

血清 Leucine Aminopeptidase に関する臨床的研究

〔Ⅱ〕 肝胆道疾患における血清 Leucine Aminopeptidase Isozyme について

金沢大学医学部第二内科学教室(主任 村上元孝教授)

北 島 千 代 吉

(昭和42年7月29日受付)

本論文の要旨は1965年3月第51回日本消化器病学会総会において発表した。

1959年 Markert と Møller¹⁾ は 同一の 基質特異性を有し分子形態の異なる酵素の一群に対して Isozyme と呼ぶべく提案したのにはじまり、いままで量的変動のみを追及してきた臨床酵素学は新しい分野を開拓せんとしている。1955年 Taleisnik ら²⁾ は濾紙を用いて Alkaline Phosphatase (AIP) を電気泳動し、 α_2 - と β -globulin 分画位にその活性帯を認めたのにはじまり、Markert ら³⁾, Vessel ら⁴⁾, Wróblewski ら⁵⁾ によって Lactic Dehydrogenase (LDH) が各臓器で5分面に泳動されることが見出され、その後比較的詳細な検討が加えられ日常臨床検査として利用されているが、その他の酵素 Isozyme に関しては未だ臨床的意義の明確にされたものは少ない。

1958年 Goldbarg ら⁵⁾⁶⁾ により初めて Leucine Aminopeptidase (LAP) 活性が各種疾患で測定され膵頭部癌の診断に価値あることが報告されたが、LAP Isozyme に関しては1960年 Kowlessar ら⁷⁾⁸⁾, Lawrence ら⁹⁾ が澱粉ゲルを用いて血清を電気泳動し、正常人では Post albumin 分画位または fast α_2 分画位と post albumin 分画位の間に単一の活性帯を示すが、病的血清では2~3本の活性帯の出現する事実を報告した。その後濾紙¹⁰⁾, セルローズアセテート膜¹¹⁾による電気泳動や、DEAE セルローズカラムクロマトグラフィ¹²⁾による分離が行なわれ、本邦においても和嶋¹³⁾¹⁴⁾¹⁵⁾, 小川¹⁶⁾¹⁷⁾¹⁸⁾, 小野¹⁹⁾²⁰⁾ が寒天ゲルを用いて LAP を電気泳動し臨床的考察を行なっている。

著者は寒天ゲル電気泳動法を用い L-leucyl- β -naphthylamide hydrochloride (LNA) を基質として

組織化学的染色法により LAP Isozyme を検出し、肝胆道系疾患における臨床的意義について述べたいと思う。

材料および方法

I. 実験材料

正常人10例、各種肝炎100例、肝硬変症32例、肝癌44例、その他肝疾患12例、膵頭部癌15例を含む各種胆道閉塞58例、その他の膵疾患6例の計262例について行なった。尿は流水中で一夜透析したのち Sephadex G50 で1/4容量まで濃縮したものを実験に供した。臓器片は手術時、剖検時入手したものについて蒸留水で10倍の homogenate を作製し、さらに 10,000 G, 20分遠心し、その上清を材料に供した。

II. 寒天電気泳動法

LAP Isozyme の検出法はさきに述べた如く各種支持媒質が用いられているが、何れも操作が煩雑で長時間を要し多数例の検出には困難で日常臨床検査に適當でなく、その点、寒天ゲルは比較的各種の条件を満たしたので、Wieme の方法²¹⁾に準じ寒天ゲル電気泳動を行なった。

1. 緩衝液の調製

緩衝液は泳動槽と支持媒質のゲル緩衝液のイオン強度および組成の異なった discontinuous buffer system が Poulik²²⁾ によって創始され、すぐれた解像力が得られるところから著者も本法に準じた。すなわち、ゲル調製用には 0.038 M トリス + 0.0026 M クエン酸, pH 8.8, 緩衝液槽用には 0.3 M 硼酸 + 0.05 M 苛性ソーダ, pH 8.45 を調製した。

2. 寒天ゲル層の調製

Clinical Study of Serum Leucine Aminopeptidase (II) Clinical Value of Serum Leucine Aminopeptidase Isozyme in Patients with Hepatobiliary Disease Chiyokichi Kitashima, Department of Internal Medicine (II) (Director: Prof. M. Murakami) School of Medicine, Kanazawa University.

寒天ゲル用トリス・クエン酸緩衝液に1%の割合に noble special agar (Difco) を混入し、同時に寒天ゲル層中の電気浸透現象を抑え泳動像の分離をよくする目的で萩田ら²³⁾にならい3%の割合に polyvinyl pyrrolidone K90, を添加し加熱溶解したのち水平板に並べられたスライドガラスにピペットで3ml宛のせ室温に放置し固形化したのち使用に供した。実験に際しては上記寒天ゲル板を毎回作った。

3. 試用の添加

試料は Yakulis ら²⁴⁾の方法に準じ寒天板に泳動方向と直角に5mm幅の溝を作うくり、マイクロペットを用いて5 μ lの試料を正確に添加した。本法ではペロナール緩衝液の場合と異なり試料の大部分が陽性側に移動するため溝は寒天板の陰極側より2cmの個所にもうけた。

4. 電気泳動

泳動は富士式寒天電気泳動装置 TY-4 型の装置を用い寒天板を4枚同時に乗せ(1.2 mA/1 cm 幅)30分間泳動した。なお実験はすべて15°C以下で行なわれるように工夫した。

5. 発色及び固定

泳動後取出した寒天板は小川ら¹⁶⁾の方法に準じて下記基質色素混合溶液内で37°C, 2時間 incubate すると活性部位に相当して赤色の活性帯が現われた。なお他の1枚は泳動後アミドブラック10Bで蛋白染色を行ない活性帯の分画位判定に供した。固定は何れも3%氷醋酸にて充分脱色固定したのち乾燥した。

LAP 基質・色素混合溶液

基質 L-leucyl- β -naphthylamide
(40 mg/dl) 液.....10 ml
磷酸緩衝液 0.1 M, pH 6.8.....20 ml
Fast garnet GBC.....8 mg

Ⅲ. 酵素活性の測定

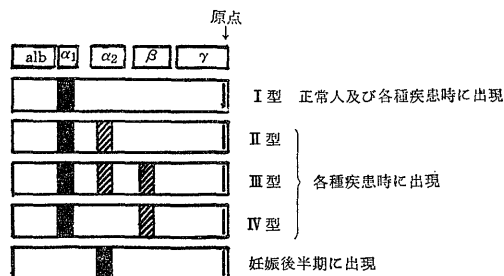
LAP は L-leucyl- β -naphthylamide hydrochloride を基質として Goldbarg 法⁵⁾に、GPT は Reitman-Frankel 法²⁵⁾に、AlP は Bessey-lowry 法²⁶⁾により測定した。

実験成績

I. 血清 LAP Zymogram

泳動結果は図1に示す如く、血清においては大体3本の活性帯に大別された。すなわち α_1 -globulin 分画位に第1峰の活性帯(α_1 -LAP)が認められ、時により α_2 -globulin 分画位(α_2 -LAP), β -globulin 分画位(β -LAP)にも活性帯が検出されたが、著者は便

図1 血清 LAP Zymogram



宜上その出現の相違からこれを4型に分類した。すなわち血清の泳動像において α_1 -LAP 一つのものをI型, α_1 -LAP と α_2 -LAP の2本の活性帯が同時に認められるものをII型, α_1 -LAP, α_2 -LAP, β -LAP の3本の活性帯が同時に認められるものをIII型, α_1 -LAP と β -LAP の2本の活性帯のみ認められるものをIV型と仮称することにした。そのうちI型は正常人血清で常に認められたが、その他のII, III, IV型は正常人には認められず、各種疾患時に出現したのでこれを病的 Isozyme と呼称した。

何れの型においても α_1 -LAP が最強に発色し α_2 -, β -LAP の発色は弱かったが、その程度、活性帯の拡がりなどに幾分の相違があり、ことに β -LAP は2峰に分裂したり γ -globulin 分画位まで幅広く出現することもあったが、その差異についての意義づけはできなかった。なお妊娠血清は妊娠前半期ではI型を示し、妊娠後半より末期に至って α_2 -LAP のみの1本の活性帯として出現し各種疾患時にも認められない独特の Pattern を示した。

その他、血清 LAP Zymogram で β -LAP のみ出現する例はなかった。

Ⅱ. 正常人および各種肝胆道系疾患における血清 LAP Zymogram

1. 正常人10例の Zymogram はすべてI型を示した。

2. 急性流行性肝炎51例、血清肝炎7例、慢性肝炎25例、細胆管性肝炎6例および薬剤肝障害11例の計100例についての成績は表1に示す如く、I型を示したものの76例(76%)、II型を示したものの14例(14%)、III型10例(10%)であった。このうちII, III, IV型の所謂病的 Isozyme は慢性肝炎、血清肝炎、急性流行性肝炎において出現傾向が低かったのに反し、薬剤肝障害では36.4%に、細胆管性肝炎では全例にII, III型を示し、とくに後者では6例中5例にIII型が認められた。またIV型は1例もみられなかった。

3. 肝脾腫症候群2例、ヘモクロマトーシス1例を

表1 肝疾患における血清 LAP Zymogram

疾 患 名	例 数	活 性 値	I 型	II 型	III 型	IV 型
急 性 肝 炎	51	502~153	40	8	3	
慢 性 肝 炎	25	425~96	23	2		
血 清 胆 炎	7	582~200	6	1		
細 胆 管 性 肝 炎	6	780~382		1	5	
薬 剤 肝 障 害	11	715~282	7	2	2	
肝 硬 変	32	368~101	31	1		
原 発 性 肝 癌	21	1094~300	1	1	17	2
転 移 性 肝 癌	23	1006~249	3	3	16	1
う っ 血 肝	7	262~91	6	1		
体質性過ビリルビン血症	3	216~113	3			
肝 ジ ス ト マ 症	1	184	1			
脂 肪 肝	1	607		1		

表2 胆道、膵疾患における血清 LAP Zymogram.

疾 患 名	例 数	活 性 値	I 型	II 型	III 型	IV 型
良 性 胆 道 疾 患	34	1060~96	14	11	9	
悪 性 胆 道 疾 患	9	1160~177	1	2	6	
膵 頭 部 癌	15	1060~211	2		5	8
良 性 膵 疾 患	6	308~96	6			

含む肝硬変症32例ではII型を示したものの1例にすぎず、その他はすべてI型に止まった。

4. 原発性肝癌21例、転移性肝癌23例の計44例においては表1に示す如くI型4例(9%)にすぎず、II型4例(9%)、III型33例(75%)、IV型3例(6.8%)と90%以上に病的 Isozyme が出現し、ことにIII型75%とその占める割合は大きく、しかもIII型33例中6例は黄疸が認められず黄疸の未だ出現しない時期にすでに Zymogram に変化を示した。なお肝転移の証明されなかった癌患者30例の Zymogram はすべてI型を示した。

5. その他、うっ血肝7例、体質性過ビリルビン血症3例、肝ジストマ症1例、脂肪肝1例では表1に示す如くうっ血肝1例、脂肪肝1例にII型を示したほかI型を呈した。

6. 肝外性閉塞性黄疸のうち良性胆道閉塞34例、膵頭部癌15例、十二指腸乳頭部癌1例を含む悪性胆道閉塞24例および良性膵疾患6例の計64例についての結果は表2に示す如く、良性胆道閉塞34例中黄疸指数(I. I.) 10以下の13例ではII型を示したものの2例にすぎず、その殆んどはI型に止まったのに反し、I. I. 11以上の21例では3例にI型を示したほかすべてII、III型を示し、II型とIII型の割合はほぼ同数であった。な

お本症例中手術その他により原因の除去されたものは約1週でI型に復帰した。

悪性胆道閉塞のうち I. I. 11以上の6例はすべてIII型を示し、I. I. 10以下の3例ではII型2例、I型1例であった。膵頭部癌15例中5例はIII型、8例はIV型を示したがIV型のうち2例はI. I. 10以下であった。またIV型を示した1例において胆管十二指腸吻合術を施したところ約1カ月でI型に復帰していた。

膵炎5例、膵囊腫1例の計6例の良性膵疾患ですべてはI型を示し膵囊腫貯溜液もI型を示した。

III. 血清 LAP Zymogram と各種肝機能検査との関係

1. 血清 LAP との関係は表3に示す如く LAP 活性 200 u 以下の正常群54例ではI型を示すもの51例(94.4%)、II型3例(5.6%)にすぎなかったが、LA

表3 血清 LAP 活性との関係

LAP	例数	I 型	II 型	III 型	IV 型
200 u 以下	54	51	3		
201~399 u	107	76	18	11	2
400 u 以上	91	17	13	52	9

P 活性の上昇に伴って II, III, IV型が増加し 400 u 以上の91例では74例 (81.3%) に病的 Isozyme が出現し, そのうち52例 (71.2%) がⅢ型を示した.

2. 黄疸指数 (I. I.) との関係は表 4 に示す如く I. I. 10 以下の 74 例中 16 例 (21.6%), I. I. 11~30 の 81 例では 39 例 (48.1%), I. I. 31 以上の 97 例では 53 例 (54.6%) に病的 Isozyme がみられたが, 病的 Isozyme 各型の割合は I. I. 30 以下と I. I. 31 以上の例において有意の差はなかった.

3. 血清 GPT 活性との関係は表 5 に示す如く GPT 40 u 以下の 69 例では 21 例 (30.4%), GPT 41~199 u の 99 例中 49 例 (49.4%), GPT 200 u 以上の 84 例中 38 例 (45.2%) に病的 Isozyme がみられたが, GPT 199 u 以下と 200 u 以上との間に差はなかった.

4. 血清 AIP との関係は表 6 に示す如く AIP 3 u 以下の 54 例中 I 型を示すもの 47 例 (87%) に対し, AIP 10 u 以上では 37% と半減し, 逆に AIP 10 u 以上の 73 例中 46 例 (63%) に病的 Isozyme が出現し, AIP 3~9.9 u と 10 u 以上において II 型と III 型の出現する割合も 1:1 から 1:6.6 と有意の相関をみた.

5. BSP との関係は表 7 に示す如く少数例の結果であるが BSP 5% 以下では全例 I 型に止まり BSP 15% 以下では 23 例中 5 例 (21.7%) に, BSP 16% 以上では 32 例中 22 例 (68.7%) に病的 Isozyme の出現をみた.

IV. 臓器および体液の LAP Zymogram

図 2 に示す如く肝においては α_1 -LAP のみ現われ, しかもその発色程度は弱かった. 胆嚢壁は肝におけると同じく α_1 -LAP のみ認められたが, 脾では α_2 -LAP と β -LAP の 2 本の活性体を示し β -LAP が濃染するに反し α_2 -LAP の活性は低かった. 十二指腸においては β -LAP 活性帯のみ示し, 腎は α_2 -LAP 活性帯を示したが, 尿においては腎と全く同様な pattern を示し, 尿 Zymogram は疾患の如何を問わず常に同一であった. 胆汁においては胆嚢内胆汁と十二指腸ゾンデにより採取されたそれとは態度を異にし, 前者では α_1 -LAP 活性帯 1 本を示すに反し, 後者では α_1 -LAP と β -LAP の 2 本の活性帯を示

表 4 黄疸指数との関係

I. I.	例数	I 型	II 型	III 型	IV 型
10 以下	74	58	8	8	
11 ~ 30	81	42	12	24	3
31 以上	97	44	14	31	8

表 5 血清 GPT 活性との関係

GPT	例数	I 型	II 型	III 型	IV 型
40 u 以下	69	48	8	9	4
41~199 u	99	50	14	29	6
200 u 以上	84	46	12	25	1

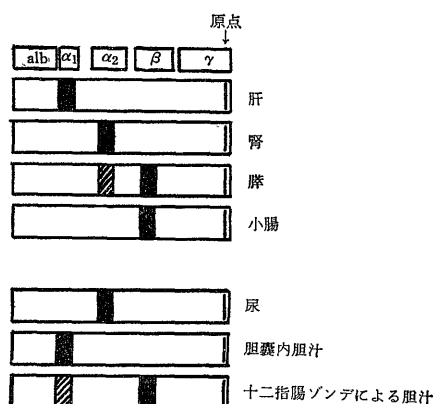
表 6 血清 AIP との関係

AIP	例数	I 型	II 型	III 型	IV 型
3 u 以下	54	47	4	3	
3~9.9 u	73	46	12	12	3
10 u 以上	73	26	6	33	8

表 7 BSP との関係

BSP (%)	例数	I 型	II 型	III 型	IV 型
5 以下	4	4			
6 ~ 15	23	18	2	2	1
16 以上	32	10	8	10	4

図 2 臓器及び体液 LAP Zymogram



した.

なお臓器 LAP Zymogram では何れも試料添加溝に若干の活性が認められた.

総括並びに考察

Leucine Aminopeptidase (LAP) Isozyme の定義に関してはその基質特異性が明確でなく, とくに L-leucyl- β -naphthylamide (LNA) は所謂 LAP でない他の酵素によっても分解される可能性があると言われ²⁷⁾²⁸⁾, 明渡ら²⁹⁾も降矢らの実験成績からこの点を指摘して LAP Isozyme の存在を疑っているが, kowlessner らは⁷⁾⁸⁾ LAP Isozyme の存在を暗示する報告を行ない, 和嶋³⁰⁾はその実験成績から肯定して

よいとしている。小野ら³¹⁾は LAP に関しては Isozyme という名称はつけられるべきではなく複合酵素群の電気泳動所見とでも言った方がよいと述べている。著者はその言葉の可否は別として LAP Isozyme を広義の意味で取入れ、寒天ゲル電気泳動法を用いて血清を泳動し LNA 発色基質を用いて得られた LAP Zymogram について主として肝胆道系疾患における態度を検討したいと思う。

さきに述べた如く泳動帯はその支持媒質により幾分異なるが、濾紙電気泳動法¹⁰⁾³²⁾ではほぼ寒天ゲルと同様の pattern が得られるが、連続濾紙電気泳動法を用いた辻井³³⁾の成績では幾分の相違がみられ、セルローズアセテート膜を使用した Meade ら¹¹⁾の実験では β -, γ -globulin 分画位に相当する LAP 活性帯は余り明確でなく著者の少数例の検討³⁴⁾でも寒天ゲルほど分離が明確でなかった。その他澱粉ゲルを用いた方法は比較的明瞭な多数の分離が得られる⁷⁾とされているが臨床検査として行なうには簡便とは言え難く、その点寒天ゲルの方法は種々の点で利用価値があるとみられる。

ところで、電気泳動で得られる血清 LAP Zymogram について Schobel ら³⁵⁾は澱粉ゲルを用いて 9本の活性をみた述べて、小川らも³⁶⁾寒天ゲルで9本の活性帯を得られたと報告している。著者は寒天ゲルを用いて各分画位の活性帯が時に2～3本に分離した症例をみたがその判別は困難なことが多く、便宜上これを α_1 -LAP、 α_2 -LAP、 β -LAP の3つの活性帯に大別し、血清においてはその出現の型により次の4型に分類した。すなわち、 α_1 -LAP のみのものをⅠ型、 α_1 -LAP + α_2 -LAP をⅡ型、 α_1 -LAP + α_2 -LAP + β -LAP をⅢ型、 α_1 -LAP + β -LAP をⅣ型と仮称した。

正常人血清は常にⅠ型を示したがこれは寒天ゲル¹³⁾¹⁶⁾、セルローズアセテート膜¹¹⁾、濾紙¹⁰⁾を用いた諸家の成績と一致したが、Bebal ら¹²⁾は DEAE セルローズカラムクロマトグラフィーで4分画に分かれ、Schobel ら³⁵⁾は澱粉ゲルで1～2本の活性帯を報告している。以上の相違は支持媒質の種類、試料の量、泳動条件などにより幾分左右されるものと思われる。

肝炎においてはⅠ型が多くみられ、著者の成績では肝炎100例中76%に、和嶋¹⁴⁾は76例中64%に著者の言うⅠ型を認め、小川ら¹⁶⁾は肝炎21例中47%にⅠ型、53%に病的 Isozyme をみたとしている。しかしその場合Ⅱ、Ⅲ型にみられる α_2 -LAP、 β -LAP の活性帯は非常に弱いと述べている。

主として肝炎などの肝実質性障害ではⅡ、Ⅲ型の出

現傾向は少なく血清 LAP 活性の高度な場合でもⅠ型を示し α_1 -LAP 活性帯の染色程度が増強するに止まり、必ずしも血清 LAP 活性の上昇と LAP Isozyme pattern のⅡ、Ⅲ、Ⅳ型の出現とは併行しなかった。また肝実質の障害度とも一致せず重症型肝炎でも殆んどⅠ型を示した。しかし胆汁流出障害を強く反映するとみられる細胆管性肝炎ではⅢ型を示す例が多く、本症と肝外性閉塞性黄疸との鑑別には役立たないと考えられる。

慢性肝炎、肝硬変症など比較的血清 LAP 活性上昇の軽度のものでは諸家の成績と同じくⅠ型が多くみられ病的 Isozyme の出現率は低い傾向を示した。

肝癌においては原発性と転移性を問わず殆んどⅢ型を示し、黄疸の有無に拘らずこの傾向が何れも諸家の報告¹⁵⁾³¹⁾³⁶⁾にもみられる如く血清 LAP 活性と相関しない例もみられた。

すなわち著者は肝癌血清 LAP 軽度上昇6例中5例にⅢ型を認めたが、転移性肝癌においてかかる病的 Isozyme が他の肝機能検査成績に先立って出現することから肝転移の早期診断法として利用しうると考えられる。

肝外性閉塞性黄疸においても肝癌と同様高率に病的 Isozyme がみられ、著者の成績では良性胆道閉塞ではⅡ型とⅢ型を示す割合は同一であったが、悪性例ではⅡ型よりⅢ型を示す割合が大きかったことは小川ら¹⁷⁾も説く如く病的 Isozyme の出現はその閉塞が完全でなくともある期間持続する時により強く出現するものと考えられる。胆石症でも閉塞症状を伴わないかまたは短期間の例ではⅠ型に止まる度が多く、病的 Isozyme が出現してもその原因を除去するとⅠ型に復帰したが、かかる現象は悪性腫瘍例にもみられ、癌を除去しなくとも手術により胆道腸吻合術を行なうときⅠ型に復帰したことから病的 Isozyme の出現は悪性腫瘍と直接の関係はないと思われる。

高橋ら³⁷⁾はかかる病的 Isozyme の出現に関しては悪性腫瘍とは関係なく胆汁うっ滞が肝への刺激となり肝実質より LAP が血中に混入するためと説明し閉塞に特有な Isozyme は β -LAP であると主張している。

脾頭部癌においてはⅡ型は出現せずⅢ型よりⅣ型を示す割合が大きかったが、脾ホモジネートでは主として β -LAP が主活性帯を示すこととその閉塞部位より考えて脾管の流出障害が血中に強く反映したとも想定され、かかるⅣ型の出現は脾頭部癌への疑いをより大きくするとみてよい。Schobel ら³⁵⁾は澱粉ゲル電気泳動により脾源性疾患では β -LAP が必ずみられ

ると述べられているが、著者の肺炎、脾嚢腫などの脾実質性障害とみられる疾患では何れもⅠ型にとどまった。しかし同じ澱粉ゲル電気泳動でも *alanyl- β -naphthylamide* を用いた Dubbs ら³⁸⁾ の成績では慢性肺炎に5本の活性帯をみたと述べている。

次にかかる病的 *Isozyme* の出現と血清 LAP 活性との関係をみるに血清 LAP が増加すると病的 *Isozyme* の出現率が増加する傾向を示したが、著者の成績では血清 LAP 400 u 以上のうちその20%においてⅠ型を示したことから単に血清 LAP の量的な問題だけから説明し難い。またビリルビンとの関係についても黄疸指数 (I. I.) の程度からみた場合その増加はある程度病的 *Isozyme* の出現に関係するとみられる成績を得たが、I. I. 11~30 と I. I. 31以上との間に有意の差はなく、I. I. 10以下の74例においても16例 (21.6%) に病的 *Isozyme* をみたことから黄疸の増強がその出現に影響しているとも考え難い。脾実質障害を反映するとみられる血清 GPT 活性との関係についても幾分の関係が認められるが、GPT 41~199 u と 200 u 以上とに大差のない点から病的 *Isozyme* の出現にはそれほど強い障害を必要としないとも考えられる。血清 AIP, BSP についても血清 LAP 活性とはほぼ同様な傾向が伺われたが、以上の諸観点よりみて病的 *Isozyme* の出現は種々の要因が互に関連してはじめて現われるものと考えられる。

最後に血清 LAP *Isozyme* と各臓器ホモジネートとの関係についてみるに、LAP は LDH にみられる如き臓器由来が明確でなく、諸家により種々推測されている現状であるが、強いて言えば、血清、肝、胆嚢胆汁の *Zymogram* は α_1 -LAP 活性帯を示すところから、肝炎など脾実質障害の疑われる疾患では、主として肝細胞より由来する α_1 -LAP が血中に増量するとも推定される。

Ⅱ, Ⅲ型にみられる α_2 -LAP 活性帯は腎に認められ、その他わずかに脾に見出されるが、肝胆道閉塞時に増加した α_2 -LAP の由来臓器を説明することはできない。さらに妊娠後半期にみられる α_2 -LAP についても、肝胆道疾患時の α_2 -LAP との酵素学的性質の異同はいまだ判明していない。

脾頭部癌に主としてみられたⅣ型の β -LAP は脾および十二指腸の *Zymogram* にみられるところから、本疾患では幾分その由来臓器を関係づけられなくもないが、その他疾患に出現する β -LAP については全く不明といつてよい。

以上の如く血清 LAP *Isozyme* はその由来臓器が明確でなく、また肝胆道疾患で病状の増悪につれて活

性帯が増加し、原因を除くと正常型に戻るところから Kowlessar ら⁸⁾ は脾実質細胞の障害、胆汁のうつ滞が LAP の酵素変異を起さしめるため病的 *Isozyme* として出現するものと推測しているが、著者も本臨床成績からこれを肯定してよいと考える。

結 論

主として肝胆道系疾患 252 例について血清を寒天電気泳動法を用いて泳動し、*L-leucyl- β -naphthylamide hydrochloride* を基質として組織化学的染色法により血清 *leucine aminopeptidase* (LAP) *isozyme* を検出し、次の結果を得た。

1) 血清 LAP *Isozyme* は α_1 -, α_2 -, β -globulin 分画位に活性帯が認められ、著者はこれをⅠ型 (α_1 -globulin 活性帯)、Ⅱ型 ($\alpha_1 + \alpha_2$ -globulin 活性帯)、Ⅲ型 ($\alpha_1 + \alpha_2 + \beta$ -globulin 活性帯)、Ⅳ型 ($\alpha_1 + \beta$ -globulin 活性帯) の4型に分類した。

2) 正常人はすべてⅠ型を示した。

3) Ⅰ型は肝炎、肝硬変症などの脾実質障害に多くみられ、血清 LAP が増量してもⅡ型、Ⅲ型の出現は多くなかった。しかし、細胆管性肝炎では殆んどⅢ型を示した。

4) Ⅱ型、Ⅲ型は閉塞性黄疸に出現する傾向が強く、良性胆道疾患ではⅡ型とⅢ型がみられたが、悪性胆道疾患ではⅢ型が多くみられた。

5) 原発性および転移性肝癌では殆んどⅢ型が示し、肝胆道系以外の癌はすべてⅠ型を示した。なお転移性肝癌において血清 LAP 活性の軽度上昇および無黄疸時に、すでにⅢ型を示した例がみられたことから、LAP *Isozyme* が癌の肝転移の早期診断に価値あるものと考えられる。

6) Ⅳ型は脾頭部癌15例中8例 (53%) にみられ、他疾患に比しその出現率は大きかった。また、Ⅱ型は本疾患ではみられなかった。

7) 妊娠前半期では全例Ⅰ型を示し後半期では α_2 -globulin 分画位に1本の活性帯がみられた。

8) 血清 LAP *Isozyme* 各型と血清 LAP 活性、AIP, GPT, BSP および黄疸指数とは相関がなかった。

9) 血清 LAP *Isozyme* と臓器ホモジネート LAP *isozyme* との間に密接な関係はなかった。

なお稿を終るに臨み、御指導と御校閲を賜りました恩師村上教授に深甚の謝意を捧げるとともに、終始御助言と御協力を頂いた泊博士、小原博士、八木博士、川岸博士、平沢学士、篠崎学士、高橋学士に謝意を表します。

文 献

- 1) Markert, C. L. & Møller, F. : Proc. Nat. Acad. Sci., 45, 753 (1959).
- 2) Taleisnik, S., Paglini, S. & Zeitune, V. : Compt. rend. Soc. biol., 149, 1790 (1955).
- 3) Vesell, E. S. & Bearn, A. G. : J. Clin. Invest., 40, 586 (1961).
- 4) Wroblewski, F. & Gregory, K. F. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 94, 912 (1961).
- 5) Goldbarg, J. A. & Rutenburg, A. M. : Cancer, 11, 283 (1958).
- 6) Rutenburg, A. M., Goldbarg, J. A. & Pineda, E. P. : NewEng. J. Med., 259, 469 (1958).
- 7) Kowlessar, O. D., Haeffner, L. J. & Sleisinger, M. M. : J. Clin. Invest., 39, 671 (1960).
- 8) Kowlessar, O. D., Haeffner, L. J. & Riley, E. M. : Ann. N. Y. Acad. Sci., 94, 836 (1961).
- 9) Lawrence, S. H., Melnick, P. J. & Welmer, H. E. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 105, 572 (1960).
- 10) Smith, E. L., Pineda, E. P. & Rutenburg, A. M. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 110, 683 (1962).
- 11) Meade, B. W. & Rosalki, S. B. : J. Clin. Path., 17, 61 (1964).
- 12) Behal, F. J., Kanavage, C. B., & Hamilton, R. D. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 109, 411 (1962).
- 13) 和嶋 毅・高橋 浩 : 医学と生物学, 68, 101 (1964).
- 14) 和嶋 毅 : 医学と生物学, 70, 15 (1965).
- 15) 和嶋 毅 : 医学と生物学, 70, 70 (1965).
- 16) 小川保一・松谷 衛 : 日本臨床, 23, 309 (1965).
- 17) 小川 保一・松谷衛・吉川昭三・池尻通夫・城智彦・大谷 博・石田正典 : 内科, 18, 332 (1966).
- 18) 小川保一・松谷 衛 : 日本臨床, 24, 565 (1966).
- 19) 小野 猛・江藤公喜 : 医学と生物学, 71, 32 (1965).
- 20) 小野 猛・江藤公喜 : 臨床病理, 13, 679 (1965).
- 21) Wieme, R. J. : Clin. Chim. Acta., 4, 317 (1959).
- 22) Poulik, M. D. : Nature, 180, 1477 (1957).
- 23) 萩田善一 : 代謝, 2, 246 (1965).
- 24) Yakulis, V. J., Heller, P., Josephson, A. M. & Singer, L. : Amer. J. Clin. Path., 34, 28 (1960).
- 25) Reitman, S. & Frankel, S. : Amer. J. Clin. Path., 28, 56 (1957).
- 26) Bessey, O. A., Lowry, O. H. & Brock, M. J. : J. Biol. Chem., 164, 321 (1946).
- 27) Behal, F. J., Hamilton, R. D., Kanavage, C. B. & Kelly, E. C. : Arch. Biochem., 100, 308 (1963).
- 28) Oconnell, W. & Winzler, R. J. : Cancer. Res., 23, 78 (1963).
- 29) 明渡 均・乾 之治・萩平 博 : 日本臨床, 22, 103 (1964).
- 30) 和嶋 毅 : 医学と生物学, 71, 39 (1965).
- 31) 小野 猛・江藤公喜 : 代謝, 2, 44 (1965).
- 32) 三浦 克朗 : 日消会誌, 62, 1215 (1965).
- 33) 辻井 正 : 臨床病理, 8, 605 (1966).
- 34) 北島千代吉 : 未発表.
- 35) Schobel, B. & Wewalka, F. : Klin. Wschr., 40, 1048 (1962).
- 36) 小川保一・吉川昭三・池尻通夫・城 智彦・大谷 博・石田正典 : 日消会誌, 63, 1380 (1966).
- 37) 高橋 浩 : 臨床病理, 14, 417 (1966).
- 38) Dubbs, C. A., Vivonia, C. & Hilburn, J. M. : Nature, 191, 1203 (1961).

Abstract

Serum leucine aminopeptidase (s-LAP) isozymes were studied in 252 patients with a variety of hepatobiliary diseases by means of agar gel electrophoresis and consecutive histochemical staining technique using L-leucyl- β -naphthylamide hydrochloride as substrate.

The results were summarized as follows.

- 1) S-LAP activities were demonstrated in the α_1 -, α_2 -, and β -globulin fractions. The electrophoretic patterns of LAP isozymes were grouped into the following four types according to the localization of the enzyme activities :
 - Type I: α_1 -globulin fraction
 - Type II: α_1 -, plus α_2 -globulin fraction
 - Type III: α_1 -, plus α_2 -, plus β -globulin fraction
 - Type IV: α_1 -, Plus β -globulin fraction

- 2) All of the sera from normal subjects showed Type I.
- 3) In hepatic disorders such as hepatitis and hepatic cirrhosis, Type I was predominant and Type II, III or IV was scarcely detected even when s-LAP activity was increased. However, most cases of cholangiolitic hepatitis showed Type III.
- 4) There was a great tendency for obstructive jaundice to show Type II or III. In benign biliary diseases Type II and III were observed in almost the same incidence, while in malignant biliary diseases Type III was regularly observed.
- 5) Hepatic carcinomas showed Type III and all carcinomas other than hepatic carcinomas showed Type I.

In some cases of metastatic hepatic carcinoma Type III was observed even in the early stage of the disease when the increase in s-LAP activity was slight and no jaundice was demonstrable. So it was suggested that analysis of LAP isozymes could be a useful aid for the early diagnosis of metastatic hepatic carcinoma.

- 6) Type IV was detected in 8 out of 15 patients with carcinoma of the head of pancreas. The incidence of Type VI in this disease was higher than that in any other diseases. Type II was not detected in this disease.
- 7) In early pregnancy the electrophoretic pattern of LAP was similar to that observed in normal serum, while during the third trimester LAP activity was demonstrable in the α_2 -globulin.
- 8) There was no correlation between pattern of s-LAP isozymes and s-LAP activity or any of the conventional liver function tests such as alkalinephosphatase, transaminase, bromsulphalein retention test and icterus index.
- 9) There was no correlation between s-LAP isozymes and those of the affected tissues.