

血清コリンエステラーゼに関する研究

第1報

Hesterin, 宮崎氏法の臨床應用

安齋哲郎 細川 忍
大瀧君子 和田武雄

札幌医科大学内科学教室 (主任 滝本教授)

Studies on Serum Cholinesterase (I) Clinical Application of Hesterin-Miyazaki's Method

By

TETSURO ANZAI, SHINOLU HOSOKAWA,
KIMIKO OTAKI and TAKEO WADA

Department of Internal Medicine, Sapporo University of Medicine
(Superintendent: Prof. SHOZO TAKIMOTO)

緒 言

血清 Cholinesterase (以下 ChE) の定量法としては、従来 Ammon¹⁾ の検圧法、Stedmann²⁾ の滴定法、Michel³⁾ の電気的方法及び生物学的定量法⁴⁾ 等があるが、之らは何れもその操作が煩雑なため一般的な臨床應用には必ずしも適当でない。

一方 ChE の臨床的研究は O. Loewi⁵⁾ の神経生理学的重要性に関する発表以來、Russel & Stedman⁶⁾, Hicks & MacKey⁷⁾, Jones & Tod⁸⁾, Schütz⁹⁾, Antopol¹⁰⁾¹¹⁾ を始め各種疾患に亘る多数の報告があるが、本来 ChE 自体に生体内分布を異にする数種の型が認められ且つ個人的動揺が大である上、夫々測定法を異にする爲にそれらの成績は必ずしも一定していない。

最近 Hesterin¹²⁾ は Acetylcholin (以下 ACh) の

比色定量法を發表したが、宮崎ら¹³⁾¹⁴⁾ はその一部に修正を加えて之を ChE の定量に應用し、動物実験上 Ammon 氏法との比較成績から、操作簡易な ChE の新定量法として提唱する処があつた。

吾々は本法を臨床的に應用して諸種疾患に伴う血清 ChE 値の動揺を調査し、いささか知見を得たので取敢えず報告したい。

実 施 法

1. 試 薬

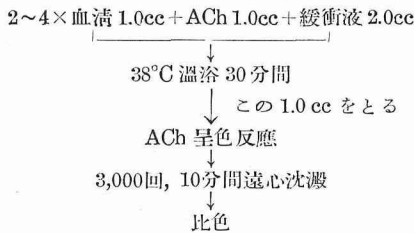
- i) 磷酸緩衝液 (pH 7.4)
- ii) ACh 玉井に従い最終基質濃度 0.025 M とする。
- iii) Hydroxylamine hydrochloride, 2 M
- iv) NaOH 3.5 M
- v) 1 : 10 H₂SO₄
- vi) FeCl₃ 0.37 M (N/10 H₂SO₄ 中に溶解)

1) Ammon: Pflügers arch., 233, 486 (1934).
2) Stedmann: Biochim. J., 25, 1147 (1931).
3) Michel: J. Lab. & Clin. Med., 34, 564 (1949).
4) Minz: Arch. exp. path. u. pharm., 168, 292 (1932);
Chang & Gaddun: J. Physiol., 79, 255 (1933).
5) Loewi: Pflügers Arch., 239 (1921).
6) Russel & Stedmann: Lancet, 27, 42 (1936); Bioch. J.,
311, 1987 (1937).
7) Hicks & MacKay: J. Exp. Biol. Med. Sci., 14, 275
(1936); 16, 39 (1938).

8) Jones & Tod: J. Mental Sci., 83, 202 (1937); Quart.
J. Exp. Physiol., 33, 35 (1944).
9) Schütz: J. Physiol., 102, 259 (1943).
10) Antopol: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 36, 46 (1937).
11) Antopol: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 38, 363 (1938).
12) Hesterin: J. Biol. Chem., 180, 249 (1949).
13) 宮崎・大原・今野・丸山・大江: 札幌紀要, 2, 7 (1951).
14) 宮崎・大原・今野・丸山・大江: 札幌紀要, 2, 13 (1951).

2. 実 施

宮崎¹³⁾に従い次表の順序を踏んだ。



すなわち、蒸留水をもつて 2~4 倍に稀釈せる血清に 0.1 M ACh 1.0 cc を加え、更に燐酸緩衝液 2.0 cc を加入し、直ちに 30 分間温浴中に保ちその 1.0 cc をとる。之に上記 2 M Hydroxylamine hydrochloride 溶液 1.0 cc 及び 3.5 M NaOH 1.0 cc を加え、稀 1:10 硫酸 1.0 cc によつて酸性とし、更に 0.37 M 塩化第 2 鉄溶液 1.0 cc を加えれば赤褐色に呈色する。之を 3,000 rpm, 10 分間遠心沈澱し比色に供する。

比色にあつては Pulfrich 光度計で Filter S-50 を用いて比色し、ChE を含まぬ ACh のみの対照との吸光度の差から、血清 1.0 cc について 30 分間に分解する ACh の mg 数をもつて ChE 活性度をあらわした。

なお血清の稀釈については比色上 ChE の至適活性並びに血清蛋白質の酸潤度とを比較検討した結果、一般に 2~4 倍稀釈が適當と認められた。この場合血清蛋白質は強酸加入、3,000 rpm, 10 分間遠心沈澱操作で比色に支障ない程度に除かれるので、更めて除蛋白の必要を認めない。

血清自身の着色および非特異的の反應の見地から血清 Blank を設けるが、本反應はサリチル酸剤等でも呈色するから、之らの服用時には特に補正值に注意する必要がある。正常血清中の乳酸、Acetaldehyde も呈色に興るが、之らは微量で問題とするに足らない。

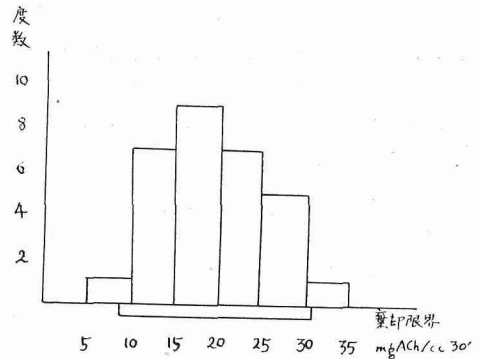
なお採血は後述の如き食事の影響を除くため早朝空腹時に一定し、型の如く血清を分離使用した。

臨床成績

1. 正常入血清 ChE 値 (対照)

健康男女 30 例の早朝空腹時血清 ChE 値を調査した。すなわち第 1 表及び第 1 図の如く各個人間の差異はかなりの大きき、8.4~30.4, 平均 18.99±5.34 を示した。之は本法と Ammon 氏法とについて行つた宮崎の比較補正值によれば、Ammon 氏法でも正常範囲に相当し、平均 234.44 cmm CO₂/0.1 cc 30' に換算される。念の爲この正常値の棄却限界を求めると 18.99±11.29 で、個人的動搖については

第 1 図 正常値 (1)



第 1 表 正常値 (2)

No.	ChE	No.	ChE	No.	ChE
1	11.2	11	25.2	21	17.2
2	10.3	12	22.4	22	16.4
3	14.6	13	22.0	23	8.4
4	13.8	14	25.2	24	18.8
5	14.4	15	22.0	25	18.4
6	12.6	16	20.0	26	17.2
7	11.8	17	28.0	27	16.4
8	30.4	18	22.0	28	19.6
9	25.2	19	25.2	29	19.2
10	23.2	20	20.4	30	18.0

Howes¹⁵⁾, Brecht¹⁶⁾ 等の報告にも見られる通りである。しかし、同一入について目を逐うて調査した結果では、第 2 表の如くその変動は比較的僅少であることが分る。

第 2 表 正常値の変動

氏名	性	第 1 日	第 2 日	第 3 日	第 4 日	第 5 日	第 6 日	第 7 日	第 8 日	第 9 日
T.A.	M	23.2			22.4					22.0
N.A.	M	25.2	25.2		30.4					
S.H.	M	26.5		26.7			28.8			28.0
O.K.	M	26.2		31.6			27.8			32.6
N.S.	M	30.0		21.7			28.4			24.9
S.O.	F	17.2		16.4	18.8	18.4	17.2	16.4		
K.O.	F	22.0	20.0		25.2	22.0				
S.A.	F	24.8			27.7					28.2
F.H.	F	27.7				28.8				
K.M.	F	28.3			27.7				27.2	

15) Hawes & Alles: J. Allergy, 12, 1 (1940).

16) Brecht: Deut. Med. Wschr., 72, 445 (1947).

2. 生理的動搖について

(1) 食事の影響

健者者7例について早朝空腹時と食後30分目に調査した。すなわち第3表の如く明らかに食後に増加を認めた。この差異は推計学的にも T-test で $t=16.43$ ($n=6$) で、有意水準 0.05 で有意と認められる。

第3表 食事の影響について

No.	食前	食後30'	差
1	20.4	27.2	+6.8
2	27.2	33.6	+6.4
3	26.8	32.4	+5.6
4	21.6	27.6	+6.0
5	25.2	31.2	+6.0
6	22.0	27.6	+5.6
7	16.4	21.2	+4.8
平均	22.83	28.69	+5.86

(2) 月経及び妊娠の影響

9例について月経時の動搖を調査せるに第4表の如くその大部分において減少傾向を認めた。その間の差異を推計学的に吟味すると $t=4.89$ ($n=8$) で、有意水準 0.05 で有意と認められる。

第4表 月経時動搖

氏名	非月経時	月経時	差
S. O.	17.2	15.2	-2.0
K. O.	22.0	16.8	-5.2
F. A.	20.4	16.8	-3.6
T. B.	19.6	16.4	-3.2
Z. O.	14.6	15.6	+1.0
M. K.	28.0	25.6	-2.4
N. S.	19.2	16.4	-2.8
N. F.	18.0	14.0	-4.0
S. A.	25.2	20.4	-4.8
平均	20.47	17.47	-3.0

14例の分娩又は妊娠中絶前後における血清 ChE 値の推移は第5表の如く、少なくとも分娩又は妊娠中絶後24乃至48時間以内においては、著明な差異は認め難い。この場合は分布不均一のため推計学的にその影響を推論する事は不可能であつた。

第5表 妊娠例

氏名	妊娠月数	ChE	
		前	後
高 ○	Anfang	20.8	21.2
赤 ○	4	21.6	23.0
齋 ○	3	14.8	16.0
田 ○	10	25.2	24.8
戸○田	4	24.4	23.3
今 ○	3	20.8	22.0
○	Anfang	10.6	11.2
綿 ○	3	28.2	26.0
細 ○	4	22.4	20.8
○ 橋	2	18.0	18.4
三 ○	2	26.6	24.8
古 ○	3	22.7	
沢 ○	3	22.3	
石 ○	3	25.4	
平均		21.7	21.05
不偏分散推定量		22.11	18.99

3. 各種疾患例について

(1) アレルギー疾患(第6表)

第6表 アレルギー疾患

病名	No.	ChE	備考
気管支喘息	1	26.0	*
	2	38.4	
	3	26.4	
	4	15.6	
	5	17.2	
	6	20.0	
	7	13.1	
	7	13.9	
	8	26.0	
	9	14.8	
10	21.6		
蕁麻疹	1	31.6	*
	2	20.0	
	3	8.4	
	4	36.4	
	5	22.0	
	6	23.6	
	7	16.4	
	8	13.2	
	9	22.0	
クワインケ氏浮腫	1	18.0	発作時 発作なし
	1	15.2	
関節リウマチ	1	19.6	高熱時 ACTH 使用時 ACTH 使用後
	1	22.4	
	1	24.8	
	2	26.2	

註 * 正常薬上界値を越すもの。

気管支喘息10例について調査せる結果、発作時に僅かに増加傾向を認める如くである。しかし之迄の調査例で全く発作の認められない、所謂間歇時の比較を行ひ得た例は1例に過ぎぬ爲詳細は今後の追求に俟たなければならぬ。

蕁麻疹9例についてもその治癒前後の比較を行ひ得ないが、正常値の棄却上昇を越える例を認め、一般に症状の顕著な時期には増加するもの如くである。

Quincke氏浮腫1例の発作時には軽度の増加を認めた。

急性関節ロイマチス2例でも僅かに増加傾向にある如く、特に1例でACTH使用後に漸増の傾向を認め得た。

第7表 神経疾患及び内分泌疾患

病名	No.	ChE	病名	No.	ChE
自律神経症	1	11.2	アヂソン氏病	1	16.0
	2	18.8		バセドウ氏病	1
	3	18.4	2		16.3
	4	22.0	糖尿病	1	14.8
	5	17.6		2	23.6
急性脊髄炎	1	18.4		3	15.6
脊髄性進行性筋萎縮	1	11.6		4	33.1
				5	26.3
結核性髄膜炎	1	19.2		6	18.0
	2	18.8		7	27.6
				8	27.3

第8表 好酸球増多症例

症例	病名	Eosino (%)	ChE
1	PAS服用者	5.0	22.0
2	PAS服用者	7.0	22.0
3	蛔虫症	7.5	20.8
4	TBI使用者	7.5	14.8
5	ストマイ使用者	8.0	18.4
6	蛔虫症	9.5	18.0
7	蛔虫症	10.4	38.4
8	ストマイ使用者	8.5	26.6
9	PAS服用者	10.4	14.8
10	PAS服用者	10.75	14.8
11	PAS服用者	10.75	25.2
12	PAS服用者	15.5	26.0
13	PAS服用者	27.25	16.8
14	ストマイ使用者	27.25	21.6
平均			19.09

(2) 神経疾患及び内分泌疾患 (第7表)

自律神経症5例、急性脊髄炎、脊髄性進行性筋萎縮症、結核性髄膜炎等の少数例では何れも正常値の範囲内にあり健康者との間に特別の差異を認め得ない。

糖尿病8例は何れも正常値の範囲内でも上昇に相当する増加傾向を示す。特にインシュリン注射前後の消長を調査しているが、之ら薬剤の及ぼす影響は次回に報告の予定である。

Basedow氏病及びAddison氏病各1例についてはこの場合に特有の傾向を認めなかつた。

(3) 好酸球増多症について (第8表)

上記アレルギー疾患を除く、蛔虫症、ストマイ使用例及びPAS服用者等の好酸球増多例14例について調査したが、特定の傾向を認め得ない。

(4) 肝疾患について (第9表) (次頁)

各種肝疾患延57例について調査した。今回の報告においては、一般に臨床症状の顕著な時期についての成績を主にしたが、大体正常値の下界に相当する低値のものが多く、特に2,3死亡例では末期に著明な減少を示した。又心機能不全に伴う肝障害例では、特に顕著に心及び肝の機能状態と平行して消長し、その他の肝疾患でも夫々部分機能の亢進或は減退と大体平行する増減関係を窺知し得るが、詳細は次回に報告する。

(5) その他の疾患について (第10表)

高度の病変を示す肺並びに腸結核5例では著変を認めない。悪性腫瘍延11例については悪液質著明なもの程減少著明である。

急性肺炎、腎炎等では著変を認め得ない。

第10表 その他の疾患

病名	No.	ChE	病名	No.	ChE
肺結核兼腸結核	1	25.6	白血病	1	16.0
	2	20.0		胃癌	1
	3	18.4	2		6.5
	4	22.0	3		5.6
	5	13.8	4		6.4
		5	8.2		
肺臓癌	1	27.0	急性肺炎	1	24.4
	2	23.0		2	10.8
	2	14.8	腎臓炎	1	17.2
縦隔洞腫瘍	1	18.0		2	11.5
胃潰瘍	1	13.8		3	15.4
食道癌	1	14.6			

第9表 肝疾患例

病名	No.	ChE	備考	病名	No.	ChE	備考
急性肝炎	1	14.0	黄疸 ++	肝硬変症	2	4.8	BSP 30' 37 TAR Co-R R ₇
	2	14.8	++		2	3.3	R ₆
	3	16.4	+		3	5.3	
	4	17.2	+		4	2.7	10 ++ R ₆
	5	17.6	++		4	2.8	11 ++ R ₆
	6	18.0	++	5	7.3	23 R ₆	
	7	18.0	++	肝梅毒	1	23.2	
	8	20.0	+		1	15.8	
	9	20.8	++		2	22.8	
	10	20.8	+	3	16.4		
	11	22.4	+	膽石症及び肝囊炎	1	26.4	
	12	25.2			2	22.8	
	13	26.4	++		3	14.8	
	14	26.8	+		4	23.6	
	15	15.2	+		5	19.5	
肝臓癌 (含転移癌)	1	22.4	BSP 30' 10 TARO		6	20.5	
	2	15.2	腫瘍転移		6	25.9	Co-R R ₅
	2	10.8	死亡10日前		6	15.6	BSP 30' 5 R ₆
	3	6.5	胃癌転移		6	19.6	
	4	5.6	胃癌転移		6	7.4	
	4	3.2	死亡7日前		7	29.4	
	5	13.8			8	24.0	
肝硬変症	6	6.4	胃癌転移		9	17.6	
	6	4.7	胃癌転移	9	14.2		
	7	8.2	胃癌転移	10	18.0		
	1	11.2	BSP 30' 62 TAR ++ Co-R R ₉	11	12.2		
2	9.2	53 ++ R ₉	12	31.7			
2	9.2	21 ++ R ₇	13	11.4			

平均 (\bar{x}) = 15.86

総括並びに考按

以上を総括するに、

1. 本法は操作が簡易であり、一定傾向を云々する限りにおいては、比色操作を光電比色計等によつても、その臨床應用價値は極めて大きい。その場合血清稀釈は2~4×が適当であり、特に溶血を避け、且つ採血時間を早朝空腹時に一定する必要がある。

2. 本法により余らの得た成績から次の諸点を明らかにし得た。

(a) 血清 ChE の個人差は極めて大きいが同一人の変動は少ない。これは Hawes & Alles¹⁵⁾, Brecht¹⁶⁾, Milhorat¹⁷⁾, Hall et al¹⁸⁾ を始め多数の報告と全く一致する。又この点は本来血清 ChE が非特異的である点とも密接な関係を有する問題で、

従つて又本法の如き簡易法によつてはあくまでもその傾向を云々するの範囲に止まるべきもので、本態的な論究は Hawkins & Mendel¹⁹⁾ の DFP による酵素鑑別法等を始めとし、今後の解明にまつべきものであることは言うをまたない。

(b) 食事前後の血清 ChE は食後に明らかな増加傾向を認める。従来血清 ChE は肝と密接不可分の関係を考えられているが、食後の血清内増加がこの点から説明されることは比較的容易であるが、この場合もその如何なる機構に基づくかの本態に関しては、別途研究の要あること前項と同様である。

(c) 月経時には減少する。

この点に関しては平出²⁰⁾、菊野²¹⁾ からも同様の報告をしているが、氏は ChE を SH-系酵素と解釈する Gordon²²⁾ らの見解から、月経毒素によ

17) Milhorat: J. Cl. Inv., 7, 649 (1938).

18) Hall et al: J. Pharm. & Exp. Therap., 59, 34 & 61, 10 (1937).

19) Hawkins & Mendel: Biochem. J., 40, 192 (1946).

20) 平出: 医学のあゆみ, 5, 309 (昭23).

21) 菊野・長屋: 日本生化学会 (昭23).

22) Gordon & Quastel: Nature, 159, 97 (1947).

る ChE の減少は生体内一般 SH-系酵素への働きかけによつて起るもので、その減少は二次的に Parasympathictonic 症候群を招く、としている。之らの点に対しては別報の如き余らの Polarograph 的研究成果も、一應 SH-系代謝との密接な関係において興味あるものとするが、之迄の処月経及び妊娠時血清ポーラログラムには血清 ChE の如き著明な変動を認めていない。

(d) 妊娠及び分娩の影響は顯著でない。

この点に関しては調査不充分のそしりを免れ得ないが、之迄の短期間の成績からは少なくとも著変を認めない。この点は菊野らの前項の所論からしても今後の研究を必要とする点と考える。

(e) アレルギー疾患の一時期にむしろ増加傾向がうかがえる。

この点については Milhorat¹⁷⁾, Hawes & Alles¹⁵⁾ らの報告では著変を認めていないが、菊野²¹⁾²³⁾ らの考えによれば ChE 活性を減少せしめる機序が、生体内 ACh の蓄積、更には Parasympathictonic 症候群を招くとし、むしろその減少を報告している。従つて余らの成績が前二者等の如く生理的動搖の範囲内に止まるものであるか、又は減少に移行する一時期に反動的増量期を認めるものであるか、今後の詳細な検討に俟たなければなるまい。なお最近 Scudamore²⁴⁾ らは気管支喘息患者の血清 ACh 量は健康者よりも高いが、ChE 活性とは直接の関係はあるまい、と発表している。この所論の根拠は同時に血漿及び赤血球 ChE 活性が不変であつた点に在る様である。尙 ACTH 使用時にみられた増加傾向は、既に Antopol¹¹⁾ が Sympathictonic に際しての増量を発表している処に一致するものと考えられるが、Scudamore²⁴⁾ の Epinephrine による影響では必ずしも斯かる傾向を示さなかつた、としている。

之は生体の反応の病態による多様性と、前述の如く血清 ChE 自体の複雑な組成に因る現象と解されるが、余らも 2, 3 薬剤使用前後の影響を調

査しているので、次回にこの点に触れ度いと考え

(f) 神経疾患、特に自律神経症で著変を認め難い。

尙少数例の爲、一概には云い得ないが、一應 Hawes & Alles¹⁵⁾, Milhorat¹⁷⁾, Scudamore et al²⁴⁾ らの成績に一致する。

(g) 糖尿病ではやや増加傾向を認める。

之は Antopol¹¹⁾ らの報告でも増加を報告している。ホルモンと ChE に関する諸家の見解は今日尙一定していないが、余らはインシュリン使用前後の影響等について次回に報告したい。

(h) 好酸球増多症については特定傾向を認めなかつた。本症がアレルギー疾患と深い関係にあることは多言を要さないが、特に Parasympathictonic 症候群としての見地から調査したが、之迄の処特別の知見を得なかつた。

(i) 肝障害に際して減少する。又その機能恢復に伴つて増加する。

之は Antopol¹⁰⁾, Wescoe et al²⁵⁾, 相沢²⁶⁾ らを始めとする多数の臨床成績、又 Brauer⁷⁾ らの実験を始め、佐藤及び玉井²⁸⁾ らによつても斯かる傾向並びにその間の密接な相関性が報告されている。しかし余らは血清 ChE の消長が肝臓部分機能の如何なる関與形式をとるか、について研究中である。又動物実験上好脂性因子の影響について得た処は別報の如く血清 ChE の増加を來すが、之らの臨床並びに動物実験上の成績から余らは、本法による血清 ChE の消長から肝機能検査法としての意義を認めるものである。

(j) 痛等悪性腫瘍において、特に悪液質増加に伴い減少を認める。

この点に関しては既に Jones & Stadie²⁹⁾, Vahlquist³⁰⁾, Scoz & Cattaneo³¹⁾ 等の臨床成績においても同様減少を報告しているが、上記肝機能がこの間に重要な意味をもつてあろう事は勿論であり、更に血清蛋白質の質的又量的變動との関係につい

23) 菊野：日新医学，36，37(昭24)。

24) Scudamore et al：J. Lab. & Cl. Med.，37，860(1951)。

25) Wescoe et al：Am. J. Physiol.，149，549(1949)。

26) 相沢：日本医事新報，1430，2613(1951)。

27) Brauer et al：Am. J. Physiol.，149，611(1947)。

28) 佐藤・玉井：生化学，20，90(昭20)。

29) Jones & Stadie：Quart. J. Exp. Physiol.，29，63(1939)。

30) Vahlquist：Skand. Arch. Physiol.，72，1133(1935)。

31) Scoz & Cattaneo：Enzymologia，4，57(1937)。

ては今後の研究を要する問題であろう。

みた。

結 論

以上余らは Hesterin-宮崎氏法による血清 ChE 新定量法を臨床的に應用し、その一般應用價値を認め、得たる成績について 2, 3 の考察を試

稿を終るに臨み実験上御指導、御協力を得たる本学生理学教室永井教授、宮崎助教授以下教室員諸兄に謝意を表する。

Summary

The results obtained by the clinical practice of the new colorimetric determination of cholinesterase activity, previously introduced by Miyazaki and others, from the Department of Physiology, are reported in the present papers; the outline of which is as follows:—

1) 2 to 4× dilutions of sera are recognized as convenient, while special attention should be given not to make hemolysis on withdrawal of the blood, and in addition, the time of which should be settled early in the morning.

2) The individual differences of serum cholinesterase are considerably great, but its daily alterations in one person are little.

3) Increased activity can be observed after meals as compared with that before meals.

4) Serum cholinesterase activity decreases by menstruation, in the same manner as reported by Hiraide and Kikuno. However, its special relationship to the metabolism of SH-system is not yet convinced.

5) The effect of pregnancy and delivery on serum cholinesterase activity is not manifest.

6) A tendency of rather increased cholinesterase activities can be observed by some periodical phase of allergic diseases and by diabetes mellitus, while by the diseases of nervous system, especially by autonomic neurosis, as well as by eosinophilia, no significant tendency has been observed.

7) Serum cholinesterase activity decreases by liver damage, and increases in parallel with the recovery of the liver function. This is a fact that coincides with the reports of many previous investigators, both clinical and experimental. It is yet in research that what mode of relation the prosperity and decay of the serum cholinesterase activity assumes to each partial function of the liver, but the authors admit according to these clinical data, and to that of animal experiments which is to be reported besides, the significance of the serum cholinesterase activity, determined by this procedure, as one of liver function tests.

8) By cancer and other malignant tumors, serum cholinesterase activity decreases, especially in parallel with the augmentation of the cachexia.