

ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動法を用いたラット血清アルカリホスファターゼ(ALP)アイソザイム分析の毒性試験への適用

○ 西原 義人¹, 畠山 和久^{1,2}, 中野 貴成², 菰田 ニー² (1ボゾリサーチセンター・御殿場研究所、²埼玉医科大学・生化学)

【目的】市販のヒト用ポリアクリルアミドゲル ALP アイソザイム分析キットを、毒性試験で頻繁に使用されるラットの血清に適用し、各 ALP アイソザイムの同定を試みた。さらに、本法を一般毒性試験の対照動物に適用し、加齢と各 ALP アイソザイムの変動について検討した。**【材料及び方法】**ALP 活性は生化学自動分析装置(東芝 TBA-120FR)で、p-NPP を基質とした市販の試薬キット(シカリキッド ALP : JSCC、関東化学)を用いて測定した。ポリアクリルアミドゲルディスク電気泳動は市販のキット(アルフォー、常光)を用い取扱説明書に従った条件(定電流 3 mA/ゲル 80 分、インジゴブルー染色 120 分)で実施した。骨 ALP アイソザイムを分離するため、血清はノイラミニダーゼ(ALP セパレーター、ヘレナ研究所)で前処理した。血清 ALP アイソザイムの由来を明らかにするため、抗骨 ALP 抗体、抗小腸 ALP 抗体、及び肝、骨及び小腸から抽出した臓器 ALP を使用した。ラット血清(8、10、19 及び 32 週齢)はボゾリサーチセンターで実施した毒性試験の対照動物(Crj:CD(SD) IGS、チャールスリバー)から収集した。**【結果及び考察】**血清のノイラミニダーゼ処理により主に 4 つのバンドがみられ、陽極側からそれぞれ肝、小腸、骨及び高分子型小腸 ALP であると示唆された。ラット毒性試験の対照動物の総 ALP 活性(約 16 時間絶食)は、♂ > ♀ で、8 から 19 週齢まで急激に低下したが、本法を用いて ALP アイソザイムを分析した結果、加齢に伴い大きく変動したのは骨 ALP であった。また、小腸 ALP も軽度に低下した。一方、肝及び高分子型小腸 ALP の活性は非常に低く、かつ加齢に伴う変動はみられなかった。**【結論】**本法はラットの血清 ALP アイソザイム分析に適用可能で、毒性試験における ALP アイソザイムの評価、特に骨形成に影響を及ぼす薬剤の毒性評価に有用と考えられた。