焼酎の香り成分が有する新規機能性：t-PA（組織プラスミノゲンアクチベーター）の放出，並びに血小板凝集抑制効果

血液には、血液を凝固させる凝固系と凝固した血液を溶かす線溶系が存在し、そのバランスが大切である。筆者はこれまでに血液の凝固－線溶系について研究を重ね、1980年代に血栓を溶解するナットウキナーゼを発見し、納豆の健康食品としての有効性を裏付けた。本稿では、焼酎香氣成分が線溶因子の1つであるt-PAの放出を促進し、血小板凝集を阻害することについてご紹介いただく。これまでに、適量飲酒は心臓疾患や脳梗塞に良いという結果が多くの疫学調査で報告されているが、焼酎香氣成分の寄与もあるのではないだろうか。

須 見 洋 行

はじめに

約9000年前の酒が中国河南省で発見され、それまで最古とされていた7400年前のワインの記録を塗り替えた話はまだ記憶に新しいが、そんなにも昔から人類は微生物などの酵母を巧みに利用した発酵技術を持っていたのである。ところが、酒の効能面になるとほとんどネガティブな話しか出てこない。それどころか、アルコール飲料には、もともと機能性成分が無いとさえいわれていた¹⁾。また、酒類の効能について学会発表をしたことがあるが、参加者は精神科の医師が中心で、しかも主な研究課題はアルコール中毒症に関するものばかりであった。その当時、学会では「酒は悪い」という考え方が定着しているから仕方ない。

そのような中で、筆者は焼酎²⁻⁴⁾、泡盛^{3,4)}、洋酒⁵⁾、あるいは約100種のエッセンシャルオイル^{6,7)}の血液学（凝固－線溶系）上における影響を検討してきた。

本著では、約50年にわたる焼酎（乙類）に関する研究内容とともに、焼酎から生じる種々の微量揮発性成分（主にエステル類、アルデヒド類）の機能性について記す。特に生体にとって重要と思われる、t-PA

（組織プラスミノゲンアクチベーター）の放出について紹介する。このt-PAは現在、虚血性脳血管障害、急性肺塞栓症および急性冠症候群に対する最も強力な血栓溶解薬として高い有効性が証明されているものである。t-PAが臨床で多くの製剤として使われていることを考えると、焼酎飲酒のt-PA放出効果の意義は実に大きい。

さらに、t-PAは心臓の悪い人や脳血管系の疾患だけでなく、IQを高めるなどその人間の生命力と深く関係していると推測される（第1図）^{8,10)}。

その他、焼酎が持つ血小板への効果についても紹介する。

うまい酒の生理学

世界の長生きで有名な場所には必ずといってよいほどうまい酒がある。事実、古代文明の栄えた所からは数多くの杯が出土する。インカ帝国では「人は酒を飲んで初めて神の領域に入れる」とまでいわれたようである。中でも揮発性アロマを濃縮した「オー・ド・ヴィ＝生命の水」は、まず口にする前の香りをかく段階から病んだ体を心から癒してくれる効果がある。

Functional Aroma Components in Shochu : t-PA (Tissue Plasminogen Activator) Release and Platelet Aggregation Activity

Hiroiyuki SUMI (Department of Life Science, Kurashiki University of Science and the Arts)

第1図 t-PA の役割

Aβ : amyloid-β, L-LTP : late phase of long-term potentiation,
LTD : long-term potentiation

そういえば山梨大学発酵生産学科（二講）時代に2階の片隅で実験を行っていた時、日本酒やワインの有機酸を定量するため水蒸気蒸留を行っていたのだが、蒸留時のニオイの誘因物質に身も心も衝撃を受けたのを思い出す。その時、その魅力的なニオイにハチやアブが引き寄せられてやってくるのを見て、これはきっと何かあると直感した。

これは筆者の持論であるが、焼酎、酒類はずっと続けて飲む方が体に良い。酒の健康効果はヨーロッパを中心に行われた多くの飲酒実験による統計調査でも、全く飲まない人に比べて適量の酒を嗜む人で癌を含む多くの病気、特に虚血性心疾患（いわゆる心臓病）のリスクが低いことが明らかにされている。最も有名なものに、1984年の英国のMarmotらの「アルコールと死亡率・U字型死亡率曲線」¹¹⁾がある。彼らは、ロンドンとその近郊に住む男性公務員約1600人を対象に、1日のアルコール摂取量から全員を4つのグループに分け、10年間その死亡率と死因の詳細について調べた。その結果、10年間における年齢調整死亡率で最も低いのは1日9g以下のアルコールを飲む少量飲酒グループであった。さらにそれは大量飲酒グループ

だけでなく禁酒グループよりも低いというもので、U字曲線を描くことが確認された。また、8万人のカリフォルニア州の住民で行われたKlatskyら、あるいは5000人を超えるマサチューセッツ州の住民で行われたGordonらの調査でも同様の成績が示されている。つまり、毎日適量の酒を嗜む人では非致死的な心筋梗塞などの危険性や冠動脈疾患による死亡率が有意に低いということになる。

ストレス過剰時代

筆者が浜松医科大学の生理学教室に在籍していた頃（1975年頃）よく話題になったのが、第二次大戦時にはロンドンの街に空襲警報が鳴り響くと、病院の入院患者が増えるというものである。これは過度のストレスによって、血栓症による心筋梗塞や脳梗塞が引き起こされたためである。

以前にも新聞を賑わせたが、20代のサッカー選手が急に倒れたり、海外旅行などの長時間のフライトで起こるロングフライト症候群もその仲間である。我々は生きている限り、常に血は固まろうとしている。さもないと少しの傷で人は出血死をする宿命にある。し

第2図 宮崎医科大学時代
焼酎の研究を始めた頃の写真(当時は価格の安い酒が
中心であった)

かし、血液生理学の専門の立場からいうと、こうした血液中の固める酵素と溶かす酵素のバランスがうまくとれている間は病気にならない¹²⁾。今、社会問題になっている病気に老人性認知症があるが、初期段階では、調子のいい日と悪い日、つまり症状の程度がそれほどでもない日とひどい日がある。これは血栓症の認知症で、血管が詰まったり流れが悪くなるために起こる症状である(認知症の原因の半分以上は、この脳血管性の一種の血栓症が原因とされる)。

試みに、水浸拘束(水の中に浸した状態のまま、時間を経過させる)というストレスを負荷する実験をしたところ、ねずみのような生命力の強い動物でもストレスで胃に潰瘍ができ、出血を起こす。ところがこのとき、アルコールや酒を与えると、胃に潰瘍はできない。つまり、アルコールを摂取したことでストレスが抑えられ、胃潰瘍が発症しなかったのである¹³⁾。

また、先述した空襲警報とよく似ているが、Huber がまとめた心臓発作の発生時間というのがある¹⁴⁾。ここで特に危ないのが、仕事始めとなる月曜日の午前10時で、この時間に働き盛りの男性が倒れるケースが多い。これもまた、ストレスが原因と考えられ、日曜日の夜に血栓症の予防をしておくことが効果的である。つまり日曜日の夜に焼酎を晩酌で飲むことが血栓症を予防する最善の方法の一つになる。

アルコール類の摂取

飲酒の研究を始めた頃(第2図)、PA(プラスミノゲンアクチベーター)放出を確認する方法として、

Nilson の eugloblin の実験¹⁵⁾、あるいは Langendorff の心臓を使った実験などがあったが、東ドイツでは灌流実験が盛んであった。そこで開発されたのがブタ耳を使う実験(Klöcking の灌流実験)で、非常に感度がよく正確に判断できた¹⁶⁾(第3図)。

筆者が行った灌流実験ではエタノールだけでなく、メタノール、ブタノール、プロパノールを入れた場合でも、終濃度 $5 \times 10^{-3} \sim 10^{-4} \text{M}$ で PA 放出が確認され⁴⁾、特に焼酎成分は活性の高いことが分かった。これは血管内皮細胞の一つ一つがある変化を感じると、そこから何らかの指令を出すのではないかと考えられる。

血液—線溶系の測定

技術の進歩により、血液を採取して、その血栓を溶かす酵素を測定できるようになった。血栓というのは、まるでこんにゃくのような柔らかさを持つ(例えばこれが足の血管の中にできると、ウドンぐらいの長さになることがある)。この血栓に血栓溶解酵素をかけて溶け具合を見ると、その酵素の強さが分かる。

酵素の活性を調べた実験として多くの投与例があるが、その中で活性化されたプラスミンについて合成基質 S-2251 (H-D-Val-Leu-Lys-pNA) を用いて測定したものがある。純アルコール量として 30 ~ 60ml の酒類を 62 人のグループに飲んでもらったところ、一切酒を飲まない時の活性が 478 単位、日本酒やワイン、ビールなどを飲んだ時の活性が 712 ~ 855 単位であったのに対し、本格焼酎を飲んだ時の活性は 1160 単位と抜きんでて高かった^{4,17)}(第4図)。これは焼酎が他の酒類よりも線溶系に与える影響が優れていることを示している。

焼酎と u-PA および t-PA の関与

かつて、シカゴのマイケルリース研究所に在籍していた頃、主に一本鎖構造のウロキナーゼの経口投与実験を行っていた^{18,21)}。実は、当時はプラスミノゲンを活性化する生体由来の酵素は唯一ウロキナーゼ(現在の u-PA)だけであった。第5図はウロキナーゼ抗体が焼酎を飲んだ時の血漿 PA と反応していることを示す¹⁷⁾。すなわち飲酒によって増えるのは腎臓由来のウロキナーゼ抗体と反応する酵素であることが分かる。その後、血管内皮細胞由来のアクチベーター(t-

第3図 プタ耳の灌流実験

屠殺後5時間以内のブタ耳にTyrode溶液(pH7.4)の灌流実験(0.75ml/分)を行い、サンプルによるPA放出の有無を確認した。この条件では半日～1日間は血管作動性物質の実験を行うことができた。

第4図 各種飲酒の血栓溶解酵素への影響

被験者62人に同じアルコール量(純アルコールに換算して30ml～60ml)の各種酒類を飲んでもらい、1時間後の血液中の線溶活性を測定した。

第5図 二重免疫拡散法

1% アガロースで24時間反応である

1：ウロキナーゼ抗体，2：ウロキナーゼ，3：飲酒後の血漿より精製した酵素

第6図 乙類焼酎飲酒後の血中 t-PA 量

一般成人を対象に control(24名)に対し，泡盛(15名)あるいは焼酎(19名)を飲ませ，t-PA 活性を測定したところ，いずれも有意に増加していることが分かった。

* $p < 0.005$, ** $p < 0.001$

PA) の抗体²²⁾を用いて t-PA も泡盛，焼酎により血中で増加することが分かってきた (第6図)。

焼酎香気成分の t-PA 放出促進

最近のトピックスとして，t-PA 放出に関する実験²³⁾を紹介する。

この実験は焼酎香気成分による t-PA 放出能を見ようとするものであり，血管内皮細胞 (HUVEC) よりもたんぱく合成の盛んな HeLa 細胞を，またその検出に高感度の合成基質 S-2288 (H-D-Ile-Pro-Arg-pNA) を用いたところがポイントである。

実験材料

本格焼酎に含まれることが分かっている香気成分12種類²⁴⁾を選択し (第1表)，エタノールで希釈系列を作り HeLa 細胞へ添加した。なお，添加終濃度1%エタノールでは細胞に影響が無いことを確認し，コントロールに用いた。

・細胞培養

HeLa (S3) 細胞を培養後，サンプリングして得ら

第1表 焼酎の香気成分

種類	濃度 (ppm)
<i>i</i> -amyl alcohol	約 500
<i>n</i> -propanol	約 140
<i>i</i> -butanol	約 130
β -phenethyl alcohol	60-70
ethyl acetate	約 20
<i>n</i> -butanol	8-10
<i>i</i> -amyl acetate	約 5
acetaldehyde	約 3
ethyl caprylate	0.5-0.7
ethyl caproate	0.3-0.4
ethyl caprate	0.1-0.4
β -phenethyl acetate	0.2-0.3

れた培養液は1st mediumとして回収し、さらに細胞をPBS（-）400 μ lで2回洗浄後、培養液400 μ lを加え24時間培養を行った培養液を2nd mediumとした。また、培養後の細胞はPBS（-）で2回洗浄し、トリプシン-EDTAで細胞を剥離後、Trypsin Neutralizing Solution 100 μ lとPBS（-）200 μ lを加え懸濁し、吸光度600nmを測定し、検量線を用いて細胞数を算出した。

・標準フィブリン平板法

t-PA活性を標準フィブリン平板法で測定した。フィブリン平板に培養液を各々30 μ lのせ、37℃でインキュベーションし、96時間後に生じる溶解面積（mm²）を測定した。

・ザイモグラフィー法

SDS-ポリアクリルアミド電気泳動は10%ゲルスラブを作製し、30mAで約2時間泳動した。ザイモグラフィーは泳動後、2.5%トリトンX-100を用いてゲル内のSDSを除去した。フィブリノーゲンを0.1Mリン酸緩衝液（pH7.4）に溶解し0.8%とした溶液と、寒天を0.1Mリン酸緩衝液（pH7.4）に溶解した溶液に100U/mlトロロンピンを加えて作製したフィブリン-寒天平板にゲルを重層し、37℃でインキュベーション後に生じたバンドよりt-PA放出の確認を行った。

・合成基質分解法

t-PAに特異的な合成基質S-2288（H-D-Ile-Pro-Arg-pNA）を用いて分解能を測定した。96ウェルプレートへ0.1Mリン酸緩衝液（pH7.4）を50 μ l、合成基質（終濃度0.5mM：DMSO）10 μ lを混合し37℃、10分間プレインキュベーション後、培養液40 μ lを加え、37℃、10分間の吸光度405nmにおける初速度を測定

し、検量線よりt-PA活性をunit/mlで算出した。

実験結果

12種類のうち、 β -フェネチルアルコールのみ有意差が認められた（第7図）。すなわち、10⁴当たりのヒト細胞が持つ活性を計算すると、1st, 2nd mediumともに16～500ppm添加になるほど著しく高いt-PA活性が現れた。また、controlに比べ原液になるほどフィブリン溶解能が強かった。さらに、t-PA産生についてはザイモグラフィーで確認した。

なお、HUVECでも同様の効果が認められたが、まだ回数が少なく有意差は見られなかった。

ここで、t-PAについて少し詳しく説明しておく。t-PAは主として血管内皮細胞で産生され循環血液中に分泌される527個のアミノ酸からなる分子量約7万の糖たんぱくで、そのアミノ末端からフィンガー領域、EGF領域、2個のクリンゲル領域および活性領域から構成される。1995年に報告されたNINDS rt-PA studyでは、発症3時間以内の急性期脳梗塞に対するrt-PA静注療法が、社会生活が自立した患者を有意に増加させることを明らかにした²⁵⁾。我が国でも2005年から保険適用となり、2008年にECASS3は、rt-PA静注療法が発症3～4.5時間の脳梗塞にも有意であることを示し²⁶⁾、各国で適用拡大が進んでいる。日本でも発症4.5時間までの脳梗塞に保険適用が拡大されている。

臨床で用いられているrt-PA製剤にはモンテプラゼ、バミテプラゼなどがあるがアミノ酸配列を一部変えたもので、生体にとっては異物である。これに対して、焼酎飲酒により生体内で放出されるものはもちろん全てnativeタイプのt-PAである。

焼酎香気成分の血小板凝集阻害

焼酎の香り成分が血小板への影響を示す添加実験^{3,23)}を紹介する。

これらは焼酎を再蒸留、また少量のエタノール存在下というこれまでとは異なる条件下で、血小板凝集を測定したところがポイントである。

実験材料

各種市販の焼酎A～Fをマントルヒーターで加熱

第7図 β-フェネチルアルコールによるヒト細胞 10⁴ 当たりの t-PA 放出活性
1st medium, 2nd medium の結果を示すが、control に比べ濃度が高いほど
t-PA 活性が著しく増加しているのが分かる。

*p < 0.05, **p < 0.01

し、リービッヒ冷却器で蒸留を行った（再蒸留）。最初に蒸留される分画 1.5ml を①とし、蒸留開始から約 2 時間で得られた 5 分画を試料とした。また、本格焼酎に含まれる香気成分 12 種（第 1 表）についても分析した。

・血小板凝集能

ヒト PRP190μl に香気成分希釈液を 10μl 加え、37℃、5 分間プレインキュベーションした。次に、凝集惹起物質として ADP22μl を加え、37℃、5 分間、PPP の光透過度を 100% とした場合の血小板凝集率をアグリゴメーター（PAT-4A）で測定した。血小板の凝集阻害活性は香気成分の希釈系列での各々の阻害率を求め、さらに 50% 阻害値（IC₅₀）を求めた。

実験結果

焼酎の再蒸留分画の血小板凝集への影響を調べた結果（第 8 図）、本格焼酎原液そのものでは平均 3.9 ± 4.2% の凝集阻害しか見られなかったのに対し、分画①では平均 53.2 ± 25.1% と非常に強い阻害活性が見られた。一方、分画②では平均 41.9 ± 22.8% とほぼすべてのサンプルで阻害活性は低下し、後留になるにつれ阻害が大幅に低下するものが増えてきた。

一方、12 種の焼酎の香気成分では第 2 表に示すようにいずれも ADP による血小板凝集に対して 0.5 ～ 40% 濃度で阻害活性を示すことが分かった。血小板凝集能に対して IC₅₀ 値で示すと、i-アミルアルコール、

第8図 本格焼酎蒸留分画による血小板凝集阻害活性

A：初留10分，米，25度(岐阜)；B：刀，さつま芋(紅さつま)，44度(鹿児島)；C：CANGOXINA，さつま芋(コガネセンガン)，44度(鹿児島)；D：万暦初留取り六〇，さつま芋，44.5～44.9度(鹿児島)；E：万暦初留取り二四〇，さつま芋，44.5～44.9度(鹿児島)；F：光雲天竺，さつま芋，44度(佐賀)

第2表 焼酎香気成分による血小板凝集阻害

香気成分	試料濃度 (%)						
	40	30	10	5	1	0.5	0
i-アミルアルコール	84.7	87.7	83.6	82.6	0	0	0
n-プロパノール	72.7	88.3	89.6	32.0	4.0	0	0
i-ブタノール	89.2	77.5	84.5	21.6	12.2	0	0
β-フェネチルアルコール	90.0	92.0	82.4	87.0	14.9	0	0
酢酸エチル	77.0	88.1	34.3	0	0	0	0
n-ブタノール	81.6	81.6	80.3	74.7	16.0	0	0
酢酸i-アミル	94.6	83.8	70.3	68.6	25.5	0	0
アセトアルデヒド	75.7	85.7	87.1	81.2	8.7	0	0
カプリル酸エチル	83.0	81.1	81.1	41.5	41.5	0	0
カプロン酸エチル	91.9	79.0	75.8	58.3	26.4	0	0
カプリン酸エチル	97.1	78.3	78.3	18.1	16.7	0	0
酢酸β-フェネチル	91.5	91.5	96.1	79.3	81.0	10.1	0

試料 10μl 中の焼酎香気成分の血小板凝集阻害率 (%) を示す。

■：IC₅₀ (50% 阻害を示す値)。

β-フェネチルアルコール，n-ブタノール，酢酸i-アミル，アセトアルデヒド，カプロン酸エチルなどで強い凝集阻害が示され，特に酢酸β-フェネチルは強力であることが確認された。

焼酎の香気成分は強いものはアスピリン並みの血小板凝集抑制能であった。アスピリンは，血小板のシク

ロオキシゲナーゼを抑制することで，アラキドン酸から代謝されるトロンボキサンの産生を抑制することから，臨床薬として各種疾患によく用いられている。

第9図は泡盛や焼酎の血小板凝集抑制能を比較したもので，そのままで測定可能であり，現在この方法を用いて多くの乙類焼酎の比較を行っている。

泡盛

焼酎

第9図 泡盛および焼酎による血小板凝集パターン

縦軸は泡盛および焼酎による血小板凝集能を、横軸は時間を示し、5分間の反応を測定した。

おわりに

これまでの実験成績とも合わせ、焼酎香気中には血栓溶解に係る（線溶系の活性を高める）機能性成分のあることが分かった。例えばバラの香りの成分でもある β -フェネチルアルコールはエッセンシャルオイルとしても利用されており、将来、香りをかぐだけでt-PAを高めてくれるアロマセラピーの開発も夢ではない。

また、蒸留酒の副産物である焼酎粕類には細菌類に対する非常に強い生長因子のあることも分かっている。

もともと蒸留装置を使って不老不死の薬を作っていたといわれる焼酎である。機能性成分が多くあっても不思議ではない。

〈倉敷芸術科学大学生命科学部 教授〉

参考文献

- 1) 大庭理一郎：醸造飲料はすべからく健康に良いのだ，日本醸協誌，106，65，2011
- 2) 須見洋行，矢田貝智恵子：食品機能学への招待，p.145-146，三共出版，東京，2013
- 3) 須見洋行，内藤佐和，矢田貝智恵子，丸山眞杉：本格焼酎の初留分画にみられた抗血小板凝集活性，日本アルコール薬物医学会誌，46，297-301，2011
- 4) 須見洋行：本格焼酎－泡盛の機能性，醸造協会誌，96：513-517，2001
- 5) 須見洋行：飲酒と健康について－特に血栓溶解効果について－，洋酒技術研究会会報，26，31，2003
- 6) 須見洋行：エッセンシャルオイルおよび焼酎アロマが持つ線溶亢進効果，*Aroma Res.*，4：60-63，2003
- 7) Sumi H. and Yatagai C.: Thrombolysis-accelerating activity of essential oils, *Essential Oil-Bearing Grasses* (Akhila A. ed.)，p.185-194，CRC Press, Taylor & Francis, New York, 2009
- 8) Madani R., Hulo S., Toni N., Madani H., Steimer T., Muller D. and Vassalli J. D.: Enhanced hippocampal long-term potentiation and learning by increased neuronal expression of tissue-type plasminogen activator in transgenic mice, *EMBO J.*, 18, 3007-3012, 1999
- 9) Pang P. T., Teng H. K., Zaitsev E., Woo N. T., Sakata K., Zhen S., Teng K. K., Yung W. H., Hempstead B. L. and Lu B.: Cleavage of proBDNF by tPA/plasmin is essential for long-term hippocampal plasticity, *Science*, 15,

- 306, 487-491, 2004
- 10) Calabresi P., Napokitano M., Centonze D., Marfia G. A., Gubellini P., Teule M. A., Berretta N., Bernardi G., Frati L., Tolu M. and Gulino A.: Tissue plasminogen activator controls multiple forms of synaptic plasticity and memory, *Eur. J. Neurosci.*, 12, 1002-1012, 2000
 - 11) Marmot M. G.: Alcohol and coronary heart disease, *Int. J. Epidemiol.*, 13, 160-167, 1984
 - 12) 須見洋行：新生理科学大系 15, 血液の生理学, p.291-310, 医学書院, 1990
 - 13) 須見洋行, 清木雅雄, 美原恒：血栓予防と飲酒：血管性プラスミノゲンアクチベーター放出作用, 岡山県短紀要, 37, 16-21, 1992
 - 14) Huber K., Rosc D., Resch I., Schuster E., Glogar D. H., Kaendl F and Binder B. R.: Circadian fluctuations of plasminogen activator inhibitor and tissue plasminogen activator levels in plasma of patients with unstable coronary artery disease and acute myocardial infarction, *Thromb. Haemost.*, 60, 372-376, 1988
 - 15) Hedner U. and Nilson I. M.: Activators of fibrinolysis in the vessel walls methods for their measurement and release capacity, Topics in Hematology (Seno S. ed.), Excerpta Medica, Oxford, p.406-409, 1976
 - 16) Klöcking H. P. Hoffmann A. and Sonntag G.: Acute release of plasminogen activator by ethyl alcohol in the isolated perfused pig ear, *Pharmazie*, 45, 378-379, 1990
 - 17) Sumi, H., Hamada, H., Tsushima, H. and Mihara, H.: Urokinase-like plasminogen activator increased in plasma after alcohol drinking. *Alcohol & Alcohol.*, 23:33-43, 1988
 - 18) 須見洋行：ウロキナーゼ, 続生化学実験講座, 血液 (下), p.610-617, 日本生化学会編, 東京化学同人, 東京, 1987
 - 19) Sumi H., Sasaki K., Toki N. and Robbins K. C.: Oral administration of urokinase, *Thromb. Res.*, 20, 711-714, 1980
 - 20) Sumi H., Toki N., Takasugi S., Maehara S., Tsushima H., Akazawa K. and Mihara H.: Multiple molecular forms of acid-stable plasmin inhibitor derived from human urinary trypsin inhibitor, *Enzyme*, 30, 252-258, 1983
 - 21) Sumi H. and Robbins K. C.: A functionally active heavy chain derived from human high molecular weight urokinase, *J. Biol. Chem.*, 258, 8014-8019, 1983
 - 22) Dooijewaard G., de Boer A., Turion P. N., Cohen AF, Breimer D. D. and Kluft C.: Physical exercise induces enhancement of urokinase-type plasminogen activator (u-PA) levels in plasma, *Thromb Haemost.*, 65, 82-86, 1991
 - 23) 須見洋行, 山口優也, 徳留瞬, 梶原康博, 高下秀春, 丸山真杉：焼酎香気成分によるプラスミノゲンアクチベーター (t-PA) 産生促進, 並びに血小板凝集阻害作用, 日本アルコール薬物医学会誌, 47, 75-81, 2012
 - 24) 大石雅志, 猫垣加奈子, 梶原康博, 高下秀春, 下田雅彦, 岡崎直人：大麦焼酎に含まれる香気成分の官能特性とその分類について, 日本醸造協会誌, 108, 113-121, 2013
 - 25) The National Institute of Neurological Disorders and Stroke t-PA Stroke Study Group: Tissue plasminogen activator for acute ischemic stroke, *N. Engl. J. Med.*, 333, 1581-1587, 1995
 - 26) Hacke W., Kaste M., Bluhmki E, Brozman M, Davalos A., Guidetti D., Larrue V., Lees K. R., Medeghri Z., Machnig T., Schneider D., von Kummer R., Wahlgren N. and Toni D.; ECASS Investigators: Thrombolysis with alteplase 3 to 4.5 hours after acute ischemic stroke, *New Engl. J. Med.*, 359, 1317, 2008