

肝疾患ならびに悪性腫瘍における血清 γ -Glutamyl Transpeptidase 活性に関する研究

〔I〕 肝疾患における血清 γ -Glutamyl Transpeptidase の臨床的意義について

金沢大学医学部第二内科学教室(主任 村上元孝教授)

八 木 泰 夫

(昭和41年2月11日受付)

本論文の要旨は国際肝臓研究会第6回日本支部総会において発表した。

1954年 Wróblewski ら¹⁾ が血清 Glutamic Oxaloacetic Transaminase (GOT) が心筋硬塞発作に際し著明な上昇を示すことを報告して注目を集めて以来、これを契機として血清中に存在する酵素系に関する研究が急速に進展し、その変動の臨床的ならびに病態生理学的意義の解明に多くの努力がなされつつある。

ことに肝疾患の診断及び予後の判定にさいし従来の肝機能検査法に加えて、血清 GOT²⁾³⁾、血清 Glutamic Pyruvic Transaminase (GPT)²⁾³⁾、血清 Alkaline Phosphatase (AIP)⁴⁾、血清 Cholinesterase (ChE)⁵⁾ などの測定が広く臨床にとり入れられ、従来の肝機能検査法では捕捉し得ないような変化をも知り得ることから、現在では定例肝機能検査法となっているが、未だに慢性肝炎と肝硬変症、肝硬変症と肝癌、閉塞性黄疸と細胆管性肝炎などの鑑別診断など、生化学的検査法には要求される未開の分野が多く、さらに多くの血清酵素の肝疾患時における変動の意味づけの追求がなされつつある。

その中で新しく注目を集め始めている酵素の1つとして γ -Glutamyl Transpeptidase (γ -GT) がある。すなわち Szewczuk と Orłowski⁶⁾ が1960年新しい合成呈色基質 γ -Glutamyl Aminopropionitrile を使って、血清中でのその活性を測定し、以来血清中の γ -GT 活性についての測定結果は彼ら一派の数回にわたる報告⁷⁾⁻¹⁰⁾ に加えて、Goldbarg 一派¹¹⁾⁻¹⁵⁾、Gibinski 一

派¹⁶⁾⁻¹⁹⁾、その他²⁰⁾⁻²²⁾ の報告がみられるようになり、組織化学的証明法²³⁾⁻²⁵⁾ の報告も散見される。

本邦でも高杉及び及川ら²⁶⁾⁻²⁸⁾、鳴戸ら²⁹⁾ 及び著者ら³⁰⁾⁻³³⁾ の報告がみられ臨床的実験的検討が加えられてきているが、何分にも臨床的応用の試みが始められてから日も浅く、いまだ未解決の問題が多く残されている。よつて諸種の新しい合成呈色基質を使用し、一般検査室でも応用可能のように測定法について検討を加えたのち、諸種肝疾患々々での血清 γ -GT 活性を測定したので、その結果を報告する。

実験材料及び実験方法

〔I〕 臨床材料

肝疾患223例、健康人対照男女各25例で、約800検体について施行した。

採血は通常早朝空腹時に乾燥注射器で行ない、早急に血清分離を行ない、その血清について γ -GT 酵素活性を測定した。氷室保存1週間以内で、殆んど活性値の変動をきたさない(表1)が、できるだけ速かに測定した。

〔II〕 動物実験

1. 四塩化炭素急性肝障害

10羽の成熟雄家兎に20%四塩化炭素オリーブ油溶液を1ml/kg あて腎筋内に注射して急性肝障害を起させ、経時的に採血し、1, 2, 3, 5, 10日目に採取した肝臓片を蒸留水で10倍のホモジネートを作製し実験に

Study of serum γ -Glutamyl Transpeptidase in Patients with Hepatobiliary Diseases and Malignant Tumor. 1) Clinical Significance of γ -Glutamyl Transpeptidase Activity in Patients with Hepatobiliary Pancreatic Disease. Yasuo Yagi, Department of Internal Medicine (II) (Director: Prof. M. Murakami), School of Medicine Kanazawa University.

表1 γ -GT 血清活性の安定性

温 度	期 間	活性残存率
65°C	5 分	0%
56°C	30 分	76%
37°C	1 日	100%
"	3 日	90%
20°C	1 日	100%
"	3 日	100%
"	7 日	100%
4~6°C	1 週間	100%
"	2 週間	100%
"	3 週間	96%
-20°C	6 カ月	100%
"	12 カ月	100%

使用した。

2. 総胆管結紮

5羽の 2.5~3.0 kg の雄家兎にペントバルビタール静注麻酔のもと、総胆管を十二指腸流入部のごく間近かな部位で結紮を行ない、毎日経時的に採血し、実験に使用した。

〔Ⅲ〕 酵素活性の測定

1. γ -GT の測定

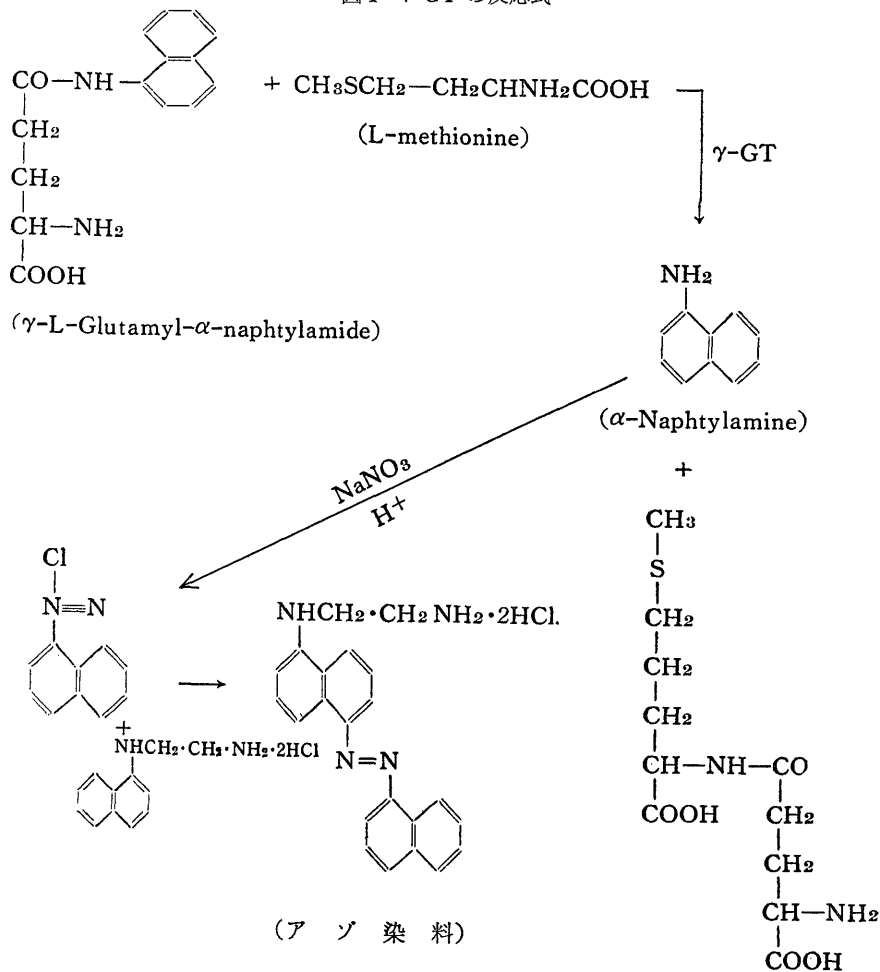
(原理)

基質として γ -L-Glutamyl- α -Naphthylamide を使用し、37°C で1時間被検液を作用させ、遊離した α -Naphthylamine を Bratton-Marshall 法³⁴⁾で測定した。反応を構造式で示すと図1の如くである。

(試薬)

① 基 質 液

γ -L-Glutamyl- α -Naphthylamide* を 1 ml に 20 μ

図1 γ -GT の反応式

M (5.8 mg) の割に生理食塩水にとかす。……氷室保存で約 3 週間使用に耐える。

② トリスメチオニン緩衝液 (pH 8.7)

0.05 M トリスヒドロキシメチルアミノメタン液 1 l に L-メチオニン 8.95 g をとかす。1 ml に 60 m μ M の L-メチオニンを含む。……氷室で 3 カ月間安定。

③ 除蛋白液

40%三塩化醋酸溶液。……室温で安定。

④ 亜硝酸ソーダ溶液

亜硝酸ソーダを蒸留水で 4 mg/ml の濃度にとかす。……氷室保存で約 1 週間は使用に耐える。

⑤ スルファミン酸アンモン液

スルファミン酸アンモンを水で 20 mg/ml にとかす。……室温で安定

⑥ 呈色試薬

N-1-ナフチルエチレンジアミンジヒドロクロリドを 95%エタノールに 1.5 mg/ml の割にとかす。……4°C 暗所で少なくとも 1 月は安定

(測定術式)

約 10 ml の有栓遠心管に血清 0.2 ml, 水 0.8 ml. 緩衝液 1.0 ml 及び基質液 1.0 ml をとり 37°C 水浴で 1 時間インキュベートする。他に基質液の代りに水を入れた血清でランク (イ), 血清の代りに水を入れた基質ブランク (ロ), 基質及び血清の代りに水を入れた測定ブランク (ハ) を作り, 以後同様操作を行なう。インキュベーション後, 除蛋白液 1.0 ml を加え振

とうし, 次いで亜硝酸ソーダ溶液 1.0 ml を加え栓をして振とう, ジアゾ化し, 3 分後スルファミン酸アンモン溶液 1.0 ml を加え振とうした後, 栓をとり 2 分間放置して余分の亜硝酸を除く。最後に呈色試薬 2.0 ml を加えると靑紫色の発色を示す。10 分後 3000 回転 10 分間遠心し, その上清をベックマン分光光度計で波長 580 m μ で (ハ) を対照に比色し, その吸光度より (イ) 及び (ロ) の値を減じた後, 標準曲線 (図 2) で α -Naphthylamine の m μ M に換算する。1500 μ 以上の高活性のときはインキュベーション時間を短縮し測定した。

標準曲線 (図 2) は α -Naphthylamine の稀塩酸水溶液を作製し, 血清 0.2 ml を加え同様操作を行ない作製した。この際 1 ml の試料が 1 時間に 1 m μ M の α -Naphthylamine を解離する活性を 1 単位とした。

* γ -L-Glutamyl- α -Naphthylamide の合成

おおよそ Orlowski ら⁸⁾ の方法に従ったが, その概略を述べると, 50 g の L-グルタミン酸及び 50 g の無水フタル酸を乳鉢にて細粉末とし, 油浴にて約 145°C に保ち約 2 時間加熱する。完全に溶解したことを確認した後 100°C に冷却し, 無水醋酸 60 ml を加え 100°C に 3 分間加熱, 180 ml のキシレンを加え室温近くまで空冷後氷室中で一夜放置する。析出した結晶をエーテルで洗滌し 37 g の Phthalyl-L-Glutamin Anhydride の無色方形結晶を得た。(m.p. 196°C)

次いで 32.5 g の Phthalyl-L-Glutamin Anhyd-

図 2 α -Naphthylamine 標準曲線

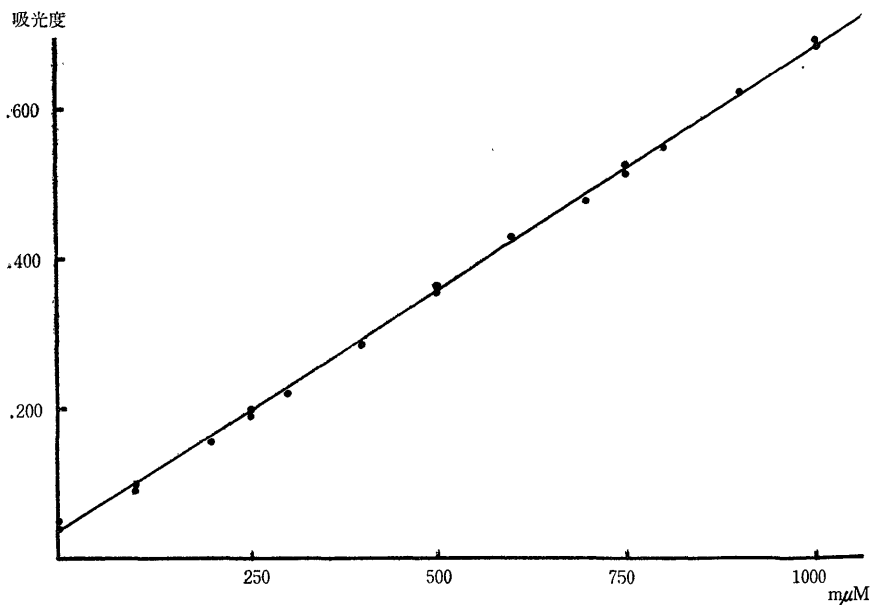
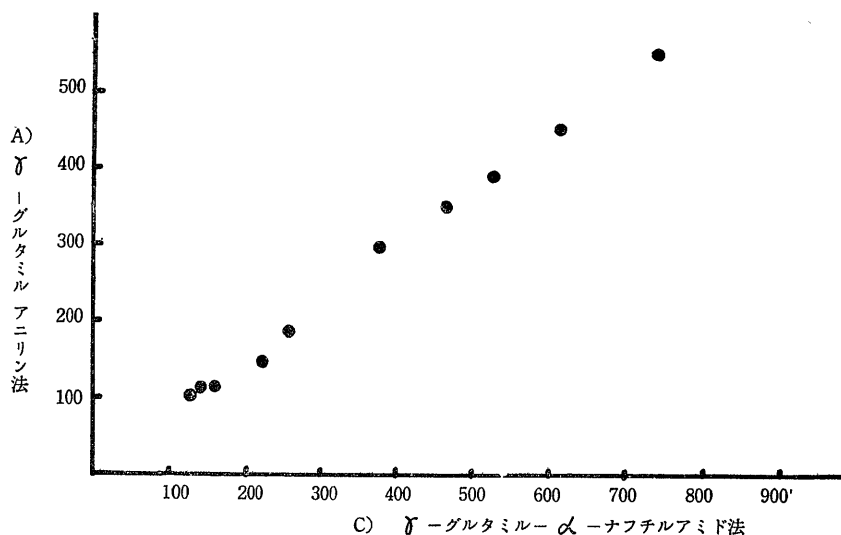


図3 γ -グルタミル- α -ナフチルアミド及び γ -グルタミルアニリン両測定法による γ -GT 活性値の相関々係



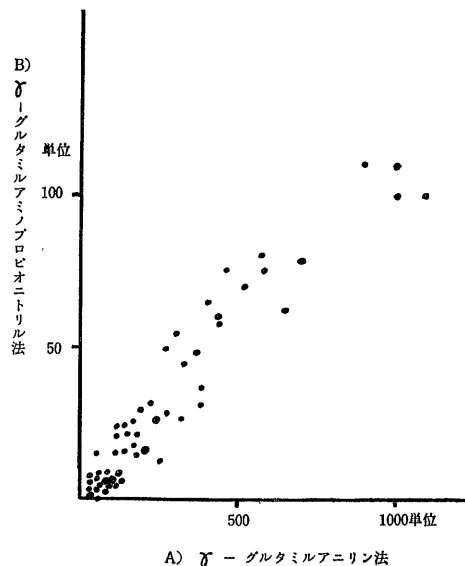
ride を乳鉢にて細粉末とし 72 ml のジオキサンにサスペンションとし 17.2 g の純 α -Naphthylamine を加え攪拌しながら 45°C 30 分間加熱溶解する。(この紫褐色溶液は Bratton Marshall の反応³⁴⁾では遊離の α -Naphthylamine は殆んど認められない。次いで減圧で濃縮し、水飴状を呈したところで 240 ml の 0.5 M 炭酸ソーダにとかし、2 M の抱水ヒドラジン 60 ml を加え、室温で 2 日間放置すると白色の沈澱を多量に析出する。沈澱を水とエタノールで洗滌した後 0.2 N 苛性ソーダ及びジオキサンの 2:1 混合液 300 ml にとかし。この溶液を濾過した後、0.3 N 醋酸を滴加中和して白色粉状結晶を得た。吸引濾過で集めエタノールで洗滌し吸引を続け乾燥し 14.7 g の γ -L-Glutamyl- α -Naphthylamide を得た。(m.p. 185°C, C: 63.63%, H: 6.03%, N: 9.75%)。

γ -Glutamyl-Aniline と異なり数回繰返して行なつたが殆んど同様の収量を得た。Orlowski ら⁸⁾の説く如く、“経験を特に有しない研究室においても簡単に合成し得る”と考えられる。

2. その他の諸酵素活性の測定法

GOT, GPT は Reitman-Frankel 法³⁵⁾, ChE は Michel のガラス電極 pH メーター法³⁶⁾の高橋、柴田の変法³⁷⁾, AIP は Bessey-Lowry 法³⁸⁾, LAP は Goldbarg 法³⁹⁾ Lactic Dehydrogenase (LDH) は Berger-Broida 法⁴⁰⁾に準じ施行した。

図4 γ -グルタミルアニリン及び γ -グルタミルアミノプロピオニトリル両測定法による γ -GT 活性値の相関々係



実験成績

〔I〕 酵素性質その他測定法に関する検討

1. 基質

3種の合成呈色基質 γ -Glutamyl-Aniline (Goldbarg 法)¹³⁾, γ -Glutamyl-Aminopropionitrile (Sze-wczuk 法), γ -L-Glutamyl- α -Naphthylamide (Orlowski 法⁸⁾ 変法) を使用した方法による測定結果は

図3, 図4の如く互にきれいな相関関係がみられた。

2. 血清 γ -GT 活性の安定性

表1に示す如く易熱性で, 56°C 30分で30%減弱し, 65°C 5分で完全に失活するが, 室温 (20°C), 氷室 (4°C) 保存で割合安定で, 殊にフリーザー (-20°C) 中では長期に安定であつた。

3. インクベーション時間

インクベーション時間と吸光度は図5に示す如く, 30分毎に区切つて検討したが, 3時間まで直線関係を示した。

4. アミノ酸の影響

多くの L-アミノ酸で反応は促進され, 1例として L-メチオニンの結果を図6に掲げたが, $0.02\text{ }\mu\text{M}$ の L-メチオニン添加で約2倍に賦活された。

5. 血清蛋白による α -Naphthylamine の吸収

図7に血清添加による α -Naphthylamine の吸光度に及ぼす影響を示したが, 血清量増加に従つて α -Naphthylamine の吸光度の低下を認めた。

6. 溶血による影響

図8に示した如く, 赤血球には活性が認められず,

図5 Incubation 時間と吸光度

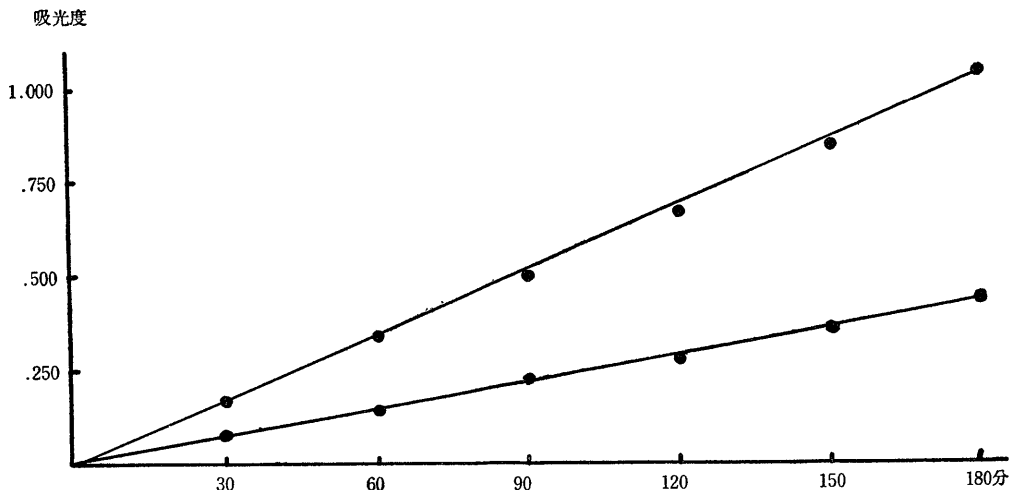


図6 L-Methine の γ -GT に及ぼす影響

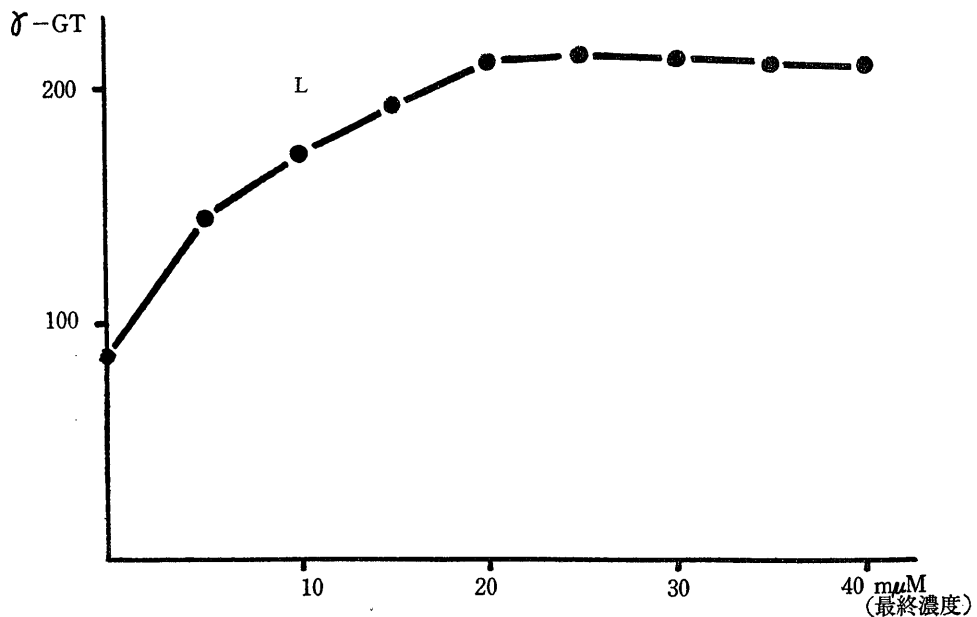
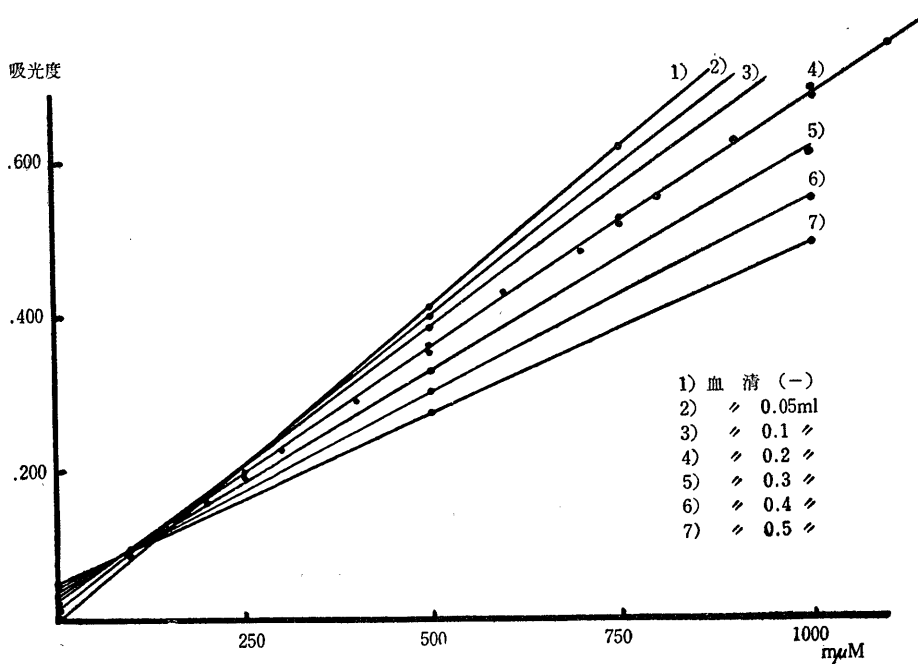
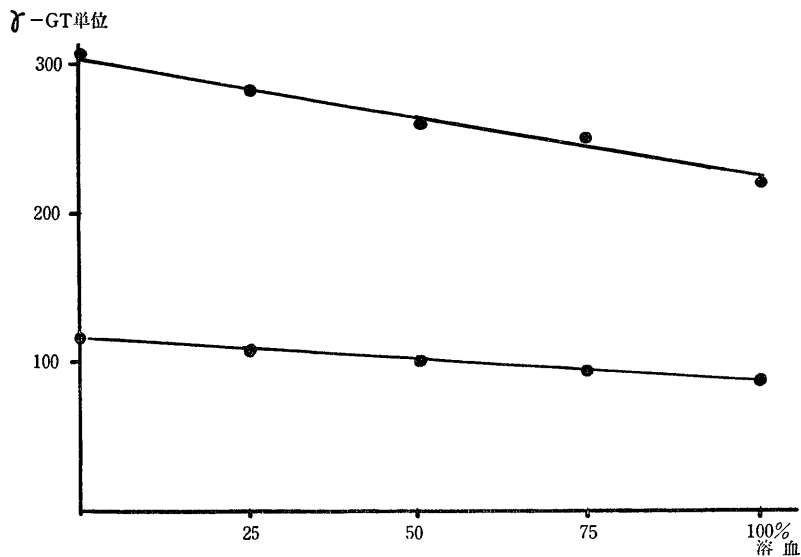


図7 血清蛋白による α -Naphthylamine の吸収図8 溶血の γ -GT に及ぼす影響

全溶血で約 1/4 の活性低下が認められるのみであった。

7. 緩衝液の種類及び pH の影響

トリス緩衝液 pH 8.7 に一番高い活性が認められた。

8. その他

BSP及び Cu^{++} , Co^{++} , Ca^{++} , Mg^{++} などの金属イオンの影響をみたが, BSP は 0.02 M で完全に阻害されるが, 臨床的に問題となる濃度では γ -GT 活性には影響を及ぼさない。 Cu^{++} 添加では 0.01 M で 100%, 0.001 M で 10% と強い阻害がみられたが, Co^{++} , Ca^{++} 及び Mg^{++} は余り影響を及ぼさなかった。なおヘパリ

ンも γ -GT 活性値には影響しなかった。

〔Ⅱ〕 臨床成績

1. 正常人の血清 γ -GT 活性値

21~81歳の正常男子, 17~60歳の正常女子それぞれ25例の γ -GT 活性値は表2に示したが男子の平均値がわずかに高値を示すがそれほど著明でないため, 男女50例の平均値をもとに 130μ (平均値+3 Sd) までを正常値とし, 155μ (平均値+4 Sd) 以上を上昇, うち 650μ (正常上限 $\times 5$) までを軽度上昇, 1300μ (正常上限 $\times 10$) までを中等度上昇, それ以上を高度上昇とした。

表2 正常例の血清 γ -GT 活性

	例数	活 性	平均値 (\pm Sd)
男 子	25	16~112	60.6 \pm 27.4
女 子	25	18~ 88	40.0 \pm 18.2
計	50	16~112	50.3 \pm 25.1

2. 各種肝疾患々者の血清 γ -GT 活性値

(1) 急性流行性肝炎

35例の急性流行性肝炎では図9の如く167~1180 μ , 平均 $441.0 \pm 244.5 \mu$ で全例が上昇を示し, うち6例が中等度の上昇を示した。同時に測定した LAP は14例中11例に上昇を示し, AIP は16例中9例に上昇を示し, うちそれぞれ2例に中等度上昇を認め, GOT

及び GPT はほぼ全例に上昇を認め, 11例に 500μ 以上の上昇を認めた。ChE は30例中8例に低下を認め, BSP は12例中10例に10%以上の異常値を認めた。経過を追って測定すると, 血清 γ -GT は図10の如く, 初回測定または1週後に最高値を示し, 順調な経過を示す症例では6~8週間で正常化する。他の酵素活性とともに測定した1例を図11に示したが, AIP に比しはつきりとした上昇が認められるが, GOT 及び GPT に比しその上昇の程度は軽い, その正常化は数週間のおくれが認められる。急性肝炎に際しての GPT との相関々係をみたが相関係数 $r=0.50$ との結果を得た。(図12)

(2) 血清肝炎

28例の血清肝炎では図9の如く $88 \sim 1405 \mu$, 平均 $490.9 \pm 359.1 \mu$ で26例に上昇, うち6例が中等度, 1例が高度の上昇を示した。同時に測定した LAP 8例中7例, AIP 13例中7例に上昇を認め, その他の結果も急性流行性肝炎に似た結果を示した。

(3) 細胆管性肝炎

3例の細胆管性肝炎では図9の如く3例とも上昇を示し, うち2例が高度上昇を示した。同時に測定した LAP は3例とも上昇しうち2例は中等度及び高度上昇を認めた。AIP も3例全例上昇, うち1例は中等度の上昇を示した。

(4) 劇症型肝炎

図9 各種肝疾患における γ -GT

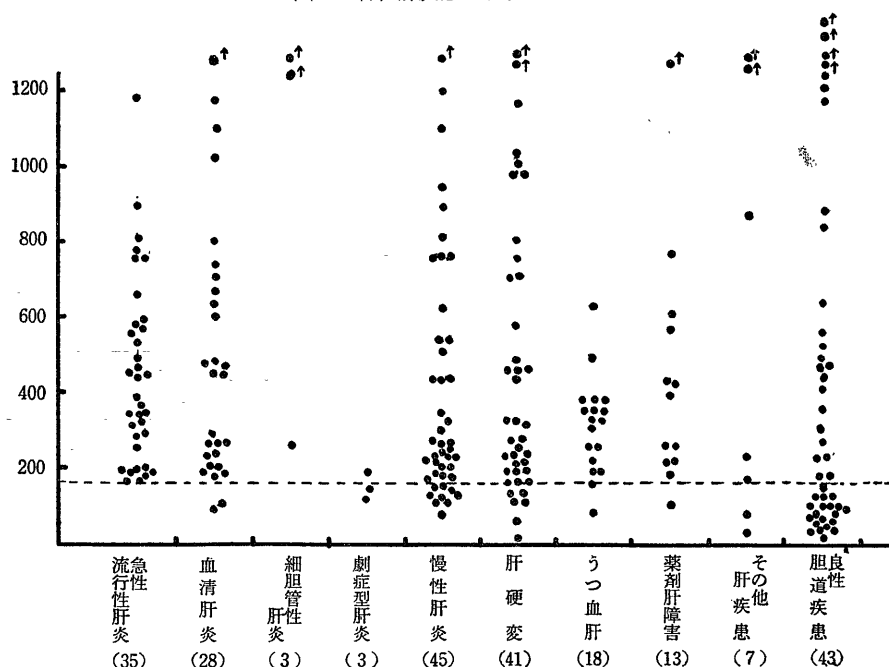


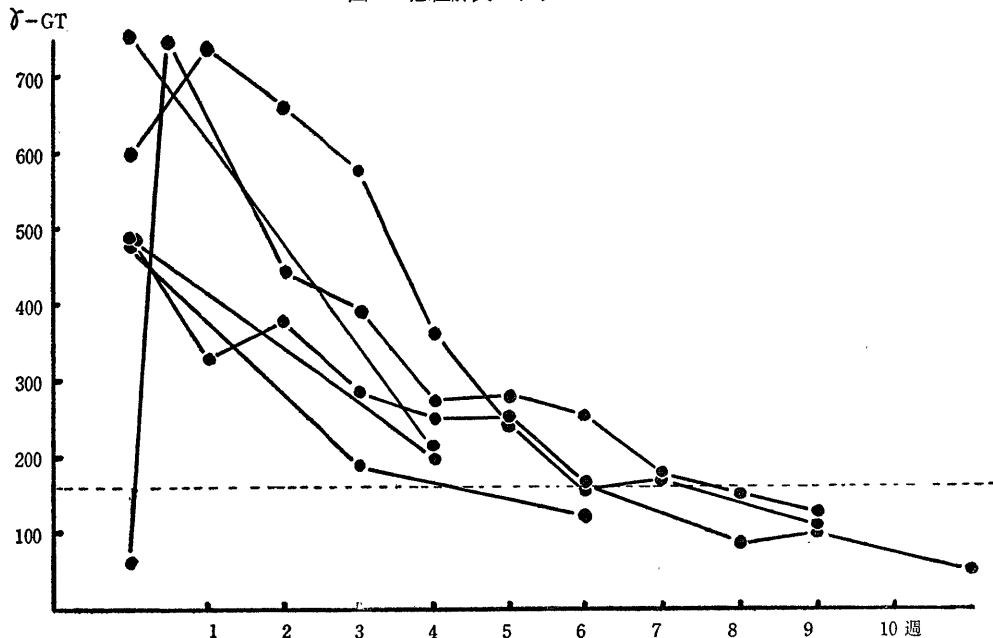
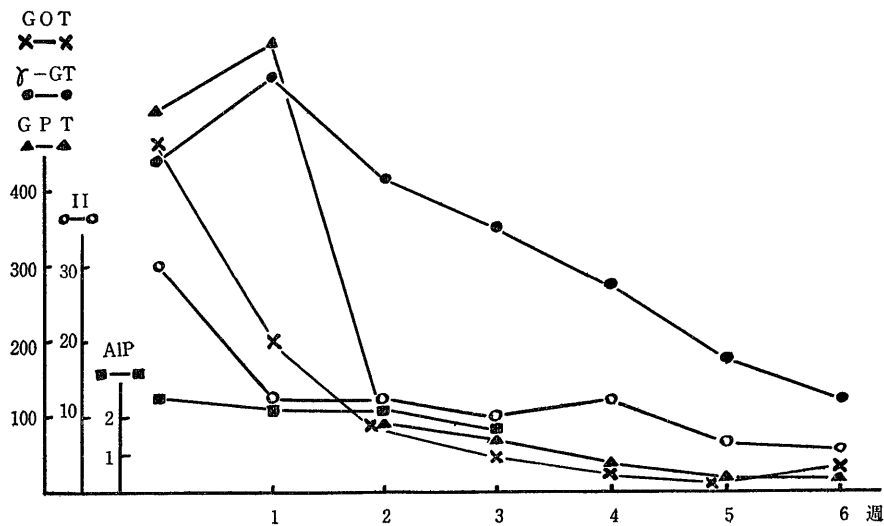
図10 急性肝炎における γ -GT

図11 急性流行性肝炎 (H. M. 29歳 ♂)



3例の劇症型肝炎では血清 γ -GT 活性は 119~189 μ 平均 148.7 μ で、上昇を示した1例はごく軽度で他は正常値であつた。AIP は3例中2例、LAP は1例に上昇を認めた。(図9)

(5) 慢性肝炎

45例の慢性肝炎では図9の如く、81~1432 μ 平均 398.1 \pm 365.7 μ で36例に上昇を認め、うち1例が高度、8例が中等度の上昇を認め、正常値は5例に認めたのみであつた。同時に測定した GPT は45例中29

例、GOT は45例中27例に上昇を認めその大部分は軽度上昇であつた。LAP 7例中4例が上昇を示し、うち1例は中等度上昇であり、AIP は21例中6例が上昇を示し、うち各1例が中等度及び高度の上昇であつた。遷延性肝炎の1例を図13に示したが、このような症例においては血清 γ -GT は発病初期より割合に高値を示し、GOT 及び GPT のほぼ正常化にもかかわらずいつまでも高値を示す場合が多い。

(6) 肝硬変症

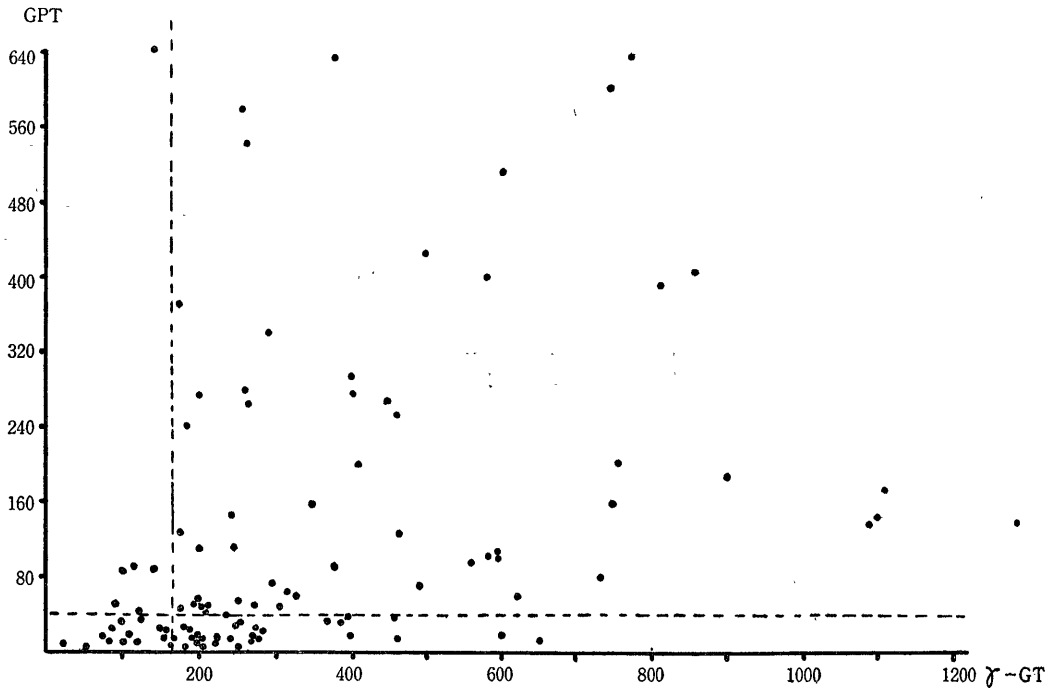
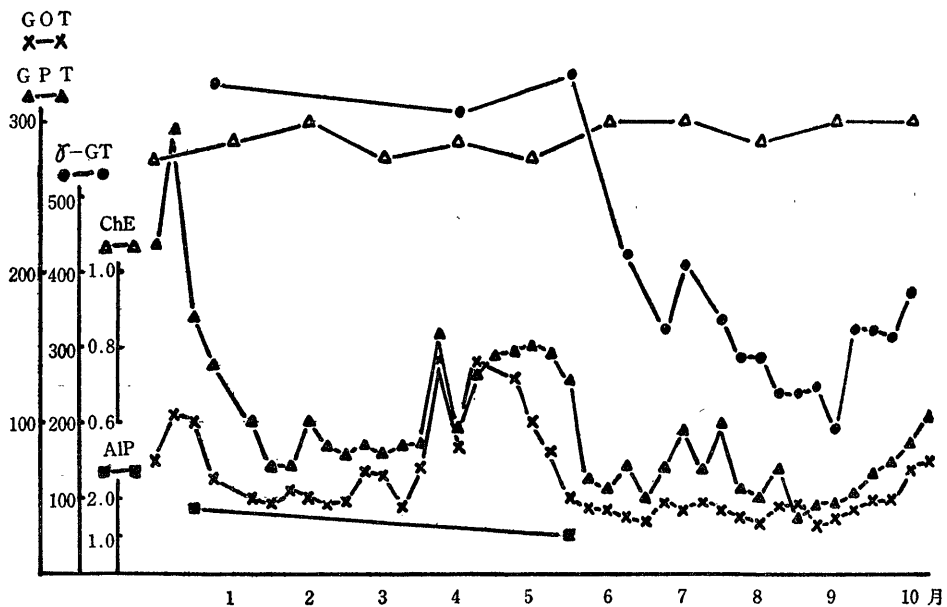
図12 γ -GT と GPT (急性肝炎)

図13 遷延性肝炎 (I. K. 30歳 ♂)



2例のヘモクロマトーシス及び3例の肝脾腫症候群を含む40例の肝硬変症では、図9の如く $12 \sim 1620 \mu$ 、平均 $445.5 \pm 392.7 \mu$ で正常値5例、33例に上昇を認め、うち2例に高度、8例に中等度の上昇を認めた。

上昇を認めなかつた例は肝機能障害の極めて高度のもので、同時に測定した ChE に例をとると、 0.10μ が1例、 0.20μ が2例、 0.30μ 、 0.40μ 、 0.50μ 、 0.55μ が各1例と強度の低下を示していた。なおこのう

ち3例は測定後約2カ月以内に死亡した。

同時に測定した LAP は18例中10例に軽度上昇を認め、AIP は23例中わずかに6例に上昇を認め、BSP は22例中19例に10%以上の異常値を認めた。

(7) うつ血

うつ血肝 18例については図9の如く $77 \sim 630 \mu$ 、平均 $260.4 \pm 129.0 \mu$ と軽度上昇を示し、 77μ と正常値を示した1例を除き他の17例はすべて軽度上昇を示した。他の肝機能検査の結果では、13例中11例と殆どどの例で BSP が $10 \sim 25\%$ の異常値を示した以外、余り異常値を示すことはなく、GOT、GPT ともに18例中4例、黄疸指数 (I.I.) で17例中3例、LAP で10例中3例、AIP で24例中1例にわずかに上昇を認めたのみであった。なお治療により肝うつ血が回復すると、速かに正常値に復する場合が多く、その1例を図14に示すが、BSP とともに10日前後で正常化している。

(8) 薬剤肝障害

クロールプロマジン、サルバルサン、蛋白合成ステロイドなどによる肝障害13例では (図9) $105 \sim 1478 \mu$ 、平均 $443.8 \pm 217.3 \mu$ で12例に上昇を認め、サルバルサンによる1例に中等度の、クロールプロマジンによる1例に高度の上昇を認めた。

(9) その他の肝疾患

Budd-Chiari 症候群1例、肝膿瘍2例、脂肪肝1例、体質性過ビリルビン血症3例については図9の如

く、肝膿瘍の1例及び脂肪肝では高度上昇を認め、肝膿瘍の他の1例は中等度の上昇を認め、脂肪肝及び肝膿瘍で高く、体質性過ビリルビン血症では1例が軽度上昇、他の2例は正常と余り上昇せず、Budd-chiari 症候群の1例は軽度上昇を示した。

3. 良性胆道疾患

43例の胆石症、胆のう炎など良性の胆道疾患では図9の如く、 $43 \sim 1550 \mu$ と種々の活性値を認めた。

これは病期によつて非常に異なるためで、疼痛発作及び発黄後数日では高値を示すが、疼痛発作の軽快及び黄疸消褪などとともに速かに低下する。一応 I.I. 11以上と10以下の2群に分けると、I.I. 11以上11例では $274 \sim 2433 \mu$ 、平均 1129.4 ± 619.9 で全例に上昇を認め、中等度及び高度の上昇をそれぞれ4例が示していた。これに反し I.I. 10以下の32例では、19例の正常値を認め、中等度以上の上昇は間歇的に胆のう腫脹を認めた胆のう胆石症の1例にすぎなかった。

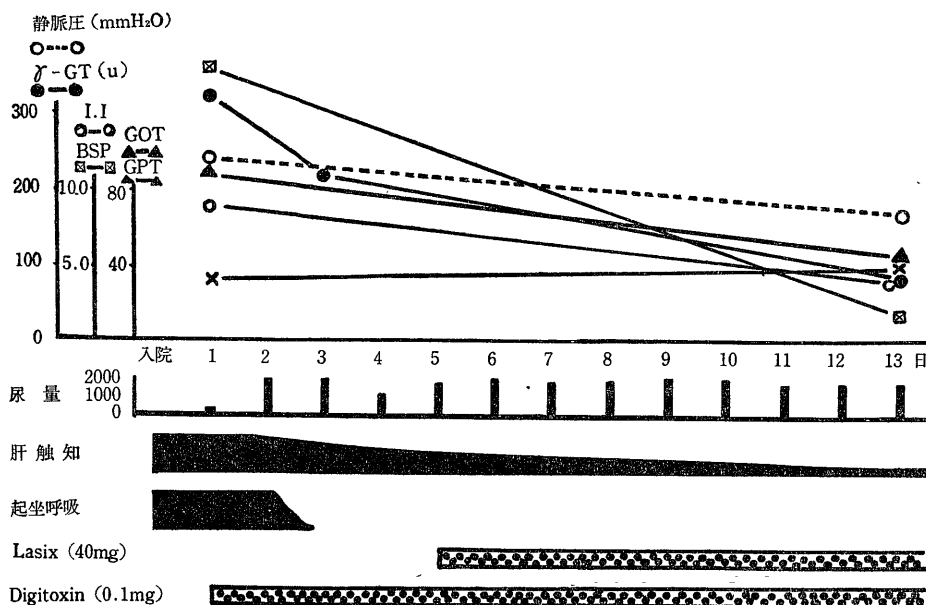
ここに興味を引くのは正常活性値を示した症例19例がすべて I.I. 10以下を示したこと、I.I. 10以下の症例で 42.4% に上昇を示したこと及び同時に測定した LAP 15例中10例、AIP 20例中6例の上昇例はすべて γ -GT の上昇を認めたことである。

〔Ⅲ〕 動物実験成績

1. 未処置対照

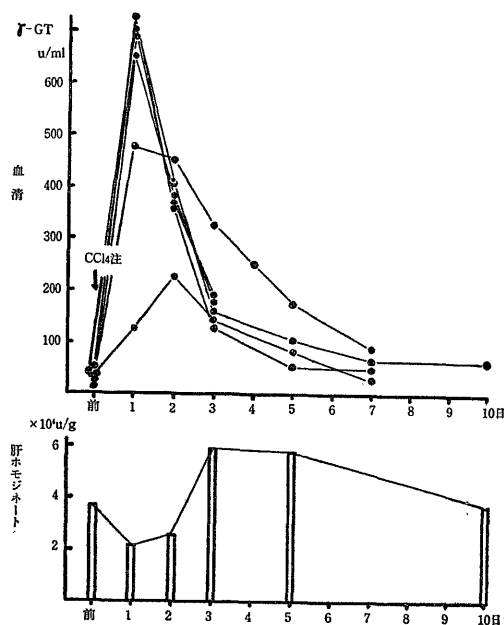
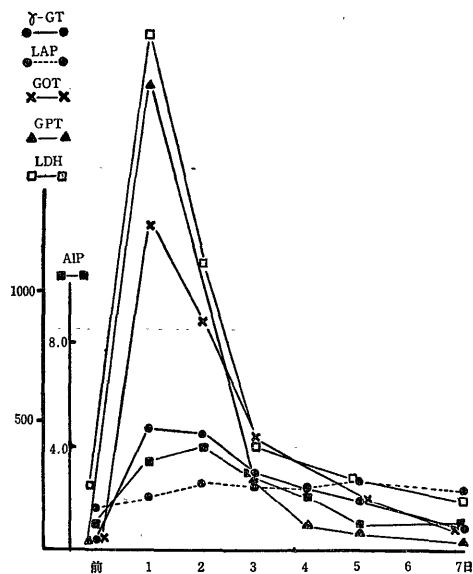
10羽の未処置成熟雄家兎の測定結果は $10.0 \sim 63.6 \mu$ 、平均 $40.0 \pm 19.3 \mu$ であった。

図14 うつ血性心不全 (K. K. 53歳 ♂)



2. 四塩化炭素急性肝障害

図15に示す如く、血清 γ -GT は多くは1~2日目にピークを有する中度度の上昇を示し、7~10日目で正常化し、肝ホモジネート γ -GT は1日目に約1/3の活性低下を示し、以後正常活性以上の上昇を認め、血清 γ -GT の正常化する10日目にはほぼもとの値に復していた。他の酵素との関係では図16に1例を挙げた。す

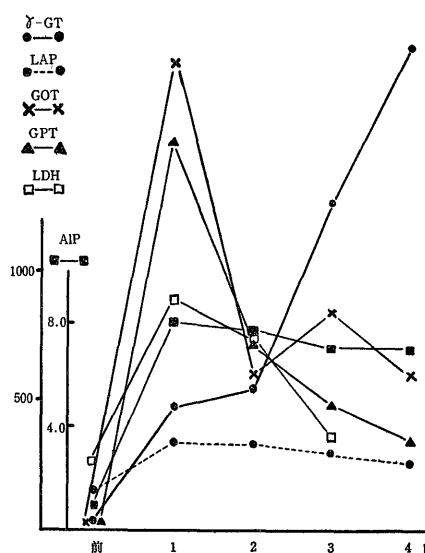
図15 CCl₄ 急性肝障害の γ -GT 活性 (家兎)図16 CCl₄ 急性肝障害家兎の酵素活性

なわち GOT, GPT 及び LDH に比しその変動はわずかにおくれ程度も軽度であるが、LAP に比しその上昇は判然としており AIP とほぼ平行した。

3. 総胆管結紮

図17に1例を示したが、GOT, GPT 及び LDH は手術の影響で1日目に高度上昇を認め、以後日を追い低下するが、 γ -GT は1日目から上昇し、日を追い上昇が強くなり術前値の40~100倍の値が第4日目で認められたが、LAP は1日目に軽度上昇を認めるのみであり、AIP も1日目に7~10倍の値を認めるがそれ以上の上昇はみられなかった。肝ホモジネート γ -GT は4日目で、正常肝に比し特に著明な上昇はみられなかった。

図17 胆管結紮家兎の酵素活性



総括ならびに考按

γ -GT はグルタチオンまたは他の γ -グルタミルペプチドを基質として、他のペプチド、L-アミノ酸または水への γ -グルタミル基の転移反応を触媒する酵素であり、この酵素は多くの動物の臓器及び人の腎、膵、肝及び血清中に証明される。

本酵素は初めは Antglyoxalase⁴¹⁾⁻⁴³⁾, Glutathione⁴⁴⁾ と名づけられてグルタチオンに作用させ、チスチンの解離で測定され、人、ラッテ、豚の腎、膵正常あるいは癌患者血清⁴⁵⁾での活性がグルタチオンの水解酵素として証明されている。

1950年 Hanes と Ischerwood⁴⁶⁾ により蛋白合成の一環としてのグルタチオンの重要性ともかんがみ γ -GT の概念が提唱され、羊腎ホモジネート中のその

活性がグルタチオンとフェニールアラニンをを用いパーパークロマトグラフ法で証明され、グルタチオンの水解もこの酵素により触媒されると報告された。彼らは更に基質としてグルタチオンの他に γ -グルタミルチロジンなど 6 種の γ -グルタミルペプチドが、また置換因子としてフェニールアラニン以外のバリン、ロイシンなど 9 種のアミノ酸及び種々の γ -グルタミルペプチドも反応することから、この反応の基質特異性は相当広いことを示した⁴⁷⁾。

その後その証明法はグルタチオンを基質とし、パーパークロマトグラフ法の他にグルタミルアルギニンの呈色反応による方法など⁴⁸⁾⁻⁵²⁾が発表されたが臨床的にはそれほど応用されていなかった。

1960年 Szewczuk と Orłowski⁶⁾ が合成呈色基質 γ -Glutamyl Aminopropionitrile を利用して血清及び組織などの活性を測定し、臨床的に肝疾患の診断に役立つことを報告し、続いて呈色基質 γ -L-Glutamyl- α -Naphtylamide を用いる方法⁸⁾を発表した。なお更に Orłowski らは簡易法として γ -Glutamyl-p-Nitroanilide を用いた紫外外部吸収法⁵³⁾を発表している。別に Goldbarg らは γ -Glutamyl Aniline を基質とした方法を1960年に発表している¹³⁾。

著者はこれら呈色基質 3 種について検討したが、3 法による測定結果はきれいな正の相関々係を示したので本報告に際しては一番操作法の簡単な γ -L-Glutamyl- α -Naphtylamide を基質とした方法を採用した。すなわち Orłowski ら⁸⁾ の如く γ -L-Glutamyl- α -Naphtylamide を基質として Bratton-Marschall 法³⁴⁾ を用い酵素反応により遊離した α -Naphtylamine を発色したが Goldbarg ら¹⁴⁾ の如く、アクチベーターとして L-メチオニンを加え行ない、 γ -Glutamyl Aniline より γ -Glutamyl- α -Naphtylamide の酵素による解離の速かなること¹⁸⁾からインクベーション時間を 1 時間とし測定を行なった。

正常例の男女別活性は諸家の報告の如く、男性は女性に比し平均値が高いが、その差は Goldbarg の報告ほど著明有意でなく、男女各 25 例計 50 例の平均値をもとに標準偏差の 4 倍を加え 155μ 以上を上昇とした。

急性肝炎における γ -GT 上昇は閉塞性黄疸及び肝癌などに比して軽度であることは Szewczuk 及び Orłowski の報告⁶⁾ 以来諸家の一致した結果であるが、その上昇率は 98% と高く、急性肝炎においては GPT との間に弱いながらも正の相関々係がみられること、及び四塩化炭素注射家兎肝ホモジネート中の活性が初期に低下を示すことなどからも急性肝炎におけるその

上昇に肝よりの逸脱が関与していると考えられるが、以後肝ホモジネート中の活性が正常値以上の上昇を示すことなどからもその上昇は逸脱のみによらないことは明らかである。順調な経過をとる症例では GOT 及び GPT にわずかにおくれて 6~10 週後に正常化する場合が多い。血清肝炎及び流行性肝炎の間に活性の差は認められない。

また教室において家兎に脳ホモジネート免疫後再注射により起した軽度ショック状態における実験で LDH などの上昇はみられるが⁵⁴⁾、 γ -GT 上昇のみられないことから虚血状態などに際しての肝細胞膜透過性亢進⁵⁵⁾と考えられる状態に際しても、上清分画中に存在する LDH、GPT などに比較してその逸脱は起り難いものと考えられる。この際の肝細胞に光学顕微鏡的には余り異常は認められていない⁵⁴⁾。高橋は GOT、GPT、LDH などは四塩化炭素の軽度中毒で電顕像でも軽度の障害しかみられない際にも上昇を認めている。このように逸脱酵素と呼ばれる酵素群の上昇は必ずしも完全な肝細胞破壊を示すものではなく肝細胞顆粒（ミクロゾーム）に結合していると考えられる⁵⁶⁾ γ -GT などの急性肝炎における上昇こそ肝細胞破壊を意味するかも知れない。しかしその重症度とその上昇度とは特に関係はなく、劇症型肝炎ではすべてほぼ正常値を示したが、この結果は Goldbarg、Orłowski らの結果と一致し、鳴戸ら²⁰⁾の症例とは反する。しかし GOT、GPT が劇症型肝炎の死亡時に割合低値を示すのと同じく極度の肝細胞壊死により本酵素の生成が低下するためと考えられる。

細胆管性肝炎と考えられる症例においては諸家の報告と同じく高度上昇を示す例が多い。GOT、GPT などのほぼ正常化後も高値を示す例では AIP についての三輪ら⁵⁷⁾の結果と同じく遷延する傾向がみられる。鳴戸ら²⁰⁾によると退院後再発を認めた数例では γ -GT 高値のまま退院した例が多かったという。

肝硬変症では急性肝炎に比してその上昇の程度は軽いとの鳴戸ら²⁰⁾の報告もあるが、肝硬変症では多くの場合種々の程度の上昇を示し、慢性肝炎など他の肝疾患とは特に差異の認められないこともある。しかしその正常値を示した症例では BSP 高値を示した例が多く、BSP 高値で γ -GT の割合低値を示した症例の大部分が肝硬変症であつたことは劇症型肝炎における BSP との解離と考え合せ興味深い。この際の上昇は及川²⁸⁾の家兎四塩化炭素肝障害実験の結果などからも肝細胞の γ -GT 過産生、肝血流量の減少なども関与すると考えられる。うつ血肝における上昇は Kokot ら¹⁸⁾及び Goldbarg ら¹⁵⁾の報告にもみられるが、他

の肝機能検査では陰性例が多いのに反し、 γ -GTは軽度の上昇を示すものが多く、その回復に従って速やかに正常化するが、うつ血肝には肝硬変症におけると同様に類洞—肝細胞ブロックが形成されているとの報告⁵⁸⁾もあり BSP, ビリルビンなどの血中うつ滞と同一機序で上昇するものと考えられる。

薬剤肝障害には胆汁うつ滞型、肝炎型、肝細胞障害型⁵⁹⁾と種々の型があるが、クロールプロマジン肝障害の極高度上昇を含め種々の上昇を示したが、うち数例ではその上昇が BSP, GOT に比し 1~2 週のおくれを示した。前の 2 つの型ではアレルギー性機転の関与を疑った報告⁽⁶⁰⁾⁽⁶¹⁾があるが、実験的アレルギー肝障害家兎⁵⁴⁾についての GOT 及び LDH と γ -GT の分離がみられることも関連して興味を持たれる。大管ら⁶²⁾によると肝細胞障害型では他の肝機能検査の異常は BSP 57% を最高に余り異常を認めないといわれる。

その他の肝疾患においては脂肪肝、肝膿瘍で高度上昇を認めた。脂肪肝における上昇は AIP⁶³⁾, LAP におけると同様に肝内性胆汁うつ滞によると考えられ、肝膿瘍においての上昇も“Space occupied lesion”として肝癌⁶⁴⁾におけると同様な機序によるものと考えられる。

胆石及び胆のう炎においては高度上昇例もみられるが、その発作の間歇期には正常値を示す場合も多く閉塞の解除とともに割合速やかに正常化するが、悪性胆道疾患⁵⁶⁾とその上昇度で鑑別することはその上昇の程度のみからでは困難である。家兎の総胆管結紮実験では LAP は胆汁中のインヒビターの逆流の関係でそれほど上昇は示さないが、 γ -GT は急速に強度の上昇を示した。

なお血清 γ -GT の起原追求のために臓器及び血清の γ -GT のアイソザイムの検討も加えたが³⁸⁾その起原は現在のところ不明といつてよい。しかしその大部分は胆汁中に排泄され则认为られており⁷⁾、普通胆汁中には血清中の活性の数倍の活性がみられ、肝内性及び肝外性の胆汁うつ滞がその上昇の主因であろうことは諸家の一致した意見であるが、他の要素も考えられ広く肝疾患において上昇を示し、肝機能障害のスクリーニングテストとなじうると考えられる。

結 語

肝疾患 223 例について γ -L-Glutamyl- α -Naphthylamide を基質とした方法で血清 γ -GT を測定し、2, 3 の動物実験も併せ行ない次の結果を得た。

1. 急性肝炎においては軽度の上昇を高率に認め、良好な経過をとる例では GOT, GPT に比しわずかに

におくれて低下し、遷延する例では割合に高値を示す傾向があり、他の諸酵素活性とともに経過を追って測定することにより急性肝炎の予後判定の一助となしうる。

2. うつ血肝では他の多くの肝機能検査が BSP 以外余り異常値を示さないにもかかわらず、高率に軽度の上昇を示し、その軽快とともに急速に正常化を認めた。

3. その他慢性肝炎、肝硬変症及び良性胆道疾患でも高率に上昇を示し、肝機能障害のスクリーニングテストとなしうる。

4. 劇症型肝炎及び肝硬変症における BSP, Ch. E と分離した γ -GT の正常値は肝機能障害の高度の際にみられた。

5. 四塩化炭素急性肝障害家兎についての結果では急性肝炎症例におけると似た結果を示し、障害肝よりの γ -GT の逸脱もその血清 γ -GT 上昇の一因であり、また回復に際しての肝における過産生も関与するのではないかと考えられた。

6. 家兎の総胆管結紮実験では急速、高度な血清の γ -GT 上昇を認め、その上昇の主因が胆汁のうつ滞によると考えられた。

なお稿を終るに際し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表し、また終始御助言と御協力を頂いた泊博士、小原博士、川岸博士、北島博士、故加藤博士、平沢博士及び基質合成に御協力を頂いたシノノギ製薬 K, K, 長谷川博士に謝意を表します。

文 献

- 1) LaDue, J. S., Wróblewski, F. & Karmen, A. : Science, 120, 497 (1954).
- 2) Wróblewski, F. & LaDue, J. S. : Ann. Int. Med., 43, 345 (1955).
- 3) De Ritis, F., Coltorti, M. & Guisti, G. : Science, 124, 32 (1956).
- 4) Roberts, W. M. : Brit. J. Exper. Path., 11, 90 (1930).
- 5) Vorhaus, L. J. & Kark, R. M. : Am. J. Med., 14, 707 (1953).
- 6) Szewczuk, A. & Orlowski, M. : Clin. Chim. Acta, 5, 680 (1960).
- 7) Szczeklik, E., Orlowski, M. & Szewczuk, A. : Gastroenterology, 41, 353 (1961).
- 8) Orlowski, M. & Szewczuk, A. : Clin. Chim. Acta, 7, 755 (1962).
- 9) Albert, Z., Orlowski, M. & Szewczuk, A. : Nature, 191, 767 (1961).
- 10) Orlowski, M. & Szewczuk, A. : Clin. Chim. Acta, 6, 430 (1961).
- 11) Rutenburg, A. M., Pineda, E. P., Fisch-

- bein, J. & Goldbarg, J. A. : Cancer, 17, 781 (1964). 12) Pineda, E. P., Goldbarg, A. M. & Rutenburg, A. M. : Fed. Proceed., 20, 152 (1961). 13) Goldbarg, J. A., Friedman, O. M., Pineda, E. P., Smith, E. E., Chatterji, R., Stein, E. H. & Rutenburg, A. M. : Arch. Biochem. & Bioph., 91, 61 (1960). 14) Goldbarg, J. A., Pineda, E. P., Smith, E. E., Friedman, O. M. & Rutenburg, A. M. : Gastroenterology, 44, 127 (1963). 15) Rutenburg, A. M., Goldbarg, J. A. & Pineda, E. P. : Gastroenterology, 45, 43 (1963). 16) Kokot, F. & Cekanski, A. : Zentralblatt f. Gynaek., 85, 1638 (1963). 17) Kokot, F. & Kuska, J. : Clin. Chim. Acta., 11, 118 (1965). 18) Kokot, F. Kuska, J. & Maraszek, J. : Zschr. inn. Med., 18, 851 (1963). 19) Gibinski, K., Szaton, R. & Maraszek, J. : Gastroenterologia, 99, 237 (1963). 20) Albert, Z. : Nature, 205, 407 (1965). 21) Dzioba, A., Krzykowski, M. & Kryzanowski, M. : Zentralblatt f. Gynaek., 85, 942 (1963). 22) Aronsen, K. F., Hanson, A. & Nosslin, B. : Acta Chir. Scand., 130, 92 (1965). 23) Glenner, G. G. & Folk, J. E. : Nature, 192, 338 (1961). 24) Glenner, G. G. & Folk, J. E. : J. Histochem. Cytochem., 9, 624 (1961). 25) Szmigielski, S., Litwin, J. & Zupanska, B. : J. clin. Path., 18, 244 (1965). 26) 及川栄治・高杉年雄 : 日消誌, 60, 139 (1963). 27) 高杉年雄・白石忠雄・宮崎 保・原田美及瑠・及川栄治・佐藤道男・村上幹雄 : 日内会誌, 53, 606 (1964). 28) 及川栄治 : 日消誌, 62, 253 (1965). 29) 鳴門 弘・高山久郎・小峰 績・北本治 : 日消誌, 61, 910 (1964). 30) 八木泰夫 : 日内会誌, 53, 607 (1964). 31) 八木泰夫 : 日消誌, 61, 911 (1964). 32) 村上元孝・小原修・八木泰夫・川岸一郎・北島千代吉・加藤公・泊康男 : 肝臓, 6, 139 (1964). 33) 村上元孝・小原修・八木泰夫・川岸一郎・北島千代吉・加藤公・泊康男 : 日本癌学会記事 (23回総会, 39年11月), 315 (1964). 34) Marshall, E. K. & Litchfield, J. T. : Science, 88, 85 (1938). 35) Reitman, S. & Frankel, S. : Am. J. Clin. Path., 28, 56 (1957). 36) Michel, H. O. : J. Lab. Clin. Med., 34, 1564 (1949). 37) 高橋浩・柴田 進 : 医学と生物学, 20, 96 (1951). 38) Bessy, O. A., Lowry, O. H. & Brock, M. J. : J. Biol. Chem., 164, 321 (1946). 39) Goldbarg, J. A. & Rutenburg, A. M. : Cancer, 11, 283 (1958). 40) 平木潔・浅野健夫 : 臨床酵素学 (赤堀・冲中編) 1 版, 464頁, 朝倉書店, (1964). 41) Platt, M. E. & Schroeder, E. F. : J. Biol. Chem., 106, 179 (1934). 42) Woodward, G. E. : Biochem. J. 33, 1171 (1939). 43) Dakin, H. D. & Dudley, H. W. : J. Biol. Chem., 15, 463 (1913). 44) Binkley, F. & Nakamura, K. : J. Biol. Chem., 173, 411 (1948). 45) Waldschmidt-Leitz, E. : Ang. Chem., 51, 324 (1938). 46) Hanes, C. S., Hird, J. R. & Isherwood, F. A. : Nature, 166, 288 (1950). 47) Hanes, C. S., Hird, F. J. R. & Isherwood, F. A. : Biochem. J., 51, 25 (1952). 48) Revel, J. P. & Ball, E. G. : J. Biol. Chem., 234, 577 (1959). 49) Fodor, P. J., Miller, A., Neidle, A. & Waelsch, H. : J. Biol. Chem., 203, 991 (1953). 50) Kinoshita, J. H. & Ball, E. C. : J. Biol. Chem., 200, 609 (1953). 51) Hird, F. J. R. & Springell, P. H. : Biochem. J., 56, 417 (1954). 52) Hird, F. J. R. & Springell, P. H. : Biochim. Biophys. Acta, 15, 31 (1954). 53) Orlowski, M. & Meister, A. : Biochim. Biophys. Acta, 73, 679 (1963). 54) 村上元孝・関本博 : 第24回アレルギー学会口演, (1965, 11, 東京). 55) Konttinen, A., Rajasalmi, M. & Ploheimo, J. : Am. J. Physiol., 207, 385 (1964). 56) 八木泰夫 : 十全医会誌, (投稿中). 57) 三輪清三・小藤田和郎 : 消化器研究の進歩, 1, 51 (1962). 58) 上田英雄・斎藤昌三・鶴沼正雄・広田喜代市・野村益也・原田 尚・亀田治男 : 日消学会口演, (1965, 10, 札幌). 59) 吉利 和・織田繁次・大管俊明・牛尾耕一 : 肝臓, 6, 16 (1964). 60) Waitzkin, L. : Ann. Int. Med., 53, 116 (1960). 61) Rosenblum, L. E., Korn, R. J. & Zimmerman, H. J. : Arch. Int. Med., 105, 583 (1960). 62) 大管俊明・兼高達式 :

最新医学, 20, 36 (1965). 63) Erlinger,
S., Xuan, N. H., Benhamou, J. P. & Fauvert,
R. : Presse Med., 73, 1 (1965).

Abstract

The present report describes the results of serum γ -glutamyl transpeptidase (S γ -GT) activity assay carried out in 223 patients with hepatobiliary diseases and a few experimental animals.

1) Patients with acute hepatitis generally showed moderately increased S γ -GT, which in favorable cases returned to normal as their conditions improved, but some what later than the serum transaminase activity did. On the other hand, the activity was relatively higher in prolonged cases.

2) In most cases of congestive heart failure the S γ -GT slightly increased while all the other data of the liver function tests remained normal except the BSP. The value rapidly returned to normal when the conditions improved.

3) In chronic hepatitis, cirrhosis of the liver, and benign diseases of the biliary tract, the S γ -GT became elevated in most cases. The assay seemed to be useful as a screening test for liver dysfunction.

4) In most cases of fulminant hepatitis and some cases of severe cirrhosis, the S γ -GT remained normal in spite of remarkable BSP retention and decreased serum cholinesterase activity.

5) Rabbits having acute liver injury induced by CCl_4 showed S γ -GT values similar to those seen in acute hepatitis. The rise was thought to be due partly to release of γ -GT from the damaged liver into the blood stream.

6) Prompt and marked elevation of S γ -GT was seen in rabbits on ligation of the common bile duct. The rise was thought to be due mainly to cholestasis as the activity of liver homogenate showed no remarkable change.