

血栓症の成因に關与する血液凝固及び 抗凝血薬 (Warfarin) の影響に關する 実験的研究

昭和39年8月27日 受付

信州大学医学部小田内科学教室

(指導: 松岡松三教授・小田正幸教授)

高 見 沢 冽

Experimental Studies on the Pathogenesis of Thrombosis with Special Reference to Blood Coagulation and the Effects of Anticoagulant Therapy

Kiyoshi Takamizawa

Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,
Shinshu University

(Director: Prof. Matsuzo Matsuoka, Prof. Masayuki Oda)

I 緒 言

一世紀以上前 Rudolf Virchow が体内における血栓形成に關与する主な因子として、1) 血管壁の障害、2) 血流の障害、3) 血液の凝固性の変化について示唆して以来、多くの病理学者、研究者、臨床医が多方面よりこの問題に關する研究を行なつてきている。

臨床面でも外科手術後の血栓塞栓症の危険、大量輸血、妊娠、分娩後、心不全によるうづ血の為の凝固能亢進状態、血管炎、動脈硬化症による血管壁の障害等血栓準備状態は、その予防及び治療問題を含めこの方面の研究は決してないがしろには出来ない。

血栓形成に關する研究は主として動物実験に頼らねばならないが、1888年すでに Eberth, Schimmelbusch は動物実験を試み、うづ血により血栓を形成する方法を得ているが、当時は血液凝固に關する研究はまつたくなされていなかった。1902年 Flexner^① が家兎に異種血清を注射し血栓を生じたことを報告しているが、系統的に血流を障害し、血清を注入し、凝固能を亢進させると血管内に血栓が生ずることを証明したのは Wessler^②である。彼は血清中の血栓形成能を最初第Ⅶ因子複合体^③とした。しかし Ratnoff^④, Rapaport^⑤は異物表面に接触後活性化される物質も關与すると報告したが、その後の Wessler^⑥の研究で第Ⅸ因子との関連が重視されて来た。近年 Henderson^⑦により血液中の接触因子の血栓形成能が発表されてより、最近の凝血学の興味はこの点にしばらくして来た感がある。

血栓塞栓症の形成及びその実験的研究の發展に伴い、閉塞凝塊の融解や再流通また凝固能を低下させる予防及び治療の研究が行われて来たのも当然である。1916年, Mclean^⑧, Howell により Heparin が発見され、Shionoya^⑨によりその血栓形成能の低下が報告されている。一方クローバ中より発見された Dicumarol^⑩の抗凝血薬としての作用を Dale と Jaques^⑪は実験的に、Bingham^⑫は臨床面に応用して以来、抗凝血薬治療に対するその効果が広く認められるようになって来た。我が国に於ても、松岡^⑬の報告があるが、コントロールの煩雑さ、出血の危険性もあつて今迄臨床面での応用はごく一部に限られていたが、血栓塞栓症の増加に伴い、又 Thrombotest という簡便なコントロールの方法が紹介されて以来、抗凝血薬が広く利用され始めたのはごく最近であるが、未解決の問題も多くまた使用に対する批判もある。

著者は家兎を用い、血流緩徐、血液凝固能亢進状態が血栓の形成にどのように關与するか、また経口抗凝血薬、Warfarin が血栓にどのような効果を及ぼすかを実験的に研究したのでその成績を報告する。

II 血栓形成に關与する血液凝固の研究

1. 実験材料

同種家兎の頸動脈より採取した血液に種々操作を施した。

(1) 血 清

i) 正常血清

血液を 37°C 4 時間恒温槽中に静置後, 3,000r.p.m 10分遠沈後血清を分離。

ii) 硫酸バリウム吸着血清

血清 1cc につき硫酸バリウム 100mg を加え, 室温で 10分間攪拌後, 3,000r.p.m 20分遠沈, 上澄を注意深く分離する。

iii) 吸着硫酸バリウム溶離液

吸着された硫酸バリウムを蒸留水で 2 回, 0.85% 生理的食塩水で 2 回洗滌後, 元の血清の $\frac{1}{10}$ 容の 0.2 Mol クエン酸ソーダを加え, eluate し, Visking-tube を使用して 24 時間生理的食塩水で透析する。

iv) セライト 15mg/cc 吸着血清

血清 1cc につきセライト (Filter-cel. 米国 Johns-Manville 社製) 15mg を加え, 室温で約 10 分間攪拌, 3,000r.p.m 10分遠沈後上澄を注意深く分離する。

v) 吸着セライト 15mg/cc 溶離液

吸着されたセライトを蒸留水で 1 回洗滌後 7% 食塩水で eluate し, Visking-tube を使用生食水中で 24 時間透析する。

vi) セライト 30mg/cc 吸着血清

セライトを血清 1cc につき 30mg 加え, 10 分間室温で攪拌, 3,000r.p.m 10分遠沈後上澄を注意深く分離する。

vii) セライト 30mg/cc 浮遊液

吸着セライトに生理的食塩水を加え, 元の血清の量の 30 倍に稀釈する。

(2) 血 漿

i) 正常血漿

$\frac{1}{10}$ M 酢酸ソーダ 1: 全血 9 の割で家兎頸動脈より採血, 3,000r.p.m 10分遠沈したものを用いる。

ii) 硫酸バリウム吸着血漿

血漿 1cc につき硫酸バリウム 100mg を加え, 室温で 10分攪拌, 3,000r.p.m 20分遠沈, 上澄を分離する。

iii) 吸着硫酸バリウム溶離液

吸着された硫酸バリウムを 1 回蒸留水で洗滌後, 0.2M クエン酸ソーダを元の血漿の $\frac{1}{8}$ 量加え, eluate 後 Visking-tube を使用, 生理的食塩水中で 24 時間透析する。

iv) セライト 15mg/cc 吸着血漿

血漿 1cc につきセライト 15mg を加え, 血清の場合と同様にして準備する。

v) 吸着セライト 15mg/cc 溶離液

吸着されたセライトを血清の場合と同様にして準備する。

vi) セライト 30mg/cc 吸着血漿

血漿 1cc につきセライト 30mg/cc を加え, 血清の場合と同様にして準備する。

合と同様にして準備する。

vii) 吸着セライト 30mg/cc 溶離液

吸着されたセライトを (1) の v) の方法にしたがい準備する。

2. 実験方法

いずれも体重 2~3 kg の正常雄家兎を使用した。

(1) 辺縁耳静脈より上記の各実験材料を 2cc/kg 1 回注射し, 注射後 5 分, 15 分, 30 分, 60 分及び 120 分に反対側の耳静脈より採血し, 各凝血因子の変動を経時的に測定した。

(2) 血流を緩徐にする目的で wessler の方法を改良した Marin, Stefanini¹⁶⁾の実験方法に準じて血管狭窄部を作製した。つまり家兎の頸部を正中線で皮膚切開し, 頸動脈又は頸静脈を露出する。分枝を結紮後, 血管の直径の約 $\frac{1}{3}$ ~ $\frac{1}{2}$ の太さのガラス棒を血管に沿って当てその上から約 1cm の間隔で 3 号の網糸で 2ヶ所を結紮し, 可及的早くガラス棒を抜き取ると, 狭窄部は血流が緩徐になるため膨隆する。このような処置後, 辺縁耳静脈より上記の各実験材料を 2cc/kg 毎日注射し 24 時間後から血管狭窄部を切除採取し, 固定染色後血栓形成を組織学的に検索した。対照群としては部分的狭窄の処置のみをしたもの, 狭窄処置後生理的食塩水を 2cc/kg 毎日連続注射した家兎を使用した。

(3) 凝血因子の測定は次の各方法で行なつた。

i) プロトロンビン値: Quick¹⁶⁾の変法による松岡一段法¹⁷⁾によつた。

ii) 第 V 因子: Wolf¹⁸⁾の法を教室の荻原が改良した法¹⁹⁾にしたがつた。

iii) 第 VII 因子: Koller 法²⁰⁾に菊地らが改良を加えた方法²¹⁾, 又は Bentonite による新測定法²²⁾によつた。すなわち正常酢酸血漿 1cc につき, Bentonite 50 mg を加え室温で 10 分間攪拌後, 3,000r.p.m 10 分遠沈しその上澄を分離, これに硫酸バリウム吸着正常血漿を等量加え混和する。これを Substrate plasma とし, この 0.1cc を被検血清又は血漿 (10 倍稀釈) 0.1 cc に加え, 組織トロンボプラスチン液 0.1cc, M/40 CaCl₂ 0.1cc を加えて凝固時間を測定する。同様の方法で正常者の血清又は血漿を階段稀釈したそれぞれについて測つた値を両対数グラフ上に Plott した標準検量線にあてはめ, 活性値を正常と比較し % で表現する。

iv) Fibrinogen: Tyrosine 法²³⁾

v) 第 X 因子: Bachman, Koller²⁴⁾の法に準拠した教室の方法²⁵⁾によつた。

vi) 血液トロンボプラスチン形成試験: Biggs-

Macfarlane 法²⁸⁾に準拠した教室の変法²⁹⁾を用いた。

3. 実験成績

(1) 血清及び血漿注射による凝固因子の変動

家兎血清及び血漿を 2cc/kg 注射した際の各凝固因子の変動を図 1, 2, 3, 4 及び表 1 に示した。

i) プロトロンビン

プロトロンビンの変動は図 1 に見る如く、注射前値を 100% とすると血清注射により増加の傾向を示し、実線で示した平均値によると注射後 30 分で 154%, 120 分後でも 118% と高値を示した。これに反し血漿注射の場合は、時間の経過と共に減少の傾向を示し、平均値でみると注射後 15 分で 76%, 120 分後には注射前値にもどつた。

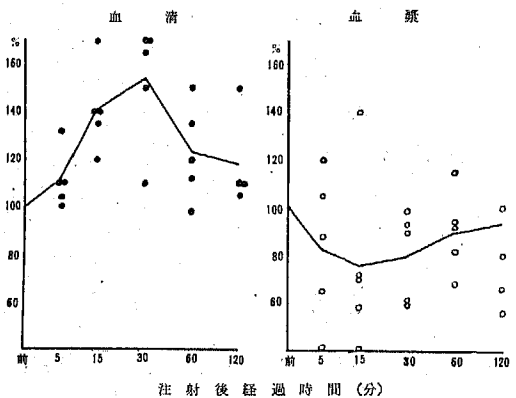


図 1 血清及び血漿注射によるプロトロンビンの変動

ii) 第 V 因子

第 V 因子の変動は図 2 に示した。血清注射により 15 分後最高 138% と増加したが 120 分後には注射前値に回復した。血漿注射では減少し、変動しながらも 60 分後で 68% と低値を示した。

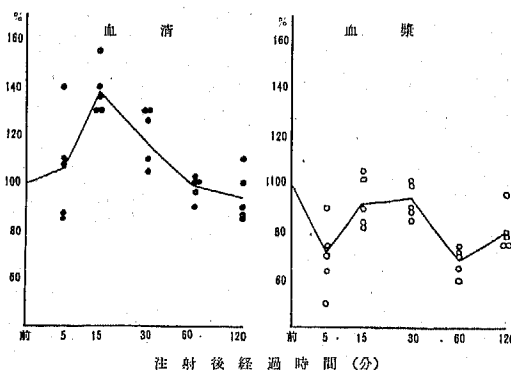


図 2 血清及び血漿注射による第 V 因子の変動

iii) 第 VII 因子, 第 X 因子

第 VII 因子及び第 X 因子の変動は図 3 に示した。血清注射による第 VII 因子の変動は各因子中最も増加の傾向が著しく、平均値では 15 分後で最高 190%, 120 分後でもなお 119% と高値を示した。血漿注射による第 VII 因子は平均値ではほとんど時間の経過による変動は見られなかった。第 X 因子は 3 例の平均値で示すと注射後 5 分で 74% と減少し 30 分で 112%, 60 分で 112% と増加したが一定の傾向は見られなかった。

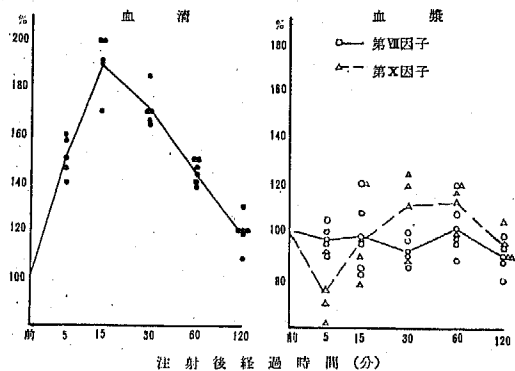


図 3 血清及び血漿注射による第 VII, 第 X 因子の変動

iv) 血清トロンボプラスチン活性度

(以下トプ活性と省略する)

血清トプの変動は図 4 に示した。血清注射で漸増傾向が見られた。すなわち注射後 15 分で 115%, 30 分で 121%, 120 分後には注射前値にもどつた。血漿注射では血清にくらべむしろ増加の傾向を示し、5 分後で 154%, 30 分で 130% と増加傾向が続いた。120 分後にも 149% と再び増加した。

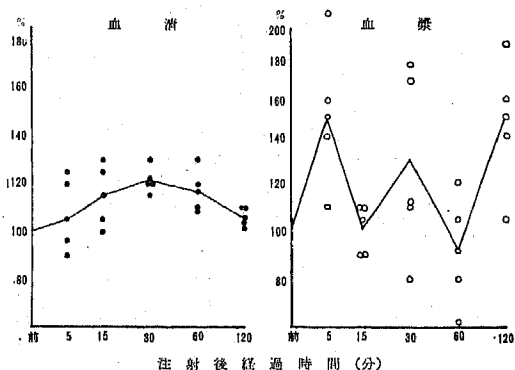


図 4 血清及び血漿注射による血清トロンボプラスチン活性の変動

v) フィブリノーゲン

フィブリノーゲンの変動は表1に示した如く、3例の平均値で見ると、血清注射群で、注射前値360mg/dl、注射後120分に269.6mg/dl、血漿注射群で注射前値300.6mg/dl、120分後に180.0mg/dlといずれも減少した。

vi) 血栓の組織学的検索

家兎頸静脈に部分的狭窄処置を行ない、2cc/kg宛毎日連続血清注射し、血栓の有無を組織学的に検索した成績を表2に示した。血栓の判定として管腔の半分以上を閉鎖するものを(+)、壁在性で管腔の一部に形成されている血栓を(±)、血栓が認められないものを(-)で分類した。血清注射処置後1日及び2日目の組織では3例中1例にしか血栓形成は認められなかった。しかしこれは部分的又は壁在血栓は形成されていたが、血栓が柔軟な為に組織採取の途中で流出してしまつたものと考えられる。処置3日目以後14日目迄のものは、血栓形成を認めほとんどの例で血管の内腔を閉塞していた。写真1は8日目の1例を示したものである。表3は頸動脈を部分的狭窄にした後血清

2cc/kgを1回だけ注射した群の成績であるが、処置後5日目迄の組織にはどの例にも血栓は認められなかった。処置後6日目では4例中1例に壁在性の血栓形成を認めた。7日目、8日目ではいずれも3例中2例に血栓の形成を認めたが9日目では3例中1例に血栓を認め10日目では3例中2例に血栓を認めた。頸動脈に部分的狭窄処置を行ない血清を毎日連続注射した群の成績は表4に見る如く処置後5日目で4例中2例に血栓の形成が認められ、6日目、7日目で3例中2例に、9日目で3例中1例に10日目で全3例に血栓形成を認めた。写真2は9日目の1例で血栓を認めたものである。次に血液の凝固能を亢進させることなく血管に狭窄部を作製し血流を緩徐にただけで血栓が形成され得るかどうかを検討した。頸静脈に部分的狭窄処置のみを行なつた成績を表5に示す。狭窄処置後3日目、5日目、7日目、8日目の組織には血栓が認められなかったが、4日目、6日目の各1例には部分的血栓が認められた。これらの例は狭窄処置後組織採取迄の間に他組織との癒着の為血流が停止し、血栓が形成され

表 1 家兎血清又は血漿注射後のフィブリノーゲンの変動 (mg/dl)

	血 清 注 射 群				血 漿 注 射 群				
	経 過 時 間				経 過 時 間				
	(分)				(分)				
	前	15	60	120	前	15	30	60	120
1	290.0	210.0	205.0	200.0	294.8	251.0	240.0	262.0	219.0
2	321.0	224.7	213.3	197.9	287.0	187.0	214.0	130.0	181.0
3	470.0	433.0	438.0	411.0	320.0	150.0	190.0	180.0	140.0
平均値	360.0	289.2	252.4	269.6	300.6	196.0	214.7	190.7	180.0

表 2 頸静脈の部分的狭窄処置後血清を注射した群の成績

被 検 家兎数	処 置 後 組 織 採取迄の日数	血 栓 判 定		
		+	±	-
3	1 日	0	1	2
3	2	0	1	2
3	3	3	0	0
3	4	3	0	0
3	5	3	0	0
3	6	3	0	0
3	7	3	0	0
2	8	2	0	0
2	9	2	0	0
2	14	2	0	0

表 3 頸動脈の部分的狭窄後血清 2cc/kg 1回注射した群の成績

被 検 家兎数	処 置 後 組 織 採取迄の日数	血 栓 判 定		
		+	±	-
3	3 日	0	0	3
4	4	0	0	4
3	5	0	0	3
4	6	0	1	3
3	7	0	2	1
3	8	2	1	0
3	9	1	2	0
3	10	2	1	0

たものと考えられる。頸動脈に部分的狭窄のみを行なった表6の成績では処置後4日目より8日目迄の各例で血栓として認められるものは1例もなかった。写真3は8日目の例を示したが、血栓は認められない。

表4 頸動脈の部分的狭窄後血清 2cc/kg 連続注射群の成績

被検家兎数	処置後組織採取迄の日数	血栓判定		
		+	±	-
4	3 日	0	0	4
4	4	0	0	4
4	5	2	1	1
3	6	2	1	0
3	7	2	1	0
3	8	0	3	0
3	9	1	2	0
3	10	3	0	0

表5 頸静脈に部分的狭窄処置のみを行なった群の成績

被検家兎数	処置後組織採取までの日数	血栓判定		
		+	±	-
2	3 日	0	0	2
3	4	0	1	2
2	5	0	0	2
3	6	0	1	2
2	7	0	0	2
2	8	0	0	2

表6 頸動脈に部分的狭窄処置のみを行なった群の成績

被検家兎数	処置後組織採取までの日数	血栓判定		
		+	±	-
2	4 日	0	0	2
3	5	0	0	3
3	6	0	0	3
3	7	0	0	3
3	8	0	0	3

(2) 硫酸バリウム吸着血清又は血漿注射による凝固因子の変動

血清及び血漿を硫酸バリウム100mg/ccで処置し、その上澄注射による各凝固因子の変動は図5, 6, 7, 8及び表7に示した。

i) プロトロンビン

プロトロンビンの変動は図5に見る如く、平均値で血清、血漿注射群共時間の経過と共に軽度の減少が見られたが血清の方が血漿にくらべやゝ減少の程度が著明であつた。

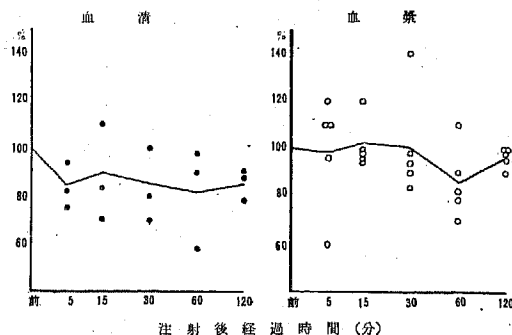


図5 BaSO₄ 吸着血清又は吸着血漿注射によるプロトロンビンの変動

ii) 第V因子

第V因子の変動は図6に示した。血清、血漿注射群とも注射後漸減の傾向が見られ、血清にくらべ血漿の方が5分後79%, 60分後73%と、その傾向はやゝ著しかった。

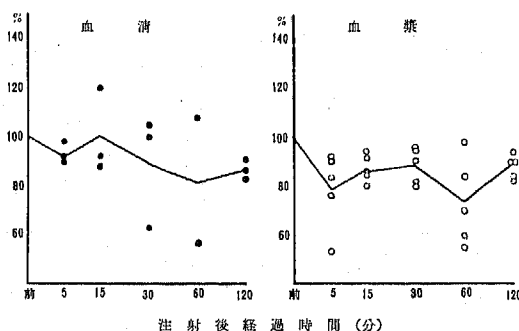


図6 BaSO₄ 吸着血清又は吸着血漿注射による第V因子の変動

iii) 第VII因子

図7に示したが血清注射群で増加の傾向が見られた。すなわち注射後5分で平均値125%, 30分で120%, 120分後には注射前値にもどつた。血漿注射群で15分後110%, 120分後に再び110%と軽度増加を示した。

iv) 血清トプ活性

血清トプ活性の変動は図8に示した。血清注射群では5分後150%と著しい増加を示したが以後漸減し、

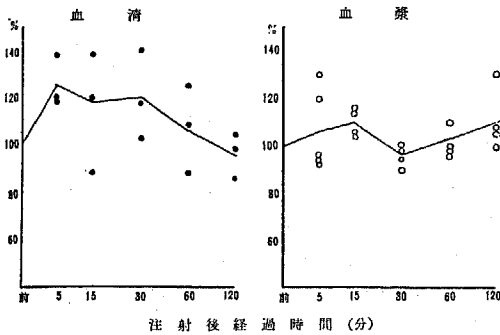


図7 BaSO₄ 吸着血清及び吸着血漿注射による第Ⅷ因子の変動

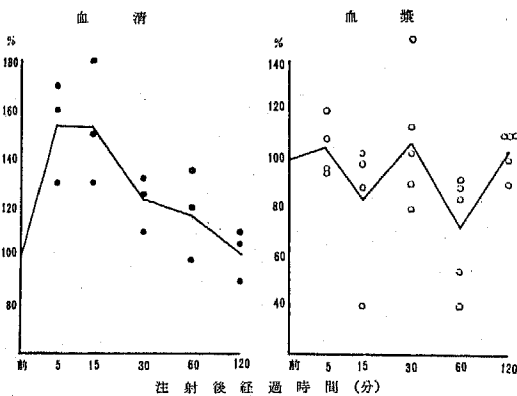


図8 BaSO₄ 吸着血清及び吸着血漿注射による血清トロンボプラスチン活性の変動

表7 BaSO₄ 吸着血清又は血漿注射によるフィブリノーゲンの変動 (mg/dl)

	吸着血清注射群				吸着血漿注射群				
	経過時間 (分)				経過時間 (分)				
	前	15	60	120	前	15	30	60	120
1	256.8	353.1		444.1	278.0	251.0	235.0	214.0	214.0
2	454.8	351.7		310.3	256.0	203.0	192.0	197.0	214.0
3	262.0	224.0		165.0	290.0	160.0	170.0	100.0	230.0
平均値	324.5	302.9		306.5	274.7	204.7	199.0	170.3	252.7

表8 BaSO₄ 吸着血清注射群の成績 (動脈)

被検家兎数	処置後組織採取までの日数	血栓判定		
		+	±	-
3	3 日	0	1	2
4	5	0	2	2
4	7	0	2	2
3	9	0	1	2

120 分後には注射前値にもどつた。血漿注射群では平均値でほとんど変化が見られなかった。

v) フィブリノーゲン

フィブリノーゲンの変動は表7に示した。血清、血漿注射群で各3例共注射前にくらべ、120分後にはいずれも減少した。

vi) 血栓の組織学的検索

頸動脈を狭窄にし硫酸バリウム吸着血清を注射し、血栓の有無を組織学的に検索した成績は表8に示した。処置後3日目と9日目の3例中1例に又処置後5日目と7日目の4例中2例にそれぞれ部分的血栓が認められた程度である。

(3) 吸着硫酸バリウム溶離液注射による

凝固因子の変動

血清及び血漿の吸着硫酸バリウム溶離液注射による各凝固因子の変動は図9, 10, 11, 12, 13及び表9に示した。

i) プロトロンビン

プロトロンビンの変動は図9に見る如く血清注射群で120分迄では漸減の傾向を示したが血漿注射群では時間の経過による差は著明ではなかつた。

ii) 第Ⅴ因子

図10に示した如く、血清、血漿注射群とも同様の傾向を示し、120分後ではそれぞれ79%, 80%と減少を示した。

iii) 第Ⅶ因子

第Ⅶ因子の変動は図11に見る如く平均値で血清、血漿注射群ともやはり軽度の減少傾向にあり、120分後にはほぼ80%の値を示した。

iv) 血清トプ活性

血清トプ活性の変動は図12に示した。血清注射群で15分後84%と減少したが120分後には106%とほぼ注射前値にもどつた。血漿注射群では5分後118%, 30

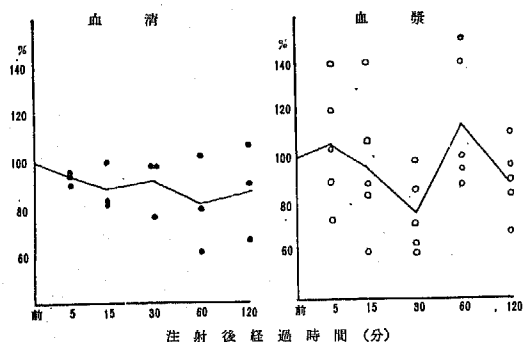


図9 吸着 BaSO_4 溶離液注射によるプロトロンビンの変動

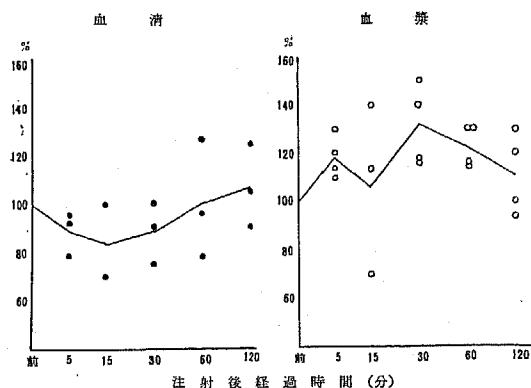


図12 吸着 BaSO_4 溶離液注射による血清トプ活性の変動

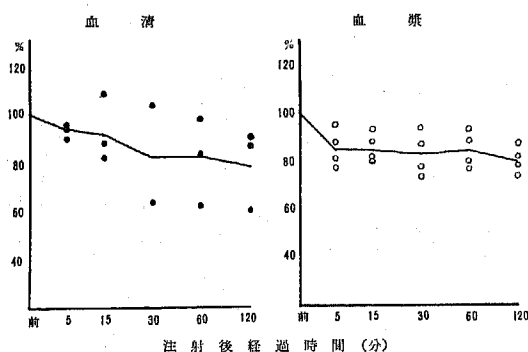


図10 吸着 BaSO_4 溶離液注射による第V因子の変動

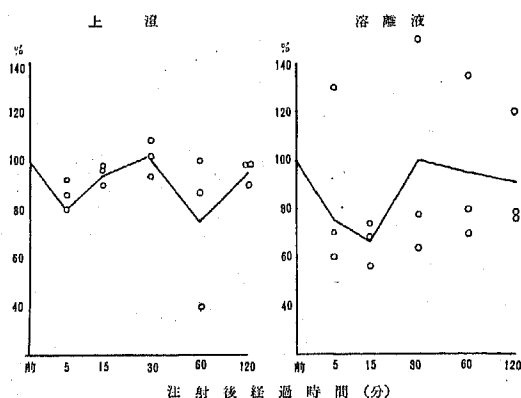


図13 BaSO_4 処置血漿注射による第X因子の変動

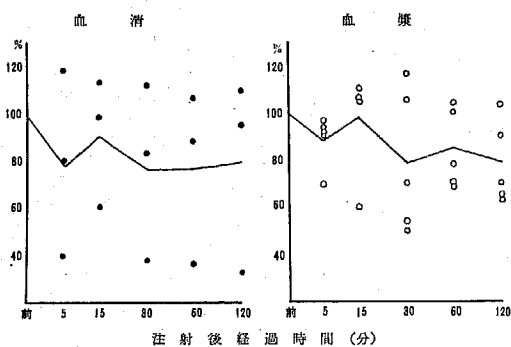


図11 吸着 BaSO_4 溶離液注射による第VII因子の変動

分後に最高 131% と増加し 120 分後に 110% となお高値を示した。

v) 第X因子

血漿を硫酸バリウムで処置し、その上澄及び溶離液を注射した際の第X因子の変動は図13に示した。上澄及び溶離液注射群とも著しい変動は示さなかつた。

vi) フィブリノーゲン

フィブリノーゲンの変動は表9に示す如くである

が、各例で個体差が大きい平均値では血清溶離液注射群では注射前 426.0mg/dl が120分後 350.4mg/dl 、血漿溶離液注射群で 181.5mg/dl が120分後 180.5mg/dl と減少した。

vii) 組織学的検索

動脈の狭窄処置後血清の硫酸バリウム溶離液注射による血栓形成の組織学的検索の成績は表10に示した。連続注射3日目では3例とも血栓形成は認められなかつたが5日目では4例中2例に、7日目でもやはり4例中2例に血栓の形成が認められたが9日目では2例とも血栓の形成は見られなかつた。

(4) セライト 15mg/cc 吸着血清及び血漿注射による凝血因子の変動

血清及び血漿にセライト 15mg/cc を加え吸着し、その上澄注射による各凝血因子の変動は図14, 15, 16, 17及び表11に示した。

i) プロトロンビン

図14に見る如く血清、血漿上澄注射群とも減少の傾

表 9 吸着 BaSO₄ 溶離液注射によるフィブリノーゲンの変動
(mg/dl)

	血清溶離液注射群				血漿溶離液注射群				
	注射後経過時間 (分)				注射後経過時間 (分)				
	前	15		120	前	15	30	60	120
1	599.2	551.1		497.6	216.0	139.0	144.0	130.0	174.0
2	422.7	337.1		326.4	144.0	230.0	139.0	139.0	187.0
3	256.0	243.0		227.3					
平均値	426.0	377.1		350.4	181.5	184.5	176.0	134.5	180.5

表10 BaSO₄ 吸着血清溶離液注射群の成績
(動 脈)

被 検 家兎数	処 置 後 組 織 採取までの日数	血 栓 判 定		
		+	±	-
3	3 日	0	0	3
3	5	0	2	2
4	7	0	2	2
2	9	0	0	2

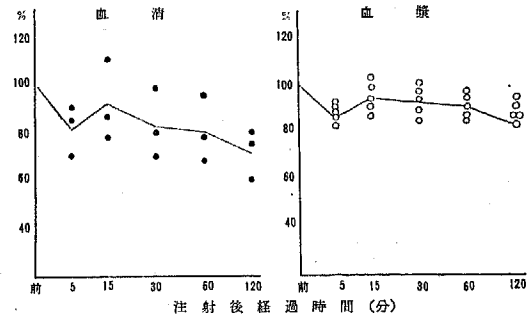


図15 Celite 15mg/cc 吸着血清及び吸着血漿注射による第Ⅴ因子の変動

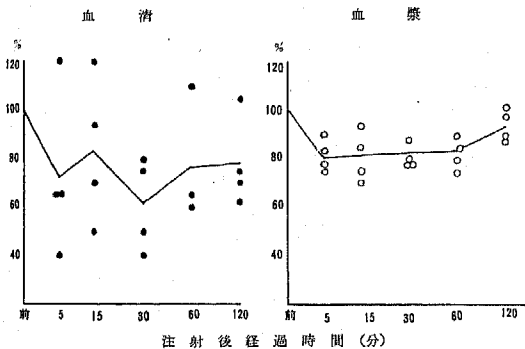


図14 Celite 15mg/cc 吸着血清及び血漿注射によるプロトロンビンの変動

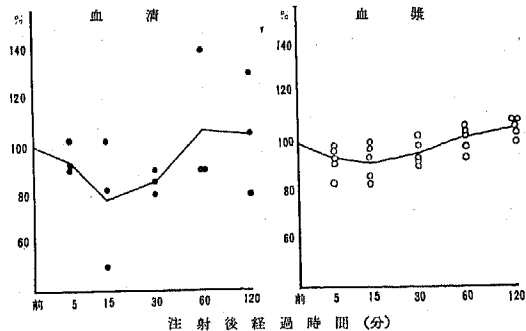


図16 Celite 15mg/cc 吸着血清及び血漿注射による第Ⅶ因子の変動

向を示し、とくに血清の上澄注射群では30分後に61%, 120分後でも78%と低値を示した。

ii) 第Ⅴ因子

第Ⅴ因子の変動は図15に示した。血清、血漿注射群とも時間の経過と共に減少したが血清の場合は5分後81%, 120分後71%と血漿にくらべ減少の程度は著明であった。

iii) 第Ⅶ因子

図16に見る如く血清注射群で15分後に78%と軽度に減少したが120分後には105%とほぼ注射前値にもどった。血漿注射群では時間の経過による変動はほとんど見られなかった。

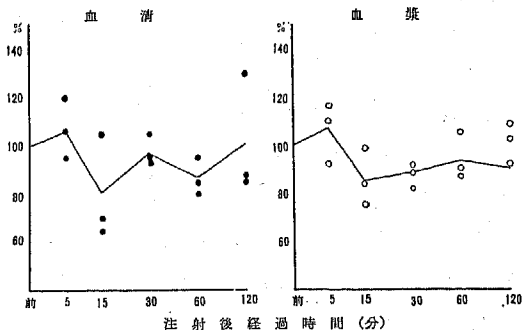


図17 Celite 15mg/cc 吸着血清及び吸着血漿注射による血清トプ活性の変動

iv) 血清トプ活性

血清トプ活性の変動は図17に示した。血清、血漿注射群とも注射後5分に106%と軽度の増加を示したが以後漸減した。

(5) 吸着セライト 15mg/cc 溶離液注射による凝血因子の変動

血清及び血漿の吸着セライト 15mg/cc 溶離液注射による各凝血因子の変動は図18, 19, 20, 21, 22及び表11に示した。

i) プロトロンビン

プロトロンビンの変動は図18に示した。血清、血漿注射群とも時間の経過と共に減少したが血清の場合5分後84%, 60分後74%, 120分後67%とかなり低値を示した。

ii) 第Ⅴ因子

第Ⅴ因子の変動は図19に示したが、血清、血漿注射群とも変動はほとんど見られなかった。

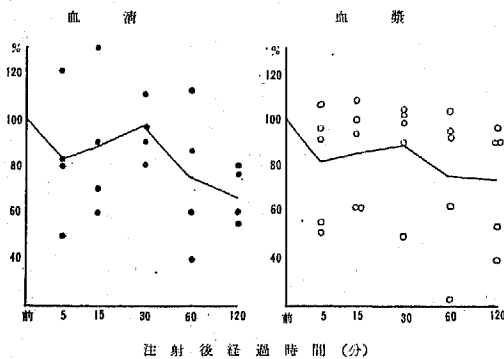


図18 吸着 Celite 15mg/cc 溶離液注射によるプロトロンビンの変動

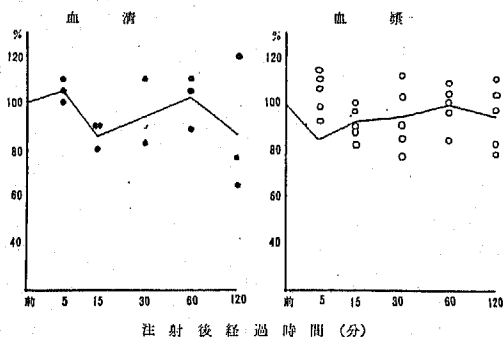


図19 吸着 Celite 15mg/cc 溶離液注射による第Ⅴ因子の変動

iii) 第Ⅶ因子

図20に示した如く血清注射群で5分後68%とかなり

減少し、以後15分で66%, 60分で73%, 120分で66%と低値を示した。血漿注射群でも15分後73%, 120分後でも82%と低下した。

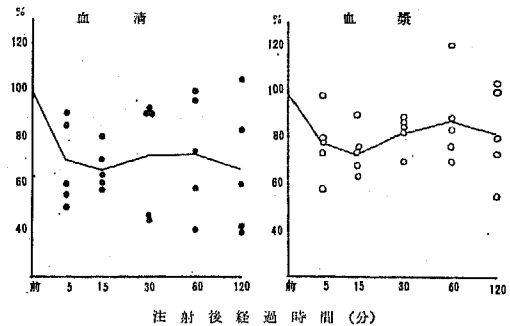


図20 吸着 Celite 15mg/cc 溶離液注射による第Ⅶ因子の変動

iv) 血清トプ活性

血清トプ活性の変動は図21に示したが血清注射群では5分後118%と増加したが以後減少し30分後111%, 120分後102%とは注射前値にもどった。血漿注射群では時間の経過による変動はごくわずかで、120分の経過中10%内外の変化しか見られなかった。

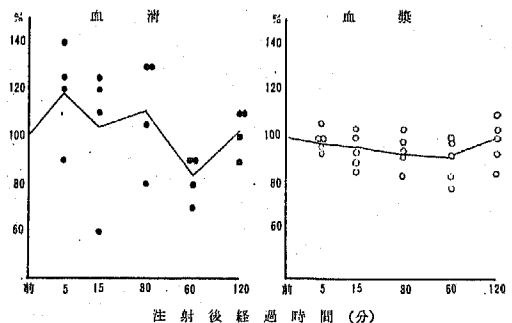


図21 吸着 Celite 15mg/cc 溶離液注射による血清トプ活性の変動

v) 第Ⅹ因子

血清及び血漿をセライト 15mg/cc で処置し、その上澄及び溶離液を注射した際の第Ⅹ因子の変動を図22に示した。吸着血清の上澄注射による変動の平均値を右図実線で示し、溶離液注射による平均値を右図点線で示した。いずれの場合も減少したが特に一定の傾向は示さなかった。血漿処置群の変動は左図に示したが、いずれの場合も減少した。点線で示した溶離液注射群の平均値の方が減少の程度が著しく15分後で67%と低値を示した。

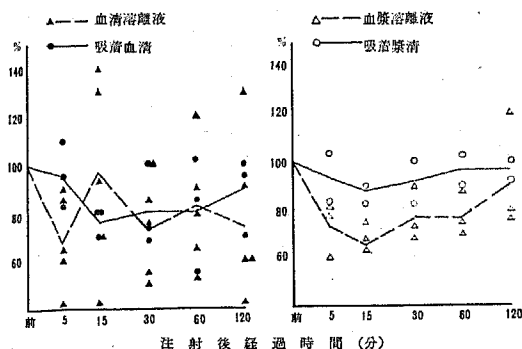


図22 Celite 15mg/cc 吸着血清及び吸着血漿と夫々の溶解液注射による第Ⅹ因子の変動

vi) フィブリノーゲン

セライト 15mg/cc で処置し、その上澄及び溶解液注射によるフィブリノーゲンの変動は表11に示した。いずれの場合も 120 分後には注射前値にくらべ50~70 mg/dℓの減少を示した。

(6) セライト 30mg/cc 吸着血清及び

血漿注射による凝固因子の変動

血清及び血漿にセライト 30mg/cc を加え吸着し、その上澄注射による各凝固因子の変動は図23, 24, 25, 26, 27及び表12に示した。

i) プロトロンビン

プロトロンビンの変動は図23に示した。血清、血漿注射群とも時間の経過に伴い平均値で減少傾向を示し、血清注射群は30分75%, 120分後83%, 血漿注射群で15分に87%, 120分で80%と低値を示した。

ii) 第Ⅴ因子

第Ⅴ因子の変動は図24に示したが血清、血漿注射群ともプロトロンビンの変動と同様、平均値で20%の減少を示した。

iii) 第Ⅶ因子

図25の左に示した如く血清注射群では各個体の変動の差が大きく60分後で最高160%, 最低54%の例があ

つたが平均値では時間の経過による変動はほとんど見られなかった。これに反し血漿注射群では注射後の各例でいずれも減少し、その平均値でも注射後5分で61%, 30分後で54%, 120分後でも63%と減少した。

iv) 血清トプ活性

血清トプ活性の変動は図26に示した。吸着血清、血漿注射群ともその平均値で著明な変動は見られないが両注射群とも最高20%の減少を示した。

v) 第Ⅹ因子

吸着血清、血漿上澄及び溶解液注射による第Ⅹ因子

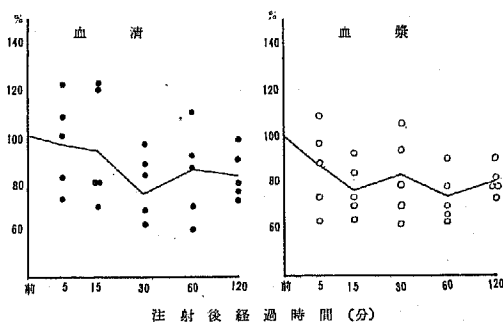


図23 Celite 30mg/cc 吸着血清及び吸着血漿注射によるプロトロンビンの変動

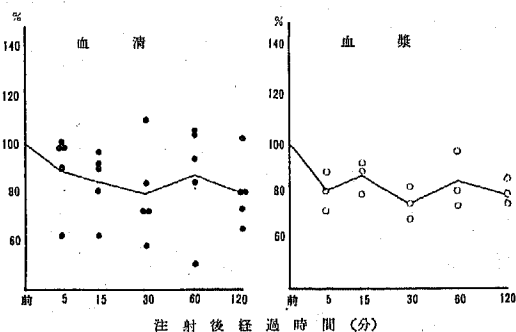


図24 Celite 30mg/cc 吸着血清及び吸着血漿注射による第Ⅴ因子の変動

表 11 Celite 15mg/cc 吸着血漿及びその溶解液注射によるフィブリノーゲンの変動 (mg/dℓ)

	吸着血漿注射群				血漿溶解液注射群				
	注射後経過時間				注射後経過時間				
	(分)				(分)				
	前	15	60	120	前	15	30	60	120
1	283.0	203.0	171.0	214.0	262.0	219.0	219.0	194.0	187.0
2	219.0	181.0	248.0	133.0	214.0	213.0	171.0	181.0	165.0
3					285.0	200.0	175.0	170.0	208.0
平均値	251.0	192.0	209.5	173.5	236.3	211.0	188.3	181.3	186.6

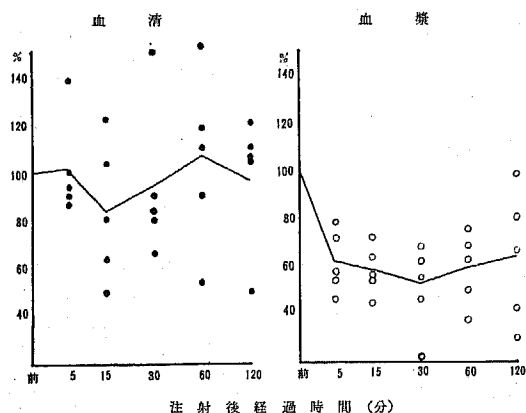


図25 Celite 30mg/cc 吸着血清及び吸着血漿注射による第Ⅶ因子の変動

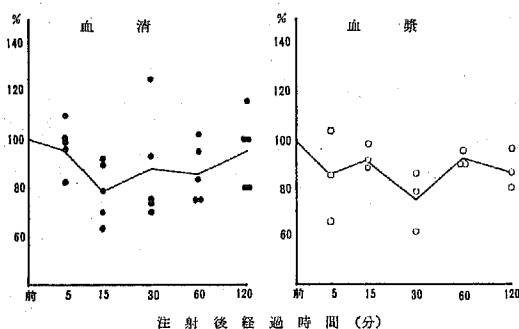


図26 Celite 30mg/cc 吸着血清及び吸着血漿注射による血清トプ活性の変動

の変動は図27に示した。吸着血清の平均値を実線で溶離液の平均値を点線で示す。左図の血清処置群ではその上澄注射で注射後15分で81%と軽度の減少を示したが、溶離液注射群では5分後116%と軽度の増加が見られた。血漿処置群では測定例数が少く極端な変動を示しているが、吸着血漿注射では30分後66%と減少したが120分にはやゝ増加の値を示した。溶離液注射で

は15分後132%と増加の傾向が見られ、以後漸減し120分後でも116%と高値を示した。

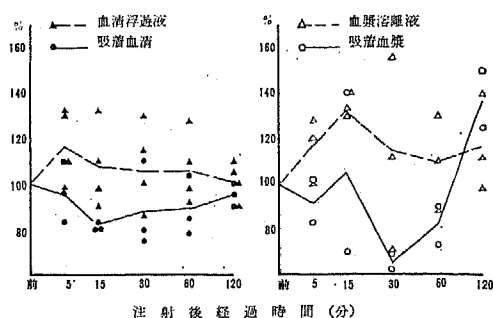


図27 Celite 30mg/cc 吸着血清及び吸着血漿と夫々の溶離液注射による第Ⅹ因子の変動

vi) フィブリノーゲン

フィブリノーゲンの変動は表12に示した。血清、血漿注射群とも平均値で見ると注射前に比し注射後120分でいずれも40~50mg/dLの減少を示した。

vii) 組織学的検索

動脈狭窄処置後セライト 30mg/cc 吸着血清連続注射群の血栓形成の成績を表13に示した。狭窄、注射後3日目の6例中1例に血栓の形成が1例に壁在血栓が見られたが、4日目で2例とも壁在血栓、5日目で2例に壁在性血栓、6日目で3例中2例に血栓、7日目で2例とも血栓の形成が見られた。各凝固因子の変動としては一般に減少傾向を示したにもかかわらず血栓は形成されやすくなっている状態が見られた。凝固能の状態と血栓形成能とは必ずしも一致しないものと考えられる。

(7) 吸着セライト 30mg/cc 浮遊液 (血清)

及び吸着セライト溶離液 (血漿) 注射による凝固因子の変動

血清及び血漿をセライト 30mg/cc で吸着し、血清は

表 12 Celite 30mg/cc 吸着血清及び吸着血漿注射によるフィブリノーゲンの変動 (mg/dL)

	吸着血清注射群				吸着血漿注射群				
	注射後経過時間 (分)				注射後経過時間 (分)				
	前	15	60	120	前	15	30	60	120
1	326.4	313.3		310.0	214.6	160.0	160.0	155.0	101.0
2	326.0	278.2		256.8	123.0	155.6	160.0	123.0	128.0
3	214.0	149.0		155.2	280.0	260.3	225.0	250.0	230.0
平均値	288.8	267.8		240.7	205.6	191.3	181.1	176.0	153.0

表13 Celite 30mg/dl 吸着血清注射群の成績
(動 脈)

被 検 家兎数	処 置 後 組 織 採取までの日数	血 栓 判 定		
		+	±	-
6	3 日	1	1	4
2	4	0	2	0
3	5	0	2	1
3	6	1	1	1
2	7	1	1	0

生理的食塩水で元の血清の量の30倍に稀釈しその浮遊液を使用、血漿はその溶離液を注射した。各凝血因子の変動を図28, 29, 30, 31及び表14に示した。

i) プロトロンビン

プロトロンビンの変動は図28に示す如く左図の血清浮遊液注射群では各時間による測定では増加している例が多く、注射後5分で最高145%、最低でも102%、その平均値で122%とかなりの増加を示し、以後時間の経過と共に減少し、120分後にはほぼ注射前値にもどつた。右図に示した血漿溶離液注射群ではむしろ血清の場合より増加の傾向が著明であつた。すなわち注射後5分で最高184%、最低でも120%、その平均値で5分後141%、15分後で142%と著しい増加の傾向が見られ120分後では注射前値にもどつた。

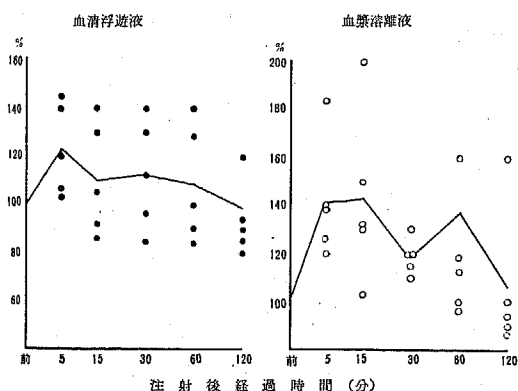


図28 吸着 Celite 30mg/cc 溶離液及び浮遊液注射によるプロトロンビンの変動

ii) 第Ⅴ因子

第Ⅴ因子の変動は図29に示した如く左図血清浮遊液注射群で各例にかなりの変動が見られるが、その平均値では5分後115%と軽度の増加しかみられず、120分後には94%と注射前値より低値を示した。又血漿溶離液注射の右図では時間の経過と共に減少し、120分

後で81%であつた。

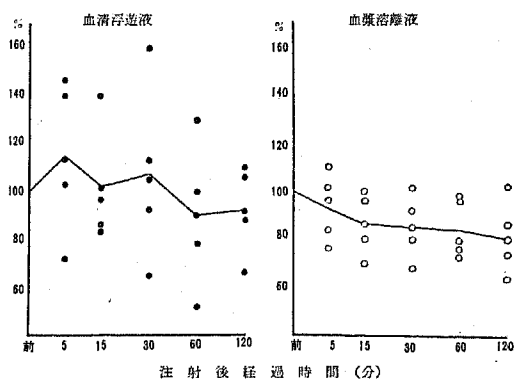


図29 吸着 Celite 30mg/cc 溶離液又は浮遊液注射による第Ⅴ因子の変動

iii) 第Ⅶ因子

図30に見る如く血清浮遊液注射群で15分後200%と極端に増加を示した例もあつたが、平均値では5分後121%、15分後137%、120分後でも113%と増加した。血漿溶離液注射群では極端に増加した例と極端に減少した例が見られたが平均値では15分後83%、120分後93%と軽度の減少を示した。

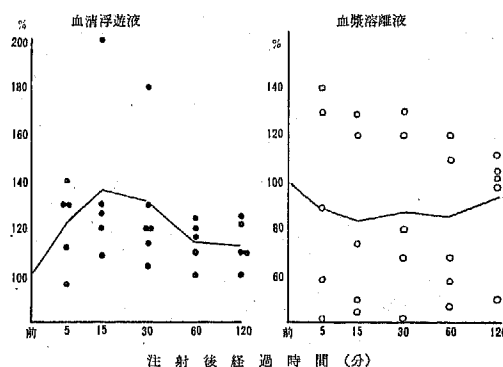


図30 吸着 Celite 30mg/cc 溶離液及び浮遊液注射による第Ⅶ因子の変動

iv) 血清トプ活性

血清トプ活性の変動は図31に示した。血清、血漿両群とも著明な増加を示したが、血清浮遊液注射群では平均値で5分後137%、30分後146%と増加、120分後でも115%を示した。右図血漿溶離液注射群では平均値で5分後148%と著増、以後漸減したが120分後でも115%と高値を示した。

v) フィブリノーゲン

フィブリノーゲンの変動は表14に示した。血清浮遊

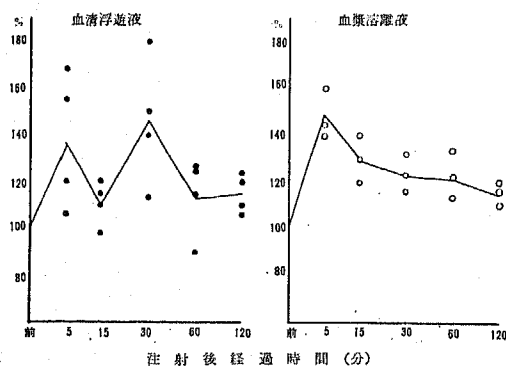


図31 Celite 30mg/dl 吸着溶離液及び浮遊液注射による血清トプ活性の変動

て表16に示した。各実験群とも連続8日間注射後の成績である。実験群1の硫酸血漿注射群では動脈、静脈5例中いずれにも血栓の形成は認められなかった。実験群2の硫酸バリウム吸着血漿上澄注射では静脈の1例に壁在血栓を認めたが、動脈では1例も血栓は見られなかった。写真5は動脈の1例で血栓は認められない。この溶離液注射による実験群3では静脈の1例に血栓が認められた。セライト 15mg/cc 吸着血漿注射の実験群4では動脈、静脈の各1例に壁在血栓が認められた。写真6は動脈の例で壁在血栓を認める。これに反し吸着セライト 15mg/cc 溶離液注射の実験群5では静脈、動脈とも全例に血栓形成が認められなかつ

表 14 吸着 Celite 30mg/cc 浮遊液及び溶離液注射によるフィブリノーゲンの変動 (mg/dl)

	血清浮遊液注射群				血漿溶離液注射群				
	注射後経過時間 (分)				注射後経過時間 (分)				
	前	15	30	120	前	15	30	60	120
1	326.4	235.5		267.5	219.0	214.0	283.0	214.0	219.0
2	321.0	288.9		331.7	246.0	353.0	353.0	219.0	347.0
3	320.0	290.0		340.0	206.0	160.0	162.0	145.0	100.0
平均値	322.5	271.4		313.1	223.6	246.3	266.0	192.6	222.0

液注射群では減少したが血漿溶離液注射ではほとんど増減は見られなかった。

vi) 組織学的検索

動脈狭窄処置後血清浮遊液を注射した群の血栓形成の成績は表15に示した。狭窄処置、連続注射3日目の5例全部に管腔を閉塞するような血栓の形成が見られ、5, 7, 9日目の全例にも血栓の形成が見られた。写真4は7日目の例である。

家兎頸動脈及び頸静脈に狭窄処置をした後血漿を硫酸バリウム、セライトで処置しその上澄及び溶離液を連日注射した各群の血栓形成の組織学的所見を総括し

表15 Celite 30mg/cc 吸着血清浮遊液 (30倍稀釈) 注射群の成績

被検家兎数	処置後組織採取までの日数	血栓判定		
		+	±	-
5	3日	3	2	0
3	5	3	0	0
3	7	3	0	0
3	9	3	0	0

た。実験群6のセライト 30mg/cc 吸着血漿上澄の注射群でも全例に血栓の形成は認められなかったが、この溶離液を注射した実験群7では静脈、動脈とも5例中3例、60%の割合で血栓の形成が認められた。対照として生理的食塩水を注射した実験群8では全例に血栓の形成は認められなかった。

(8) 生理的食塩水注射 (対照) による各凝血因子の変動

対照として生理的食塩水 (0.85%) を注射した際の凝血因子の変動を図32, 33に示した。

i) プロトロンビン

注射後5分で85%と減少したが15分以後はほとんど変動は見られなかった。

ii) 第Ⅴ因子

平均値の変動では注射5分後80%に減少したが120分後では注射前値にもどつた。

iii) 第Ⅶ因子, 第Ⅹ因子

図33左に示したが一定の傾向はみとめられなかった。

iv) 血清トプ活性

図33右に示した。注射後5分で130%と増加したが

表 16 血漿処置物質静注による血栓の組織学的所見の総括

実験群	被検家兎数	処置後組織採取迄の日数	静注液の種類	血 栓 判 定					
				動 脉			静 脉		
				+	±	-	+	±	-
1	5	8	稀酸血漿	0	0	5	0	0	5
2	5	8	BaSO ₄ 吸着血漿	0	0	5	0	1	4
3	5	8	吸着 BaSO ₄ 溶離液	0	0	5	1	0	2
4	5	8	Celite 15mg/cc 吸着血漿	0	1	3	0	1	3
5	5	8	吸着 Celite 15mg/cc 溶離液	0	0	5	0	0	5
6	5	8	Celite 30mg/cc 吸着血漿	0	0	5	0	0	5
7	5	8	吸着 Celite 30mg/cc 溶離液	2	1	2	0	1	1
8	5	8	生理的食塩水	0	0	5	0	0	5

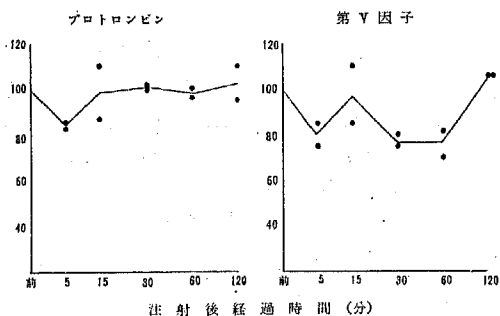


図32 生理的食塩水注射によるプロトロンビン、第V因子の変動

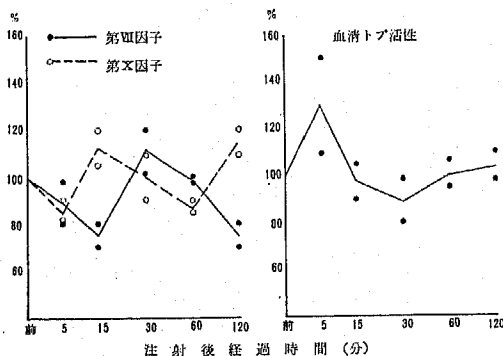


図33 生理的食塩水注射による第VII、第X因子、血清トプ活性の変動

15分後に98%と減少し以後はほとんど変動が見られなかった。

III 血栓症の抗凝血薬療法に関する

実験的研究

経口抗凝血薬 Coumarin 系薬剤の一種 Warfarin を使用し、血栓形成後に使用して如何なる効果がある

か、またあらかじめ Warfarin を使用し各凝血因子を減少せしめ、凝固能を低下させた後血清を注射し一過性に凝固能を亢進させると血栓が形成されるかどうかを実験的に研究した。

1. 対象及び実験方法

2~3 kg の正常雄家兎を使用した。

(1) 3羽の家兎に Warfarin を3日間計65~80mg 経口投与、プロトロンビン一段法で10~30%に control した後同種血清を 2cc/kg、辺縁耳静脈より1回注射、注射後5、15、30、60及び120分に反対側耳静脈より採血、凝血因子の変動を測定した。

(2) 1羽の家兎に Warfarin を4日間25、20、20、15mg計80mg経口投与、プロトロンビン一段法測定で8%になった家兎の頸動脈より全血採取、4時間37°C 恒温槽中に放置後血清を採取する。その血清を各2cc/kg 正常雄家兎の耳静脈より注射、注射後5、15、30、60、120分に耳静脈より採血、凝血因子の変動を追跡した。

(3) 各家兎の頸動脈又は頸静脈を露出、分枝をすべて結紮後前回の方法と同様に1cmの間隔で部分的狭窄部を作製する。表17に示した如く動脈狭窄群、静脈狭窄群をそれぞれA群、B群に分ける。静脈A群には同種血清を 2cc/kg 毎日耳静脈より注射し、注射後3~10日目より Warfarin を経口的に初日、2日目、20mg投与以後プロトロンビン一段法で10~20%に control しながら30日間投与した後狭窄部を切除し、組織学的に検索した。動脈狭窄のA群は血清を連日10日間注射、以後 Warfarin を投与、同様な方法で30日後に組織学的に検索する。動脈、静脈B群ともまず Warfarin を3日間投与、プロトロンビン一段法で10~20%に control した後動脈、静脈を狭窄にし、1回のみ血清を 2cc/kg 注射し、5日後より10日目迄の

表17 実験 3 群

静脈A群	狭窄操作後血清 2cc/kg 毎日静注 3～7 日後より Warfarin 投与約30日後に組織学的検索
動脈A群	狭窄操作後血清連続10日間静注、以後 Warfarin 投与約30日後に組織学的検索
静脈B群	Warfarin を3日間投与後狭窄操作、血清1回静注3～7日迄の組織を切除、検索
動脈B群	Warfarin を3日間投与後狭窄操作、血清1回静注5～10日目迄の組織を切除、検索

組織を切除、検索した。

2. 実験成績

(1) Warfarin 投与家兎に同種血清を1回

注射した際の凝固因子の変動

Warfarin を経口投与した家兎3羽の各凝固因子の測定値を表18に示した。家兎Aは3日間で総量80mgの Warfarin を投与し、プロトロンビンは10%の低値を

表18 Warfarin 投与家兎の血清注射前の各凝固因子測定値

被 検 家 兎	A	B	C
プロトロンビン (%)	10.0	25.0	30.0
第Ⅶ因子 (%)	40.0	52.0	48.0
血清最高トプ活性 (%)	80.0	40.0	15.0
フィブリノーゲン (mg/dl)	425.0	280.0	380.0
ワルファリン投与総量(mg)	80.0	80.0	65.0

示し、第Ⅶ因子は40%に減少した。家兎Bは Warfarin 投与総量80mgでプロトロンビン測定値25%、第Ⅶ因子量52%、血清トプ活性40%と減少した。家兎Cは Warfarin 投与総量65mgで、プロトロンビン値は30%に減少、血清トプ最高活性は15.0%と低値を示した。この3羽の家兎に正常血清 2cc/kg 注射した際のプロトロンビンの変動を図34左に、第Ⅶ因子の変動を図34右に示した。まずプロトロンビンでは注射前10%の家兎Aは5分後に80%、家兎Bは25%から77%に、又家兎Cは注射前30%が5分後に92%と血清注射により各例とも増加した。注射後120分でもA、Bの家兎で60%の高値を又家兎Cでも40%を示した。第Ⅶ因子の変動は家兎A、B、Cとも注射後5～15分で、20～50%の増加を示し、120分後にはほぼ注射前値にもどった。

第Ⅶ因子の変動を図35左に示した。第Ⅶ因子の変動が最も著明で家兎Aは15分後に最高160%と増加し30分、60分と時間の経過と共に減少し120分後で注射前値にもどった。家兎Bは5分後に120%で注射前値にくらべ60%以上の増加を示した。家兎Cは15分後には110%とかなりの増加を示し120分後でも75%と注射前値より25%の高値を保っていた。

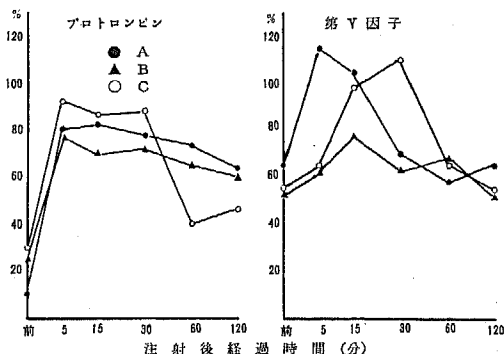


図34 Warfarin 投与家兎に正常血清注射時のプロトロンビン、第Ⅶ因子の変動

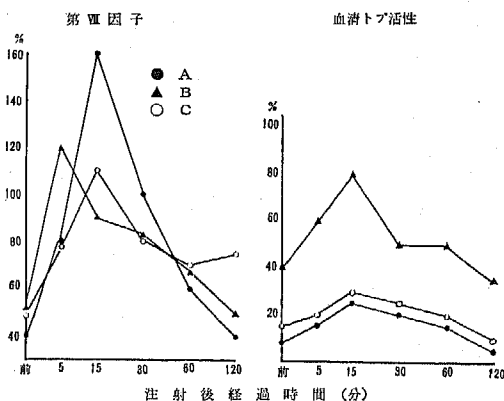


図35 Warfarin 投与家兎に正常血清注射時の第Ⅶ因子、血清トプ活性の変動

血清トプ活性の変動は図35右に示したが、各家兎の変動は他の因子ほど著明ではなかつた。すなわち家兎A、Cは15分後に15%、家兎Bは40%の増加であつた。フィブリノーゲンの変動は表19下段に示した。各被検家兎共注射前値にくらべ15分、120分後には軽度の減少を示した。

(2) Warfarin 投与家兎血清注射による

凝固因子の変動

Warfarin を投与し、プロトロンビンで8%に減量した家兎の血清を正常家兎に注射した際の各凝固因子

の変動を図36, 37及び表19上段に示した。プロトロンビン, 第Ⅴ因子の変動は図36に見る如くプロトロンビンは平均値で注射前値にくらべ時間の経過と共に減少し60分で最低の70%を示した。第Ⅴ因子も時間の経過と共に軽度の減少が見られた。第Ⅶ因子, 血清トプ活性の変動は図37に示した。第Ⅶ因子は15分後に最も減少し平均値で見ると15分後に65%と減少したが以後漸増し, 120分後にはほぼ注射前値に回復していた。血清トプ活性は平均値で5分後に77%に減少し, 120分後でもほぼ同値を示した。フィブリノーゲンの変動は表19上段に示した。家兎A, Cは注射後120分で注射前値にくらべ70~100mg/dlと減量していたのに対し, 家兎Bは注射前値にくらべ40mg/dl増量していた。

表19

Warfarin 投与家兎血清注射による
フィブリノーゲンの変動 (mg/dl)

被検家兎	経 過 時 間 (分)		
	前	15	120
A	425.0	325.0	320.0
B	280.0	310.0	320.0
C	380.0	360.0	310.0
平均値	361.7	331.7	316.7

Warfarin 投与家兎に正常血清注射による
フィブリノーゲンの変動 (mg/dl)

被検家兎	経 過 時 間 (分)		
	前	15	120
A	350.0	364.0	310.0
B	330.0	290.0	240.0
C	310.0	315.0	260.0
平均値	330.0	323.0	270.0

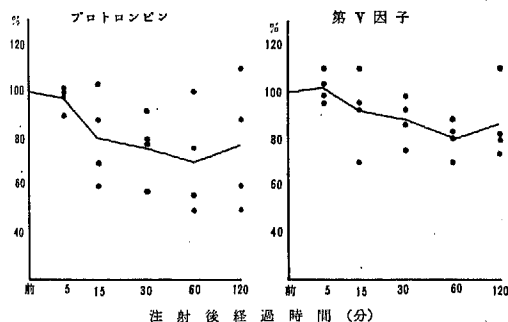


図36 Warfarin 投与家兎血清注射による
プロトロンビン, 第Ⅴ因子の変動

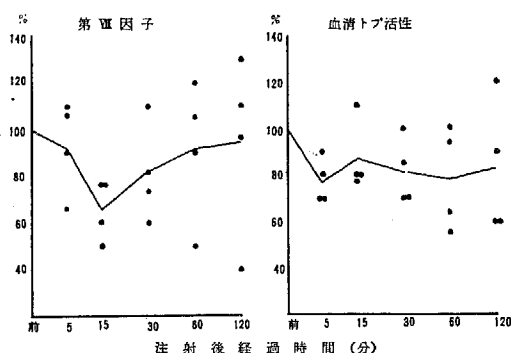


図37 Warfarin 投与家兎血清注射による
第Ⅶ, 血清トプ活性の変動

(3) 組織学的検索

実験方法は表17に示した如くであるが, 実験成績は各群についてのべる。

i) 静脈A群

家兎13羽を使用し狭窄, 血清注射後抗凝血薬を投与した成績は表20に示した。Warfarin を経口的に初日, 第2日目とも200μg投与, 以後プロトロンビン一段法で10~20%にcontrolしながら投与したが家兎 No. 1の血清3日間連続注射後 Warfarin を40日間投与した例で壁在性の血栓を認めたが, 他の被検家兎には血栓は認められなかった。写真7はこの家兎 No. 5を示したが血栓は認められない。

表20 狭窄, 血清注射後抗凝血薬投与の
静脈A群の成績

家兎 No.	処置後抗凝 血薬投与ま での日数	抗凝血薬 投与日数	血栓の有無
1	3	40	一部あり
2	3	41	(一)
3	3	40	(一)
4	4	40	(一)
5	4	30	(一)
6	4	10	(一)
7	4	20	(一)
8	5	30	(一)
9	5	30	(一)
10	6	23	(一)
11	6	8	(一)
12	7	22	(一)
13	10	30	(一)

ii) 動脈A群

家兎12羽に狭窄操作, 血清 2cc/kg 10日間連続注射

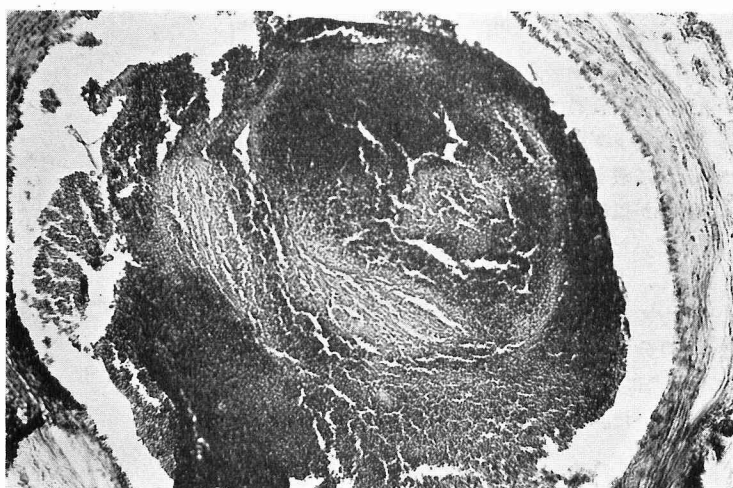


写真 1 (静脈) 狭窄処置後血清 2cc/kg 連続8日間注射, 血栓形成を認める。血栓内への Fibroblast の侵入, 器質化の像を認める。

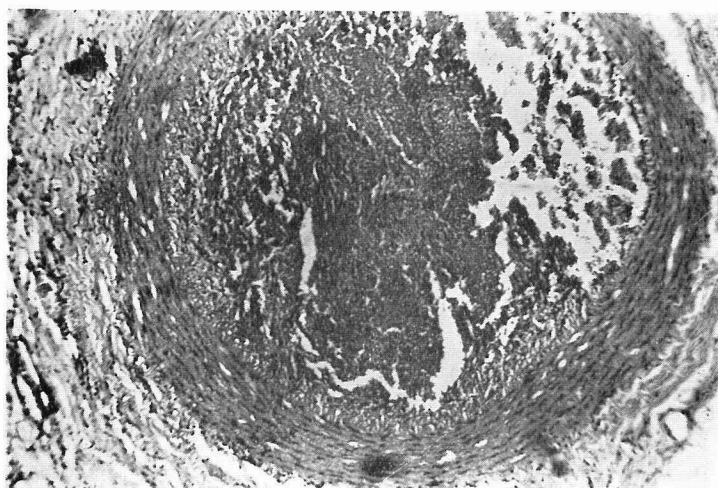


写真 2 (動脈) 狭窄処置後血清 2cc/kg 連続9日間注射, 血栓の形成を認める。内膜の肥厚, Fibroblast の侵入が見られる。

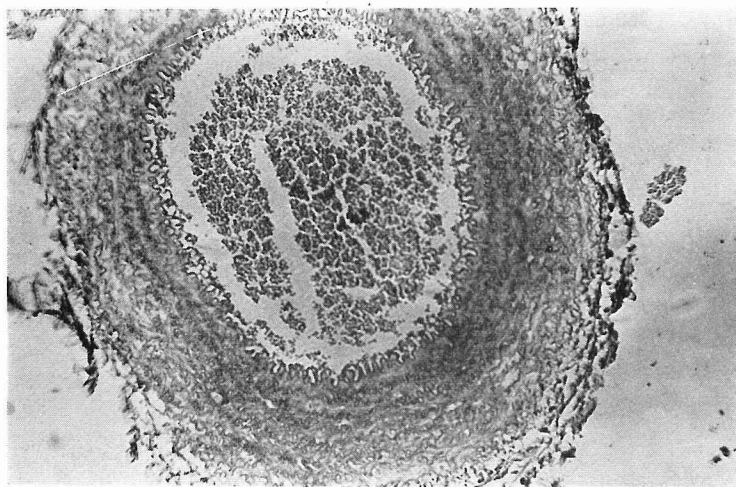


写真 3 (動脈) 狭窄処置のみ, 8日目血栓形成は認めない。

写真 4 (動脈) 狭窄処置後セライト 30mg/cc 吸着浮遊液 (30倍稀釈) 7日間注射, 血栓形成を認める。内膜の肥厚, 血管の新生, Fibroblast を認める。

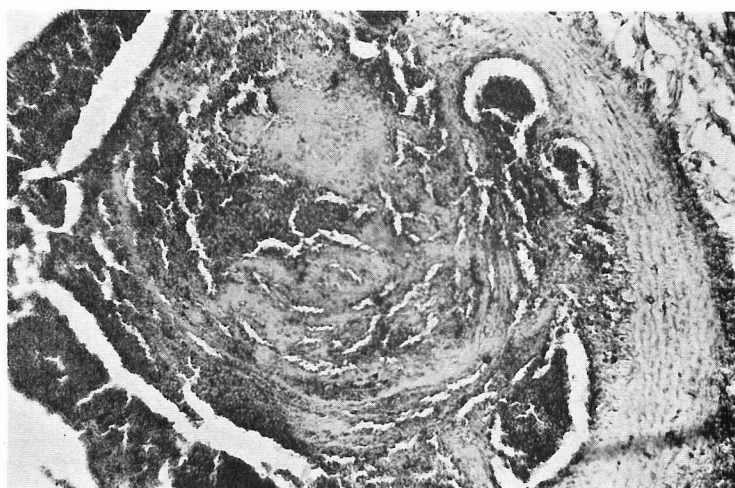


写真 5 (動脈) 狭窄処置後硫酸バリウム吸着血漿上澄 2cc/kg 8日間連続注射, 血栓の形成は認めない。

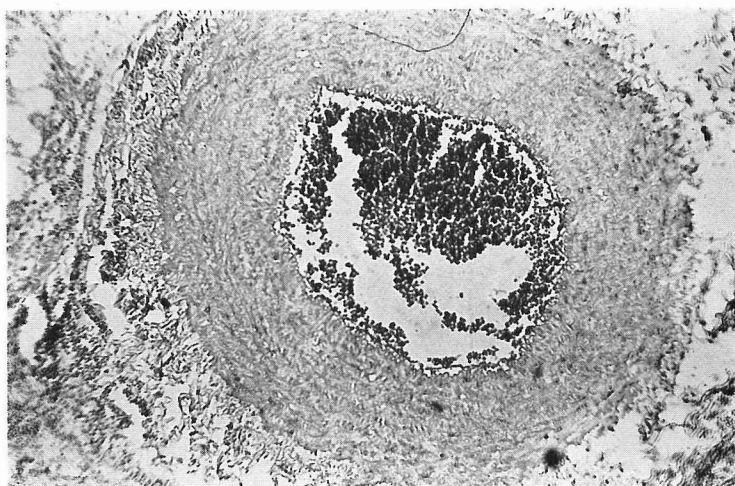
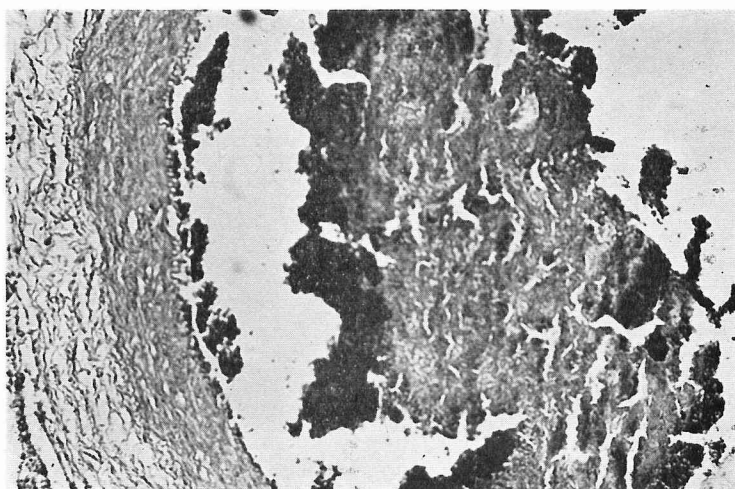


写真 6 (動脈) 狭窄処置後セライト 15mg/cc 吸着血漿 2cc/kg 連続 8日間注射, 壁在血栓を認める。一部に血栓の剥離がある。



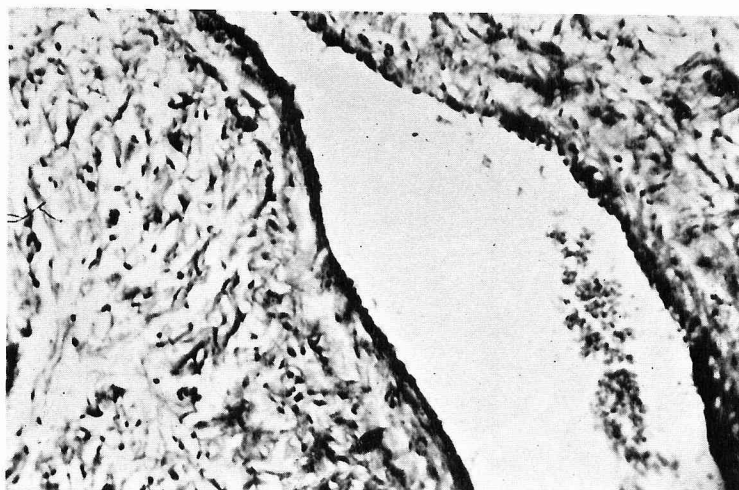


写真 7 (静脉) 狭窄処置後 4 日間連続血清注射, 以後 30 日間抗凝血薬投与, 血栓は認められない。

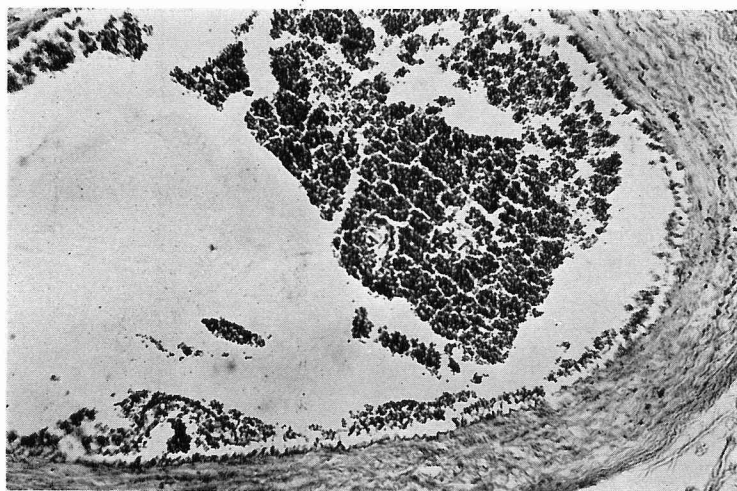


写真 8 (静脉) 抗凝血薬を 3 日間投与後狭窄処置, 血清 2cc/kg 1 回注射, 3 日後組織検索, 血栓は認められない。

以後 Warfarin を30日間投与した動脈A群の成績を表21に示した。家兎 No. 1, No. 7には管腔をほとんど閉塞する血栓が認められたが、その中に再疎通の像が著明に見られた。又家兎 No. 3, No. 8の血管には壁在血栓が認められたが他の8羽の血管にははつきりした血栓の像が認めにくかった。

表21 狭窄、血清注射後抗凝血薬投与の
動脈A群の成績

家兎 No.	処置後抗凝 血薬投与ま での日数	抗凝血薬 投与日数	血栓の有無
1	10	33	(++) 再疎通あり
2	10	33	(-)
3	10	33	(+) 壁在血栓
4	10	35	(-)
5	10	35	(-)
6	10	35	(-)
7	10	35	(++) 再疎通あり
8	10	40	(+) 壁在血栓
9	10	40	(-)
10	10	40	(-)
11	10	40	(-)
12	10	40	(-)

iii) 静脈B群

9羽の家兎を使用し、あらかじめ Warfarin を総量各60mg投与した後静脈を狭窄し、血清を 2cc/kg 1回注射し3～7日後に組織検索したB群の成績を表22に示した。いずれの家兎にも Warfarin 20mg 3日間総

表22 抗凝血薬投与後血清注射した
静脈B群の成績

家 兎 No	抗凝 血薬 投与 後日 数	結 核 染 色 後 の 組 織 数	血 採 取 ま で の 日 数	ト ロ ン ボ ・ テ ス ト (%)	プ ロ ト ロ ン ビ ン (%)	F-VII (%)	血 最 高 活 性 度 (%)	血 栓 の 有 無
1	3	3	3.0	11.5	41.0	44.0	12.9	一部あり
2	3	3	5.1	20.0	44.0	12.9	(-)	(-)
3	3	4	10.6	13.0	27.0	28.0	(-)	(-)
4	3	4	9.5	12.5	7.0	8.6	(-)	(-)
5	3	5	4.0	16.0	6.3	5.9	(-)	(-)
6	3	5	5.0	11.0	11.5	4.1	一部あり	(-)
7	3	6	10.5	14.5	8.0	5.6	(-)	(-)
8	3	6	5.0	9.0	5.9	7.8	(-)	(-)
9	3	7	10.5	32.0	19.5	23.0	(-)	(-)

量60mg投与した。血清注射前の各凝固因子の測定ではプロトロンビン値が最低9%の家兎 No. 8と最高32%の家兎 No. 9とかなりの個体差があつたが、トロンボテストでは3～10.5%とほぼ一定の値を示した。しかし血清トプ最高活性でも家兎 No. 6の4.1%, 家兎 No. 1の44%と個体差が見られた。血栓の組織学的検索では家兎 No. 1及び No. 6の血管内に一部壁在血栓を認めたが、他の7羽には血栓は認めなかつた。写真8はこの群の家兎 No. 4であるが血栓は認められない。

iv) 動脈B群

8羽の家兎に狭窄処置後3日間計60mgの Warfarin を投与し、血清を1回 2cc/kg 注射後5～10日目迄に組織採取し検索した成績を表23に示した。凝固因子の測定はプロトロンビンのみであるが家兎 No. 1の5.8%から家兎 No. 5の20%と変動が見られた。血栓はプロトロンビン値16%の家兎 No. 3と、プロトロンビン値12.5%の No. 8に見られたが他の6羽の家兎では血栓形成は見られなかつた。

表23 抗凝血薬投与後血清注射した
動脈B群の成績

家兎 No.	抗 凝 血 薬 投 与 後 日 数	結 核 染 色 ま で の 日 数	血 清 注 射 後 組 織 数	採 取 ま で の 日 数	プ ロ ト ロ ン ビ ン 値 (%)	血 栓 の 有 無
1	3	3	5	5.8	(-)	(-)
2	3	3	5	10.0	(-)	(-)
3	3	3	6	16.0	(+)	(+)
4	3	3	6	12.0	(-)	(-)
5	3	3	8	20.0	(-)	(-)
6	3	3	8	8.0	(-)	(-)
7	3	3	10	10.0	(-)	(-)
8	3	3	10	12.5	(+)	(+)

IV 総括並びに考案

血栓の形成を促進する種々因子の中で、血管内膜の損傷、うつ血、血流の乱れ、循環血液中の凝固能亢進又は一区域内の循環血液中での凝固能亢進等が知られている。これらの因子は静脈、動脈血栓症を生ずる為に種々組み合わされているが、これらの因子の完全な役目は理解されていない。著者は血管壁の障害をさけ血流を緩徐にし、血液凝固能を亢進させると静脈では勿論、動脈中でも血栓が生じ得ることを実験的に証明

した。血栓を形成させる目的で注入される物質にも種々あるが著者は最初同種血清を用いた。血清は凝固過程での自然産物であり、動物に注入すると血栓が生ずるという記載は古くは Flexner^①, Loeb^②, Feissly^③等のものがあり、in vitro でも凝固能促進作用を有している^④。1955年 Wessler^⑤は同種血清の注入後静脈栓絶間部に血栓が生ずることを発表し、血清中の第Ⅶ因子又は硫酸バリウム吸着物質が関与するとしたが、凝血障害のある患者の血清を使用したその後の研究^⑥で第Ⅸ、第Ⅺ、第Ⅻ因子が関与することが明らかとなった。著者は血清の注入により、各因子の変動を測定した所プロトロンビン、第Ⅴ、第Ⅶ、第Ⅸ因子等いずれも増加していたが Fibrinogen は減少の傾向を示した。これに反し尿酸血漿注入による変動は各因子とも軽度の減少か又はほとんど変化を示さなかつた。血清の注入で各凝血因子の増加より、凝固能亢進状態が生じ、これに反し血漿の注入では凝固能に変化を生じないことが理解される。

凝固能亢進とは凝固各因子の著明な増加と解されるが、Alexander^{⑦⑧}らは妊娠で第Ⅶ、第Ⅸ因子の増加をこの状態としており、Cooperberg^⑨らは冠動脈疾患における第Ⅶ因子の増加を、Olwin^⑩らは血栓塞栓症における第Ⅴ因子の増加を凝固能亢進状態と解している。Marin, Stefanini^⑪等は家兎頸静脈に部分的狭窄処置をし血清注入後狭窄上流と狭窄下流部及び狭窄部以外の部よりの採血で各因子の変動を経時的に測定している。それによると採血部位による相違もあるが一般に注射後血小板数の減少、第Ⅴ因子の減少、第Ⅶ因子の増加、トプ形成因子の増加、トロンビンの増加を見ている。大森^⑫は実験的血栓形成の際、血清 2cc/kg 注入による第Ⅷ因子の変化を測定しているが、血清注入後30分で第Ⅷ因子は100%消費されるという。血小板数の減少、第Ⅷ因子の消費と同様、Fibrinogen の減少は血栓形成の過程で消費されたものと考えられる。組織学的検索で狭窄処置のみを行なった場合と、狭窄処置後血清を連続注射した場合とでは血栓形成に明らかな差が見られ、静脈血栓と動脈血栓とでもその形成に差があるように思われた。本法による血管狭窄処置操作による内膜の損傷の正確な評価は困難であるが、このこと自身血栓を生ずる為の充分な内膜の傷害は生じないという報告が多い^{⑬⑭}。血流の障害、うっ血のみでは血栓は形成されにくく^⑮、血流障害に凝固能亢進が加わって初めて血栓形成が可能になることを実証している。Marin^⑯はうっ血のみによる血栓形成に対し、接触因子に類似した clot-promoting substance が生じ、第Ⅺ、Ⅻ因子間に作用し、

接触因子として第Ⅸ因子に働き、activated PTC (Ⅸ因子) を生じ血栓が生ずるとした。本実験の場合動脈にくらべ静脈ではうっ血のみによつて、また凝固能亢進状態が加わつても血栓が形成されやすいのは血管壁の障害による化学的性質の変化より構造上の差による拍動及び血流の遅速による物理的性質が重要な効果を有していると考えられる。Mustard^⑰は血管壁の性状と関係なく血栓は血流の停止より血流の乱れが関与するとした。動脈血栓における血清1回注射と連続注射による血栓形成の差は凝固能亢進状態が関与すると思われる。また注入される血清の量により血栓の形成が左右されるという Wessler^⑱の報告よりこゝでは注入する各物質の量を 2cc/kg とした。血液凝固因子中血栓形成に最も関与する因子を血清及び血漿で追究するため凝血因子の理化学的性状により硫酸バリウム、セライトで処理した。血清を硫酸バリウムで吸着しその上澄を注射した場合、第Ⅶ、第Ⅸ因子の増加が見られたが血漿を硫酸バリウムで吸着し、その上澄の注射では各因子とも増加は見られなかつた。第Ⅶ、第Ⅸ因子は硫酸バリウムに吸着性であり、この成績は血清と血漿で両因子に差があるように思えた。しかしこれらの処置物質を注入しても動脈の組織学的検索で血栓の形成は不確実である。このことは上澄に含まれる第Ⅺ、第Ⅻ因子の作用が弱いのか、動脈壁の理化学的性質の作用によるためかとも考えられる。プロトロンビン、第Ⅴ、第Ⅶ、Ⅸ因子を含有する血漿の硫酸バリウム溶離液の注射群では、その経時的測定で第Ⅸ因子の増加を認めた。しかしこの連続注射による組織学的検査で血栓の形成された例は以外に少なかつた。硫酸バリウム溶離液中には第Ⅺ、第Ⅻ因子がほとんど含まれていないため第Ⅸ因子活性化の作用が生じないとも推察される。Soulier, Wartell^⑲の血液凝固促進物質の比較検討の成績にもとづき血清及び血漿をセライトの一種 Filter-cel 15mg/cc で処置し、その上澄及び溶離液を注射した。その血清の溶離液注射群で血清トプ形成能に軽度の増加を認めたがプロトロンビン、第Ⅴ、第Ⅶ、第Ⅸ因子及びフィブリノーゲンの増加はなかつた。組織学的検索でも血漿の上澄注射で5羽中1羽に壁在性血栓形成を認めたのみであつた。正常血漿をセライト 15mg/cc で吸着すると第Ⅺ因子のみ選択的に吸着され、第Ⅻ因子は残存し、30mg/cc では第Ⅸ因子が活性化され、第Ⅺ、第Ⅻ因子は完全にセライトに吸着除去される。松岡^⑳は血清をセライト 30mg/cc で処置すると血清トロンボプラスチン形成能が見られるが、これは pro-PTC の活性化によるとした。血漿及び血清をセライト 30mg/cc で吸着

その上澄注射群による著者の成績では各因子とも活性の増加は見られなかつたが、この組織学的検索では血清注射群で約半数以上に血栓の形成を見た。Reimer, Wessler⁴⁶らはうつつ血した血管の部分に血栓を生ずる原因の半分は血栓形成能 (STA) であるとした。血栓形成能は体内での接触因子の現われであるが⁷、体内で測定し得る接触因子の量とは同等でなく、接触因子そのものでもなく、接触因子 (第Ⅺ, 第Ⅻ因子複合体) により活性化された第Ⅺ因子による⁴¹。Reimer⁴²らはセライトで吸着した血清中にも血栓形成能を発見しているが、Henderson⁷らは血栓形成能は欠除しているとした。両者の相違は使用したセライトの量の差であり、活性の消失に関係する Incubation time の差で説明される。松岡⁴³はセライト 30 mg/cc 処置血清中の血栓形成能は 37°C 5 時間保存で 10% に減少すると報告している。著者の場合材料作製後短時間の内に使用し、使用後 0°C に保存した点から血栓形成能は吸着血清中に存在している。セライト 30 mg/cc 吸着血清のセライト浮遊液 (30倍生食希釈) 注射群では各因子とも活性が増加していたが血清トプ活性の増加は著明であつた。しかし正常血清注射による各因子の変動と対比してみると血清トプ活性以外増加の程度は著しくなかつた。このことはセライト 30 mg/cc 処置により血清中の第Ⅺ, Ⅻ因子が活性化された後セライトに吸着され、このセライト浮遊液注入により動物の血液中で第Ⅺ因子が活性化され、またセライトの作用で動物の血中にある第Ⅺ, 第Ⅻ因子が活性化され、その結果第Ⅺ因子が活性化される二重の作用によるものと考えられる。組織学的検索では動脈で全例に血管腔を閉塞する程度の血栓が認められ、しかも正常血清注射による血栓形成より血栓形成迄の時間が短かつた。セライト浮遊液注入により血管内皮の障害も考えられるが⁴³、セライトは *in vitro* で第Ⅻ因子の強力な活性物質であり⁴⁴家兎に注入された時内因性の第Ⅻ因子を活性化して血栓形成の初期に作用し、強力に血栓を形成するのだとも考えられる。第Ⅻ因子を純化、注入した Didisheim⁴⁵の実験でも明らかである。血漿のセライト 30 mg/cc 溶離液注射群ではプロトロンビン、血清トプ活性の増加が見られた。組織学的検索では 8 日目で半数以上に血栓形成が見られたが、セライト浮遊液注射群にくらべ形成の程度は低かつた。このことは Henderson⁷の実験結果とは一致を見た。以上著者は血清及び血漿、また、それらを種々処置した材料を使用し、凝固能亢進状態及び血栓形成能を凝固因子の測定より、また組織学的検索で追究した。凝固過程の初期に作用する接触因子 (第Ⅺ,

第Ⅻ因子の総称) の活性化^{46,47}に関してはセライトを使用し、第Ⅺ因子の変動で想定した。局所的うつ血と連続的凝固能亢進状態は血管内で凝固を生ずるが臨牀的応用として非常に重大な問題を含んでいる。輸血の際、硝子注射器使用による異物面との接触による因子の活性化、大量輸血による凝固能亢進状態で局所うつ血による血栓形成の危険性である。予防又は治療に対する抗凝血薬の重要さが再確認される。著者は Warfarin を使用し実験的血栓症に対する予防治療の効果を研究した。Warfarin 投与により第Ⅶ, 第Ⅹ, プロトロンビン及び第Ⅺの4因子が減少し、その結果血漿中の prothrombic activity が減少する⁴⁸。第Ⅺ因子は減少の速度がおそいが⁴⁹、Douglas⁵⁰は第Ⅶ因子と同様に速やかに減少するという。Warfarin を3日間投与した家兎の凝固因子の測定で各因子の減少が著明であり、特にプロトロンビン、第Ⅺ因子の減少が著しいが各個体による変動もかなり認められた。この家兎群に正常血清を1回注射した際、各因子の一過性の増加が見られたが、この操作による血栓形成は動脈、静脈とも認められなかつた。Dale, Jaques⁵¹は Dicumarol が実験的血栓の形成を阻害し血小板凝集を防ぐことを示しているし Zucker⁵²はフィブリン形成が低下することを発見している。Prothrombin time で正常の2倍以内に保つていると血栓形成がないという報告もある⁵³がわずかに延長する Dicumarol の量では実験的に血栓形成が増加するともいわれている⁵⁴。今日 Warfarin の投与により前記4因子の減少が知られるようになって以来⁴⁸、従来の Prothrombin time の測定では不完全である。Owren⁵⁵の Thrombotest を併用した松岡⁴³らの動物実験では、プロトロンビン値を10~20%に保つていると明らかに血栓形成が阻止された。又 Warfarin 投与家兎血清を正常家兎に注射した際、各凝固因子の増加が認められない成績より、Warfarin は前記プロトロンビン、第Ⅶ, 第Ⅺ及び第Ⅹ因子が減少する以外に他の因子も相対的に減少するものと想定された。実験的血栓形成後に Warfarin を投与し、治療効果を観察した。静脈では血栓形成後約3~7日目に Warfarin を投与し、長期持続した結果、血栓の融解、再疎通を促進させる作用が生じた。頸動脈では血清連続注射後11日目より Warfarin を投与したが血栓形成後の日数が長かつたため、早期投与による静脈の結果はどの効果は見られなかつたが、12例中8例に血栓が認められなかつた成績は、やはり Warfarin による作用と考えたい。Kubik⁵⁷はプロトロンビン使用による犬の動脈血栓に Dicumarol を使用し、動脈撮影により control 群に8週間以後でも

再疎通を認めないのに平均3 25週で再疎通の効果を認めている。教室の本間^⑧は Allylamine 及び同種血清静注による冠動脈梗塞の家兎に Warfarin を投与し、梗塞発生に予防効果があることを報告している。中尾^⑨は家兎股動脈血栓形成前後に Warfarin を投与、Prothrombin time を20%以下に低下させた場合、血栓の形成を認めず、20~40%では40%に血栓の発生をみると Warfarin が血栓の生成に阻止的に働くが生成された血栓に対しては影響がないとした。しかし投与量、短期投与の点で著者の成績とは多少異つている。神谷^⑩は初期器質化前の静脈血栓に Warfarin を投与すると阻止的に働くが血栓の融解の点是不明であるという。前川^⑪は Wessler に準拠した静脈血栓形成前に経口抗凝血薬を投与すると、血栓阻止作用があるという。経口抗凝血薬 Warfarin は血栓形成前に投与し血凝固因子を減少し、Prothrombin time で10~20%に control すると明らかに実験で血栓形成に阻止的に働く。又血栓形成初期に Warfarin を投与すると融解、再疎通を促進する作用があることを認めた。

V 結 語

以上著者は家兎に同種血清、血漿及びそれらを種々処置した物質を 2cc/kg 注射した際の凝固因子の変動及び血栓形成について組織学的に検索した。また経口抗凝血薬 Warfarin の投与による凝固因子の変動及び予防、治療の効果を組織学的に検索し、次の如き結論を得た。

1. 同種血清注射により著しい凝固能亢進状態を認めたが、血漿注射によつては凝固能の亢進はほとんど認めなかつた。

2. 硫酸バリウム吸着血清、血漿及びそれらの溶離液注射により凝固能亢進状態は生じなかつた。

3. セライト 15mg/cc 吸着血清、血漿及びその溶離液注射により凝固能亢進状態は生じなかつた。

4. セライト 30mg/cc 吸着血清注射により血清トプ活性の著明な増加が認められたが、他の因子の増加は認められなかつた。吸着血漿の注射では凝固能の亢進は認められなかつた。

5. セライト 30mg/cc 生食浮遊液 (30倍稀釈) 注射で著明な凝固能亢進状態を認めた。

6. 血漿吸着セライト 30mg/cc 溶離液注射で著明な凝固能亢進状態を認めた。

7. 2cc/kg 血清連日注射により、狭窄部に静脈では3日後より、動脈では5~7日後より血栓形成を認めたが血漿の注射では血栓の形成は認めなかつた。

8. 硫酸バリウム処置血清、血漿の注射でも血栓形

成はほとんど認めなかつた。

9. セライト 30mg/cc 吸着血清注射で血栓の形成を半数以上に認めたが吸着血漿の注射では血栓の形成は認められなかつた。

10. セライト 30mg/cc 生食浮遊液 (30倍稀釈) 注射で血清注射より短時間で血栓の形成を認めた。

11. 血漿吸着セライト 30mg/cc 溶離液注射で約半数に血栓の形成を認めた。

12. Warfarin を投与し、Prothrombin time で20%前後に control すると一過性の凝固能亢進でも血栓の形成は見られず予防的作用がある。

13. 血栓形成の初期に Warfarin を投与し長期持続すると再疎通の促進がみとめられる。

稿を終るに臨み御指導と御校閲を頂いた恩師松岡松三教授、小田正幸教授に謹んで感謝いたします。又有益な助言をいただいた小野儀太郎、吉田精市、深沢英博士をはじめ、実験にあたって熱心な助力をいただいた教室員各位に深謝いたします。又標本作製に御助力いただいた当大学第二病理間宮講師、田口八郎先生に謝意を表します。

本論文の要旨は第24回日本血液学会、第59回、第61回日本内科学会、第26回日本循環器学会総会に於て発表した。

文 献

- ①Flexner, S., J. Med. Res. 8: 316, 1902
- ②Wessler, S., Fed. Proc. 12: 152, 1953
- ③Wessler, S., J. Clin. Invest. 34: 647, 1955
- ④Ratnoff, O. D. & Rosenblum, J. M., Amer. J. Med. 25: 160, 1958
- ⑤Rapaport, S. I., J. Clin. Invest. 34: 9, 1955
- ⑥Wessler, S., Clin. Invest. 39: 262, 1960
- ⑦Henderson, E. S. & Rapaport, S. I., J. Clin. Invest. 41: 235, 1962
- ⑧McClean, J., Amer. J. Physiol. 41: 250, 1916
- ⑨Shionoya, T., J. Exp. Med. 46: 19, 1927
- ⑩Stahmann, M. A., Huebner, C. F. & Link, K. P., J. Biol. Chem. 138: 513, 1941
- ⑪Dale, D. U. & Jaques, L. D., Canad. M. A. J. 46: 546, 1942
- ⑫Bingham, J. B., Meyer, O. O. & Pohle, F. J. Amer. J. Med. Sci. 202: 653, 1941
- ⑬松岡松三・佐竹清人・他: 内科, 3: 120, 1959
- ⑭Soulter, J. P. & Wartelle, O. P. Brit. J. Haemat. 6: 88, 1960
- ⑮Marin, H. M. & Stefanini, M., Surg. Gyn. Obst. 110: 263, 1960
- ⑯Quick, A. J., Amer. J. Clin. Invest. 10: 222, 1940
- ⑰松岡松三: 総合臨牀, 9: 254, 1960
- ⑱Wolf, P., J. Clin. Path. 6: 34, 1953
- ⑲荻

- 原洋三：信州医誌. 6:13, 1957 ②Koller, F., Loelinger, A. & Duckert, F., *Acta Haematol.* 6:1, 1951 ③菊地 晃・ほか：総合医学, 14:1039, 1957 ④松岡松三・ほか：内科, 13:549, 1964 ⑤松岡松三・佐竹清人・深沢 英：臨牀検査, 2:61, 1958 ⑥Bachmann, F., Duckert, F. & Koller, F., *Thromb. Diath. haem.* 2:24, 1958 ⑦Biggs, R. & Douglas, A. S., *J. Clin. Path.* 6:23, 1953 ⑧松岡松三：内分泌と代謝, 1:148, 1958 ⑨Loeb, L., Strickler, A. & Tuttle, L., *Arch. Path. Anat.* 201:5, 1910 ⑩Feissly, R., *Compt. Rend. Soc. Biol.* 92:319, 1925 (Fed. Proc. 22:1366, 1963. より引用) ⑪Alexander, B., Myers, L., Kenny, J., Goldstein, R., Gurewich, V. & Grinspoon, L., *New Eng. J. Med.* 254:358, 1956 ⑫Pechet, L. & Alexander, B., *New Eng. J. Med.* 265:1093, 1961 ⑬Cooperberg, A. A. & Teitelbaum, J., *Brit. J. Haem.* 6:281, 1960 ⑭Olwin, J. H. & Fahey, J. L., *Ann. Surg.* 132:443, 1950 ⑮Marin, H., Stefanini, M., Rauno, H. & Soardi, F., *Surg. Gyn. Obst.* 111:541, 1960 ⑯大森晶彦：日内会誌, 52:904, 1963 ⑰Wessler, S., *J. Clin. Invest.* 31:1011, 1952 ⑱Marin, H. M., Leimer, X. J. & Mueller, L., *Surg. Gyne. Obst.* 113:293, 1961 ⑲Mustard, J. F. & Murphy, E. A., *Amer. J. Med.* 33:621, 1962 ⑳Wessler, S., *J. Apply. Physiol.* 14:943, 1959 ㉑松岡恒美：日血会誌, 26:231, 1963. ㉒Reimer, S. M., Wessler, S. & Deykin, D., *Proc. Soc. Exp. Biol.* 105:438, 1960 ㉓Deykin, D. & Wessler, S., *J. Clin. Invest.* 43:160, 1964 ㉔Reimen, S. M. & Wessler, S., *Fed. Proc.* 20:56, 1961. ㉕松岡松三・他：最新医学, 18:239, 1963 ㉖Waler, B. A., *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 11:37, 1959 ㉗Didisheim, P., *Clin. Res.* 10:77, 1962 ㉘Ratnoff, O. D., Davic, E. W. & Mallet, D. L., *J. Clin. Invest.* 40:803, 1961 ㉙Ratnoff, O. D., *J. Clin. Invest.* 40:1074, 1961 ㉚Hunter, R. B., *Symposium on Anticoagulant Therapy. Report of the Proceedings.* 1960 ㉛松岡松三：第26回日循総会シンポジウム, 1962 ㉜Douglas, A. S., *Anticoagulant Therapy.* Oxford. 1962 ㉝Dale, D. U. & Jaques, L. B., *Canad. M. A. J.* 46:546, 1942 ㉞Zucker, M. B., *Amer. J. Physiol.* 148:275, 1947 ㉟Blake, O. R., Ashwin, J. G. & Jaques, L. B., *J. Clin. Path.* 12:118, 1959 ㊱Fulton, G. P., Akers, R. P. & Lutz, B. R., *Blood* 8:140, 1953 ㊲Owren, P. A., *Lancet.* 11:754, 1956 ㊳松岡松三・ほか：日本臨牀, 21巻, 10号, 1963 ㊴Wright, H. P., Kubik, M. M., *Brit. M. J.* 1:1021, 1953 ㊵松岡松三・本間達二・ほか：第60回日内会総会, 1963 ㊶中尾喜久：日内誌, 51:869, 1962 ㊷神谷喜作：日本臨牀, 22巻, 4号, 1964 ㊸前川 正：第6回日本臨牀血液学会総会, シンポジウム, 血栓症, 1964