



## ABSENCE OF SYNERGISM BETWEEN TISSUE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR AND UROKINASE ON PLASMINOGEN ACTIVATION RATE IN PLASMA.

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-24 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: アンドレ, リゼウスキ メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10271/1344">http://hdl.handle.net/10271/1344</a>

学位論文の内容の要旨及び論文審査の結果の要旨

学位記番号	医博論第 67号	学位授与年月日	平成 元年 2月 3日
氏 名	Andrzej Rydzewski		
論文題目	<p>ABSENCE OF SYNERGISM BETWEEN TISSUE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR AND UROKINASE ON PLASMINOGEN ACTIVATION RATE IN PLASMA.  (血漿中のプラスミノゲン活性化に及ぼす組織型プラスミノゲンアクチベーターとウロキナーゼ間の相乗作用の欠除)</p>		

## 論文題目

### ABSENCE OF SYNERGISM BETWEEN TISSUE-TYPE PLASMINOGEN ACTIVATOR AND UROKINASE ON PLASMINOGEN ACTIVATION RATE IN PLASMA.

(血漿中のプラスミノゲン活性化に及ぼす組織型プラスミノゲンアクチベーター  
 とウロキナーゼ間の相乗作用の欠除)

## 論文の内容の要旨

〔はじめに〕組織型プラスミノゲンアクチベーター(t-PA)はフィブリン存在下におけるプラスミノゲン活性化の増加のため血栓特異的溶解をおこす。ウロキナーゼ(u-PA)は血栓特異作用は持たないが、フィブリン存在下でGlu-プラスミノゲンの活性化は増加する。従って、t-PAとu-PAの併用は大きな臨床的意味を持つと思われる。本研究の目的はin vitroにおいてu-PAとt-PAによる血漿中のプラスミノゲン活性化速度(PAR)を研究することである。

〔方法〕ヒト血漿を種々濃度のu-PA、t-PAまたは両者の混合液、0.1Mトリスバッファー(pH7.4)、合成基質S-2251(0.3mM最終濃度)と混ぜ最終濃度0.5u/mlトロロンビンで凝固させた。S-2251の水解速度は37℃で自記分光光度計にて測定した。プラスミノゲン活性化の速度は $\frac{d(\text{plasmin})}{dt} = \frac{Ar}{E_{405} \cdot K}$ から計算した。ここでS-2251水解の吸光度計数( $E_{405}$ )は $10,500 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ であり、S-2251のプラスミン水解の回転数(turn over number)は $600 \text{ min}^{-1}$ であった。プラスミン形成時の加速度(Acceleration rate: Ar)は $2 \cdot m$ であり、mは時間の2乗に対し $A_{405}$ (405nmにおける吸光度)をプロットした際の傾斜である。

〔結果〕1. 反応系において両アクチベーターの最大濃度を50u/mlにし、時間の2乗に対しプロットすると、最低8分まで直線が得られた。従ってこの時間が傾斜を計算するのに用いられた。

2. 両アクチベーター共に10u/mlから50u/mlでPARの濃度依存性の直線的増加をもたらした。

3. t-PAとu-PAの3/1、1/1、1/3の率での併用は各々単独の場合の水解効果と異ならなかった。

4. t-PAとu-PAの一方を一定にし、他方の濃度を変化させるとPARの直線的増加をもたらした。

〔総括〕本研究はin vitroでt-PAとu-PAが相乗的でなく相加的に作用することを示した。この結果は既にclot lysis法を用いin vitroで行われた研究結果と一致するが、in vivoの発表データとは一致しない。この差は不明であるがin vivoでは何か別の因子が働いているのかもしれない。一つの可能性はin vitroではu-PA単独やu-PA、t-PAの併用は血液の粘度変化を起こすのにt-PA単独では起こさないと報告されているので、これがin vivoにおける血栓溶解を促進する因子となっているのかもしれない。

## 論文審査の結果の要旨

最近、血栓症の治療にはフィブリンを分解するプラスミン系を活性化する血栓溶解剤が用いられている。これらは、主にプラスミノゲンをプラスミンに変換する蛋白分解作用を持った製剤であり、組織型プラスミノゲンアクチベーター(t-PA)、ウロキナーゼ(u-PA)およびストレプトキナーゼなどである。これらの製剤の投与は、一方では血栓溶解作用が出血作用をもたらすので、最少量の投与で、最大の効果を期待できる投与法が望まれている。したがって、これらの製剤の複合投与が、相乗的作用を持つか、単に相加的作用にとどまるのかは重要な問題である。そこで申請者は、in vitroの系を用いて血漿中のプラスミノゲンの活性化速度(PAR)を定量的に解析する方法を確立し、この系を用いてt-PAとu-PAの併用が相乗的か相加的かを定量的に解析した。

この方法は、プラスミン活性を特異的に検出する合成基質S-2251を用いて、プラスミノゲンの活性化速度(PAR)を定量的に405nmの光学密度の変化で連続計測するものである。この反応系では同時に

フィブリンの生成による反応液の濁度の増加が観察されるが、PARは、この濁度の増加が一定となっている時間で計測することで定量的に観察できることが示された。理論的な解析から、PARは横軸に時間の2乗を縦軸にS-2251の水解産物の405 nmの光学密度をプロットした場合に得られる直線の勾配として求められることが示される。申請者は実験的にもt-PAとu-PAの濃度が50u/mlの濃度まで定量的にt-PAおよびu-PAの濃度に比例してPARが解析されることを示した。このことは、従来の方法に比べ定量的にPARが解析出来る条件が確立されたことを示す新しい知見である。

一方、t-PAはフィブリンに対する親和性が高く、またプラスミノゲンもフィブリンに対する親和性が高い。したがってt-PAはフィブリンの存在の下で著しく活性化されプラスミノゲンを活性化する。つまりクロット依存性の線溶作用を示す。しかし、u-PAはフィブリンに対する親和性が低いので血漿中に存在して循環し、フィブリンノーゲンも含めて水解作用を示すことになる。しかし、u-PAは血小板膜や細胞表面膜への親和性が高いという利点も存在する。このように、作用の異なっているt-PAとu-PAの併用を行うとin vivoの成績ではこの二者は相乗的に作用する結果が得られている。申請者はこのt-PAとu-PAの併用の効果を、さきに述べた定量的なPARの解析法を用いて解析した。その結果、この二つのプラスミノゲンアクチベーターの濃度を変えた組合せの実験から、in vitroの系ではt-PAとu-PAは相乗的ではなく相加的に作用することが示された。この結果は、従来の方法からも推定されていた結果であるが、申請者は新たに確立した定量的な方法でより確実にこれを示した。

以上の結果に対して、血漿を試料としているので、それに含まれるプラスミノゲンアクチベーターへの阻害剤について、プラスミンの測定に特異的といわれるS-2251の基質特異性について、定量的に相乗的、相加的な作用を解析する方法について討論が行われた。

以上の審査の結果、本論文はPARを定量的に解析する方法を考案し、それを用いてin vitroでt-PAとu-PAの相互の作用を定量的に解析が可能であることを示したものとして評価した。プラスミノゲンの活性化剤の作用の解析をより容易にするために意義のある解析法を提唱したものとし、今後の応用が期待される。そこで、全員一致でこの研究が学位授与にふさわしいものと判定した。

論文審査担当者 主査 教授 菅 野 剛 史

副査 副学長 阪 口 周 吉 副査 教授 山 崎 昇

副査 助教授 太 田 英 彦 副査 助教授 寺 尾 俊 彦