

3. 蛋白分解酵素剤の超音波ネブライザーによる投与

—— その基礎的検討 ——

○高木一平、 小杉忠誠(琉球大第一生理)

美原 恒(宮崎医大第二生理)

< 緒 言 >

上気道炎症に対する蛋白分解酵素の臨床応用は消炎効果、或いは他の薬物の局所への移行促進を目的として、主に経口投与により行なわれている。しかしながら蛋白分解酵素剤の消化管よりの吸収様式、又は局所組織への移行様式についてはなお多くの疑問が残されている。そこで我々は蛋白分解酵素の気道局所への直接的投与を意図し、特に超音波 Nebulizer を用いた薬物の投与方法について基礎的検討を加えてきた。今回は主に超音波処理による蛋白分解酵素の活性の低下、及び活性低下の抑制に関して若干の知見を得たので報告する。

< 方 法 >

- 1) Nebulization: 日本光電製 Ultrasonic nebulizer TUR 3200 の薬液 Chamber 内に試薬 30 ml を注入し、ノズルの先端には polyethylene 製袋を装着し、袋の一端に小孔を設けた。Nebulization 開始後経時的に薬液 Chamber 内、及び袋内から液を回収し回収液の濃度、活性等の測定を行った。
- 2) 試薬: 蛋白質は Bovine serum albumin (BSA)、及び Bovine γ -globulin (BGG) を用いた。色素は Blue dextran 及び Phenol red を用いた。蛋白分解酵素は Papain (和光純薬製 digestive powder) 及び Urokinase (UK) (興和製薬製 UK-60) を用いた。
- 3) 蛋白濃度の測定: Lowry らの方法に従った。
- 4) 色素濃度の測定: 各色素の吸収極大波長における吸光度より算出した。
- 5) 蛋白分解酵素の活性測定: Papain の活性は Fibrin plate 法により測定した。UK の活性は Fibrin clot lysis time 法により測定した。

< 結果と考按 >

- 1) 蛋白及び色素溶液の Nebulization による濃度変化: BSA、BGG、Blue dextran、Phenol red の各溶液の Nebulization を行ない、60分後の薬液 Chamber 内液、回収液の試薬濃度を測定した。その結果、BSA、Blue dextran、Phenol red の濃度については、回収液 > 薬液 Chamber 内液 > 無処置液の関係であった。一方 BGG 濃度は、薬液 Chamber 内液 > 無処置液 > 回収液の関係であった。これより蛋白試薬の場合には特にその分子量の大小により実質的噴霧量が異なることが示唆された。
- 2) 蛋白分解酵素の超音波処理による活性低下、及び活性低下の抑制: Papain 及び UK の各溶液の60分間の Nebulization を行ない、経時的に薬液 Chamber 内液、回収液の活性を検討した。その結果 Papain 活性は薬液 Chamber 内液では著変を示さなかった。しかし60分後の回収液では無処置液に比べ著しい活性低下が認められた。一方 UK の活性は薬液 Chamber 内液では Nebulization 開始後 5~10分で、又回収液では20分後において既に著明な活性低下を認めた。次に UK 溶液中に Triton X-100 を終濃度 0.25~1.0% にて添加し、同様の実験を行なったところ、薬液 Chamber 内液では Triton X-100 の濃度に依存的に UK の活性低下の抑制が認められた(図1)。又、回収液においても同様の結果が得られた。更に UK 溶液に Triton X-100 にかえて BSA を 0.25~1.0% の終濃度で添加した場合にもほぼ同様の UK の活性低下の抑制が認められた。

以上より蛋白分解酵素は超音波処理により活性低下をきたすことが明らかとなったが、これに界面活性剤、BSA を添加した場合には超音波処理による活性低下がかなり抑制される点が認められた。これらの添加物質の内、界面活性剤は酵素分子の基質への親和性を高めると同時に、超音波処理においては酵素分子に対する保護作用を有すると考えられた。更に界面活性物質は生理的に気道粘液中に存在する点を考慮するとき、蛋白分解酵素の吸入療法における界面活性剤の併用は臨床応用が可能と考えられた。

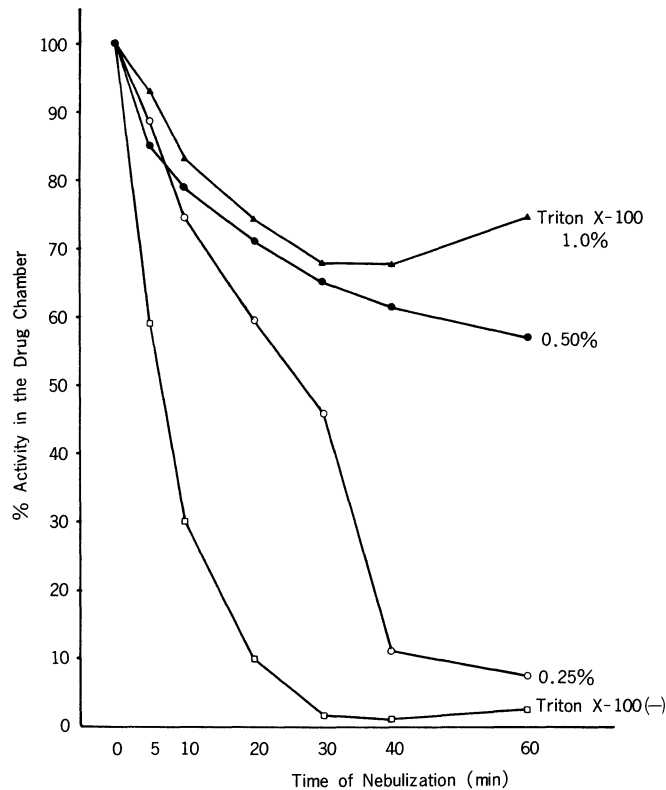


図1. Triton X-100によるUKの活性低下の抑制

<結 語>

蛋白分解酵素剤の気道局所への吸入療法を確立するため今回、超音波Nebulizerを用いて、主に蛋白分解酵素の超音波処理による活性低下及び活性低下の抑制に関して以下の知見を得た。

- 1) 蛋白質試薬の超音波Nebulizationの結果から、蛋白質の種類、分子量等の差異により、実質的な試薬噴霧量が異なる点が示唆された。
- 2) 蛋白分解酵素は超音波処理により活性の低下をきたす点が明らかとなった。しかしこれに界面活性剤、B S Aを添加した場合には超音波処理による活性低下がかなり抑制できる点が認められた。特に界面活性物質は正常気道分泌液にも存在することより、蛋白分解酵素剤の吸入療法における界面活性剤の併用は、臨床面への応用が可能であると考えられた。

<主な文献>

- 1) 藤谷哲造, 他: 慢性副鼻腔炎上顎洞粘膜内への抗生物質浸透性におよぼす蛋白分解酵素の影響, 耳鼻臨床 66: 557~565, 1973.
- 2) Kosugi, T., et al.: Fibrinolytic Enzyme in Tracheobronchial Secretion of Rats: Existence of Plasminogen Activator. Laryngoscope. 90(6): 1045~1051, 1980.