Arch Jap Chir 48 (3), 354～361, Mai, 1979

四肢静脈血栓症における血栓溶解療法の検討

——Urokinase 投与に伴う FDP と Plasmin Inhibitor の変動を中心に——

東邦大学医学部第2外科講座（指導：粟津三郎教授）

竹内節夫，柴　忠明

〔原稿受付：昭和54年1月30日〕

Studies on Thrombolytic Therapy for Venous Thrombosis in the Extremities

——Dynamics of Plasmin Inhibitor and FDP Following Administration of Urokinase——

SETSUO TAKEUCHI and TADAAKI SHIBA

The Second Department of Surgery, Toho University School of Medicine
(Director : Prof. Dr. SABURO AWAZU)

In this study, plasmin inhibitors and plasmiminogen in thrombi were determined. Also, the dynamics of fibrin and fibrinogen degradation products (FDP), plasmin inhibitors, and plasminogen following administration of urokinase were deter mined experimentally and clinically.

Sventeen cases of venous thrombosis in which the patients received only thrombolytic therapy with urokinase were investigated.

The following results were obtained :

1. Plasmin inhibitors were present in thrombi.
2. Plasmin inhibitor activity in peripheral blood decreased following administration of 24,000 to 36,000 IU of urokinase in clinical cases.
3. FDP in peripheral blood increased following administration of 24,000 to 36,000 IU of urokinase in clinical cases.
4. In thrombolytic therapy it is important to decrease plasmin inhibitor activity and increase FDP.
5. Thrombolytic therapy seems to have an effect on thrombi for only 3-4 days after their formation.

Key words : Urokinase, FDP, Plasmin Inhibitor, Venous Thrombosis, Thrombolytic Therapy.
索引語：ウロキナーゼ，フィブリン体分解産物，線溶阻止因子，静脈血栓症，血栓溶解療法.
Present address : The 2nd Department of Surgery, Toho University of Medicine, Omorinishi, Ota-ku, Tokyo, 143, Japan.

I. 緒　　言

近年に至り，我国においても各種血栓性疾患に相遭する機会は増加しつつある．外科的にはこれらの血栓性疾患に対して積極的に観血的療法が施され，その補助療法として抗凝固療法，線溶療法，脱線維素療法[7]が用いられている．しかしながらさまざまな制約により観血的療法が許されず保存的療法のみに終始せざるを得ない場合も多い．又，静脈血栓症，殊に四肢静脈血栓症に関しては保存的療法の治療成績が観血的療法の成績と大差ないとする報告[6)9)14)19)20)]も多くこの領域における保存的療法が再評価されつつある．この意味において urokinase (UK) 投与による線溶療法は外科的にも重要な手段である．しかしながらいわゆる線溶療法における UK 製剤の投与量，投与法は諸家[1)4)5)16)17)]により異論のあるところであり，必ずしも一定の見解があるとは言い難い．

著者らは線溶現象における線溶阻止物質の重要性に注目し[21)]，線溶療法を行うにあたっては線溶阻止物質の動向を参考にすることが良い方法であることを述べてきた[22)23)]．今回は血栓内線溶系の測定，UK 投与時の線溶動態，殊に線溶阻止因子とフィブリン体分解産物 (FDP) の経時的変動を実験的および臨床的に測定し，且つ最近経験した保存的療法のみを施行した四肢静脈血栓症例について検討したので報告する．

II. 方　　法

1. 試薬，材料

(1) 0.5M 燐酸緩衝液 (PBS) (pH 7.4)
(2) 0.005M PBS 加 0.85% NaCl (pH 7.4)
(3) 0.005M PBS 加 1M NaCl (pH 7.4)
(4) 0.1M 醋酸溶液
(5) 0.5M Na_2HPO_4 溶液
(6) Lysine-agarose：第一化学製
(7) FDPL テスト：帝国臓器製及び Welcome 社製
(8) Streptkinase (SK)：Leadary 社製 Validase を 0.005M PBS 加 0.85% NaCl で用時に溶解して使用
(9) Urokinase (UK)：市販品を使用
(10) Thrombin：持田製薬製ウミ・トロンビンを 0.005M PBS 加 0.85% NaCl で用時に溶解して使用
(11) Bovine plasminogen (plg)：第一化学製
(12) Bovine plasminogen free fibrinogen (plg free fibg)：第一化学製
(13) Human plg free fibg：第一化学製
(14) 動脈及び静脈血栓：手術時摘出標本を生理食塩液で洗浄したのち−20°Cで凍結保存し，用時に溶解して使用
(15) ヒト血漿：用時に採血し 3,000 回転15分遠心してその上清を使用
(16) ヒト血清：ヒト血漿 10ml に 25u/ml の thrombin を 0.2ml 加えて室温に30分間放置した後に 1,500 回転10分間遠心してその上清を使用

2. 研究対象

症例の検討は昭和46年から昭和50年の間に当科に入院し保存的療法のみを施行した四肢静脈血栓症の17例について行った．又，UK 投与に伴う線溶動態はこの症例に加えて昭和53年迄に経験した四肢静脈血栓症についても施行した．

3. 血栓内線溶物質の分離と測定

動脈及び静脈血栓の各 1g をそれぞれ 0.005M PBS 加 0.85% NaCl 2ml 中で充分に homogenize し，その homogenate を測定に用いた．

一方，血栓内線溶物質の分離は以下の如くした．予じめ 5ml ディスポーザブル注射筒を用いて lysine-agarose 1ml の column を調製しておき，この column に静脈血栓の homogenate を3,000回転15分間遠心して得た上清を注ぎ affinity chromatography を行った．かかる操作で得た未吸着分画とこの column に 0.005M PBS 加 0.85% NaCl 3ml を注いで得た分画を併せて fraction I とした．次いで 0.005M PBS 加 1M NaCl 3ml で溶出を行い，得た分画を fraction II とした．次いで 0.1M 醋酸 3ml で溶出を行い，得た分画を 0.5M $NaPO_4$ 溶液で pH 7.4 に調節して fraction III とした．

実際の測定にあたっては静脈血栓の homogenate の supernatant，fraction I，fraction II，fraction III 及び両血栓の homogenate に 1000u/ml の SK 0.1ml 又は 500u/ml の UK 0.1ml を加えて plg free fibrin plate と plg rich fibrin plate (standard plate)[11)24)] に各 0.004ml づつ滴下し，37°C18時間の放置の後に平板上の溶解窓の長径と短径を測定して成績を得た (Fig. 1)．

4. 実験的 UK 添加に伴う plasmin inhibitor と FDP の変動

ヒト血清 2ml に 1000u/ml の UK を 0.2ml 添

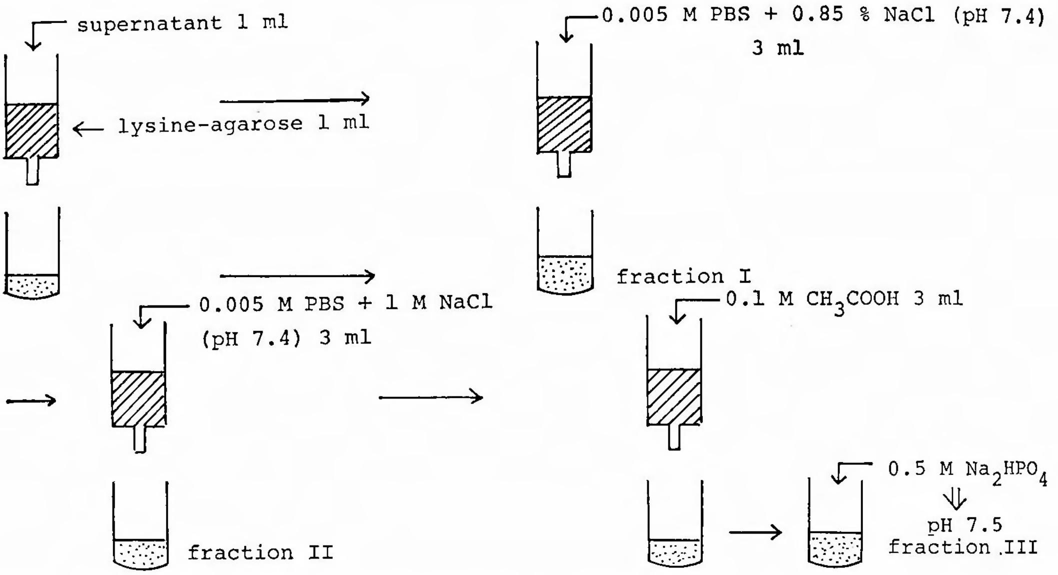

Fig. 1 Separation of plasminogen and plasmin inhibitor from a thrombus by affinity chromatography on lysine-agarose

加した試験管内に，0.2% plg free fibg 0.4ml に 25u/ml thrombin 0.1ml を加えて調製した fibrin clot を投入し，38℃恒温槽中で放置し経時的に血清中の plasmin inhibitor を TNP[10)11)] 法で，FDP を FDP テストで測定した．

5. 臨床的 UK 投与に伴う plasminogen, plasmin inhibitor, FDP の変動

6,000IU, 24,000IU, 36,000IU の UK を 500ml の生理的食塩液又は5%ブドウ糖液又は低分子デキストラン液に溶解して約2時間かけて点滴静注した．そして点滴前及び点滴終了後6時間迄の間に1時間ないし2時間の間隔で経時的に plasminogen, plasmin inhibitor, FDP を TNP 法と FDPL テストで測定した．

6. 症例の検討

Table 1 に示したような17例の四肢静脈血栓症について検討した．これらの症例における UK 投与は，UK 24,000～36,000IU を5%ブドウ糖液又は生理食塩液 500ml に溶解して1日1回約2時間かけて点滴静注することを原則とした．効果の判定は，症状が消失しかつ血管造影で閉塞部位の血流再開を確認した症例のみを有効とした．症状は消失したが血流再開がみられなかったもの，症状は消失したが加療後の血管造影が不備なものは全べて症状消失に含めた．更に症状不変又は悪化のものは無効とした．

Ⅲ．成　績

1. 血栓内線溶の測定

動脈血栓，静脈血栓ともその homogenate は両 fibrin plate 上に溶解窓を形成せず，両血栓の homogenate 加 SK および UK が plg rich fibrin plate 上にのみ溶解窓を形成した．又，静脈血栓の supernatante 及び lysine-agarose 処理分画の測定では fraction III のみが両 fibrin plate 上にほぼ同大の溶解窓を形成した（Table 2, Table 3）．

2. 実験的 UK 添加に伴う plasmin inhibitor と FDP の変動

UK 添加によって血清中の plasmin inhibitor は経時的に減少し，それに伴い FDP は上昇し fibrin clot は次第に消失した（Fig. 2）．

3. 臨床的 UK 投与に伴う plasminogen, plasmin inhibitor と FDP の変動

UK 投与に伴う末梢血線溶動態の測定結果のうち plasmin inhibitor の減少と FDP の上昇が明らかな変動として観察された．各投与量別の plasmin inhibitor の減少の最大値を投与前と比較して Fig. 3 に示す．6,000 IU 投与例では投与後はむしろ若干の上昇を示した．24,000 IU 投与例では投与前値に比して

Table. 1 Cases of venous thrombosis in the extremities

No.	Age	Sex	Focus	Duration	Total Dosage
1	36	f	l.femoral v.	1 day	480,000 U
2	29	m	l.femoral v.	6 days	360,000 U
3	55	m	l.femoral v.	14 days	996,000 U
4	24	m	r.femoral v.	10 days	360,000 U
5	71	m	l.femoral v.	1 day	48,000 U
6	47	m	r.popliteal v.	14 days	540,000 U
7	67	f	r.femoral v.	6 days	362,000 U
8	46	m	r.femoral v.	6 days	360,000 U
9	24	m	r.popliteal v.	4 days	336,000 U
10	29	m	l.femoral v.	2 days	300,000 U
11	56	m	r.popliteal v	5 days	720,000 U
12	31	f	l.femoral v.	1 day	396,000 U
13	17	f	l.femoral v.	5 days	1,080,000 U
14	40	f	l.femoral v.	4 days	336,000 U
15	64	f	l.popliteal v.	1 day	24,000 U
16	65	f	r.popliteal v.	30 days	516,000 U
17	42	m	r.popliteal v.	4days	552,000 U

Duration:time lapse between the onset of disease and the primary treatment.
f:female m:male l:left r:right v:vein

Table. 2 Determination of Fibrinolysis in Thrombi

	Arterial Thrombi		Venous Thrombi	
	standard plate	plasminogen free plate	standard plate	plasminogen free plate
homogenate	–	–	–	–
homogenate + SK	20x26 mm^2	–	20x21 mm^2	trace
homogenate + UK	17x18 mm^2	–	17x18 mm^2	trace

tested by fibrin plate method

Table. 3 Analytic determination of fibrinolysis in venous thrombi

	standard plate	plasminogen free plate
supernatant	-	-
fraction I	-	-
fraction II	-	-
fraction III	2x2 mm^2	2x2 mm^2

tested by fibrin plate method

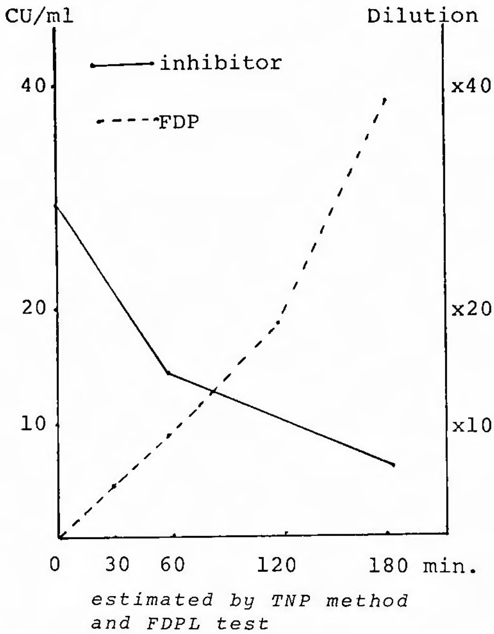

Fig. 2 Dynamics of FDP and plasmin inhibitor with UK administration in vitro

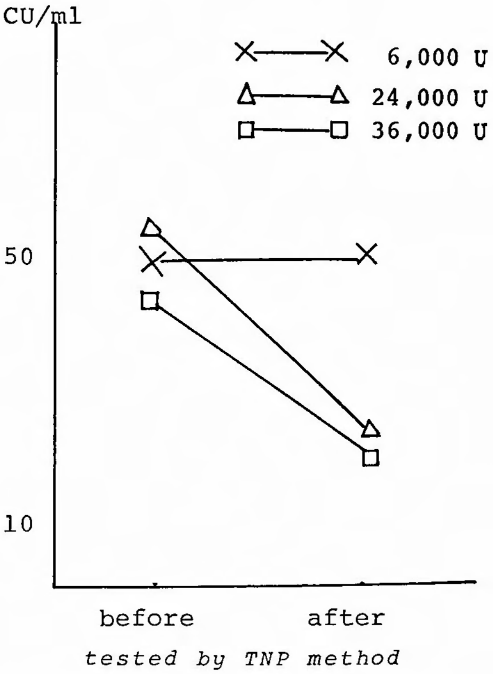

Fig. 3 Dynamics of plasmin inhibitors with UK administration (11 cases)

30～50%の減少を示した. 36,000 IU 投与例では投与前値と投与後値は 24,000 IU 投与例とほぼ同様の減少を示した. 又, plasmin inhibitor が減少の最大値を示す時間は投与終了直後から投与終了6時間目迄に分散した.

plasminogen は全例とも減少の傾向を示すものの大きな変動ではなかった.

FDP は 24,000IU 投与例7例について測定した. FDP は各例とも投与終了直後から投与終了後2時間をピークとして投与前値を上回った. そして FDP の上昇は plasmin inhibitor の減少にやや先行する傾向を示した (Fig. 4).

4. 臨床例の検討

年令, 性別, 閉塞部位などの分布は諸家の報告と大差なかった. 発症から初療迄の期間は1日～30日であり UK 投与量は 48,000 IU から 1,080,000 IU の多

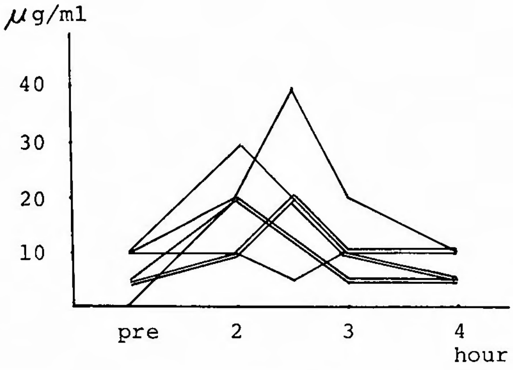

Fig. 4 Changes of FDP with UK administration (7 cases)

Table. 4 Investgation of early efficacy in 17 cases with deep venous thrombosis treated with UK

	Average Duration	Average Total Dosage	No.
Effective	3.4 days	540,000 U	5/17
Fair	6.4 days	420,000 U	7/17
Ineffectie	10.4 days	372,000 U	5/17

Effective:cases in which all symptoms disappeard and venographic findings indicated recanalization.
Fair:cases in which all symptoms disappeard but venographic findings did not reveal recanalization or the situation was uncertain due to a lack of venography.
Ineffective:cases in which showed no improvement or became worse.
Duration:time lapse between the onset of desease and the primary treatment.

岐にわたった．又，有効は17例中5例であり，有効例における発症から初療迄の期間は平均3.4日であった．症状消失は17例中7例であり，初療迄の期間は平均6.4日であった．無効は17例中4例であり，初療迄の期間は平均10.4日であった（Table 4）．

VI. 考　察

血栓内線溶系の測定成績は，血栓内には plasminogen が全ったく存在しないか，又は plasminogen が存在するとすればそれに対して充分量の plasmin inhibitor が存在するであろう2つの可能性を示す．

そして静脈血栓の supernatant の lysine-agarose 処理による plasmin 活性の出現は血栓内に plasmin inhibitor が存在することを示す1つの根拠となろう．且つ又，既でに諸家[2)12)13)]により述べられている如くある時点においては plasmin と plasmin inhibitor の複合体のあるものは可逆的であり適当な処理により再び plasmin 活性を現わし得ることを示すものであろう．いづれにしても血栓内に plasmin inhibitor が存在するとすれば[8)18)]，比較的早期の未だ基質化していない血栓でも単に activator の血栓内侵入のみではその溶解は容易ならざることであろう．この点が著者らをして末梢血中の plasmin も又血栓溶解に相当のかかわりを持つであろうと推測せしめるゆえんである．さて，実験的 UK 添加に伴う plasmin inhibitor と FDP の変動の測定では plasmin inhibitor の減少に伴って FDP は上昇した．線溶諸因子の fibrinolysis への影響のうち plasmin inhibitor は重要な位置を占めるという[21)]．これらの成績を直ちに生体に結びつけることは出来ないにしても，末梢血線溶亢進を示す1つの示標として plasmin inhibitor の減少と FDP の上昇を把握することは重要であろう．

投与された UK の一部は末梢血中の UK inhibitor [3)15)]に阻害されることは充分に予想される．更に，未だ UK inhibitor の作用を受ける以前の UK は末梢血中の plasminogen を plasmin に変換させるであろうが，その plasmin は又 plasmin inhibitor によって阻害されるであろう．しかしながら UK 投与に伴う末梢血線溶動態に示されたように FDP は上昇し plasmin inhibitor は減少する．この FDP の上昇が fibrinolysis に基づくか，fibrinogenolysis に基づくかはなお疑問ではあるが UK inhibitor あるいは plasmin inhibitor の存在にもかかわらず投与された UK が線溶亢進を惹起することは明白である．更に plasmin inhibitor の減少のピークが投与終了後にみられることは線溶亢進がある持続をもっていることを示唆するものではなかろうか．以上の成績は末梢血への UK 投与を血栓溶解療法の1つの方法として位置づけるものである．このような観点から著者らの経験した17症例に考察を加える．これらの症例の治療成績は諸家の報告になる四肢静脈血栓症の手術成績に近いものであった．そのうえ術後に抗凝固療法や線溶療法を行うことが多いことを考え併せると，四肢静脈血栓症における UK 療法の有用性を示すものであろう．しかし，有効例にみるように UK 投与による線溶療法が発症後3日から4日以内に行われることが望ましいことは論を待たない．

次に UK 投与量に関しては著者らは今回示されたように1回 24,000 IU から 36,000 IU の投与量で一応の成果は挙げ得るものと考える．しかし，この投与量が最良であるか否かは確定的ではない．UK を増量することでより高度な線溶亢進を惹起し得ることは容易に想像されるところであり，最近では1回 300,000 IU にも及ぶ大量投与例の報告も散見される．どの程度の投与量が日常臨床において適切であるかは今後の検討に待たねばならないであろう．

V．結　語

本研究において著者らは摘出血栓内の線溶系及び UK 投与に伴う線溶動態を plasmin inhibitor と FDP を中心にして実験的，臨床的に測定した．そしてその成績をふまえつつ四肢静脈血栓症例について検討した．その結果，血栓溶解に単に UK (activator) の血栓内侵入のみだけでなく，末梢血線溶亢進も重要な条件となることが考えられた．そして plasmin inhibitor の減少と FDP の上昇は線溶亢進の良い示標となることが明らかとなった．又，これらを示標として評価すると 24,000IU から 36,000IU の UK 投与は血栓溶解を期待し得る末梢血線溶亢進を惹起すると考えられた．しかしより多量の UK 投与がより強い末梢血線溶を来し得ることは容易に考えられるところであり，どの程度の投与量が最良であるかは今後の研究に待たねばならない．線溶療法における UK の効果は多数症例の長期の観察によって慎重に論ぜられる可きであるが，発症後3日から4日以内の四肢静脈血栓症にあっては UK 投与による線溶療法は有用な療法であると思われた．

稿を終えるにあたり御指導，御校閲いただいた粟津三郎教授に深謝いたします．

文　献

1) 安部英：脳血栓溶解療法．臨床血液 **19**：1717, 昭53.
2) Ambrus CM and Markus G：Plasmin antiplasmin complex as a reservoir of fibrinolytic enzymes. Am J Physiol **199**：491-499, 1960.
3) Aoki N and Kawano T：Inhibitor of plasminogen activator by naturally occuring inhibitor in man. Am J Physiol **223**：1334-

1337, 1972.
4) 青木延雄，吉田充男，他：ウロキナーゼ比較的大量投与臨床例．医用酵素 **1**：701-702，昭50.
5) 伴一郎：血栓の線溶活性の特異性と Urokinase の投与量についての検討．医用酵素 **1**：62-67，昭49.
6) Barner HB, Willaman VL, et al : Thrombectomy for ileofemoral venous thrombosis. JAMA **208** : 2442-2446, 1969.
7) Blomböck B, Eqberg N, et al : Treatment of Thrombotic disorders with reptylase. Thromb Diath Haemorrh Suppl **45** : 51, 1971.
8) Dala PM, Shah PM et al : Some observation on thrombolysis in vitro. J Clin Pathol **22** : 369-374, 1969.
9) Edwards WH, Sawyers JL, et al : Ileofemoral venous thrombosis. Ann Surg **171** : 961-970, 1970.
10) 五十嵐紀子，浅田敏雄，他：プラスミン，プラスミノーゲン，抗プラスミン測定法．臨床病理 **24**：308-311，昭51.
11) 五十嵐紀子，松本光民，他：アフィニティークロマトグラフィーを用いる線溶能の検査．臨床検査．**17**：713-722，昭48.
12) 五十嵐紀子，高塚　純，他：α_2-Macroglobulin. 日本血液学会雑誌 **41**：589-593，昭53.
13) 風間睦美：線溶阻止因子．医用酵素 **1**：392-413，昭50.
14) Lansing AM and Davis WM : Five year follow up study of ileofemoral thrombectomy. Ann Surg **168** : 620-628. 1968.
15) Lauristend OS: Urokinase Inhibitor in Human Plasma. Scand. J Clin Lab Invest **22** : 314-321, 1968.
16) 松岡松三，桜川信男：血栓溶解療法について．医用酵素 **1**：75-80，昭49.
17) 松尾　理，美原　恒：血栓溶解療法における UK 投与法および投与量に関する基礎的研究．臨床血液 **18**：1097-1101，昭52.
18) Ogston D, Ogston CM et al : The plasminogen content of thrombi. Thromb Diath Haemorrh **15** : 220-230, 1969.
19) 田辺達三：急性腸骨大腿静脈血栓症．臨床外科 **29**：1269-1275，昭49.
20) 阪口周吉：静脈還流とその外科的治療．脈管学 **15**：79-84．昭50.
21) 柴　忠明：線溶諸因子の Fibrinolysis への影響．脈管学 **16**：241-245，昭51.
22) 柴　忠明，竹内節夫，他：UK 投与に伴う線溶系の変動．医用酵素 **1**：326-329，昭49.
23) 柴　忠明，竹内節夫，他：UK 投与に伴う線溶動態と線溶療法．医用酵素 **1**：535-539，昭51.
24) 柴　忠明，竹内節夫，他：プラスミノーゲンアクチベーターの研究．日本血液学会雑誌．**27**：853-866，昭49.