骨疾患に於けるアルカリ性フォスファターゼ のアイソザイムについて

九州大学整形外科教室	天	児	民	和
九州大学中央検査室	永	井	諄	爾
九州大学整形外科教室	真	角	昭	吾
	竹	中	哲	夫
	芳	賀		敏

Iszymes of Alkaline Phosphatase Skeleton Disease (1st Report)

By

T. Amako, J. Nagai, S. Masumi,
T. Takenaka and B. Haga

Department of Orthopedic Surgery, Faculty of
Medicine, Kyushu University

骨疾患や肝疾患におけるアルカリ性フォスファターゼの態度に関しては Robinson 以来関心がむけられ、その診断的重要性は衆知の通りである。従来臨床的には酵素活性の量的変化が検索され、疾患の診断や治療効果、予後判定に供されてきたが、最近各種分画法の進歩にともなつて、同じ反応を触媒する酵素活性をもちながら、アポ酵素蛋白の相異によりいくつかの分画に分けられるということ、即ち酵素の質的分析が注目せられ、乳酸脱水素酵素をはじめ下記の如き多数の酵素についてアソザイムの診断的意義が強調されている。

1. LDH (Lactic dehydrogenase)
2. Transaminase (GOT, GPT)
3. Amylase
4. Leucine aminopeptidase
5. Alkaline phosphatase
6. Acid phosphatase

骨組織には多量のアルカリ性フォスファターゼが存在し、ossification と密な関係をもつて変動している。天児は既に各種骨疾患とくに佝僂病における本酵素の変動を追求し、その診断的重要性を報告しているが、私どもは現在本酵素の態度をアイソザイムの見地より検討を試みつゝある。

未だ研究途上にて明確な解析はえられていないが今日までの結果につき報告する。

試料；

今回は骨疾患、肝疾患々者の血清アルカリ性フォスファターゼ上昇例、腎性佝僂病の尿、骨嚢腫内容液を用いた。いずれも酵素活性を測定の上、冷凍保存し使用する。試料の量は蛋白泳動に 0.005 ml、フォスファターゼに 0.02 ml を用いた。

測定法；

澱粉ゲル電気泳動法により分離する。

1) 泳動装置

Power source Erma Type-5
Erma Electrophoresis Apparatus AE-3

Side View of Electrophoresis Apparatus

図 1

2) Reagents

1. Stock buffer pH 8.8
 Tris (hydroxymethyl) aminomethan 108.9 Gm.
 EDTA-2 Na 7.44 Gm.
 Boric acid 30.92 Gm.
 Distilled water 2 L

2. Gel buffer

Stock buffer + distilled water 1 ; 4

3. Starch

Futaba : Starch-hydrolyzed 14 Gm.
 Gel buffer 100 mL

4. Stain

1. Proteins Amido-black 10B 6 Gm.
 1 : 9 glacial acetic acid
 methanol 1000 Ml
2. ALP. α -Naphthyl acid phosphate 30 mg
 Fast Blue R.R. 80 mg
 Magnesium sulfate 30 mg
 Gel buffer 75 mL

5. Rinse solution

5 % acetic acid

3) 支持体として澱粉ゲルを使用する.

プレートの大きさは 120 mm×20 mm×2 mm

4) 泳動は上記プレート 2枚を 1組として, 2組を同時に 10 mA, 120~140 V で 2時間泳動する.

アルカリ性フォスファターゼの検出には, α -naphthyl phosphate の分解で生じた α -Naphthol を Fast Blue R.R. にて発色させる. その反応時間は 6時間, 現在私どもは一晩放置している. その後水洗, 5 %酢酸で定着, 適当な容器に入れて保存する. 同じ血清を同時に泳動した他の 1枚を Amido-black 10B にて染色し, 蛋白帯と対比してフォスファターゼアイソザイムの位置を決定する.

測定結果 ;

i) 正常者血清

$F\alpha_2$ の部に非常に弱い細い活性帯を認めるのみである.

ii) ビタミン D 欠亡性佝僂病

Alk. P-ase 活性上昇し, レ線所見上も floride の状態にある. β_L に細い弱い活性を示す帯と β より

$F\alpha_2$ にかけて巾の広い強い活性を示す帯との 2本を認めることが出来る.

iii) ビタミン D 抗性佝僂病

腎細尿管における磷酸塩輸送の異常に基づく疾患で, 磷酸再吸収率が非常に低下しているが, 欠亡性佝僂病と同様な 2本の活性帯を認めた.

iv) 腎性佝僂病 "renal rickets"

本患者は諸種検査成績より血清無機磷上昇性糸球体性佝僂病と診断した患者で, Alk. P-ase 44 B.U. を示しているが, β_L に一致して比較的強い活性を示す 1帯と, β より $F\alpha_2$ にかけて巾の広い強い活性を示す分画との 2本を認め, D 欠亡性および D 抗性佝僂病と同様なパターンを示す (図 2 : a).

図 2

v) 腎性佝僂病の尿

前記と同一患者の尿中 Alk. P-ase 分画は血清の場合とは異なり, β_L 分画を認めず, β より $F\alpha_2$ にかけて巾の広い強い活性帯 (佝僂病血清による) とそれに引き続き易動度のより大きい, 細い, 弱い活性帯との計 2本の帯を認めることが出来る.

vi) その他の骨疾患の血清

Alk. P-ase B.U

Wilson 病+佝僂病性変化	15.2
Dysostosis Cleidocranialis	18.0
Paget 病	11.6
Marfan 症候群	17.2

などにおいても前記佝僂病血清と同様な分画所見である。

vii) 骨嚢腫内容液

右上腕骨近位端に生じた骨嚢腫内容液右上腕骨近位端に生じた骨嚢腫内容液を泳動した。Alk. P-ase は

図 3

図 4

図 5

11.8 B.U. である。B_Lに細いが強い活性帯と、βよりFα₂にかけて中の広い強い活性帯の2本を認め、骨疾患血清と同じ所見である(図2:b)。

viii) 肝患血清

B_Lに細い非常に弱い帯と、Fα₂の部分に比較的細い活性帯との2本を認める。図3はCholelithiasis, Alk. P-ase 12.6 B.U.の例である。

以上の結果をまとめると図4, 5の如くなる。

血清；
 正常者——Fα₂部に弱い細い1本。
 佝僂病——β_LとβよりFα₂にかけてその他の2本。後者の活性帯は正常骨疾患に比して巾広く且つ濃い。
 肝疾患——β_LとFα₂附近に細いもの2本。

尿；腎性佝僂病——β~Fα₂部に2本の帯。

嚢腫液；骨疾患と同じパターン。

Alk. P-ase 分画測定法の原理は血清蛋白を一定の方法で分画された Alk. P-ase を特殊の染色法で観察するのであるが、分画法の種類により、また同一の方法——例えば電気泳動法——にてもその支持体の種類、泳動条件、フォスファターゼ検出法によって結果は区々で必ずしも同一の知見はえられていない。

今日までの測定結果では確定的なことは言い難いが、骨性疾患における血清アルカリ性フォスファターゼの増加はβ~Fα₂ A.P.の増量が主で、β_L A.P.も軽度増加する。骨嚢腫内容液の総蛋白量は低下するも蛋白分画は血清のそれに酷似するといわれているが、内容液 Alk. P-ase の分画も骨性疾患における血清と同じパターンを示していた。

私どもの方法ではこのパターンが骨性パターンと考

えてよいのではないかと思う。

また骨疾患、肝疾患においては明らかに易動度の相違がみられ、 $\beta\sim F\alpha_2$ グロブリンに対応するアイソザイムは肝疾患によるものの方が骨疾患のものより易動度が大きいようである。いいかえれば両者の間にはアイソザイムに相違がみられる。このようなパターンの相違によつて血清アルカリ性フォスファターゼの増量が骨疾患によるものか、肝疾患によるものか鑑別できるものと思われる。

元来 Alk. P-ase は骨、肝、小腸、腎に豊富に存在し、血清中のものは之等組織に由来する酵素の混合と考えられる。しかし今回みられた骨、肝疾患におけるパターンの相違はいまだその起原にまではさかのぼり

えていない。症例中、佝僂病性骨変化をきたした重症腎不全例および wilson 病例では腎や肝障害という点で他の結果を期待したのであるが、骨疾患単独の場合と同一結果しか得られなかつた。しかし「腎性佝僂病」の尿 Alk. P-ase 分画は前述の如く異なつていた。この場合 $\beta\sim F\alpha_2$ 部の活性帯は他の骨疾患血清の場合と酷似するが、それより易動度の大きい細い1帯の存在と、 β_L 帯を認めない点の意義は未だはつきりさせえない。今後、骨、腎、肝疾患の併存例につき検討を重ね、また動物実験等により追求してみたいと思う。

未だ緒についたばかりで不満足ながらも今日までの結果を報告する次第である。

最近経験せる頸髄腫瘍の2例

山口医科大学整形外科教室 (主任 服部奨教授)

淵 上 克 己 吉 光 悦 郎
長 井 淳

Two Cases of the Cervical Cord Tumor

By

K. Futigami, E. Yoshimitu
and K. Nagai

Department of Orthopedic Surgery,
Yamaguchi Medical College

緒 言

1889年 Gowers & Horsley により初めて脊髄腫瘍の手術が行なわれ、1922年 Sicard, Forestier は Myelography にてはじめて高位診断を行なつた。以来漸次その数は増加し、本邦では 1935 年前田、岩原は本邦例 65 例を集め、天兒は 1963 年に九大例 106 例の報告をしている。一般に頸髄腫瘍は胸髄腫瘍に比し少ない。われわれは最近上腕神経痛様症状を呈した頸髄腫瘍 2 例を経験したので報告する。

症例 1 28 才 ♀

主訴 両上下肢のシビレ感及び運動障害

現病歴 1 年 6 カ月前より誘因なく左上腕伸展側に放散性疼痛を来し、1 年前より頸椎の運動に際し第

7 頸椎棘突起あたりに疼痛を来す。某医で加療するも効果なく、6 カ月前より左手指から右手指へとシビレ感及び巧緻運動障害が波及、2 カ月前左足部のシビレ感を来し、シビレ感は漸次上行し乳房部まで達す。この頃より歩行障害を来し、伝い歩るきが辛じて可能、軽度の膀胱直腸障害あり。

家族歴及び既往歴 特記すべき事なし。

入院時所見 体格、栄養中等度、胸、腹部臓器には異常なく、頸椎は全方向に運動制限を認める。両上肢の自動運動は高度に障害され、洗顔、衣服の着脱も不能で筋力は高度減弱し、手指の巧緻運動も顕著に障害され、両下肢の自動運動も障害され、歩行は痙性で伝い歩るきが辛じて可能、左上腕三頭筋、二頭筋反射減弱し、両側アキレス腱反射及び膝蓋腱反射は亢進パビ