飲酒（焼酎）により血中に産生される ウロキナーゼ様線溶酵素

須見 洋行* 丸山 真杉* 津島 弘文* 美原 恒*

Urokinase-like plasma fibrinolytic enzyme induced by Shochu drinking

Hiroyuki SUMI*, Masugi MARUYAMA*, Hirofumi TSUSHIMA*
and Hisashi MIHARA*

Key words: plasma fibrinolysis, urokinase like plasminogen
activator, Shochu, Sake, beer

After normal human subjects (78 in number, aged 18-34 years) had taken the local Japanese spirit "Shochu," rice wine "Sake" and beer, almost no change in enzyme parameters of plasma fibrinolysis was observed. However, plasma eluate from [N^α-(ε-aminocaproyl)-DL-homoarginine hexylester]-Sepharose affinity chromatography revealed extremely strong pyro-Glu-Gly-Arg-pNA (S-2444) amidolytic and fibrinolytic activities in comparison with those of the control. The highest activities were observed in the Shochu group (1,133 nmol pNA/dl, 470 IU/dl plasma), followed by the Sake (811 nmol pNA/dl, 415 IU/dl plasma) and beer (707 nmol pNA/dl, 313 IU/dl plasma) groups, corresponding to an approximately 2.1, 1.7 and 1.5 times increase in plasma fibrinolysis compared to the control group (490 nmol pNA/dl, 242 IU/dl plasma).

Fibrinolytic enzyme isolated from the Shochu group was partially inactivated by rabbit anti HMW-UK serum and could be adsorbed on an anti HMW-UK IgG-Sepharose immunoabsorbent column. The final preparation eluted from the immunoabsorbent column with 6 M urea buffer revealed molecular weights of approximately 30,000 (main band), 50,000 and 30,000 (minor bands) by zymography, and an active site of approximately 8% (assuming the molecular weight of 30,000) by p-nitrophenyl-p'-guanidinobenzoate titration. The enzyme not only hydrolyzed the UK-specific substrate S-2444 but also strongly activated human Glu-plasminogen to plasmin. This indicated that some of the enzyme

* 宮崎医科大学第二生理〔〒889-16 宮崎県宮崎郡清武町大字木原 5200〕, The Second Department of Physiology, Miyazaki Medical College, Miyazaki, Japan.

appearing in the plasma after drinking was “UK-like plasminogen activator”.

はじめに

われわれは過去5か年にわたり、飲酒の効能についての基礎実験を行ってきた。適当量の酒、特に“焼酎”が血中での plasminogen activator (Plg. Act.) 放出を伴う線溶亢進に作用しうすることを初めて確認した。

I. 方 法

正常ヒト(78名:18~34歳)に焼酎(乙種), 日本酒, ビール(EtOH 換算 60 ml)を飲ませ経時的に(1~4時間)採血し, TEG パターン, および種々の方法で血漿の線溶活性を測定した。活性の測定¹⁾, affinity chromatography^{2,3)}, immunoadsorbent⁴⁾, 抗 HMW-UK による免疫拡散法⁵⁾, および NPGB による active titration²⁾ はすでに報告した方法で, また zymography は Granelli-Pipeno の方法⁶⁾で行った。

II. 結 果

血漿線溶活性を直接測定した場合, 焼酎投与1時間目の ELT (240 ± 2.8 min) はコントロール群 (375 ± 5 min) に比べて若干短縮していたが, pyro-Glu-Gly-Arg-pNA (S-2444) 分解

能 (33.1 ± 3.3 nmol pNA/ml), FDP 量 (5.5 ± 1.8 μ g/ml) 等の変化はみられなかった。ビール投与群の TEG パターンはむしろ凝固亢進の傾向を示した。

一方, 飲酒1時間目の血漿を [N^{α} -(ϵ -aminocaproyl)-DL-homoarginine hexylester]-Sephadex にかき, Plg. Act. を分離し, 活性を測定してみたところ, 表1に示すように焼酎投与群の S-2444 分解活性および標準フィブリン平板溶解活性 (UK 換算) はコントロール群に比べて約2.1倍に, また日本酒群では約1.7倍, ビール群でも約1.5倍といずれも線溶亢進していることがわかった。しかも興味あることに, 活性酵素の一部は HMW-UK 抗体と反応し(免疫拡散法), また線溶活性も抑制されることが確認されたので, 最も活性の強かった焼酎群とコントロール群の affinity chromatography 溶出液をさらに HMW-UK 抗体-Sepharose による immunoadsorbent カラムにかき精製してみた。その結果, 焼酎群で強い S-2444 分解と共に Glu-plasminogen 活性化能が確認され(表2), 活性酵素が Plg. Act. であることがわかった。最終標品の NPGB titration の結果は約8%であり, また zymography で求めた分子

Table 1 Enzymatic activities of affinity chromatography eluate fractions following Shochu, Sake and beer drinking

Affinity eluate fraction	Amidolytic activity* nmol pNA/dl plasma	Fibrinolytic activity** IU/dl plasma
Shochu group	$1,133 \pm 158$	470 ± 12
Sake group	811 ± 7	415 ± 6
Beer group	707	377
Control	490 ± 18	242 ± 24

All values are mean $\pm$ SME. *The reaction mixture (1 ml) contained affinity eluate fraction, 3×10^{-4} M pyro-Glu-Gly-Arg-pNA, 50 mM Tris-HCl and 38 NaCl, pH 8.8. **Affinity eluate fraction (0.03 ml) was placed on a standard fibrin plate, and the lysis area was measured after incubation for 18 hr at 37°C

Table 2 Amidolytic and Glu-plasminogen activation activities of plasma enzymes isolated by the sequential two-step affinity chromatography method

	Amidolytic activity IU/dl	Glu-plasminogen activation activity* IU/dl
Shochu group	209.8	37.6
Control	75.1	0.3

*Initial rate method: the reaction mixture (1 ml) contained plasma fraction, 5×10^{-7} M purified Glu-plasminogen, 5×10^{-4} M H-D-Val-Leu-Lys-pNA, 50 mM Tris-HCl and 100 mM NaCl, pH 7.4.

量は約 3 万 (主活性), 5 万, および 10 万の 3 種類であった。

III. 考 察

従来より酒類あるいは、酒成分の線溶系酵素に与える影響については、報告がまちまちであり⁷⁻¹⁰⁾。われわれの今回の飲酒実験でも血漿の段階では明確な活性変化は認められなかった。しかし affinity chromatography で分離しえた酵素分画の活性は明らかに亢進しており (表 1), しかも UK と同一抗原性の酵素が含まれることが初めて確認された (表 2)。さらに、精製標品の titration の結果から、一部は pro-enzyme である可能性もあり、最近の経口 UK の実験成績^{1,3,4,11)}、並びに他の報告^{12,13)}とも考え合わせて、飲酒には従来から言われている血小板への影響ばかりではなく^{14,15)}、恐らく血管内皮からの “UK-like Plg. Act.” の放出を伴う線溶亢進効果のあることが強く推測された。

文 献

- Sumi, H., Sasaki, K., Toki, N. and Robbins, K.G.: Oral administration of urokinase. *Thromb. Res.*, **20**; 711~714, 1980.
- 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.
- Sumi, H., Maruyama, M., Yoneta, T., Toki, N. and Mihara, H.: Activation of plasma fibrinolysis after intrarectal administration of high molecular weight urokinase and its derivative. *Acta Haematol.*, **70**; 289~295, 1983.
- Toki, N., Sumi, H., Sasaki, K., Boreisha, I. and Robbins, K.C.: Transport of urokinase across the intestinal tract of normal human subjects with stimulation of synthesis and/or release of urokinase-type proteins. *J. Clin. Invest.*, submitted for publication, 1985.
- Sumi, H., Toki, N., Maehara, S., Kosugi, T., Akazawa, K., Matsuo, O. and Mihara, H.: Immunochemical studies of high and low molecular forms of urokinase. *Acta Haematol.*, **67**; 263~267, 1982.
- Granelli-Piperno, A. and Reich, E.: A study of proteases and protease-inhibitor complexes in biological fluids. *J. Exp. Med.*, **148**; 223~234, 1978.
- Fearnley, G.R., Ferguson, J., Chakrabarti, R. and Vincent, C.T.: Effect of beer on blood fibrinolytic activity. *Lancet*, **1**; 184~186, 1960.
- Nilsson, I.M., Bjorkman, S.E., Studniz, W. and von Hallen, W.: Antifibrinolytic activity of certain pectins. *Thromb. Diath. Haemorrh.*, **6**; 177~187, 1961.
- Anderson, J.A., Gow, L.A. and Ogston, D.: Influence of cider on the fibrinolytic enzyme system. *Acta Haematol.*, **69**; 344~348, 1983.
- von Kaulla, K.N.: In-vitro dissolution of human clots by whisky. *Lancet*, 917, 1975.
- Robbins, K.C., Sumi, H., Sasaki, K. and Toki, N.: The transport of high molecular weight human urokinase across the intestinal tract of dogs and human subjects. In: *Urokinase: Basic and clinical aspects.* ed. by Mannucci, P.M. and Angelo, A.D. pp. 63~

- 71, Academic Press, New York 1982.
- 12) Tissot, J.D., Schreider, P., Hauert, J., Ruecc, M., Kruithof, E.K.O. and Bachmann, F.: Isolation from human plasma of a pasminogen activator indentical to urinary high molecular weight urokinase. *J. Clin. Invest.*, **70**; 1320~1323, 1982.
- 13) Wun, T.C., Ossowski, L. and Reich, F.: A proenzyme form of human urokinase. *J. Biol. Chem.*, **257**; 7262~7268, 1982.
- 14) Cowan, D.H. and Gaham, R.C.: Studies on the platelet defect in alcoholism. *Thromb. Diath. Haemorrh.*, **33**; 310~327, 1975.
- 15) Littleton, J.M., Fenn, C.G., Umney, M.D. and Yazdanbakhsh, M.: Effect of ethanol administration on platelet function in the rat. *Alcoholism.*, **6**; 512~519, 1982.

● 周産(生)期感染症の臨床指針書!

妊婦・胎児・新生児の感染症

編集 日本周産(生)期医学研究会 専門医91氏分担執筆

B5判 289頁 図102 表175 定価9,800円(〒350円)

本書は周産(生)期医学の立場に立って問題の多い妊婦、胎児、新生児の感染症を再検討し、ウイルス、マイコプラズマ、原虫、細菌を含めて、新しく見出された疾患、従来より知られた感染症を現代の進歩したウイルス学、細菌学および免疫学より洗い直し、産婦人科医、小児科医の実地診療上必要な感染症の臨床指針書である。

●内容：〔妊婦の感染症〕1.妊婦感染症、2.化学療法、3.産褥感染症、4.妊婦慢性腎盂腎炎、〔胎児の感染症〕1.胎児感染症の化学療法、2.先天性トキソプラズマ症、3.サイトロメガロウィルス感染症、4.HBs抗原と垂直感染、5.B型肝炎ウィルスの垂直感染、6.B型肝炎ウィルスの母児間伝播、7.前期破水、分娩遷延と未熟児感染症、8.感染の母児相関、9.新生児肺炎と産科的異常、10.妊婦予防接種の胎児への影響、〔新生児の感染症〕1.新生児感染症、2.新生児と抗生物質、3.新生児感染症の診断と治療、4.先天性免疫不全症と新生児敗血症、5.予後不良であった新生児細菌感染症、6.未熟児室における感染症の集団発生、7.新生児室内感染、8.細菌培養と感受性検査、〔周産期感染症と免疫〕1.妊婦の感染と免疫、2.胎児感染と免疫、3.新生児感染症と免疫、4.初乳の免疫に関する役割。