

# 血清 $\alpha$ -Hydroxybutyrate dehydrogenase 活性に関する研究

金沢大学医学部第二内科学教室(主任 村上元孝教授)

川 岸 一 郎

(昭和42年5月31日受付)

本論文の要旨は昭和41年7月日本肝臓学会第2回総会において発表した。

心筋硬塞, ミオパチー, 肝疾患における酵素学の応用は Wrobléwski の報告<sup>1)</sup>以来, さまざまなもの<sup>2)3)</sup>があるが, 臓器特異性を欠く点からその解釈に難澁することがしばしばある。

Markert<sup>4)</sup>らにより導入された Isozyme の概念により臓器特異性の問題は最近かなり解決されるに至ったが, 操作法が繁雑で, 未だ一般臨床検査室でひろく応用されるには至っていない。

fast moving Lactic dehydrogenase (LDH) fraction との関連で新しく注目を集め始めているものに, いわゆる  $\alpha$ -Hydroxybutyrate dehydrogenase (HBD) がある。1961年 Elliott<sup>5)</sup>らは正常人血清中に  $\alpha$ -ケト酪酸を  $\alpha$ -ヒドロキシ酪酸に還元する酵素が含まれていることを見出し, HBD と名づけた。

以後血清中の HBD 活性についての測定結果は彼ら一派<sup>6)7)8)</sup>の報告に加えて Knottinen<sup>9)</sup>, Pagliaro<sup>10)</sup>の報告が見られるようになった。本邦でも比江島<sup>11)</sup>, 村上<sup>12)</sup>ら及び著者<sup>13)14)15)16)</sup>らの報告があるが, 何分にも臨床的応用がところみられてまだ日も浅く, 未解決の問題が多く残されている。

著者は基質濃度及び反応系に検討を加え, 諸種心疾患, 筋疾患, 肝胆道疾患, 悪性腫瘍, 血液疾患及びその他疾患での血清 HBD 活性を測定し, LDH 活性と比較, 加えて2, 3の動物実験を行ない, その臨床的意義について検討を加えた。

## 実験材料及び実験方法

### I) 実験材料

心疾患84例, 筋疾患45例, 肝胆道疾患166例, 悪性腫瘍192例, 血液疾患36例, 健康人対照30例を含む約800検体について施行した。

採血は早朝空腹時に乾燥注射器で行ない, すみやかに血清分離を行ない, その血清について HBD 活性を測定した。氷室保存1週間以内ではほとんど活性の変動をきたさないが, できるだけすみやかに測定した。

### II) 動物実験

#### (1) 四塩化炭素急性肝障害

10羽の成熟雄家兎に20%四塩化炭素オリブ油溶液を1ml/kg あて腎筋に注射して急性肝障害を作り, 経時的に採血し, 1, 2, 3, 5, 7, 10日目に全採血し, 肝臓片を蒸留水で100倍のホモジネートを作製し, 実験に使用した。

#### (2) Brown-Pearce Tumor 移植実験

Brown-Pearce Tumor の約5倍ホモジネートを2.5~3.0kg の家兎の左右睾丸内に1ml あて注射・移植し, 1~2週毎に採血し, 眼球への転移を目やすに2~4週後に屠殺し, 腹腔臓器への転移を検討し, 肝転移の有無によりA・B2群に分けた。

#### (3) Walker-carcinoma 256 移植実験

Walker-carcinoma 256 の小組織片を100~200g のラットの肝内に移植し, 20日後に屠殺し, 肝臓片を蒸留水で100倍のホモジネートを作製し実験に使用した。

#### (4) 肝細胞内における HBD 活性分布

型の如く0.25M 蔗糖溶液にて10倍ホモジネートを作製し, 800×G・10分間, 8500×G・10分間, 18000×G・60分間遠心し, 核その他, ミトコンドリア, ミクロゾーム及び上清に分画し, 凍融処理を加え, その HBD 活性を測定した。

### III) 酵素活性の測定法

#### (1) HBD の測定法

(原理) HBD は補酵素として reduced Nicoti-

Study of serum  $\alpha$ -Hydroxybutyrate Dehydrogenase Activities. Ichiro Kawagishi, Department of Internal Medicine (II) (Director; Prof. Mototaka Murakami), School of Medicine, Kanazawa University.

namide Adenine Dinucleotide (NADH<sub>2</sub>) の存在下で  $\alpha$ -Ketobutyric Acid を  $\alpha$ -Hydroxybutyric Acid に還元する. 2, 4-Dinitrophenyl Hydrazine の添加によりこの反応は停止し, 残存する  $\alpha$ -Ketobutyric Acid は  $\alpha$ -Ketobutyric Acid Hydrazone となる. この  $\alpha$ -ketobutyric Acid Hydrazone は苛性ソーダの存在で赤褐色を呈し, その呈色強度により未反応の  $\alpha$ -Ketobutyric Acid を定量する. すなわちこの際 HBD 活性は未反応の  $\alpha$ -Ketobutyric Acid の量に逆比例する.

#### 試 薬

##### i) 磷酸緩衝液

Sørensen の磷酸緩衝液 (M/15, pH 7.4)

ii) 基質保存溶液 (0.15 M  $\alpha$ -Ketobutyric Acid 溶液)  $\alpha$ -Ketobutyric Acid 1.86 g を磷酸緩衝液で溶解し, 飽和苛性カリで pH 7.4 に調製した後, 磷酸緩衝液を加え 100 ml とする.

iii) 基質溶液 (1.5 mM  $\alpha$ -ketobutyric Acid 溶液) 基質保存溶液を磷酸緩衝液を用いて 100 倍に希釈する.

iv) reduced Nicotinamide Adenine Dinucleotide ヤマトロン製 NADH<sub>2</sub> 1.0 mg 含有ディスク

v) 呈色試薬 (1 mM 2,4-Dinitrophenyl Hydrazine 溶液)

2,4-Dinitrophenyl Hydrazine 198 mg. 濃塩酸 85 ml を, 蒸溜水で溶解し 100 ml とする.

##### vi) 0.4 N 苛性ソーダ溶液

#### (操 作 法)

約 15 ml の有栓試験管に基質溶液 1.0 ml をとり, 次いで NADH<sub>2</sub> ディスクを 1 枚加えよく振とうし, 37 °C の水浴中で 5 分間加温した後, 血清 0.1 ml を加え, 37 °C 水中にて正確に 1 時間インキュベートする. インキュベーション終了後, 呈色試薬 1.0 ml を加え, よく振とう混和し, 室温にて 20 分間放置し, 0.4 N 苛性ソーダ 10 ml を加え, 10 分後, 蒸溜水を対照としてベックマン分光光度計で波長 490 m $\mu$  で比色, その吸光度を SoD とする.

他に NADH<sub>2</sub> ディスクを加えない血清ブランク (A), 血清のかわりに蒸溜水 0.1 ml を加え, NADH<sub>2</sub> ディスクを加えない基質ブランク (B), 血清のかわりに蒸溜水 0.1 ml を加えた NADH<sub>2</sub> ブランク (C) を作製し, 同様操作で発色し, その吸光度を各々 AoD, BoD, CoD とすると, 酵素反応により減少した  $\alpha$ -Ketobutyric Acid による吸光度の変化は (AoD - SoD) + (CoD - BoD) により求められる.

#### 表 1

標準曲線は表 1 の如く 5 本の試験管に基質溶液の

階稀釈液を作製し, 呈色試薬及び苛性ソーダを加え発色比色し, その吸光度の試験管 No. 1 よりの差を求め, Rosalki らの方法による 25 °C での NADH<sub>2</sub> の変化より算出された単位<sup>17)</sup> (すなわち血清 1 ml により 340 m $\mu$  における NADH<sub>2</sub> の吸光度が毎分 0.001 の減少を示した場合, この HBD 活性を 1 単位/ml と定義し, これは 0.82 国際単位/1 に相当する) との関係プロットして作製した.

#### (2) その他の諸酵素活性の測定法

Glutamic-oxalacetic transaminase (GOT), Glutamic pyruvic transaminase (GPT) は Reitman-Frankel 法<sup>18)</sup>, Cholinesterase (ChE) は Michel のガラス電極 pH メータ法<sup>19)</sup> の高橋・柴田の変法<sup>20)</sup>, Alkaline phosphatase (AIP) は Bessey-Lowry 法<sup>21)</sup>, Lactic dehydrogenase (LDH) は Berger-Broida 法<sup>22)</sup> に準じ施行した.

表 1

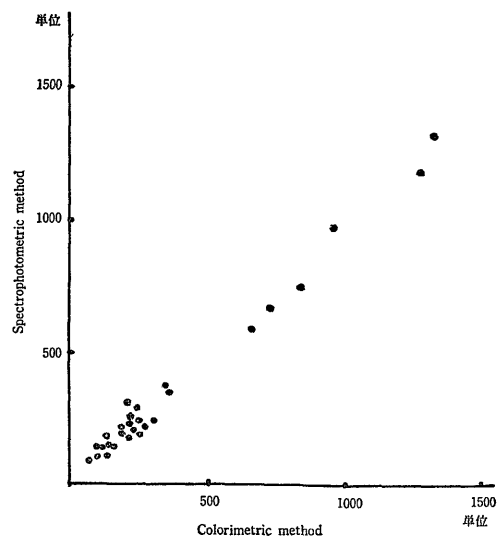
試験管 No.	基質液	蒸溜水	HBD 単位/ml
1	1.0 ml	0.1 ml	0
2	0.8	0.3	111
3	0.6	0.5	239
4	0.4	0.7	384
5	0.2	0.9	651

#### 実 験 成 績

##### 1) 測定法に関する検討

(1) Elliott, Wilkinson らの紫外外部吸収法との間には図 1 の如く相関関係が認められた.

1 図



(2) 基質濃度は 1.5 mM に Peak を有し以後 3, 4, mM と濃度の上昇とともに活性阻害が認められた。

(3) 2, 4-Dinitrophenyl Hydrazine 溶液濃度は 1 mM と 2 mM では酵素活性差はなく, 1 mM で充分に反応を停止し得るため 1 mM を採用した。

#### (4) 金属イオンの影響

表 2 に示す如く  $\text{Co}^{++}$  添加では 0.01 M で 20% の賦活性を示し,  $\text{Ca}^{++}$  は 0.01 M で約 30% の阻害をきたし  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  は余り影響を及ぼさなかった。

#### 2) ヒト臓器内 HBD 活性及び LDH 活性量, HBD/LDH 比

臓器内 HBD 活性量は表 3 に示す如く心筋内に最も多く次いで腎, 肝, 骨格筋, 赤血球の順に多く含まれ, LDH 活性量は心筋内に最も多く次いで肝, 腎, 骨格筋, 赤血球に多く含有され, HBD/LDH 比は心筋では高く, 肝, 骨格筋では低いのが特徴的である。

#### 正常肝細胞内 HBD 活性分布 (ヒト)

表 4 に示す如く HBD は上清中に最も多く活性が認められ (45.9%), 細胞膜, 細胞核その他, ミトコンドリア, ミクロゾーム分画中にはそれぞれ同程度の活性が認められた。

#### 3) 臨床成績

##### (1) 正常人の血清 HBD 活性値

正常男女それぞれ 15 例の血清 HBD 活性値を表 5 に示す。男子では 68~205 u 平均 148.2  $\pm$  31.4 u, 女子では 70~239 u, 平均 189.5  $\pm$  56.3 u, 女子の平均値がわずかに高値を示すが, 有意の差を認めないため男女 30 例の平均値をもとに 292 u (平均値 + 3Sd) までを正常とし, 584 u (正常上限  $\times$  2) までを軽度上昇, 876 u (正常上限  $\times$  3) までを中等度上昇, それ以上を高度上昇とした。

##### (2) 心疾患の血清 HBD 活性

###### i) 新鮮心筋硬塞

臨床的及び心電図所見上明らかに心筋硬塞と診断した新鮮心筋硬塞 17 例では発作後 15~20 時間目より血清 HBD 活性は上昇し, 24~48 時間目に最高値を示し,

表 2 金属イオンによる活性変化

添加した金属イオン	HBD 活性
(-)	271
$\text{CoCl}_2$ (0.01 M)	332
$\text{CuCl}_2$ (0.01 M)	273
$\text{MgCl}_2$ (0.01 M)	266
$\text{CaCl}_2$ (0.01 M)	193

図 2 の如く 352~1920 u, 平均 1031.2  $\pm$  435.0 u と全例上昇を示し, 中等度上昇 5 例, 高度上昇 9 例を認め, 同時に測定した血清 LDH は 488~3600 u, 平均 1419.0  $\pm$  612.0 u で 16 例中 14 例上昇を認め, うち中等度上昇 4 例, 高度上昇 9 例であった。同時に測定した血清 GOT もまた 16 例中 14 例に上昇を認めた。

経過を追って測定すると, 血清 HBD 活性は図 3 の如く発作後 24~48 時間目に最高値を示し, 再度の硬塞発作をきたさず順調な経過を示す症例では, 10 日目ないし 17 日目に正常化する。

一方血清 GOT, LDH 活性の経時的変化を示すと図 4, 5 の如くであるが, それぞれ 3~5 日目及び, 7~14 日目に正常化を示している。図 6 は後壁硬塞の 1 例である。

血清 HBD 活性の上昇と心筋硬塞のひろがりとの関係については, 硬塞診断の有力な手がかりとなる心電図所見とは, はっきりした関係は認め難く, 比較所見に乏しい。中間症候群で高度上昇を示すものもある。

表 3 ヒト臓器内 HBD 活性及び LDH 活性量, HBD/LDH 比

	HBD	LDH	HBD/LDH
心筋	170,800	213,500	0.80
腎	121,080	154,240	0.79
骨格筋	64,290	146,120	0.44
肝	69,080	168,490	0.40
赤血球	44,070	121,200	0.36

表 4 正常肝細胞内 HBD 活性分布 (ヒト)

	HBD 活性	百分率
細胞膜・細胞核等	65,000 <sup>u/gw.w.</sup>	18.5
ミトコンドリア	65,000	18.5
ミクロゾーム	60,000	17.1
上清	161,000	45.9

表 5 正常人の血清 HBD 活性値

	例数	活性	平均値 $\pm$ Sd
男子	15	68~205	148.2 $\pm$ 31.4
女子	15	70~237	189.5 $\pm$ 56.3
計	30		154.2 $\pm$ 45.8

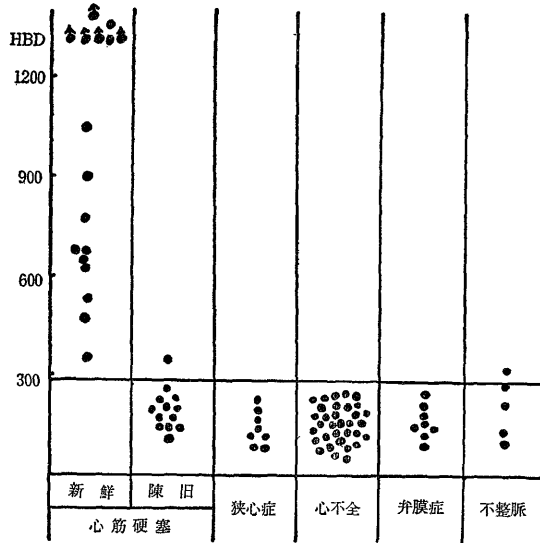
ii) 陳旧性心筋硬塞

最近、胸部疼痛などの硬塞発作を認めず、心電図所見にて、Q及び冠性Tを認めた13例の陳旧性心筋硬塞では図2に示す如く、1例にのみ340uと軽度上昇

を示して、他はいずれも正常値を示し、平均  $204.5 \pm 70.7$  u, LDHも全例正常値を示して平均  $346.2 \pm 85.0$  uであった。

iii) 狭心症8例、心不全33例、代償性弁膜症8例、

図 2



3 図

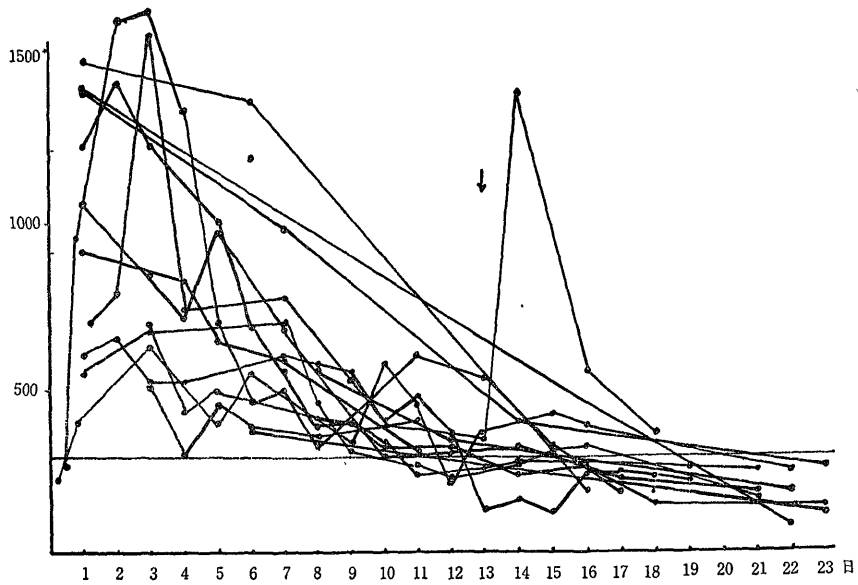


図 4

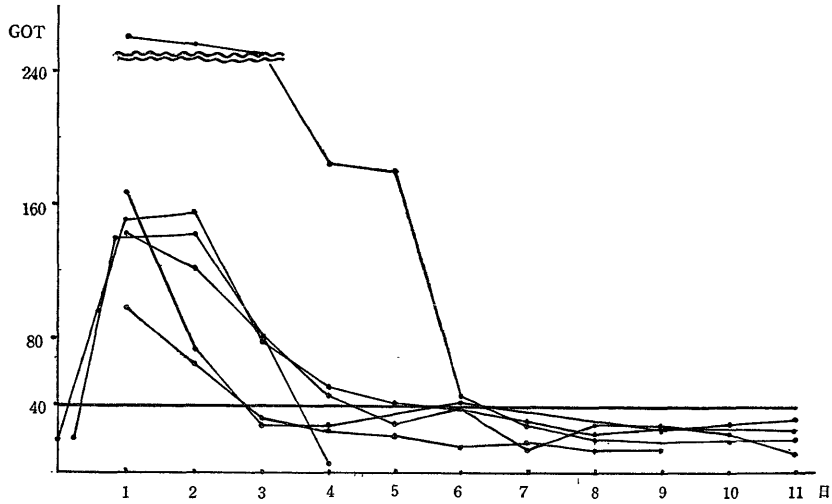
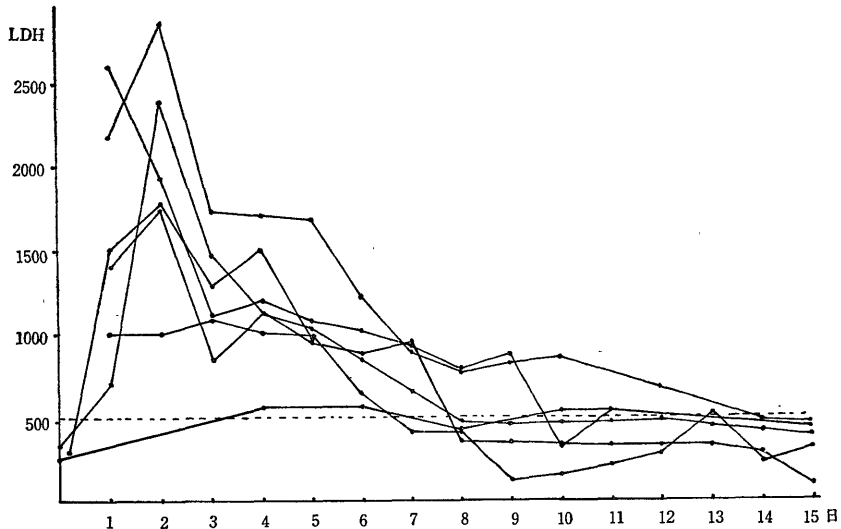


図 5



刺激伝導障害 5 例では、ほとんど全例正常値を示し、刺激伝導障害の 1 例にのみ 320 u と軽度上昇を示した。同時に測定した LDH は心不全の 1 例、刺激伝導障害の 2 例に軽度上昇を認め、GOT も LDH 同様の動きを示した。

(4) 各種筋疾患の血清 HBD 活性

i) 進行性筋ジストロフィー (Walton, Nattrass の分類による)

a) Duchenne 型 5 例の Duchenne 型では 462~1380 u といずれも上昇し、同時に測定した LDH 活性も 760~2100 u と全例上昇、GOT は 5 例に 85~220 u と上昇を示した。

b) Limb-girdle 型 1 例の Limb-girdle 型では

経過を追って観察すると 190~345 u ではほぼ正常値を示し、LDH も 263~564 u、GOT は 20~46 u、GPT 17~25 u とほぼ正常範囲内であった。

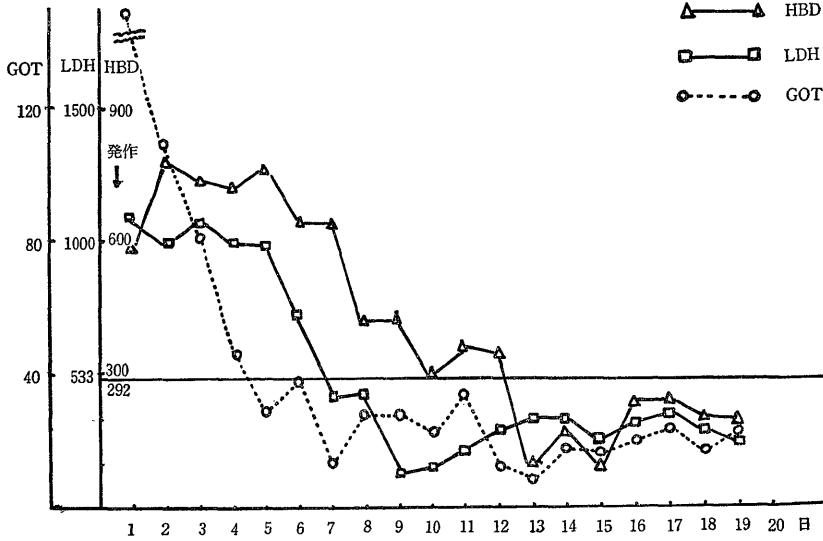
c) Facio-scapulo humeral 型 2 例の Facio-scapulo humeral 型では 81~393 u、同時に測定した LDH、GOT はいずれも正常値を示し、GPT は 1 例のみ一過性に 63 u と軽度上昇を認めた。

Limb-girdle 型とするには問題を残す、型不詳の 2 例では軽度上昇を認めた。

ii) その他の筋疾患及び膠原病

筋硬直性ジストロフィー 1 例、慢性多発性筋炎 1 例、慢性皮膚筋炎 2 例、重症筋無力症 1 例、腎炎治療中に出現したクロロキンミオパチー 1 例、甲状腺機能亢進

図 6



症に合併した四肢麻痺 1 例，鞏皮症 1 例，エリトマトーデス 1 例ではいずれも正常値を示し，先天性筋硬直症，慢性皮膚筋炎の増悪期のもの 1 例，Von Gierke 病 1 例，高アルドステロン症を伴った四肢麻痺 1 例では軽度上昇を認めた。

iii) 神経筋疾患

脊髄性進行性筋萎縮症 4 例，筋萎縮性側索硬化症 1 例，急性前灰白脊髄炎 1 例ではいずれも正常値を示した。

(5) 各種肝疾患の血清 HBD 活性

i) 急性肝炎

27例の急性肝炎では図7の如く 53~332 u で平均 199.4±77.5 u で1例のみ軽度上昇を示した。同時に

測定した LDH 活性は27例中14例に上昇を示し，うち軽度10例，中等度3例，高度1例を認め，GOT 及び GPT は全例に上昇を認めた。

他の諸酵素活性と同時測定した1例を図8に示したが，HBD は初期に軽度の上昇を示しているが，症状改善とともに LDH 及び GOT, GPT と平行して低下している。その上昇度が軽度なためすみやかに正常域に低下する。

急性肝炎における HBD と LDH との関係は  $r = +0.84$  と正の相関々係がみられ，HBD と GPT との相関係数  $r = +0.23$  であった。

ii) 細胆管性肝炎

5例の細胆管性肝炎では図7に示す如く，1例のみ軽度上昇を認め，同時に測定した LDH は4例に軽度上昇を認め，AIPは全例上昇，うち1例が中等度の上昇，GOT, GPT は全例いずれも上昇を示した。

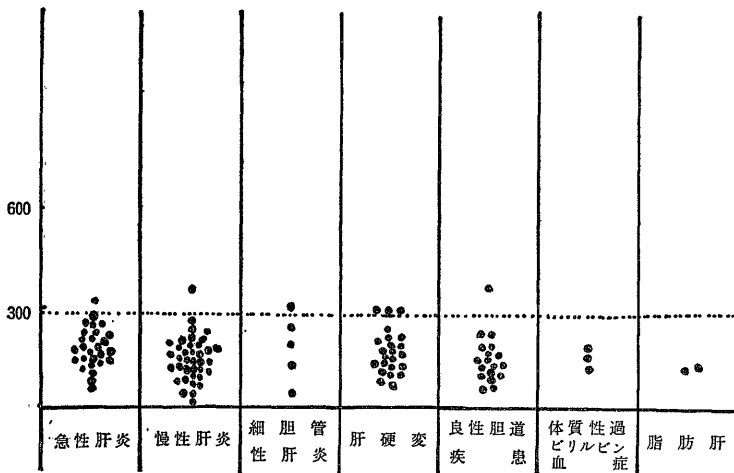
iii) その他の肝疾患

慢性肝炎37例中1例，1例のヘモクロマトーゼを含む肝硬変症23例では3例にのみ軽度上昇を示し，ほとんどの例では正常値を示した，Dubin-Johnson 症候群1例，Girbert 病2例ではいずれも正常域内にあった。

iv) 良性胆道疾患

胆嚢炎12例，胆石症6例では

図 7



1例のみ軽度上昇を示し、他の例ではいずれも正常値を示した。

(6) 各種悪性腫瘍の血性 HBD 活性

i) 原発性肝癌

13例の原発性肝癌では図9に示す如く 91~4550 u 平均 794  $\pm$  418.0 u, うち軽度上昇4例, 中等度上昇3例, 高度上昇2例を認め、同時に測定した LDH は 134~7360 u 平均 573  $\pm$  328.5 u であり HBD と LDH とはともに上昇をみる例が多い。

ii) 転移性肝癌

手術及び剖検により確認した16例の転移性肝癌では図9に示す如く 112~1585u 平均 378.0  $\pm$  336.0 u であり、同時に測定した LDH は 200~2550 u, 平均 726.5  $\pm$  145.8 u であった。

図10は転移性肝癌の1例を示したもので LDH, GOT の上昇に比較して HBD の動きはすくなく、全経過を通じて軽度上昇を示した。転移性肝癌における HBD と LDH との関係は相関係数  $r = +0.98$  でかなりはっきりした相関関係がみられた。

iii) その他の悪腫瘍

乳癌, 上顎癌, 子宮癌, 甲状腺癌, 直腸癌のそれぞれ2例では正常値を示し、胆道癌4例中

1例, 膀胱癌2例中4例, 胃癌71例6例, 肺癌11例中2例, 脳腫瘍11例中1例, 及び横行結腸癌1例, 食道癌2例, 腎癌3例で軽度上昇を示し、他はすべて正常値を示した。肺癌では一般に上昇しないが、比較的早期よりミオパチーを伴った1例では 550 u を示し LDH は 1040 u であった。

(7) 諸種血液疾患の血清 HBD 活性

i) 白血病

急性骨髄性白血病10例では図11に示す如く7例に上昇を認め、中等度、高度上昇をそれぞれ2例に認め、同時に測定した LDH は10例中6例, GPT は6例中3例, GOT は6例中2例に上昇を認め、ChE は6例中3例に低下をみた。

図 8

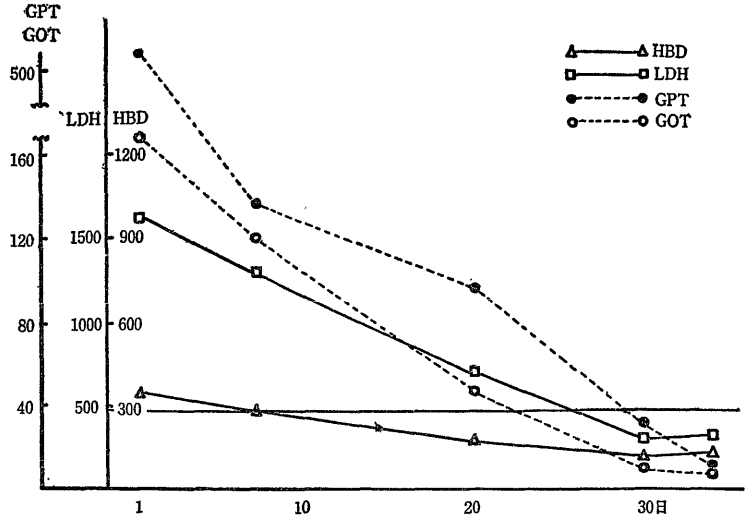
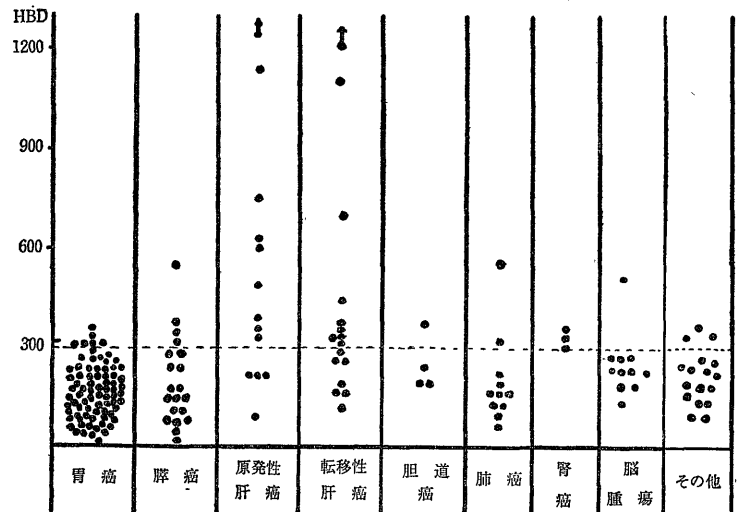


図 9



慢性骨髄性白血病2例では1例に中等度上昇を認めた。

図12は急性骨髄性白血病の1例であるが末梢白血球数, 骨髄芽球%の増減とともに HBD, LDH の活性変動を認めた。

ii) ホジキン氏病

ホジキン氏病の2例では軽度上昇を示した。

iii) 骨髄腫

3例の骨髄腫では全例正常値を示した。

iv) 貧血

鉄欠乏性貧血及び失血性貧血のそれぞれ2例ではいずれも正常値を示し、2例の後天性溶血性貧血では、その寛解期においてはいずれも正常値を示し、1例の

図 10

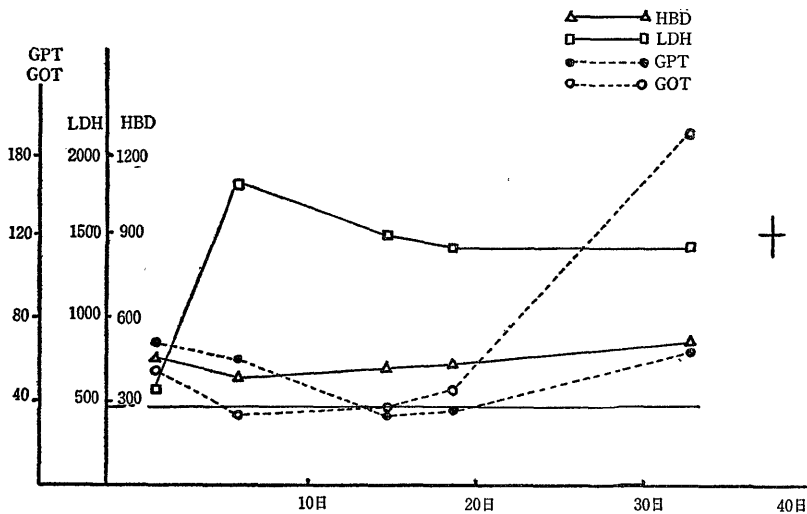
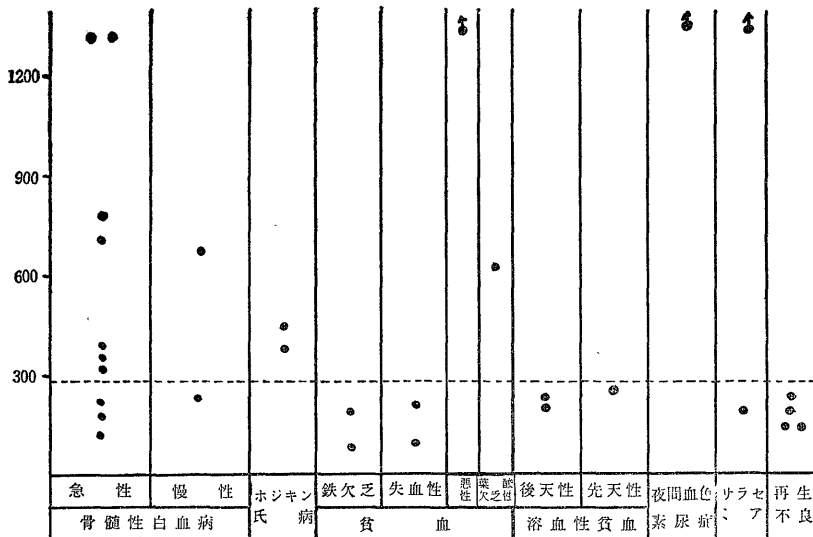


図 11



遺伝性球状赤血球性貧血でもクリーゼを認めない時期では正常値を示した。1例の発作性夜間血色素尿症では発作を認めない時期においても高度上昇を示した。2例の *Thalassemia* では1例に高度上昇を認めた。4例の再生不良性貧血ではいずれも正常、1例の悪性貧血では高度上昇を示し、LDHも高度上昇、ChEは高度低下、GOT、GPTは正常値を認めた。葉酸欠乏性貧血の1例では中等度上昇を認め、LDHは高度上昇を示し、ChEは高度低下をみたが、GOT、GPTは正常値を示した。

血友病A、Bのそれぞれ1例ではいずれも正常値を示した。

(8) その他諸種疾の血清 HBD 活性

胃腸疾患(26)、腎疾患(24)、内分泌疾患(27)、膠原病(筋炎、皮膚筋炎を除く)(22例)、妊婦(6)を主とする諸種疾患 242例については表6に示す如く 236例(97.5%)が正常値を示し、6例(2.5%)に軽度上昇を認めた。

4) 動物実験成績

(1) 未処置対照

6羽の未処置成熟雄家兎血清の活性は 71~121 u, 平均 102.0 ± 20.5 u であった。

(2) 四塩化炭素急性肝障害

図13に示す如く血清 HBD 活性は 1~2日目に最高



表6 その他諸種疾患の血清 HBD 活性

	例数	活性	-	±	+	平均値±Sd
胃腸疾患	26	29~270	26	0	0	
腎疾患	24	70~276	24	0	0	
内分泌疾患	27	45~345	26	0	1	
膠原病(筋炎・皮膚筋炎を除く)	22	48~300	21	0	1	
妊婦	6	130~210	6	0	0	
その他	137	10~305	133	2	2	
計	242	10~305	236	2	4	184.6±55.0

値を示し、5~7日目に正常値に低下した。肝ホモジネート活性減少は1日目に最高を示し、経時的に回復し、10日目にほぼ旧値に復帰した。

これを他の諸種酵素活性とともにその変動をみると、GPT, GOT, LDH の上昇に比し、HBD の上昇は軽度であるが、それらと平行して低下を示している。

(3) Brown-Pearce Tumor 移植実験

図15に示す如くA群: 肝転移を認めないもの8羽では HBD, LDH ともに軽度上昇を認めた。B群: 肝転移を認められるもの2羽では正常平均値の3倍、

図 12

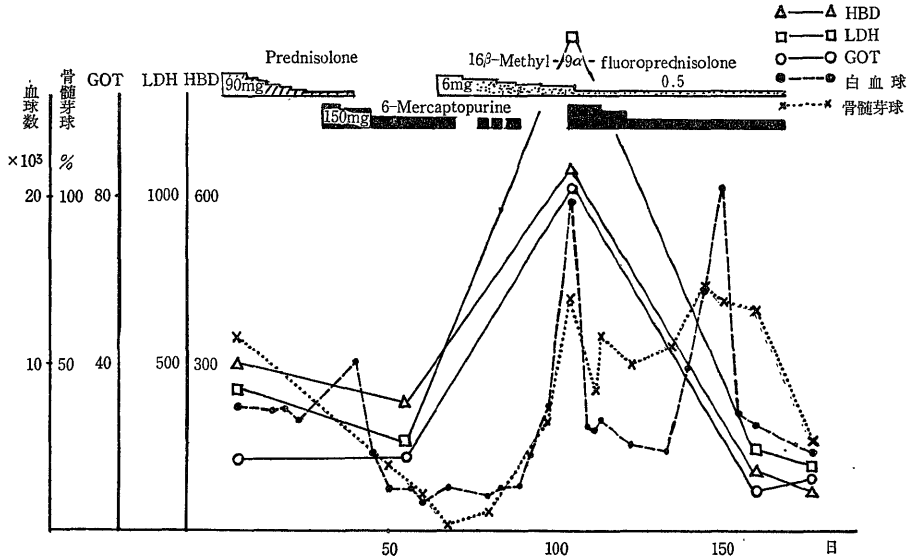
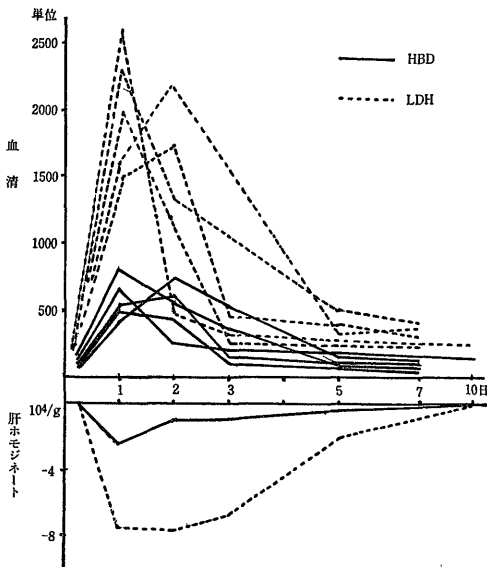


図 13



LDH は4倍の上昇をみた。

(4) Walker-carcinosarcoma 256 (8匹)

図16に示す如く HBD は正常平均値の約3倍の活性上昇を示し、LDH は正常平均値の約4倍の活性上昇を示した。

(5) 癌組織内 HBD 活性

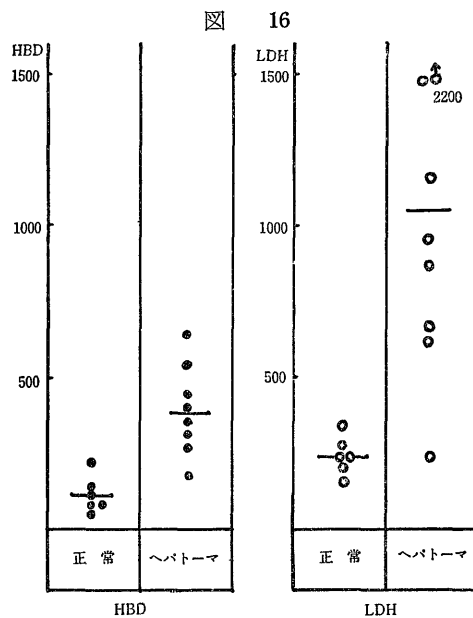
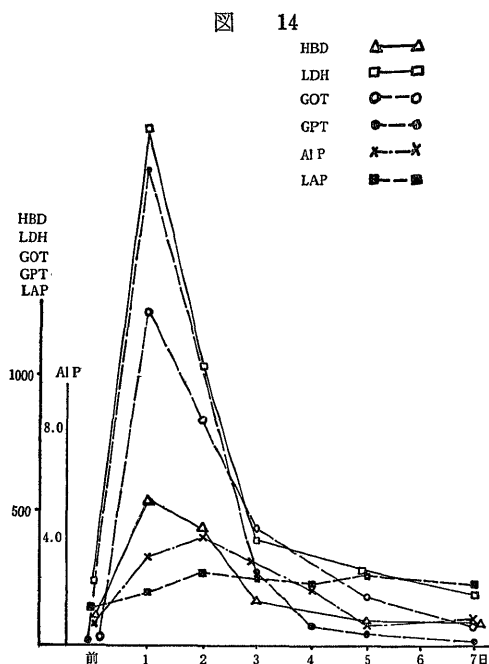
表7に示す如く健常組織と癌組織周辺部との間にはほとんど活性差はなく、癌組織内では活性量はやや低値を示した。

5) 血清 HBD 活性と血清 LDH 活性との関係

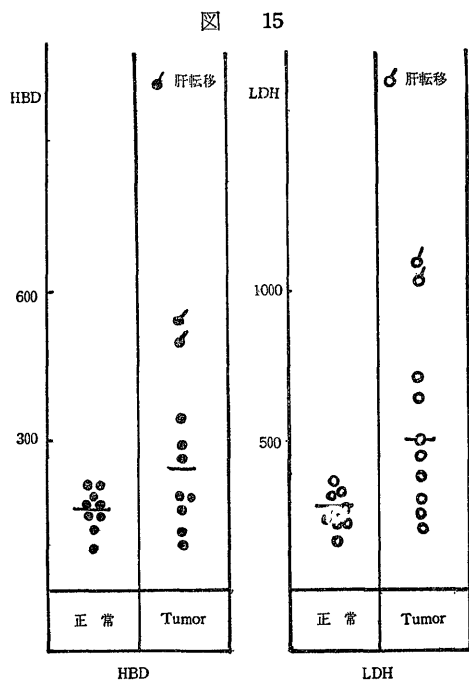
図17に LDH との関係を示したが、1%以下の危険

表7 癌組織内 HBD 活性

	Brown-Pearce Tumor	ヒト肝癌
	u/gw.w.	u/gw.w.
健常肝組織	109,400	64,200
癌組織周辺部	104,800	63,100
癌組織	79,000	36,600



総括ならびに考察



率で相関係数  $r = +0.86$  と正の相関々係を示した。

6) 各種疾患における HBD/LDH 比

各種疾患における臓器特異性を推定する手段<sup>5)</sup>として HBD/LDH 比をみたが、わずかに急性肝炎では、正常例に比較して低い傾向を示し新鮮心筋硬塞では高い傾向がみられるようである。(図18)

HBD は補酵素として還元 Nicotinamide Adenine Dinucleotide(DPNH<sub>2</sub>) の存在下で  $\alpha$ -ketobutyrate を  $\alpha$ -Hydroxybutyrate に還元する 酵素であり心、腎、赤血球、骨核筋、肝、肺、胎盤に含有されている<sup>8)</sup>。本酵素は Elliott, Wilkinson らが 1961年  $\alpha$ -Hydroxybutyrate dehydrogenase (HBD) と命名し<sup>5)</sup>、ヒト血清中の活性を測定し、心筋硬塞症で上昇することを報告した<sup>5) 6) 7)</sup>。その測定法は Elliott, Wilkinson らの紫外線吸収法<sup>5)</sup>のほかに Rosalki らの Dinitrophenyl Hydrazine を用いた呈色法があり<sup>17)</sup>、著者はこれら両法を検討し、両者がほぼ平行する成績を得たので、測定法としては若干の問題を有するとも考えられるが臨床的には充分役立ちうると考え比較的操の簡単な呈色法を採用した。

健常男女それぞれ15例計30例の平均値は 154.2 u で諸家の報告とほぼ一致した値を得た。この平均値に標準偏差の3倍を加え、正常限界を 292 u としそれ以上を上昇とした。

心筋硬塞の酵素学的診断は1954年[La Due<sup>23)</sup> らが、血清 GOT 値の上昇を報告して以来、諸種酵素について検討がなされ、血清 GOT の測定は臨床にひろく応用されている。血清 GOT の上昇は高率に早期にみられ、3~5日目にすみやかに正常化し、著者の成績も諸家の成績と全く一致している。一方血清 LDH の上昇も早期にみられるが GOT よりもわずかに遅れて正常化し、Hamolsky<sup>24)</sup> らは発作後 12~24 時間で上昇

図 17

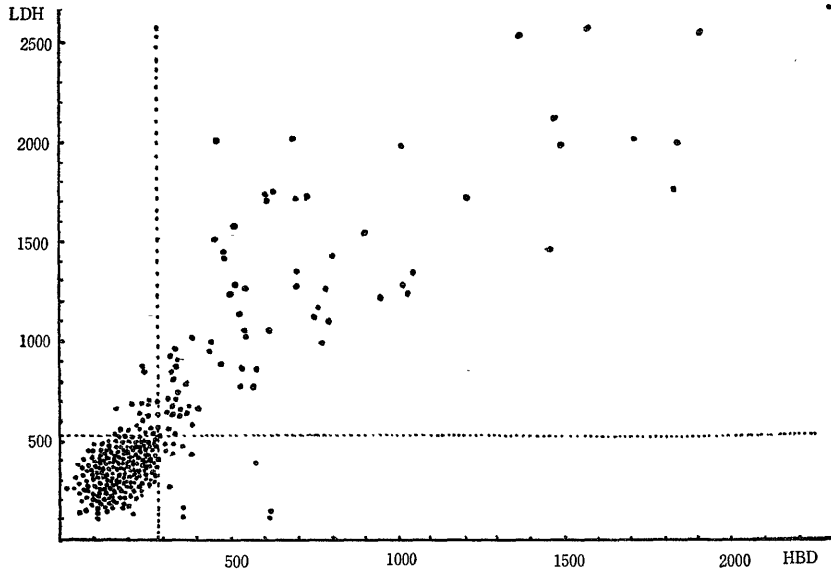
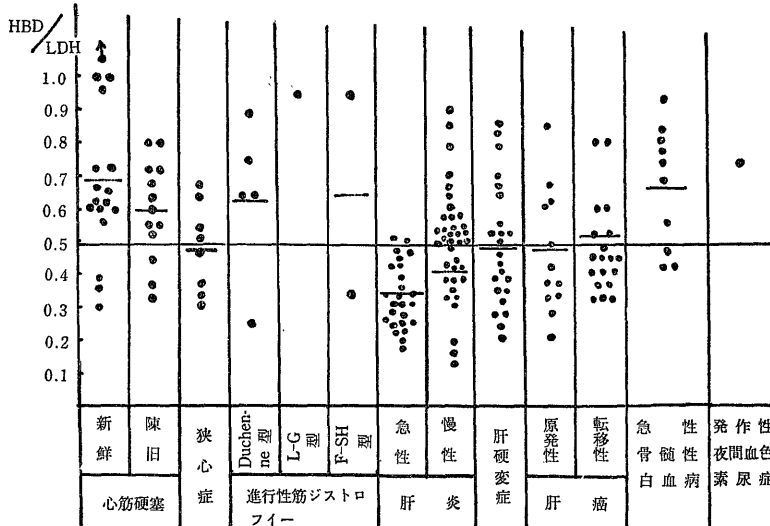


図 18



を認め、正常に復するまでに8~14日を要したと報告しているが、著者も諸家の報告と同じく7~14日目に正常化を認めた。心筋硬塞発作における血清LDH活性の上昇は、血清GOT活性同様、ほとんど100%に近いが<sup>25)</sup>両酵素がいずれも、他の諸種疾患時においても上昇するという。その非特異性の点ですくならぬ問題を残している。

新鮮心筋硬塞における血清HBD活性の上昇は血清GOT活性、血清LDH活性の上昇よりも高率に認めることはElliott, Wilkinson<sup>5)</sup>の報告以来諸家<sup>7) 8)</sup>

9) 10), 26)の一致した成績であるが、著者の得た成績でも血清HBD活性の上昇率は100%で、血清GOT、血清LDH活性の上昇率85%に比較し高率であった。なおその上昇は発作後15~20時間目より上昇して大多数24~48時間目に活性のpeakを認め、1例に86時間目にpeakを認めたものもあったが、ほぼPagliaro<sup>10), 26)</sup>らの報告に一致し、Rosalki<sup>27)</sup>らも72時間目にpeakを認めたものもあると報告している。

血清HBD活性は血清GOT、LDH活性に比しゆるやかな下降を示し、10~17日目に正常化し、血清

GOT 活性の3～5日目、血清 LDH 活性の7～14日目に比し正常値まで下降するに要する日数が長く、この点に関しては発作後、比較的日時を経過した症例で血清 GOT が正常化した後で、かつ心電図所見に乏しいものでは本酵素活性測定のもつ臨床診断的手段としての価値は極めて高いものといえる。

活性上昇の程度と硬塞の予後との関係について Rosalki, Wilkinson<sup>27)</sup> は 750 IU/L で50%の死亡率を認めたと報告しているが、著者の成績では高度上昇 876 u (422 IU/L) 以上を示す9例中1例が死亡している。

陳旧性心筋硬塞では新しい発作を起さないかぎりほぼ全例正常値を示した。

狭心症における酵素活性の変動は心筋硬塞との鑑別診断という点で極めて重要であるが、Elliott<sup>5)</sup>, Knottinen<sup>28)</sup> らの報告と同様、著者の成績でも8例の狭心症ではいずれも正常値を示した。

心不全では Pagliaro<sup>10)</sup> らはわずかな上昇をみたし報告しているが、著者の例はいずれも正常値を示し、血清 Transaminase 活性の上昇をみる症例でも、いずれも正常値を示した。

心筋硬塞発作時の血清 HBD 活性の上昇機転については不明の点が多いが、ヒト心筋では、HBD はミトコンドリア、ミクロゾーム分画に比較し、上清中に最も多く、45.9%含有されることより、細胞壊死及び、おそらく細胞膜の透過性亢進による酵素遊出が原因と考えられる。

筋疾患の生化学的検索は主としてクレアチン、クレアチニン代謝を中心に行なわれてきたが、1949年 Sibley, Lehninger<sup>29)</sup> らが進行性筋ジストロフィー症 (DMP) 患者血清 Aldlase 活性の上昇を報告して以来酵素学的研究がなされるにいたった。

DMP のうちでも Duchenne 型では他の Limb-girdle 型、Facio-scapulo humeral 型に較べ Creatine phosphokinase<sup>30) 31) 32) 33) 34) 35) 36)</sup>, GOT, GPT<sup>35)</sup>, Aldlase, LDH 活性の上昇が報告<sup>35)</sup>されているが、血清 HBD 活性は著者の成績でも Duchenne 型では上昇を示し、Elliott<sup>6) 7)</sup> Rosalki<sup>27)</sup>, Preston<sup>35)</sup> らの結果と一致する。

1例の Limb-girdle 型では正常ないし軽度上昇を認め2例の Facio-scapulo humeral 型では正常及び軽度上昇を示した。

すなわち Duchenne 型では血清 HBD 活性は100%上昇するのに対し Limb-girdle 型、Facio-scapulo humeral 型では血清 LDH, GOT 活性と同じく正常に近い値を示した。

筋疾患における血清 HBD 活性の上昇機序については不詳であるが Zierler<sup>36)</sup> はマウスの遺伝性筋ジストロフィー症の筋肉について、血清酵素の増加は筋細胞膜の透過性の亢進が原因であると考え、Pearson<sup>37)</sup> は血清酵素の増加は sarcoplasmic constituent の流出によるものと報告している。

筋強直性ジストロフィー症では血清 HBD 活性は常に正常値を示し、血清 GOT, GPT 活性もまた正常範囲内にあり、Thomson<sup>34)</sup> Pearson<sup>38)</sup> らもまた血清 Transaminase 活性の上昇しないことを報告している。

1例の先天性筋強直症では血清 HBD 活清は正常ないしわずかな上昇を示し、血清 GOT, GPT 活性は Thomson<sup>34)</sup> らの報告の如く正常値を示した。慢性多発性筋炎1例、慢性皮膚炎ではいずれも正常値を示した脊髄性進行性筋萎縮症では全例正常値を示した。

肝疾患における血清 HBD 活性は Rosalki が colorimetric method を発表<sup>17)</sup> して以後多くの報告をみるようになった。急性肝炎における血清 HBD 活性はほとんど上昇せず、Elliott, Wilkinson<sup>5)</sup> らの成績と一致した結果を得、その上昇率は3.7%と低く、血清 HBD 活性の変動は正常範囲内にとどまり、血清 LDH 活性とかなりはっきりした相関関係が認められた。

四塩化炭素急性肝障害家兎の肝ホモジネート中の HBD 及び LDH 活性は、血清 HBD, LDH 活性の上昇を示す初期に低下し、血清 HBD 活性、血清 LDH 活性の低下とともに経時的に正常値に回復し、いわゆる鏡像を認めたことから、血清 HBD 活性の上昇は血清 LDH 活性と同じく肝細胞よりの逸脱も一つの因子と考えられるが、血清 HBD 活性は急性肝炎の重症度とは関係がないようであり、劇症肝炎においても正常値を示した。

HBD 活性は total LDH 活性よりも、fast moving LDH fraction とより高い相関関係を示す<sup>13) 16)</sup> ことから LDH<sub>5</sub> が主として上昇する急性肝炎においては、HBD は LDH ほど著明な上昇がみられないことが、特徴的な pattern であるといえる。

これは Elliott, Wilkinson<sup>5)</sup> が LDH/HBD 比の著明な上昇が肝炎の特徴とする報告と一致する。

慢性肝炎及び肝硬変症では、その活動性、非活動性にかかわらず、おおむね正常であり、わずかに60例中4例、6.8%に上昇をみたにすぎず、Schneider<sup>39) 5)</sup> らの報告とはほぼ一致する。

その他の肝胆道疾患、胆石症、胆のう炎、Girbert 病 Dubin-Johnson 症候群、脂肪肝においてははい

ずれも上昇を認めなかった。

癌患者における血清 LDH 活性の上昇は Hill<sup>40)</sup> をはじめとし、多くの報告がある<sup>41) 42)</sup>。

13例の原発性肝癌については9例の上昇を示し、うち軽度上昇4例、中等度上昇3例、高度上昇2例を認め、16例の転移性肝癌では9例の上昇を示し軽度上昇6例、中等度上昇1例、高度上昇2例を認め、同時に測定した LDH 活性も HBD 活性と同率の上昇をみた。

このように原発性及び転移性肝癌では LDH とともに上昇する点、胃癌及び膵癌などの悪性腫瘍及び前述の諸種肝疾患と大いに異なる点である。GPT は原発性、転移性肝癌29例中9例、GOT は29例中19例に軽度上昇を認め、ChE は29例中27例に低下を認めた。原発性肝癌及び転移性肝癌における HBD 活性の上昇率は余り高くないため、それほど有力な診断手段となり得ないが、悪性腫瘍及び肝硬変症における活性の上昇はかなりの信頼度で肝転移及び肝癌を疑うことができる。

血液疾患では白血病で上昇した例が多くみられ、急性骨髄性白血病で治療効果による末梢血中白血球の減少とともに血清 LDH 活性が低下することが認められているが、血清 HBD 活性も末梢血中の白血球数、骨髓芽球パーセントの減少と並行した低下を認めた。

一方 Hill<sup>43)</sup> らは血清 LDH 活性の動きについては逆の成績を報告している。

ホジキン氏病及び骨髄腫については、これまでの報告<sup>44)</sup>の如く正常値を示した。

貧血のうち、発作時期にない発作性夜間血色素尿症、Thalassemia、Vitamine B<sub>12</sub> 欠乏性悪性貧血、葉酸欠乏性貧血では活性の上昇を認め、クリーゼを認めない後天性溶血性貧血及び遺伝性球形赤血球性溶血性貧血、鉄欠乏性貧血、失血性貧血、再生不良性貧血では正常値を示した。

家兎の Brown-Pearce Tumor の移植実験では、肝転移を認めない群では正常に較べわずかの上昇を認め、肝転移をきたした群では高度上昇を示した。

ラットの Walker-carcinoma 256 の実験では血清 HBD 活清は肝転移例では正常ラットの約3倍の上昇を認めた。これらの成績は臨床例とよく一致している。

血清 HBD 活性の上昇をみたヒト肝癌、Brown-Pearce Tumor の肝転移部分、Walker-carcinoma 256 の肝組織の活性量は正常部分及び癌組織周辺部活性に比較してやや低く、なお担癌ヒト肝内活性は正常ヒト肝内活性に比較して有意の差は認めなかった。

最後に HBD と LDH との関係について少しく考察を加えると、本酵素は LDH と割合密接な相関々係を有し、HBD の上昇はほぼ全例に LDH の上昇を伴い、小數例についての LDH 及び HBD Isozyme の検討では沢木<sup>45)</sup>らの説く如く、同一部位に5本の活性帯を認めること<sup>46)</sup>、加熱処理、その他の処理に対しても類似の態度を示すこと<sup>46)</sup>などから、Wilkinson らの説く如く、LDH と全く別の酵素とするには未だ問題が多く、更に検討を加える余地が多いと考えられる。

## 結 論

心疾患84例、筋及び神経筋疾患45例、肝胆道疾患166例、悪性腫瘍192例、白血病を含む血液疾患36例その他諸種疾患242例について血清  $\alpha$ -Hydroxybutyrate dehydrogenase (SHBD) 活性を測定し、若干の動物実験を行ない次の結果を得た。

(1) 新鮮心筋梗塞17例では全例に上昇を認め、血清 GOT よりもその上昇率は大きく、血清 GOT、血清 LDH よりも上昇期間が長期にわたり、血清 GOT、血清 LDH が他疾患でも上昇するのに反し、比較的特異的であり、その診断的意義は大きいと考えられる。

(2) 狭心症、陈旧性心筋梗塞及び心不全ではほとんどの例で上昇を認めない。

(3) 筋疾患では進行性筋ジストロフィー症の Duchenne 型5例全例に上昇を示し、Facio-scapulo humeral 型2例中1例、Limb-girdle 型の1例では軽度上昇を認めた。

(4) その他の筋疾患では上昇を認めなかった。

(5) 急性肝炎ではほとんど上昇を認めなかった。

(6) 慢性肝炎、細胆管性肝炎、肝硬変症及び胆道疾患ではごく一部に軽度上昇をみた。

(7) 原発性及び転移性肝癌では高率に血清 LDH 活性とともに高度上昇を認めた。

(8) 胃癌、膵癌、胆道癌、肺癌、腎癌及び脳腫瘍ではほとんど上昇を認めなかった。

(9) 白血病、悪性貧血では高度上昇を認めた。

(10) その他の疾患ではほとんど上昇を認めなかった。

(11) ヒト諸臓器の HBD 活性は心筋内に最も多く、次いで腎、骨格筋、肝、赤血球に多く認められた。

(12) 四塩化炭素肝障害家兎における血清 HBD 活性は初期においてわずかな上昇を認めた。

(13) Brown-Pearce Tumor 移植家兎では血清

HBD 活性はわずかに上昇し、肝転移をみるものでは高度上昇を認めた。

(14) Walker-carcinoma 256 の肝内移植ラットの血清 HBD 活性は高度上昇を認めた。

なお稿を終るに臨み、御指導と御校閲を賜りました恩師村上教授に深甚の謝意を捧げるとともに、終始御助言と御協力を頂いた泊博士、小原博士、八木博士、北島学士、故加藤学士、平沢学士、篠崎学士に謝意を表します。

## 文 献

- 1) La Due, J. S., Wroblewski, F., Farman, A. : Science, 120, 497 (1954).
- 2) Chinsky, M., Wolff, R. J., Sherry, S. : (1957) Am. J. med. Sci. 233, 400
- 3) Dewar, H. A., Rowell, N. R., Smith, A. J. : (1958). Brit. med. J. 2, (1121).
- 4) Markert, C. L. Møller, F. : Proc. Nat. Acad. sci., 45, 753 (1959).
- 5) Elliott, B. A., Wilkinson, J. H. : Lancet, 1, : 698 (1961).
- 6) Elliott, B. A., Wilkinson, J. H. : Lancet, 1043 (1962).
- 7) Elliott, B. A., Jepson, E. M., Wilkinson, J. H. : Clin. Sci. 23, 305 (1962).
- 8) Rosalki, S. B. : Clin. Chem. acta, 8, 415 (1963).
- 9) Knottinen, A., Halonen, P. I. : Am. J. card. 10, 525 (1962).
- 10) Pagliaro, L., Natarbartolo, A. : Lancet. 1043, 1963.
- 11) 比江島一昌・村上春雄・安田雍年・土屋 滋・椎名 晋 : 日本臨床, 第23巻, 第4号, 151, 1965.
- 12) 村上春雄 : 日本内科学雑誌, 第54巻, 第10号, 1147, 1966.
- 13) 村上元孝・小原 修・八木泰夫・川岸一郎・北島千代吉・加藤 公・泊 康男 : 日本消化器病学会雑誌, 第62巻, 第11号 1130 (1965).
- 14) 村上元孝・小原 修・八木泰夫・川岸一郎・北島千代吉・加藤 公 : 日本癌病学会記事 (第24回総会, 昭和40年10月), 1965.
- 15) 村上元孝・小原修・八木泰夫・川岸一郎・北島千代吉・平沢謙太郎 : 日本消化器病学会雑誌, 第63巻, 第10号, 1179, 1966.
- 16) 村上元孝・小原 修・八木泰夫・川岸一郎・北島千代吉・平沢謙太郎・篠崎公秀 : 日本肝臓学会第2回総会講演 (昭和41年7月).
- 17) S. B. Rosalki : J. Clin. path. 15, 566 (1962).
- 18) Reitman, S., Frankel, S. : Am. J. Clin. 28, 56 (1957).
- 19) Michel H. D. : J. Lab. Clin. med, 34, 1565 (1951).
- 20) 高橋 浩・柴田進 : 医学と生物学, 20, 96 (1951).
- 21) Bessy O. A., Lowry O. H., Brock M. J., : J. Biol. Chem, 164, 321 (1946).
- 22) L. Berger, D. Broida, : Sigma Technical Bulletin, No. 500 (1960).
- 23) J. S. La Due, F. Wroblewski, : Circulation, 11, 871 (1955).
- 24) M. W. Hamolsky, N. O. Kaplan. : Circulation, 23, 102 (1961).
- 25) P. J. Snodgrass, W. E. C. Wacker, E. C. Eppinger, B. L. Valee : New Engl. med, 261, 1259 (1959).
- 26) J. Stuart, I. C. Crawford, J. Forshall, J. A. Owen : Brit. med. J. 1, 428 (1965).
- 27) S. B. Rosalki, J. H. Wilkinson. : J. A. M. A. 189, 61 (1964).
- 28) Knottinen, A., Lancet : 2, 556 (1961).
- 29) Sibley, J. A., Lehninger, A. L. : J. Nat. cancer Inst., 9, 303 (1949).
- 30) S. M. Aronson, B. W. Volk. : Am. J. Med., 22, 414 (1957).
- 31) J. H. Evans, R. W. Baker. : Brain, 80, 557 (1957).
- 32) G. Schapira, J. C. Breyfus, J. Schapira, J. Kruh : Am. J. phys. med., 34, 313 (1955).
- 33) 杉田秀夫 : 精神神経学会雑誌, 62, 106 (1960).
- 34) W. H. S. Thomson, P. Leyburn, J. N. Walton : Brit. med. J. 2, 1276 (1960).
- 35) Preston, J. A., Batsakis, J. G. Briere, R. O. : Am. J. Clin. patho., 41, 237 (1964).
- 36) K. L. Zierler. : Bull. Johns Hopkins Hosp. 102, 17 (1958).
- 37) C. M. Pearson, : Brain, 85, 109 (1962).
- 38) C. M., Pearson, : New Engl. J. med., 256, 1069 (1957).
- 39) K. W. Schneider, F. G. Lehmann, G. Hornung. : Med. Kein. 60, (1965).
- 40) B. R. Hill, C. Levi, : Cancer Res. 14, 513 (1954).
- 41) R. J. Erksan, D. R. Morales : New Engl. J. med. 265, 478 (1961).
- 42) J. L. Sung. : Gastroenter., 42, 580 (1962).
- 43) B. R. Hill. : Cancer Res., 16, 460 (1956).
- 44) B. A. Elliott, J. H. Wilkinson : Clin. Sci 24, 343 (1963).
- 45) 沢木脩二・福村亮・林 優・辻 稔・服部尚興 : 医学のあゆみ, 第51巻, 第12号, 643 (1964).
- 46) 川岸一郎 : 未発表.

## Abstract

Serum  $\alpha$ -Hydroxybutyrate dehydrogenase (SHBD) activities were determined in 84 cases of heart diseases, 45 cases of muscle and neuromuscle diseases, 166 cases of hepatobiliary diseases, 192 cases of malignant diseases, 36 cases of blood diseases including leukemia, and 242 cases of miscellaneous diseases.

Some animal experiments were also included in the study. The results were summarized as follows.

1) SHBD was increased in all of 17 cases of acute myocardial infarction. In this disease the increase of SHBD was much more pronounced and persisted longer than other enzymes such as SGOT and SLDH. Because of the relative superiorities of this enzyme in specificity and sensitivity over SGOT and SLDH, it was postulated that the estimation of SHBD would be of more assistance in diagnosing acute myocardial infarction.

2) No increase in SHBD activities was found in angina pectoris, old myocardial infarction and most cardiac failures.

3) Increased levels in SHBD activities, to less extent than in acute myocardial infarction, were detected also in all of 5 cases of progressive muscular dystrophy of Duchenne type but only slight increases of the enzyme activities were observed in 1 out of 2 cases of Facio-scapulo humeral type, 1 case of limb-girdle type.

4) No significant change in SHBD activities was found in other muscle diseases.

5) No significant increase in SHBD activities was observed in acute hepatitis.

6) Slight increases in SHBD activities were detected in some of the cases of chronic hepatitis, cholangiolitic hepatitis, liver cirrhosis, and diseases of the biliary tract.

7) Marked increases in SHBD activities were found with concomitant increases of SLDH in most cases of primary and metastatic liver tumors.

8) In most cases of cancer (gastric, pancreatic, renal, biliary tract, lung), and brain tumor, SHBD activities were in normal range.

9) Significant increases in SHBD activities were observed in cases of leukemia, and megaloblastic anemia.

10) No significant change in SHBD activities was observed in the group of miscellaneous diseases.

11) The study of tissue distribution of HBD in humans demonstrated the highest activity in cardiac muscle, the second highest one in kidney and the following ones in skeletal muscle, liver and red blood cells.

12) Slight increases in SHBD activities were detected in the early stage of liver injury induced by carbon tetrachloride in the rabbit.

13) SHBD activities were slightly increased in the rabbits with Brown-Pearce tumor transplanted without liver metastasis while those were remarkably increased in the animals with liver metastasis.

14) SHBD activities were remarkably increased in the rat liver with Walker-carcinosarcoma 256 transplanted.

## 図表説明

図1 : Colorimetric method と Spectrophotometric method との関係

図2 : 心疾患における HBD

図3 : 心筋硬塞における HBD

図4 : 心筋硬塞における GOT

図5 : 心筋硬塞における LDH

図6 : 心筋硬塞

図7 : 肝胆道疾患における HBD

- 図8 : 急性肝炎  
図9 : 悪性腫瘍における HBD  
図10 : 転移性肝癌  
図11 : 血液疾患における HBD  
図12 : 急性骨髄性白血病  
図13 : 四塩化炭素急性肝障害の HBD, LDH  
図14 : 四塩化炭素急性肝障害の血清諸酵素活性  
図15 : Brown-Pearce Tumor (家兎)  
図16 : Walker-carcinosarcoma 256 の血清 HBD, LDH  
図17 : HBD と LDH  
図18 : 各種疾患の HBD/LDH 比