



Potentialiation by Lys-Plasminogen of Clot Lysis by Single or Two Chain Urokinase-Type Plasminogen Activator or Tissue-Type Plasminogen Activator

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 綿引, 洋一 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/1383

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 106号	学位授与年月日	平成 3年10月 4日
氏 名	綿 引 洋 一		
論文題目	Potentialation by Lys-Plasminogen of Clot Lysis by Single or Two Chain Urokinase-Type Plasminogen Activator or Tissue-Type Plasminogen Activator (一本鎖或いは二本鎖のウロキナーゼ型・プラスミノゲン・アクチベーター及び組織型・プラスミノゲン・アクチベーターによる血栓溶解における Lys-プラスミノゲンの相乗作用に関する研究)		

医学博士 綿 引 洋 一

論文題目

Potentiation by Lys-Plasminogen of Clot Lysis by Single or Two Chain Urokinase-Type Plasminogen Activator or Tissue-Type Plasminogen Activator

(一本鎖或いは二本鎖のウロキナーゼ型・プラスミノゲン・アクチベーター及び組織型・プラスミノゲン・アクチベーターによる血栓溶解における Lys-プラスミノゲンの相乗作用に関する研究)

論文の内容の要旨

従来の血栓溶解剤(二本鎖のウロキナーゼ型・プラスミノゲン・アクチベーター:tcu-PA及びストレプトキナーゼ:SK)には、全身の線溶活性を亢進させる結果、線維素溶解による出血傾向をおこす問題点があった。これに対し近年、フィブリン(Fn)特異性を持つ組織型プラスミノゲンアクチベーター(t-PA)、一本鎖のウロキナーゼ型プラスミノゲンアクチベーター(scu-PA)が開発され、脚光を浴びている。しかし、臨床上有効な血栓溶解を得るには比較的大量が必要であり、それらの量ではFn特異性が減弱し、全身の線溶活性亢進を招き新たな問題となっている。そこでそれらのFn親和性を損なわずに有効な線溶効果を得る一つの方法として、これらのプラスミノゲンアクチベーター(PA)の相乗作用についての研究もなされている。ところでこれらのアクチベーターで活性化されるプラスミノゲン(plg)は、N末端のアミノ酸によりGlu-plg(N末端:glutamic acid)とLys-plg(N末端:lysine)に分類される。Lys-plgはGlu-plgのN末端がプラスミン(pln)により切断されて生成されるが、前者に比しPAにより活性化され易く、かつFn親和性が高いという特徴がある。本研究は、より効果的な血栓溶解を得る目的で、Lys-plgの血栓溶解に及ぼす影響についてin vitroで検討した。

十分にクロスリンクされたplasma clotを用い、血漿内における溶解率をscu-PA、tcu-PAおよびt-PAについて比較検討した。また血漿内にplg(Glu-or Lys-)を加えその影響について検討した。Plgは、正常人血漿中のPlg濃度の20%、50%、100%に相当する量を加えた。Clotに対する特異性は、血漿内のフィブリノーゲン(fbg)濃度を測定して評価した。正常人血漿中のPlg濃度の20%に相当するLys-plg(20% Lys-plg)を加えると、scu-PA(100u/ml)によるclot溶解率は、6時間の時点で5-6倍に増強され、しかもfbg分解は軽度には抑えられた。これに対し、20% Glu-plgを加えても何ら影響は認められず、50% Glu-plgのレベルで20% Lys-plgと同等の溶解能を示したが、同時にかなりのfbg分解を伴った。またplgを加えてもtcu-PA単独によるclot溶解はさほど増強されなかったが、scu-PAとtcu-PAとの混合物(scu-PA/tcu-PA)では明らかな増強効果を示した(20% Lys-plgにより最初の1時間で4-5倍のclot溶解を認めたが、これは添加されたtcu-PAの3-4倍の溶解能に相当した)。T-PAによるclot溶解はplgの添加によりまったく影響を受けなかったが、scu-PA/t-PAではplgにより約1.5-1.9倍の溶解能亢進を認め、しかもfbg分解にはほとんど影響を認めなかった。

以上の結果より、Lys-plgはscu-PA、scu-PA/tcu-PA、scu-PA/t-PAによる血栓溶解をより効果的にする上で重要な役割を果たす可能性が示唆された。

論文審査の結果の要旨

血栓溶解療法はプラスミノゲンアクチベーターを投与して血中のプラスミノゲンをプラスミンにし、このプラスミンにより血栓のフィブリンを溶解しようというものである。

プラスミノゲンアクチベーターとしてはじめ β -溶血性連鎖球菌より得られたストレプトキナーゼ(SK)と尿中より得られたウロキナーゼ(UK)が用いられた。しかし、これらはフィブリンに親和性がないため投与により血漿中のフィブリノーゲンも同時に分解し、そのため出血性の副作用が出現した。このため新しいアクチベーターが探索された。

組織型プラスミノゲンアクチベーター(t-PA)は血管内皮細胞で作られるが、フィブリン親和性があるのみでなくフィブリン存在下で活性が1000倍近く上昇することが知られている。一方UKの前駆物質(pro-UK)はそれ自体は活性はないが、フィブリブリン親和性がある(またはフィブリン上で活性化さ

れる)といわれる。このため t-PA、pro-UK が新しい世代の血栓溶解物質として開発された。

しかしこれらは半減期が短いこと、血中にアクチベーターのインヒビターである PAI のあることなどから効果を発揮させるためには投与量が大量であることを余儀なくされた。そこで申請者らはこれらのアクチベーターと同時にフィブリン親和性のある Lys- プラスミノゲン (Lys-plg) を同時に用い、各々が少量でより効果がおこるような組合せを検討した。

方法: Lys-plg は生体に native に存在する Glu-plg (N末端がグルタミン酸の plg) にプラスミンを加え、7,000 D位の N 末端ペプチドを切断して得た。t-PA、pro-UK は遺伝子工学により得られたものを用いた。

血栓溶解の系としては、まず血漿に ^{125}I -フィブリノーゲンを加え、これに Ca^{++} 、トロンビンで clot を作成した。この clot のまわりに血漿を加え、この中に t-PA、pro-UK、UK、Lys-plg、Glu-plg を種々の組み合わせで加えて、血栓溶解による ^{125}I の遊離を測定すると共に周囲の血漿中のフィブリノーゲンの分解を測定した。

結果: UK では血栓は溶解したが、血漿中のフィブリノーゲンも分解した。t-PA、pro-UK 単独では血栓を溶解させ、フィブリノーゲンの分解も少なかったが、dose が多く必要であった。

そこで pro-UK と UK、pro-UK と Glu-plg など種々の組み合わせで血栓溶解とフィブリノーゲン分解を検討した結果、plg を加えると pro-UK、t-PA の量が少なくてすみ、しかもフィブリノーゲンの分解率が少ないこと、さらに plg では Lys-plg の方が Glu-plg より数倍有効であることが確認された。

このため各々のアクチベーターが併用によりどの程度量が少なくて、フィブリノーゲン分解率が少なく、しかも血栓溶解能が高いかを plot した結果、pro-UK、UK、Lys-plg の組み合わせが最もよく、次いで pro-UK、UK、Glu-plg であった。

以上の発表を行なった後、次のような質問が申請者になされた。

1. Clot の作り方の定量性
2. 組み合わせの時の臨床応用の問題点は
3. より効果的に dose を減少させる方法
4. 臨床例では plg をどの位用いるのか
5. Glu-plg と Lys-plg の fibrinogen に対する親和性は
6. Fibrinogen のどの部分が plg と結合しているか
7. 胎盤内の Lys-plg はどこから出ているか
8. plg の種族差
9. 相乗効果のメカニズム

申請者はこれらの質問にはほぼ的確に答え、発表内容、それに関する知識は学位授与にふさわしいと全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 高 田 明 和

副査 教授 菅 野 剛 史 副査 教授 寺 尾 俊 彦

副査 教授 馬 場 正 三 副査 教授 山 崎 昇