

腹腔ドレーン排液のトリプシンおよびアミラーゼ 同時測定 of 臨床的意義について

鳳胃腸病院

北村 彰英 野村 栄治 南 尚文 河合 達

消化器外科手術後のドレーン排液中のアミラーゼ活性は古くから縫合不全や膵液瘻の診断に用いられてきたが、細胞障害の主役である膵プロテアーゼに関する報告は少ない。そこで腹腔ドレーン、膵管チューブ排液および膵嚢胞穿刺液のアミラーゼおよびトリプシン活性を同時に測定し以下の結果をえた。アミラーゼ活性は上部消化管の縫合不全や膵液瘻では100 Somogyi U/dl より高値を示し100,000 Somogyi U/dl 前後までの幅があった。一方トリプシン活性はErlanger らの方法で測定したが、縫合不全では340~825U/ml であり、膵液瘻では1.5~80U/ml であった。また純粋な膵液では1~9 U/ml であった。トリプシン活性が10U/ml 以下で、しかもアミラーゼ活性が100 Somogyi U/dl 未満の場合は膵液の混入がないと判断してもよかった。アプロチニンの静脈内投与によりアミラーゼ活性は影響されなかったがトリプシン活性は阻害された。以上よりドレーン排液のトリプシンおよびアミラーゼ同時測定は消化器外科の術後管理に有用と思われた。

Key words: enzyme assay of trypsin, amylase activity, abdominal drainage, pancreatic fistula, anastomotic leakage

結 言

近年、術前術後管理の進歩により術後合併症は減少し、消化器外科領域に関しても根治性を追求した拡大手術も安全に行えるようになった。しかし縫合不全や膵液瘻は今なお治療に苦慮する場合がある。ドレーン排液中のアミラーゼ活性の測定は膵液の漏出を検出する手段として以前より用いられてきたが¹⁾、実際に組織障害の主体と思われるトリプシン活性を同時に測定しこれらの合併症の診断と治療の指針に応用しようと試みた。しかし近年用いられているトリプシンのラジオイムノアッセイ(RIA)ではトリプシン以外にトリプシノーゲンやトリプシン・インヒビター結合トリプシンをも測定するため²⁾、本研究ではErlanger ら³⁾の方法(以下BAPA法)でトリプシン活性を測定することにした。その結果縫合不全や膵液瘻の病態やトリプシン・インヒビターであるアプロチニン投与の影響に関して興味深い知見を得たので報告する。

対象と方法

対象症例：症例は消化器外科手術を施行した40例と

急性膵炎による膵嚢胞の1例で、年齢は11から79歳(平均53歳)、男性26例、女性15例であった。手術の内訳は、Table 1に示すように胃癌、胃悪性リンパ腫や消化性潰瘍で胃全摘術や胃切除術を行った25例、胆管癌、胆石症、膵癌、慢性膵炎、先天性膵嚢胞などの胆道・膵疾患が8例、さらに対照として直接膵臓と関係ない大腸疾患が7例であった。これらの症例のうち術前にトリプシンやアミラーゼ活性に異常をきたすような病態にあったのは慢性膵炎で膵空腸吻合術を行った1例と急性膵炎による膵嚢胞で穿刺吸引した1例の計2例のみであった。

アミラーゼおよびトリプシン活性の高値を排液中に認めた症例には直ちにアプロチニン投与(2,500U/kg/day)を開始し、両酵素活性が正常値を示すまで投与した。縫合不全は3例に合併し、全例胃全摘術であった。膵液瘻は胃全摘術が10例で、胃切除術、膵頭十二指腸切除術、膵尾部切除+膵空腸吻合術がそれぞれ1例であった(Table 1)。

検体：腹腔ドレーン排液、ドレーン挿入部ガーゼおよび膵頭十二指腸切除術や膵空腸吻合術後では膵管チューブの排液を用いた。また膵嚢胞の1例では超音波ガイド下の穿刺液を用いた。ガーゼ排液に関しては

Table 1 Gastrointestinal surgery and its complications as anastomotic leakage and pancreatic fistula

Type of operation	No. of cases	Leakage	Fistula
Total gastrectomy	5	1	2
Total gastrectomy + splenectomy	5	2	3
Total gastrectomy + distal pancreatectomy	5	0	5
Subtotal gastrectomy	10	0	1
Pancreatoduodenectomy	2	0	1
Distal pancreatectomy + pancreaticojejunostomy	1	0	1
Resection of pancreas cyst	1	0	0
Puncture of pancreas cyst	1	—	—
Cholecystectomy	3	0	0
Colectomy	3	0	0
Anterior resection of the rectum	2	0	0
Appendectomy	3	0	0
Total	41	3	13

1枚のガーゼを3mlの生理食塩水に浸し酵素測定に供した。

アミラーゼ活性測定：ブルースターチを基質とするネオアミラーゼ・テスト（第1化学薬品）を用い37℃、15分間反応させ620nmの吸光度を測定した。

トリプシン活性測定：Benzoyl-DL-arginine-p-nitroanilide hydrochloride (BAPA) を基質とするErlangerらの方法(BAPA法)に準じてトリプシン活性を測定した³⁾。酵素活性を比較するためには反応初速度で比較することが必要である。Fig. 1Aに示すように反応温度を25℃にすると反応速度は直接的に増加したが37℃では直線的ではなかったため25℃、5分間を標準測定条件とした。この条件下では牛膵臓トリプシン活性は酵素量に依存して直線的に増加した(Fig. 1B)。そこで以下の研究ではトリプシン1μg/mlに相当する活性を有する検体をトリプシン活性1U/mlとした。

ドレーン排液は漿液性のものから膿様のものまでありタンパク濃度はさまざまである。そこで既知のタンパク質の影響を検討したのがFig. 2である。本研究で測定した検体の反応液中のタンパク質濃度は120μg以下であり、トリプシン10μgをもちいた標準測定にアルブミン、フィブリノーゲンを添加するとアルブミンお

Fig. 1 Kinetics of trypsin assay. A: Temperature dependence curve and time course; B: Dose dependence curve.

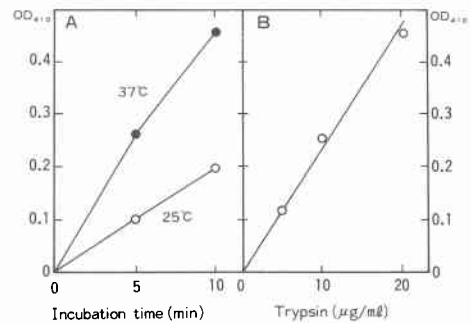
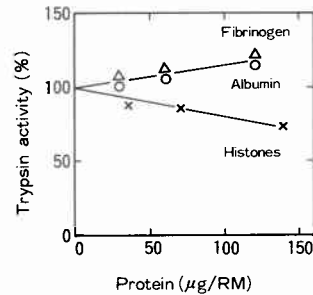


Fig. 2 Effect of various proteins on trypsin assay. Indicated amounts of albumin, fibrinogen and whole histones were added into standard assay system described under "Materials and Methods".



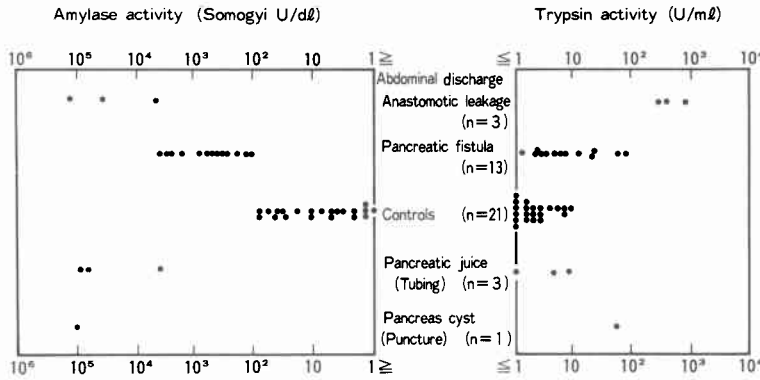
よびフィブリノーゲンでは活性が増加しヒストンでは減少した。したがって BAPA 法によるトリプシン活性は共存するタンパク質の荷電状態によって左右されるようであり、酸性タンパク質では促進され塩基性タンパク質では抑制された。そこで排液中のタンパク質を電気泳動法で分画するとアルブミン分画は35~40%で、グロブリン分画ではα₁が3~10%、α₂が7~19%、βが19~23%、γが17~28%であった。したがって排液中のタンパク質の荷電状態には偏りはなく活性は影響を受けないと思われた。

成績

1) 各種病態下のアミラーゼ活性

対照とした下部消化管手術におけるドレーン排液のアミラーゼ活性は1~7 Somogyi U/dlであった。上部消化管手術であっても明らかな膵液瘻を合併しなかった例のドレーン排液のアミラーゼ活性は9~74 Somogyi U/dlであった。膵液瘻におけるアミラーゼ

Fig. 3 Levels of amylase and trypsin activity in abdominal discharges of patients undergone gastrointestinal surgery at some periods in their postoperative course.



活性は100~4,200 Somogyi U/dlであり、縫合不全では4,800から最高は132,000 Somogyi U/dlにも達した。また膵頭十二指腸切除術で挿入した膵管チューブからの純粋な膵液の活性は3,800~100,000 Somogyi U/dlであった (Fig. 3)。

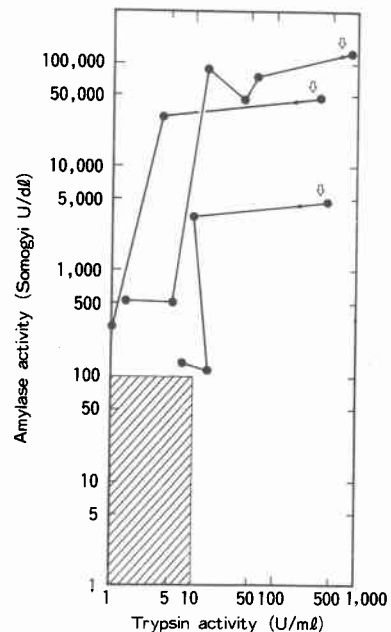
2) 各種病態下のトリプシン活性

対照例におけるドレーン排液のトリプシン活性は0~2U/mlであった。上部消化管手術であっても膵液瘻を合併せず経過良好例の排液の活性は2~10U/mlであった。膵液瘻では最高80U/mlに達したが、最低は1.5U/mlまで幅が広がった。縫合不全のドレーン排液中のトリプシン活性は340~825U/mlであった。なお膵頭十二指腸切除術と膵空腸吻合術の膵管チューブから得た純粋な膵液のトリプシン活性は1~9U/mlであった。しかし図示していないが膵空腸吻合術で膵管チューブが脱落した際に325U/mlを示した (Fig. 3)。

3) 両酵素活性の経時的変化とアプロチニン投与の効果

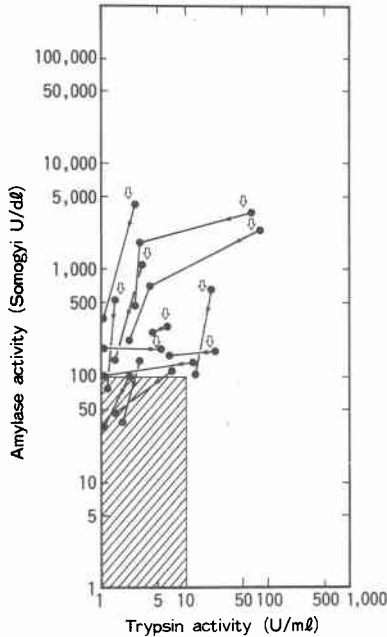
縫合不全3例と膵液瘻13例でのドレーン排液中の両酵素活性の経時的変化を Fig. 4, 5 に示した。対照となった膵液が混入していない排液は各図中に斜線で示したトリプシン活性10U/ml以下、アミラーゼ活性100 Somogyi U/dl 未満の範囲にはいていた。Fig. 4の縫合不全3例ではトリプシン活性は340U/ml以上でアミラーゼ活性は4,800 Somogyi U/dl 以上であった。これらの症例ではドレーン排液中の両酵素活性が高値を示した時点でアプロチニンの静脈内投与を開始した (白矢印)。各プロットは一定間隔ではなく排液の外観や量が変化した際に測定しており1~6日の幅があ

Fig. 4 Changes in amylase and trypsin activity levels in abdominal discharge of patients with anastomotic leakage in their postoperative course. Arrows indicate direction of the clinical course. Open arrows indicate beginning of aprotinin treatment. The shaded area means control.



る。アプロチニン投与によってトリプシン活性は急激に低下した。縫合不全の程度によって異なったが、投与開始後1~3日でトリプシン活性が10U/mlに近い値まで低下した。しかし、その間アミラーゼ活性はア

Fig. 5 Changes in amylase and trypsin activity levels in abdominal discharge of patients with pancreatic fistula in their postoperative course. Arrows indicate direction of the clinical course. Open arrows indicate beginning of aprotinin treatment. The shaded area means control.

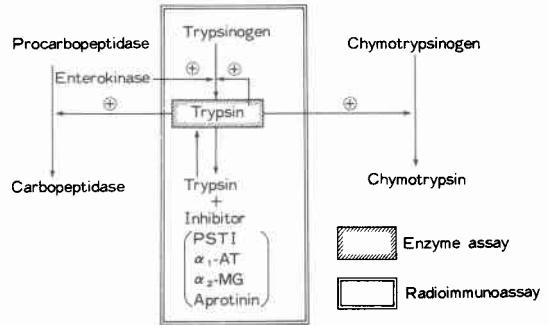


プロチニンの影響をほとんど受けなかった。一方, Fig. 5 に示した膵液瘻ではトリプシン活性が80U/ml 以下でアミラーゼ活性は4,200 Somogyi U/dl 以下であった。トリプシン活性が10U/ml 以上であったり, トリプシン活性は低値であってもアミラーゼ活性が200 Somogyi U/dl 以上の症例ではトリプシンの活性化を予防する意味でアプロチニンを同様に投与した(白矢印)。トリプシン活性は対照値内に留まり, アミラーゼ活性は経過とともに低下した。また急性膵炎による膵嚢胞の穿刺液のアミラーゼ活性は105,000 Somogyi U/dl であった。この症例ではすでにアプロチニンが投与されていたがトリプシン活性は53U/ml と十分には阻害されていなかった。

考 察

術前の栄養管理や消化管吻合の工夫および機械吻合の普及により縫合不全は激減した⁴⁾。ところが膵液瘻は胃癌手術時の膵周囲のリンパ節郭清や膵合併切除を行った際にしばしば遭遇する合併症の1つである。術後管理特に消化器外科のそれに際してドレーン排液の

Fig. 6 Characteristics of enzyme assay compared with radioimmunoassay of trypsin. PSTI: Pancreatic secretory trypsin inhibitor; α_1 -AT: α_1 -Antitrypsin; α_2 -MG: α_2 -Macroglobulin; \oplus : Activation.



性質および量は手術部位の状態を直接伝える最も基本的で重要な情報の1つであるが、排液の色調、臭気、粘調度などの性状から排液の起源や性質を知ることが経験に委ねられている。しかし治療に際しては排液の細菌学的あるいは生化学的検査に頼らざるをえない場合もある。膵臓の研究の発展により膵内・外分泌機構が解明されるとともに各種膵酵素にスペクトルを有する阻害剤が開発されたのにも関わらず、これらの合併症の診断には消化管造影やドレーン排液のアミラーゼ活性を測定する以外に有効な手段はなかった。アミラーゼは膵液混入の指標にはなるが、アミラーゼ自体は組織障害性がなく縫合不全や膵液瘻の重症度は判定しえない。膵液や腸液が腹腔内へ漏出した際に組織障害をもたらすのはトリプシン、キモトリプシン、エラスターゼなどのプロテアーゼやリパーゼであろう。Fig. 6 に示すように膵臓のプロテアーゼの引金役を演じているのはトリプシンであり、自己活性化やキモトリプシンおよびカルボキシペプチダーゼの活性化を行う。ところがトリプシンの活性化は、通常膵臓内では起こらず腸内でエンテロキナーゼによって行われる。膵臓内での病的な活性化を阻害しているのが膵分泌性トリプシンインヒビター (PSTI) である⁹⁾。したがって縫合不全と膵液瘻の鑑別や病態を把握するためにはトリプシン活性も同時に測定する必要がある。近年膵炎の診断のために開発されたトリプシンやエラスターゼのラジオイムノアッセイ (RIA) は、血中では α_1 -アンチトリプシン (α_1 -AT) や α_2 -マクログロブリン (α_2 -MG) と結合して不活化されたこれらの酵素およびトリプシノーゲンやプロエラスターゼとも交差反応

Table 2 Diagnosis of pancreatic fistula and anastomotic leakage using trypsin and amylase activities in abdominal drain discharge after gastrointestinal surgery

	Control	Pancreatic fistula	Anastomotic leakage
Trypsin (U/ml)	-10	-10 (-100 in some cases)	300-1000
Amylase (Somogyi U/dl)	-100	100-4000	-around 100000

をするため、これらの酵素の存在診断にはなってもドレーン排液中の膵液の状態を知る手がかりはえられない。事実 BAPA 法でトリプシン活性が検出できなかった純粋な膵液や中等度活性 (53U/ml) を示した膵嚢胞穿刺液を RIA 法で測定するといずれも 70,000 ng/ml 以上 (血中正常値: 100~400ng/ml) であった。

本研究の結果、古くから用いられてきたアミラーゼは確かに膵液の検出には有用であり、その活性値は膵臓の外分泌機能とはほぼ相関すると思われたが、その絶対値は術後の水分バランスや腹水による希釈の影響を受ける。しかし活性値の経時的変化やトリプシン活性を同時に測定することによって、これらの諸要因が加わっていても病態を明確に把握することが可能となった。すなわち **Table 2** に要約したように縫合不全例ではアミラーゼ活性が 100,000 Somogyi U/dl 前後に達し、トリプシン活性は約 300 から 1,000 U/ml に近い値を呈する。膵断端や術中の膵損傷部より生じた膵液瘻ではアミラーゼ活性が 100 から約 4,000 Somogyi U/dl である。同時にトリプシン活性は 100 U/ml に満たない値であるが、大半は 10 U/ml 以下である。膵液が混入していない対照例では、アミラーゼ活性が 100 Somogyi U/dl 未満でトリプシン活性は 10 U/ml 以下であった。ただしトリプシン活性が 10 U/ml 以下であっても、同時にアミラーゼ活性が高値を示す場合は純粋な膵液が漏出しているか、トリプシンインヒビターによって十分阻害されていることを示唆している。

術後早期の排液は手術部位の情報を比較的正確に伝えるが、排液量が減少したり陳旧化した場合には排液として体外に誘導されるのに時間が経過しており活性値は不正確となるため、むしろ定性的な意味を持つよ

うになると思われる。しかし近年画像診断技術が発達したにもかかわらず質的診断にはまだ限界があり、ここに本法の補助的意義があると思われる。

高トリプシン活性を有する膵液瘻や縫合不全をきたした場合は有効なドレナージが必要不可欠であるが、高カロリー輸液を併用しアプロチニンなどの阻害剤をトリプシン活性を参考にしつつ投与する。その投与方法に関しては全身投与か局所投与かが問題になる。Sailer ら⁶⁾の実験によればアプロチニンを経静脈的に投与しても膵液中の膵酵素活性に対する十分な阻害効果があり、さらに本研究によって膵周囲に漏出したトリプシンに関しても阻害効果が確認された。しかし静脈内投与によって排液水のトリプシン活性の十分な阻害が得られないときには、局所の阻害剤による灌流も有効と思われる。本研究によってドレーン排液中のトリプシンおよびアミラーゼ活性の同時測定の有用性が証明されたが、各酵素活性値のみからは縫合不全に対する保存的治療の限界を予測することは不可能と思われた。

本論文の要旨は第50回日本臨床外科医学会総会において報告した。本研究に際して御助言を賜った大阪医科大学一般・消化器外科岡島邦雄教授に深謝する。

文 献

- 1) 笠原小五郎, 天目純生, 山下裕一: 膵手術患者の術前術後の合併症と対策, 森岡恭彦 編, 術前術後の合併症マニュアル, 第9巻, 日本メディカルセンター, 東京, 1983, p103-135
- 2) 田中龍彦, 斉藤洋一: 血清 PSTI 測定と実験膵炎における検討, 胆と膵 7: 17-25, 1986
- 3) Erlanger BF, Kokowsky N, Cohen W: The preparation and properties of two new chromatogenic substrates of trypsin. Arch Biochem Biophys 95: 271-278, 1961
- 4) 鶴丸昌彦, 宇田川晴司, 小野由雅ほか: 胃癌手術における機械吻合・縫合, 消外 13: 1641-1648, 1990
- 5) 小川道雄: 膵分泌性トリプシンインヒビター, 歴史と展望, 胆と膵 7: 1-7, 1986
- 6) Sailer FX, Schonbach G, Kummel G: Veränderungen der Pankressekretion unter Trasylolwirkung. Langenbecks Arch Klin Chir 316: 513-515, 1966

Clinical Significances of Simultaneous Determination of Trypsin and Amylase Activities in Abdominal Discharge After Gastrointestinal Surgery

Akihide Kitamura, Eiji Nomura, Naobumi Minami and Toru Kawai
Ootori Icho Hospital

Although determination of amylase activity in fluid from abdominal drains is available for the detection of anastomotic leakage and pancreatic fistula, the activity of pancreatic proteases such as trypsin which might play an important role in the cytolysis of surrounding tissues has not been well documented. In this study, we investigated the activities of both trypsin and amylase in the postoperative discharge from abdominal drains after gastrointestinal surgery, as well as in pure pancreatic juice and in fluid from pancreatic cyst complicating acute pancreatitis. Concerning amylase activity, 100 to around 100,000 Somogyi U of activity per dl was seen in anastomotic leakage and pancreatic fistula following upper gastrointestinal surgery. With regard to trypsin activity determined by the method of Erlanger et al., pancreatic juice contaminated with intestinal fluid showed levels of 340~825 U/ml. Although pure pancreatic juice showed less than 10 U/ml of activity, pancreatic fistula ranged from 1.5~80 U/ml. Trypsin activity of less than 10 U/ml, concomitantly with amylase activity of no more than 100 Somogyi U per dl did not indicate the presence of pancreatic juice. Intravenous administration of aprotinin did not inhibit amylase activity but trypsin activity. These results indicate that simultaneous determination of trypsin and amylase activities in the discharge from abdominal drains can be useful in the postoperative management of gastrointestinal surgical patients.

Reprint requests: Akihide Kitamura Ootori Icho Hospital
653-9 Kami, Sakai, 593 JAPAN
