デキストラン硫酸の抗凝血作用に関する検討

浮田 實* 北原 武* 加藤 正俊*
福武 勝幸* 福武 勝博*

Observations on anticoagulant activity of dextran sulfate (MDS)

Minoru UKITA*, Takeshi KITAHARA*, Masatoshi KATO*,
Katsuyuki FUKUTAKE* and Katsuhiko FUKUTAKE*

Key words : dextran sulfate, heparin, MDS-prothrombin
complex, MDS-fibrinogen complex

The functional disparities between heparin and MDS are studied in this paper and the following results are obtained ;

- 1) Although heparin shows no effect on thrombin time test using purified human fibrinogen with human thrombin, the addition of MDS to the mixture of thrombin time test indicates the inhibitory effect on the clotting time.
- 2) Heparin accelerates the inhibitory effect on amyolytic action of thrombin with AT-III, but MDS mixed with or without AT-III does not show any influences on the amyolytic action of thrombin.
- 3) By the use of crosselectrophoretic technique the complex formation of MDS with AT-III is not demonstrated, but heparin with AT-III shows the complex formation of them. However, both MDS and heparin does not show the complex formation with thrombin alone.
- 4) The mixture of heparin and prothrombin shows no complex formation even in existence with AT-III, but the mixture of MDS and prothrombin forms a complex, which proves no effect on prothrombin-thrombin conversion by echis carinatus venom.
- 5) MDS indicates the complex formation with fibrinogen, but heparin does not.

According to the results mentioned above it is recognized that, there are some disparities between MDS and heparin in amyolytic and electrophoretic behaviour, and also in thrombin time test.

* 東京医科大学臨床病理 (〒160 東京都新宿区西新宿6-7-1), Department of Clinical Pathology, Tokyo Medical College, Tokyo, Japan.

はじめに

デキストラン硫酸 (MDS) はヘパリンと類似の構造を有し、その抗凝血作用の機序はヘパリンと同様に抗トロンビン作用であると考えられ、しばしばヘパリンの代用品として血栓症の予防などに用いられている。今回、MDS の抗凝血作用とくにヘパリンとの比較について検索を行った。

I. 実験方法

1. トロンビン時間の測定：0.5% フィブリノゲン0.4mlに MDS 0.1mlを添加し、さらに1 u/mlのヒトトロンビン0.1mlを添加して測定した。

2. アンチトロンビン (アミダーゼ活性) の測定：合成発色基質 S-2238 を用いたアンチトロンビンの測定法によった。

3. プロトロンビンの測定：正常血漿にエキカリナーシスを添加してプロトロンビンを活性化し、生成されるトロンビンをクロモザイム TH で測定した。

4. 交叉免疫電気泳動：正常血漿、トロンビン、またはフィブリノゲンに MDS を添加し、1時間37℃で反応後、1%アガロースゲルによる交叉免疫電気泳動を行った。

II. 成績

1) MDS のトロンビン時間阻止作用は図1に示したごとくである。ヘパリン単独、AT-Ⅱ単独の添加ではトロンビン時間はほとんど変化しなかった。しかし、MDS においては平均分子量7,500の MDS-T、平均分子量3,900の MDS-A とともに濃度が濃くなるにしたがって、トロンビン時間の阻止作用を認めた。

2) 合成発色基質 S-2238 を用いたトロンビンのアミダーゼ活性に対する MDS の阻止効果を観察した。ヘパリンの場合は AT-Ⅲ が共存する場合にトロンビンのアミダーゼ活性を阻害し、明らかに吸光度 Δd が低下したが、MDS は AT-Ⅲ の存在下でも Δd 吸光度の低下は認めなかった。

3) 抗 AT-Ⅲ 血清を用いた交叉免疫電気泳動において、ヘパリンは AT-Ⅲ と complex を作り、ピークの移動度に変化が起った。しかし MDS は MDS-T、MDS-A とともに正常血漿のみの場合と同様で、ピークの移動度に変化はなかった。

4) 抗トロンビン血清を用いた交叉免疫電気泳動において、ヒトトロンビンへの MDS の添加はヘパリンと同様で、トロンビンのみの移動度と変動はなかった。

5) 抗プロトロンビン血清を用いた交叉免疫電気泳動において、正常血漿へのヘパリン、MDS-A の添加では移動度の変化はなかったが、MDS-T において移動度の変化が起り、ピ

Fig. 1 Antithrombin activity of MDS on thrombin time

Fig. 2 Heparin and MDS in complex formation with prothrombin

Fig. 3 Heparin and MDS in complex formation with fibrinogen

ークは2峰性となった(図2)。

6) しかしエキカリナーシスでMDS添加正常血漿中のプロトロンビンを活性化し、クロモザイムTHでのトロンビン測定を行うと、MDSの存在下でも非存在下でも Δd 吸光度の変化は認められなかった。

7) 抗フィブリノゲン血清を用いた交叉免疫電気泳動において、ヘパリンの添加は正常血漿のみの場合と同様で、移動度に変化はなかったが、MDSはMDS-T、およびMDS-Aともに移動度の変化を起し、ピークは2峰性となった(図3)。

8) MDSはフィブリノゲンとcomplexを作ると考えられたので、フィブリンモノマーの重合速度をpH中和法で観察した。MDSを添加しても、フィブリンモノマーの中和後の濁度曲線に影響は与えなかった。

III. 考按および結語

今回われわれの実験結果を総括すると、

1) 臨床的治療量範囲内でMDS単独でフィブリノゲンのトロンビン時間を阻害したが、ヘパリンは単独では影響を示さなかった。

2) 合成発色基質S-2238を用いたアミダーゼ活性による測定では、MDSはAT-Ⅲの共存下でも非共存下でもトロンビン活性の阻害作用はなく、ヘパリンはAT-Ⅲ共存下で阻害を示した。

3) 交叉免疫電気泳動では、MDSはAT-Ⅲとcomplexを作らなかったが、ヘパリンはAT-Ⅲとのcomplex形成を示した。

しかし、トロンビンのみに対してはMDSもヘパリンもcomplex形成をみなかった。

4) 一方、AT-Ⅲ存在下でもヘパリンはプロトロンビンとcomplexを作らなかったが、MDS-Tはプロトロンビンとcomplexを形成した。しかし、蛇毒によるプロトロンビンからトロンビンへの転化には影響を与えなかった。

5) MDSはフィブリノゲンとのcomplex形成を示したが、ヘパリンはcomplexを作らなかった。

以上の結結、MDSはヘパリンと類似のトロンビン時間延長作用を持っているが、凝血学的およびcomplex形成に関する交叉免疫電気泳動的観察からはMDSとヘパリンとは異なった作用機序を持つものと思われる。

文 献

- 1) 松岡松三, 神保長三, 渡部 透, 他: Dextran Sulphateの血液凝固能, 線溶能におよぼす影響についての実験的研究. 臨床血液, 14; 882~890, 1973.
- 2) 平山亮夫, 上原統一郎, 他: MDS コーワ (Dextran Sulphate)の長期使用経験一特に凝血能, 血小板凝集能に対する効果を中心に. 薬理と治療, 4; 1274~1286, 1976.