

## 膵病変時の血清 Carboxypeptidase A 活性に関する研究

大阪市立大学医学部第一外科

佐竹 克介 木下 晴夫 梅山 馨

同 中核

奥 田 清

### STUDIES ON CARBOXYPEPTIDASE A IN THE PANCREATIC DISORDERS

Katsusuke SATAKE, Haruo KINOSHITA, Kaoru UMEYAMA and  
Kiyoshi OKUDA\*

First Department of Surgery and Central Clinical Laboratory\* Osaka City University Medical School

膵外分泌酵素の一つである Carboxypeptidase A (CPase A) の生理学的ならびに病態生理学的動態については不明である。今回、われわれは本酵素の生理学的ならびに病態生理学的動態について実験的ならびに臨床的に検討した。膵液中の CPase A 活性は P-S 連続刺激下で Amylase 値と同様の変動を示した。急性膵炎時は血清 CPase A 活性は軽度の上昇がみられたにすぎなかった。膵全別、および膵管結紮後では血清 CPase A 活性は経日的に著明に低下した。確認した膵癌17例の術前 CPase A 活性は低値を示すものが多く、特にヒマン性はものに著明であった。これらの成績から、本酵素活性は膵液中に高濃度に存在し、血清 CPase A 活性は膵外分泌障害時に低値を示したこの事実から、本酵素の測定は膵疾患の存在を推測する一つの方法として有用と推測された。

索引用語 Carboxypeptidase-A (Cpase A), Amylase, 急性膵炎, 慢性膵炎, 膵癌

#### 緒 言

Carboxypeptidase (以下 CPase) は膵臓内に高濃度に存在し、C末端ペプチド結合に特異的に作用する Exopeptidase の一つであり<sup>1)2)</sup>、C末端アミノ酸の種類に対する特異性によって CPase A と CPase B などに分類されている。

従来より、血清中の CPase A 活性の測定は、不能とされてきたが、1967年奥田ら<sup>3)</sup>は Seligman の方法<sup>4)</sup>に準じて血清中の CPase A 活性を測定する方法を開発した。その後、本測定法を用いて、膵疾患を中心とした種々の疾患について測定され血清 CPase A 活性の意義について検討され、報告されているが、本酵素活性の生理学的ならびに病態生理学的意義については報告されていない。

今回、われわれは本酵素活性の生理学的ならびに病態生理学的意義について、正常犬ならびに種々の膵障害犬を作成して、血清中の CPase A 活性を測定し、また

従来からの膵外分泌酵素である Amylase と比較検討した。併せて若干の膵疾患臨床例の血清 CPase A 活性を測定した結果、2~3の知見を得たので報告する。

#### 実験材料ならびに方法

実験動物は体重 12~15kg の雑種成犬を用いた。とくに雌雄の区別は配慮しなかった。

#### 実験方法

1) 正常膵液採取法; 正常犬を Nembutal 静脈麻酔 (25mg/kg) 下で開腹し、副膵管を結紮した後、主膵管にビニールチューブを挿入し、Pancreozymin-Secretin (それぞれ 1.0u/min および 1.2u/min) 連続刺激下にて膵液を氷中の試験管内に、時間毎に採取した。

#### 2) 膵障害犬の作成法;

a) 急性膵炎犬の作成; 正常犬を Nembutal 麻酔下で開腹し、副膵管を結紮したのち主膵管より自家胆汁 0.5 ml/kg を高圧下で注入して作成した。

b) 完全膵管結紮犬の作成; 正常犬を Nembutal 麻酔

下で開腹し、副、主膵管ともに結紮、切離し、さらに膵と十二指腸壁の間には大網を挿入して、膵液の十二指腸内への再流入を防いだ。

c) 膵全剝犬の作成；麻酔後開腹し、膵、十二指腸動脈を損傷しないよう注意して膵全剝を施行した。膵全剝後、とくに Insulin の投与は行わなかった。

3) 臨床例としては、昭和48年4月から昭和51年5月までに、本学第一外科にて取扱った膵疾患症例のうち組織学的に確定診断された慢性膵炎2例、膵癌17例を対象とした。

**検査方法**

酵素学的検索；

CPase A 活性の測定法は奥田らの方法を用いて行った。本測定法における酵素活性の単位は1mlの血清によって1時間当りに生成されるβ-naphtholのmilli micro moleで表わした。なお、膵液中のCPase A活性は正常膵液10mlに0.1mgのEnterokinaseを添加し、37°C、1時間Incubateした後測定した。

Amylaseの測定はAmylochrome (Roche社)を用いた色素澱粉法で行い、単位を国際単位(IU)で表示した。

病理組織学的検索；

膵管完全結紮後、3カ月で犬を屠殺し、直ちに膵を剔出し、10%ホルマリン液で固定後、ヘマトキシリン-エオジン染色およびアザンマロリー染色を行って検索した。

**実験成績**

① 正常膵液中のCPase A活性の変動(7頭)

正常膵液中のCPase A活性は、平均2,328.5±219単位であった。Pancreozymin-Secretin連続刺激を行うと、膵液量はSecretin単独注射後、3~5倍量に増加し、Pancreozymin付加後は、さらに増量したが、その際の単位体積中のCPase A活性は刺激前より低値を示した。膵液中に排泄された総CPase A活性量はPancreozymin-Secretin刺激によって著明に増加し、刺激前の3~4倍の値を示した。膵液中の総Amylase量の変動もほぼ同様の変動を示した(図1)。

同時に測定した、血清中のCPase A活性およびAmylase値には著明な変動はみられなかった(図2)。

② 膵全剝犬の血清CPase A活性の変動(5頭)

膵全剝後、12日目までの血清CPase A活性を測定した。

膵全剝前の血清CPase A活性は190単位から223単位

図1 正常犬のP-S連続刺激時における膵液中のCPase A活性量とAmylase量の変動

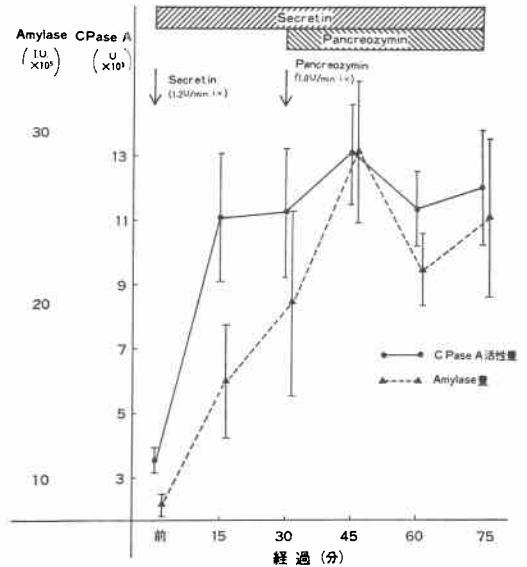
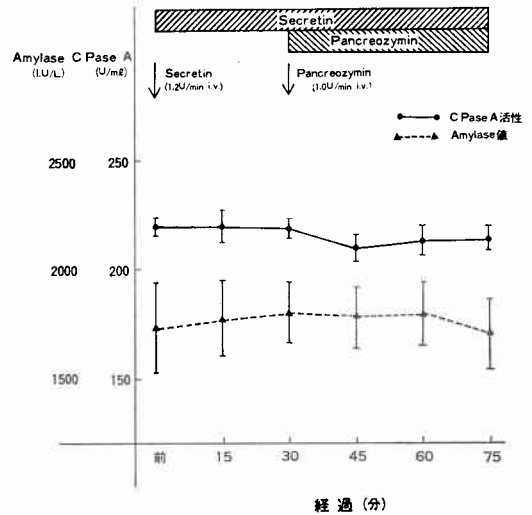


図2 正常犬のP-S連続刺激時における血清のCPase A活性とAmylase値の変動



の値を示したが、膵全剝2日目では128単位から151.5単位と減少し、8日目では57.5単位から111単位、10日目では36単位から92単位とさらに減少し、12日目では死亡した2例を除いて40単位から48単位と明らかに低値を示した(図3)。

③ 実験的急性膵炎犬の門脈ならびに大腿静脈血中の

図3 実験的急性脾炎犬の血清 CPase A活性の変動

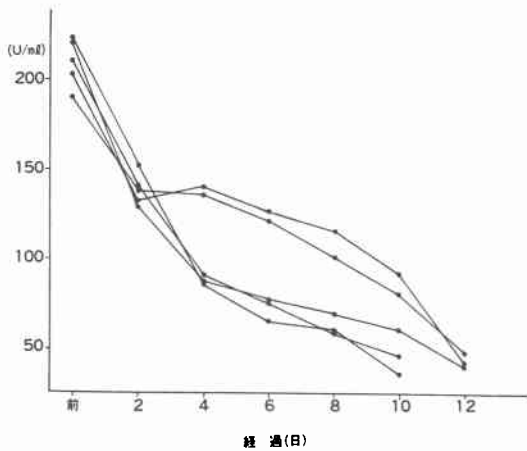
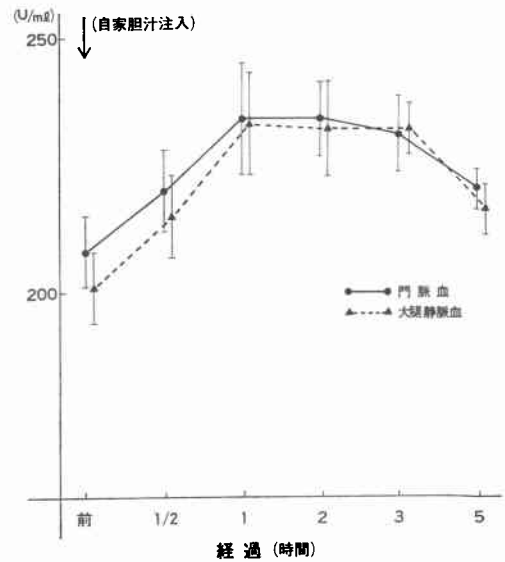


図4 脾全別犬の血清 CPase A 活性の変動



CPase A 活性および Amylase 値の変動 (7頭)

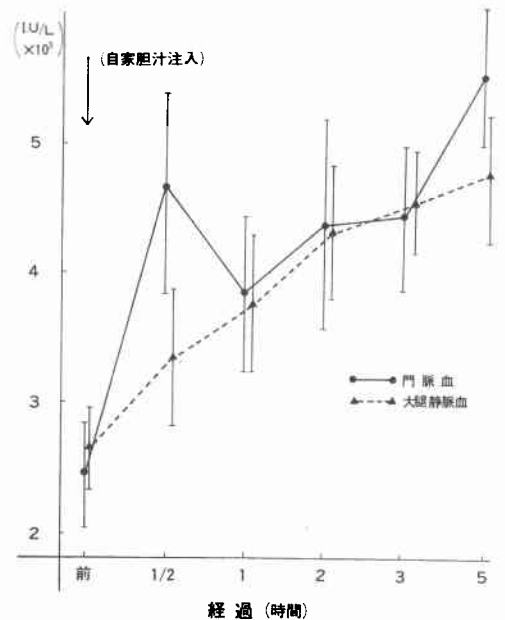
脾炎作成後, 5時間にわたって観察した.

門脈血中の CPase A 活性は脾炎作成前では平均 208 (±7.3SE) 単位であったが, 作成後30分では 220 (±7.9SE) 単位, 1時間後では234 (±0.7SE) 単位とやや上昇の傾向を示した. しかし3時間後には 231 (±7.4 SE) 単位, 5時間後には220 (±3.8SE) 単位と殆ど変動を示さなかった.

大腿静脈血中の CPase A 活性は, 脾炎作成前では, 平均201 (±6.7SE) 単位であったが, その後の変動は門脈血中と同様であった (図4).

門脈および大腿静脈血中の Amylase の変動は CPase A 活性の変動と異なり, 脾炎作成前では, 門脈血中で平均 2,451.5 (±385.4SE) I.U, 大腿静脈血中で平均 2,631.1 (±308.3SE) I.U であったのに対し, 脾炎作成後のおおの30分では, 4,674.5 (±1,064.2SE) I.U 3,347.5 (±526.9SE) I.U と著明に上昇し, 5時間後の観察でも おおの5,529.9 (±772.6SE) I.U および 4,758.8 (±489.2SE) I.U と著しい上昇を示した (図5).

図5 実験的急性脾炎犬の血清 Amylase 値の変動



④ 完全脾管結紮犬の血清 CPase A 活性ならびに Amylase 値は変動 (8頭)

完全脾管結紮後, 各週的に3カ月目までの血清 CPase A を測定した.

脾管結紮前の血清 CPase A 活性は平均206.2 (±9.08 SE) 単位であったが, 結紮後2週目では125 (±7.7SE) 単位, 4週目では134.8 (±12.3SE) 単位, 8週目では 116 (±23.1SE) 単位, 12週目では80 (±28SE) 単位を

示した. 経過中多少の変動がみられたが, 全体的には脾管完全結紮後の血清 CPase A 活性は日数の経過とともに低下する傾向を示した (図6).

完全脾管結紮3カ月目の脾外分泌組織所見は, 実質細胞は萎縮変性に陥り, 間質では強い線維化がみられ, 小

図6 完全膀胱結紮犬の血清 CPase A 活性の変動

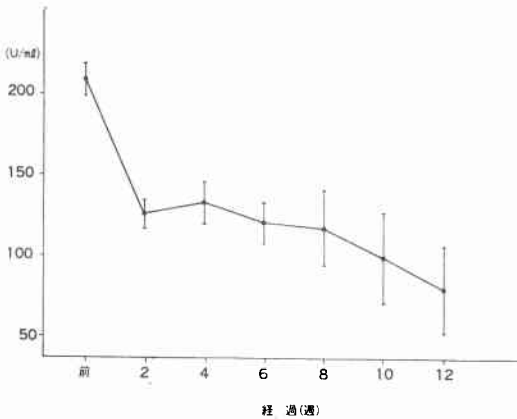


表1 膀胱癌並 Vater 乳頭部癌の術前の血清CPase A 活性と総ビリルビン値

臓器	症例 No.	氏名	性別	年齢	総ビリルビン値 (mg/dl)	CPase A 活性 (U/ml)	備考 (術式)
膀胱	1	前○政○	♂	54	17.7	164.0	胆嚢空腸吻合
	2	塩○勝○	♂	48	26.0	137.5	試験開腹
	3	香○清○	♂	46	30.5	55.0	試験開腹
	4	山○啓○	♂	56	42.5	117.5	総胆管十二指腸吻合
	5	富○重○	♂	64	26.0	117.5	総胆管十二指腸吻合
	6	川○伸○	♀	66	23.7	117.5	胆嚢十二指腸吻合
	7	山○ひ○	♀	50	4.0	175.0	胆嚢十二指腸吻合
	8	藤○勇○	♂	51	20.5	120.0	胆嚢十二指腸切除
	9	東○隆○	♂	54	39.5	150.0	胆嚢十二指腸切除
	10	上○裕○	♂	49	27.5	127.5	試験開腹
癌	11	藤○益○	♀	57	37.5	155.0	総胆管十二指腸吻合
	12	橋○慶○	♂	63	13.4	177.5	胆嚢十二指腸切除
	13	吉○子○	♀	69	1.1	232.5	胃体尾部切除
	14	山○秋○	♀	58	0.9	170.0	胆嚢十二指腸吻合
	15	橋○理○	♂	64	0.6	245.0	試験開腹
	16	井○勉○	♂	61	0.6	182.5	胃空腸吻合
	17	山○成○	♂	68	1.2	327.5	胃空腸吻合
Vater 乳頭部癌	18	五○美○	♀	60	26.0	155.0	胆嚢十二指腸切除
	19	川○肇○	♂	46	9.0	190.0	胆嚢十二指腸切除
	20	寺○重○	♂	63	5.0	157.5	胆嚢十二指腸切除
	21	吉○平○	♂	65	0.6	160.0	胆嚢十二指腸切除
	22	大○し○	♀	61	1.9	243.0	胆嚢十二指腸切除
	23	北○雅○	♂	46	12.4	220.0	胆嚢十二指腸切除

葉内にも線維化がおよんでいた。しかし、内分泌組織でのランゲルハンス島はやや萎縮状であるが正常に近い構造を示していた。

5) 膀胱疾患における血清 CPase A 活性

組織学的に確定診断された慢性膀胱炎2例の血清 CPase A 活性値は177単位、177.5単位と低値を示していた。膀胱癌症例は表1に示す如く17例で、男12例、女5例で年齢は最低46歳最高69歳で平均年齢は57歳であった。

癌の発生部位別は、ビマン性癌が5例で全例黄疸を伴い、血清ビリルビン値は17.7mg/dl から42.5mg/dl の値を示していた。血清 CPase A 活性は最低55単位、最高164単位で、平均118.3 (±20.1SE) 単位であった。これ

ら5例の切除不能で試験開腹あるいは、減黄手術のみに終わった。

頭部癌は7例で全例が黄疸を有し血清ビリルビン値は1例のみ(症例7)が4.0mg/dl と比較的軽度であったが残りの6例は13.4mg/dl から39.5mg/dl であった。血清 CPase A 活性は最低117.5単位から最高177.5単位、平均146.0 (±10.1SE) 単位であった。7例のうち3例に(症例8, 9, 12)切除したが、この際の残存膀胱組織はやや硬く萎縮状で膀胱の著明な拡張がみられた。

体尾部癌は5例で黄疸はなく、あってもきわめて軽度であった。血清 CPase A 活性は200単位以下を示したものの2例で残り3例はいずれも200単位以上で最高327.5単位をしめした症例もあった。5例のうち切除したものは1例(症例13)のみで、残りの4例はいずれも浸潤強く、また、肝転移を伴い切除しなかった。

なお、ファーター乳頭部癌の6例では一例のみ黄疸なく、他の5例は血清ビリルビン値が1.9mg/dl から26.0mg/dl を示し、血清 CPase A 活性は最低155単位、最高243.0単位、平均187.5 (±14.1SE) 単位であった。これら症例は切除可能であり、膀胱組織所見では頭部は弾性硬であったが体尾部では、ほぼ正常の硬度を有していた。症例19, 20では尾部迄やや硬く、軽度の線維化がみられた。

考 察

CPase A は膵外分泌酵素の一つとして1929年 E. Waldschmidt-Leitz<sup>5)</sup> によって家畜の膵臓から発見され、膵液中では Pro-CPase の型で存在し、十二指腸で Trypsin により活性化されると報告されている。その後、Seligman & Revin<sup>6)</sup> は犬、モルモット、ラットおよびヒトの膵をはじめ肝、脾、副腎、心、脳、卵巣等の諸臓器組織中の本酵素活性を測定し、膵に多量に存在すると報告している。また、奥田<sup>37)</sup>、荒木<sup>7)</sup>らや山片<sup>8)</sup>もヒト、犬の諸臓器について本酵素活性の測定を行っているが、Seligman ら<sup>6)</sup>と同様の所見を報告している。このように膵に高濃度に存在する CPase A の生理的な動態を Amylase とともに Pancreozymin-Secretin 刺激下で検討した結果、膵に存在する CPase A は Amylase と同様に、Pancreozymin-Secretin によって膵液中に放出されることが明らかになった。またその分泌機序も Amylase と同様であろうと考えられる。

一方、膵全剝をおこなった犬の血清中の CPase A 活性の変動は全剝術後6日目では、正常犬の血清 CPase A 活性の208.8単位にくらべて93.6単位と著明に低下

し、さらに10日目、12日目では50単位以下の低値を示した。このことはヒトで膵全剝をおこなった一症例の血清 CPase A 活性が術後3週目には正常人の血清 CPase A 活性にくらべて測定限界の低値を示したとの荒木<sup>7)</sup>らの報告と一致している。本酵素は膵に多量に存在し、血清中の CPase A 活性も主として膵に由来するものと考えられる。しかしながら、膵全剝後も血清 CPase A 活性は術後12日目迄の観察では全く消失するものではなく、本酵素が膵以外に存在する可能性が示唆され、今後充分な精査を必要とすると考えられる。

本酵素の病態生理学的意義については、奥田<sup>8)</sup>、荒木<sup>7)</sup>らは自家胆汁性膵炎では膵炎惹起後血清 CPase A 活性は初期の上昇を除いて活性の低下がみられると報告している。本実験でも、自家胆汁性膵炎惹起後、1時間では門脈、大腿静脈ともに有意の差をもって ( $p < 0.05$ ) 上昇したが、それ以後では5時間まで漸次下降の傾向を示した。これとは反対に、血清 Amylase 値は著明に上昇した。この事実は臨床例について急性膵炎あるいは膵炎再発時の血清中 CPase A 活性が血清 Amylase 値の変動と解離しているとの山片<sup>9)</sup>らの報告と一致している。

このように、急性膵炎時の血清中の CPase A 活性の変化が Amylase 値の変化と異なる態度を示す点については明らかでない。一般に、急性膵炎時の血清 Amylase 値の上昇については、いわゆる酵素逸脱現象と考えられ、種々検討されているが、なお明確な結論はだされていないのが現状であるが、膵外分泌酵素である Elastase や Trypsin については血清 Amylase 値と異なった反応を示すことが報告されており<sup>9)</sup>、その原因として、膵臓あるいは血清、膵液中に存在する Inhibitor が関与するものと推測されている。

かかる事実から考えると、CPase A については、膵液中での Inhibitor の存在は否定的である<sup>7)</sup>が血清中の Inhibitor の存在については、全く否定することは困難で、なお今後の基礎的研究が必要であろう。

一方、従来より慢性膵炎の実験的モデルでもある完全膵管結紮犬を作成して、その際の血清 CPase A 活性の変動をみると膵管結紮後の経過とともに漸次下降し、結紮3ヵ月頃には80 (±28SE) 単位と低い値を示した。この時の膵の病理組織学的所見は、線房細胞の萎縮、間質を中心とした著明な線維化がみられるが、内分泌組織はほとんど正常に近い像を呈していた。このことは完全膵管結紮後にみられる血清 CPase A 活性の低下は、膵外分泌組織の病変ことに、線房細胞の萎縮荒廃、線維化に

関係するように推測された。

かかる血清 CPase A 活性の臨床的意義については、とくに膵疾患を中心に検討され、田中ら<sup>10)</sup>は血清 CPase A 活性が膵外分泌機能、最高重碳酸塩濃度、総アミラーゼ量と正の関係をもつと報告し、また、血清 CPase A 活性と膵シンチグラムとの関係で 75se-selenomethionin のとりこみ程度と密に関係すると報告されている。とくに、藤井<sup>11)</sup>らは、糖尿病でも10年以上の病期間を有しコントロール不良なものに、また、肝硬変を合併する際に血清 CPase A 活性が下る傾向があることから、糖尿病患者の膵病変の存在を推定する一つの手段として血清 CPase A の測定が有意義であると述べている。

膵疾患ことに慢性膵炎や膵癌患者の血清 CPase A 活性はほとんどの例で低値を示すことは奥田<sup>8)</sup>をはじめ藤井<sup>11)</sup>、山片<sup>12)</sup>らによってすでに報告されている。著者らも開腹後、組織学的に確認しえた慢性膵炎の2例の血清 CPase A 活性はそれぞれ177単位、177.5単位と正常44例の平均254.6 (±31SE) 単位と比較して著明に低値を示した。また、膵癌17例の血清 CPase A 活性は、膵体尾部癌の3例を除いた全例に低値を示し、ことにビマン性膵癌は平均118.3単位と最も低く、膵頭部癌でも全例200単位以下で平均146.0単位であった。これに反し、膵体尾部癌5例では3例に200単位以上であった。

これら膵癌の血清 CPase A 活性の低値は、ビマン性癌の場合は勿論であるが、膵頭部癌の多くは膵管が閉塞、あるいは狭窄し、膵管結紮犬にみられたと同様に、末梢の膵管拡張、外分泌組織障害が存在し、一方体尾部癌では、頭部あるいは頭体部の膵外分泌組織がかなり正常に近いか、あるいは軽度の障害程度であったために比較的正常範囲内の血清 CPase A 活性を示すものが多かったものと推測される。このことは多少ながら膵外分泌組織に変化を示したファーザー乳頭部癌で6例中4例に血清 CPase A 活性が200単位以下の値を示したことも考えると膵疾患における血清 CPase A 活性は、膵外分泌組織障害の程度とその範囲によるものと考えられる。さらに詳細な点に今後の検索をまちたい。

一般に膵癌の早期診断がきわめて困難なことから膵癌の切除率はきわめて低く、およそ20~30%である<sup>13)</sup>。多くは開腹時すでに門脈や上腸間膜血管周囲への浸潤あるいは遠隔転移などを伴っており、著者が検討した17例のうちでも4例が切除されているにすぎない。これら切除された4例の血清 CPase A 活性と非切除例との間には相関関係はみられず、少くとも血清 CPase A 活性の

みをもって切除の可能性を推測することはきわめて困難なように思われた。膵癌の早期診断にはなお、内視鏡検査、免疫学的診断等種々の検査を必要とするが、膵病変の存在を疑う上のスクリーニングの方法の1つとして、血清 CPase A の測定は有用と考えられる。なお症例を重ねて検討してゆきたい。

#### 結 論

犬を用いて CPase A 活性の生理学的ならびに病態生理学的動態について検討した結果 CPase A は生理的に膵内に高濃度に存在し、Pancreozymin-Secretin 刺激によって Amylase と同様の機序で膵管内に大量放出されるものと考えられ、急性膵炎犬の血清 CPase A 活性は、血清 Amylase 値が上昇するのに反して、ごく初期にきわめて軽度の上昇を示すのみで、むしろ低下の傾向を示し、膵全剝および完全膵管結紮後では経時的に血清 CPase A 活性は低下することが明らかとなった。一方組織学的に明らかな慢性膵炎2例、膵癌17例について検討した血清 CPase A 活性は膵外分泌荒廃を伴った例に低下を示した。

これらの成績から血清 CPase A 活性の低下は、膵の外分泌組織の傷害の程度ならびに範囲と関係するものと考えられた。

#### 文 献

- 1) Hartsuck, J.A. and Lipscom, W.N.: Carboxypeptidase A. In P.D. Boyer, [ed.], *The enzymes*, Vol. III 3rd. Ed. 1-56, Academic Press Inc. New York, 1971.
- 2) 高見 徹: Peptidyl-L-amino-acid hydrolase, 常用名 Carboxypeptidase A.: 赤堀四郎監修酵素ハンドブック. 朝倉書店, 東京, 499-500, 1966.
- 3) 奥田 清, 荒木一成, 佐治哲文, 辻野一秋, 和

- 田正久: 血清 Carboxypeptidase A について. その測定法と臨床的意義. 医化学シンポジウム, 第7集, 7: 51-54, 1967.
- 4) Ravin, H.A. and Seligman, A.M.: The colorimetric estimation of Carboxypeptidase activity. *J. Biol. Chem.* **190**: 391-402, 1951.
  - 5) Waldschmidt-Leitz, E., Graßmann, W. and Schlatter, H.: Zur Spezität proteolytischer Enzyme. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **60**: 1906-1909, 1927.
  - 6) Waldschmidt-Leitz, E. und Purr, A.: Über Proteinase und Carboxy-Polypeptidase aus Pankreas. *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **62**: 2217-2226, 1929.
  - 7) 荒木一成: 血清 Carboxypeptidase A の測定法とその変動について. *防衛衛生*, **19**: 9-21 1972.
  - 8) 山片重法: 血清 Carboxypeptidase A 活性の臨床的意義. *阪市大医誌*, **25**: 81-100 (1976).
  - 9) 小田正幸, 荻原洋三, 本間達三, 越知富夫: 膵疾患の酵素学的診断. *綜合臨床*, **15**: 1303-1309, 1966.
  - 10) 田中航志郎, 山片重法, 山本雅規, 佐治哲文, 藤井 暁, 関 淳一, 和田正久, 奥田 清: 血清 Carboxypeptidase A 活性の臨床的意義について (第二報; 特に膵外分泌機能との関連). *日本膵臓病研究会プロシーディングス*, **4**: 46-47, 1974.
  - 11) 藤井 暁, 山片重法, 西本儀正, 田中航志郎, 山本雅規, 関 淳一, 和田正久, 奥田 清: 血清 Carboxypeptidase A 活性の臨床的意義. *臨床化学*, **3**: 325-333, 1974.
  - 12) 山片重法, 西本儀正, 田中航志郎, 山本雅規, 藤井 暁, 和田正久, 奥田 清, 佐藤美智子: 血清 Carboxypeptidase A 活性の臨床的意義について. *臨床病理*, **21**: 142, 1973.
  - 13) 本庄一夫: 膵臓病, 木本誠二監修: 現代外科学大系, 中山書店, 東京. **39**: 160-162, 1968.