ON THE PHOSPHATASE ACTIVITY OF THE DISCHARGE FROM EAR NOSE

By

M. GOTO

*From the Department of Biochemistry, School of Medicine, Hokkaido University.**(Director: Prof. M. Yasuda)*

The phosphatase activity of the secretion of otitis media and sinusitis with changes in the mucous membrane and the bone was investigated by making use of di-sodium nitrophenyl phosphate as substrate, with particular reference to the difference due to types of diseases, age and clinical symptoms. Phosphatase activity in the secretion of other diseases was also compared with that of above diseases. The results are briefly as follows:

(1) After investigating the phosphatase activity of the secretion from the ear and the nose, by nitrophenyl phosphate procedures, the author found the optimal pH of alkaline phosphatase to be 10.4 or thereabout, and that of acid phosphatase 4.8 or thereabout. The optimal temperature proved to be 38°C, and the substrate concentration 0.4–0.5%.

(2) The results of measurement of the phosphatase activity by means of nitrophenol units were as follows: The alkaline phosphatase of the secretion from the ear proved to be 22 units in average in 26 cases; the secretion due to middle ear catarrh 4.7 units in average in 4 cases; the acid phosphatase 13.1 units in average in 20 cases. The alkaline phosphatase of the secretion from the nose proved to be 19.5 units in average in 20 cases; the acid phosphatase 7.9 units in average in many cases.

(3) Compared with this, alkaline phosphatase in the pus of other diseases proved to be 5.3 units in average in 20 cases. On the other hand, acid phosphatase proved to be 17.5 units in average in many cases.

(4) Alkaline phosphatase contained in the secretion of mastoiditis or advanced sinusitis seems to be generally increased, but is not significant compared with that of mild diseases.

(5) So far as age is concerned, both alkaline and acid phosphatase were found to exist more in the secretion of young people than in that of Adults. Therefore, it is thought to be difficult to infer the condition of a bone disease.

耳漏及び鼻漏における分泌物の磷酸酵素について

北海道大学医学部生化学教室（主任：安田守雄教授）

後 藤 正 邦
ゴ トウ マサ クニ

目 次

I 緒 言

II 実験方法

A. 実験材料及びその採取法

B. 試 薬

C. 標準曲線

D. 実 施 法

E. 実験方法に対する検討

III 実験成績

IV 考察並に結論

I. 緒 言

耳漏及び鼻漏に対する化学的検索特に定量的検査は、その性状より考えてみても極めて困難であり、この方面の報告は極めて少ない。僅に小山は中耳炎耳漏中カルシ

ウムの定量を行つて乳様突起炎合併の診断に利用し、その他には佐藤の耳漏の pH 測定、最近では古屋の化膿性中耳炎耳漏のウレアーゼ反応の研究等を見るに過ぎない。著者は中耳炎及び副鼻腔炎の分泌物を中心として、諸種炎症性分泌物中における磷酸酵素の測定法を考案し、それに対して種々検討を加えてみた。

磷酸酵素は有機磷酸エステルの水解及び合成を触媒する。即ち

1907 年鈴木等が植物組織で、1908 年 Mc Collum 等が動物組織で初めてその存在を認めた。至適 pH の異なる幾つかの型があつて、酸性、中性、アルカリ性磷酸酵素等と呼ばれているが、主として存在する組織の名を附して腎型、赤血球型、脾型、上面酵母型等と呼ばれることもある。磷酸酵素は生体内に汎く分布して化骨、石灰沈着、含水炭素の酸化、生体内触媒として作用する色々な磷酸エステルの生成、尿中への磷酸塩排泄の調整、腸管からの糖質吸収等に重要な役割を演ずることは顕著な事実である。又病態生理学的研究についても多数の報告があり、クル病、骨肉腫、前立腺癌、線維性骨炎、閉塞性黄疸等の診断に利用されている。

血清磷酸酵素の定量法として多数の報告があるがその原理は種々の磷酸エステルを基質として、一定の温度及び pH の下におこる水解度を測定するものである。即ち現在汎く使用されているのは、グリセロ磷酸を基質として遊離する磷を比色定量する Bodansky の方法、その変法である Shinowara-Jones-Reinhart 法、フェニール磷酸を基質として遊離するフェノールを比色定量する King-Armstrong 法、フェノールをアルカリ性メザウムにおいて赤血塩の存在下で 4-Amino-Antipyrine 添加により赤色キノンに変化させて比色する Powell-Smith 法、パラニトロフェニール磷酸ソーダを基質とし遊離するフェノールを測定する等の方法である。パラニトロフェニール磷酸塩は King-Delory によつて研究され、Ohmori-Fujita によつて初めてフォスファターゼの測定に利用され、この方法は更に Bessey 等によつて微量法化された。又 Hudson 等はパラニトロフェニール磷酸塩を用いて血清の酸性磷酸酵素の測定を行つた。著者は微量の試料をもつて迅速容易に測定し得る方法として、アルカリ性磷酸酵素の測定には Bessey 等の方法を、酸性磷酸酵素の測定には Hudson 等の方法を

夫々若干の改変を加えて使用した。

本文中に記載された pH 値はすべて東洋濾紙製 pH-Meter Model-H を使用して 2 点補正により測定したものであり、比色計は Rouy Photrometer Model LCZ (Leitz) を使用した。なお標準曲線作製の参考として一部に Uvispek 分光電光度計を使用した。

II. 実験方法

A. 実験材料及びその採取法

1. 実験材料

耳漏を採取するには耳垢や血液の混合をできるだけ避けねばならない。鼓膜切開直後や耳垢の多い場合には注意を要する。又化学療法を進歩によつて多量の耳漏を継続して排出する事は極めて少なくなり、殊に成人の急性中耳炎は殆んど排膿前に治療が施され短時間で治癒してしまうので耳漏の採取は困難である。従つて幼児の耳漏が実験材料の大半を占めた事はやむを得ない。鼻漏は鼻洗鼻後暫時頭位を前屈せしめ出血を充分に注意しつつ中耳道や嗅裂より採取した。

その他対照として種々の炎症性疾患における分泌物の穿刺液を使用した。

2. 採取法

採取器は 2g 注射筒を改良し吸引器を連結して使用した。針は耳用には短針、鼻用には長針の尖端を鈍にした太目のものを用意した。注射筒は細過ぎると分泌物が素通りし太過ぎるとビベットによる計量が困難である。ビベットは 0.3cc メスビベットを改良し尖端まで目盛つきとしゴム製吸引管を附して使用した。別に中耳カタル穿刺液や稀薄な穿刺液には血糖測定用メランヂュールを使用した。粘稠な分泌物をビベットで計量するのは極めて困難であるが練習によつてかなり正確になし得る。鼻漏のように気泡を含み易い分泌物の計量は特に注意が必要である。

B. 試薬

1. 生理的食塩水

塩化ナトリウム 8.5g を秤量し水で 1l とする。

2. 基質原液

パラニトロフェニール磷酸ナトリウム塩を 0.4g 秤量し 0.001 規定塩酸に溶解して 100cc とする。0.1 規定苛性ソーダ又は 0.1 規定塩酸を使つて pH 6.5～8.0 に調整する。氷室におく。但し基質原液 1cc を 10cc の 0.02 規定苛性ソーダで薄め 415m/μ の光で測定した吸光度が 0.08 以上であつてはならない。

3. アルカリ性磷酸酵素測定用緩衝液

グリセロール 3.83g を水 700～800cc にとかし 1 モルの塩化マグネシウム 1cc 及び 1 規定苛性ソーダ 49cc を加へ水で 1l とする。pH 11 とする。氷室におく。

4. 酸性磷酸酵素測定用緩衝液

酢酸ソーダ 11.703g (あるいは無水酢酸ソーダを 7.055g) を 700～800cc の水に溶解し 1 モルの塩化マグネシウム 1cc 及び氷酢酸 0.59cc を加へ水で 1l とする。pH 4.5 に調整する。クロロフォルム 5cc を加えて氷室におく。

5. 使用基質液

基質原液に等量の緩衝液を加えて使用基質液とし氷室中におく。この 2cc に 0.02 規定苛性ソーダ 10cc を加えてこれが 1cc の液の厚さで吸光度が 0.1cc をこえてはならない。

6. 0.02 規定苛性ソーダ

7. 30% 塩酸

8. 規準原液

純パラニトロフェノールを 0.139g 秤量し水にとかし 100cc とする。

C. 標準曲線

規準原液を 0, 1, 2, 4, 6, 8, 10cc とり各々に蒸留水を加えて 10cc とすると 0～10mM/l の規準液ができる。この規準液を各々 0.1cc とり生理的食塩水 0.9cc, 蒸留水 1cc, 0.02 規定苛性ソーダ 10cc を加えて混和し、あとは実施の如く処理する。零濃度のものを盲検とする。フィルターの波長は 415m/μ を用いた。血清の標準曲線は 0～6mM/l の規準液で充分であるが、耳漏及び鼻漏中の磷酸酵素は極めて多いのでそれ以上の濃度の規準液を必要とする事がある。アルカリ性磷酸酵素測定用基質液、酸性磷酸酵素測定用基質液、蒸留水各々 1cc を使用して標準曲線を作製した成績は下記の如く著明な差異はない。第 1 表はその成績を吸光度で示したものである。従つてこの平均をとつて標準曲線を作ればアルカ

リ性用及び酸性用の双方に利用できる。第 1 図は平均吸光度で作製した標準曲線である。

第 1 図 p-Nitrophenol 標準曲線
(Rouy photrometer 使用)

第 2 図 p-Nitrophenol 標準曲線
(Uvispek 分光光度計使用)

第 1 表 標準曲線作製法の検討

	1	2	4	6	8	10
アルカリ性用基質液	0.068	0.128	0.234	0.316	0.381	0.439
酸性用基質液	0.067	0.124	0.234	0.314	0.376	0.437
蒸留水	0.061	0.131	0.231	0.314	0.379	0.440
アルカリ性用基質液	0.066	0.129	0.233	0.313	0.380	0.432
酸性用基質液	0.066	0.128	0.233	0.313	0.379	0.430
蒸留水	0.062	0.126	0.233	0.314	0.379	0.438
平均	0.065	0.127	0.233	0.314	0.379	0.436

なお Uvispek 分光光度計を使用し最大吸光度を示すフィルターの波長 400m/μ を求めて標準曲線を作つてみると殆んど直線に近いものができた。第 2 図はその成績を示した標準曲線である。

D. 実施法

多数法多数例の予備的検査によつて分泌物の適当な使用量を検討した結果、耳漏及び鼻漏の使用量は 0.5cc, 対象として用いた他の炎症性分泌物は 0.1cc を使用し

た・小試験管に生理的食塩水を夫々 1.95cc, 1.9cc とり、その中へビペットより検体を吹入れてビペットが清浄となるまで十分に洗い落す・小試験管を密栓して均等になるまで激しく振盪する・これを5分間 2000 廻転で遠心沈澱しその上清を他の小試験管にとり氷室中におけば 24 時間以内は活性度の低下を見ない・その 1cc をもつて試料とする・即ち前記使用量の各半量を用いる事になる・採取した分泌物は可及的早く処理しなければ変性、活性度の低下、水分蒸発等によつて誤差をきたす事は勿論である・又同一の分泌物で作った遠心上清の数本を混和して使用すればなお平均した正確な値が得られる・

有栓試験管に基質液 1cc をとり 38°C の恒温槽で温めた後検査すべき試料 1cc を加へる・正確に 30 分後氷水中に入れ直ちに 0.02 規定苛性ソーダ 10cc を加えて顛倒混和し、100% 透過率は水に合せ 415m/μ のフィルターを使用して吸光度をよむ・これを E_1 とする・次に 0.1cc の 30% 塩酸を加え吸収管を顛倒混和して再びよみこれを E_2 とする・ $E_1 - E_2 = E_c$ とする・別に検査材料のかわりに生理的食塩水 1cc を用いて全く同様の事を行い E_1' 及び E_2' を求め $E_1' - E_2' = E_c'$ とする・計算 $E_c - E_c'$ は酵素によつて游離したパラニトロフェノールに相当する・標準曲線を用いて $E_c - E_c'$ に相当するパラニトロフェノール濃度 mM/l の値を求める・その値を耳漏及び鼻漏のアルカリ性磷酸酵素の場合は 8 倍、その他の炎症性産物では 4 倍すると夫々 1 時間に 1l の分泌物によつて生じたニトロフェノールの量即ちニトロフェノール単位となる・

E. 実験方法に対する検討

1. 稀釈液に就いて

試料は基質液と均等に混和しなければ酵素作用を完全に發揮する事はできない・又耳漏及び鼻漏に含まれる磷酸酵素は血清に比して極めて多量であるので、その測定には稀釈を必要とする・殊に対象とする実験材料が濃厚粘稠な分泌物なのでこれを均等な液とするために種々な稀釈液を用いてみた・単なる蒸留水では溶解し難いが、生理的食塩水は分泌物を容易に且つ均等に溶解し、而も酵素作用に何等の影響をあたえず極めて好適である・

2. 緩衝液に就いて

アルカリ性磷酸酵素測定用緩衝液には、バルビタール緩衝液 (Shinowara-Jones-Reinhart 法)、炭酸ソーダー重曹緩衝液 (King-Armstrong 法)、グリコロール苛性ソーダ緩衝液 (Bessey 等の方法) 等がある・柴田氏はバルビタール緩衝液は長く保存し得ないのでアルカリ

性磷酸酵素測定用緩衝液には炭酸ソーダー重曹緩衝液を用いた方がよいと云つてゐる・著者はニトロフェニール磷酸塩法においてグリコロール苛性ソーダ緩衝液と炭酸ソーダー重曹緩衝液とを比較して第 2 表の如き成績を得た・pH はいずれも 11 のものを使用し数値は吸光度を示す・著者の成績では著明な差はないが前者の方がやゝ良いように思われる・酸性磷酸酵素測定用緩衝液には、バルビタール酢酸緩衝液 (Shinowara-Jones-Reinhart 法)、枸橼酸緩衝液 (Gutman-Gutman 法)、酢酸-酢酸ソーダ緩衝液 (Hudson 等の方法) 等が用いられているが著者は酢酸-酢酸ソーダ緩衝液を用いた・

第 2 表 緩 衝 液 の 比 較

吸光度 試料	グリコロール 苛性ソーダ緩衝液 (0.9%グリコロール)	炭酸ソーダー 重曹緩衝液 (0.9%炭酸ソーダー)	炭酸ソーダー 重曹緩衝液 (0.9%炭酸ソーダー)
耳漏 12才男	0.246	0.243	0.238
耳漏 12才男	0.218	0.207	0.205
鼻漏 5才女	0.220	0.199	0.187
胸膜炎 漿液 20才男	0.071	0.066	0.052

3. 至適 pH

King 及び Delory はニトロフェニール磷酸塩を基質とした場合にはグリセロール磷酸塩を使用した場合よりも、磷酸酵素の至適 pH はアルカリ性に傾いてゐると云つてゐる・Bessey 等によれば人血清における至適 pH は 10~10.1 で、従つて基質の pH を 10.3~10.4 としている・著者は耳漏及び鼻漏の磷酸酵素の至適 pH を検するため一連の pH 系列を作り各 pH における磷酸酵素の活性度を比較してみた・これに使用した緩衝液の pH は 2, 3, 3.5, 4, 4.5, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 10.5, 11, 11.5, 12 の 15 種類で、pH 2~3 はグリコロール-塩酸緩衝液、pH 3.5~5.0 は酢酸-酢酸ソーダ緩衝液、pH 6 は枸橼酸ソーダー苛性ソーダ緩衝液、pH 7~9 はペロナール-塩酸緩衝液、pH 10~12 はグリコロール苛性ソーダ緩衝液である・酵素の至適 pH は基質の pH をもつて表示するのが適當であるが別表に記した pH は便宜上使用する緩衝液の pH で基質の pH ではない・第 3 図、第 4 図は中耳炎の耳漏 3 例と慢性副鼻腔炎の鼻漏 2 例について各 pH の緩衝液を使用した場合における磷酸酵素の活性度を吸光度で示したものである・症例は次の如くである・

- ① 田中 17 才女子 急性化膿性中耳炎
- ② 笠原 2 才女子 急性化膿性中耳炎
- ③ 大場 3 才男子 急性化膿性中耳炎

第3図 緩衝液の pH と吸光度との関係
(中耳炎分泌物)

第4図 緩衝液の pH と吸光度との関係
(副鼻腔炎分泌物)

④ 鈴木 17才女子 慢性副鼻腔炎

⑤ 斎藤 12才男子 慢性副鼻腔炎

以上の成績によれば吸光度は pH 11 と pH 4.5 において二つの頂点を有している。これは明らかにアルカリ性磷酸酵素と酸性磷酸酵素の両者を含有する事を示すものである。又 pH 11 を中心とするカーブは極めて急峻であるが pH 4.5 を中心とするカーブは緩慢である。この成績に基いて著者の方法によるアルカリ性磷酸酵素測定用緩衝液の pH は 11, 酸性磷酸酵素測定用緩衝液の pH は 4.5 とした。この際における基質の pH を検討してみると pH 11 の緩衝液 0.5cc, パラニトロフェニール磷酸塩溶液 0.5cc, 生理的食塩水 1cc の混液の pH は 10.4 前後であり, pH 4.5 の緩衝液を用いた混液の pH は 4.8 前後である。従つて耳漏及び鼻漏の磷酸酵素の至適 pH はアルカリ性においては 10.4 前後, 酸性においては 4.8 前後と考えられる。

4. 至適温度

磷酸酵素が酵素作用を最もよく發揮する温度は 38°C 前後と云われてこれを至適温度としている。著者は耳漏及び鼻漏の磷酸酵素の至適温度を検討してみた。第5図, 第6図は耳漏及び鼻漏各2例について 20°, 30°, 38°, 40°, 45°, 50°, 60°C の7種類の温度におけるアルカリ性磷酸酵素の活性度を吸光度で示したものである。症例は次の如くである。

① 竹中 1才男子 急性化膿性中耳炎

② 野崎 9才男子 急性乳様突起炎

③ 鈴木 18才女子 慢性副鼻腔炎

④ 小野 19才女子 慢性副鼻腔炎

以上の成績によればいずれも 38°C に頂点を有し, 20°C より 38°C に至る活性度の上昇に比して 38°C より 60°C に至る活性度の低下は急峻で 60°C においては酵素作用は全くみられない。従つて耳漏及び鼻漏の磷酸酵素の至適温度は 38°C 前後と考えられる。

第5図 温度と吸光度との関係
(中耳炎分泌物)

第6図 温度と吸光度との関係
(副鼻腔炎分泌物)

Albers 等は精製した腎磷酸酵素を 60°C におくと 2～3 分でその作用は半減すると云っている。著者は耳漏及び鼻漏各 1 例の磷酸酵素についてこの事を検討してみた。第 7 図は試料を 60°C において 0, 1, 2, 3, 4, 8 分間処理した後アルカリ性磷酸酵素を測定しその成績を吸光度で示したものである。症例は次の如くである。

- ① 宮坂 2 才女子 慢性中耳炎
- ② 東明 16 才女子 慢性副鼻腔炎

以上の成績によれば酵素作用は 1～2 分で半減し 5 分で僅少に認められ 8 分後には全く認められない。

第 7 図 60°C における活性度の低下を吸光度で示す

5. 基質濃度

Bessey 等の微量法では緩衝液 0.025cc と 0.4% パラニトロフェニール磷酸ソーダ 0.025cc との混液を基質としこれに血清 0.005cc を加えて測定している。又 Hudson 等は緩衝液 0.5cc と 0.4% パラニトロフェニール磷酸塩 0.5cc との混液を基質としこれに血清 0.1cc を加えて測定している。

著者の方法においては分泌物を処理して得た試料 1cc を使用するのに基質濃度は稀薄となるのであるがこれを検討するために種々の基質濃度における磷酸酵素の活性度を測定してみた。即ち 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1% のパラニトロフェニール磷酸塩溶液を作りその各 0.5cc に pH 11 のグリコロール苛性ソーダ緩衝液を 0.5cc 加えたものを基質としこれに試料 1cc を加えて磷酸酵素の活性度を測定しこれを吸光度で示したものが第 8 図である。症例は次の如くである。

- ① 笠原 2 才女子 急性化膿性中耳炎
- ② 岡田 38 才女子 急性化膿性中耳炎
- ③ 高沢 17 才女子 慢性副鼻腔炎
- ④ 安倍 13 才男子 慢性副鼻腔炎

基質濃度の差異は pH や温度のような著明な影響はなく吸光度曲線は平坦であるが 0.4～0.6% の濃度に頂点を示す。従つて本法においては 0.4% のパラニトロフェニール磷酸塩溶液を使用した。

第 8 図 基質濃度と吸光度との関係

以上著者の測定法に対して多方面より吟味を加え併せて耳漏及び鼻漏の磷酸酵素の性質を検討したのであるが、検査の対象が炎症性産物と云う複雑なものであるため本法における呈色反応が磷酸酵素自体によるものであるかあるいはそれ以外の物質が関係しているのではないかと云う疑問がおこる。しかしながら本法を多数の検査材料について実施してみるに呈色反応はすべて黄色であり 30% 塩酸を加えて酸性にすると黄色は全く消失して而も透過率は 90% 以上を示す事、又パラニトロフェニール磷酸塩が存在しなければ絶対に発色しない事、又本反応が pH 及び温によつて影響され至適 pH、至適温度を有する事は本反応が酵素作用によるものである事を充分に説明し得ると考える。

III. 実験成績

すでに実験材料の項において述べた如く試料の性質上耳漏は幼少児の症例が多く鼻漏は年長児の症例が多いのは止むを得ない。外耳炎の耳漏は中耳炎のそれと性質が異なり磷酸酵素の分布も他の炎症性分泌物に類似するので後者に入れた。中耳カタルの分泌物は穿刺液を用いた。対照とした他の炎症性分泌物は無選択に呈供を受けたものですべて穿刺液である。表中の記号を説明すれば次の如くである。

- T₁ 試料(上段)及び盲検(下段)の透過率(%)
- T₂ 30% 塩酸滴下後の透過率(%)
- E₁ T₁ を吸光度で示した数値

E₂ T₂ を吸光度で示した数値

E_c E₁ と E₂ との差

E 試料の E_c と盲検の E_c との差

mM/l E の値より標準曲線によつて求めたパラニト

ロフェノールの濃度

A. 実験成績

第3表 耳分泌物のアルカリ性磷酸酵素

名称	年令	性別	診断	T ₁	T ₂	E ₁	E ₂	E _c	E	mM/l	ロフェノール濃度
豊田	8	♂	右急性化膿性中耳炎	39	37	0.237	0.015	0.222	0.162	2.635	21.4
高橋	3	♀	左急性化膿性中耳炎	67	36	0.174	0.010	0.164	0.124	1.950	15.6
宮地	13	♀	左慢性化膿性中耳炎	30	37	0.045	0.008	0.037	0.082	1.275	10.2
伊勢	8	♂	右急性化膿性中耳炎	34	36	0.084	0.018	0.066	0.243	4.275	34.2
山城	1	♂	左慢性化膿性中耳炎	34	36	0.027	0.009	0.018	0.238	4.125	33.0
西	1	♂	右慢性化膿性中耳炎	32	32	0.036	0.007	0.029	0.181	3.025	24.2
西村	11	♀	右慢性化膿性中耳炎	33	32	0.032	0.008	0.024	0.160	2.650	21.2
竹中	1	♂	右慢性化膿性中耳炎	33	34	0.037	0.016	0.021	0.124	1.925	15.4
宮坂	1	♀	右慢性化膿性中耳炎	62	36	0.201	0.018	0.183	0.156	2.575	20.6
斉藤	8	♂	右慢性化膿性中耳炎	39	34	0.223	0.027	0.196	0.175	2.925	23.4
三浦	8	♂	右慢性化膿性中耳炎	38	36	0.108	0.018	0.090	0.067	0.975	7.8
川尻	3	♀	右慢性化膿性中耳炎	48	35	0.137	0.022	0.115	0.247	4.350	34.8
吉田	14	♂	左慢性化膿性中耳炎	33	37	0.014	0.015	0.001	0.078	1.225	9.8
山田	16	♀	左慢性化膿性中耳炎	22	34	0.043	0.027	0.016	0.088	1.375	11.0
田中	16	♂	左慢性化膿性中耳炎	33	39	0.036	0.009	0.027	0.013	0.1	1.6
中野	15	♂	左慢性化膿性中耳炎	30	35	0.047	0.022	0.025	0.047	0.725	5.8
鍋田	8	♂	右慢性化膿性中耳炎	33	39	0.032	0.004	0.028	0.114	1.8	14.4
野呂	2	♀	右慢性化膿性中耳炎	36	34	0.232	0.027	0.205	0.212	3.6	28.8
吉田	4	♂	右慢性化膿性中耳炎	31	36	0.037	0.019	0.018	0.247	4.375	35.0
藤田	3	♂	左慢性化膿性中耳炎	37	36	0.035	0.010	0.025	0.174	2.9	23.2
加藤	2	♂	左慢性化膿性中耳炎	64	36	0.212	0.018	0.194	0.180	3.000	24.0
山岸	7	♂	右慢性化膿性中耳炎	47	35	0.128	0.022	0.106	0.283	5.250	42.0
城崎	1	♂	右慢性化膿性中耳炎	32	37	0.016	0.013	0.003	0.278	5.100	40.8
戸村	3	♀	右慢性化膿性中耳炎	37	36	0.029	0.018	0.011	0.255	4.550	36.4
横田	16	♂	右慢性化膿性中耳炎	37	35	0.049	0.022	0.027	0.109	1.625	13.0
洞口	3	♂	右慢性化膿性中耳炎	38	34	0.237	0.021	0.216	0.187	3.125	25.0
黒川	58	♂	左慢性化膿性中耳炎	45	34	0.247	0.022	0.225	0.287	5.575	45.1
横野	37	♂	左慢性化膿性中耳炎	30	35	0.033	0.022	0.011	0.110	1.700	14.4
高橋	49	♀	左慢性化膿性中耳炎	37	35	0.047	0.021	0.026	0.040	0.675	5.3
藤沢	32	♀	右慢性化膿性中耳炎	37	36	0.036	0.018	0.018	0.034	1.475	11.9

第4表 耳分泌物の酸性磷酸酵素

名称	年令	性別	診断	T ₁	T ₂	E ₁	E ₂	E _c	E	mM/l	ロフェノール濃度
山田	16	♀	右慢性化膿性中耳炎	30	37	0.097	0.002	0.095	0.001	0.775	6.2
鎌田	6	♀	左慢性化膿性中耳炎	60	35	0.222	0.022	0.200	0.163	2.700	21.6
三橋	6	♀	左慢性化膿性中耳炎	33	33	0.260	0.032	0.228	0.175	2.925	23.4
新谷	1	♂	左慢性化膿性中耳炎	39	34	0.229	0.027	0.202	0.170	2.925	22.6
安喰	2	♂	右慢性化膿性中耳炎	33	36	0.079	0.009	0.070	0.023	0.350	2.8
長谷川	9	♂	右慢性化膿性中耳炎	28	36	0.108	0.018	0.090	0.067	1.040	8.3
山城	1	♂	左慢性化膿性中耳炎	33	34	0.169	0.027	0.142	0.118	1.850	14.8
三浦	9	♀	右慢性化膿性中耳炎	32	36	0.032	0.009	0.023	0.110	1.725	13.8
伊勢	8	♂	右慢性化膿性中耳炎	66	36	0.178	0.018	0.160	0.135	2.160	17.3
斉藤	9	♂	右慢性化膿性中耳炎	32	36	0.034	0.009	0.025	0.210	3.575	28.6
宮地	13	♀	左慢性化膿性中耳炎	30	35	0.097	0.022	0.075	0.042	0.650	5.2
工藤	6	♀	左慢性化膿性中耳炎	28	37	0.119	0.015	0.104	0.079	1.225	8.8
宮城	1	♀	右慢性化膿性中耳炎	25	36	0.123	0.018	0.105	0.080	1.250	10.0
高橋	3	♀	左慢性化膿性中耳炎	32	36	0.036	0.009	0.027	0.045	0.700	5.6
西	1	♂	右慢性化膿性中耳炎	33	36	0.040	0.018	0.022	0.082	1.275	11.2
谷川	2	♂	左慢性化膿性中耳炎	27	36	0.114	0.018	0.096	0.056	0.875	7.0
豊田	8	♂	右慢性化膿性中耳炎	33	37	0.137	0.022	0.115	0.062	0.975	7.8
竹中	1	♂	右慢性化膿性中耳炎	64	36	0.194	0.015	0.179	0.132	2.100	16.8
今井	1	♂	右慢性化膿性中耳炎	33	37	0.033	0.009	0.024	0.149	2.425	19.4
藤田	1	♂	右慢性化膿性中耳炎	33	36	0.184	0.018	0.166	0.080	1.225	8.8

第5表 鼻分泌物のアルカリ性磷酸酵素

名称	年令	性別	診断	T ₁	T ₂	E ₁	E ₂	E _c	E	mM/l	ロフェノール濃度
石沢	12	♀	右慢性化膿性中耳炎	37	36	0.244	0.027	0.217	0.194	3.275	27.2
小玉	7	♀	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.030	0.027	0.003	0.250	4.425	35.4
石黒	13	♀	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.032	0.002	0.030	0.131	2.075	16.6
八重枝	14	♀	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.057	0.875	7.0
横山	24	♂	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.076	1.175	9.4
毛利	13	♀	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.239	4.150	33.2
野田	14	♂	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.030	0.450	3.6
岡本	13	♂	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.086	1.350	10.8
今	16	♀	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.115	1.800	14.4
川村	29	♀	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.093	1.400	11.2
畑田	13	♀	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.192	3.025	24.2
香川	40	♂	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.142	2.300	18.4
鈴木	12	♂	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.269	4.900	39.2
古家	19	♂	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.122	1.925	15.4
菊地	14	♀	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.211	3.600	28.8
篠原	15	♀	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.164	2.725	21.8
竹田	14	♀	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.101	1.575	12.6
高沢	15	♂	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.212	3.600	28.8
入沢	7	♀	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.121	1.900	15.2
青島	20	♀	右慢性化膿性中耳炎	30	36	0.036	0.018	0.018	0.124	1.950	15.6

第6表 鼻分泌物の酸性磷酸酵素

名称	年令	性別	診断	T ₁	T ₂	E ₁	E ₂	E _C	E	m/l	単位
宮坂	38	♂	側副性炎症性鼻炎	44	95	0.085	0.072	0.044	0.025	0.400	3.2
鹿谷	17	♂	側副性炎症性鼻炎	73	97	0.125	0.022	0.103	0.066	1.250	10.0
毛利	13	♀	側副性炎症性鼻炎	70	99	0.046	0.009	0.019	0.105	1.650	13.2
高橋	31	♀	側副性炎症性鼻炎	72	94	0.155	0.029	0.126	0.053	0.825	6.6
佐藤	18	♀	側副性炎症性鼻炎	87	93	0.042	0.016	0.026	0.052	0.800	6.4
藤沢	23	♀	側副性炎症性鼻炎	92	97	0.036	0.013	0.023	0.056	0.875	7.0
奈木	24	♀	側副性炎症性鼻炎	93	96	0.102	0.019	0.083	0.061	0.950	7.6
東明	15	♂	側副性炎症性鼻炎	79	96	0.102	0.018	0.084	0.061	0.950	7.6
竹田	14	♀	側副性炎症性鼻炎	78	96	0.109	0.016	0.090	0.067	1.025	8.2
鳥沢	15	♂	側副性炎症性鼻炎	82	97	0.036	0.013	0.023	0.098	1.525	12.2
入沢	7	♀	側副性炎症性鼻炎	78	95	0.109	0.022	0.086	0.063	0.925	7.4
寺島	20	♀	側副性炎症性鼻炎	85	96	0.069	0.018	0.050	0.027	0.425	3.4
横山	24	♂	側副性炎症性鼻炎	82	97	0.036	0.013	0.023	0.053	0.825	6.6
石黒	13	♀	側副性炎症性鼻炎	87	95	0.089	0.022	0.067	0.042	0.650	5.2
川村	28	♀	側副性炎症性鼻炎	77	94	0.114	0.027	0.087	0.059	0.900	7.2
野田	14	♂	側副性炎症性鼻炎	91	97	0.041	0.013	0.028	0.071	1.175	1.4
香川	40	♂	側副性炎症性鼻炎	87	96	0.081	0.017	0.064	0.096	1.500	12.0
古家	19	♂	側副性炎症性鼻炎	82	97	0.046	0.013	0.033	0.044	0.675	5.4
菊地	14	♀	側副性炎症性鼻炎	87	95	0.139	0.018	0.119	0.123	1.950	15.6
篠原	15	♀	側副性炎症性鼻炎	79	96	0.143	0.019	0.123	0.100	1.675	12.6

第7表 対象疾患滲出物のアルカリ性磷酸酵素

名称	年令	性別	診断	T ₁	T ₂	E ₁	E ₂	E _C	E	m/l	単位
伊藤	39	♂	左側副性炎症性鼻炎	37	95	0.222	0.022	0.200	0.193	3.250	13.0
藤村	8	♂	側副性炎症性鼻炎	81	95	0.092	0.022	0.070	0.040	0.580	1.1
大西	10	♀	側副性炎症性鼻炎	80	95	0.097	0.022	0.075	0.043	0.630	2.5
菅原	4	♀	側副性炎症性鼻炎	91	95	0.047	0.009	0.032	0.066	0.950	3.8
藤田	5	♂	側副性炎症性鼻炎	83	97	0.087	0.021	0.066	0.073	0.200	0.8
尾崎	2	♀	側副性炎症性鼻炎	86	95	0.066	0.009	0.057	0.011	0.175	0.7
木村	12	♂	側副性炎症性鼻炎	81	95	0.123	0.022	0.101	0.160	2.650	10.6
大坪	1	♀	側副性炎症性鼻炎	82	97	0.076	0.021	0.055	0.078	1.200	4.8
岡崎	38	♀	側副性炎症性鼻炎	84	99	0.027	0.004	0.023	0.002	0.025	0.1
片山	19	♂	側副性炎症性鼻炎	83	97	0.032	0.009	0.023	0.010	0.250	1.0
佐々木	48	♀	側副性炎症性鼻炎	80	97	0.046	0.013	0.033	0.070	0.250	1.0
野崎	28	♂	側副性炎症性鼻炎	85	99	0.097	0.021	0.076	0.003	0	0
加藤	57	♀	側副性炎症性鼻炎	80	97	0.036	0.009	0.027	0.038	0.600	2.4
山川	34	♂	側副性炎症性鼻炎	83	97	0.032	0.009	0.023	0.065	1.000	4.0
鈴木	1	♀	側副性炎症性鼻炎	82	97	0.036	0.009	0.027	0.073	0.200	0.8
東島	16	♂	側副性炎症性鼻炎	82	95	0.208	0.022	0.186	0.167	2.775	11.1
中元	43	♂	側副性炎症性鼻炎	83	97	0.052	0.013	0.039	0.136	2.175	8.7
工藤	50	♂	側副性炎症性鼻炎	84	93	0.247	0.032	0.215	0.246	4.325	17.3
山川	12	♀	側副性炎症性鼻炎	83	97	0.027	0.009	0.018	0.017	0.275	1.1
高橋	7	♂	側副性炎症性鼻炎	82	97	0.036	0.009	0.027	0.283	5.250	21.0

第8表 対象疾患滲出物の酸性磷酸酵素

名称	年令	性別	診断	T ₁	T ₂	E ₁	E ₂	E _C	E	m/l	単位
伊藤	39	♂	左側副性炎症性鼻炎	48	94	0.348	0.027	0.321	0.269	4.875	19.5
藤村	8	♂	側副性炎症性鼻炎	83	95	0.276	0.022	0.254	0.235	4.050	16.2
大西	10	♀	側副性炎症性鼻炎	82	95	0.372	0.022	0.350	0.336	6.700	26.8
菅原	4	♀	側副性炎症性鼻炎	91	98	0.057	0.009	0.048	0.009	0.150	0.6
藤田	5	♂	側副性炎症性鼻炎	87	93	0.292	0.032	0.260	0.242	4.225	16.9
尾崎	2	♀	側副性炎症性鼻炎	80	95	0.337	0.009	0.328	0.167	2.775	11.1
木村	12	♂	側副性炎症性鼻炎	85	92	0.327	0.036	0.291	0.255	4.550	18.2
大坪	1	♀	側副性炎症性鼻炎	87	97	0.036	0.013	0.023	0.352	7.175	28.7
岡崎	38	♀	側副性炎症性鼻炎	47	86	0.327	0.036	0.291	0.239	4.150	16.6
片山	19	♂	側副性炎症性鼻炎	82	95	0.322	0.032	0.290	0.004	0.075	0.3
佐々木	48	♀	側副性炎症性鼻炎	81	99	0.348	0.032	0.316	0.009	0.150	0.6
野崎	28	♂	側副性炎症性鼻炎	83	97	0.337	0.036	0.301	0.009	0.150	0.6
加藤	57	♀	側副性炎症性鼻炎	84	93	0.348	0.032	0.316	0.407	8.000	36.0
山川	34	♂	側副性炎症性鼻炎	83	97	0.337	0.036	0.301	0.258	4.625	18.5
鈴木	1	♀	側副性炎症性鼻炎	84	93	0.348	0.032	0.316	0.395	8.575	34.3
東島	16	♂	側副性炎症性鼻炎	82	95	0.310	0.032	0.278	0.273	5.000	20.0
中元	43	♂	側副性炎症性鼻炎	83	95	0.310	0.032	0.278	0.147	2.400	9.6
工藤	50	♂	側副性炎症性鼻炎	84	93	0.348	0.032	0.316	0.217	3.700	14.8
山川	12	♀	側副性炎症性鼻炎	83	95	0.310	0.032	0.278	0.213	3.625	14.5
高橋	7	♂	側副性炎症性鼻炎	82	97	0.337	0.036	0.301	0.375	8.875	31.5

B. 実験成績の総括

耳漏のアルカリ性磷酸酵素は26例で1.6~42単位平均22.02単位。成人の中耳カタル穿孔液4例の平均4.68単位でこれは血清の値にほぼ近かつた。酸性磷酸酵素は20例の平均13.1単位で2.8~23.4単位。同一試料では大部分酸性磷酸酵素の方が少ないが3例だけ多いのがあつた。鼻漏のアルカリ性磷酸酵素は20例で7~39.2単位平均19.44単位。酸性磷酸酵素は20例で1.4~15.6単位平均7.94単位で全例において前者より少なかった。対照疾患のアルカリ性磷酸酵素は20例で0~21単位平均5.29単位。酸性磷酸酵素は20例で0.3~36単位平均17.5単位で耳漏及び鼻漏とは異なり前者に比し後者が著明に多かつた。

C. 磷酸酵素と病型との関係

中耳炎耳漏のアルカリ性磷酸酵素は急性型と慢性型との間に著明な差異がある。即ち急性型22例の平均24.1単位に対し慢性型4例の平均10.7単位である。X線写真又は手術所見により確実に乳様突起炎の存在を認めた4例はすべて20単位以上で平均25.8単位であり全体の平均よりも多いが特別な診断的意義は認められなかつた。酸性磷酸酵素は急性型17例の平均13.7単位。慢性型3例の平均9.6単位。乳様突起炎を認めた3例の平均

18.6 単位でアルカリ性磷酸酵素と同様な傾向を示している。

鼻漏のアルカリ性磷酸酵素は副鼻腔炎 15 例の平均 20.7 単位、鼻炎 5 例の平均 15.7 単位でかなりの差を認めるが両者の間には移行型もあり又症例数が少なく決定的な事は云えない。急性型 3 例の平均は 14.1 単位で全体の平均より少なく耳漏とは逆な成績であつた。歯性上顎洞炎 1 例は 18.4 単位で特に著明な増加はみられない。酸性磷酸酵素は急性型 6 例の平均 6.2 単位、慢性型 14 例の平均 8.7 単位で有意義な差はない。

対象疾患分泌物のアルカリ性磷酸酵素は肛門周囲膿瘍、歯性膿瘍、外耳膿瘍にやゝ多いが全体として耳漏及び鼻漏に比して極めて少なく関節穿刺液、脊椎カリエス流注膿瘍には殆んど認められない。これに反し酸性磷酸酵素は関節穿刺液には殆んど認められないがその他においては極めて多く耳漏及び鼻漏の磷酸酵素と反対の分布を示している。

D. 磷酸酵素と年令との関係

中耳炎、副鼻腔炎は粘膜のみならず骨病変を惹起するのでその分泌物中に磷酸酵素を含んでいる事は充分予測された。Robison 等は骨の磷酸酵素は生長期のものには多いが生長したものでは少ない事を指摘しているが著者の成績においても第 9 図、第 10 図に示した如く耳漏及び鼻漏の磷酸酵素の量は年令による差が明瞭である。即ち耳漏では幼少児は年長児よりも多く、鼻漏では学童のものが成人よりも多い。

第 9 図 磷酸酵素と年令との関係
(中耳炎の分泌物)

第 10 図 磷酸酵素と年令との関係
(副鼻腔炎の分泌物)

IV. 考按並に結論

ニトロフェニール磷酸エステル法は簡単に迅速鋭敏な方法である。即ち Bessey 等によればその水解速度はフェニール磷酸塩より 15% 速く、グリセロ磷酸の 2~5 倍、フェニールフタレイン磷酸塩の 25~30 倍も早く而してその発色は明瞭である。しかしその欠点とするところは Seligmann 等が指摘しているように発色の吸収帯が異常血清においてしばしば出合う色素(黄疸溶血等)のそれに接近しているので、酸性化によってフェニールの色調を消してもなお高い吸光度を示し測定に誤差をきたし易い事である。いま一つは反応産物が酵素作用を抑制するために吸光度が酵素濃度に比例する範囲が制限されている事である。著者の実験材料には誤差を生じ易い色素は含有されず又問題となるようなフェニール性物質の混在も認められない。又一定の濃度に稀釈して測定するので酵素濃度の変化とそれによつて生ずる色調の増減が比例する範囲において施行し得る。

1 ニトロフェニール単位とは 1 時間に 1 ml の血清によつて生ずるパラニトロフェニールの mM 数である。Bessey 等は 12 人の健康小児について血清のアルカリ性磷酸酵素を測定し 2.41~5.68 単位の成績を得た。同時に Bodansky 法で測定し 1 ニトロフェニール単位は 1.8 Bodansky 単位に相当するとしている。これは成人血清の 2~3 倍である。又 Hudson 等は健康な 47 人の血清の酸性磷酸酵素を測定し 1~2.3 単位の成績を得、同時に King-Armstrong 法で測定した結果 1 ニトロフェニ

ール単位は 1.55 King-Armstrong 単位に相当すると述べている。著者は成績を比較するために便宜上血清と同一の単位を使用したのであるが炎症性分泌物中に含まれる磷酸酵素は血清に比して極めて多量であつた。

アルカリ性磷酸酵素は骨髄に成長期の骨や骨形成時の骨に多量に含まれており、H.D. Kay は骨の破壊吸収を伴う種々の疾患において血清のアルカリ性磷酸酵素の増加を報告している。従つて著者の研究の目的の一つは高度の骨病変をきたす中耳炎や副鼻腔炎の分泌物中に含まれる磷酸酵素の増減がこれ等疾患の病変の程度に関係するのではないかと云う問題を究明する事であつた。しかしながら磷酸で酵素と病型との関係の項においてのべた如く乳様突起炎や高度の副鼻腔炎の分泌物中に含まれるアルカリ性磷酸酵素は一般に増加の傾向を示すが、病変の軽度なものに比較して特に著明な増加はみられず、又年令的要素が大いに関係しているためこれによつて骨病変の程度を窺知する事はできなかつた。アルカリ性磷酸酵素は耳漏や鼻漏の如き粘膜液性分泌物に極めて多く含まれ他の粘液を含まない分泌物中に少ない事や、成人の脊椎カリエス流注膿瘍の如き骨破壊産物に殆んど含まれていない事は、分泌物中のアルカリ性磷酸酵素の起原が骨のみに存するのではなく大部分は粘膜に存するのではないかと考えられる。最近田中が慢性副鼻腔炎の上顎洞粘膜に組織化学的検索を行いアルカリ性磷酸酵素を証明しているのもこの考えに一致する。

酸性磷酸酵素は耳漏及び鼻漏中にかなり含まれているが同一試料について測定した成績では大部分はアルカリ性磷酸酵素よりも少ない。これに反対象とした他の炎症性産物ではアルカリ性磷酸酵素は極めて少なく全例において酸性磷酸酵素が多く興味ある対照を示している。この事実より考えてみるにアルカリ性磷酸酵素は粘液性成分に多量に含まれ、酸性磷酸酵素は他の滲出性成分に含まれていると思われる。

結論として本文の要旨をまとめれば次の如くである。

1. ニトロフェニール磷酸エステル法を用いて耳漏及び鼻漏の磷酸酵素を測定した。
2. 測定法に対して pH, 温度, 基質濃度等の諸点より検討を加えた。本法による耳漏及び鼻漏のアルカリ性磷酸酵素の至適 pH は 10.4 の前後にあり、酸性磷酸酵素の至適 pH は 4.8 前後であつた。
3. 測定成績をニトロフェニール単位で示すと次の如くである。耳漏のアルカリ性磷酸酵素は 26 例の平均 22 単位、中耳カタル 4 例の平均 4.7 単位、酸性磷酸酵素は 20 例の平均 13.1 単位である。鼻漏のアルカリ性磷酸酵素は 20 例の平均 19.5 単位、酸性酵素は 20 例の平均

7.9 単位である。同一試料では大部分のものはアルカリ性磷酸酵素の方が酸性磷酸酵素よりも多い。

4. 耳漏及び鼻漏の磷酸酵素の増減は必ずしも病変の軽重を示すものではない。年令的制約があるためと考えられる。

5. 対照とした他の炎症性疾患の滲出液あるいは膿汁中のアルカリ性磷酸酵素は 20 例の平均 5.3 単位、酸性磷酸酵素は 20 例の平均 17.5 単位で前二者と相反する成績を得た。

文 献

- 1) 小山: 乳様突起炎診断上膿性質及びその石灰量に就て, *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 16 巻, 5~6 号, 1930.
- 2) 佐藤: 中耳炎の予後判定に関する各種検査法より引用, *耳鼻臨*, 第 32 巻, 第 6 号.
- 3) 古屋: 化膿性中耳炎耳漏のウレアゼ反応に就て, *耳鼻咽*, 第 28 巻, 第 3 号.
- 4) Suzuki, Yoshimura, Takaishi: *Tokyo Imp. Univ. Coll. Agric. Bull.*, 7, 503, 1907.
- 5) E.V. McCollum, E.B. Hart: *J. Biol. Chem.*, 4, 497, 1908.
- 6) Bodansky: *J. Biol. Chem.*, 101, 93, 1933.
- 7) Shinowara, Jones and Reinhardt: The estimation of serum inorganic phosphatase and acid and alkaline phosphatase. *J. Biol. Chem.*, 142, 921, 1942.
- 8) King and Armstrong: *Canad. Med. J.*, 31, 376, 1934.
- 9) Powell and Smith: The determination of serum acid and alkaline phosphatase activity with 4-amino-antipyrine. *J. clin. path.*, 7, 245~248, 1954.
- 10) Bessey, Lowry and Brook: A methode for the rapid determination of alkaline phosphatase with 5 cubic millimeters of serum. *J. Biol. Chem.*, 164, 821~329, 1946.
- 11) King and De'ory: *Biochem. J.*, 33, 1185, 1939.
- 12) Ohmori: *Enzymologia*, 4, 217, 1937.
- 13) Fujita: Ueber die Mikrobestimmung der Blutphosphatase. *J. Biochem.*, 30, 69, 1939.
- 14) Hudson, Brendler and W.W. Scott: A Simple method for the determination of serum acid phosphatase: *J. Urolog.*, 58, 89, 1947.
- 15) K. Ohno: Studien ueber die Blut und Harnphosphatase. *J. Biochem.*, Vol. 33, No. 1.
- 16) 柴田: *臨床病理*, 2, 379, 1954.
- 17) Seligmann, et al.: The colorimetric determination of phosphatases in human serum. *J. Biol. Chem.*, 190, 7, 1951.
- 18) H.D. Kay: Plasma phosphatase. The enzyme in disease, particularly in bone disease. *J. Biol. Chem.*, 89, 249, 1930.
- 19) 田中: 上顎洞粘膜のフォスファターゼ反応, 第 57 回日耳鼻総会.
- 20) H.D. Kay: Plasma Phosphatase. *J. Biol. Chem.*, 89, 235, 1930.
- 21) J. Roche: Blood-phosphatase. *Biochem. J.*, 25, 1724, 1931.

(原稿到着＝昭和 34.5.25 日)