健康人における Batroxobin の生体内動態

菅井憲一,^{*,a} 今村 康,^a 上地俊徳,^b 波方庄平,^b 三橋 進,^a 森 登,^a
羽田雅夫,^c 緋田和子,^c 浮田 實,^c 福武勝博^c
東菱薬品工業株式会社小金井研究所,^a 青梅研究所,^b 東京医科大学臨床病理学教室^c

Metabolic Fate of Batroxobin in Human

KEN-ICHI SUGAI,^{*,a} YASUSHI IMAMURA,^a SYUNTOKU UECHI,^b
SHOHEI NAMIKATA,^b SUSUMU MIHASHI,^a NOBORU MORI,^a
MASAO HADA,^c KAZUKO KUROSOH,^c MINORU UKITA,^c
and KATSUHIRO FUKUTAKE^c

*Koganei Research Laboratories,^a 3-8-12, Nukui-kitamachi, Koganei, Tokyo, 184,
Japan, Ohme Research Laboratories, Tobishi Pharmaceutical Co., Ltd.^b 1-7-1,
Suehiro, Ohme, Tokyo, 198, Japan and Department of Clinical Pathology,
Tokyo Medical College,^c 6-7-1, Nishi-shinjuku,
Shinjuku-ku, Tokyo, 160, Japan*

(Received December 6, 1985)

We have already established enzyme immunoassay for microanalysis of batroxobin. In this paper, we determined the concentration of batroxobin in the plasma and the urinary excretion of batroxobin in human after the drop infusion by using this method. In the single administration (0.27 BU/kg), the half-life of batroxobin in the plasma was 6.4 h. In the first run of the repeated administration (0.11 BU/kg each), it was also 5.9 h. However, the second and third runs led to a shortening of the half-lives. The cumulative urinary excretion was 0.30% of the dose given by the single administration, and 0.07% by the repeated administration.

It was found that there was a linear relationship between body weight and elimination rate constant of human and some laboratory animals.

After the single administration of batroxobin, it was also observed that fibrinopeptide A and B₁₋₄₂ were immediately liberated, with a decrease in fibrinogen in the plasma, followed by an increase in fibrin degradation product E.

No production of a specific antibody of batroxobin was recognized through the experiment.

Keywords—batroxobin; human; enzyme immunoassay; plasma concentration; urinary excretion; defibrinogenating effect; fibrinopeptide A; fibrinopeptide B₁₋₄₂; specific antibody

Batroxobin は fibrinogen (Fbg) に作用して, fibrinopeptide A (FpA)¹⁾ と desA fibrinmonomer (DesA) を生成する。この DesA は、血液中の線溶系を亢進して、^{2,3)} DesA 自身は線維素分解産物 (FDP) となる。その結果、血漿中の Fbg が低下し脱線維素原状態となり^{4,5)} 血液粘度が低下するため、^{6,7)} 臨床上では末梢循環障害の改善に期待が持たれている。

Batroxobin の体内動態については、Straub ら、⁸⁾ Egberg⁹⁾ により放射性ヨウ素標識体を使用してイヌ、ヒトで行われている。我々も放射性ヨウ素標識体を使用してラット、イヌでその検討を行ってきた。¹⁰⁾ 一方、この方法をヒトに使用することは不可能なため、batroxobin の酵素免疫測定法 (EIA) を確立し、¹¹⁾ 実験動物を用いて血漿中濃度を測定して薬動学的パラメーターを算出した。¹²⁾ 本試験ではこの EIA 法を用いて、健康人ボランティアに batroxobin を単回投与及び連続投与し、batroxobin の血漿中濃度と尿中排泄量を測定した。その結果より消失速度定数 (K_{e1}) 及び半減期を算出し、前報¹²⁾ の実験動物の結果と比較した。さらに、batroxobin 投与後の早期の線溶系の指標として fibrinopeptide B β_{1-42} (FpB β_{1-42})^{13,14)} を FpB β_{15-42} の測定法により定量し、血漿

中の Fbg, FpA, FpB β_{15-42} と FDP (E 分画) の変動及び抗体産生の有無についても検討したので報告する。

実 験 の 部

被験者 健康な成人男性志願者について、内科的診察、血液生化学検査、凝固・線溶検査、尿・便検査を行い正常範囲内の者を被験者とした。被験者には本試験の目的と方法及び安全性について十分説明し、試験参加についての同意を得た後、Table I に示したように無作為に単回投与群 (5 名, 21—26 歳) と連続投与群 (4 名, 20—24 歳) の 2 群に分けた。被験者は試験中は入院させ、1 日 3 回の病院食を摂取させた。試験期間中は内科的診察を行い、観察記録した。

使用薬剤 Pentapharm 社 (スイス) で製造された batroxobin 注射薬 (DF-521 注, 10 BU/ml) を使用した。Batroxobin の比活性としては、酵素活性 1 BU が 2 μ g の酵素蛋白量に対応している。¹⁵⁾

投与方法 1) 単回投与は、batroxobin 20 BU を生理食塩水 250 ml で希釈したものを、午前 9 時より 1 時間で点滴静注した。

2) 連続投与は、batroxobin 10 BU を生理食塩水 250 ml で希釈したものを、毎日、午前 9 時より 1 時間で点滴静注し、隔日に 3 回繰り返した。

採血及び採尿 1) 単回投与では、薬剤を投与する直前に 23 ml と、点滴投与開始より 1, 2, 4, 7, 10, 12, 24 及び 48 時間後に 13 ml ずつ採血した。投与より 3 週間後に回復検査と抗体検査の目的で 30 ml 採血した。尿は投与直前と投与後 0—2, 2—4, 4—7, 7—10, 10—12, 12—24 及び 24—48 時間毎に採取し、その一部を試料とした。

2) 連続投与では、毎回薬剤を投与する直前に 18 ml と、点滴開始より、1, 2, 4, 7, 10, 24 及び 48 時間後に 5 ml ずつ採血した。3 回目の投与から 3 週間後に回復検査と抗体検査の目的で 32 ml を採血した。尿は投与直前と、投与後 0—2, 2—4, 4—7, 7—10, 10—24 及び 24—48 時間毎に採取し、その一部を試料とした。

Batroxobin 濃度と Fbg 値測定用にはクエン酸血漿を使用した。抗体検査には血清を用いた。その他、FpA, FpB β_{1-42} 及び FDP はキットで指定された試料瓶に血液を分取し、遠心分離 (3000 r.p.m., 10 min) 後、試料とした。これら血漿、血清及び尿試料は測定するまで凍結保存した。

血漿中及び尿中 Batroxobin 濃度の測定

Batroxobin の EIA による測定¹¹⁾に準じ、血漿試料についてはウロキナーゼによる前処理を行った後 batroxobin を測定した。血漿の標準曲線は、各個体の投与前の血漿に batroxobin の希釈系列溶液 (ng/ml) より一定量添加した後、試料と同様の条件でウロキナーゼ処理を行った後、測定することにより作成した。尿中濃度を測定する標準曲線は、尿に batroxobin の希釈系列溶液 (ng/ml) より一定量添加した後、測定することにより作成した。

血漿中濃度の半減期算出法 得られた batroxobin の血漿中濃度値を点滴投与終了後の one compartment open model の式に当てはめて、 K_{el} と半減期を算出した。

$$C(t) = C_0 \cdot e^{-K_{el}(t-T)}$$

$C(t)$: 血漿中濃度 (ng·ml⁻¹)

C_0 : 点滴終了直後の血漿中濃度 (ng·ml⁻¹)

K_{el} : 薬物の消失速度定数 (h⁻¹)

t : 点滴開始時からの時間 (h)

T : 点滴投与時間 (h)

臨床生化学的測定 線維素分解産物の E 分画 (FDP-E) は LPIA システム (ダイアマトロン) により、Fbg は重量法^{4,16)}により、FpA と FpB β_{1-42} (FpB β_{15-42} の測定法による FpB β_{15-42} の定量値を示した) はスペシャル・レファレンス・ラボラトリーにおいてラジオイムノアッセイ法^{17,18)}により、血漿プラスミンはフィブリンブレイ

TABLE I. Background of Human Volunteer in a Single and Repeated Infusion

Administration method	Volunteer name	Age (year)	Body weight (kg)
A single infusion (20 BU/body)	S. Kn.	26	70.5
	M. Y.	25	65.5
	Y. A.	21	83.0
	S. Kk.	22	73.0
	J. N.	23	74.0
Mean $\pm$ S.D.		23 $\pm$ 2	73.2 $\pm$ 5.7
Repeated infusions (10 BU/body)	A. I.	23	62.8
	T. O.	24	66.0
	T. K.	20	56.5
	H. K.	22	88.0
Mean $\pm$ S.D.		22 $\pm$ 2	68.3 $\pm$ 11.9

ト (Plasminogen free; 北里研究所製) により, 尿中クレアチニンはユニキット・クレアチニン (中外製薬製) により測定した。

抗体の検索 Batroxobin の投与後 3 週間目の血清について, 以下の 4 種の方法で抗体産生の有無を検討した。すなわち, 免疫グロブリンの定量は, 日本トラペノール社の定量用キット (イムノプレート III) を用い, PCA 反応は鈴木¹⁹⁾の方法, PHA 反応は木村²⁰⁾の方法に準じ, ELISA 法によるイムノグロブリンのクラス別の測定は伊藤ら²¹⁾の方法に従って測定した。なお, コントロールには投与前の血清を使用した。

結 果

血漿中濃度

単回投与 (20 BU/body, $n=5$), 連続投与 (10 BU/body, $n=4$) 後の batroxobin の血漿中濃度を Fig. 1 に示した。点滴終了後の血漿中濃度の減少は共に一相性を示し, 単回投与では 48 時間に, 連続投与では 24 時間に検出限界以下になった。

Fig. 1. Plasma Concentration of Batroxobin after a Single and Three Times Repeated Infusions

The point represents the mean value of plasma concentration after a single (●, $n=5$) infusion and 1st (○, $n=4$), 2nd (△, $n=4$) and 3rd (□, $n=4$) infusion of three times repeated, and the vertical line represents S.D.

Fig. 2. Relationship between the Body Weight and Elimination Rate Constant of Several Animals

Mouse, MS; rat, RT; guinea pig, GP; rabbit, RB; dog, D; monkey, MK; human, H. Animal data were reported in the literature.¹²⁾ The correlation coefficient, R excluding rabbit; -0.92 .

TABLE II. Cumulative Urinary Excretion of Batroxobin, FpA and FpB β_{15-42} after a Single and Repeated Infusions of Batroxobin

Time (h)	A single infusion (40000 ng/body)			Repeated infusions (20000 ng/body)		
	Batroxobin Percent of dose (% , mean $\pm$ S.D.)	FpB β_{15-42} ^{a)} (mg)	FpA (μ g)	Batroxobin Percent of dose (% , mean $\pm$ S.D.)		
				First run	Second run	Third run
0—2	0.14 $\pm$ 0.07	0.5 $\pm$ 0.4	1.0 $\pm$ 0.6	0.05 $\pm$ 0.03	0.05 $\pm$ 0.02	0.04 $\pm$ 0.02
0—4	0.25 $\pm$ 0.10	1.6 $\pm$ 0.8	3.2 $\pm$ 1.1	0.08 $\pm$ 0.04	0.06 $\pm$ 0.04	0.06 $\pm$ 0.04
0—7	0.28 $\pm$ 0.12	2.6 $\pm$ 1.0	6.2 $\pm$ 2.4	0.08 $\pm$ 0.05	0.06 $\pm$ 0.04	0.07 $\pm$ 0.04
0—10	0.30 $\pm$ 0.13	3.3 $\pm$ 1.4	7.4 $\pm$ 3.1	0.09 $\pm$ 0.05	0.06 $\pm$ 0.04	0.07 $\pm$ 0.04
0—12	0.30 $\pm$ 0.13	3.5 $\pm$ 1.4	8.1 $\pm$ 3.1	0.09 $\pm$ 0.05	0.06 $\pm$ 0.04	0.07 $\pm$ 0.04
0—24	0.30 $\pm$ 0.13	3.8 $\pm$ 1.4	9.1 $\pm$ 3.3	0.09 $\pm$ 0.05	0.06 $\pm$ 0.04	0.07 $\pm$ 0.04
0—48	0.30 $\pm$ 0.13	3.9 $\pm$ 1.4	9.1 $\pm$ 3.3	0.09 $\pm$ 0.05	0.06 $\pm$ 0.04	0.07 $\pm$ 0.04

a) Determined by using measurement kit of FpB β_{15-42} .

尿中排泄

Batroxobin の累積尿中排泄及び尿中 FpA, FpB β_{15-42} の結果を Table II に示した. 投与量に対する尿中排泄率 (%) は, 単回投与では 0.30%, 連続投与の 3 回を平均すると 0.07% であり, 共に, 投与後 9 時間以内に排泄された. 単回投与後に排泄された FpA 及び FpB β_{15-42} は, それぞれ $9.1 \pm 3.3 \mu\text{g}$ ($n=5$), 及び $3.9 \pm 1.4 \text{ mg}$ ($n=5$) であった. この時, クレアチニン排泄量は $1.0-2.1 \text{ mg/d}$ であり正常値の範囲内であった.

Fig. 3. Change of Fibrinogen Level in Plasma after a Single and Three Times Repeated Infusions

The point represents the mean value of fibrinogen level of a single (●, $n=5$) and three times repeated (○, $n=4$) infusions, and the vertical line represents S.D. The arrows represent the time on the infusion of a single (↓) and three times repeated infusions (⇓).

TABLE III. Elimination Rate Constants and Half-lives of Batroxobin in Human Volunteers

Administration method	Volunteer name	Dose ($\text{ng} \cdot \text{kg}^{-1}$)	Body weight (kg)	K_{el} (h^{-1})	Half-life (h)
A single infusion	S. Kn	567	70.5	0.08	8.7
	M. Y.	611	65.5	0.12	5.8
	Y. A.	482	83.0	0.10	6.7
	S. Kk.	548	73.0	0.14	4.9
	J. N.	540	74.0	0.12	5.9
	$N=5$	549.6 ± 41.8	73.2 ± 5.7	0.11 ± 0.02	6.4 ± 1.3
Repeated infusions	A. I.	318	62.8	0.13	5.5
	T. O.	303	66.0	0.11	6.2
	T. K.	354	56.5	0.12	5.6
	H. K.	227	88.0	0.11	6.1
	$N=4$	300.5 ± 46.3	68.3 ± 11.9	0.12 ± 0.00	5.9 ± 0.3
	A. I.	318	62.8	0.20	3.5
	T. O.	303	66.0	0.22	3.2
	T. K.	354	56.5	0.12	2.5
	H. K.	227	88.0	0.11	2.9
	$N=4$	300.5 ± 46.3	68.3 ± 11.9	0.23 ± 0.03	3.0 ± 0.37
Third run	A. I.	318	62.8	0.26	2.7
	T. O.	303	66.0	0.23	3.1
	T. K.	354	56.5	0.25	2.8
	H. K.	227	88.0	0.26	2.7
	$N=4$	300.5 ± 46.3	68.3 ± 11.9	0.25 ± 0.01	2.8 ± 0.2

血漿中濃度の半減期

得られた血漿中濃度を使用して各個体別に半減期を算出し、Table III に示した。ヒトの血漿中濃度は one compartment open model に適合し ($AIC < -11$)、実験動物の結果と同様であった。¹²⁾ 次に、ヒトと実験動物の K_{el} をそれぞれの体重に対しプロットし、Fig. 2 に示した。

臨床生化学測定

単回投与、連続投与後の Fbg 値の変動を Fig. 3 に示した。単回投与において Fbg 値は投与直後より漸次減少して 12 時間に最低値になった後、徐々に回復して、48 時間後には投与前の約 6 割まで戻った。また、連続投与では 1 回目の投与後 24 時間まで漸次減少して最低値となり、48 時間後の 2 回目投与の直前では約 4 割まで回復した。2 回目の投与では 7 時間後に最低値になり、3 回目投与でも 7 時間で最低値になり、共に 48 時間後に 1 回目投与前の約 4 割まで回復した。単回投与で得られた血漿中 Fbg (分子量: 340000)、FpA (分子量: 1536)、FpB β_{15-42} (分子量: 3040)、FDP-E (分子量²⁷⁾: 約 41000) 及び batroxobin (分子量¹⁵⁾: 36000) 濃度をモル濃度 (nm) に換算し、その変動を Fig. 4 に示した。FpA 濃度は点滴終了直後より最高値に到達し、48 時間後においても FpA の投与前 (0.3—1.4 nm) 以上であった。また、FpB β_{15-42} 濃度は点滴終了直後で FpA の約 1/10 であり、消失速度は FpA より遅かった。さらに、FDP-E の濃度は投与開始 7 時間後に最高値となり、その後は徐々に減少した。血漿プラスミン検出結果は Table IV に示した。被験者 5 名中 2 名に投与後 4—12 時間目に検出された。

抗体の検索

被験者全員の血中免疫グロブリン濃度を Table V に示した。いずれのグロブリンクラスも正常値の範囲内にあり、batroxobin 投与により著変は認められなかった。

つぎに、PCA 反応により被験血清を正常モルモットに受身感作してアナフィラキシー反応の有無を調べた。その結果を Table VI に示した。投与後 3 週間の被験血清に低倍希釈で + ないし ± の反応が認められたが、同様の反応はコントロール血清でも認められた。4 倍希釈以上の血清でスコアが + 以上の場合を PCA 陽性とする。被験者は全員陰性と判定された。また、PHA 反応は全員が陰性であった。ELISA 法では予備実験で判定基準を吸光度より P/N 比 (P; 投与後血清の吸光度, N; 投与前血清吸光度) を求め、P/N 比が 2.0 以上の場合を

Fig. 4. Plasma Level of Batroxobin, FpA, FpB β_{15-42} , FDP-E and Fibrinogen after a Single Infusion

The point represents the mean value of plasma concentration [nm] of batroxobin (●), FpA (▲), FpB β_{15-42} (■), FDP-E (□) and fibrinogen (△).

TABLE IV. Change of Fibrinolysis Area (mm²) on Plasminogen Free Fibrin-Plate after a Single Infusion

Volunteer name	Time after administration (h)					
	0	4	7	10	12	24
S. Kn.	N.D.	2.8	7.5	9.2	5.7	N.D.
M. Y.	N.D.	3.0	1.3	N.D.	N.D.	N.D.
Y. A.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
S. Kk.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
J. N.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

N.D.: not detected.

TABLE V. Change of Immunoglobulin Level after Batroxobin Administrations

Administration method	Volunteer name	Concentration of immunoglobulin (mg/dl)					
		IgG		IgM		IgA	
		Before	After	Before	After	Before	After
A single infusion	S. Kn.	1450	1300	78	74	175	185
	M. Y.	1400	1250	82	82	325	380
	Y. A.	1200	1100	270	285	98	175
	S. Kk.	960	1500	130	145	105	175
	J. N.	1350	1350	135	125	92	110
Repeated infusions	A. I.	1150	1260	125	94	210	265
	T. O.	1190	1150	190	155	49	51
	T. K.	1360	1500	170	135	145	185
	H. K.	1450	1300	78	78	195	130

TABLE VI. Passive Cutaneous Anaphylaxis (PCA) Reaction of Human Antisera to Batroxobin in Guinea Pigs

Administration method	Dilution	Before administration						After administration					
		Grade						Grade					
		N	-	±	+	++	+++	N	-	±	+	++	+++
A single infusion	× 1	25	1	13	11	0	0	25	3	17	5	0	0
	× 4							25	4	21	0	0	0
	× 16							25	25	0	0	0	0
	× 64							25	25	0	0	0	0
Repeated infusions	× 1	20	0	14	6	0	0	20	1	10	9	0	0
	× 4	20	5	15	0	0	0	20	3	17	0	0	0
	× 16							20	20	0	0	0	0
	× 64							20	20	0	0	0	0

PCA reaction were evaluated with diameter (mm) of Evans blue spot as follows; -: nothing, ±: <5, +: 5-9.9, ++: 10-14.9, +++: 15>.

TABLE VII. Determination of Specific Antibody to Batroxobin by ELISA Method

Administration method	Volunteer name	P/N Ratio				
		IgG	IgM	IgA	IgD	IgE
A single infusion	S. Kn.	0.90	0.94	0.96	1.00	1.02
	M. Y.	1.02	0.96	0.73	1.66	0.95
	Y. A.	0.93	0.94	0.98	0.81	0.90
	S. Kk.	1.05	1.03	1.27	1.18	0.82
	J. N.	0.89	1.00	1.18	0.89	1.28
Repeated infusions	A. I.	1.50	1.37	1.68	1.15	1.09
	T. O.	1.10	1.34	1.68	0.81	0.93
	T. K.	1.10	1.34	0.89	1.25	1.18
	H. K.	1.30	1.07	1.02	0.77	0.82

ELISA 陽性とした。被験血清による結果を Table VII に示した。P/N 比が 2.0 以上の例は認められず、全員 ELISA 陰性と判定された。

考 察

血漿中濃度

単回投与 (20 BU/body) と連続投与 (10 BU/body) の1回目とを比較すると、その血漿中 batroxobin 濃度は投与量に依存していた。投与後の半減期は共に約6時間 (6.4, 5.9 時間) であったが、連続投与の2, 3回目の半減期は約3時間 (3.0, 2.8 時間) となって、血漿中動態に変化が認められた。

尿中排泄

Batroxobin の尿中排泄率は単回投与で投与量の0.30% 及び連続投与で0.07% と少なかった。Straub ら⁸⁾は、ヒトに放射性ヨウ素標識体を投与して投与量の38.9% (24 時間) の放射能が尿中に排泄されたとしている。我々の¹²⁵I 標識 batroxobin による実験において、ラット、イヌで24時間に約60% が排泄されており、その尿のクロマトパターンより放射能の大部分は低分子のものであることが分かっている。¹⁰⁾ 一方、すでに報告した通り EIA では数種の動物における排泄は約2% 以下の低値であった。¹²⁾ したがってヒトの場合も batroxobin の大部分は代謝を受けて尿中に排泄されていると判断した。また、FpA と FpB β_{15-42} の尿中排泄に関する研究は少ないが、今回の実験では、FpA の排泄量は少なかったのに比べて、FpB β_{15-42} の測定法により定量した FpB β_{15-42} の排泄量は3.9 mg と高値であり、両種のフィブリノペプチドの腎排泄機構について興味ある結果を得た。

 K_{el} と動物体重との相関

Adolph,²²⁾ 及び Dedrick ら²³⁾は、薬動力学的パラメーターと実験動物の体重との間に相関関係があることを示した。そこで、batroxobin についても、その消失速度定数 (K_{el}) とヒト及び動物の体重との関係を求めた。ウサギを除けば Fig. 2 に示したように良い直線的な相関が得られた ($R=0.92$, $K_{el}=0.32 \cdot W^{-0.85}$, W ; body weight)。したがって、ヒトの消失速度定数あるいは半減期は実験動物の体重から外挿し得る値であったことが分かる。ここでイヌがヒトに近いことは、実験動物の脱線維素原作用による検討の結果⁴⁾とも一致した。一方、ウサギが回帰直線より外れる理由については不明である。

連続投与試験

Batroxobin の連続投与の際、2回目、3回目投与後の血漿中からの半減期が1回目 비해短くなる現象は、すでにイヌにおいても認められている。¹²⁾ この事については、以下のように推定した。

1回目の投与時には Fbg が正常量存在する為、多量の DesA, FDP 等が生成する。この血漿を放置すると加藤ら^{2,8)}が示した“フィブリン様物質”を生成する。この時、我々は batroxobin が“フィブリン様物質”と Fbg をも含めた物質に取り込まれる事実²⁴⁾を認めたことより、この物質は batroxobin に親和性を示して血漿中では batroxobin の担体の役割を示す。このことは *in vitro* の系において、ウロキナーゼ処理により batroxobin 添加ヒト血漿からの回収率が向上する点からも支持される。¹¹⁾ これに対して2, 3回目の投与時には、血漿中 Fbg 量が低下しており、線溶系が充進^{2,3,5)}している為に“フィブリン様物質”は生成しても直ちに溶解されて、担体の役割を果し得ない。その結果として、batroxobin は Egberg⁹⁾ が示したように α_2 マクログロブリンと結合し易くなり肝、脾に高い分布が見られ、¹⁰⁾ それら臓器の細網内皮系によって処理される。その為に、2, 3回目の半減期は短縮される。

血漿中濃度と脱線維素原作用

Batroxobin の単回投与と連続投与の血漿中 Fbg 値の減少は Fig. 3 に示すように脱線維原状態を発現した。この推移は福武ら⁵⁾の臨床薬理の結果に類似していた。一方、単回投与時の点滴終了直後の FpA 濃度は、 390 ± 147 nm であった。渡辺ら²⁵⁾はヒト Fbg に対する batroxobin の速度論的パラメーター V_{max} は 3.7 nmol/min/BU であると報告している。これは、batroxobin の分子量を36000とした場合、1分間に batroxobin の1 nmol が FpA を67 nmol 産生することになる。Nossel ら²⁶⁾は、ヒト由来 FpA の半減期は血漿中で3—5分と報告している。血漿中で生成された FpA の半減期を5分として、またヒトの血漿量を約2800 ml と見積もって、FpA 濃度を点滴開始より終了時までの時間経過について積分してみると241 nm となる。この値は測定値 390 ± 147 nm に近似しており、投与された batroxobin は血漿中において、最大速度で酵素反応していると言える。したがって、血漿中 FpA 濃度は batroxobin の酵素活性の指標となり得ることを示唆した。

線溶系の発現

Batroxobin 投与後の線溶発現の過程については、加藤ら^{2,3)}は batroxobin によって生成された DesA が二次

線溶を亢進させて DesA 自身の分解をまねき、FDP 増加状態を発現すると推測している。一方、FpB β_{15-42} は線溶段階の比較的早期に Fbg より切断されるために、FpB β_{15-42} は線溶亢進の指標となると報告されている。^{13,14)} FpA と FpB β_{15-42} は共に点滴終了後には高値であり、すでに早期の線溶段階に移行していると思われる。線溶反応がさらに進行すると Pizzo ら²⁷⁾は FDP-E が生成されると報告しており本試験でも、FDP-E は投与後 7 時間に最大値となった。この時、plasminogen free フィブリンプレート法による測定において血漿プラスミンが検出されたのは 5 名中 2 名のみであった。

抗体価の検索

実験動物による抗体価の検索²⁸⁾において、batroxobin は通常用いられる投与量では、抗原性の発現はないと推測している。単回投与と連続投与後、3 週間目の血清中の抗体を 4 種類の方法で検索した結果、batroxobin の特異抗体は検出されなかった。

引用文献

- 1) B. Blombäck, B. Hessel, D. Hogg, L. Therkildsen, *Nature* (London), **75**, 501 (1978).
- 2) 加藤正俊, 藤巻道男, 福武勝博, 血液と脈管, **13**, 116 (1982).
- 3) 加藤正俊, 東京医大, **40**, 605 (1982).
- 4) 大羽光興, 青山 操, 医学と薬学, **14**, 1061 (1985).
- 5) 福武勝博, 藤巻道男, 長沢 洋, 加藤正俊, 日血会誌, **44**, 117 (1981).
- 6) 菅原基晃, 秋山一也, 浅野牧茂, 大久保千代次, 石井 誠, 大羽光興, 日本バイオレオロジー学会論文集, Vol. 5, 1982, p. 159.
- 7) 青山 操, 近藤恭子, 大関文照, 大羽光興, 日本バイオレオロジー学会論文集, Vol. 8, 1985, p. 323.
- 8) P. W. Straub, A. Bollinger, W. Blatter, "Defibrinierung mit thrombinähnlichen Schlangengiftenzymen," ed. by Martin, W. Schoop, Huber, Inc., Bern-Stuttgart-Wien, 1975, pp. 72—78.
- 9) N. Egberg, *Thrombos. Res.*, **4**, 35 (1974).
- 10) K. Sugai, Y. Imamura, S. Mihashi, N. Mori, S. Baba, *J. Toxicol. Sci.*, in press.
- 11) 菅井憲一, 今村 康, 三橋 進, 森 登, 馬場茂雄, 薬誌, **106**, 330 (1986).
- 12) K. Sugai, Y. Imamura, K. Kunikane, M. Ohba, S. Mihashi, N. Mori, S. Baba, *J. Toxicol. Sci.*, in press.
- 13) D. Mills, S. Karparkin, *Biochim. Biophys. Acta*, **271**, 163 (1972).
- 14) 池松正次郎, 臨床検査, **28**, 20 (1984).
- 15) K. Stocker, G. H. Barlow, *Methods Enzymol.*, **45**, 214 (1976).
- 16) A. J. Quick, "Hemorrhagic Diseases and thrombosis," Lea & Febiger, Inc., Philadelphia, 1966, pp. 410—413.
- 17) Y. Ohno, M. Itabashi, H. Honma, M. Aoyama, T. Yamada, S. Ikematsu, M. Fujimaki, *Thrombo. Haemostas.*, **50**, 953 (1983).
- 18) 大野安夫, 板橋光春, 本間宏子, 青山正明, 山田亨弘, 池松正次郎, 藤巻道男, 日血会誌, **46**, 608 (1983).
- 19) 鈴木達男, 蛋白質核酸酵素, **14**, 823 (1969).
- 20) 木村義民, 免疫実験操作法 A, 日本免疫学会編, 日本免疫学会, 金沢, 1971, pp. 294—301.
- 21) 伊藤幸治, 木谷誠一, 坂本芳雄, 宮本昭正, アレルギー, **33**, 158 (1984).
- 22) E. F. Adolph, *Science*, **109**, 579 (1949).
- 23) R. L. Dedrick, D. D. Forester, L. N. Cannon, S. M. ElDareen, L. B. Mellet, *Biochem. Pharmacol.*, **22**, 2405 (1973).
- 24) 日本薬学会第 104 年会, 仙台, 1984 年 3 月.
- 25) 渡辺 進, 大関文照, 森 登, 三橋 進, 馬場茂雄, 薬誌, **105**, 395 (1985).
- 26) H. L. Nossel, I. Yudelman, R. E. Canfield, N. P. Butler Jr., K. S. Spanondis, G. D. Wilner, G. D. Qureshi, *J. Clin. Invest.*, **54**, 43 (1974).
- 27) S. V. Pizzo, M. L. Schwartz, R. L. Hill, P. A. McKee, *J. Biol. Chem.*, **247**, 636 (1972).
- 28) 波方庄平, 近江 彰, 野口桂一, 石井 誠, 森 登, 応用薬理, **26**, 781 (1983).