総合消化酵素製剤中のアミラーゼアイソザイム^{*1}八島弘昌, 植木弘明, 河内一仁, 小川保一^{*2}広島県立広島病院第二研究検査科^{*2}Detection of Amylase Isozymes in Commercial Multiple Digestive Enzyme Preparations^{*1}HIROMASA YASHIMA, HIROAKI UEKI, KAZUHIITO KOCHI
and YASUICHI OGAWA^{*2}Biochemistry, Hiroshima Prefectural Hiroshima Hospital^{*2}

Amylase isozymes in commercial multiple digestive enzyme preparations were detected by a discontinuous buffer system in which Tris-Borate buffer was used for supporting medium and Veronal buffer for electrophoretic chamber. The supporting medium was first immersed in Tris-Borate buffer, then electrophoresis was performed with Veronal buffer. Oxoid membrane of cellulose acetate was used, and Dy Amyl (warner-Lambert) and Blue Starch (Pharmacia) were employed as substrates. In this procedure, the isozyme bands were well separated. Quality index of 11 enzyme preparations was made up on the basis of total amylase activity determined after incubation for 2 hours at 37° or 56°. The quality index corresponded to isozyme pattern.

総合消化酵素剤中のアミラーゼは一般に麦芽ジアスターゼ, アスペルギルス属より得られる細菌性アミラーゼとブタ膵臓より得られる動物性アミラーゼが用いられている。このうちアスペルギルス属より得られるアミラーゼは, 胃液内塩酸によって酵素活性の低下が少なく安定な酵素として最近さかんに用いられているが, この細菌性アミラーゼはそのアイソザイムを検討してみるとヒトのアミラーゼとは異なるものである。

市販総合消化酵素製剤は品質の比較が困難である。そこでわれわれは総合消化酵素製剤中のアミラーゼアイソザイムを検出し, そのザイモグラムパターンより, ヒトと同一のアミラーゼを含有するかどうかを品質の指標として比較検討したので報告する。

実験方法

1. 試料

1) アミラーゼ標準品

次の4種の Sigma 社製品, すなわち hog pancreas (Lot No. 124C-8010), aspergillus oryzae (Lot No.

65C-0220), bacillus subtilis (Lot No. 45C-0169), diastase (局方品) を用いた。

2) 市販総合消化酵素剤 (略名)

錠剤: PZ, EZ, FS, CB, FT

カプセル剤: JV, BZ, PT, AZ, SE, TE

3) 試料の調製

市販総合消化酵素剤 1 カプセル (または錠) を 100ml の第2液に溶解し, 37°, 2 時間インキュベーションする。これを汙過し, 6%アルブミン液で100倍希釈して総アミラーゼ活性を測定した。

2. 方法

1) α-アミラーゼ活性測定法

測定には DyAmyl-L 法 (日本ワナー・ランバード社輸入-小野薬品, 三共販売) を用いた。

2) アミラーゼ, アイソザイム分画法¹⁾

酢酸セルロース膜を支持体として, 定電圧 150V, 2 時間, 電気泳動を行い, Blue Starch (pharmacia-シオノギ, 第一化学) を基質とした substrate agar を作製し, これに泳動した膜を密着して, 37° でインキュベーションし, メタノールにより固定する。青色のバンドとして現われたアミラーゼアイソザイムをデンストメトリーに

^{*1} 本報は昭和51年度中国四国薬学会で発表。

^{*2} 広島市宇品神田一丁目5-54; 5-54, Ujina-kanda 1-chome, Hiroshima-shi, 734 Japan

より測定した。

3) Substrate agar の調製

Blue Starch 1錠 (45mg) に精製水 1ml を加え溶解後、沸騰浴中にて溶解した 2% agar 1ml を加え、トレイに流し固めた。

成績と考察

(1) アミラーゼアイソザイムのパターン

Fig. 1 に示すようにヒト血清のアイソザイムは 2 つまたは 3 つに分画される。この場合、陽極側に出現する分画を Saliva Type (S Type)、陰極側に出現する分画を Pancreas Type (P Type) とよぶ。ヒト血清の正常なものでは S Type, P Type はほぼ等しい。唾液および唾液腺のホモジネートでは S Type のみが発現する。膵液および膵臓ホモジネートでは P Type のみが発現する。動物血清とその膵臓ではブタがヒトと同様に出現する。麦芽より得られるジアスターゼはヒトのアイソザイムとほぼ同様に出現するが、細菌性アミラーゼは全く異なる位置に出現する。

Fig. 2. Densitometric Analysis of Amylase Isozyme in Digestive Enzyme Preparation

Fig. 1. Amylase Isozyme Zymogram Pattern (schematic representation)

(2) 総合消化酵素剤中のアミラーゼアイソザイムパターン

総合消化酵素剤のアミラーゼ原料としては、ブタ膵臓をはじめ、麦芽から得られるジアスターゼ、*aspergillus oryzae* や *bacillus subtilis* などより得られる細菌性アミラーゼがある。Fig. 2 および Fig. 3 に各総合消化酵素剤中の、アミラーゼアイソザイムデンストメトリーによるパターンを示す。PZ 錠が被検 11 種中最も細菌性アミラーゼが少なく、ヒト血清と似たパターンを示した。BZ, AZ 各カプセルは一般的な総合消化酵素剤のパターンである。SE カプセルは最も細菌性アミラーゼの含有率が多いパターンである。

(3) 総合消化酵素剤中のアミラーゼアイソザイムの経年変化

Fig. 4 は製造元で常温に保存された錠剤を提供されたもので、製造後半年、1 年、2 年、3 年を経過した FT 錠である。この中 3 年を経過したものでは明らかに変質が見られた。すなわち、陰極側の P Type が消失し、アイソザイム分画の分離が悪くなっている。一般にブタ膵アミラーゼは不安定で、細菌性アミラーゼは安定である。

(4) 総合消化酵素剤中のアミラーゼ Quality Index

Table 1 はアミラーゼ標準品を 37°, 2 時間インキュベーションと、56°, 2 時間イ

Fig. 3. Densitometric Analysis of Amylase Isozyme in Digestive Enzyme Preparation

Fig. 4. Variation of Digestive Enzyme Preparation Amylase Isozyme

ンキュベーションしたものの総活性を測定し、その比をみたものである。この表によると細菌性アミラーゼはその比が1で、ほとんど変化なく、熱に安定なことを示している。Table 2 は同様に総合消化酵素剤の比をみたもので、変化の大きいものの順に並べた。すなわち、細菌性アミラーゼの含有率の少い順である。これをわれわれは Quality Index とした。この Index はアミラーゼアイソザイムパターンとほぼ一致した。

Table 1. Amylase Quality Index of Standard

Standard	A	B	A/B
Hog Pancreas	23,842 u	4,218 u	5.65
Diastase from Malt	22,620	11,462	1.97
Aspergillus oryzae	24,290	23,980	1.01
Bacillus subtilis	23,828	23,780	1.00

A: 2 hr incubation at 37°

B: 2 hr incubation at 56°

Table 2. Amylase Quality Index of Digestive Enzyme Preparation

Sample	A	B	A/B
1 PZ Tab	95,040 u	560 u	169.71
2 EZ "	95,040	720	132.00
3 FS "	74,200	1,260	58.88
4 CB "	148,480	2,880	51.55
5 SV Cap	88,480	2,720	32.53
6 Ft Tab	49,440	7,500	6.57
7 BZ Cap	82,560	16,640	4.96
8 Pt "	116,640	23,760	4.90
9 AZ "	142,080	46,880	3.03
10 SE "	46,080	34,160	1.34
11 TE "	47,040	35,840	1.31

A: 2 hr incubation at 37°

B: 2 hr incubation at 56°

結 論

1. 総合消化酵素剤のアミラーゼ原料は動物性アミラーゼとしてはブタ膵臓が用いられ、植物性アミラーゼとしては麦芽より得られるジアスターゼと細菌性アミラーゼが用いられているが、ヒトのアミラーゼアイソザイムと一致するアミラーゼはブタ膵臓とジアスターゼで、細菌性アミラーゼはヒトのものとは異なるアミラーゼであった。
2. 総合消化酵素剤のアミラーゼアイソザイムを検出することにより、その製剤の経年変化が判明した。常温保存3年後のアミラーゼでは変質がみられた。
3. 総合消化酵素剤を37°および56°でインキュベーション

ョンし、そのアミラーゼ総活性を測定し、その比より Quality Index を作製した。この Quality Index はアミラーゼアイソザイムと一致し、アミラーゼの含有率の指標となり、また、経年変化などの品質管理の指標となるものと思われる。

参 考 文 献

- 1) 八島弘昌, 植木弘明, 今井末子, 小川保一: 広島県立病院年報, 8, (1), 257 (1976).
- 2) 井上良則, 大石輝雄, 橋口信彦: 薬局, 26, (12), 1495 (1975).
- 3) 細田四郎, 吉川邦生: 診断と治療, 1, 87 (1976).
- 4) 増田正典, 葛谷覚元他: 消化器病の臨床, 16, (1), 92 (1976).

各種抗菌性物質製剤投与時におこりやすい

腸障害(下痢・鼓腸)、 菌交替症の治療に!

健保適用

抗菌性物質耐性乳酸菌製剤

アンチビオフィルス® 細粒

〔成分・分量〕: 1g中、ラクトバチルス・アシドフィルス生菌
 $1.0 \times 10^7 \sim 1.0 \times 10^9$ 個を含有する。

〔用法・用量〕: 通常1回1gを1日3回経口投与する。
なお、年齢・症状により適宜増減する。

〔適 応〕: 各種抗菌性物質製剤投与時におこりやすい腸障害(下痢・鼓腸)、ならびに菌交替症の治療。

* 取扱い上の注意: 湿気の少ない室温に保存してください。

日研化学株式会社
東京都中央区築地5-4-14 ㊟104