU-8.7 BU in horses, 10 KAU-2.5 BLU, 20 KAU-5.4 BLU, 10 KAU-3.4 BU, 20 KAU-6.1 BU in cattle, 10 KAU-3.2 BLU, 20 KAU-6.4 BLU, 10 KAU-3.5 BU, 20 KAU-5.0 BU in pigs, 10 KAU-2.4 BLU, 20 KAU-4.1 BLU, 10 KAU-3.3 BU, 20 KAU-6.6 BU in dogs and 10 KAU-2.9 BLU, 20 KAU-5.5 BLU, 10 KAU-3.9 BU, 20 KAU-7.0 BU in cats.

4. In dogs and cats, infant showed a tendency to have a higher enzyme-activities than those in adult.

5. As to the enzyme-activities, no sexual difference could be observed.

6. No racial difference could be observed in cattle.

7. Among the three kinds of test, the modification of Kind-King's test was found to be the best for the measurement of this enzyme.