

原 著

リウマチ性心弁膜症における弁膜組織凝固・線溶活性に関する研究

奥 平 貞 英

信州大学医学部第2内科学教室 (主任: 小田正幸教授)

STUDIES ON COAGULATIVE AND FIBRINOLYTIC ACTIVITIES OF VALVULAR TISSUE IN RHEUMATIC VALVULAR DISEASE

Sadahide OKUDAIRA

Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,
Shinshu University
(Director: Prof. Masayuki ODA)

Key words: リウマチ性心弁膜症 (rheumatic valvular disease)
トロンボプラスチン活性 (thromboplastic activity)
線溶活性 (fibrinolytic activity)
Floppy valve syndrome
走査電顕法 (scanning electron microscopy)

I. 緒 言

リウマチ性心炎の発症機序は、A群溶血性連鎖球菌感染を楔機として発現する抗原抗体反応が基調をなすと考えられ、現在までおおくの実験的、臨床的研究^{1) 2) 3) 4) 5)}がなされているが、リウマチ性心弁膜症 (以下、RVD と略) の発症、進展については、いまだ不明な点もすくなくない。現在大方の考えは、リウマチ熱 (以下、RF と略) の再燃によるものとされているが、一方では成人僧帽弁狭窄症 (以下、MS と略) において RF の既往を欠く例がおおいと指摘^{6) 7) 8) 9) 10)}や、RF 発症後、その活動がないにもかかわらず長年にわたって進展していく機序から、他の因子の関与が推定される。

RVD 弁膜の肥厚、狭窄の発生機序に関して、古くは2つの見解があり、1つは Rokitsansky の主張¹¹⁾で、弁表面に fibrin が沈着し、それが器質化し線維性組織に変換して肥厚するというもので、一方、現在一般的な見解は、内膜組織の水腫、fibrinoid 変性と、これに続く膠原線維の増生が肥厚をもたらし、弁膜症を形成すると考えられている¹²⁾。しかし、現在でも交

連部癒着は、弁膜や腱索に生じた非細菌性血栓性疣贅の器質化によるものと考え¹³⁾もあり、RVD の発生、進展には加齢変化や機械的刺激など非特異的因子も加わることが予想される。

以上の理由から、著者は RVD の弁膜組織凝固・線溶活性を検索し、その発生、進展における意義について若干の検討を加えたのでその成績を報告する。

II. 研究材料ならびに方法

A. 材 料

対象 (表1) は心臓弁膜症として人工弁置換術を受け、病理組織学的、臨床的に RVD と診断された39症例である。材料として手術により切除された僧帽弁35、大動脈弁9、計44弁膜の肉眼的に病変の存在する部分をもちいた。対照は、非リウマチ性心弁膜症として病理組織学的に確認された floppy valve syndrome 8例の弁膜と、各種剖検例のうち、弁膜に肉眼的、組織学的に特に病変を認めなかった62例を正常弁膜としてもちいた。検体は新鮮なものに限り、剖検例は死後12時間以内に処理した材料につき検索した。

表 1

MATERIALS

I) Rheumatic Valvular Disease		
(1) Mitral Valves	35 (M. 15, F. 20)	39.7 ± 9.5 yr.
Stenosis predominant type	22 (M. 9, F. 13)	41.1 ± 10.3 yr.
Insufficiency predominant type	13 (M. 6, F. 7)	37.1 ± 7.7 yr.
(2) Aortic Valves	9 (M. 8, F. 1)	33.1 ± 10.7 yr.
II) Controls		
A. Non-rheumatic Valvular Disease (floppy valve syndrome)		
(1) Mitral Valves	5 (M. 3, F. 2)	50.2 ± 13.3 yr.
(2) Aortic Valves	3 (M. 2, F. 1)	32.0 ± 17.1 yr.
B. Normal Valves	62 (M. 39, F. 23)	56.5 ± 15.0 yr.

(M.: Male, F.: Female, yr.: Mean ± SD of year)

B. 方 法

切除された弁膜を直ちに生理食塩水（以下、生食水と略）にて、付着する血液を洗浄し、適当な大きさの組織片としたのち、一部は迅速に凍結し、組織凝固・線溶活性測定時まで -70°C に凍結保存した。一部はホルマリンに固定し組織学的検索に、一部は 2.0% Glutaraldehyde 液に固定して走査電顕による検索に供した。

1. 組織トロンボプラスチン活性の測定

心弁膜の組織トロンボプラスチン活性（以下、組織 TA と略）の測定は、生食水抽出による Astrup 法¹⁴⁾ に基づき行った。すなわち、弁膜湿重量 200mg を生食水 1.8ml とともに homogenize したのち、 -20°C に約 48 時間凍結保存した。その後、室温に融解して活性物質を生食水中に抽出した。さらに軽く homogenize したのち、2000rpm 5 分間遠心沈澱してえた上清を抽出液とした。組織 TA は Ca 再加凝固時間により測定した。すなわち、抽出液 0.1ml、標準人血漿 (CNP, Dade 製) 0.2ml、生食水 0.5ml よりなる反応液を 37°C 水浴中にて 2 分間加温後、0.02M CaCl_2 0.2 ml を急速に混合して凝固に要する時間を測定した。なお、実験に使用した試験管、ピペットはシリコン塗布を行った。コントロールとして、抽出液の代りに生食水 0.1ml をもちいて同様に測定し、検体の凝固時間のコントロールに対する百分率を組織 TA として表わした。

組織 TA の局在は Kwaan の方法¹⁵⁾ に準じて検索した。すなわち、 -70°C に保存された凍結組織片を Cryostat Microtome で 5μ の厚さに薄切し、無蛍光ガラス板に附着させ、50% Methanol 生食水で 30 秒間固定したのち、室温で乾燥。0.2M CaCl_2 溶液と 10%

t-AMCHA 溶液の等量混合液をかけ、 37°C で乾燥したのち、300~500mg/dl の fibrinogen を含む正常人血漿を注ぎ、1~3 分間端から端に動かして全面にゆきわたらせた。次に 200u/ml Heparin を含む生食水中で十分に洗滌。アセトンで固定したのち FITC 結合抗人 fibrinogen 血清 (Miles-Yeda 製) で染色し、蛍光顕微鏡をもちいて検索した。コントロールとしては、0.2M CaCl_2 溶液を注ぐ過程を除いて同様な方法で作製した標本をあて、この標本で認めた蛍光は非特異的なものとして除外した。

2. 組織線溶活性の測定

a. 抽出法

弁膜湿重量 200mg を生食水 1.8ml とともに homogenize したのち、 4°C cold room にて 120 分間振盪し、2000rpm 5 分間遠心沈澱してえた上清を抽出液とした。標準 fibrin 平板は、ヒト fibrinogen (ミドリ十字製) を pH 7.4 Veronal 緩衝液で 0.2% 溶液を作り、その 8ml に 60u/ml thrombin 液 (持田製) 0.1ml を加え、直径 9cm の平底シャーレに注いで作製した。組織線溶活性（以下、組織 FA と略）測定は fibrin 平板上に抽出液 0.03ml を 2~3 個ずつ置き、 37°C 18 時間 incubation 後、その溶解面積を (長径 × 短径) mm^2 として求めた。なお、fibrin 平板の感度を一定にするため、標準液として一定量の urokinase (ミドリ十字製) を平板に滴下し、その溶解面積が各平板では一定なことを確認した。

b. 新鮮組織薄切切片 fibrin 膜法

Todd の方法¹⁶⁾ に準じて行った。標準ヒト fibrin 膜は、ヒト fibrinogen (ミドリ十字製) の 1% Veronal 緩衝液 (pH 7.4) 5ml を、25u/ml thrombin (持田製) 0.5ml の入った試験管に注ぎ、直ちに振盪

混和し、10×6×0.2cmの合成樹脂で作った長方形の浅いwell内に、予めVeronal緩衝液に浸して柔軟にしたセロファンを置き、ガラス棒で凹凸のないように伸展させた中に注いだ。室温に30分間静置したのち、セロファンをつけたままfibrin膜を適当な大きさに切り、5μ薄切組織片の付着したガラス板上にすべらせ、切片とfibrin膜が密着するように被せた。標本をmoist chamberに入れ、4°C1昼夜静置したのち、37°Cの恒温槽に30分間incubationした。続いて10%ホルマリン生食水中に5分間静置して固定したのち、臭いなくなるまで流水で水洗した。その後、Harris'alum hematoxylinで30分間染色、水洗分別を行い封入した。仕上がった標本は顕微鏡下で活性因子の局在を観察する他、約16倍に拡大、写真撮影したものをPlanimeterをもちいて、溶解巣と組織面積測定に供した。一定の組織面積内にある溶解面積を、百分率として表わし、溶解率(ratio of fibrinolytic zone)と呼び、組織FAの1つの指標としてもちいた。

3. 全身凝固・線溶活性の測定

対象とした心弁膜症患者で、特に抗凝固剤の投与を受けていない症例に下記諸検査を行った。検査は手術前に行い、早期空腹時採血によった。

a. 全身凝固活性

(1) 出血時間：Duke法に従って行った¹⁷⁾。正常値は3±2分である。

(2) 血液凝固時間：Lee-White法変法¹⁷⁾によって行った。正常値は10±2分である。

(3) プロトロンビン時間：Quickの原法に準じた松岡一段法¹⁷⁾によって行った。組織トロンボプラスチンとしては、Simplastin(Warner-Lambert製)を使用した。正常値は12.0±1.0秒である。

(4) 部分トロンボプラスチン時間：Langdellの変法¹⁷⁾によった。PTT試薬は、Platelin(Warner-Lambert製)を使用した。正常値は60.0±20.0秒である。

(5) フィブリノーゲン量：Tyrosine法に基づいた松岡による方法¹⁷⁾で測定した。正常値は年齢による変動が考慮されるが250±50mg/dlである。

b. 全身線溶活性

(1) Euglobulin溶解時間(以下、ELTと略)：名市大式ELT測定装置(東洋科学産業製)をもちいて溶解時間を測定した。Euglobulin画分作製法はvon Kaulla法¹⁸⁾に基づいて行った。正常値は306±

109分であった。

(2) Plasminogen(以下、Plg.と略)およびPlasmin-Inhibitor(以下、PI-Inh.と略)：五十嵐らの方法¹⁹⁾に従い、Lysine-SepharoseをもちいたAffinity ChromatographyによりPI-Inh.(Fr. I)とPlg., Plasmin(Fr. III)に分別し、TNP法により測定した。Plasminはほとんど認められず、Fraction IIIはPlg.の力価と同義である。Plg.の正常値は4.20±0.28Cu/ml、PI-Inh.は11.59±1.57Cu/mlである。

4. 走査電子顕微鏡による検索

試料作製は、組織片を適当な大きさに切り、2.0% Glutaraldehyde液に1時間固定したのち、pH7.4燐酸緩衝液で洗滌した。さらに、1% Osmium溶液に4°C1時間浸し、エチルアルコール系列を通したのち、酢酸イソアミルで浸潤し、臨界点乾燥装置(HCP-1)を使用して乾燥させた。その後、白金パラジウムで蒸着しJSM-S1型走査電子顕微鏡で観察した。

5. 組織学的検索

新鮮薄切々片法に使用した部分に隣接した組織をホルマリンで固定し、Hematoxylin-Eosin, Azan Mallory, PTAH, Weigert, van Gieson染色を行い、組織学的に弁膜病変の検索に供した。一部floppy valveの診断には、Toluidineblue染色を併せ行った。

Ⅲ. 成績

A. 組織トロンボプラスチン活性

組織TAは、Astrup変法に基づいて凝固時間を測定し、コントロールに対する百分率で表示した。僧帽弁については、図1に示すごとくRVDと対照の間には有意差があり(p<0.01)、対照であるfloppy valveと正常弁膜の間には有意差はなかった。各弁膜間にかんがいのばらつきがみられるが、RVD 30.9±12.7%、非リウマチ性弁膜症(floppy valve) 57.6±20.7%、正常弁膜 71.1±25.8%と、RVD弁膜の組織TAが最も高く、floppy valve、正常弁膜の順であった。リウマチ性僧帽弁膜症のうち、狭窄優位型(19例)と閉鎖不全優位型(7例)を比較してみたところ、前者が30.3±13.0%、後者が32.7±12.8%で有意差は認めなかった(図2右①②)。

RVD弁膜の部位による組織TAの差をみるため、弁尖部(apical half)と弁基部(basilar half)に略2等分して測定した。弁尖部34.3±23.8%、弁基部26.3±5.1%と弁基部に高い傾向をみるも、その差は

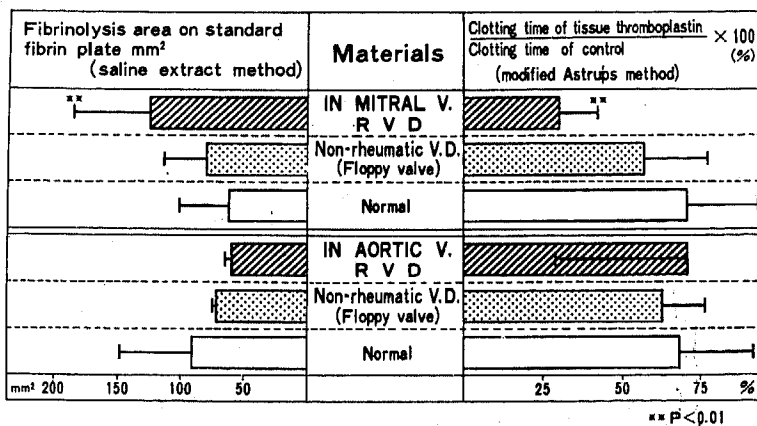


図 1 FIBRINOLYTIC & THROMBOPLASTIC ACTIVITIES OF TISSUE EXTRACT FROM VALVES

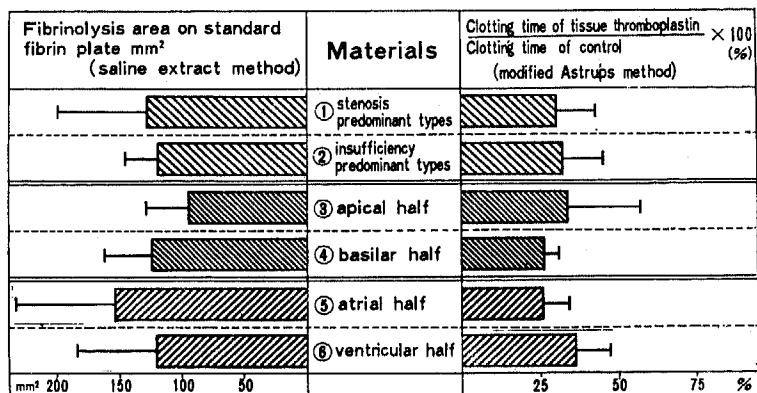


図 2 FIBRINOLYTIC & THROMBOPLASTIC ACTIVITIES OF TISSUE EXTRACT FROM MITRAL VALVE IN RVD

統計的に有意とはいえなかった(図2右③④)。一方、僧帽弁をその走行に従い左房側(atrial half)と左室側(ventricular half)に略2等分して比較してみたところ、左房側半分が26.0±8.3%、左室側半分が36.1±11.7%と、左房に面した半分がやゝ高い傾向をみたが有意差はなかった(図2右⑤⑥)。

大動脈弁については、症例数がすくなく、材料が小さいため抽出法による測定は誤差が大きく、確定的な成績はえられなかった。測定した結果は図1に示した。RVD 71.5±43.1%、floppy valve 63.0±14.1%、正常弁膜 68.3±23.8%と一定な傾向を認めなかった。

組織TAの局在を検索するため行ったKwaan法による検討では、組織TAは弁膜内皮や内皮下結合織に

おおく(写真1)、一部は疣贅付着部に強い蛍光をみた。弁膜内部では、血管新生部や細胞増生部にみた(写真2)が、硝子化した部分にはほとんど認めなかった。本法を定量的にもちいることは不適當であるが、蛍光の強さと数からRVDは対照に比べ明らかに組織TAの高い傾向を認めた。

B. 組織線溶活性

1. 抽出法による検討

生食水による抽出の問題点は後述するが、標準ヒトfibrin平板上の溶解面積(長径×短径)を3群で比較すると図1左に示すごとくである。僧帽弁については、RVD 124.8±60.1mm²、floppy valve 78.6±35.6mm²、正常弁膜 59.5±42.0mm²で、RVDと対照の間に有意差を認めた(p<0.01)。対照の間には、



写真1 RVD 症例 (MS, 45yr. M.)
組織トロンボプラスチン活性を弁膜内皮や内皮下結合織に認める。×280
(Kwaan 法)

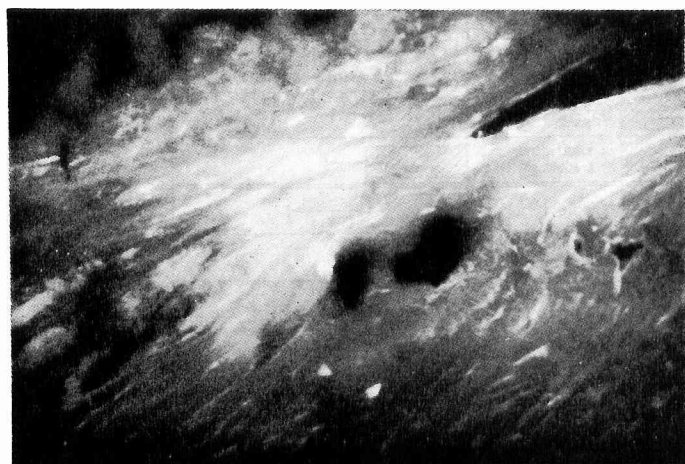


写真2 症例 (MSI+ASI, 38yr. M.)
弁膜内部の血管新生部や細胞増生部にも組織トロンボプラスチン活性を認める。×140
(Kwaan 法)

floppy valve がやゝ高い傾向を示すもその差は有意ではなかった。リウマチ性僧帽弁膜症のうち、狭窄優位型と閉鎖不全優位型の組織 FA は、前者が $127.5 \pm 71.3 \text{mm}^2$ 、後者が $118.9 \pm 26.4 \text{mm}^2$ と有意差は認めず、特に狭窄優位型のばらつきがより大きい傾向を示した (図2左①②)。

RVD 弁膜の部位による差は、組織 TA の項に記した方法と同様に行った。弁尖部では、 $93.6 \pm 34.0 \text{mm}^2$ 、弁基部 $123.5 \pm 38.7 \text{mm}^2$ と弁基部が高く (図2左③④)、左房側半分では $153.9 \pm 81.6 \text{mm}^2$ 、左室側半分 $120.2 \pm 62.5 \text{mm}^2$ と左房に面した半分にやゝ高い活性をみた (図2左⑤⑥) が、ともに有意差はなかった。

大動脈弁については、前述したごとく問題があるが、その値は RVD $58.3 \pm 2.5 \text{mm}^2$ 、floppy valve

$70.7 \pm 0.5 \text{mm}^2$ 、正常弁膜 $89.3 \pm 58.7 \text{mm}^2$ で、一定な傾向は認めなかった。

2. Todd 法による検討

本法は本来定性的な組織化学検査法で、定量的な目的にもちいることはすくなく問題がある。しかし、条件を同一とした場合、比較的低下活性領域では、plasminogen activator (以下、Plg. act. と略) 活性と溶解単面積はほぼ相関する結果をえたので、既述した線溶率にて各群を比較検討した。本法をもちいると、抽出法を行うに不適当な小さな検体、たとえば大動脈弁などの組織 FA を検索しうる利点がある。

僧帽弁における測定結果は、図3に示したごとく各群に大きなばらつきがみられる。RVD $21.5 \pm 18.8\%$ 、floppy valve $3.2 \pm 5.6\%$ 、正常弁 $4.8 \pm 5.3\%$ と、

対照に比べ RVD は有意に高く ($p < 0.01$), 抽出法による組織 FA の結果とほぼ一致した。対照とした

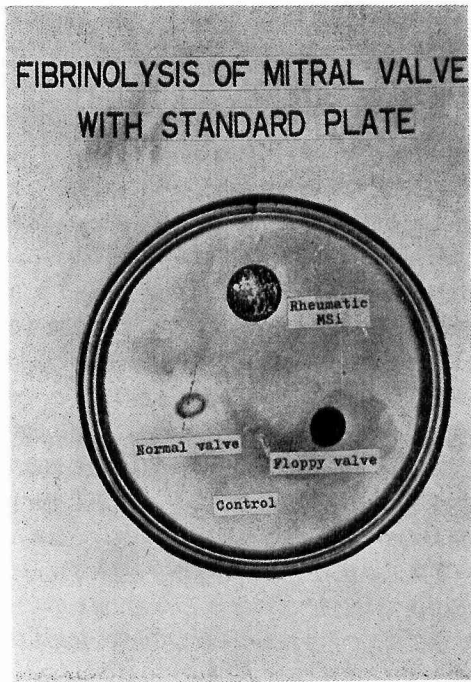


写真 3 標準ヒト fibrin 平板上の弁膜抽出液による線溶を示す。僧帽弁では RVD が対照に比べ有意に高い線溶活性を示した。

floppy valve と正常弁の間には差を認めなかった。

狭窄優位型と閉鎖不全優位型の間には、各型とも大きなばらつきがあり、前者 $19.9 \pm 20.1\%$ 、後者 $25.3 \pm 15.2\%$ と一定の傾向は認められなかった。MSのうち、以前に交連切開術を受け、再手術で人工弁置換術を受けた群 (Re-Ope 群) と初回手術で弁置換を受けた群 (1st-Ope 群) に分け組織 FA を比較してみた。初回手術群 (15例) $18.2 \pm 17.1\%$ 、再手術群 (5例) $24.8 \pm 27.5\%$ と、再手術群に組織 FA が高い傾向を認めるも、その差は有意ではなかった。

部位による差は、作製した標本を約16倍に写真撮影し、弁膜の写真の便宜上弁尖部と弁基部に略2等分し、さらに左房側、左室側、その中間部と略3等分して溶解率を測定した (図4)。RVDの結果は、図4左半分に示すごとくで、弁尖部 $9.8 \pm 11.2\%$ 、弁基部 $12.2 \pm 9.8\%$ と弁基部がやゝ高く、左房側 $8.0 \pm 8.2\%$ 、左室側 $5.4 \pm 5.9\%$ 、中間部 $8.6 \pm 7.2\%$ とやゝ左房側に高い傾向を示したが、その差はともに統計的に有意ではなかった。正常弁膜については図4右半分に示したが、部位による差はみられなかった。

大動脈弁についても、僧帽弁と同様に検討した。3群の比較 (図3) では、RVD $12.5 \pm 8.8\%$ 、floppy valve $2.1 \pm 2.1\%$ 、正常弁 $3.9 \pm 5.3\%$ と、各群ともかなりのばらつきがあるが、RVD 弁膜は対照に比べ有意に高かった ($p < 0.01$)。

大動脈弁の部位による差は図5に示すごとく便宜上

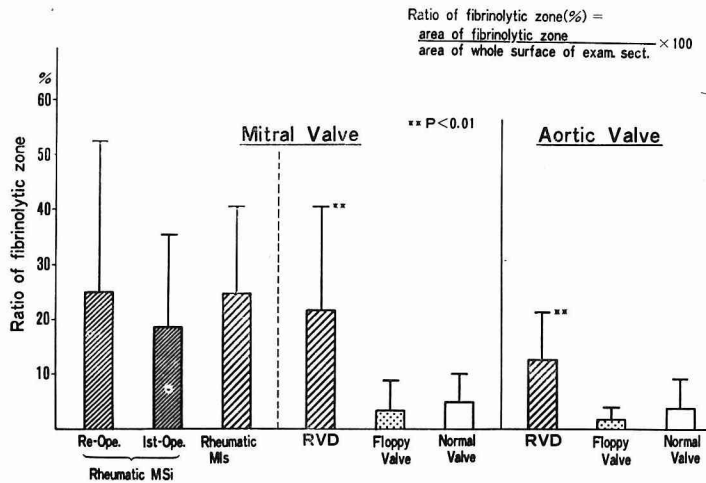
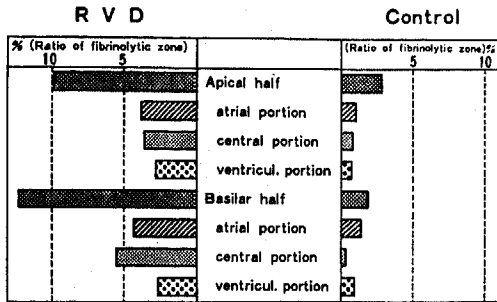


図 3 FIBRINOLYTIC ACTIVITY OF MITRAL & AORTIC VALVES (by Todd's method)

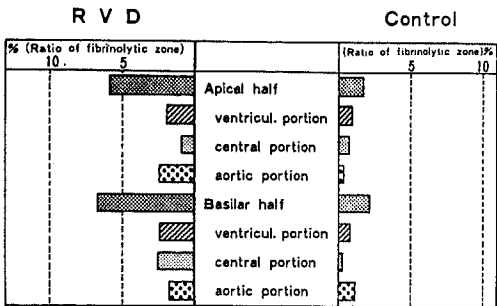
$$\text{Ratio of fibrinolytic zone(\%)} = \frac{\text{area of fibrinolytic zone}}{\text{area of whole surface of exam. sect.}} \times 100$$



Cut Surface of Mitral Leaflet

図4 LOCALIZATION OF FIBRINOLYTIC ACTIVITY OF MITRAL VALVE IN RVD (by Todd's method)

$$\text{Ratio of fibrinolytic zone(\%)} = \frac{\text{area of fibrinolytic zone}}{\text{area of whole surface of exam. sect.}} \times 100$$



Cut Surface of Aortic Cusp

図5 LOCALIZATION OF FIBRINOLYTIC ACTIVITY OF AORTIC VALVE IN RVD (by Todd's method)

6区分して検討した。弁尖部と弁基部の比較では、各々 $5.8 \pm 3.7\%$ 、 $6.7 \pm 6.8\%$ とやゝ弁基部に高く、大動脈側は $4.3 \pm 2.8\%$ 、左室側は $3.6 \pm 4.9\%$ 、中間部は $4.6 \pm 4.1\%$ と、大動脈側がやゝ高いがともに有意差はなかった。正常大動脈弁についても同様に検討したが、図5右に示すごとく有意差はなかった。

組織FAの局在では、RVD弁膜において溶解巣は新生血管には一致して認められた(写真4)。そこで弁膜切片中に認められた血管の本数を、弁膜の面積で除した単位面積あたりの血管本数を横軸に、溶解率を縦軸としてプロットすると図6のごとくである。両者はほぼ相関し、その帰式は $y = 4.6x + 7.4$ 、 $r = 0.48$ で統計的に有意であった。RVD弁膜と対照の組織FA局在の差の1つとして、弁膜表層における溶解がある。弁膜表層に溶解巣を認める例は、リウマチ性僧帽弁膜34例中8例(23.5%)に対し、対照50例中27例(54%)であった。すなわち、RVD弁膜の組織FA局在の特徴として、弁膜内部では、血管新生部を中心に溶解巣をみるが、弁膜表層部においては、認めないか(写真5)、認めてもわずかであり(写真6)、一方、対照弁膜では弁膜内部にはほとんど溶解巣がみられず、弁表層部の内皮細胞に一致して溶解を認める例がおこった(写真7)。

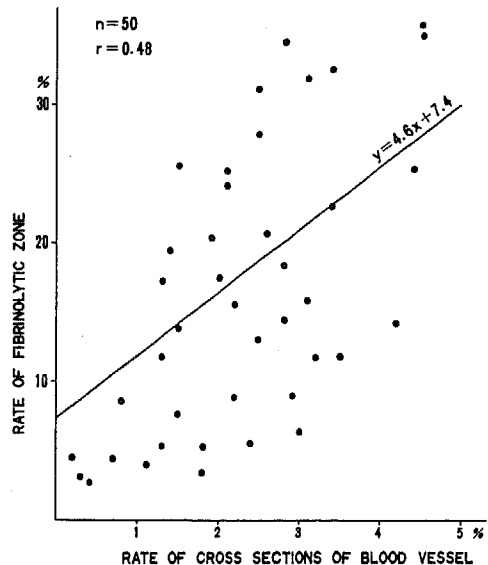


図6 CORRELATION BETWEEN FIBRINOLYTIC ACTIVITY AND VASCULARITY OF MITRAL VALVE IN RVD

写真 4 RVD 症例 (MI, 45yr. M.)
RVD 弁膜の溶解巣は新生血管にはど一致して認められる。×5

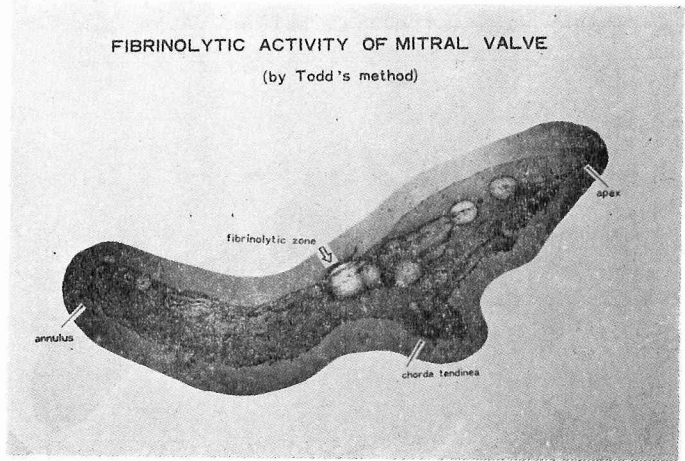


写真 5 RVD 症例 (MsI, 28yr. M.)
組織線溶活性は弁膜表層部に認めず、弁膜内部の新生血管を中心に認める。×5

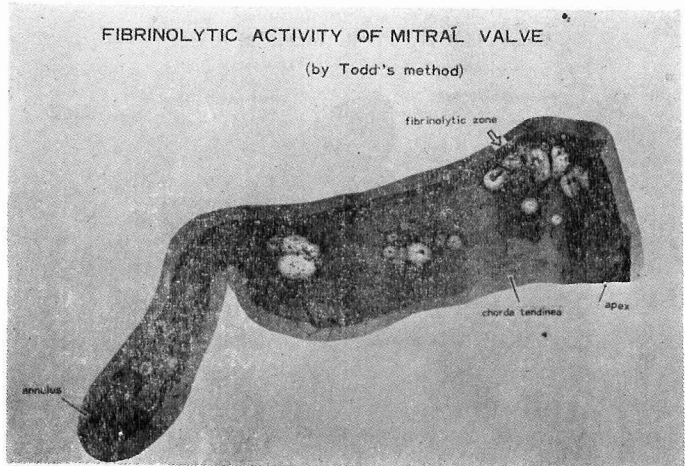
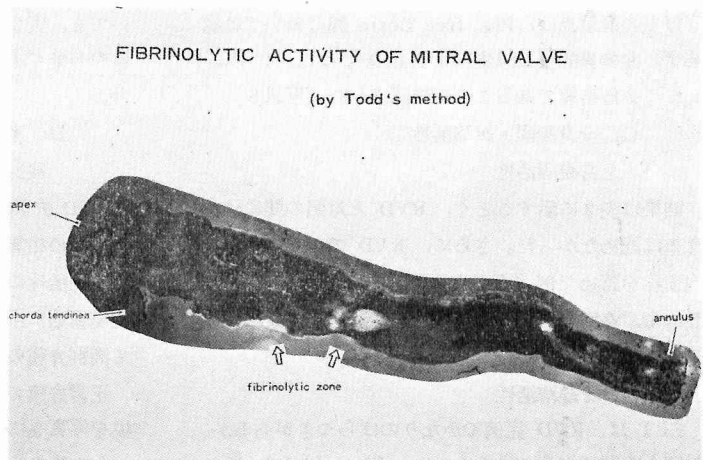


写真 6 RVD 症例 (MS, 34yr. F.)
弁膜内部の溶解巣に比べ僅かであるが弁膜表層部にも認める。このような例はリウマチ性僧帽弁34例中8例(23.5%)とすくなかった。×5



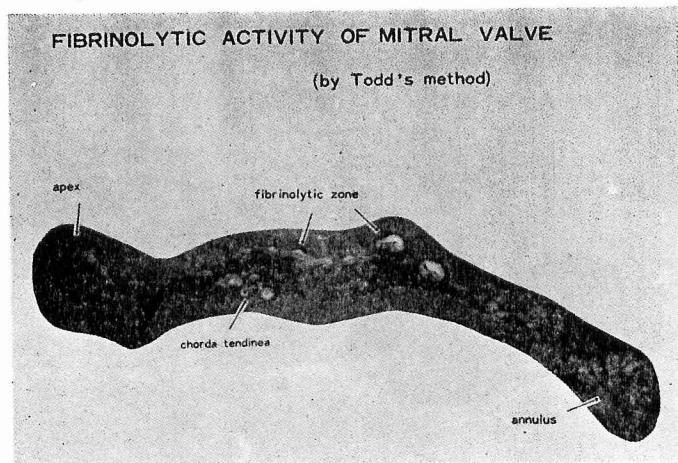


写真7 対照例 (Normal valve, 48yr. M.)

弁膜内部にはほとんど溶解巣がみられず、弁表層の内皮細胞に一致して溶解を認める。
×5

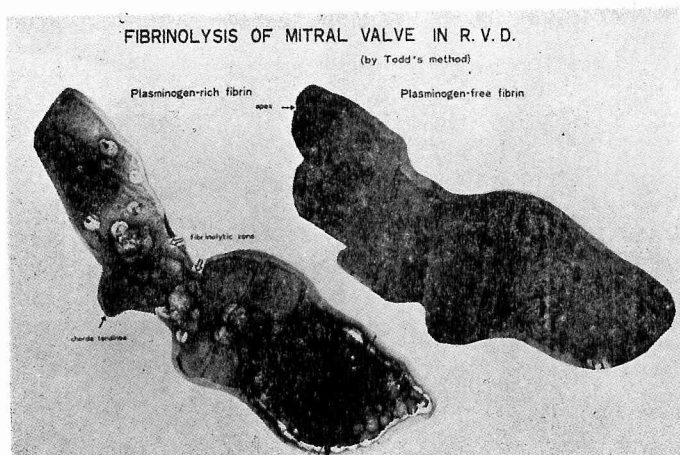


写真8 RVD症例 (MS, 36yr. M.)

溶解巣は Plg.-rich fibrin 膜に認めるも、Plg.-free fibrin 膜においてはみられない。このことから溶解は Plg. act. に因ることを示している。
×5

以上の溶解巣は、Plg. free fibrin 膜においては認めず、非特異的蛋白酵素によるものではなく、Plg. act. による溶解であることが確認された(写真8)。

C. 全身凝固・線溶活性

1. 全身凝固活性

結果は表2に示すごとく、RVDと対照の間には有意差は認めなかった。さらに、RVDで、手術時左房内血栓を認めた例(9例)と血栓を認めぬ例(26例)の間にも、今回行った5項目の検査において有意差はみられなかった。

2. 全身線溶活性

ELTは、RVD症例でかなりのばらつきがあるが、対照との間に有意差はなかった。Plg., Pl-Inh. にお

いても、表2に示すごとく両群に差はなく、左房内血栓の有無に関しても、両群に有意差はみられなかった。

D. 走査電子顕微鏡による弁膜表面構造の検討

RVD弁膜と対照における組織FA, TAの局在についての相異は既に述べた。その1つとして弁膜表面部の両活性に差を認めたので、その差異の原因が弁膜表面構造に由来するものと推定し、走査電顕をもちいて両群弁膜の表面構造を検索した。

正常弁膜でも年齢により差をみるが、若年者僧帽弁膜を写真9に示す。ほぼ一定の方向性および配列をもった丸味のある珠数様隆起物がみられ、この隆起物が

表 2 BLOOD COAGULATION & FIBRINOLYSIS STUDIES

Methods	R V D		Control
	Thrombus +	Thrombus -	
I. Coagulation Studies			
① Bleeding time (Duke) min.	3.5 ± 1.6	3.2 ± 1.1	3.0 ± 2.0
② Clotting time (Lee-White) min.	9.8 ± 1.7	9.9 ± 1.3	10.0 ± 2.0
③ Prothrombin time (Quick) sec.	12.0 ± 1.0	12.0 ± 1.1	12.0 ± 1.0
④ Partial thromboplastin time sec.	68.4 ± 12.0	61.4 ± 12.2	60.0 ± 20.0
⑤ Fibrinogen (Tyrosine) mg/dl	250 ± 49	238 ± 44	250 ± 50
II. Fibrinolysis Studies			
① Euglobulin lysis time min.	253 ± 152	287 ± 122	283 ± 81
② Plasminogen (TNP) Cu/ml	3.38 ± 0.72	3.95 ± 0.79	4.20 ± 0.29
③ Plasmin inhibitor (TNP) Cu/ml	12.3 ± 1.9	12.3 ± 1.5	11.3 ± 1.4

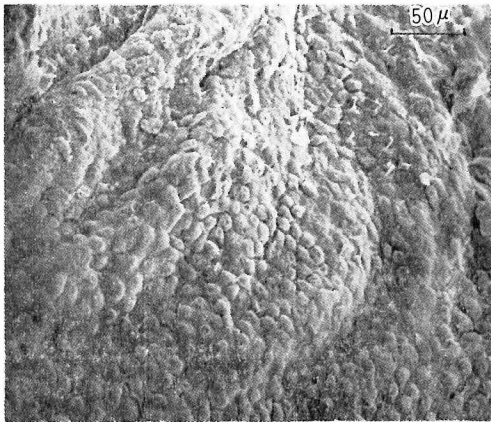


写真 9 対照例 (Normal valve, 29yr. M.) の走査電顕像。内皮細胞の輪郭は明瞭で、ほぼ規則正しく配列し、所々に穴や小突起をみる。

恐らく内皮細胞で、その中央にある突出した部分が核と思われる。内皮細胞の輪郭は明瞭で、微絨毛を有しているものもあるが、一部には認められていないものもあった。内皮細胞の一部には、所々に穴や小突起があり、内皮細胞が離開しているものも認めた。

一方、RVD 弁膜では、写真10に示すように、内皮細胞の剝離・脱落により、下層の線維構造が露呈した部分がおおく、内皮細胞の輪郭は不明瞭で、fibrin 様の線維物質が付着し、一部には verruca と思われる突出物を認めた。非リウマチ性弁膜症としての floppy valve は、正常弁膜とほぼ類似した所見を呈し、

内皮細胞の輪郭は明らかで、内皮細胞下の結合織の露呈した部分はすくなかった。一部には蜘蛛巣状の fibrin 様線維物質が表面をおおっていた。

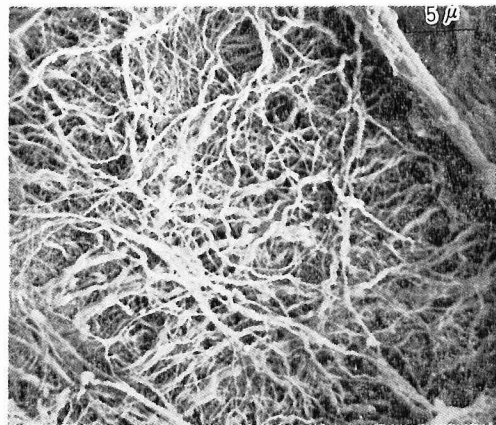


写真10 RVD 症例 (MI, 31yr. F.) の走査電顕像。内皮細胞は剝離、脱落し、下層の線維構造が露呈した部分がおおい。

IV. 考 案

A. 組織凝固・線溶活性について

1. 組織凝固活性性と血栓形成

血栓症の要因として、Virchow (1856) 以来、(1) 血管壁の性状の変化、(2) 血流の変化、すなわち、血流の緩徐化や停止、あるいは、渦巻き運動、(3) 血液成分の変化。などが関与するといわれてきたが、これ

らは今日でも血栓形成の基本的な要因と考えられている²⁰⁾。近時、血栓形成の機序について、おおくの事実が明らかにされてきたが、Deykin²¹⁾によれば、その発現はまず障害された、あるいは、機能的に異常となった血管内皮に血小板が付着し、疎な可逆性の凝集塊を作ることに始まる。続いて血管内皮と血小板から、Adenosin diphosphate (ADP) が遊出、および微量の thrombin の作用によって、すでに粘着していた血小板に新しい血小板が粘着し、viscous metamorphosis を起し、互に融合し白色血栓が形成される。さらに、血液が露呈した内皮下の collagen や、内皮細胞より遊出した組織トロンボプラスチンと接触することにより、内因性および外因性凝固系の2つの経路をたどって、非活性型凝固因子が活性化される。こうして形成された活性型 thrombin が、fibrinogen に作用して不溶性 fibrin を作り、赤血球などが膠着し、赤色血栓の形成により完結する¹⁷⁾²⁰⁾²¹⁾。

組織トロンボプラスチンは組織のリポ蛋白質中に存在し、特に、脳、肺、網膜、前立腺、動脈内膜などにおおく含まれている¹⁴⁾。血管壁に TA を認めたのは、O'Brien²²⁾、Astrup ら²³⁾で、ヒト大動脈では、本活性は内膜に最も強く、次いで中膜、外膜の順に低くなると報告している。Zeldis ら²⁴⁾は、peroxidase 結合抗体をもちいて組織トロンボプラスチンの局在を研究し、血管内膜、ことに内皮細胞の原形質膜やアテローム斑に高濃度に認め、止血や血栓に重要な意義を有していると述べている。さらに、大動脈弁への局在についても言及し、内皮下心内膜を含めた心室側表面により強い組織 TA を認め、大動脈表面は内皮細胞層のみに認めたと報告している。本研究での Kwaan 法による検討でも、正常弁膜には内皮細胞層、及び一部内皮下組織に認めるのみであったが、大動脈弁についての局在には一定の傾向は認めなかった。Spaet ら²⁵⁾によれば、内皮細胞膜に組織トロンボプラスチンが含まれることは免疫学的にも証明されており、正常状態では不活性であるが、傷つくと活性状態になるとしている。しかし、血管内凝固は内皮細胞がこわれるだけでは起らず、内皮細胞が剝離し、内皮下結合組織が露出する際に生ずると述べている。そして、凝固作用を決定する因子として、血流の緩徐化、内膜の不整による乱流や trapped vortex を挙げている。住吉²⁶⁾も、壁に血栓の形成には内皮細胞の剝離、内皮下組織、ことに microfibrils と膠原線維の露出が必要であると報告している。一方、健常血管では内皮細胞より放出される

Plg. act. によって、血小板の付着は阻止され血栓は作られないとの報告もある。RVD 弁膜が健常弁膜に比べ弁表面に血栓形成を起しやすいことは、組織 TA の結果や走査電顕所見から予想されるが、血流も重要な因子として関与しているものと考えられる。Leonard²⁸⁾は血栓形成の流れの4つの基本的パターンを挙げ、血栓形成とその予後に流れが重要な役割を演じていると指摘し、Stein ら²⁹⁾も、血栓の量が乱流の強さ(レイノルズ数)と相関し、乱流が層流に比べ血栓形成を起し易く、その血栓形成機序は、①ズレ、②管壁との衝突、③異物表面との接触時間による血中の有形成分への影響、を挙げている。RVD の血行動態と血流変化を考えると、弁膜への血栓形成がますます起り易いものと考えられる。血栓形成が起れば、透過性物質の放出、脂質を含む血漿中諸物質の沈着が促され、弁膜症の進展が予想される。

2. 組織線溶活性の測定法

線溶現象は酵素の量と関係し、組織 Plg. act. の多寡がその活性を左右するといった量的性質をもつものと考えられる³⁰⁾³¹⁾。組織 FA の測定は、組織抽出液を fibrin 平板上に置いて溶解面積を測定する方法³²⁾、試験管内で組織抽出液を fibrinogen と共に凝固させて、fibrin が溶解するまでの時間を測定する方法³³⁾、新鮮組織薄切薄片を fibrin 膜上に置いて溶解巣を顕微鏡的に観察する方法¹⁶⁾、一定量の組織片を fibrin 平板上に置いて溶解面積を測定する方法³⁴⁾など種々ある。

動物組織中における非水溶性蛋白である Plg. act. の発見は Astrup と Permin³⁵⁾で、この活性化因子を fibrinokinase と名付けた。この組織線溶活性化因子は、ことに酸性下で安定³³⁾で、不溶性蛋白と結合³⁶⁾しているため、一般にその定量的検索には KSCN 抽出法を用いた Astrup の fibrin 平板法³²⁾で行うことがおおい。Albrechtsen³⁷⁾は、生食水で抽出される組織 act. には、pH 3 で 30°C 30分加熱により失活する labile type と、KSCN で抽出され酸に安定な stable type の2種があり、labile type は、ヒト肺、リンパ節、副腎におおく含まれ、血液 act. と同一のものであり、stable type は、KSCN でよりおおく抽出されるが、非生理的であるとしている。一方、KSCN 抽出法では、酸処理によって対象組織に不可避免的に混入してくる血液成分を除外でき、能率的であるとの指摘はおおい³⁰⁾³¹⁾³⁸⁾。抽出液として、2M-KSCN、生食水のほか、1M もしくは 2M-KCl、2M-KI、20~30%蔗

糖, 5M あるいは 7M 尿素, 0.3M 醋酸ソーダなどがもちいられている。生食水による抽出法は, 古くは Permin³⁴⁾による豚心臓の抽出液に強い組織 act. を認めたとの報告もあり, 安部³⁴⁾も, 2M-KSCN よりすくないが, その抽出液に組織 act. を認めている。甲賀³⁹⁾は, ラットの肺および腹水腫瘍について抽出液として生食水をもちいて検討したところ, 抽出液中に比較的高い act. の存在を認めており, 抽出液は測定の対象となる臓器組織によって適宜に選択すべきであると指摘している。著者は, 2M-KSCN と生食水を抽出液としてもちいたが, 後者に高い活性を認めたので, 生食水による抽出法を行った。

新鮮組織薄切々片 fibrin 膜法¹⁶⁾は, 組織 act. の局在を検討する方法であり, fibrin 膜を一定の厚さにすることや, 操作時間, 室温を一定にすることが難しく, 正確な定量は困難と考えられている³⁸⁾。一方, Kwaan ら⁴⁰⁾は, 明瞭な溶解液を作るに必要な incubation の最短時間を focal lysis time と呼び, それが組織 act. 濃度と相関するとして定量化を試みている。Sraer ら⁴¹⁾は, 成鼠の腎糸球体を単離し, 本法をもちい糸球体の線溶活性を測定する際に, 溶解巣直径と糸球体直径の比を線溶指数として測定し, それは再現性がよく, incubation 時間に相関すると述べている。Franz ら⁴²⁾も本法を定量的測定としてもちいている。本研究では条件を一定とし, fibrin 膜の感度が測定毎にほぼ同程度であることを確めた上で, 組織 FA の示標として溶解巣の組織切片面積に対する百分率をとり, 溶解率として比較検討した。その結果は抽出法の値とほぼ一致した。なお, incubation に関して, 原法¹⁶⁾は 37°C, 30~60分間とあるが, 4°C で 1 昼夜静置させることにより, 低濃度の Plg. act. に対する感度を高め得るとの報告⁴³⁾もあり, 対象とした心弁膜の組織 act. は低濃度であることが予想されたため, 4°C 1 昼夜静置後, 37°C 30分間 incubation することに統一した。ヒトの種々組織の線溶活性を測定した従来¹⁶⁾の研究は, ウシ fibrinogen をもちいることがおこった。しかし, Warren⁴⁴⁾は, 家兎下大静脈や大動脈からの薄切々片は, 家兎 fibrin を溶解するも, ウシ fibrin では溶解しなかったと述べ, 小野山³⁸⁾も同種属の組織と fibrin との組合せが強い溶解を示したと報告している。線溶酵素には種属特異性があり, 特に線溶活性が弱い場合, 同種属の fibrinogen をもちいることが必要であり, 本研究ではヒト fibrinogen をもちいた。

3. 組織線溶活性の局在について

組織 act. は細胞内顆粒に存在し, 一般に microsome にあるといわれている³⁰⁾が, lysosome⁴⁵⁾あるいは mitochondria⁴⁶⁾に存在するともいわれている。血管壁の組織 act. についてはおおくの研究があり, 古くは Mole⁴⁷⁾により屍体の血液が流動性なのは, 血管内皮から放出される活性物によると指摘された。Coccheri ら⁴⁸⁾は, 大血管の線溶活性を 2M-KSCN 抽出液で測定し, 大静脈>肺静脈>肺動脈>大動脈の順で, その局在は外膜が最も高く, 中膜, 内膜の順に低くなるとしている。Astrup ら⁴⁹⁾は, 動脈硬化患者よりえた大動脈中膜に線溶活性を認め, 外膜では正常に比べ線溶活性が高く, そうした所見は血管新生との関係によるものと考えた。血管内皮から組織 act. 放出を認める報告²⁰⁾³⁸⁾⁵⁰⁾⁵¹⁾⁵²⁾はおおく, 血液の流動性は, 血管内皮細胞に Plg. act. が存在し, 絶え間なく放出されているためと考えられている⁵³⁾。McDonald ら⁵⁴⁾は, ヒト大動脈内皮細胞を培養し, 培養内皮細胞に線溶活性を認めている。

血栓と内皮の関係は, 血栓の付着した静脈内皮には Plg. act. を欠き, Plg. act. を認めれば血栓は消失するとの報告⁵³⁾や, ラットの静脈内皮を薬剤により破壊すると, 内皮の線溶活性は失われ, 血栓形成に進むことが認められている⁵⁵⁾。Sawyer ら⁵⁶⁾は, 血栓形成の初期段階に血管内皮の果す役割を検討し, 内皮が毒物刺激や血栓形成に防禦的役割を果し, 正常内皮は血小板が吸着しないように, 血小板の活性化や血小板からの放出機転に防禦的に働くとして述べている。Warren⁵¹⁾も内皮の役割として, Plg. の活性化することにより内皮表面への fibrin 沈着を防ぐことであるとしている。RVD 弁膜の Plg. act. 局在は, 弁膜表層部にすくなく, おおくは弁膜内部の新生血管に一致しており, 一方, 正常弁膜では弁膜表面に認める所見からも, 組織 FA の主たる局在は内皮細胞にあると考えられ, 血栓形成に防禦的役割を果しているものと思われる。

さて, 正常弁膜に血管が存在するか否かについては, 1930年代におおくの報告がある。Gross と Kugel⁵⁷⁾は, 弁膜に血管が存在しているのは慢性炎症が存在する証拠であると述べ, Koletsky⁵⁸⁾は 150 例の心臓を検索し, 僧帽弁に肉眼で認める血管はリウマチ性心臓病の痕跡と考えた。一方, Wearn ら⁵⁹⁾は, 特に炎症を思わせる既往歴や組織所見を有さない成人の心臓弁膜に豊富な血管を認めたと報告し, Clarke⁶⁰⁾は,

Coslett Nixon X-ray projection microscope をもちいて弁膜に傷害を持たない心臓について検索し、僧帽弁の10%、大動脈弁・肺動脈弁の24%、三尖弁の16%に血管を認めた。しかし、Gould⁶¹⁾は、高令者の房室弁に血管をよく認めることがあるが、こうした症例は心内膜炎の既往をもつことがおおく、若い健康人の弁膜には血管を認めず、もし房室弁に血管が豊富に存在していれば正常とはみなすことはできず、以前に病的变化があった結果であるとしている。

今回の研究では、Plg. act. に対する阻害因子については検索されていないが、Warren⁶¹⁾は、各臓器の血管の間に線溶活性の差をみるのは、血管壁自身に含まれる組織 act. の差に因るといよりは、むしろ活性阻害因子の量による差ではないかと述べている。Hegt ら⁶²⁾も、fibrin slide sandwich 法を考案して組織 PI-Inh. の局在を検索し、内皮の線溶活性の差異は内皮自身に含まれている Plg. act. の差というより、むしろ PI-Inh. 活性の差に因ると述べている。活性阻害因子については今後の課題である。たゞし、Hegt らの研究では、平滑筋細胞に PI-Inh. を多量に認めているが、弁膜やその新生血管には平滑筋細胞は認めず、PI-Inh. が大きく関与しているとは考えにくい。

B. RVD の凝固・線溶活性について

Macfalane ら⁶³⁾は、炎症や外傷の際組織内に fibrin が形成され、治癒過程において Plasmin や蛋白分解酵素の作用により溶解されることを指摘した。Astrup⁶⁴⁾は、fibrin の沈着と除去があらゆる組織における組織傷害時の修復機構としておこり、局所から放出される組織トロンボプラスチンと組織 Plg. act. がこれに関与しているとの仮説を発表した。以来、動脈硬化との関連で血管壁組織凝固・線溶活性についておおくの研究がなされてきた²²⁾²⁵⁾³⁸⁾。

RVD がリウマチ性心炎に引き続き発生することは疑いないが、心弁膜の炎症、治癒過程に組織凝固・線溶活性が関与する可能性は十分にあり、両活性により RVD の発生・進展が影響されることも考えられる。本研究は RVD 弁膜の組織凝固・線溶活性を測定し、その発生・進展への意義を明らかにすべき目的で行った。

1. RVD における弁膜局所凝固・線溶活性値とその局在

RVD における両活性値は対照に比べ有意に高く、両活性に平衡関係を認めた。その局在は弁基部に高

く、僧帽弁においては左房側に、大動脈弁では大動脈側により高い傾向を認めるも、その差は統計的に有意ではなかった。こうした関係は僧帽弁において、抽出法、Todd 法で一致していた。

組織 TA の局在は、弁膜内皮および内皮下結合織や、疣贅付着部、新生血管の内皮やその周囲に認められた。RVD の組織 TA は対照に比べ有意に高く、その局在を考え併せると、RVD における内皮の脱落や血行動態が、血小板や fibrin の沈着を促す一方、弁膜に血漿成分の浸潤を容易とし、lipo 蛋白中に存在するトロンボラスチン増加が RVD の組織 TA 増加の一因と考え得る。動脈硬化の成因として、fibrinogen が lipo 蛋白およびアルブミンや他の血漿成分と共に内膜へ侵入することに因る、いわゆる浸潤説を支持する報告⁶⁵⁾⁶⁶⁾はおおく、弁膜にも同様な現象が起っていることは十分考え得る。Pomerance⁶⁷⁾は、僧帽弁のアテローム形成は軽度のものまで含めれば、55才以上の患者の99%に認めると指摘している。こうして組織トロンボラスチンをおおく含む内皮細胞の傷害による放出、そこに付着する血小板からの放出、血漿成分の浸潤による組織トロンボラスチン増加は、流血中の fibrinogen を fibrin として局所に沈着させ、弁膜肥厚へと導く一因となろう。

組織 FA の局在は、血管新生部を中心に、一部弁膜内皮細胞や炎症細胞に認められたが、既に器質化した古い病変部には認めず、そうした部分の血管には溶解巣を認めぬか、認めても弱い活性を示した。こうした所見は、新旧病変が混在し、再燃を繰り返す RVD 弁膜の1つの特異的所見と考えられる。組織 FA にかんがりのばらつきを認めたのも、活動病変を含んだ弁膜がある一方、石灰化、硝子化した陳旧病変を含んだ弁膜があったためと考えられた。新生血管を中心に線溶活性が高い理由として、その内皮細胞自身からの Plg. act. 放出に因るものと考えられるが、心筋は血液 Plg. act. の供給源であることを、RVD 患者の右房、冠静脈洞、大腿動脈からの採血で認めた Menon らの報告⁶⁸⁾を考えれば、弁膜への血管は心筋間質を走る血管が延長したものであり、その血管周囲に活性が高い一因として、Plg. act. に富んだ血液の循環・浸透によるものも考え得る。

RVD において両活性が弁基部に高い理由として、Clarke⁶⁹⁾は、弁膜の血管は弁基部より弁尖に向かって走ると報告し、Farrer-Brown ら⁶⁹⁾は、リウマチ性心疾患の18例の弁膜血管構築の過程を検討し、軽度房室

弁障害の際には血管は弁輪に先ず認め、弁膜の内膜に沿って認めるようになり、弁が線維化・石灰化を起すようになると減少すると述べている。そうした血管構築がその一因と考え得る。また、僧帽弁において心房側に高い理由は、血管構築の他に、血漿成分の浸透が考えられる。Rodbard ら⁷⁰⁾は、MS では血液成分沈着が左房側に増加することをモデル実験で証明している。一方、RVD 弁膜の表面部に組織 FA が低いことは、内皮細胞の脱落が一因であり、対照では弁膜内皮細胞に活性を有し、弁膜への fibrin など沈着を防禦しているものと考えた。Warren⁴⁴⁾は健康血管を Frozen häutchen preparation 法を用いて検索し、内皮細胞層のみに線溶活性を認めている。

僧帽弁膜症の種類による組織 TA, FA 活性は共に有意差はなかった。岡田ら⁷¹⁾は、狭窄優位群と閉鎖不全優位群の間に、新生血管分布など組織変化の差異や、コンドロイチン硫酸の反応が異なると報告しており、両活性の差があるか注目したが、今回の対象には差を認めなかった。

MS の再手術群と初回手術群の間には、再手術群に組織 FA が高い傾向をみたが有意差はなかった。再手術群に高い傾向を認めた原因として、血行力学的負荷の増加、血流刺激の増大、リウマチの再燃、加齢による変化などが考えられた。なお、再手術群の患者平均年齢は41.2才で、初回手術群は32.3才であった。

2. 非リウマチ性弁膜症 (floppy valve syndrome) の弁膜局所凝固・線溶活性

非リウマチ性弁膜疾患の存在が最近注目されるようになり、Wexler ら⁷²⁾は、成人僧帽弁閉鎖不全症(以下、MI と略)の43%は非リウマチ性であると述べ、Roberts⁷³⁾は、病理から僧帽弁疾患の24%は非リウマチ性と報告している。Shulman ら⁷⁴⁾も、連鎖球菌抗体試験により、原因不明な僧帽弁疾患に多数の非リウマチ性僧帽弁疾患の存在を認めている。

非リウマチ性弁膜症として、今回は floppy valve について検討し、RVD 弁膜の局所凝固・線溶活性と比較した。floppy valve は、1965年 Read ら⁷⁵⁾により命名された弁膜の粘液変性により引き起された純 MI を伴うもので、Cooley ら⁷⁶⁾は、肉眼的、組織学的所見などから診断基準を設けた。本群の組織 TA, FA は、両活性とも抽出法で正常弁膜よりやや高い傾向を示すも有意差はなく、Todd 法による線溶率はほぼ同値であった。Astrup ら⁷⁷⁾は、線溶活性には動脈結合織のムコ多糖が関与することを推定しており、ムコ多

糖の抗血栓効果についての報告⁷⁸⁾と併せて、酸性ムコ多糖の増加した floppy valve には線溶活性の高いことが想像された。しかし、実際には正常弁膜と大差がないことは、その分子量や硫黄含量により抗凝固性は異なり、硫酸基を含まないヒアルロン酸やコンドロイチン硫酸に血栓形成抑制能はないとの報告⁷⁹⁾もあり、その含まれている酸性ムコ多糖の成分や含量などによるものと考えられた。

3. 全身凝固・線溶活性について

RVD 患者の全身凝固活性は、左房内血栓の有無にかかわらず対照と有意差を認めなかった。教室の渡辺⁷⁹⁾も、心弁膜症患者の凝固活性を測定し、プロトロンビン時間、部分トロンボプラスチン時間、フィブリノーゲン値、ヘパリン凝固時間について、対照と差が無かったと報告している。一方、逆の結果を認めているものもあり¹⁷⁾、Moroz⁸⁰⁾は非活動性リウマチ性心炎の凝固・線溶活性は健康者に比べ有意に低く、こうした反応低下が血栓の発生、進展に意義を有すると述べている。Rawles ら⁸¹⁾は、心不全を有していない心疾患患者では Plg. act., Plg., Plg-act. Inh. に差はないが、心不全を有する患者ではそれらの値が低下し、さらに、心不全患者でうっ血を有する例では、ELT は延長し、頸静脈圧の高さと逆相関すると述べている。しかし、今回の検索では全身線溶活性についても対照と有意差は認めなかった。全身凝固・線溶活性が局所の変化と相関しない理由としては、局所より放出された組織因子が循環していくうちに稀釈されて活性が下がることや、血中で抗 Plg. act. や抗 Plasmin などにより中和消費され、血液を正常に戻そうとした機序が働くことも推定される。また、報告者により結果が区々なのは、対象の相異、測定法や採血する時期などの不一致によるものと考えられる。Soardi ら⁸²⁾は、homologous serum 注入と静脈を部分的狭窄作製により犬の静脈に血栓を作り、線溶因子の測定を行っている。そのうち、Plasmin 活性は血栓形成初期に上昇するも、60分以内に正常に戻り、部位では、血栓形成部を流れた血液は、血栓より遠位側で採取した静脈血に比べ Plasmin 活性は高く、血栓形成部より Plg. act. が放出されることが示唆されたが、それらの反応は長くても24時間以内に正常に戻り、血栓の増殖のコントロールとは無関係と考えられると報告している。一方、教室の高見沢⁸³⁾は同様な Wessler の方法⁸⁴⁾に準じた家兎の実験で、血管壁の障害をさけ血流を緩徐にさせた上に血液凝固能を亢進させると、静脈

は勿論、動脈中にも血栓が生じ得ることを認めた。この動物実験の結果から心弁膜症の血行動態を考え併せ、血液凝固能亢進が左房内血栓形成に関与するものと推定されたが、今回の研究では対照と差がない結果をえた。しかし、既に述べたごとく測定時期、血栓部分を通れた直後の血液をもちいた場合などで、異なる成績を得る可能性もあろう。Naimi ら⁸⁵⁾も動脈壁の凝固・線溶機構への表面効果をみる場合、検体として動脈血をもちいるべきであると述べている。

心房細動の有無と左房内血栓について、既に関係あるとするおおくの報告があるが、今回の対象では、僧帽弁膜症で心房細動を有する者31例中8例(25.8%)に手術時左房内血栓を認めた。一方、心房細動を持たない4例には1例も血栓を認めず、血栓形成に関して血流の変化が大きな意義を有することが了解された。

4. 走査電顕所見について

ヒト心弁膜の走査電顕像に関する報告はいまだ少ない。大高ら⁸⁶⁾は、剖検によりえた正常心内膜は、ほぼ一定の方向性および配列をもって丸味のある珠数様隆起物、すなわち内皮細胞によりおおわれ、内皮細胞列相互は互に突起物により連絡され、正常ヒト僧帽弁表面には、パラシュートを見る様な無数の皺が走ると報告している。さらに、RVD 僧帽弁ではフィブリン様線維物質の付着が著明に認められたと述べている。原崎ら⁸⁷⁾は、光顕レベルで正常と思われる部位でも、RVD 弁膜の内皮細胞は広範に脱落し、内皮下の結合組織が露出しているとして、ほど著者のえた所見に一致している。正常弁膜の内皮細胞に多数の微細絨毛様突起を認めた例もあったが、Harasaki ら⁸⁸⁾は、猿の心内膜内皮表面を走査型と透過型電顕で観察し、微細絨毛を認め、同一弁膜でも部位により著しく異なり、その生物学的意義の解明は後天性弁膜疾患の機序解明に有用であると指摘している。さらに、辺縁の隆起や微細絨毛については標本作製中容易に消失すると述べている。田中²⁰⁾は、凝血塊、fibrin 塊、fibrinogen などを連続静注すると肺動脈内皮の微細絨毛の増加を認めている。RVD 弁膜と対照の表面微細構造を比較する場合、採取条件が手術例と剖検例では異なることを考慮し慎重であらねばならない。Katsumoto ら⁸⁹⁾は、人工心肺で40~100分間の anoxic state が持続すると心内膜細胞の規則的配列が失われ、細胞の不規則な膨化も認めるようになることを報告している。また、Edanaga⁹⁰⁾は、家兎の胸部大動脈の観察で明らかな辺

縁ひだど、多数の毛髪状突起を内皮細胞に認めるが、強く洗滌すると不明瞭になり、場合によると標本作製中に脱落したり、人工的に縮みを作ることを認めている。本研究の材料はヒト弁膜であり、生理的状态のまま固定することもできず、その上、症例数もすくなく現段階で断定的な結論は引出しえない。しかし、組織凝固・線溶活性の局在の差異は、内皮細胞によるものが一因と考えられ、RVD の内皮細胞剝離や内皮下組織、ことに collagen や microfibrils の露出が血栓を形成させる条件を提供するものと想定された。

C. RVD の発生、進展と弁膜組織凝固・線溶活性との関連性について

以上述べたごとく、RVD の弁膜組織凝固・線溶活性はともに対照に比べ高く、その発生、進展の一因として何んらかの関係を有していることが推定される。リウマチ性弁膜の肥厚、狭窄の発生機序に関して2つの見解があったことは既に述べた。Magarey¹¹⁾は、MS の発生、進展の一因として Rokitsky の主張する過程があると述べ、その証拠として、剖検した250例の僧帽弁で7%に弁表面の fibrin 沈着を認め、30例の RVD のうち弁表面の fibrin 沈着を認めた者は70%におよび、血栓が器質化され多年にわたって MS が緩徐に進展していく過程を裏付けるものであるとした。Tweedy⁹¹⁾も、リウマチ弁膜に血栓性沈着物を高頻度に認め、急性期に広く広がる性状や、如何なる弁尖にも、全ての年齢層にしばしば認める事実から、こうした沈着物がリウマチ弁膜の肥厚の原因と考えた。最近では、Dubin ら⁹²⁾は、初期変化は RF によると考えられるが、中年に MS が進行するのはリウマチの活動が続いているのではなく、血流などによる弁膜への機械的傷害が働くためであると述べ、Selzer⁹³⁾も同様な考えをしている。Rodbard ら⁷⁰⁾は、モデル実験より血流パターンや圧が弁膜症進展に関与することを推定している。Roberts ら⁹⁴⁾は、大動脈弁狭窄について年輩者におおく、リウマチ性のものより先天性大動脈弁疾患に長年月の機械的刺激・年齢因子による石灰化などの二次的非特異的变化が加わって生じたものがおおいと述べている。以上の指摘と今回の研究結果を併せ考えれば、RVD の発症、進展について以下のように考えられる。すなわち、血流や圧など機械的刺激、加齢による変化など非特異的变化が弁膜内皮細胞を傷害し、ある場合は脱落・剝離して基底膜や collagen の露出を引き起し、ある場合は内皮細胞の barrier としての機能を障害する。そうした変化に続き、血小板

表 3

Incidence of a history of Rheumatic Fever
in the RVD cases of this study

1. Mitral Valvular Disease	19/35 (54.3%)
Stenosis predominant type	9/22 (40.9%)
Insufficiency predominant type	10/13 (76.9%)
2. Aortic Valvular Disease	6/9 (66.7%)

の付着、フィブリンや血液成分の沈着が起るものと推定される。血小板の付着は、ADP 放出による血小板粘着を招き、また、血小板から serotonin, histamin といった血管透過性亢進物質が放出され⁹⁵⁾、血中の凝固蛋白, lipo 蛋白などが内皮下に蓄積される⁷⁰⁾⁹⁶⁾。それにより凝固活性が高まり、流血中の fibrinogen を fibrin として局所的に沈着させ、弁膜は肥厚、狭窄を進展していくことが推定される。弁膜表層の組織 FA の低下はこうした変化を助長させよう。一方、Tomkins ら⁹⁷⁾は、嚴重に Penicillin 投与することにより、MS は 1 例も発生しなかったと報告している。しかし、今回の対象となった RVD が全て RF の再燃を有していたとは考えられない。表 3 に対象となった症例の RF 既往を示したが、MS 症例には明らかに既往を欠く例がおおく、リウマチ以外の関与が推定される。MS の交連切開術後の再狭窄についても、一部は RF の再燃によるものと考えられるが、そうした例は案外すくないとの報告⁹⁸⁾もあり、完全な切開例で、RF の再燃が明らかでない例にも再狭窄が認められることから、弁表面の裂開による不規則きが血栓形成を引き起し再狭窄に進展させたものと推定される。弁膜内部の血管周囲に認めた線溶活性は血管新生の結果とも考え得るが、滲出する fibrin など炎症産物を処理、融解し、新生血管の閉塞による肥厚した弁膜の壊死を防ぐといった役割も考えられる。

一方、正常弁膜では、弁内皮の線溶活性により fibrin や凝固蛋白の沈着を防ぐ他、血漿成分の弁膜透過を阻害する線維化などがなく、弁膜肥厚は防止されているものと推定される。

組織凝固・線溶活性が、RVD 発生、進展に関与する一因か、その結果であるか、現在のところそれを決める証拠は無いが、RVD の発生、進展と関連を有することは十分推察される。

V. 結 語

RVD の切除弁膜の組織 TA ならびに組織 FA を抽

出法、新鮮組織薄切片片をもちいた方法で測定し、RVD の発生・進展における意義について検討した。

1. RVD の弁膜組織凝固・線溶活性は対照に比べ高く、両活性にほぼ平衡関係を認めた。

2. RVD 弁膜の組織 TA の局在は、弁膜内皮および内皮下結合織や疣贅付着部、新生血管内皮とその周囲に認めた。

3. RVD 弁膜の組織 FA の局在は、弁膜内部の新生血管周辺に強く、新生血管数とほぼ相関していたが、弁膜表層には活性は減弱していた。一方、対照弁膜では弁膜表層の内皮細胞に一致して線溶活性が局在しており、弁膜内部にはほとんど認められなかった。

4. 組織 FA は Plg. act. に由来しており、非特異的蛋白酵素はほとんど認められなかった。

5. RVD の僧帽弁・大動脈弁とも両活性は弁基部に高く、僧帽弁では、左心房側に高い傾向をみたが、ともに有意差はなかった。

6. リウマチ性僧帽弁膜症で狭窄優位型と閉鎖不全優位型には両活性とも差を認めなかった。MS のうち、弁置換術の前に交連切開術を施行した再手術群は、施行していない初回手術群に比べ、組織 FA の高い傾向を認めたが有意差ではなかった。

7. 全身凝固・線溶活性は RVD 症例と対照の間に差を認めず、RVD のうち左房内に血栓を認めた例と認めぬ例にも差はなかった。

8. RVD 弁膜の表面微細構造は、対照と異なり内皮細胞の剝離、脱落による下層の線維構造の露出を認め、フィブリン様線維物質の付着がおおかった。こうした所見は RVD 弁膜表面に凝固活性が高く、線溶活性の低い所見と併せ考えると、弁表面への血栓沈着を容易にし、弁膜肥厚への関与が推定された。

RVD の発生、進展には、RF が大きな因子であると考え得るが、それにより全てを説明することは困難である。RVD 特に、狭窄性弁膜症において、組織凝固・線溶活性が血流や血行動態による二次的变化と相俟って修飾因子として関与することが考えられる。

稿を終るに臨み御指導、御校閲を賜わった恩師小田正幸教授に深甚なる謝意を表するとともに、終始御教導をいただいた本間達二講師を始め、教室員各位の御援助に心から深謝いたします。又、材料の提供に御協力いただいた山梨県立中央病院心臓外科飯田良直博士、当大学第二外科志田寛助教授、標本作製に御助力いただいた当大学第二病理発地雅夫助教授に謝意を表します。

(本論文の要旨は第39回、第40回日本循環器学会総会、第17回日本脈管学会総会において発表した。本研究の一部は昭和50年度文部省科学研究費によった。)

文 献

- 1) Kaplan, M. H.: Immunological relation of streptococcal and tissue antigens. I. Properties of an antigens in certain strains of group A streptococci exhibiting an immunologic cross relation with human heart tissue. *J. Immunol.*, 90: 595-606, 1963
- 2) Zabriskie, J. B. and Freimer, E. H.: An immunological relationship between the group A streptococcus and mammalian muscle. *J. Exp. Med.*, 124: 661-678, 1966
- 3) 河北成一, 岩本 肇: リウマチ性心炎の発症機序に関する研究. (I) リウマチ性心筋炎とA群溶連菌感染との関連. *リウマチ*, 13: 148-154, 1973
- 4) 河北成一, 木之下正彦, 加藤正太郎: 心筋疾患の成因にかんする研究. (I) リウマチ性心筋炎の発症機構. *日内会誌*, 65: 1199-1200, 1976
- 5) 鉾之原 昌: リウマチ性心炎の実験的研究 - 溶連菌12型菌を用いて-. *リウマチ*, 14: 192-217, 1974
- 6) Vendsborg, P., Hansen, L. F. and Olesen, K. H.: Decreasing incidence of a history of acute rheumatic fever in chronic rheumatic heart disease. *Cardiologia*, 53: 332-340, 1968
- 7) 大國真彦: 不顕性発症リウマチ性心炎をめぐる問題. *日本臨牀*, 28: 1678-1682, 1970
- 8) 大島文雄: リウマチ性心臓病の進展にかんする研究 特に溶連菌感染と抗S K. *日内会誌*, 60: 1309-1320, 1971
- 9) 岡田了三, 羽里信種, 西條 敬, 加納達二: リウマチ性弁膜症に加わる加齢現象の臨床病理学的検討. *日老医学会誌*, 9: 175-176, 1972
- 10) 第70回日本内科学会講演会パネルディスカッション
- 11) Magarey, F. R.: Pathogenesis of mitral stenosis. *Brit. Med. J.*, 1: 856-857, 1951
- 12) 大久保春男: リウマチ性心内膜炎の組織病理学的研究. *リウマチ*, 2: 163-174, 1960
- 13) Oka, M. and Angrist, A.: Mechanism of cardiac valvular fusion and stenosis. *Am. Heart J.*, 74: 37-47, 1967
- 14) Astrup, T.: Assay and content of tissue thromboplastin in different organs. *Thromb. Diath. Haemorrhag.*, 14: 401-416, 1965
- 15) Kwaan, H. C.: Localisation of thromboplastic activity in walls of human blood vessels. Dynamics of thrombus formation and dissolution, ed. by Johnson, S. A. and Guest, M. M., pp. 114-120, Lippincott Co. Philadelphia and Toronto, 1969
- 16) Todd, A. S.: Fibrinolysis autographs, *Nature*, 181: 495-496, 1958
- 17) 松岡松三: 出血性素因と血栓症. 医学書院, 東京, 1969
- 18) 渡辺栄三: ユーグロブリン溶解時間 (Von Kaula 法). *Medizin Von Heute*, 41: 79-82, 1970
- 19) 五十嵐紀子, 松本光民, 竹内節夫, 浅田敏雄: アフィニティークロマトグラフィーを用いる線溶能の検査. *臨床検査*, 17: 713-722, 1973
- 20) 田中健蔵: 血栓症. *福岡医誌*, 59: 337-361, 1969
- 21) Deykin, D.: Thrombogenesis. *New. Engl. J. Med.*, 267: 622-628, 1967
- 22) O'Brien, J. R.: Some properties of damaged endothelial cells. *Nature*, 184: 1580-1581, 1959
- 23) Astrup, T., Albrechtsen, O. K., Claassen, M. and Rasmussen, J.: Thromboplastic and fibrinolytic activity of the human aorta. *Circulation Res.*, 7: 969-976, 1959
- 24) Zeldis, S. M., Nemerson, Y. and Pitlick, F. A.: Tissue factor (thromboplastin): Localization to plasma membranes by peroxidase-conjugated antibody. *Science*, 175: 766-768, 1972
- 25) Spaet, T. H., Gaynor, E. and Stemerman, M.

- B.: Thrombosis, atherosclerosis, and endo-
thelium. *Am. Heart J.*, 87: 661-668, 1974
- 26) 住吉昭信: 血栓症の病理. *脈管学*, 14: 559-562, 1974
- 27) 松岡松三: 生体における凝固・線溶系と臨床医学. *臨床血液*, 17: 573-579, 1976
- 28) Leonard, E. F.: The role of flow in thrombogenesis. *Bull. N. Y. Acad. Med.*, 48: 273-280, 1972
- 29) Stein, P. D. and Sabbah, H. N.: Measured turbulence and its effect on thrombus formation. *Circulation Res.*, 35: 608-614, 1974
- 30) Astrup, T.: Fibrinolysis in the organism. *Blood*, 11: 781-806, 1956
- 31) Abe, T.: Fibrinolysis. *Acta. Haem. Jap.*, 24: 176-200, 1961
- 32) Astrup, T. and Albrechtsen, O. K.: Estimation of the plasminogen activator and the trypsin inhibitor in animal and human tissues. *Scand. J. Clin. Lab. Inv.*, 9: 233-243, 1957
- 33) Permin, P. M.: Properties of the fibrinokinase-fibrinolysin system. *Nature*, 160: 571-572, 1947
- 34) Permin, P. M.: The fibrinolytic activator in animal tissue. *Acta physiol. Scand.*, 21: 159-167, 1950
- 35) Astrup, T. and Permin, P. M.: Fibrinolysis in the animal organism. *Nature*, 159: 681-682, 1947
- 36) Astrup, T. and Sterndorff, I.: The plasminogen activator in animal tissue. *Acta physiol. Scand.*, 36: 250-255, 1956
- 37) Albrechtsen, O. K.: The fibrinolytic agents in saline extracts of human tissues. *Scand. J. Clin. Lab. Inv.*, 10: 91-96, 1958
- 38) 小野山 薫: 血管壁の線溶能とその動脈硬化の発生進展に於ける意義に関する研究. *福岡医誌*, 58: 825-849, 1967
- 39) 甲賀 新: プラスミノゲン・アクチベーターの測定法とその意義. *臨床病理*, 22: 552-558, 1974
- 40) Kwaan, H. C. and Astrup, T.: Demonstration of cellular Fibrinolytic activity by the histochemical fibrin slide technique. *Lab. Inv.*, 17: 140-145, 1967
- 41) Sraer, J., Boelaert, J., Mimoune, O., Morel-Maroger, L. and Hornych, H.: Quantitative assessment of fibrinolysis on isolated glomeruli. *Kidney International*, 4: 350-352, 1973
- 42) Franz, R. C., Hugo, N. and Jansen, C. R.: The histochemical localisation and assay of plasminogen activator in the venous wall. *SA Med. J.*, 16: 1423, 1975
- 43) Todd, A. S.: The blood vessel wall and fibrinolytic activity. *Dynamics of thrombus formation and dissolution*. ed. by Johnson, S. A. and Guest, M. M., pp. 321-339, Lippincott Co., Philadelphia and Toronto, 1969
- 44) Warren, B. A.: Fibrinolytic properties of vascular endothelium. *Brit. J. exp. Path.*, 44: 365-372, 1963
- 45) Lack, C. H.: Proteolytic activity and connective tissue. *Brit. Med. Bull.*, 20: 217-222, 1964
- 46) Sasaki, Y., Okamoto, S., Ohwada, K. and Nishihata, T.: Some observation on a remarkable fibrinolytic activity in the extract of nasal tissues and related tissues. *Keio J. Med.*, 8: 235-246, 1959
- 47) Mole, R. H.: Fibrinolysin and the fluidity of the blood post mortem. *J. Path. Bact.*, 60: 413-427, 1948
- 48) Coccheri, S. and Astrup, T.: Thromboplastic and fibrinolytic activities of large human vessels. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 108: 369-372, 1961
- 49) Astrup, T. and Coccheri, S.: Thromboplastic and fibrinolytic activity of the arteriosclerotic human aorta. *Nature*, 193: 182-183, 1962
- 50) Messer, D., Celander, D. R. and Guest, M. M.: Fibrinolytic activity of vascular intima. *Fed. Proc.*, 20: 59, 1961
- 51) Warren, B. A.: Fibrinolytic activity of vascular endothelium. *Brit. Med. Bull.*, 20: 213-216, 1964
- 52) Bernik, M. B. and Kwaan, H. C.: Origin of

- fibrinolytic activity in cultures of the human kidney. *J. Lab. Clin. Med.*, 70 : 650-661, 1967
- 53) Todd, A. S. : Endothelium and fibrinolysis. *Bibl. Anat.*, 12 : 98-105, 1973
- 54) McDonald, R. I., Shepro, D., Rosenthal, M. and Booyse, F. M. : Properties of cultured endothelial cells. *Ser. Haemat.*, 6 : 469-478, 1973
- 55) Todd, A. S. : Endothelium and fibrinolysis. *Atherosclerosis*, 15 : 137-140, 1972
- 56) Sawyer, P. N. and Srinivasan, S. : The role of surface phenomena in intravascular thrombosis. *Bibl. anat.*, 12 : 106-119, 1973
- 57) Gross, L. and Kugel, M. A. : The arterial blood vascular distribution to the left and right ventricles of the human heart. *Am. Heart J.*, 9 : 165-177, 1933
- 58) Koletsky, S. : Gross vascularity of the mitral valve as a stigma of rheumatic heart disease. *Am. J. Path.*, 22 : 351-367, 1946
- 59) Wearn, J. T., Bromer, A. W. and Zschiesche, L. J. : The incidence of blood vessels in human heart valves. *Am. Heart J.*, 11 : 22-33, 1936
- 60) Clarke, J. A. : An X-ray microscopic study of the blood supply to the valves of the human heart. *Brit. Heart J.*, 27 : 420-423, 1965
- 61) Gould, S. E. : The valves of the heart. *Pathology of the Heart and Blood Vessels*. 3rd Edition, pp. 120-122, Thomas, Springfield, 1968
- 62) Hegt, V. N. and Brakman, P. : Inhibition of fibrinolysis by the human vascular wall related to the presence of smooth muscle cells. *Haemostasis*, 3 : 118-128, 1974
- 63) Macfalane, R. G. and Biggs, R. : Fibrinolysis. Its mechanism and significations. *Blood*, 3 : 1167-1187, 1948
- 64) Astrup, T. : The biological significance of fibrinolysis. *Lancet*, 15 : 565-568, 1956
- 65) Smith, E. B., Slater, R. S. and Hunter, J. A. : Quantitative studies on fibrinogen and low-density lipoprotein in human aortic intima. *Atherosclerosis*, 18 : 479-487, 1973
- 66) 葛谷文男, 吉峯 徳 : 人大動脈壁の第XIII因子および Transglutaminase 活性について. *血液と脈管*, 7 : 41-44, 1976
- 67) Pomerance, A. : Ageing changes in human heart valves. *Brit. Heart J.*, 29 : 222-231, 1967
- 68) Menon, I. S. and Dewar, H. A. : Myocardium as contributor of plasminogen activator to blood. *Brit. Heart J.*, 33 : 394-396, 1971
- 69) Farrer-Brown, G. and Tarbit, M. H. : The microvasculature of the valves in rheumatic heart disease. *Am. Heart J.*, 84 : 610-619, 1972
- 70) Rodbard, S. and Johnson, A. C. : Deposition of flowborne materials on vessel walls. *Circulation Res.*, 11 : 664-668, 1962
- 71) 岡田了三, 羽里信種 : リウマチ性心臓病の臨床病理学的研究. *リウマチ*, 12 : 13-18, 1972
- 72) Wexler, L., Silverman, J. F., DeBusk, R. F. and Harrison, D. C. : Angiographic features of rheumatic and non-rheumatic mitral regurgitation. *Circulation*, 44 : 1080-1086, 1971
- 73) Roberts, W. C. : Anatomically isolated aortic valvular disease. The case against its being of rheumatic etiology. *Am. J. Med.*, 49 : 151-159, 1970
- 74) Shulman, S. T., Ayoub, E. M., Victorica, B. E., Gessner, I. H., Tamer, D. F. and Hernandez, F. A. : Differences in antibody response to streptococcal antigens in children with rheumatic and non-rheumatic mitral valve disease. *Circulation*, 50 : 1244-1251, 1974
- 75) Read, R. C., Thal, A. P. and Wendt, V. E. : Symptomatic valvular myxomatous transformation (the floppy valve). *Circulation*, 32 : 897-910, 1965
- 76) Cooley, D. A., Gerami, S., Hallman, G. L., Wukasch, D. C. and Hall, R. J. : Mitral insufficiency due to myxomatous transformation. *J. Cardiovasc. Surg.*, 13 : 346-349, 1972
- 77) Astrup, T., Albrechtsen, O. K., Classen, M. and Rasmussen, J. : Thromboplastic and fi-

- brinolytic activity of the human aorta. *Circulation Res.*, 7: 969-976, 1959
- 78) 飯塚健次郎: 酸性ムコ多糖の血栓形成におよぼす影響 - ヒト血管より抽出した酸性ムコ多糖の血栓形成抑制作用 - . *Connective Tissue*, 3: 15-29, 1971
- 79) 渡辺恒夫: ヘパリン凝固時間 (H. C. T.) の臨床的適用に関する研究 - とくに凝固能亢進状態について. *信州医誌*, 19: 20-33, 1971
- 80) Moroz, V. N.: Functional state of the blood coagulation and fibrinolytic system in torpid rheumatocarditis. *Vrach. Delo.*, 3: 15-20, 1975
- 81) Rawles, J. M., Ogston, D. and Douglas, A. S.: Studies on the blood fibrinolytic system in congestive cardiac failure. *Clin. Sc. Mol. Med.*, 45: 65-76, 1973
- 82) Soardi, F. G., Stefanini, M., Stump, D. J. and Marin, H. M.: The component of the fibrinolytic system in a venous segment undergoing experimental thrombosis. *Surg. Gynec. Obstet.*, 111: 134-140, 1960
- 83) 高見沢 洌: 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. *信州医誌*, 13: 367-390, 1964
- 84) Wessler, S.: Experimental intravascular thrombosis induced by serum fractions containing serum prothrombin conversions accelerator (SPCA). *Fed. Proc.*, 12: 152-153, 1953
- 85) Naimi, S., Goldstein, R. and Proger, S.: Studies of coagulation and fibrinolysis of the arterial and venous blood in normal subjects and patients with atherosclerosis. *Circulation*, 27: 904-918, 1963
- 86) 大高裕一, 渡辺洋望, 鈴木景幹, 森永和明: 結合組織の走査電子顕微鏡像. *細胞*, 7: 65-79, 1975
- 87) 原崎弘章, 田中二郎, 鳥巢要道: 後天性弁膜疾患における心内膜内皮細胞の意義について. 第20回リウマチ総会抄録集, 144, 1976
- 88) Harasaki, H., Tanaka, J., Hanano, H. and Torisu, M.: Ultrastructure research of the endocardial endothelium of monkey. *Arch. histol. jap.*, 38: 71-84, 1975
- 89) Katsumoto, K. and Watanabe, S.: Endocardial surface changes observed with a SEM & phospholipid change during extracorporeal circulation in man. *Jap. Circul. J.*, 36: 523-528, 1972
- 90) Edanaga, M.: A scanning electron microscope study on the endothelium of the vessels I. Fine structure of the endothelial surface of aorta and some other arteries in normal rabbits. *Arch. histol. jap.*, 37: 1-14, 1974
- 91) Tweedy, P. S.: The pathogenesis of valvular thickening in rheumatic heart disease. *Brit. Heart J.*, 18: 173-185, 1956
- 92) Dubin, A. A., March, H. W., Cohn, K. and Selzer, A.: Longitudinal hemodynamic and clinical study of mitral stenosis. *Circulation*, 44: 381-389, 1971
- 93) Selzer, A. and Cohn, K. E.: Natural history of mitral stenosis: A review. *Circulation*, 45: 878-890, 1972
- 94) Roberts, W. C., Dangel, J. C. and Bulkley, B. H.: Nonrheumatic valvular cardiac disease: A clinicopathologic survey of 27 different conditions causing valvular dysfunction. *Valvular Heart Disease*, ed. by Likoff, W. pp. 334-446, Davis, Philadelphia, 1973
- 95) Mustard, J. F., JøRrgensen, L. and Packham, M. A.: Formed elements as a source of vascular injury. *Thromb. Diath. Haemorrh. Suppl.*, 40: 137-144, 1970
- 96) Walton, K. W., Williamson, N. and Johnson, A. G.: The pathogenesis of atherosclerosis of the mitral and aortic valves. *J. Pathol.*, 101: 205-220, 1970
- 97) Tomkins, D. G., Boxerbaum, B. and Liebman, J.: Longterm prognosis of rheumatic fever patients receiving regular intramuscular benzathin penicillin. *Circulation*, 45: 543-551, 1972
- 98) 弥政洋太郎, 土岡弘通, 平松隼夫: 僧帽弁狭窄症 - 非直視下僧帽弁交連切開術の遠隔成績. 肺と心, 22: 239-247, 1975