

## 地方病性牛白血病発症マーカーとしての乳酸脱水素酵素活性の評価

三浦沙織<sup>1,2)</sup> 猪熊 壽<sup>1)†</sup>

1) 帯広畜産大学 臨床獣医学研究部門

2) 現 岩手県農業共済組合 東南部地域センター 家畜診療所

(2015年11月24日受付・2016年1月12日受理)

**要 約** 地方病性牛白血病 (EBL: Enzootic bovine leukosis) 発症マーカーとしての乳酸脱水素酵素 (Lactate dehydrogenase: LDH) 活性値 (総活性, LDHアイソザイム分画2および3活性値) 測定の有用性を評価し, 感度と特異性を検討した. 定型EBLおよび非定型EBL症例においてLDH総活性値, アイソザイム分画2および3活性値が基準値を超えた症例の割合, すなわちEBL発症マーカーとしての感度はいずれも80%以上であった. 非定型的EBLにおける感度は定型的EBLに比べると低かったが, 両群のLDH総活性値, LDHアイソザイム分画2および3活性値に有意差はみられなかった. 定型EBLのLDH総活性値, LDHアイソザイム分画2および3活性値は, 腫瘍性疾患群, 炎症性疾患群および健常群よりも有意に高値を示した. 非定型EBLのLDH総活性値, LDHアイソザイム分画2および3活性値は炎症性疾患群と健常群よりも有意に高値となったが, 腫瘍性疾患群とは有意差がなかった. LDH活性値の測定は, EBLと他の腫瘍の鑑別診断においては特異性に乏しかったが, 炎症性疾患との鑑別には有用な検査項目になると考えられた.

——キーワード: 牛白血病, LDH, LDHアイソザイム, 発症マーカー

.....産業動物臨床医誌 6(4): 149-153, 2016

## 1. はじめに

乳酸脱水素酵素 (Lactate dehydrogenase: LDH) は生体内の諸臓器に存在し, 嫌氣的解糖系の乳酸⇄ピルビン酸反応を触媒する [1, 2]. LDHは4つのサブユニットの組み合わせにより5種のアイソザイムが存在し, 臓器特異性の高い電気泳動パターンを呈する [1, 2]. 牛では, LDH総活性値およびLDHアイソザイム分画2と3が, 牛白血病ウイルス (Bovine leukemia virus: BLV) により発症する地方病性牛白血病 (EBL: Enzootic bovine leukemia) 発症マーカーとして有用であることが以前から報告されているが [3, 4], これらの報告は全て定型的EBL症例, すなわちリンパ節腫大または著しいリンパ球増多症を伴い臨床的にEBLと診断された症例を対象としており, 体表リンパ節の腫大がみられない非定型的EBL症例において有用かどうかは検討されていない. いっぽう, LDHは各種疾患で総活性値が上昇することが知られており, その疾患特異性は高くはない [5]. また,

EBLと他疾患との鑑別について, LDHの特異性は十分に検討されていない. そこで本研究では, 血清LDH活性 (総活性およびアイソザイム分画2と3) のEBL発症マーカーとしての有用性を再評価し, 感度と特異性を明らかにするために, 定型EBLと非定型EBL, およびその他の腫瘍性疾患や生前にEBLを疑った炎症性疾患のLDH活性値を比較検討した.

## 2. 材料および方法

材料は2005～2013年に病性鑑定のため帯広畜産大学に搬入された各種疾患牛69頭 (ホルスタイン種57頭, 黒毛和種10頭, 交雑種2頭) の血清である. 症例の内訳は, BLV陽性でリンパ球増多症や体表リンパ節腫大などの所見から臨床的にEBLを診断できたEBL (定型的EBL) 27頭, BLV陽性だがリンパ球増多症や体表リンパ節腫大などの所見がなく臨床的にはEBLを診断できず, 最終的な病理学的検索でEBLと診断されたもの (非定型

† 連絡責任者: 猪熊 壽 (帯広畜産大学 臨床獣医学研究部門)  
〒080-8555 帯広市稲田町西2線11 ☎/FAX 0155-49-5370  
E-mail: inokuma@obihiro.ac.jp

EBL) 19頭, 牛白血病以外の腫瘍性疾患13頭 (腫瘍性疾患群; 脳腫瘍, 骨肉腫, 肺癌, 肝癌, 脂肪腫, 顆粒膜細胞腫, 卵黄囊腫, 乳頭腫, 未分化癌, 悪性末梢神経鞘腫), リンパ節腫大や骨盤腔内腫瘤を認めEBLを疑ったものの病理学的に炎症性疾患と診断された牛10頭 (炎症性疾患群; 乳房炎, 子宮内膜炎, 胸膜炎, 肺炎, 気管支肺炎, 腎炎, 関節炎, 歯肉炎, 多発性膿瘍) である. また, 臨床的に異常を認めないホルスタイン種10頭 (健常群) の血清を対照として用いた.

各症例血清のLDH総活性値およびLDHアイソザイムの解析は第一岸本医科学研究所 (帯広市) に依頼して測定した. 各群のLDH総活性値およびLDHアイソザイム分画2と3の活性値をそれぞれ, クラスカル・ワリス検定および多重比較検定のSteel-Dwass法により比較した (エクセル統計). なお, 有意水準は5%とした. LDHの正常上限値は, 総活性 1,445 U/l, 分画2: 390 U/l, 分画3: 260 U/lとした [6].

### 3. 結果

LDH総活性値の中央値は, 定型EBL 3,280 U/l, 非定型EBL 2,805 U/l, 腫瘍性疾患群 1,395 U/l, 炎症性疾患群 1,100 U/l, 健常群837 U/lであった (図1).

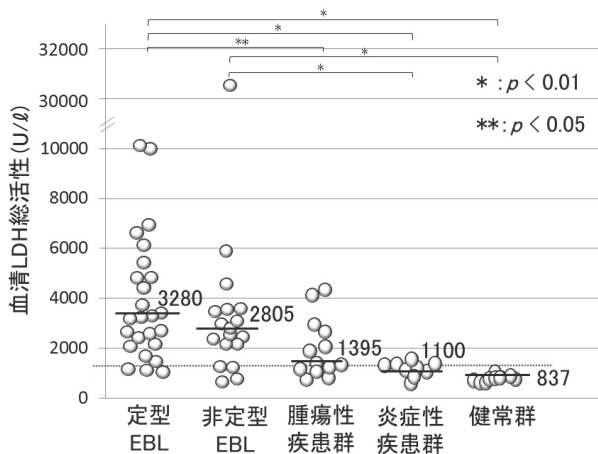


図1. 定型EBL, 非定型EBL, 腫瘍性疾患群, 炎症性疾患群および健常群における血清LDH活性の分布. グラフ上の横線および数値は各群の中央値, 破線は基準値: 1,445 U/lを示す.

定型EBLと非定型EBLのLDH総活性値に有意差はみられなかった. 定型EBLのLDH総活性値は, 腫瘍性疾患群 ( $p < 0.05$ ), 炎症性疾患群 ( $p < 0.01$ ) および健常群 ( $p < 0.01$ ) よりも有意に高値を示した. また, 非定型EBLのLDH総活性値は炎症性疾患群と健常群よりも有意に高値となったが ( $p < 0.01$ ), 腫瘍性疾患群とは有意差がなかった. LDH総活性値が基準値を超えた症例の割合は, 定型EBL 88.9%, 非定型EBL 78.9%, 腫瘍性疾患46.2%, 炎症性疾患と健常群はともに0.0%であった (表1).

LDHアイソザイム分画2活性値の中央値は, 定型EBL 1,201 U/l, 非定型EBL 750 U/l, 腫瘍性疾患群 424 U/l, 炎症性疾患群 318 U/l, 健常群225 U/lであった (図2). 定型EBLと非定型EBLのLDHアイソザイム分画2活性値に有意差はみられなかった. 定型EBLのLDHアイソザイム分画2活性値は, 腫瘍性疾患群, 炎症性疾患群および健常群よりも有意に高値を示した ( $p < 0.01$ ). 非定型EBLのLDHアイソザイム分画2活性値は炎症性疾患群と健常群よりも有意に高値となったが ( $p < 0.01$ ), 腫瘍性疾患群とは有意差がなかった. LDHアイソザイム分画2活性値が基準値を超えた症例の割合は, 定型EBL 88.9%, 非定型EBL 84.2%, 腫瘍性疾患群 53.8%, 炎症性疾患群 20.0%, 健常群 0.0%であった (表1).

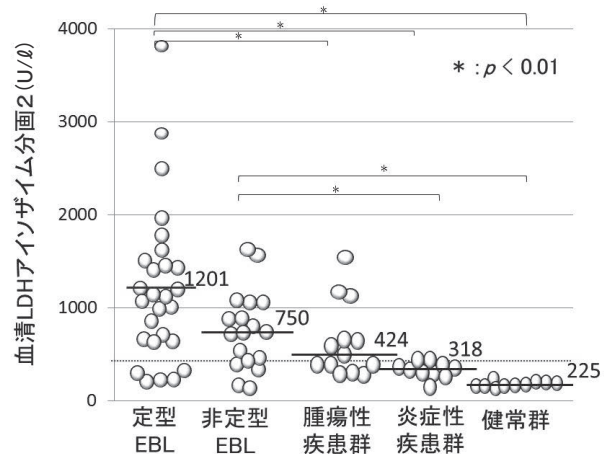


図2. 定型EBL, 非定型EBL, 腫瘍性疾患群, 炎症性疾患群および健常群における血清LDHアイソザイム分画2活性の分布. グラフ上の横線および数値は各群の中央値, 破線は基準値: 390 U/lを示す.

表1. 各群の血清LDH総活性, LDH2およびLDH3活性値が基準値を超える個体数と割合

		計	LDH総活性値*	LDH2活性値**	LDH3活性値***	左の3項目全て
EBL群	定型EBL	27	24 (88.9%)	24 (88.9%)	24 (88.9%)	24 (88.9%)
	非定型EBL	19	15 (78.9%)	16 (84.2%)	17 (89.5%)	14 (73.7%)
	計	46	39 (84.8%)	40 (87.0%)	41 (89.1%)	38 (82.6%)
腫瘍性疾患群		13	6 (46.2%)	7 (53.8%)	2 (15.4%)	4 (30.8%)
炎症性疾患群		10	0 (0.0%)	2 (20.0%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)

\* : >1,445 U/l    \*\* : >390 U/l    \*\*\* : >260 U/l

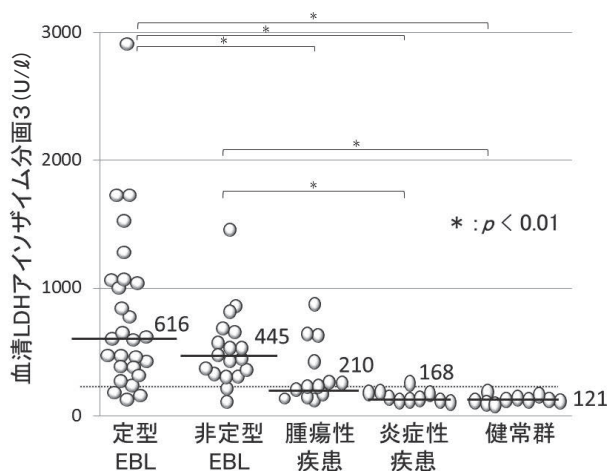


図3. 定型EBL, 非定型EBL, 腫瘍性疾患群, 炎症性疾患群および健常群における血清LDHアイソザイム分画3活性の分布. グラフ上の横線および数値は各群の中央値, 破線は基準値:260 U/lを示す.

LDHアイソザイム分画3の中央値は, 定型EBL 616 U/l, 非定型EBL 445 U/l, 腫瘍性疾患群 210 U/l, 炎症性疾患群 168 U/l, 健常群121 U/lであった(図3). 定型EBLと非定型EBLのLDHアイソザイム分画3活性値に有意差はみられなかった. 定型EBLのLDHアイソザイム分画3活性値は, 腫瘍性疾患群, 炎症性疾患群および健常群よりも有意に高値を示した( $p < 0.01$ ). 非定型EBLのLDHアイソザイム分画3活性値は炎症性疾患群と健常群よりも有意に高値となったが( $p < 0.01$ ), 腫瘍性疾患群とは有意差がなかった. LDHアイソザイム分画3活性値が基準値を超えた症例の割合は, 定型EBL 88.9%, 非定型EBL 89.5%, 腫瘍性疾患群 15.4%, 炎症性疾患群と健常群はともに0.0%であった(表1).

LDH総活性値, アイソザイム分画2および3活性値の3項目が全て基準値を超えた症例の割合は, 定型EBL 88.9%, 非定型EBL 73.7%, 腫瘍性疾患群 30.8%, 炎症性疾患群と健常群はともに0.0%であった(表1).

#### 4. 考察

EBL発症を疑わせる所見として, BLV感染, リンパ球増多症, 末梢血への異型リンパ球出現, 体表または腹腔・骨盤腔内のリンパ節腫大がある[7, 8]. しかし, 末梢血リンパ増多またはリンパ節腫大が認められない場合には生前のEBL確定診断は困難である[8-10]. 近年, 牛白血病の発症マーカーとして血清チミジンキナーゼ(Thymidine kinase: TK)活性値の測定が利用されている[11, 12]. 牛白血病発症個体を検出するための血清TK活性値測定の感度は95.0%, 特異性は95.9%と報告されているが[11], その測定には特殊なキットと機器が必要であり, 現場での利用は限定されている. いっぽう,

LDH活性は血清TK活性に比べて, 獣医学領域でより広く利用されている検査項目である. 一般的にリンパ腫または白血病では, リンパ球が腫瘍化して著しく増殖するため, リンパ球由来のLDHアイソザイム分画2および3が増加し, 結果的にLDH総活性の増加が認められる[1]. 牛においても, EBL発症牛でLDH総活性値, アイソザイム分画2および3活性値が増加することが以前から知られている[3]. しかし, EBL発症マーカーとしてのLDH総活性, アイソザイム分画2および3活性の有用性は, これまで詳細に検討されておらず, その感度と特異性は不明のままであった. また, 非定型的なEBL症例をどの程度検出できるのかについても検討されたことはなかった. このため本研究では, 血清LDH活性のEBL発症マーカーとしての感度と特異性を明らかにし, その有用性を再評価することを目的とした.

まず, 感度の検討を行ったところ, 本研究でも過去の報告と同様, EBL症例においてLDH総活性値, アイソザイム分画2および3活性値の増加が高率に認められた. 定型および非定型的合わせたEBLにおいて, LDH総活性値, アイソザイム分画2および3活性値が基準値を超える割合は, それぞれ84.8%, 87.0%および89.1%, また, 3項目すべてが基準値を超えるものは82.6%であり, EBL発症マーカーとしての感度はいずれも80%以上であると結論された. EBLの発症を疑った際に, LDH活性とアイソザイム分画を解析することが, 診断に有用であることが示唆された.

非定型的EBLの感度(73.7~89.5%)は定型的EBL(88.9%)に比べると同等もしくは低いことが明らかとなった. 直接的な証明はできていないが, 非定型EBLでは定型EBLと比較して, リンパ節腫大やリンパ球増多など腫瘍組織の増殖程度が低いことが原因のひとつと考えられる. もっとも, 非定型的EBLであってもLDH活性のEBL発症マーカーとしての感度は70%を超えており, 診断には十分有用であると思われる.

いっぽう, 特異性の検討では, 定型EBLおよび非定型EBLのLDH総活性およびアイソザイム分画2, 3は炎症性疾患群と比較して有意に高値を示した. この結果は, これらの項目の測定が非定型EBLにおいてもEBL発症マーカーとして有用であることを示唆するものであり, EBLの特徴的所見がない場合でも, LDH総活性およびアイソザイム分画活性が高値を示せば, EBL発症を疑う手がかりになると考えられた. 本症例で用いた炎症性疾患は, いずれも体表リンパ節腫大または体腔内リンパ節の腫大を伴うものであり, そのような所見がある場合の鑑別診断においてもLDH活性値の測定とアイソザイム解析は有用であると思われる.

非定型EBLと腫瘍性疾患群の比較では, LDH総活性

値、アイソザイム分画2および3活性値に有意差がみられなかった。また、腫瘍性疾患群ではLDH総活性値、アイソザイム分画2および3活性値が基準値を超える割合は、それぞれ46.2%、53.8%および15.4%、また、3項目すべてが基準値を超えるものは30.8%であり、EBLと他の腫瘍の鑑別診断においては、LDH活性値の測定は特異性に乏しいもの考えられた。

今回は、特異性の検討において腫瘍性疾患と炎症性疾患だけをEBLと比較したが、LDHは心筋・骨格筋・肝・腎・脳・小腸・赤血球など、さまざまな臓器に分布する酵素であり、今後、これらの臓器の疾患におけるLDH活性値を比較検討することも必要と思われた。

## 5. 謝 辞

症例をご紹介いただいた関係各位、また、症例の病理学的診断にご協力いただいた帯広畜産大学、古岡秀文教授、古林与志安教授および堀内雅之助教に深謝します。

## 6. 引用文献

1. 河合 忠：乳酸脱水酵素 (LDH)，異常値の出るメカニズム 第4版，河合 忠・屋形 稔・伊藤喜久 編，281-284，医学書院，東京 (2001)
2. 友田 勇：血漿タンパク室と酵素の病態時の変動，獣医生化学，大木与志雄・久保周一郎・古泉 巖 編，227-237，永堂出版，東京 (1995)
3. Ishihara K, et al. : Clinical studies on bovine leukemia in Japanese black cattle: III. Serum lactate dehydrogenase activity and its isoenzyme pattern in groups of leukemic cattle and those negative or positive for antibody against bovine leukemia virus, Jpn J Vet Sci, 42, 289-295 (1980)
4. Yasutomi Y, et al. : Early diagnosis of enzootic bovine leucosis, Jpn J Vet Sci, 49, 957-963 (1987)
5. 岡崎博司，他：乳用牛の各種疾病におけるLDHアイソザイム分画について，獣畜新報，740, 147-151 (1983)
6. 佐藤 繁：臨床検査項目の基準範囲，獣医内科学大動物編 第2版，日本獣医内科学アカデミー編，385-390，文永堂出版，東京 (2014)
7. 田島誉士：牛白血病，主要症状を基礎にした牛の臨床，前出吉光・小岩政照編，614-618，デーリイマン社，札幌 (2002)
8. 猪熊 壽：牛白血病臨床診断のピットフォールと発症牛早期診断の試み，家畜臨床，57, 137-143 (2010)
9. 田川道人，他：非典型的牛白血病のホルスタイン乳牛3症例，日獣会誌，61, 936-940 (2008)
10. 猪熊 壽，他：牛白血病をうたった非牛白血病のホルスタイン種乳牛11症例の回顧的研究，産業動物臨床医誌，1-5 (2015)
11. Sakamoto L, et al. : Serum thymidine kinase activity as a useful marker for bovine leukosis, J Vet Diag Invest, 21, 871-874 (2009)
12. Tawfeeq MM, et al. : Utility of serum thymidine kinase activity measurements for cases of bovine leukosis with difficult clinical diagnoses, J Vet Med Sci, 75, 1167-1172 (2013)



---

## Evaluation of lactate dehydrogenase activity as an onset marker for enzootic bovine leukosis

S. Miura<sup>1,2)</sup>, H. Inokuma<sup>1) †</sup>

1) *Department of Clinical Veterinary Medicine, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine*

2) *Present affiliation: Iwate Agricultural Mutual Aid Association*

**ABSTRACT** The usefulness of lactate dehydrogenase (LDH) activities (total activity and LDH isozymes 2 and 3) was evaluated as an onset marker of enzootic bovine leukosis (EBL), and its sensitivity and specificity were determined. The percentages of EBL cases that showed higher total, LDH-2 and LDH-3 activities than normal were 78.9% or higher. Although the sensitivity of LDH activities in atypical EBL was lower than that in typical EBL, there was no significant difference in LDH activities between the two groups. Total LDH, LDH-2 and LDH-3 activities in the typical EBL group were significantly higher than in cattle with neoplasia or inflammatory diseases and then in healthy cattle. Total LDH, LDH-2 and LDH-3 activities in cattle with atypical EBL were also higher than those with inflammatory diseases and the healthy group, but there were no significant differences between the atypical EBL and neoplasia groups. Thus, LDH activities were likely useful for differential diagnosis of EBL and inflammatory diseases but less specific for differential diagnosis of EBL and other tumors.

—**Key Words** : bovine leukosis, lactate dehydrogenase, lactate dehydrogenase isozyme

† *Correspondence to: Hisashi Inokuma (Department of Clinical Veterinary Medicine, Obihiro University of Agriculture and Veterinary Medicine)  
Inada, Obihiro, Hokkaido 080-8555, JAPAN)  
TEL/FAX : 0155-49-5370 E-mail : inokuma@obihiro.ac.jp*

.....Jpn. J. Large Anim. Clin. 6(4): 149-153, 2016