

## 血栓予防と飲酒：血管性プラスミノゲン アクチベーター放出作用

須見洋行・清水雅雄\*・美原 恒\*

### はじめに

脳梗塞とか狭心症、心筋梗塞などの血栓症を主因とする脳、心臓血管系の疾患が増えつつある。例えば、平成3年の日本人の3大死因は、癌・心臓病・脳卒中中で、順に27.1%・19.9%・15.3%となっているが、その中で心臓病・脳卒中の原因の大部分は血栓症であると考えられるところから、事実上血栓症が癌を上回って死亡原因の第1位であるといえる。また、最近社会的な問題になっている老人性のボケ、脳軟化症なども主に微小循環での血栓形成が関与する訳である。ところが、我が国で癌に対する基礎的研究、治療法の開発は国家的なプロジェクトとして行われているのに対し、血栓症に対する研究は必ずしも充分とは言えない。

さて、我々は“ウロキナーゼ (UK)”を中心に血栓溶解に働く“線溶系酵素”の分子構造<sup>(1-5)</sup>と、腸溶剤の経口投与による血栓溶解療法など<sup>(6-15)</sup>、間接的に血中の線溶活性を高める血栓症の治療、予防法についての基礎研究を続けてきたが、最近日常摂取されている程度の飲酒によっても血中の線溶亢進が引き起こされうること、またその際UK酵素が大いに関与することを認めた。今回は医学界ではとかく害悪の面が強調されている感のある飲酒をあえて血栓予防という「効能」の面からながめてみることにする。

特に、まず最初に線溶系の引き金である「UK」あるいは「u-PA」と呼ばれているプラスミノゲンアクチベーター研究の現況を述べ、その後でここ数年間我々がやってきた具体的な飲酒及び動物でのアルコール灌流実験の成績を示し、両者の関係について考察してみることにする。

### <血液の凝固・線溶系とは>

まず線溶系が動員されるのはいかなる場合かを考えてみると、生体内に種々の原因で生じた凝固塊（本体はフィブリンである）を、その本来の機能である止血作用が終了した後、除去する機構として線溶系は存在している。血管が破綻した場合、まずそこに血小板血

栓が形成されるが、続いて起こる凝固機転によって止血が完了するとともに、血管の修復が行われる訳であるが、その後、線溶系が活性化され、形成された凝固塊を除去して血流の再開が起こる。つまり、凝固系と線溶系はうまく両者が相まって働いてそのバランスがうまく保たれていることが重要であり、血栓症の人はそのバランスからみると、凝固系に比べて線溶系の働きが弱いということになる。よく出される例としてはNilssonらの臨床成績がある。<sup>(16,17)</sup>つまり、血栓症患者の腕を駆血した場合、採血した血漿が持つeuglobulin lysis time (ELT), あるいはeuglobulin fibrinolysis area (EFA)を測ると健康人に比べて低い、つまり線溶活性高まりの反応性が低いということである。では、“線溶系”と一般に云われるものはどういった酵素かというのをまとめたのが図1である。“plasmin”と書いてあるのが昔“fibrinolysin”とも呼ばれていた線溶系の中心をなす酵素であり、またこのものは血液の中では前駆体の不活性型プラスミノゲンとして存在するのでそれを活性化させる種々のアクチベーター類も最近線溶酵素に入れられている。

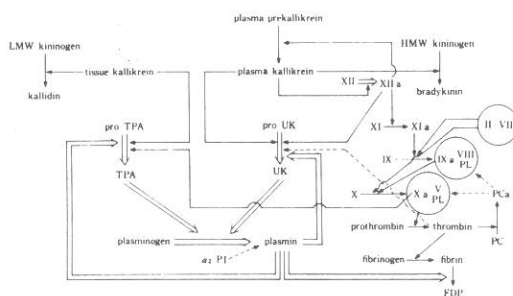


図1 血液線溶-凝固系の相互関係

最近、UK、TPAは各々ウロキナーゼタイプおよび組織プラスミノゲンアクチベータータイプの意味からu-PA、t-PAと表現することが多い。また一本鎖(single chain)構造のpro-UK(酵素前駆体)を“SCUPA”と略称することもある(8th Int. Cong. Fibrinolysis, Vienna, 1988)。図で実線は反応の起こることを、また破線は阻害を示す。  
PC: プロテインC, PL: リン脂質,  $\alpha_2$ PI:  $\alpha_2$ プラスミンインヒビター, FDP: フィブリン分解産物, a: 活性型, アラビア数字は各凝固因子を示す。

\* 宮崎医科大学生理学講座

### ＜線溶系の活性化機構＞

プラスミノーゲンアクチベーターには分子タイプとして2種類あり、一つは昔から呼ばれていた組織アクチベーター (t-PA) であり、もう一つは尿中に存在するウロキナーゼ (UK) と同じ抗原性をもつアクチベーターであり種々の組織に存在していることがわかってきた。後者はUKタイプのアクチベーターという意味でu-PAとも呼ばれている。<sup>(4,5)</sup> u-PAは我が国では約20年ほど血栓溶解剤として使われてきたため、一般には“ウロキナーゼ”と呼んだほうがなじみ深いと思う。これらt-PA, u-PA, およびプラスミノーゲンの分子構造上の類似性が最近明らかにされている。図2は我々が最初に決定したu-PAの全一次構造であるが、<sup>(1,4)</sup> 生体内では一本鎖ポリペプチド構造をもつ前駆体として存在するということが最近single chain~ (特にUKの前駆体はSCUPAと略す) と呼ばれることが多く、二本鎖の活性型とは区別される。即ち、u-PA分子内のある特定位置にあるリジン残基 (Lys<sup>158</sup>-Ile<sup>159</sup>の間) が内因性凝固因子である活性第XII因子 (XIIa) そのもの、あるいはXIIaが血漿中のプレカリクレインに働いて生じる血漿カリクレインによって分子内切断され二本鎖<sup>(18)</sup> となって活性化する。一方、t-PAについては種々の報告があり、未だ完全な不活性の前駆体の存在は確かめられてはいないが、いずれにしろ、一本鎖のやはりLys-の部分が、組織の破壊により放出される組織カリクレインと、さらには内因性、外因性両方の凝固系により活性化されるXIIaにより切断され二本鎖となってプラスミノーゲンに働くものと考えられている (XIIaも弱いながら活性化に関与しているという報告もある)。さらに、この一本鎖のu-PA, t-PAはともに活性化されたプラスミンにより、さらに容易に二本鎖のt-PA, u-PAになる。このプラスミンによる活性化機構は睨でのトリプシン生成やXIIaの活性化過程などにもみられるpositive feed backとしての増幅作用であり、効率よく線溶系が動員される訳である。

### ＜線溶系の制御＞

このようにして活性化されたt-PA, u-PAはプラスミノーゲンとともに血液ではフィブリンに結合してプラスミンが活性化されるという点が生理的に重要な点で、線溶は形成されたフィブリン内のみで起こるものと考えられている。もちろん、プラスミン活性が非常に高くなればフィブリンノーゲンを分解し、出血傾向につながる可能性もある。通常の場合には血漿中に存在する $\alpha_2$ プラスミンインヒビター ( $\alpha_2$ PI), プラ

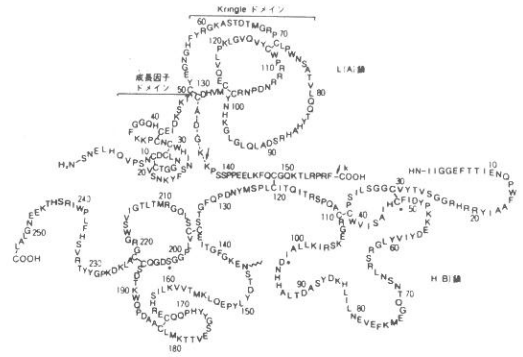


図2 ウロキナーゼの分子構造

2本鎖の高分子タイプUKの構造を示すが、L鎖、H鎖が (Lys<sup>158</sup>を介して) 結合した形が1本鎖のpro-UK(SCUPA)である。また矢印の所で酵素的な分子切断が起こると低分子タイプUKになる。\*は酵素の活性中心を、またV/Vは糖鎖部位を示す。

スミノーゲンアクチベーターインヒビター (PAI 1-3) などの抑制因子によって制御される。<sup>(5)</sup> したがって、全身性に血液線溶亢進が起こる場合、血管破綻があり、止血による凝固塊ができていてる局所では線溶活性がさらに強く起こっていると考えると差し支えないと思われる。このようにプラスミンが形成される一方、いずれかの時点でnegative feed back がかかりプラスミン生成が抑制されなければならない。その機序の一つとして、凝固系の活性化によって形成されたトロンビンがプラスミンや血漿カリクレインの切断する場所と異なったアミノ酸残基が1個となりの一本鎖u-PAのアルギニン残基 (Arg<sup>156</sup>-Phe<sup>157</sup>の間) 部位を切断し、不活性のu-PAにしてしまう機構も考えられている。<sup>(19)</sup>

### ＜血管（壁）との関係＞

この凝固系と連動して活性化される線溶系と、もう一つ、生理的に重要なものとしては種々の血管運動の変化によって動員される線溶活性化がある。古くから、種々の血管作動薬を投与すると全身の線溶亢進が見られること、また駆血帯で腕を縛るとその末梢の静脈血中の線溶が亢進してくることが知られていたが、そうした事実を実験的に証明したのが北口らの一連の報告である。<sup>(20,21)</sup> 即ち、イヌの後肢を人工灌流液で灌流し、動脈側から種々の血管作動薬を投与すると、静脈側にプラスミノーゲンアクチベーター活性が出現する (但し、その反応は一過性で時間は短い)。侵襲、特に種々の精神的ストレスや恐怖にさらされると線溶活性の亢進が起こるという古くから知られた事実は、このアドレナリンなどの作用によるものと推測される。

## ＜飲酒の疫学＞

飲酒と血小板の凝集の関係を調べた報告は多いが、線溶系との関係についての報告は非常に少ない。

1960年Fearnleyらはビールを14人の成人男女に飲ませ、その血液の whole blood clot lysis time (WBCLT) が延長することから線溶抑制能があるとした。その後、1975年von Kaullaらは<sup>(23)</sup> in vitroであるが、ウイスキーを使って添加した場合ヒト血漿に対する線溶亢進効果があるという全く矛盾する成績を報告している。その他、疫学的にMarmotらの多くの統計で、有名なU字型死亡曲線（つまり彼は1600人の人を対象に適量の酒（34g／1日以下）を飲む者が飲まない者より心臓血管系による死亡率の低いこと（約1／2）、それは虚血性の心筋梗塞だけでなく癌、その他を含めた死亡率でも同様であるとするもの）を報告している。同じような成績は我が国の男性医師の19年間の追跡調査でも、急性心筋梗塞と全虚血性心疾患の死亡リスクは時々飲酒する者で有意に低く、1日2合未満の飲酒では有意ではないが低く、また1日2合以上の飲酒でも急性心筋梗塞の死亡リスクが低いとするものである。その他、実験的にも動物にアルコールを投与した後、一定の障害を与えた場合その生存率が低くなること、また脳組織を実験的に傷害した後アルコールを投与した動物では対照に比較して脳内出血がより広範囲に起こっていたという線溶亢進を間接的にうかがわせるような報告はあったが、直接飲酒と線溶酵素の関係を説明した報告はこれまでなかった。

## ＜飲酒及びアルコール投与実験＞

そこで我々はin vivo実験をゆっくり腰を落ち着けて検討することにした。即ち、1983年から約10ケ年に143名の成人男女（主に宮崎医大学生）に5種類の酒を飲ませ、その効果を調べてみた。今回そのヒトでの実験、並びに独国Klocking教授らとの共同で行った各種酒に含まれる微量成分のブタ耳(血管)を用いた灌流実験の成績を紹介する。

### 1) 方法

ヒトへの投与実験ではEt-OHとして30-60ml相当を各々約10分間で飲ませてみた。測定したのは経時的に採血して得たユーグロブリンを使ってeuglobulin lysis time(ELT)を、また直接血漿が持つpyro-Glu-Gly-Arg-pNAアミド分解活性、PAI-1活性、fibrin / fibrinogen degradation products (FDP) 量、そして血液凝固—線溶系全体を全血を用いた thromboelastography (TEG) のパター

ンから解析してみた。また、我々がこれまでに経口UK療法の実験過程で開発した特殊なアフィニティ担体である[N $\alpha$ -( $\epsilon$ -aminocaproyl)-DL-homo arginine hexylester]-Sephacrose<sup>(28)</sup>を用い、各投与群の血漿から分離した酵素の線溶活性を標準フィブリン平板法で調べてみた。さらには、UK IgG-Sephacroseカラムを用いたUK抗原のアフィニティクロマトグラフィー、免疫拡散法、NPGBによる active titration Graneli-Piperno法によるZymography<sup>(29)</sup>なども行ってみた。一方、灌流実験（図3）はKlockingらの方法に従い、屠殺後5時間以内のブタ耳にタイロッド溶液をペリスタポンプを用い、30分間灌流した後に各種試料を加え、生じるt-PA活性をプラスミノゲン及びH-D-Val-Leu-Lys-pNAを基質に用いて測定した。ストレス性潰瘍発生実験は、Shayの方法に順じて幽門結紮を行ったラットを21℃の湯槽内へ7時間入れて行い、その潰瘍発生の抑制率を胃内にできた線状痕（mm）で測定した。

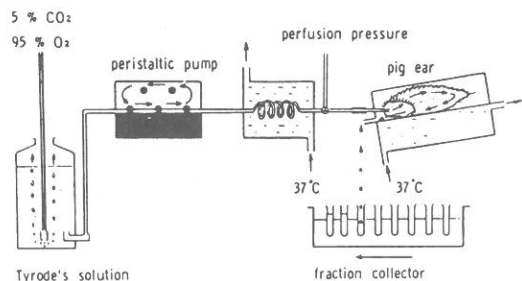


図3 ブタ耳の灌流  
温度37℃、Tyrode液（pH 7.4）の流速0.75ml/分で操作した。

### 2) 成績

飲酒後、経時的に得た血漿そのまま調べた凝固—線溶系の活性はTEGパターン、pyro-Glu-Gly-Arg-pNA分解活性あるいはFDP量などでみ限り、大きな変化ではなかった。しかし、血漿のユーグロブリン分画（表I a）、あるいは線溶酵素を[N $\alpha$ -( $\epsilon$ -aminocaproyl)-DL-homoarginine hexylester]-Sephacroseによるアフィニティクロマトグラフィーで分離して測定したところ（表I b）、その活性はいずれの飲酒群でもコントロール群に比べて約2倍という、生理的にはかなりの運動時に匹敵する高い線溶亢進が確認された（表I）。さらに得られた飲酒群の酵素分画中には抗UK IgG immunoabsorbentカラムに吸着され溶出できるUK様酵素が確認された。また、同酵素のプラスミノゲン活性化能を調べたところ対照群に比べて、測り方

によつては約100倍も高い活性が確認された（表Ⅱ）。図4は、飲酒後血液中に生じた線溶酵素をZymographyを用いて検討した結果であるが、分子量は約3万、5万及び10万の3種であることがわかった。なお、NPGB titrationの結果は8% activeと活性型のUKに比べて低く、またその活性は部分的ではあったがプラスミン処理によって賦活化された。

各種アルコール及び酒の揮発性画分のブタ耳血管への灌流実験（50-100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ）の結果を表Ⅲに示すが、いずれも対照群に比べ37-82%（ $p < 0.01$ ）という有意なプラスミノーゲンアクチベーター（t-PA）活性の亢進を示した。同様の血中の線溶亢進はラットへの経口投与でも認められた。灌流実験で最も活性の強かった焼酎蒸留画分をラット（ウイスター系雄、6匹）に1週間にわたり強制投与（約100mg/日）した場合のラット血中線溶因子の変化を調べたところ、PAI（投与前 $11.4 \pm 2.6 \text{ AU}/\text{ml}$ ）に対して投与後 $13.8 \pm 4.1 \text{ AU}/\text{ml}$ ）に比べて、特にt-PA活性の増加（投与前 $13.4 \pm 2.2 \text{ IU}/\text{ml}$ ）に対して投与後 $19.6 \pm 3.7 \text{ IU}/\text{ml}$ ）が確認された。

各種酒類に含まれる生理活性物質の性質の検討として、動物の潰瘍発生への影響実験も行った。いわゆる“Shayのストレス性潰瘍”には人間のDICに近い局所での凝固亢進とそれに引き続く二次線溶がその発生機序として重要とされるからである。その実験結果を表Ⅳに示すが、アルコール量には関係なく、日本酒、ワイン、ラム酒に投与後、弱いながら潰瘍抑制効果が確認された。

表Ⅰ 飲酒の血液線溶系の活性化効果  
a. フィブリン（血栓）溶解能

飲 酒	例 数	ユーグロブリン 溶解時間（分）
1. 酒を一滴も飲まなかった（対照）	41	375 $\pm$ 55
2. 焼酎（乙種）をコップ1杯	24	240 $\pm$ 28 $p < 0.05$
3. 日本酒を一合	5	260 $\pm$ 66
4. ワインをグラス1杯	7	341 $\pm$ 57
5. ビールを大瓶1本	5	336 $\pm$ 70
6. ウイスキーを小グラス1杯	8（サントリー） 8（ニッカ）	397 $\pm$ 38 234 $\pm$ 20

各グループの年齢は20-37才、10分間で飲み、1時間後の血漿ユーグロブリン画分を用いてELT測定。（なお、ELTは数値が小さいほど線溶亢進を示す。）

b. プラスミノーゲンアクチベーター活性

飲 酒	例 数	pyro-Glu-Gly-Arg-pNA水解活性(nmol pNA/dl血漿)
1. 酒を飲まなかったグループ(対照)	113	478
2. 焼酎（乙種）を飲んだグループ	62	1,160
3. 日本酒を飲んだグループ	37	855
4. ワインを飲んだグループ	37	801
5. ビールを飲んだグループ	41	712
6. ウイスキー飲んだグループ	18	510

各グループの年齢は20-48才、一人当たりEt-OHとして30-60mlの酒量を10分間で飲み、1時間後に得られた血漿酵素画分の持つアミド分解（UK）活性を測定。

表Ⅱ 飲酒後の血中線溶酵素活性

	アミド分解 活性 <sup>1)</sup> (IU/dl血漿)	フィブリン 分解活性 <sup>2)</sup> (IU/dl血漿)	Glu-プラスミ ノーゲン活性 化活性 <sup>3)</sup> (IU/ dl血漿)
対 照	75.1	40.0	0.3
焼酎群	209.8	131.5	37.6

飲酒1時間目の血漿よりアフィニティクロマトグラフィーおよびImmunoabsorbentカラムを用いて得られた線溶酵素画分の活性を測定。1) pyro-Glu-Gly-Arg-pNA (S-2444；UK基質) 分解活性。2) 標準フィブリン平板法の溶解面積をUK活性に換算。3) 天然型プラスミノーゲンを基質としたプラスミンへの活性化能をUK活性に換算（IU：国際単位）。

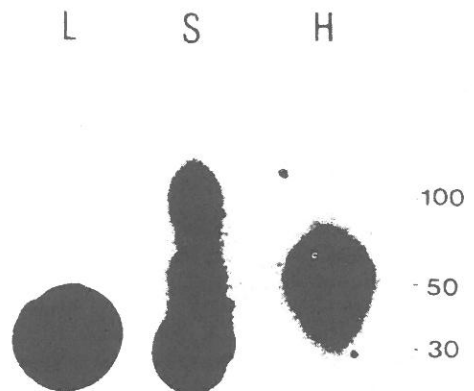


図4 飲酒後の血漿酵素のZymography  
SはUK様酵素、LおよびHは各々低分子タイプUK及び高分子タイプUKの泳動位置、また右の数値は分子量（ $\times 1,000$ ）を示す。

表Ⅲ 各種アルコール及び酒精成分のブタ血管灌流によるプラスミノゲンアクチベーター放出

灌流液	濃度	例数	PA 放出量	p値
対照	— mol/l	6	11± 6	
エタノール	0.01	5	16± 9	
	0.05	5	36± 8	<0.001
	0.1	5	31±10	<0.01
n-プロパノール	0.05	5	54± 7	<0.001
	0.1	5	33±10	<0.01
n-ブタノール	0.1	6	42± 8	<0.001
焼酎 蒸留物	50 µg/ml	6	58± 9	<0.001
	100	6	82±13	<0.001
酒 蒸留物	50	5	37± 8	<0.01
	100	5	41±10	<0.01

PA (プラスミノゲンアクチベーター) はGlu-プラスミノゲンを含むフィブリン平板の溶解面積をUK活性 (IU) に換算。

表Ⅳ 各種酒類のストレス性潰瘍発生に及ぼす影響

種類	投与量 (ml/kg)	例数	潰瘍発生 (mm)	抑制率
対照	—	8	22.8±2.7	—
ビール	5	8	25.0±2.2	-9.6
ワイン	5	8	22.3±2.3	2.2
日本酒	5	8	19.9±1.5	12.7
ウイスキー (サントリー)	5	8	23.9±3.1	-4.8
ラム酒	5	8	22.3±2.5	2.2

潰瘍はストレスにより生じた線状痕の長さ(mm)より算出。

#### ＜まとめと考察＞

従来よりある種の酒、あるいは酒成分の線溶系に及ぼす影響については報告がまちまちであり、我々の今回の飲酒実験でも血漿の段階では明確な影響は確認できなかった。しかし、血液より特殊なアフィニティクロマトグラ

フィーを用いて分離しえた線溶酵素の活性はいずれの酒群でも明らかに増えており、しかもそれがUKと同じ抗原性の非活性型分子を含むものであることを明らかにした。

これらの成績は従来の血管の灌流、駆血<sup>(16,17)</sup>あるいは最近のヒト血管内皮細胞の培養組織による実験成績<sup>(32)</sup>などとも考え合わせて、飲酒にはこれまで知られている血小板への影響ばかりではなく、恐らく血管内皮とか肝細胞からと思われるUK様プラスミノゲンアクチベーターの放出を伴う線溶亢進効果のあることを強く示唆しているようにと思われる。特にその放出される線溶因子が今回実験で示したようにplasminで活性化されるproタイプ、つまり俗にいう“SCUPA”だとすると、それが現在第二世代の血栓溶解剤として開発されている物質だけに、適量の飲酒による血栓予防効果が理論的に説明できる訳である。

今回の飲酒実験で、酒の種類で効果にある程度の差がみられたこと、また、血管灌流実験でEt-OH以上にブタノール、プロパノール、あるいは焼酎の不揮発成分が強い線溶能を示したこと、さらには動物の潰瘍実験でも酒の種類によって効果の違いが出たことなどは、酒中のEt-OH以外に共存する微量成分の関与が否定できないことを示す。ウイスキーには最近我々によってin vivo及びin vitro実験で線溶抑制に働く成分も確認されている<sup>(33)</sup>。今後こうした微量の発酵生産物の本体についてさらに詳しく検討したいと思っている。

#### ＜謝辞＞

本研究の一部は日本アルコール医学会総会 (富山) 及び国際血栓止血学会 (San Diego, 1990) で発表した。また、本研究は文部省科学研究費 (試験研究B)、日本農芸化学会研究奨励及び飯島記念食品科学振興財団の研究助成金をもとに行われたことを付記しておく。

#### ＜文献＞

- Sumi, H. and Robbins K.C. : A functionally active heavy chain derived from human high molecular weight urokinase. J. Biol. Chem. 258 : 8014-8019, 1979
- Sumi, H. and Robbins K.C. : The preparation and characterization of a functionally-active heavy chain prepared from high molecular weight urinary urokinase. Progress in Fibrinolysis V.p.36-37, Churchill Livingstone, London, 1981
- Sumi, H., Toki, Sasaki, K. and Mihara, H. : Comparative properties of single and double polypeptide chains of high molecular weight urokinase. Progress in Fibrinolysis VI. p.165-167, Churchill Livingstone, London, 1983
- 須見洋行 : ウロキナーゼ。続生化学実験講座 (日本生化学会編) 8 血液, p.610-617, 1987
- 須見洋行 : 血栓の最先端研究動向と抗血栓薬開発へのアプローチ。p.13-37, ソフト技研新技術情報センター, 東京, 1989
- Sumi, H., Toki, N., Sasaki, K. and Robbins K.C. : Oral administration of urokinase. Thrombos. Res. 20:711-714, 1980
- Robbins K.C., Sumi, H., Sasaki, K. and Toki, N. : The transport of high molecular weight urokinase across the intestinal tract of dogs and human subjects. 2nd. Int. Symposium on Urokinase. Geneva, Switzerland (Abstract p.12) 1981 (Urokinase : Basic & Clinical Aspects, Academic Press London, p.63-73, 1982)

8. 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
9. Sasaki, K., Moriyama, S., Sumi, H., Toki, N. and Robbins K. C. : Intestinal transport of human<sup>125</sup>I-high molecular weight urokinase in a dog model with a saphenous vein thrombus. *Progress in Fibrinolysis VI*, Churchill Livingstone, London, p.245-248, 1983
10. Sumi, H., Seiki, M., Morimoto, N., Tsushima, H., Maruyama, M. and Mihara, H. : Plasma fibrinolysis after intraduodenal administration of urokinase in rats. *Enzyme* 33 : 121-127, 1985
11. Sasaki, K., Moriyama, S., Tanaka, Y., Sumi, H., Toki, N. and Robbins K.C. : Transport of <sup>125</sup>I-high molecular weight urokinase across the intestinal tract in a dog model with stimulation of synthesis and/or release of plasminogen activators. *Blood* 66 : 69-75, 1985
12. 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.* 75 : 1212-1220, 1985
13. Sumi, H., Hamada, H., Tsushima, H., Mihara, H. and Muraki, H. : A novel fibrinolytic enzyme (Nattokinase) in the vegetable cheese Natto, a typical and popular soybean food of the Japanese diet. *Experientia* 43 : 1110-1111, 1987
14. Sumi, H., Hamada, H., Mihara, H., Nakanishi, K. and Hiratani, H. : Fibrinolytic effect of the Japanese traditional food "Natto" (Nattokinase). *Thrombosis & Haemostasis* 62 : 549, 1989
15. Sumi, H., Hamada, H., Nakajima, N. and Hiratani, H. : Enhancement of the fibrinolytic activity in plasma by oral administration of nattokinase. *Acta Haematol.* 84 : 139-143, 1990
16. Nilsson, I.M., Pandorf, M., Robertson, B. : Properties of fibrinolytic activators appearing after venous atasis and intravenous injection of nicotinic acid. *Coagulation* 3 : 13-21, 1986
17. Hedner, U. and Nilsson, I.M. : Activators of fibrinolysis in the vessel wall — Methods for their measurement and release capacity — Topics in Hematology : 406-409, Excerpta Medica ; Amsterdam, 1977
18. Miles L.A., Rothschild, Z. and Grifftin J.H. : Dextran sulfate-dependent fibrinolytic activity in whole human plasma. *Progress in Fibrinolysis V* : 58-61, 1983
19. Ichinose, A., Fujikawa, K. and Suyama, T. : The activation of pro-urokinase by plasma kallikrein and its inactivation by thrombin. *J. Biol. Chem.* 261 : 3486-3489, 1986
20. Kitaguchi, H., Hijikata, A. and Hirata, M. : Effect of thrombin on plasminogen activator release from isolated perfused dog leg. *Thromb. Res.* 16 : 407-420, 1979
21. Hijikata, A., Hirata, M. and Kitaguchi, H. : Effect of protease on plasminogen activator release from isolated perfused dog leg. *Thromb. Res.* 20 : 521-531, 1980
22. Fearnley, G.R., Ferguson, J., Chakrabarti, R. and Vincent, C.T. : Effect of beer on blood fibrinolytic activity. *Lancet* i : 184-186, 1960
23. von Kaulla K.N. : In-vitro dissolution of human clots by whysky. *Lancet* ii : 917, 1975
24. Marmot, M.G. : Alcohol and coronary heart disease. *Int. J. Epidemiol.* 13 : 160-167, 1984
25. Kono, S. : Alcohol and mortality : A cohort study of male Japanese physicians. *Int. J. Epidemiol.* 15 : 527-532, 1986
26. 須見洋行：血栓溶解酵素ナットウキナーゼの性質とその経口線溶療法への応用（機能性食品素材・食品由来の生物活性物質等における研究と開発）工業技術会，東京，p.88～96，1986
27. Sumi, H., Kawada, K. and Nakajima, N. : Effect of various polyamino acids and D- and L-amino acids on the blood fibrinolytic system. *Comp. Biochem. Physiol.* 102B : 159-162, 1992
28. Sumi, H., Sasaki, K. and Muramatsu, M. : A simple and rapid purification method of urokinase using a [N $\alpha$ -( $\epsilon$ -aminocaproyl)-DL-homoarginine hexylester]-Sepharose column. *Acta Haem. Jpn.* 41 : 766-770, 1978
29. Chase, J. Jr. and Shaw, E. : Comparison of the esterase activities of trypsin, plasmin and thrombin on guanidino-benzoate esters. Titration of the enzymes, *Biochemistry* 8 : 2212-2224, 1969
30. Klöcking H.-P., Release of plasminogen activator by acetylcholine from the isolated perfused pig ear. *Thromb. Res.* 16 : 261-264, 1979
31. Klöcking H.-P. : Influence of natural humic acids and synthetic phenolic polymers on fibrinolysis. *Proceedings of the International Symposium on Humic Substances in the Aquatic and Terrestrial Environment*, Linköping, Sweden, August 21-23, 1989
32. Laug, W.E. : Ethyl alcohol enhances plasminogen activator secretion by endothelial cells. *J. Am. Med. Assoc.* 250 : 772-776, 1983
33. 須見洋行：酒類に含まれる血中線溶亢進および抑制に働く生理活性物質。第26回日本アルコール医学会総会，東京，1991

平成4年2月10日 受付

平成4年3月23日 受理