

## 정상 및 병적체액중 동종효소분획에 관한 연구

延世大學校 醫科大學 藥理學教室

金源准 · 金惠英 · 李香雨 · 洪思爽

=Abstract=

### Study on the Pattern of Isoenzymes in Pancreatic Juice, Serum and Saliva of Rabbit

Won Joon Kim, Hea Young Kim, Hyang Woo Lee  
and Sa Suk Hong

*Department of Pharmacology, Yonsei University College of Medicine,  
Seoul, Korea*

$\alpha$ -Amylase catalyses the hydrolysis of starch, glycogen, and related poly- and oligosaccharide by random cleavage of  $\alpha$ -D-(1-4) glucan linkage. In man large amounts of amylase are secreted into the digestive tract by the salivary and exocrine pancreatic gland, minimal amount being produced also in other tissues.

It has been known that  $\alpha$ -amylase exists in multiple molecular forms, isoenzyme which can be separated from each other because of difference in their physicochemical properties. By using various methods, several groups of investigator have separated the many isoenzyme in serum, saliva and pancreatic juice. Furthermore, changes of the normal serum isoenzyme pattern is diagnostically useful even when the total serum enzyme activity is noninformative, such as the clinical use of isoenzyme of serum lactate dehydrogenase.

Procarboxypeptidase-A which is one of the pancreatic enzymes is also present as isoenzymes. Four forms of procarboxypeptidase-A have been found in the bovine enzyme and three forms of the porcine enzyme. In human pancreatic juice four forms of procarboxypeptidase-A isoenzyme were found by isoelectric focusing method.

Recently, the so-called isoamylase analysis was developed for the diagnostic use of amylase in pancreatic diseases. In alcoholic patients, the serum concentration of pancreatic isoamylase is subnormal and this lowered activity provides strong evidence for pancreatic exocrine insufficiency.

The purpose of this study was to elucidate the variations of the isoenzyme of amylase and procarboxypeptidase-A in serum, saliva and pancreatic juice of the experimental animals. The results are as follow.

1) Three main forms of isoenzyme of amylase by isoelectric focusing were found in pancreatic juice of normal rabbit. However, many new bands were appeared in the pancreatic juice of cholic acid administered animal intravenously while the infusion of cholic acid or elastase into pancreatic duct produced the decrease of number of the fractions on the isoele-

etric focusing.

In the case of serum isoenzyme from normal animal, two major and a few minor isoamylases were observed. By injecting alcohol intravenously the fractions of serum isoamylase were significantly decreased and in contrary to the pattern in the pancreatic juice the infusion of cholic acid or elastase into pancreatic duct exhibited a significant decrease of the isoenzyme of amylase fractions. In saliva from normal animal three main isoamylase were produced by the administration of alcohol.

2) In the case of procarboxypeptidase-A isoenzyme, two major fractions which have isoelectric point at 6.2 and 6.4 and other two minor bands were observed in the pancreatic juice of normal rabbit. By the treatment of the juice with trypsin, only one band was produced on the isoelectric focusing. No procarboxypeptidase was appeared on the electrofocusing by the infusion of cholic acid or phospholipase A into the pancreatic duct of rabbit. However, a single major fraction of procarboxypeptidase-A was appeared at 3 hr after simple ligation of the pancreatic duct. No significant changes were observed in the juice of the alcohol or cholic acid administered group.

### 서 론

$\alpha$ -Amylase(E.C. 3.2.1.1,  $\alpha$ -1, 4-glucan-4-glucanohydrolase)는 전분 및 glycogen 등을 가수분해하는 효소이다. 사람의 타액선과 췌장에서 소화관내로 분비된  $\alpha$ -amylase의 활성도는 대단히 강하고 유즙, ovarian cyst, 뇨, 혈청 및 양수등에 함유되어 있는  $\alpha$ -amylase의 활성도는 미약하다. 동물종류에 따라 차이는 있으나 돼지, 토끼 및 쥐의 췌액과 타액에도 강한  $\alpha$ -amylase 활성치를 입증할 수 있다. 종전에 한개의 단위로 구성되어 있다고 알려졌던 많은 효소단백이 동종효소(isoenzyme)라 불려지는 여러 분자단위의 집합체임이 밝혀지고 있다. Patton 및 Pigman(1957)은 계면이동 전기영동법을 이용하여 타액에서 두개의 amylase 동종효소를 분리하였으나 그후 전기영동법의 발달로 더 많은 동종효소를 분리하게 되었다(Zipkin 등, 1957; Weinstein 등, 1960; Mandel 및 Ellison, 1961). 동종효소의 분획수는 동물의 종류에 따라 차이가 있어 토끼의 췌조직에서 3개의 amylase 동종효소 분획을, 이하선에는 하나의 분획을 관찰 보고하고(Malacinski 및 Rutter, 1969), 고양이 췌액에는 3개(Kim 및 Hong, 1975), 돼지 췌장에는 2개(Marchis, 1967), 쥐의 췌장에는 2개(Sick, 1964)의 amylase 동종효소 분획이 관찰되고 있다. 또 사람의 췌액에는 1~2개의 주 분획과 1개 이상의 종분획(Splekerman 등, 1974)이 있다고 한다. 본 교실에서 원반전기영동법으로 4개의 타액 amylase 동종효소를 분리하였는데(김등, 1972) 그후 사람의 타액을 동전집초하여 5개의 amylase 동종 효소

를 입증한 바 있다(Kim 및 Hong, 1975).

Carboxypeptidase-A(E.C. 3.4.2.1., Peptidyl-L-amino acid hydrolase)는 췌장에서 분비되는 Zn을 함유한 효소이고 C-말단의 유리 carboxyl기를 가진 peptide를 기질로 한다. 소의 췌장에는 4개, 돼지 췌장에는 3개의 carboxypeptidase A 동종효소가 존재하며 trypsin으로 전처리하면 이 효소는 A<sub>1</sub>이 A<sub>2</sub>로 변한다(Folk 및 Schirmer, 1963). 사람의 췌액에는 4개의 동종효소가 있으며 trypsin으로 췌액을 전처리하면 1개의 분획으로 나타나고 활성도가 강해짐을 보아 췌장에서 proenzyme으로 분비되어 소화관내에서 활성화된다고 주장한 바 있다(Kim 및 White, 1971).

정상체액과 병적체액에서의 동종효소함량변동을 전기영동법으로 비교 관찰한(McGeachin 및 Lewis, 1959) 이래 임상진단에 응용코져 많은 연구가 이루어지고 있다. Joseph 등(1966)은 췌장염환자의 혈청에는 췌 amylase에 해당하는 동종효소가 나타난다고 주장한 바 있다. 또한 급성췌장염환자의 혈청에는 전기영동상에 췌 amylase 분획이 강하게 나타나는 반면 타액선의 염증, 종양 및 수술조작으로 타액의 amylase 분획이 증가된다고 한다(Skude, 1977). 정상 고양이 타액에는 1개의 amylase가 존재하나 실험적으로 췌관을 결찰하면 4개의 동종효소가 나타난다(Kim 및 Hong, 1975). 알콜중독으로 인한 만성 췌장염환자의 혈청내 pancreatic isoamylase의 농도가 낮다(Johnson 및 Levitt, 1978)는 보고는 있으나 혈청내 동종효소와 췌장기능과의 상호관계는 알려져 있지 않다.

본 실험에서는 실험동물을 사용하여 췌장의 기능을

변조시켜 임상진단에 지대한 역할을 하는 혈청, 타액 및 취액내 amylase와 procarboxypeptidase-A 동종효소의 변동을 상호 비교 관찰하였다.

### 실험재료 및 방법

#### 1) 실험동물 및 실험군

(7) 실험동물: 실험동물은 체중 2kg 내외의 토끼를 암수 구별없이 사용하였다.

이각정맥에 secobarbital(30mg/kg)로 마취하여 복부 정중선을 따라 절개후 취관내로 미세 polyethylene 관을 삽관하여 취액을 채취하였다. 혈액은 고정맥에서 얻었으며, 타액은 채취후 증류수로 4°C에서 투석하였다. 취액 및 타액 채취시는 체중 매 kg당 CCK-PZ 1U, secretin 1U 및 pilocarpine 1mg의 혼합액을 정맥주사 하였다.

#### (1) 실험군:

##### A) 정맥내 주입군

- i) Alcohol(3.5g/kg) 투여군
- ii) Cholic acid(30mg/kg/min) 투여군

##### B) 취관내 주입군

- i) 단순 취관결찰군
- ii) 생리적 식염수(2ml) 주입군
- iii) Alcohol(10% Ethanol 2ml) 주입군
- iv) Cholic acid(10mg) 주입군
- v) Trypsin(20,000U) 주입군
- vi) Phospholipase A(9U) 주입군
- vii) Elastase(2mg) 주입군

상기 약물들을 취관내 50cm H<sub>2</sub>O의 압력하에 주입후 취관을 결찰하였고 그후 1시간에 가검물을 채취하였다.

#### 2) 실험방법

등전집초법(isoelectric focusing)은 Ampholine carrier ampholyte pH 3~10을 이용하여 polyacrylamide 박층에서 시행하였다(김동, 1972). 타액은 2ml, 취액은 0.4ml, 혈청은 0.2ml를 각각 사용하였다.

Amylase 동종효소의 분획을 입증코저 10% 전분용액 3ml, 30% acrylamide 3.5ml, riboflavin용액 1ml 및 증류수 5ml를 혼합하여 등전집초법과 같은 방법에 의거, 박층으로 광학중합시킨 다음 24시간 등전집초가 끝난 gel 위에 접촉시킨 후 iodine액으로 전분 gel을 염색하면 amylase 분획은 전분분해로 인하여 염색되지 않는다(김 및 홍, 1974).

Procarboxypeptidase-A는 등전집초가 끝난 gel 자체를 n-carbo-β-naphthoxy-L-phenylalanine을 기질로 diazo blue B로 염색하였다. Procarboxypeptidase-A의 활성화를 위하여 5mg의 bovine trypsin으로 4°C에서 18시간 전처리하였다.

### 실험성적

#### A) Amylase 동종효소

(1) 정상 체액: 취액에서 5~8개의 동종효소분획이 나타났으며 주 분획은 3개이며 그 등전점은 6.3, 6.1 및 6.4이었다. 타액에서는 7~10개의 많은 동종효소분획을 볼 수 있으며 주 분획은 3개로써 그 등전점은 6.3, 6.6 및 6.9이었다. 혈청에서는 6~8개의 동종효소분획을 볼 수 있고 주분획은 2개이며 그 등전점은 6.8 및 7.8이었다(Fig. 1).

(2) 정맥내 주입군: Alcohol 정맥내 투여후 시간의 경과에 따라 취액에서 동종효소 주분획의 등전점이 약

Table 1. Isoelectric focusing patterns of isoenzyme of procarboxypeptidase-A in rabbit pancreatic juice after altering pancreatic function

	Intravenous Infusion						Ductal Instillation with Obstruction									
	Normal	Alcohol			Cholic acid			Obstruction			Saline	Alcohol	Cholic acid	Trypsin	Phospholipase A	Elastase
		1hr	3hr	5hr	1hr	3hr	5hr	1hr	3hr	5hr						
Major Band (Ip)	6.2 6.4	6.2 6.4	6.2 6.4	6.2 6.4	6.0 6.3	6.1 6.4	6.1 6.2	6.1 6.4	6.1 6.4	— —	6.1 6.2	6.0 6.2	— —	6.0 6.5	— —	6.2 6.3
Total Band (No.)	4	2	2	2	2	2	2	4	1	0	4	2	0	3	0	3

**Table 2.** Isoelectric focusing patterns of isoenzyme of amylase in rabbit pancreatic juice after altering pancreatic function

	Intravenous Infusion						Ductal Instillation with Obstruction									
	Normal	Alcohol			Cholic Acid			Obstruction			Saline	Alcohol	Cholic acid	Trypsin	Phospho-lipase A	Elastase
		1hr	3hr	5hr	1hr	3hr	5hr	1hr	3hr	5hr						
Major Band (Ip)	6.1	6.3	6.2	6.2	6.0	5.0	5.5	6.1	6.1	5.6	6.3	6.2	6.4	6.2	6.3	6.4
	6.3	6.4	6.4	6.3	6.1	5.9	5.8	6.2	6.3	6.2	6.5	6.4		6.3	6.5	
	6.4	6.5	6.6	6.4	6.2	6.0	6.0	6.3	6.4	6.3				6.4	6.6	
				6.5	6.2	6.1		6.5								
					6.3	6.2										
					6.4	6.3										
						6.6										
Total Band (No.)	5-8	6-8	5-10	6-7	6-8	7-11	10-15	5-7	4-6	5-9	5	6	6-8	7-10	7	5

**Table 3.** Isoelectric focusing patterns of isoenzyme of amylase in rabbit serum after altering pancreatic function

	Intravenous Infusion						Ductal Instillation with Obstruction							
	Normal	Alcohol			Obstruction			Saline	Alcohol	Cholic acid	Trypsin	Phospho-lipase A	Elastase	
		1hr	3hr	5hr	1hr	3hr	5hr							1hr
Major Band (Ip)	6.8	7.0	6.9	6.8	6.6	5.5	5.4	6.9	5.4	4.0	5.4	5.4	5.3	
	7.8				7.5	6.5	6.4		6.7	4.6	6.7	6.7	6.7	
						6.7	6.9			5.5				
										6.6				
Total Band (No.)	6-8	3	3	3	6-10	8-10	6-9	6	5	7-15	10	8	5-17	

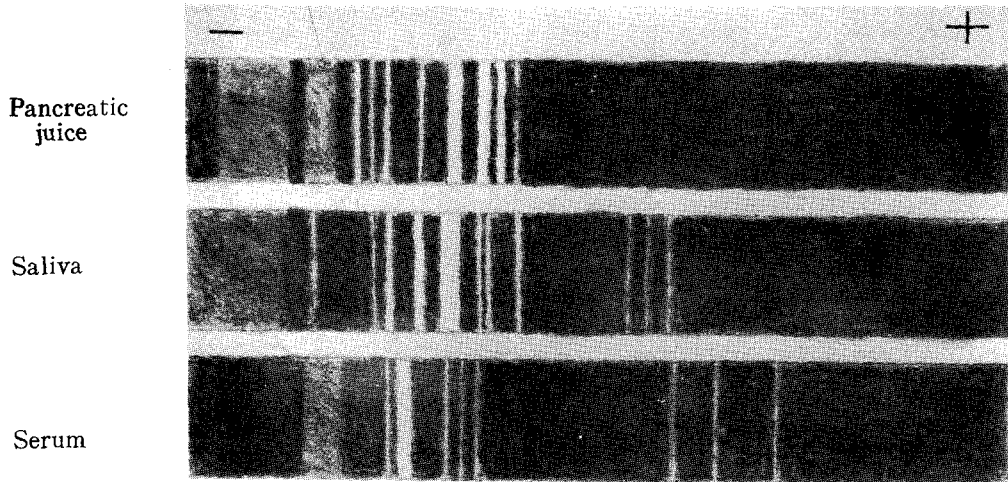
간 음극쪽으로 이동하였으나 분획수는 별 변동이 없었고 타액에서도 별변동이 없었다. 혈청에서는 alcohol 투여 1시간후 분획수가 감소하였으며 3시간 후에는 하나의 주분획은 나타나지 않았다. Cholic acid를 계속 투여한 토끼 취액 동종효소의 주 분획은 시간경과에 따라 양극쪽으로 이동하였고 분획수는 크게 증가되어 5시간 후에는 주분획수가 5~6개로 증가되었다. 타액에서는 별 변동을 볼 수 없었다.

(3) 취관내 주입군 : 취관을 단순 결찰한 취액에서는 amylase 동종효소의 별 변동을 볼 수 없었으나 타액에서는 시간의 경과에 따라 주분획이 음극으로 이동하였으며 동종효소의 분획수가 감소하였다. 혈청에서는 동종효소의 분획수가 약간 증가하였으며 특히 주분획

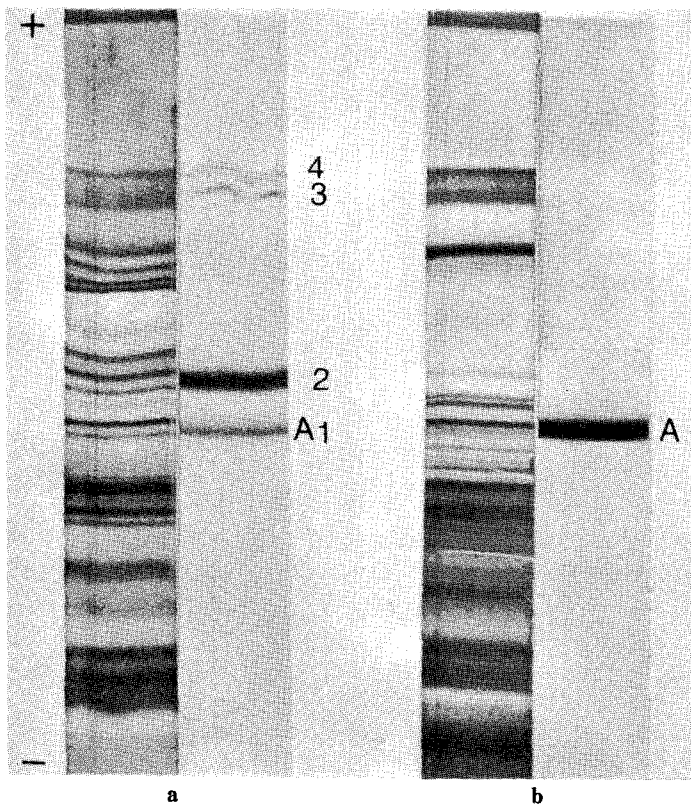
수가 증가하였다. 생리적 식염수 및 phospholipase A를 취관내 주입하고 1시간후 채취한 취액이나 혈청에서 별 변동이 없었다. Cholic acid 및 elastase를 주입한 취액에서는 별 변동이 없었으나 혈청내 동종효소의 분획수가 증가하였으며 특히 중분획수가 증가하였다. Trypsin을 투여한 취액에서는 중분획수가 약간 증가하였고 혈청에서는 주분획수가 약간 증가하였으나 반면에 alcohol 주입군의 취액에서는 주분획수가 감소하였으며 혈청의 중분획수도 감소하였다(Table 2, 3).

**B) Procarboxypeptidase-A 동종효소**

(1) 정상취액 : 정상토끼의 취액에는 procarboxypeptidase-A 동종효소가 4개 분획으로 나타났으며 이중



**Fig. 1.** Isoenzymes of amylase in pancreatic juice, saliva and serum of rabbit by isoelectric focusing.



**Fig. 2a.** Isoelectric focusing patterns of rabbit pancreatic juice shows four areas of procarboxypeptidase-A activity in the right hand strip. All of the proteins present can be seen to the left.

**Fig. 2b.** Again the proteins as stained on the left, this time after incubation with trypsin for 18h at 4°C only carboxypeptidase-A can be seen as stained by n-carbo- $\beta$ naphthoxy-L-phenylalanine.

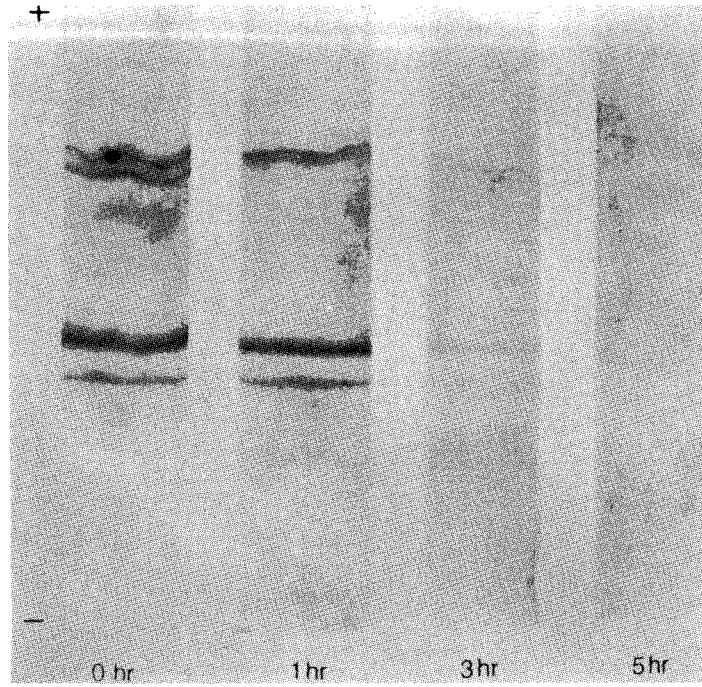


Fig. 3. Procarboxypeptidase-A in rabbit pancreatic juice after pancreatic duct obstruction.

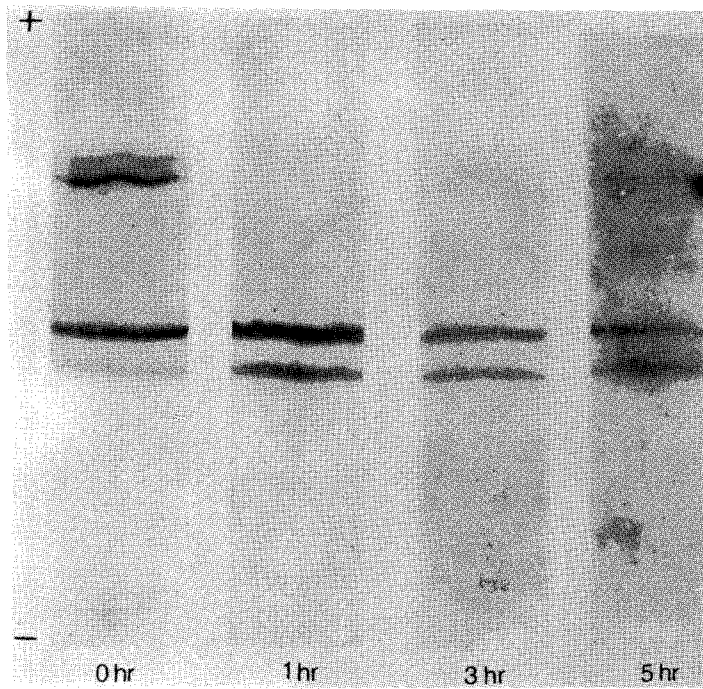


Fig. 4. Isoelectric focusing patterns of procarboxypeptidase-A in rabbit pancreatic juice after intravenous injection of ethanol.

2개 분획은 뚜렷한 주분획으로 그 등전점은 6.2 및 6.4 이었다. Trypsin으로 전처리한 취액에서는 1개만의 동중효소가 나타났으며 염색도는 더 강하였다(Fig. 2a, 2b).

(2) 정맥내 주입군: Alcohol 및 cholic acid는 정맥내 투여 1시간후 2개의 주분획만 보이고 시간의 경과에 따라 효소의 염색도가 약하여졌다(Fig. 4).

(3) 취관내 주입군: 취관을 단순결찰 1시간후 취액에서 procarboxypeptidase-A 동중효소의 분획수는 별 변동이 없으나 효소의 염색도가 약하여졌고 3시간후에는 1개의 약한 주분획만이 나타나나 5시간후에는 모든 효소분획이 없어졌다. 생리적 식염수를 취관에 주입한 1시간후에는 염색도는 약하나 4개의 동중효소가 보이거나 trypsin 및 elastase 주입한 취액에는 2개의 주분획과 한개만의 중분획이 나타났으며 alcohol 주입군에서는 약간 2개만의 주분획을 볼 수 있었던 반면 cholic acid 및 phospholipase A 주입한 취액에서는 동중효소의 분획을 전연 볼 수 없었다(Table 1, Fig. 3).

## 고 찰

단백질분리법의 발달과 더불어 효소에 관한 연구가 활발하여졌으며 더욱 병적체액에서 동중효소의 변동을 추적하여 질병의 진단 내지 예후판정에 널리 이용되고 있음은 주지의 사실이다. 취장염 환자의 혈청 및 뇨에는 취장형 amylase 동중효소가 증가하며 취절제시는 감소한다(Fridhandler 등, 1972). 만성 취장염 환자에서는 혈청내 취장형 amylase 동중효소가 감소하는데 이는 취장기능 저하때문이라고 주장한 바 있으며(Levitt 등, 1977) 이하선염 환자에서 타액형의 amylase 활성도가 높다는 보고도 있다(Berk 및 Fridhandler, 1975). Fridhandler 등(1972)은 취장이 혈청 amylase의 근원이 된다고 주장하였으나 취장의 외분비기능과 혈청 amylase 동중효소 상호관계는 규명되어 있지 않다(Johnson 및 Levitt, 1978; Berk 등, 1979) 만성 alcohol 중독시 취장의 병변이 종종 수반되며 혈청내 취장형 amylase의 동중효소가 저하되며(Skude 및 Wadstein, 1977) alcohol을 정맥내 투여시 취효소가 감소한다(Marin 등, 1973). 또한 정맥내 alcohol을 급성으로 투여시 취외분비는 큰 변화가 없으며 고농도 투여에서 취분비가 저하된다(Demol 등, 1980). 이 억제작용은 중추신경억압으로 인한 간접현상이라고 한다, 반대로 급성 alcohol 중독시 취외분비기능이 항진되는 데 이는 취관 및 Oddi sphincter의 폐쇄로 위산분비가 항진되고 따라서 secretin 및 CCK-PZ의 분비항진

으로 인한 간접작용이라는 보고(Sarles, 1971)도 있어 alcohol이 취외분비에 미치는 영향에 관해 이견이 많은 실정이다. 본 실험에서 alcohol은 혈청 amylase 동중효소의 분획수를 감소시켰으나 취액 및 타액에서는 증가시켰다.

담즙산을 동물의 십이지장에 투여하면 취액분비량과 총단백, amylase, trypsin 등의 효소활성도가 증가한다(Hara 등, 1974)고 하며 이는 취장에 직접작용보다는 소화관내 hormone을 유리시켜 일어나는 간접효과라고 추측하였으나(Forell 등, 1971) 반대로 담즙산이 CCK-PZ 유리를 억제시켜 취효소분비를 저하시킨다는 주장과 정맥내 투여시 별 영향이 없다고도 한다(Malagelada 등, 1973). 또한 담관을 결찰하면 취액 및 효소분비가 증가된다는 보고(Green 및 Nasset, 1977)와 토끼 정맥내 cholic acid 등의 담즙산을 투여시 담즙의 분비가 증가되었다는(Hong 등, 1973)점으로 미루어 담즙산이 취효소분비에 어떤 작용을 하는지 분명치 않다. 본 실험에서 cholic acid를 정맥내 투여시 취액중 amylase 동중효소의 분획수가 증가되고 특히 주분획수가 증가됨으로 보아 담즙산이 취효소분비를 촉진시키는 작용이 있으나 그 기전에 대하여는 더 추구되어야 할 것이다.

실험동물의 취관을 폐쇄하면 혈청내 취효소의 활성도가 증가되며(김, 1973) 고양이 취관을 결찰하면 타액내 amylase 동중효소의 분획수와 활성도가 증가되는데 이는 취외분비기능이 저하되어 이를 보상하기 위하여 타액선의 기능항진으로(Kim 및 Hong, 1975) 또는 취효소의 일부가 조직학적으로 유사한 타액선으로 복귀하여 타액에 재분비된다고 생각될 수 있다(홍, 1978). 취관폐쇄환자 혈청내 취장형의 중분획이 더 뚜렷히 나타나며 이동거리도 차이가 나는데 이는 주분획의 proteolytic degradation이나 deamination에 의한 것이라고 한다(Nórby, 1964). 본 실험에서 취관결찰시 취 amylase 동중효소는 별 변동이 없으나 혈청에는 시간의 경과에 따라 주분획의 증가를 볼 수 있었다.

담즙을 취관내 주입하면 hemorrhagic necrosis가 생기며(Harell 등, 1978) trypsin도 급성취장염을 유발시키는데 이들은 trypsinogen을 활성화시키며 다른 proteolytic zymogen 특히 elastase를 활성화시켜 혈관을 파괴시킨다고 한다(Geokas 등, 1968). phospholipase A는 lecithin을 lysolecithin으로 분해시켜 분해된 물질에 의해 괴사가 생긴다(Schmidt 등 Crentzfeldt, 1969; Sjö Dahl 등, 1975) 취관을 단순결찰 또는 생리적 식염수를 주입한군에서는 결찰제거후 혈청 al-

cohol 치는 급속히 회복되나 alcohol 또는 담즙산주입 군에서는 결찰을 제거한 후에도 계속 상승하며 이는 취선포주위의 미세구조가 유독한 alcohol 이나 담즙산에 의하여 파괴되고 또 계속 염증반응을 보이므로 나타나는 결과라고 추측한 바 있다(김, 1973). 본 실험에서 취병변 유인자를 취관내 주입시 취액 amylase 동종효소가 감소하며 혈청에서는 오히려 증가되었는데 cholic acid 및 elastase 투여시 현저하게 나타났다. 이는 취병변이 초기에 취효소가 혈청내로 이동됨을 알 수 있다. 취장은 단백분해효소의 하나인 procarboxypeptidase-A 를 분비한다. 돼지 및 소의 취장에 3~4 개의 동종효소가 있으며 취장 추출액을 trypsin 으로 전처리하면 한개의 분획으로 나타난다(Folk, 1963). 사람취액에는 4개의 동종효소가 있으며 취액을 trypsin 으로 전처리하면 1개의 분획만을 나타냄으로 보아 불활성형인 proenzyme 으로 취액에 분비된다고 발표한 바 있다(Kim 및 White, 1971). 본 실험에서도 토끼 취액에는 4개의 procarboxypeptidase-A 가 존재하며 그 중 2개는 뚜렷한 주분획이었고 2개는 미약한 주분획이었으며 trypsin 전처리로 한개 분획만이 나타나는 것으로 보아 토끼취액에도 proenzyme 으로 분비되는 것이 확실하다. Alcohol 이나 담즙산을 정맥내 투여한 실험에서는 주분획만 없어졌고 취관을 단순결찰하거나 생리적 식염수를 취관에 주입 1시간 후 취액에는 별변동이 없었으나 시간이 경과함에 따라 분획수가 감소하였는데 이는 5시간 취관폐쇄후 동종효소분획이 없어졌다는 보고와 일치한다(김, 1973). 또한 취병변인자를 취관에 주입시 동종효소분획이 감소하였는데 특히 cholic acid 및 phospholipase A 투여군에서 더욱 현저히 감소되어 주입 1시간후 동종효소분획이 전혀 나타나지 않았다. 이런점으로 보아 취액중 procarboxypeptidase-A 의 동종효소검색은 초기의 취장기능 변동을 알 수 있으나 순수한 취액을 채취하기가 쉽지않아 임상사용에 문제점으로 남아있다.

## 결 론

정상 및 취장의 기능을 실험적으로 변조시킨 토끼에서 취액, 혈청 및 타액의 amylase 와 procarboxypeptidase-A 동종효소의 변동을 등전점초법으로 관찰한 바 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Amylase 동종효소.....정상취액에는 3개의 동종효소 주분획이 있으며 등전점은 각각 6.3, 6.1 및 6.4 이었다. cholic acid 정맥내 투여로 분획수가 현저히

증가하고 취관내 cholic acid 및 elastase 주입으로 분획수가 현저히 감소하였다.

정상 혈청에는 2개의 동종효소 주분획이 검출되며 그 등전점은 6.8 및 7.8이었다. Alcohol 정맥투여로 혈청 amylase 동종효소가 현저히 감소되었으나 취관내 cholic acid 와 elastase 를 주입하면 동종효소의 분획수가 현저히 증가하였다.

정상타액에서는 3개의 amylase 동종효소의 주분획이 출현되고 그 등전점은 6.9, 6.3 및 6.6이었다. Alcohol 정맥내 투여실험에서는 분획수가 약간 증가하였다.

2. Procarboxypeptidase-A 동종효소.....정상취액에서 4개의 동종효소분획이 나타났고 그중 주분획은 2개로서 등전점은 6.2 및 6.4이었으며 trypsin 전처리 취액에서는 1개의 효소분획만이 출현되었다. Alcohol 이나 cholic acid 정맥내 투여에서는 미약한 주분획만이 나타났고 취관 단순결찰에서는 결찰 3시간후에 한개의 주분획만이 나타났으며 5시간후에는 전혀 동종효소의 분획을 볼 수 없었다. Cholic acid 와 phospholipase A 취관내 주입동물에서는 모든 분획을 볼 수 없었다.

이상의 결과로 미루어 정상취액, 혈청 및 타액에는 여러개의 amylase 와 procarboxypeptidase-A 동종효소가 존재하며 취장기능의 변조로 동종효소의 변동이 일어나며 특히 procarboxypeptidase-A 동종효소가 더욱 예민하다.

## 참 고 문 헌

- Berk, J.E., Ayulo, J.A. and Fridhandler, L.: Value of pancreatic-type isoamylase assay as an index of pancreatic insufficiency. *Dig. Dis. Sci.*, 24:6-10, 1979.
- Berk, J.E. and Fridhandler, L.: Clinical application of amylase isoenzyme analysis. *Am. J. Gastroent.*, 63:457-463, 1975.
- Demol, P., Andersen, B.N. and Sarles, H.: Chronic ethanol consumption and exocrine pancreatic response to ethanol and acetaldehyde in rat. *Digestion*, 20:85-94, 1980.
- Forell, M.M., Otte, M., Kohl, H.J., Lehnert, P. and Stahlheber, H.P.: The influence of bile and pure bile salts on pancreatic secretion in man. *Scand. J. Gastroent.*, 6:261-266, 1971.
- Folk, J.E. and Schirmer, E. W.: The porcine pancreatic carboxypeptidase A system, 238:3884-



- 3894, 1963.
- Folk, J.E.: *The porcine pancreatic carboxypeptidase A system.* *J. Biol. Chem.* 238:3895-3898, 1963.
- Fridhandler, L., Berk, J.E. and Ueda, M.: *Isolation and measurement of pancreatic amylase in human serum and urine.* *Clin. Chem.*, 18:1493-1497, 1972.
- Geokas, M., Murphy, D.R. and McKenna, R.D.: *The role of elastase in acute pancreatitis.* *Arch. Pathol.*, 86:117-126, 1968.
- Green, G., and Nasset, E.S.: *Effect of bile duct obstruction on pancreatic enzyme secretion and intestinal proteolytic enzyme activity in the rat.* *Dig. Dis.*, 22:437-443, 1977.
- 原泰寛, 高崎浩一朗, 山本隆一: 各種膵汁酸の膵外分泌にぼす影響. 福岡醫學, 65:993-940, 1974.
- Harell, D., Orda, R., Wiznitzer, T., Bawnik, J.B., Reinstein, G. and Sokolovsky, M.: *Proteolytic proenzymes in the pancreas in the course of experimental bile-induced pancreatitis in the guinea pig.* *Digestion*, 18:394-401, 1978.
- 홍사석: 췌장의분비에 관한 생리. 대한의학협회지, 21: 738-748, 1978.
- Hong, S.S., Kim, K.H. and Kim, W.J.: *Effect of bile acids on biliary excretion of cholesterol in rabbits.* *Yonsei Med. J.*, 14:109-115, 1973.
- Johnson, S.G. and Levitt, M.D.: *Relation between serum pancreatic isoamylase concentration and pancreatic exocrine function.* *Dig. Dis.*, 23: 914-918, 1978.
- Joseph, P.R., Olivero, E. and Ressler, N.: *Electrophoretic study of human isomylases.* *Gastroenterology*, 51:377-382, 1966.
- 김경환: 실험적 췌장염으로 인한 췌외분비기능의 조기 변화에 관한 연구. 대한의학협회지, 16:973-982, 1973.
- 김원준, 김경환, 홍사석: 전기영동법 및 등전집초법을 이용한 췌단백분리실험. 대한의학협회지, 15: 787-795, 1972.
- Kim, W.J. and Hong S.S.: *Isoenzymes of salivary amylase in cat and man by isoelectric focusing.* *Korean J. Biochem.*, 7:1-7, 1975.
- Kim, W.J. and White, T.T.: *Four forms of human pancreatic procarboxypeptidase A demonstrated by isoelectric focusing.* *Biochim. Biophysiol. Acta*, 242:441-445, 1971.
- Levitt, M.D., Ellis, C., and Engel, R.R.: *Isoelectric focusing studies of human serum and tissue isoamylases.* *J. Lab. Clin. Med.*, 90:141-152, 1977.
- Malacinski, G.M. and Rutter, W.J.: *Multiple molecular forms of  $\alpha$ -amylase from the rabbit.* *Biochemistry*, 8:4382-4390, 1969.
- Malagelada, J. R., Go, V.L.W., DiMagno, E.P. and Summerskill, W.H.J.: *Interactions between intraluminal bile acids and digestive products on pancreatic and gall bladder function.* *J. Clin. Invest.*, 52:2160-2165, 1973.
- McGeachin, R.L. and Lewis, J.P.: *Electrophoretic behavior of serum amylase.* *J. Biol. Chem.*, 234:795-798, 1959.
- Mandel, I.D. and Ellison, S.A.: *Characterization of salivary components separated by paper electrophoresis.* *Arch. Oral. Biol.*, 3:77-85, 1961.
- Marin, G.A., Ward, N.L. and Fisher, R.: *Effect of ethanol on pancreatic and biliary secretion in humans.* *Am. J. Dig. Dis.*, 18:825-833, 1973.
- Marchis-Mouren, G. and Pásere, L.: *Isolation of two amylase in porcine pancreas.* *Biochim. Biophys. Acta*, 140:366, 1967.
- Nørby, S.: *Electrophoretic non-identity of human salivary and pancreatic amylases.* *Exptl. Cell. Res.*, 36:663-666, 1964.
- Patton, J.R. and Pigman, W.: *Amylase in electrophoretic and ultracentrifugal patterns of human parotid saliva.* *Science*, 125:1262-1293, 1957.
- Sarles, H.: *Alcoholism and Pancreatitis.* *Scand. J. Gastroent.*, 6:193-198, 1971.
- Schmidt, H. and Crentzfeldt, W.: *The possible role of phospholipase A in the pathogenesis of acute pancreatitis.* *Scand. J. Gastroent.*, 4:39-48, 1969.
- Sick, K. and Nielsen, J.T.: *Genetic of amylase isozymes in the mouse.* *Hereditas* 51:291-296, 1964.
- Sjödahl, R., Tagesson, C. and Wetterfors, J.: *Ly-*

- solecithin mediated inflammatory reaction in rabbit gall bladder. Acta Chir. Scand., 141: 403-408, 1975.*
- Skude, G.: *Human Amylase isoenzymes. Scand. J. Gastroent., 12:5-37, 1977.*
- Skude, G. and Wadstein, J.: *Amylase, hepatic enzymes and bilirubin in serum of chronic alcoholics. Acta Med. Scand., 201:53-58, 1977.*
- Splekerman, A.M., Perry, P., Hightower, N.C. and Hall, F.F.: *Chromogenic-substrate method for demonstrating multiple forms of alpha-amylase after electrophoresis. Clin. Chem., 20:324-327, 1974.*
- Weinstein, E., Heskins, D. and Jackson, S.W.: *An improved technique for the paper electrophoresis of parotid saliva. J. Dent. Res., 39:110-115, 1960.*
- Zipkin, I., Adamik, E. R. and Saroff, H.A.: *Boundary electrophoresis of human parotid saliva. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 95:69-71, 1957.*