

30-0460

ナットウキナーゼ(NSK-SD)によるフィブリン分解物の血小板凝集抑制作用への検討
○高岡 晋作¹, 佐藤 勝也¹, 谷口 明美², 森山 浩義², 星 恵子³(¹株)日本生物科学研究所,²(株)ウイル・コーポレーション,³昭和薬大)

【目的】我々は、日本薬学会第 123 年会にて、ナットウキナーゼ(NSK-SD)に血小板凝集抑制効果があること、124 年会にて自然凝集を抑制する作用があることを報告した。今回、ナットウキナーゼ(NSK-SD)によりフィブリン塊を溶解させ、その分解物に血小板凝集抑制作用があるか検討した。

【試験方法】フィブリノーゲン 192mg を生理食塩水にて溶解させ、90ml のフィブリノーゲン溶液を作成し、これに 20U/ml のトロンビン溶液 5ml 加え、フィブリン塊を作成した。これに 100FU/ml ナットウキナーゼ溶液 5ml を加え 2 時間分解反応させ、その後、100°C で 10 分間加熱し、ナットウキナーゼを完全失活させ、フィブリン分解物溶液を作成した。これをろ過後、10,000 カットのウルトラフィルターで透析し、分子量 10,000 以下のフィブリン分解物溶液を調整した。これを減圧乾燥したフィブリン分解粉末を試験に供した。

健常人 3 名(男 1、女 2)より採血し血小板凝集抑制能を測定した。得られた血液検体は 180 × g、10 分間遠心分離し、その上清を多血小板血漿(PRP)とし、残りの検体は 1,600 × g、15 分間遠心分離して、乏血小板血漿(PPP)とした。PRP を PPP にて希釈し、血小板数 $25 \pm 3 \times 10^4 / \mu\text{l}$ に調整して検体とした(300 μl)。これに、フィブリン分解粉末溶液(100mg/ml、50mg/ml、10mg/ml)を 24 μl 加え、37°C で 1 分間インキュベートした。凝集惹起剤には、ADP(最終濃度 5 μM)、コラーゲン(最終濃度 2 $\mu\text{g/dl}$) を使用した。血小板凝集能測定は、レーザー散乱光を用いた粒子計測型血小板凝集能測定装置(PA-200、興和)を用いて行なった。なお、血小板凝集塊サイズは、散乱光強度により、小凝集塊(9-25 μm)、中凝集塊(25-50 μm)、大凝集塊(50-70 μm)の 3 つに分類した。また、比較検討のため、アデノシンも同様に試験した。

【結果および考察】0.67mg/ml の最終濃度では、コラーゲン、ADP を惹起剤として使用した場合、共に、顕著な効果は見られなかったが、6.7mg/ml の最終濃度では、大凝集塊の割合が顕著に下がり、小凝集塊の割合が増え、比較検討したアデノシン 100 μM よりも、効果が見られた。今後、これらの作用機序の解明など研究を重ね、ナットウキナーゼ(NSK-SD)およびそのフィブリン分解物の血栓性疾患に対する予防や治療、代替医療への応用を期待する。