

## 母豚のクレアチンホスホキナーゼの簡易測定手技

誌名	日本獣医師会雑誌 = Journal of the Japan Veterinary Medical Association
ISSN	04466454
著者	印牧, 信行 大井, 宗孝 紫野, 正雄
巻/号	41巻6号
掲載ページ	p. 436-438
発行年月	1988年6月

## 母豚のクレアチンホスホキナーゼの簡易測定手技

印牧信行\* 大井宗孝\* 紫野正雄\* 福岡秀雄\* 小方宗次\* 松浦健二\*

(昭和 63 年 4 月 15 日受理)

## A Simple Method for Measuring Plasma Creatine Phosphokinase Activity in Sows

NOBUYUKI KANEMAKI, MUNETAKA OHOI, MASAO SHINO, HIDEO FUKUOKA,  
MUNETSUGU OGATA and KENJI MATSUURA (School of Veterinary Medicine,  
Azabu University, Sagami-hara, Kanagawa 229)

## SUMMARY

The plasma creatine phosphokinase (CPK) activities were measured in 46 sows easily and safely, with a portable centrifuge and a new chemistry analyzer (Seralyzer), which utilizes quantitative dry reagents and a reflectance photometer. A conventional wet chemistry analyzer (RaBA Super) was used as a control for the Seralyzer. Blood samples were collected from the coccygeal vein into heparinized capillary tubes for the portable centrifuge and into heparinized syringes for the control samples. The correlation between Seralyzer and RaBA Super was higher ( $r=0.969$ ), in comparison with the plasma CPK values in control samples. The coefficient of correlation was  $r=0.854$  between plasma obtained from the capillary tubes and syringes when using the Seralyzer, and the coefficient of correlation was  $r=0.806$  between plasma collected in the capillary tubes when using the Seralyzer and plasma collected in syringes when using the RaBA Super, when the CPK activities obtained were compared.

## 要 約

ストール内に飼育されている 46 頭の母豚について、CPK を測定した。すなわち、まず無保定で尾静脈穿刺により採血し、携帯用血漿分離器（コンプルー M 1100）で血漿を得た。次いで固相化学分析機器（セラライザー）を用いた血漿 CPK 値を測定した。また、穿刺採血直前に注射器採血で得た血漿を対照採取血漿とし、セラライザーと同時に RaBA Super でも測定した。その結果、対照血漿を用いたセラライザーと RaBA Super との CPK 値の相関は、 $r=0.969$  であった。セラライザーで測定した本手技による血漿と対照血漿との CPK 値の相関は、 $r=0.854$  であった。また、本手技による測定値と対照血漿を RaBA Super で測定した値との相関は、 $r=0.806$  であった。

簡易採血による豚クレアチンホスホキナーゼ（以下、CPK と略す）の測定法として、耳静脈からの濾紙採血を用いた Antonik CPK 法がすでに知られている<sup>5,6)</sup>。しかし、この方法は、おもな測定適用週齢が 3 から 10 週齢で、成豚では採血時の保定にやや手間どる難がある。また、CPK の測定に際しても、外部の検査センターに測定依頼しなければならない欠点がある。そこで、野外における豚の CPK 活性値の測定を携帯用血漿分離器と固相化学分析 (Dry Chemistry) とを導入して検討した。

ストール内に飼育されている母豚、46 頭を用い、正中尾静脈への注射針穿刺による毛細管採血で採血ならびに血漿分離を行った。すなわち、注射針の刺入方法を白

\* 麻布大学獣医学部（神奈川県相模原市淵野辺 1-17-71）

井ら<sup>10)</sup>に準じ、無保定のまま、注射針〔21 G・5/8" (0.80 × 16 mm)、テルモ製〕を正中尾静脈に刺入して出血させ、血漿分離用毛細管 (60  $\mu$ l、マイルス三共製) で採血した。なお、静脈血の有無は、あらかじめ上述の注射針にヘパリン加ディスポ注射器 (2.5 ml) を装着しておき、血管刺入時の注射器内吸引血液の色調から判定した。毛細管血液はただちに血漿分離用遠心器 (コンプルー M 1100、マイルス三共製) で遠心分離した。次いで毛細管内の血球成分をカッターで切断除去した後、毛細管の両端をネスコフィルム (日本商事製) で封じ、血漿を得た。分離血漿は検査室に持ち込むまでクーラー・ボックス内 (約 4°C) で保存した。対照の血漿には、注射器内吸引血液を検査室で遠心分離して得た血漿を用いた。

CPK 測定のための固相化学分析機器として、セラライザー

(マイルス三共製)を用いた。サンプル調製は、直接毛細管から血漿 20  $\mu$ l を小試験管に目盛りきマイクロピペット (ドラモンド製) で分注し、蒸留水で 9 倍希釈した。この希釈溶液 30  $\mu$ l をセラライザー CPK (CK) 試験紙に滴下し、セラライザーにて CPK 活性値を測定した。対照測定機器として、セラライザーと測定の基本反応系

(ロサルキー変法)が同じの RaBA Super (中外製薬製)を用いた。

まず、対照の血漿を用いてセラライザーによる測定値と RaBA Super による測定値とを比較した (図 1)。その結果、両者の測定値の相関は高く、相関係数 0.969 であった。しかし、回帰式  $y=58.92+2.59x$  ( $x$ : RaBA Super,  $y$ : セラライザー) と、セラライザーによる測定値が、RaBA Super の測定値より高い傾向を示した。毛細管採血と注射器採血の両血液についてセラライザーによる測定値の相関を図 2 に示した。相関係数は、0.854 であった。また、毛細管採血によるセラライザーの測定値と注射器採血による RaBA Super の測定値との相関は、相関係数 0.806 であった (図 3)。

本実験での採血手技は、尾静脈への穿刺血液を毛細管に採取して行った。尾採血法は、採血技術と止血にやや難があるが、無保定で、豚のストレス事故の危険度が小さく、また採血術者の事故も少ないと報告されている<sup>3,10</sup>。そこで、今回の手技は、採血ストレスの軽減ができ、CPK 測定値の正確さが高められるものと推測された。また、採取血液が静脈血であるかどうかは、注射針に装着した注射器内の吸引血液の色調で判定したが、穿刺直後の毛細管採取血液の色調でも判定可能であった。

最近、獣医臨床で検体量が微量で、かつ試薬の調製、キュベット、インキュベーターが不要である Dry Chemistry<sup>12)</sup>を用いた報告がみられる<sup>9,11,13)</sup>。この種の機器は、今回の採血手技で得た血漿量でも測定可能であった。豚 CPK のセラライザーでの値は、対照測定機器でのそれと相関係数 0.969 と高い相関を示した。しかし、測定値が対照機器の測定値より高い傾向にあったことは、犬、猫、牛での報告<sup>13)</sup>と同様であった。これは、基質濃度、SH 酵素の賦活剤、その他測定条件の違いによるものとみられた<sup>1,2,7,8)</sup>。また、毛細管採血によるセラライザーの測定値と注射器採血による測定値との相関係数は、セラライザーに対し、 $r=0.854$ 、RaBA Super に対し  $r=0.806$  となり、やや低値を示した。この原因は、注射器採血における血漿分離手技に起因したものと考えられた。すなわち、毛細管採血より得た血漿はほとんど溶血せず、溶血しても微量であったのに対し、注射器採血の場合、採血時から血漿分離までに時間を要するため、豚赤血球が溶血し、検体中のヘモグロビン濃度に比例して CPK 測定値が上昇したものと考えられた<sup>1,2,4,8)</sup>。

引用文献

- 1) 千々岩武夫, 大田尚弘, 浜崎利彦: 機器・試薬, 8, 655~659 (1985).
- 2) 遠藤憲幸, 日暮一美, 林 康之: 機器・試薬, 6, 688~693 (1983).
- 3) 橋本 史, 山田皓之, 福田由美子: 日獣会誌, 38,

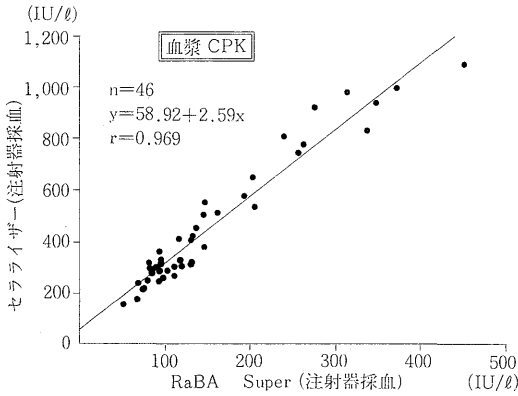


図 1 セラライザーと RaBA Super との相関

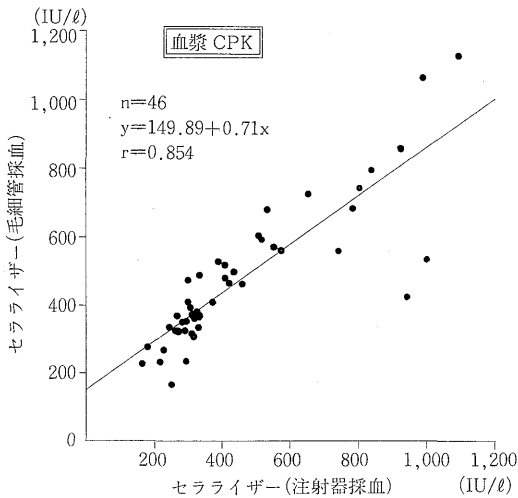


図 2 毛細管採血と注射器採血(セラライザー)との相関

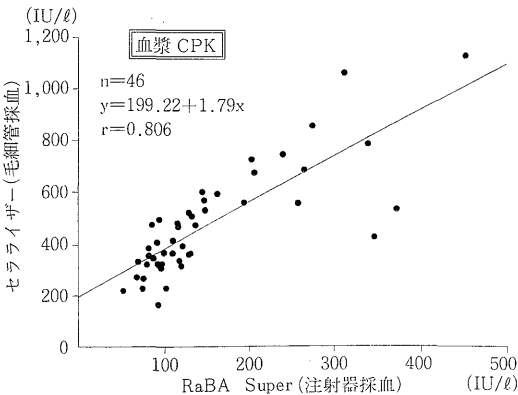


図 3 毛細管採血と注射器採血 (RaBA Super) との相関

- 314~316 (1985).
- 4) LEMAN, A. D., STRAW, B., GLOCK, R. D., et al.: *Diseases of Swine*, 6th ed., 27~35, Iowa State University Press, Iowa. (1986).
- 5) MABRY, J. W., CHRISTIAN, L. L., KUHLLERS, D. L., et al.: *J. Hered.*, 74, 23~26 (1983).
- 6) 松原利光, CHRISTIAN, L. L., ANTONIK, S. & A.: 月豚研誌, 16(2), 192 (1979).
- 7) 岡部紘明: 検査と技術, 6, 32~39 (1981).
- 8) 斎藤正行, 埴 勇至, 高橋加代子, ほか: 機器・試薬, 6, 397~404 (1983).
- 9) 沢村 寛: 小動物臨床, 5(5), 80~87 (1986).
- 10) 白井保次郎, 瀬戸 繁, 井沢 清, ほか: 日獣会誌, 40, 203~205 (1987).
- 11) 白水完治, 阿武雅夫: 山口獣医学雑誌, 12, 85~88 (1985).
- 12) 末広雅也: 臨床検査, 11 (6), 496~505 (1983).
- 13) 安田 準, 戸尾祺明彦: 小動物臨床, 4 (3), 25~32 (1985).

《海外文献要録》

赤血球膜：構造、機能および病態生理学

Erythrocytes Membrane: Structure, Function, and Pathophysiology  
J. E. SMITH: *Vet. Pathol.*, 24, 471~476 (1987).

本論文は、不適環境下における赤血球の膜構造と機能、およびその病態生理学的変化についての総説である。

赤血球膜の構造と機能に関しては、タンパク質を含む脂質2分子層および脂質2分子層下に存在する細線維状ネットワークである細胞骨格について、凝血系、物質輸送機構との関わりとともに論ぜられている。

赤血球の病態生理学に関しては、脂質2分子層に影響を及ぼす化学物質と、酸化作用を持つ化学物質について解説されている。前者は脂質2分子層に蓄積する化学物質であり、その蓄積部位により2型の赤血球、すなわち、

針状突起を持つ有棘赤血球 (echinocyte) とカップ型の口唇状赤血球 (stomatocytes) が認められると述べられている。後者は酸化剤であり、酸化ストレスが、酸化ヘモグロビンと赤血球膜タンパク質の化合物であるハインツ小体形成に関与していることが解説されている。また、酸化作用は細胞骨格に対して高分子化を惹起し、赤血球の変形能と膜の柔軟性が傷害され、その結果、赤血球寿命が短縮し、しばしば溶血性貧血の原因となることも記述されている。

(日本獣医師会雑誌編集委員会)

《海外文献要録》

マエデービスナ病の病理発生

Pathogenesis of Maedi-visna  
M. DAWSON: *Vet. Rec.*, 120, 451~454 (1987).

Maedi-visna ウイルス感染は、大部分の例がサブクリニカルで、持続性ウイルスキャリアーであることを特徴とする。しかし、重度の感染群では、経済的に損耗を来たす疾病となりうる。その明らかなものとして、老齢雌羊の発育障害と慢性呼吸器病が (maedi), また、哺乳仔羊の体重増加遅延をもたらす硬結性乳房炎がある。さらに、髄膜脳炎 (visna) や関節炎も起こることがある。maedi-visna ウイルスは、lentivirus 群の1つであるが、循環血液中の単球内と組織のマクロファージ内で、RNA ゲノムの1次プロウイルスである介在 DNA の複製を経

て増殖する。しかし、前者の単球内でのウイルス増殖は高度に制限され、後者の組織マクロファージでのウイルスゲノムの表現は一層明らかである。肺、乳腺、関節、中枢神経系組織において、細胞表面にウイルス抗原を持つマクロファージの出現は、限局性単核性細胞反応を引き起こす刺激になっているようである。このほか、本論文では、マクロファージの活性や、炎症反応を引き起こす因子について、ウイルスの複製、伝播、宿主の感受性と関連づけて考察されている。

(日本獣医師会雑誌編集委員会)