ウロキナーゼのブースターとしての超音波応用

立花 俊郎* 古賀 悦子*

Ultrasonic vibration for boosting fibrinolytic effect of urokinase

Shunro TACHIBANA* and Etsuko KOGA*

Key words : fibrinolysis, ultrasonic, Chandler's loop clot

Boosting effect of ultrasonic vibration on fibrinolytic activity of urokinase has been investigated. Fibrinolysis was studied grouply in (1) experimental fibrin clot with urokinase (2) clot with urokinase preceded expose of clot to ultrasonic waves, (3) clot exposed to ultrasonic waves and (4) clot with saline solution. Scanning electron microscopic examinations were made on the clots in each four series. Fibrinolysis was not evident in the clots (3) and (4), though fine cracks were seen in the clots (3). The four hour rate of fibrinolysis was 50 % in the clots (1) where as 100 % in clots (2).

Procedures (1) (2) (3) and (4) were also employed in the Chandler's Loop Technique clot of four hour rotation. The rate of fibrinolysis was 50 % in the clot (1) when 60 IU of the urokinase was used, where as 86 % in the clot (2), which scanning electron microscopically gave a feature of decreased fiber structure. Fibrinolysis was acceraterated by ultrasonic vibration in the clot with certain amount of urokinase added, breaking up of the clot being reached in shorter time than the series without ultrasonic wave application.

Ultrasonic vibration mechanically might cause microstream in the clot architecture, which could help urokinase contact directly with the fiber net. Scanning electron microscopic examinations revealed morphological representation of enhanced fibrinolysis by ultrasonic vibration. It was suggested hat physical ultrasonic vibration could be applied to boost a chemical fibrinolytic effect of urokinase.

はじめに

近年臨床分野では血栓治療にウロキナーゼの大量療法が用いられ、その成果も高く評価され

ているが、一方では大量投与に伴う生体側の種々反応等の問題も報告されており¹⁾、ウロキナーゼの線溶効果のみを高め、実際の投与量を減少するような薬剤との併用が研究されてい

* 若杉総合医学研究所, 若杉病院 [〒811-24 福岡県粕屋郡篠栗町], Wakasugi Medical Research Institute and Hospital, Fukuoka, Japan.

る²⁾³⁾。本実験では同様にウロキナーゼのブースター効果を目的として始められたが、薬剤併用でなく物理的な超音波振動を併用することにより著しいブースター効果を得ることができたので報告する。

I. 実験材料および方法

実験Ⅰ：内径10mmの試験管にプラスミノゲン含有ヒトフィブリノーゲン0.2%溶液1mlにヒトロンビン0.2ml (10U)を加え形成したフィブリン clot を材料とし実験は次の4群に分け行なわれた。

1) clot の上層に UK 0.5ml (30 IU) 添加群

2) 超音波槽内にて1～3分間前処理後上層に UK 0.5ml (30 IU) 添加群

3) 超音波槽内にて1～3分間前処理のみで UK 添加しない群

4) コントロールとしてUKの代りに上層に生理食塩液0.5mlを添加した群

であった。超音波は48kHzで試験管部位の実測値は80db～120dbであった。実験は37℃恒温槽内で4時間行われその間の経時変化は写真撮影で記録された。

実験Ⅱ：健康成人男子血液を用い、Chandler loop 法により人工血栓を作成し、実験Ⅰと同様4群に分け4時間後の線溶率を比較検討した。添加 UK は60IUで超音波照射時間は1分間であった。実験Ⅰ、Ⅱで得た各群のclotは走査電子顕微鏡を用いてその微細構築の変化も同時に観察された。

II. 結 果

実験Ⅰの1群では線溶は上層より下方に徐々に進み線溶部は透明となって4時間後にはほぼ50%近い線溶を示した。2群では1群と同様線溶は上層より起こり4時間にて100%の線溶を示し完全にclotは消失した。3群では線溶は全くみられず照射によりclotに細かいフレーク様斑様が見られた。4群では全く線溶はみられず、3群のようなフレーク様斑様もみられなかった。

図1はフィブリンclot実験の写真で各群の時

Fig. 1 Fibrinolysis of experimental fibrin clot with urokinase and ultrasonic vibration after 4 hour incubation. C: clot with saline solution. UK: clot with urokinase 30IU. US: clot with saline solution preceded exposure of clot to ultrasonic waves (100 db, 1 minute). UK+US: clot with urokinase 30IU preceded exposure of ultrasonic waves 80db (1), 100db (2) and 120db (3).

間経過を縦に並べて示したもので、右側3列は超音波照射時間を1分、2分、3分と長くした時の線溶効果を表わしたものであり、照射時間の延長で線溶時間が短縮されている所を示したものである。

Chandler loop 血栓を用いた実験Ⅱでは、実験Ⅰと同様超音波、UK 併用で線溶効果は著明に上昇された。Chandler loop 血栓4時間回転時の血栓の乾燥重量は通常60mg前後であるが、UK 60IU 添加4時間後の重量は30mgでおおむね半減し50%の線溶率を示した。

図2は実験Ⅱの乾燥血栓の写真重量および

	C	UK	UK + US					
			(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
CLOT
WEIGHT (MG)	58.7	29.7	12.7	7.7	16.7	10.2	19.5	9.5
LYSIS (%)		49.4	78.2	86.8	71.5	82.5	66.6	83.7

Fig. 2 Fibrinolysis of Chandler's loop clot with urokinase and ultrasonic vibration at four hour rotation.

C: control. UK: clot with urokinase 60IU. UK+US: clot with urokinase 60IU preceded exposure of ultrasonic waves 80~120 db, 1 minute 1 time or 1 minute 2 time.

Fig. 3 Scanning electro microscopic examination of Chandler's loop clot. C: control. UK: clot with urokinase 60IU. US: clot with ultrasonic vibration 100 db, 1 minute. UK+US: clot with urokinase 60 IU preceded exposure of clot to ultrasonic vibration 100 db, 1 minute.

線溶率とともに示したものであるが、右側の1～6は超音波、UK 併用実験で、超音波照射時間と照射量を種々組合わせたもので、1分間照射120dB (1), 100dB (3), 80dB (5)と、初回1分間照射し30分後に再び120dB (2), 100dB (4), 80dB (6)を再度1分間加えた時の血栓を示したものである。照射量を80から120dBに増加すると線溶率も増加し、照射回数を1回より2回増やすと同様に線溶率も増加された。

全実験での走査電子顕微鏡による血栓構築の観察でも図3に示すごとくUK添加群、超音波UK 併用群ともに線維網は荒く線維の減少が認められ、線維網の間にひっかかっている赤血球は網目の消失により集って集落を形成するようになり、超音波単独照射群では、線維間隙はむしろ狭くなったような像がみられた。

III. 考察および結論

超音波照射によりUKの線溶率は著しく上昇し90%の線溶を得るためのUK量は超音波、UK 併用によりUK 単独使用時のおおむね1/2量で同一効果を得ることができた。また線溶時間も短縮され反応速度も上昇させる効果も同時に観察された。今回の実験で使用した超音波は48kHzで比較的低帯域の周波数を使用したため、直接的なUKの分子レベルでの化学活性に影響を与える程高くない等々のブースト効果はむしろ超音波の機械的な振動が関与したものと考えられる。血栓の電顕像で示したごとく血栓は無数の線維網とその間隙とから形成されて

おり、これは物理化学的なGel構築に類するもので、線維間隙内の溶液に超音波振動を加えると微細液流を起し⁴⁾、この流れによってUKが積極的に微細構築内に注入されUKの接触面積が上がり、線溶効果をより能率的に高めたものと考えられる。

超音波振動による血栓の機械的破壊効果を応用した実験は報告されているが⁵⁾⁶⁾、今回の実験に用いたような弱い超音波振動では、電顕像の上で稀に線維の切断がみられた程度の弱いものであった。

文 献

- 1) 立花俊郎: Chandler's loop 法による血栓形成能および線溶能変動の臨床的意義について。血液と脈管, 11(2); 270~273, 1980.
- 2) 中島勝明, 他: デキストラン硫酸併用投与によるウロキナーゼ活性の増強。医学のあゆみ, 105(8); 749~750, 1978.
- 3) Matsuo, O., et al.: Sustained fibrinolytic activity in the eugloblin fraction induced by concomitant administration of urokinase. Thrombosis Research, 13; 1125~1130, 1978.
- 4) Miller, D. L. and Nyborg, W. L.: Platelet aggregation induced by ultrasound under specialized conditions in vitro. Science, 205(3); 505~507, 1979.
- 5) Trübstein, G., et al.: Thrombolysis by ultrasound. Clinical Science and Molecular Medicine, 51; 697s~698s, 1976.