



組織プラスミノゲンアクチベーター（t-PA）とウロキナーゼ（u-PA）の相加作用について

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: 森, 尚哉 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/10271/979

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 126号	学位授与年月日	平成 4年 3月26日
氏 名	森 尚 哉		
論文題目	組織プラスミノゲンアクチベータ(t-PA)とウロキナーゼ(u-PA)の 相加作用について		

医学博士 森 尚 哉

論文題目

組織プラスミノゲンアクチベーター(t-PA)とウロキナーゼ(u-PA)の相加作用について

論文の内容の要旨

[はじめに]

t-PA は u-PA やストレプトキナーゼに比し、フィブリン親和性が高いと考えられているが、最近、治療に用いられ1回投与量が増加されており、副作用として全身線溶の亢進が報告されている。本研究においては、t-PA と u-PA の併用作用を3種クロットを用いて調べた。血栓溶解時間の測定法には、最近我々が開発した、マイクロタイタープレートリーダーを用いて340nmの吸光度にてクロットの濁度の変化を測定する方法を用いた。

[材料と方法]

試薬:t-PA、住友製薬より供与された。u-PA、ミドリ十字より供与された。トロンビン、ミドリ十字より供与された。フィブリノーゲン、Kabi社より購入した。血漿:3.8%クエン酸加採血後、遠心血漿分離し用いた。プラスミノゲン(Glu-plg):新鮮凍結血漿よりリジンセファロース吸着分画を得、更にG200を用いて精製した。ユーグロブリン:血漿1mlに冷却水19mlを加え酢酸を用いpH5.2に調製し、4℃にて1時間放置後で冷却遠心して得られた沈渣を溶解した。クロット溶解時間の測定:96穴マイクロタイタープレート各穴に作製し、37℃にて、マイクロタイタープレートリーダーを用いて、340nmの波長にてクロットの濁度の変化を5分毎測定した。作用判定基準:t-PAとu-PAの併用時の作用判定は、Berenbaum's modelを用いて解析した。

[結果]

1. フィブリンクロット溶解時間の測定:プラスミノゲンアクチベーター(PAs)各種濃度、プラスミノゲン、トロンビン、フィブリノーゲンを加えフィブリンクロットを作製した。t-PA または u-PA を用いT 1 / 2 溶解時間と各PA濃度を両対数グラフに表したところ各々直線となった。t-PA と u-PA 各々でT 1 / 2 が約45分又は、約37分となる濃度で、両者を種々の割合で混合しT 1 / 2 が等しくなる点を結ぶと直線が得られた。これら溶解時間測定におけるt-PA と u-PA の併用作用は相加的であることを示した。
2. ユーグロブリンクロット プラスマクロット溶解時間の測定:これらクロットでも同様の実験を行ったところ、やはりt-PA と u-PA の併用作用は各々相加的であった。

[考察]

フィブリン上のt-PAがプラスミノゲンを活性化する時には2つの相があることが明らかにされている。プラスミノゲンはフィブリン上のt-PAにより徐々に活性化される。実際Glu-plgは、フィブリンとはあまり作用的に結合しないがフィブリン分解産物上では、Glu-plgとの結合部位が露出されており、より作用的に結合する事ができる。そこで最初にu-PAを用いてフィブリンをフィブリン分解産物にすることによって、その後のt-PAによるGlu-plgのより早い活性化をえることができると期待される。我々は新しく開発したアッセイ法を用いてin vitroに近い、より生理的な系で実験を行った。これらいずれのクロット溶解においてt-PAとu-PAを併用時相加作用のみを示した。

[結語]

1. t-PA と u-PA のクロットに対する相互作用を調べた。
2. t-PA と u-PA はいかなる比率でも、クロットに対して相加作用のみを示し、相乗作用は認められなかった。

論文審査の結果の要旨

本論文は血栓症治療に際し、プラスミノゲンアクチベーター製剤をどのように用いれば血栓溶解効果が高く、また出血などの副作用が少なく、かつ廉価で有効な使用が可能かを、生理的な血栓溶解に近い *in vitro* の系を用いて検討したものである。

従来プラスミノゲンアクチベーター製剤には *u*-PA が用いられて来たが、最近 *t*-PA が開発された。*t*-PA は *u*-PA よりもフィブリン親和性が高く少量の投与量で効果が得られると期待されたが、実際の治療では大量の投与が必要なのことがわかり、また大量投与による線溶亢進性出血が問題となることがわかった。また *t*-PA は *u*-PA に比し高価であることから *t*-PA を節約するために *u*-PA を併用することが試みられようとしている。また *t*-PA がフィブリンに作用する時 lagtime があり、*u*-PA をあらかじめ投与してフィブリンを分解しておくことでプラスミノゲンがフィブリンに効果的に結合し、その結果、*t*-PA が作用し易くなることもわかっている。そこで *t*-PA と *u*-PA の併用療法の有用性が期待されている。しかし *t*-PA と *u*-PA の併用作用については、*in vivo* の系と *in vitro* の系では異なった結果が得られ、その効果については一定の見解が得られていない。また *in vitro* の系ではその測定が発色合成基質を用いた非生理的な方法であった。そこで今回クロット溶解時間測定法という、より生理的な血栓溶解に近い方法で併用作用の効果を検討した。本研究ではフィブリン、ユーグロブリン及びプラスマの3種の異なるクロット溶解時間測定法を行ったが、その結果いずれの方法でも *t*-PA と *u*-PA 併用作用は各々相加的であり、相乗的ではなかった。以上、*t*-PA と *u*-PA の併用による相乗効果がないとする本研究の結果は現在行われようとしている両者併用療法に否定的な見解であり、むしろ他剤例えば Lysplasminogen との併用など新しい治療法を検討すべきであるとの示唆を与えるものである。

本研究に対し以下の諸点について試問がおこなわれた。

1. フィブリン、ユーグロブリン、プラスマクロット溶解時間測定法の相違点について
2. 上記3者の溶解測定法と発色合成基質分解測定法との相違点について
3. single chain *u*-PA、*u*-PA、*t*-PA の cost と benefit について
4. *t*-PA、*u*-PA の *in vivo* による半減期について
5. 血栓溶解剤の血栓発生部位による効果の相違について
6. Glu-plasminogen と Lys-plasminogen の相違について
7. lag-time は臨床上どのような意味をもつかについて
8. *t*-PA 製剤大量投与時の線溶亢進性出血の発生頻度について

これらの質疑に対する申請者の応答はおおむね適切であった。以上から、本論文は博士（医学）の学位論文としてふさわしいものであることを全員が一致して判定した。

論文審査担当者 主査 教授 寺 尾 俊 彦

副査 教授 馬 場 正 三 副査 教授 山 崎 昇

副査 助教授 植 松 俊 彦 副査 助教授 浦 野 哲 盟