



BASIC STUDIES AND CLINICAL APPLICATIONS OF FIBRINOLYSIS. I. THE ENHANCED ACTIVATION OF GLU-PLASMINOGEN BY UROKINASE IN THE PRESENCE OF FIBRIN OR DES A FIBRIN AS MEASURED BY THE RELEASE OF B β PEPTIDE AND FDP. II. FIBRINOGENOLYSIS AND FIBRINOLYSIS IN NORMAL VOLUNTEERS AND PATIENTS WITH THROMBOSIS AFTER INFUSION OF UROKINASE.

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 浜松医科大学 公開日: 2014-10-23 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 浦野, 哲盟 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/871

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	医博第 18号	学位授与年月日	昭和60年 3月26日
氏名	浦野哲盟		
論文題目	<p>BASIC STUDIES AND CLINICAL APPLICATIONS OF FIBRINOLYSIS. (線溶現象の基礎的、臨床応用的研究)</p> <p>I THE ENHANCED ACTIVATION OF GLU-PLASMINOGEN BY UROKINASE IN THE PRESENCE OF FIBRIN OR DES A FIBRIN AS MEASURED BY THE RELEASE OF Bβ PEPTIDE AND FDP. (Bβ peptide と FDP の遊離からみた、Fibrin あるいは Des A Fibrin 存在下における Glu-plasminogen の UK による活性化の促進)</p> <p>II FIBRINOGENOLYSIS AND FIBRINOLYSIS IN NORMAL VOLUNTEERS AND PATIENTS WITH THROMBOSIS AFTER INFUSION OF UROKINASE. (正常人と血栓症患者における UK 投与後の Fibrinogenolysis と Fibrinolysis)</p>		

医学博士 浦野 哲盟

論文題目

BASIC STUDIES AND CLINICAL APPLICATIONS OF FIBRINOLYSIS.

(線溶現象の基礎的、臨床応用的研究)

I THE ENHANCED ACTIVATION OF GLU-PLASMINOGEN BY UROKINASE IN THE PRESENCE OF FIBRIN OR DES A FIBRIN AS MEASURED BY THE RELEASE OF B β PEPTIDE AND FDP.

(B β peptide と FDP の遊離からみた、Fibrin あるいは Des A Fibrin 存在下における Glu-plasminogen の UK による活性化の促進)

II FIBRINOGENOLYSIS AND FIBRINOLYSIS IN NORMAL VOLUNTEERS AND PATIENTS WITH THROMBOSIS AFTER INFUSION OF UROKINASE.

(正常人と血栓症患者における UK 投与後の Fibrinogenolysis と Fibrinolysis)

論文の内容の要旨

Glu-plasminogen (Glu-plg) は、そのリジン結合部位 (LBS) にリジン類似物質が結合したり、N 末端ペプチドが切断されて Lys-plasminogen (Lys-plg) になると構造が粗になり、アクチベーターによる活性化がより促進される。また Glu-plg は、LBS を介して fibrin (fn) あるいは、fibrinogen (fbg) と結合しても、fn との結合定数が大であること、及び結合した際の立体構造の変化が大であることなどから、fbg 存在下よりも、fn 存在下の方が、アクチベーターによる活性化が促進されやすい。

この現象は合成基質を用いて解析されているが、本研究においてはこれをプラスミンの生理的な基質である fn 及び fbg の分解産物 [B β 1 (15)-42, FDP] を測定することによって検討した。更に、生体内においても同様の機序で線溶がおこっているかどうかを、正常人と血栓症患者に対する UK 投与の際の B β 1 (15)-42, FDP の変動から検討した。

I) 新鮮血漿を Urokinase (UK) 単独、あるいは、UK と トロンビン もしくは UK と レプチラーゼ を混和しインキュベートした。一方純化した系においては、Glu-plg を fbg 単独、あるいは fbg 及び トロンビン と UK 存在下でインキュベートした。経時的にアプロチニンを加え反応を止め fbg (fn) の分解産物である B β 1 (15)-42, FDP をそれぞれ Radioimmunoassay (RIA), Enzyme immunoassay (EIA) によって測定した。新鮮血漿を用いた系では、fbg または fn は、UK を加えることによって、トロンビンを加えて凝血塊を作成した系、即ち fn を生成させた系における方が、トロンビンを加えない系、即ち fbg のままで fn を生成させない系におけるよりも早く分解され FDP を生成した。B β 1 (15)-42 でも同様の結果が得られた。また、レプチラーゼによる凝血塊 (des A fibrin ; Fibrinopeptide A のない fibrin) においても B β 1 (15)-42 の放出は、新鮮血漿 (fbg のままの系) よりも早かった。

純化した系においては、plg の UK による活性化は fn の存在下で早く、fbg よりも fn の方が早期に分解された。これらの結果は、fbg よりも fn 存在下の方が UK による Glu-plg の活性化は促進されるといふ、合成基質を用いた実験結果とよく相関する。

II) UK 中等量 (48 万単位 / 6 時間) 及び大量 (96 万単位 / 6 時間) を各々 7 名の正常人 (ボランティア) に点滴静注し、経時的に採血採尿し、凝固線溶因子の測定と、B β 1 (15)-42 ペプチド、FDP を測定した。一方、血栓症患者 4 名に対しても UK 96 万単位 / 6 時間の投与を行い正常人と同様の検索を行った。

正常人における UK 96 万単位 / 6 時間の投与では、 α 2 Anti-plasmin (α 2 - AP) は投与前の約 50 % にまで減少し、更に残存した α 2 - AP の半分は α 2 - AP - plasmin 複合体であった。血中及び尿

中 $B\beta 1(15)-42$ はUK投与により投与量に依存して増加した。しかし、血中FDPはわずかに増加するのみで、尿中FDPは 10ng/ml 以下で測定不能であった。また血中fbg量は減少しなかった。一方血栓症患者においては正常人と比べ血中FDPは著しい増加を認め、更に尿中FDPも著しく増加した。このように、fnの存在しない正常人においては、UKは非常に早期の段階のfibrinogenolysisを惹起するのみであるが、fnの存在する血栓症患者では強くfibrinolysisを起こすことが判明した。

このように、in vivoにおけるUK療法においても血栓が存在すれば、fbgよりもfnの方が、より容易に分解されやすいことがわかった。このことはin vitroで示したfn存在下では、Glu-plgはLBSを介してfnと結合し、その立体構造が粗になることによってアクチペーターによる活性化が促進されるという実験結果とよく一致する。

論文審査の結果の要旨

申請者は、本論文において血栓症におけるUrokinase(UK)投与の動態をin vitroならびにin vivoにおいて解明せんと試みた。

その結果、in vitroの実験系において、申請者はfibrinogen(fbg)の存在下よりもfibrin(fn)の存在下でUKによるGlu-plasminogen(Glu-plg)の活性化がより促進されていることを見出した。

また、in vivoの実験系では α_2 antiplasmin(α_2 AP)の低下を伴うもののUK療法においてはfbgよりfnの分解が著しいという知見を得た。

申請者はin vitroの系にて以下の点を明らかにした。

- I) 新鮮血漿にUKを単独添加またはトロンビン加の条件でUKを添加しインキュベートする系において、fibrin(-ogen)分解産物(FDP or FgDP)はトロンビン加の条件で著しく増加すること、またこの条件では $B\beta 1(15)-42$ ペプチドも著しく増加することを示した。
- II) 血漿ではなく純化した系すなわちGlu-plg, fbgにUKのみ、またはこの系にトロンビンを加えfnにしUKを添加した系においても、FDPまたはFgDPの遊出はトロンビン加の系で著しく大であった。

これらの結果は、UKによるGlu-plgからplasminへの変換がfbgよりもfnの存在下で著しいことを示すものである。

申請者は、更に正常対照群と血栓症患者を対象としてUK投与の動態を検索した。

- III) 正常対照群(ボランティア)はUK中等量(48万単位/6時間)投与群と大量(96万単位/6時間)投与群それぞれ7名より構成される。UKは点滴静注され、経時的に採血、採尿され、plasmin, α_2 antiplasmin(α_2 AP), plasminogen, fibrinogen(fbg)などの凝固線溶因子のほか $B\beta 1(15)-42$ ペプチド、FDPが測定された。

正常対照群ではUK96万単位投与群においても α_2 APの減少は投与前の約50%であり、その残存 α_2 APの約50%は α_2 AP-plasmin複合体であった。

また血中 $B\beta$ ペプチドは、UKの投与量に依存して増加し、かつ、FDPの上昇も認められた。

しかし血栓症患者群では、UK96万単位投与において血中、尿中 $B\beta$ ペプチド、および血中、尿中FDPは著しく増加し、血栓(fibrin)の存在によってUKはplasminogenの活性化をより促進していることが示された。

このことは、fnの存在しない正常人においては、UKはfibrinogenolysisをわずかに惹起するのみであるが、fnの存在する血栓症患者では著しいfibrinolysisをもたらすことを示している。

以上の結果をまとめて申請者はin vitroの結果で示したfnの存在下でUKはよりplasminogenを活性化する事実が血栓症の患者におけるUK療法にも適応することを論じた。

この研究は、血栓症におけるUK療法の動態を明らかにしたものとして評価され、今後の血栓溶解療法機構の解明に意義のあるものとして期待される。

以上のような審査の結果、本審査委員会では本研究が学位投与にふさわしいものと全員一致で判定した。

論文審査担当者 主査 教授 菅野剛史
副査 教授 中島光好 副査 教授 藤田道也
副査 助教授 寺尾俊彦 副査 助教授 原田幸雄