原 著

UK の投与量と血中濃度の関係について*

松 尾 理** 美 原 恒** 六 島 喜 一***

Key words : Urokinase, thrombolysis, kinetics, Urokinase concentration,

序 論

UK の投与に関していわゆる少量から大量まで大きく分れており、まだ議論の多いところである。しかし、その議論の多くは UK の投与量全体の大小を問題にしすぎたきらいがあり、UK 投与に伴う血中 UK 濃度の高低についてはほとんど論じられていない¹⁾。UK 投与により血栓溶解を目指した際、血中 UK 濃度は血栓を溶解せしめる重要な因子となってくる。そこで、血中 UK 濃度が UK の投与量とどういふ関数関係にあるかを理論的に求め、得られた理論式を実験結果と対応させ比較検討した。

I. 材料および方法

家兎：正常家兎（体重2.5kg～3.0kg）を使用した。

UK：Uronase（持田製薬社製 Urokinase）を生食水に溶解して使用した。

フィブリン平板：標準および加熱平板を用いた。

A. 理論的方法

1. 血中 UK 濃度

投与された UK が生体内で拡散分布できる space を血漿内のみと限定し、one compartment model として plateau principle を適用した¹⁾²⁾。すなわち、UK の毎分投与量を A (unit/min)、血漿中の UK 濃度を C(unit/ml)、血漿量を V (ml)、血漿中に存在する全 UK 量

Fig. 1 Schema for the one compartment model of UK in the circulatory blood.

を Q (unit) とし、さらに、血漿へ投与された UK の活性が失われていく速度定数を $k(\text{min}^{-1})$ とする (図 1)。この UK の生理学的意味は、UK が血漿中で antiplasmin などによって失活していく fraction と、UK が代謝されて血漿中から消失していく fraction の両方を含んでいるものとする。

まず、血漿中に存在する UK の量・濃度関係から

$$Q = C \cdot V \quad \dots\dots(1)$$

が成立する。また血漿中の UK 量の変化は

$$\frac{dQ}{dt} = -k \cdot Q + A \quad \dots\dots(2)$$

で表わせる。この(1)/(2)式から C について解く

* Relation between UK concentration in plasma and administered dosage of UK. (The 4th Congress of the Japanese Society on Thrombosis and Hemostasis, Nov. 30, 1975).

** 宮崎医科大学第二生理学 〔〒889-16 宮崎県宮崎郡清武町木原5200〕, Osamu MATSUO, Hisashi MIHARA : Department of Physiology, Miyazaki Medical College, Miyazaki, Japan.

*** 神戸大学医学部第一生理学, Yoshikazu ROKUSHIMA : Department of Physiology, Kobe University School of Medicine, Hyogo, Japan.

Fig. 2 UK concentration in the plasma, showing the attainment of the plateau value. Ordinate, plasma UK concentration; abscissa, time after commencement of UK infusion.

と,

$$C = \frac{A}{k \cdot V} (1 - e^{-kt}) \quad \dots\dots(3)$$

となる。

この式が示す血中 UK 濃度の時間経過は、**図 2**で示されたように、UK 投与開始と共に上昇し、ある時間たつと一定の値に落ち着き、以後そのプラトーの値を示し続ける。このプラトーの値は(3)式からわかるように $A/k \cdot V$ になる。この A , k , V の内 k , V はほぼ定数とみなせるので、血中 UK 濃度は毎分投与量に比例関係にあるといえる。すなわち、毎分投与量が大きければ大きいほど、血中 UK 濃度は高くなり、逆に毎分投与量が小さければ小さいほど血中 UK 濃度は低くなる。

2. プラトー時間

図 2で示されたような血中 UK 濃度の時間経過から、血中 UK 濃度がプラトーに達するまでの時間を求めてみた。血中 UK 濃度がプラトーの値 ($A/k \cdot V$) の98%になった時にプラトーに達したとすると、

$$C = 0.98 \times A/k \cdot V \quad \dots\dots(4)$$

(3)と(4)とから t について解くと

$$t = -\frac{\ln 0.02}{k} \quad \dots\dots(5)$$

となる。すなわち、プラトー時間は k によって決る定数である。

(3) UK 活性消失速度定数

Fig. 3 Decay in plasma fibrinolytic activity after single shot injection of UK. Ordinate, fibrinolytic activity; abscissa, time after UK injection.

one-shot で投与された UK の活性が指数関数的に減衰するとすれば

$$Q = Q_0 \cdot e^{-kt} \quad \dots\dots(6)$$

という式が成立する。 Q_0 を時間0における血漿中に存在する UK 量とする。(6)式は

$$\ln(Q/Q_0) = -kt \quad \dots\dots(7)$$

となる。したがって、one-shot で投与した時の UK 活性の減衰経過を片対数上に plot することにより k を計算できる。

II. 結 果

1. UK 活性消失速度定数の測定

家兎に UK 20,000 単位を one-shot で投与し、以後経時的に採血し、標準平板法で血中線溶活性を測定した。溶解面積を単位換算し、片対数上に plot し、活性減衰曲線を代表できる直線を外挿し、時間0における活性を求め、それを1.00として表示したのが**図 3**である。加熱平板上で得られたプラスミン活性は非常に小さく標準平板上の活性減衰曲線の解析に影響をおよぼさなかった。**図 3**のグラフから、(7)式により、 k は0.7となった。

Fig. 4 Estimated plasma UK concentration after 30,000 units UK administration for 35 min. Calculated plasma UK concentration was 11.1 unit/ml. Ordinate, plasma UK concentration; abscissa, time course after UK infusion.

2. 血中 UK 濃度の予測

1. により k が 0.7 と決まったので式(3)の時間経過は、図示することができる。プラトーの値は $A/0.7 \times V$ となり、また、プラトーの時間は(5)式により 5.6 分となった。

3. UK 30,000単位を35分で投与した場合の血中 UK 濃度の予測と実験結果の比較

UK 3 万単位を35分で投与すると毎分投与量は 857 単位となり、家兎の血漿量を 110 ml とすれば、(3)式により予測血中 UK 濃度は 11.1 単位となる(図 4)。血中 UK 濃度がこの予測通りになるかどうかを検討した。UK 投与開始後経時的に採血し、血中線溶活性をフィブリン平板上で測定した。図 5 に示したように血漿中にも euglobulin 分画中にも、線溶活性は全くみられなかった。

4. UK 40,000 単位を 11.5 分で投与した場合、毎分投与量は 3,478 単位となり、家兎の血漿を 99 ml とすれば、(3)式により予測血中 UK 濃度は 50.2 単位となる。実際に投与した結果、血中線溶活性は投与開始後 7 分まで全くみられなかった。8 分目によく活性が出現し始め、以後急速に上昇し続け、投与終了時で最大活性を示した。この最大活性は unit 換算して 38 単位であった。UK 投与中には、予測された

Fig. 5 Fibrinolytic activity after 30,000 units UK administration for 35 min. No assayable activity in plasma and euglobulin fraction was detected. Ordinate, fibrinolytic activity in mm^2 ; abscissa, time after starting UK administration.

血中 UK 濃度のプラトーはみられなかった。

III. 考 按

UK 投与後の血中 UK 濃度は、生体内で UK が拡散・分布できる space を血漿内のみと限定することにより、one compartment model として plateau 法則を適応して計算可能になる。すなわち、血中 UK 濃度は、UK の毎分投与量、血漿量、および UK 活性消失速度定数の三者によって決められる。このうち、血漿量と UK 活性消失速度定数はほぼ定数とみなせるので、結局毎分投与量によって決められることになる。これらの計算は、UK 投与後の生体の反応を簡略・単純化しすぎている危険性を内蔵しているが、この操作により一応 UK 投与後の血中 UK 濃度が予測可能になった。したがって、UK 投与量の大小の問題は、投与時間から毎分投与量を計算し、得られる血中 UK 濃度の高低を考慮して吟味しなければならない。

UK 活性消失速度定数 k を算出するため、UK を one-shot で投与し、その後にもみられる線溶活性の減衰過程を解析した。その結果は図 3 のごとく、減衰率はかなり大きいことが判明し、したがって k も大きくなった。この成績は Isotope を用いた成績³⁾⁴⁾でみられる fast

phase での減衰率と対比されるが Isotope による解析はいずれも線溶活性を同時に測定していない。UK 投与後のゲル透過により、UK の放射活性は直ちに高分子部分と小分子部分に分かれており⁵⁾、線溶活性がかなり早く失われることを示唆している。一方 UK 投与後の血中 UK 濃度の予測値が実験結果とかなり違っていたことにより、one-shot 投与実験で得られた k の値がまだ小さすぎると考えられる。すなわち、UK 30,000単位を35分で投与した場合、予測血中 UK 濃度が 11.1 単位であったが、実測では線溶活性は全くみられなかった(図5)。この実験に用いた家兎の血漿 1ml は UK 25 単位を失活させたので、血漿全量で計 2,750 単位の UK が失活させられたことになる。毎分投与量が 857単位なので3.2分後には antiplasmin 活性はなくなると考えられる。Antiplasmin 活性がなくなれば血中に存在する UKは測定系の感度の許すかぎり、測定可能なはずである。しかし、UK 投与の全時間を通じて線溶活性は全く測定されなかった。次に UK 40,000 単位を 11.5分で投与した場合、線溶活性の出現は大変遅く、また UK 投与中に線溶活性のプラトーはみられなかった。この実験に用いた家兎の血漿 1ml で30単位の UK 活性を失活させるので血漿全量で計 2,970 単位が失活させられたことになる。この場合毎分投与量が 3,478 単位なので1分以内に血漿中の antiplasmin 活性はなくなると考えられるが、線溶活性の出現は UK 投与開始後 8分目であり、この時点までに計 27,824単位の UK が投与されている。

以上のことは、antiplasmin の活性が in vitro で測定した場合よりも、最も強く、かつ持続的である事を示唆しており、したがって、 k は実測値よりも大きいと思われるが、今後さらに検討を要する問題である。

要 約

UK 投与後の血中 UK 濃度を求めるため、UK の拡散、分布できる space を血漿をのみと限定し、one compartment model として plateau principle を適用した。その結果、血中 UK 濃度は主として UK の毎分投与量に依存

することが明らかになった。UK 活性消失速度定数は、家兎に UK を one-shot で投与し、活性減衰曲線を解析することにより約 $0.7 (\text{min}^{-1})$ となった。これらに基づき、血中 UK 濃度の時間的経緯が予測でき、実験的に得られた結果と比較検討した。

UK 30,000単位を35分で投与した場合、毎分投与量857単位家兎の血漿量を 110ml として、血中 UK 濃度が 11.1 単位と予測されたが、実験結果は何ら線溶活性を測定することができなかった。UK 40,000単位を11.5分で投与した場合(毎分投与量 3,478 単位)、血中 UK 濃度が 50.2単位と予測されたが、実験結果では、線溶活性が 8分目で出現し、投与中には UK 濃度のプラトー値はみられなかった。これらの結果を antiplasmin の役割と共に論じた。

文 献

- 1) Matsuo, O., et al.: Assessment of the thrombolytic effect of low urokinase concentration Acta Haematol Jap., **39**;298-305,1976.
- 2) Goldstein, A., et al.: The time course of drug action. In "Principles of drug action". Harper & Row, Publishers, New York, p. 280~342, 1968.
- 3) Woodard, W.T., et al.: The fate of infused urokinase. Surg., **68**; 692~697, 1970.
- 4) Som, P., et al.: Radiolabeled streptokinase and urokinase and their comparative biodistribution. Thromb. Res., **6**; 247~253, 1975.
- 5) Tajima, H., et al.: Metabolic fate of urokinase. Chem. Pharm. Bull., **22**; 727~735, 1974.

<ABSTRACT>

Relation between UK concentration in plasma and administered dosage of UK

by

Osamu MATSUO, Hisashi MIHARA, Yoshikazu ROKUSHIMA*

from

Department of Physiology, Miyazaki Medical College and *Department of Physiology, Kobe University School of Medicine.

Using the plateau principle, the UK concentration in the plasma after UK administration was estimated, the plateau value being $\frac{A}{k \cdot V}$ unit/ml, where A is the infusion speed of UK (unit/min); k , the inactivation rate constant of UK activity (min^{-1}); and V, the plasma volume (ml). Therefore, the plasma UK concentration depends mainly upon the infusion speed of UK because the plasma volume and the inactivation rate constant of UK activity are considered more or less constant. The plasma UK concentration after UK administration can, thus, be estimated, and such estimation of plasma UK concentration is very helpful for the assessment of the thrombolytic effect of UK since plasma UK concentration is one of the important factors in the thrombolysis. Although application of the plateau principle in one compartment necessarily involves an oversimplification of the true physiological distribution and breakdown kinetics, it allows reasonably an estimate of the plasma UK concentration.

In order to evaluate k , the inactivation rate constant of UK in the circulatory blood which involves the inactivation process by antiplasmin and excretion by metabolic process, 20,000 units UK were injected into a rabbit at one shot, and then the plasma fibrinolytic activity was measured. Based on the linear relationship of the decay in plasma fibrinolytic activity on the semilogarithmic paper, k was calculated to be about 0.7 (min^{-1}). These allowed to draw the time course of plasma UK concentration after UK infusion, which revealed that plasma UK concentration reaches the plateau value about 6 min after the commencement of UK infusion.

Then, the estimated plasma UK concentration was examined comparing with the one obtained in the experimental study. In the case of 30,000 units UK administration for 35 min in a rabbit (the infusion speed, 857 unit/min), the plasma UK concentration was estimated to 11.1 unit/ml. However, any fibrinolytic activity in plasma and euglobulin

fraction was never observed during the administration. When 40,000 units UK was administered for 11.5 min in a rabbit (the infusion speed, 3,457 unit/ml), an estimated plasma UK concentration was 50.2 unit/ml. However, the fibrinolytic activity was appeared eight min after starting the UK infusion, then increasing rapidly, but the plateau value was not observed during the UK administration. These results were different from the theoretically estimated results, and suggest that plasma UK concentration is much less than the estimated value. However, the estimation of plasma UK concentration would be one of the useful methods which can explain reasonably the effect of urokinase on the in vivo thrombolysis. The inactivation process of UK in the circulatory blood was discussed with the biological action of antiplasmin.

<DISCUSSION>

有賀豊彦 (日本大学医学部第二生理学)

家兎に対して30,000u. UKを投与して, UK活性を認めなかったものが, 40,000u. UKを投与して線溶活性が初めて認められるということは, Aというfactorに, Anti-plsの反応性(例えば, 時間的なfunctionを考慮したinhibitory act. との)を考えなくてはならないのではないのか.

松尾 理 (宮崎医科大学生理学)

重要なのは, 投与量そのものではなく, 投与速度, すなわち UKの毎分投与量Aの大小である. 例えば, 毎分投与量が小さいと, 投与量がいくら大きくても, 血中線溶活性の発現はみられない. 一方, 毎分投与量が充分大きいと, 線溶活性の発現がみられる. これらのことから, 線溶活性の発現には, thresholdがあって, それを越えるとはじめて線溶活性の発現がみられる. このthresholdは大体3,000単位/分である. これらは, two compartment modelを使えば, かなりうまく説明できそうである.

楢江 勇 (愛知医科大学生理学)

1) 家兎にUKを投与したUKの活性カーブと理論的なカーブとの主な差は活性出現までの時間的なおくれが主であり立ち上りカーブの形は急勾配であり理論値とあまり差のないことは排出速

度等の問題より anti-pl もしくは anti-UK などの Inhibitor による消費絶対レベルが主な問題とみられます。

松尾 1) time lag という考え方に賛成である。

その time lag を説明するために、先ほどの質問に対する答の中で、threshold という言葉を使用したけど、このメカニズムは、two-compartment で説明可能である。

2) 線溶活性出現後の立上りのカーブは、予測通りにならない。

田中健蔵 (九州大学医学部)

UK の血中からの除去はどのような機序をお考えでしょうか。網内系による食食と腎からの排泄があると思いますが。

次に私どもの実験では、家兎を用いると、自家血栓は、in vivo で、UK 投与により溶解は促進されませんが、蛍光抗体法では UK は血栓内に認められます。すなわち UK は投与後血管内にあるがその活性があまり発現しないのではないかと考えられます。antiplasmin 活性の高い家兎のみでなく、他の動物を用いて検討されれば、先生の理論がより明らかに証明されるのではないかと思います。

松尾 文献的に Isotope を用いた成績で labeled UK が腎および肝に集積している成績から、これらの臓器に trap されて除去されると推定しています。種を変えた実験もやってみたいと思います。