

## 原 著

## 実験的膵障害犬における凝固・線溶系の変動

## 第1編 線 溶 系 の 変 動

昭和42年4月25日 受付

信州大学医学部小田内科学教室

(主任:小田正幸教授)

市 川 澄 夫

Studies on Blood Clotting Factors and Fibrinolytic  
Activities in Experimental Pancreatitis in Dogs

## Report 1. Studies on Fibrinolytic Activities

Sumio Ichikawa

Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine,  
Shinshu University

(Director: Prof. M. Odo)

## 緒 言

膵疾患には臨床的な随伴症状として、出血あるいは血栓、栓塞がおこり易いという事実が古くから注目されており、すでに一世紀前 Trousseau<sup>①</sup>は膵癌と再発性血栓性静脈炎との関係を記載している。膵癌全体ではその約半に静脈炎が合併し、膵体部および尾部に限つてみると合併率は50%におよぶといわれている<sup>②</sup>。膵炎においても同様に血栓性静脈炎の合併率が高い<sup>③</sup>。出血傾向についてみれば、膵癌患者で著明な出血で死亡した例があり<sup>④</sup>、膵の手術中ないし術後出血傾向がみとめられている<sup>⑤⑥⑦</sup>。急性膵炎においては貧血がしばしばみられるが、それは通常出血に原因があり<sup>⑧</sup>、急性劇症膵炎では出血傾向がしばしばみられている<sup>⑨</sup>。

これら膵障害の場合には、血液凝固活性、蛋白分解酵素活性、あるいは抗蛋白分解酵素活性、Anti-thrombin 活性などに変化がみられ<sup>⑩⑪⑫⑬</sup>、また動物に Trypsin を静注したときの変化が、それらと似ている点が多いところから<sup>⑭⑮⑯</sup>、急性膵炎のさいには Hypertrypsinemia になるとか、慢性膵炎や膵癌で血中 Trypsin 値に変化がおこるといつた説明がなされ、それが一般に承認されてきたのである<sup>⑰⑱</sup>。

しかしながら膵障害にさいして実際に血中の Trypsin, Chymotrypsin, あるいはその前駆体が、蛋白分解酵素活性の面からみて増加するのかどうかという点については従来明らかでなかつた<sup>⑲⑳</sup>。この理由は血中にそれら酵素に対する強い阻止物質が存在する

ことと、膵の蛋白分解酵素と区別しにくい他の物質 (Plasmin など<sup>㉑</sup>) が血中に存在するためである<sup>㉒</sup>。その後 Plasmin 系 (線溶系) の酵素活性および抗 Trypsin 活性は 50~60°C で非活性化されるが、Trypsin 活性は安定であることが明らかとなつた<sup>㉓⑳</sup>。Powers<sup>㉔</sup>はこの事実を利用して急性膵炎の血清についてしらべ、Trypsinogen の増加は常にみとめられるが、遊離 Trypsin 活性はかなり重症の場合にしかみとめられないことを知つた。なおこのさい Plasmin, Plasminogen の活性上昇も同時にみられている。さらにその後、Nardi<sup>㉕⑳</sup>は合成基質 BAA ( $\alpha$ -Benzoyl-L-Arginine Amide HCl) に対する Trypsin の分解活性がかなり特異的であり、かつ膵障害時には血清の BAA 分解活性が上昇することをみとめたが、現今ではこれを支持する者が多い<sup>㉖㉗</sup>。しかし否定的な意見もある<sup>㉘㉙</sup>。

一方、線維素溶解酵素系 (線溶系, Plasmin 系) は、血液、組織中で主としてフィブリン溶解を介して、出血、血栓溶解、血栓形成などに関与している蛋白分解酵素であつて、種々の病態で血中の活性が変化する。しかし本酵素の膵障害時における態度を記した報告は少ない<sup>①②③④⑤⑥⑦⑧⑨⑩⑪⑫⑬⑭⑮⑯⑰⑱</sup>。しかも測定対象の重症度、病期、ならびに測定法がまちまちであつて、得られた成績も一定していない。したがつて、それぞれの成績を比較・評価する上には、測定法の選択、とくにどのような基質をえらぶかが重要である。

著者は実験的に膵障害犬をつくり、その線溶活性の変動をフィブリンを基質として測定し、若干の知見を

えたので報告する。

## I. 実験的脾障害犬血漿の線溶系における2週間の変動

### 1. 実験材料および方法

#### (1) 実験動物

体重10kg前後の雑種成犬を用い、次の3群に分けて検討した。

- i Olive 油群
- ii 生食水群
- iii 開腹群

#### (2) 実験的脾障害犬の作製

ミンタール 0.3mg/kg を皮下に注射してイヌを麻酔し、1時間後手術台に仰臥固定した。上腹部正中線に約5cmの切開を加えて開腹し、十二指腸と脾頭部を露出した後、主脾管を周囲組織から剥離した。まず主脾管末梢側を結紮し、ついで中極側へ向けて主脾管内へポリエチレン管(外径1mm)を約1cm挿入し、これを通して脾管内へ Olive 油または生食水 0.2ml/kg を徐々に注入した。ついでポリエチレン管を抜去して脾管断端を結紮し、マイシリンを創面および腹腔内に撒布して腹壁をとじた。開腹からこの間約15分間ないし20分間を要した。

開腹群は開腹したのみで脾には手をふれず、その他は同様に処置した。

各群とも手術は無菌的におこない、術後は食餌を自由にとらせた。

#### (3) 採血方法

シリコン処理器具を使用し、two syringe technicにより前肢静脈からうつ血をさけながら採血した。1/10M 尿酸ナトリウム溶液 1/10 容と血液 9/10 容を直ちに混合して速やかに遠沈分離し(2500 r. p. m., 10~15分)、血漿を氷室に保存した。線溶活性測定は採血後1時間以内におこなうよう努めた。

採血間隔は術前および術後 1, 3, 7, 15日目に、それぞれミンタール麻酔後採血した。

#### (4) 主な試薬

i Thrombin: ミドリ十字。一部で持田製薬の Thrombin を使用したが、そのさいは特に文中に記した。蒸留水で 25u./ml に溶解して使用した。

ii Fibrinogen: Bovine Fibrinogen, Cohn Fraction I, Armour lot. No. 毎に製品中の clottable protein 濃度を Gram の変法<sup>⑧</sup>で決定した。

iii Streptokinase: Varidase, 日本レダリー社、蒸留水で 2500u./ml, および 500u./ml に溶解し、小試験管に分注した後 deep freezer 中に1~2ヵ月保存

して用時溶解して使用した。

iv Plasmin: ミドリ十字。

v Trypsin: 持田製薬。

#### (5) 線維素溶解酵素系の測定法

##### i Euglobulin 溶解時間

von Kaulla 法<sup>⑩</sup>に準じておこなった。すなわち、尿酸血漿 1.0ml を冷蒸留水 15ml の入った三角コルベにとり、液面に CO<sub>2</sub> ガスを吹込みながら泡立たぬようにゆつくり回転して4分間滲透させる。ついで氷室中に約30分間放置した後、2500r. p. m., 3分間遠沈して上清を除き、沈渣に 1.0ml の冷生食水を加えて攪拌溶解して Euglobulin をえた。この Euglobulin を2本の小試験管に 0.3ml ずつとり、20u./ml Thrombin 溶液 0.1ml を加え混和凝固させて、37°C 恒温槽に孵置して完全に Fibrin が溶解するまでの時間を測り Euglobulin 溶解時間とした。

##### ii 標準および加熱 Fibrin 平板法

標準平板は Astrup & Müllertz 法<sup>⑪</sup>に従って作製した。冷却した Borate saline buffer (pH 7.8) でウシ Fibrinogen 粉末を 0.15% にとかし、この 10ml を直径 9cm の底面平滑な滅菌ベトリ皿にとる。これに冷却 Thrombin 溶液 0.5ml を撒布しつつ速やかに回転して充分攪拌した後、水平板上で凝固させ、少なくとも30分間放置した。これが標準平板である。加熱平板は Lassen の方法<sup>⑫</sup>に準じて標準平板を 85°C 30分間加熱し、室温で冷却したものである。

検体は 0.1ml メスビベツトを用いて、Fibrin 平板上に 0.03ml ずつ滴下した。その後 37°C 孵卵器中に水平に18時間おいてから、表面の溶解窓の長径、短径を計測し、その積をもつて Fibrin 平板溶解面積とした。1検体につき別々の平板に1ヵ所ずつおいて、その平均を求めた。

検体の種類は次の3つである。

- (i) Euglobulin
- (ii) SK-Euglobulin
- (iii) 血漿

SK-Euglobulin は Euglobulin に等量の 500u./ml SK 溶液を混和したものである。SK 溶液の濃度を 500u./ml とした理由は次の如くである。種々の濃度の SK 溶液に、等量のイヌ Euglobulin および生食水を加え、それぞれ標準および加熱平板上におくと図 1, 2 のような結果になった。標準平板上では SK が比較的濃度の場合、SK + 生食水よりも SK-Euglobulin の方が溶解活性が高いので、著者は両者の差が比較的明瞭な 500u./ml の SK 濃度を選んで以後の実験に用いた。加熱平板は SK のみによつてはとけないが、

図1 SK-Euglobulin のフィブリン平板溶解活性と SK 濃度との関係

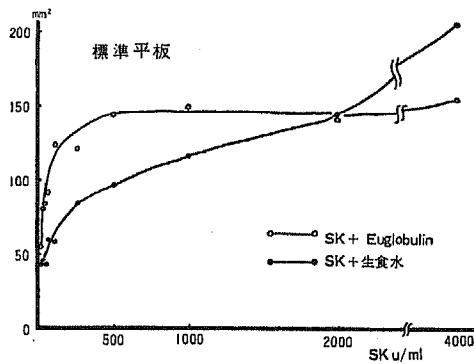
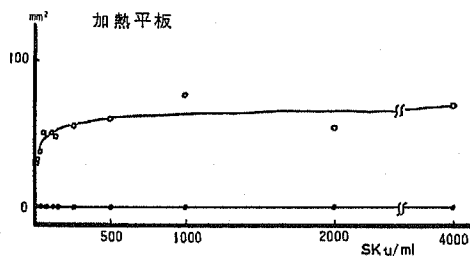


図2 SK-Euglobulin のフィブリン平板溶解活性と SK 濃度との関係



SK-Euglobulin は 500u./ml 前後の SK 濃度で最高活性がみとめられたので同様にこれを以後の実験に用いた。

### iii SK 加血漿溶解時間法

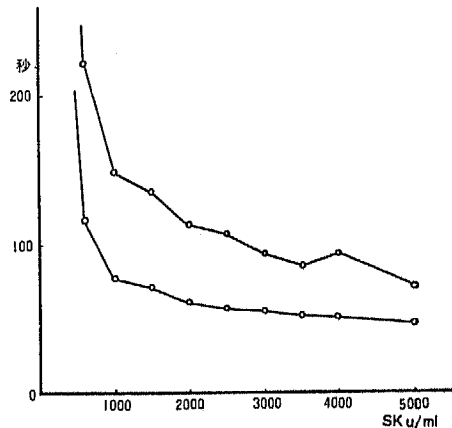
飯田の方法<sup>28)</sup>に準じておこなった。冷却した血漿 0.5ml に冷却した 2500u./ml, SK 溶液を 0.1ml 加え、この混液 0.2ml を直ちに小試験管にとつて 37°C 恒温槽に入れる。10秒後 20u./ml の Thrombin 溶液 0.2ml を加え秒時計を発動し、30秒後から試験管を傾斜して静かに凝塊を動かして Fibrin の断裂像のできた時、秒時計を止めた。1 検体につき 2 回おこなつて平均値を求めた。

SK 溶液の濃度を 2500u./ml とした理由は、種々の SK 濃度についてイヌ血漿の SK 加血漿溶解時間をみると図3の如く、2500u./ml 附近でほぼ plateau に近づいたためである。

### iv Antiplasmin

Bergström らの方法<sup>29)</sup>を西山が改変した方法<sup>30)</sup>に準じた。Tris buffer (pH 7.8, 0.15M,  $\mu=0.15$ ) を用いて Plasmin を 12.5c.u./ml に溶解し、又血漿を 15倍に稀釈した。両者の等量混合液および対照として稀釈血漿の代りに Tris buffer を加えたものを、37°C, 15分間静置した後、0.03ml ずつ加熱平板上にお

図3 SK 加血漿溶解時間と SK 濃度との関係



いた。これを既述の如く 37°C, 18時間静置した後溶解面積を測定し、次式によつて Antiplasmin 活性を表わした。

$$\text{Antiplasmin (\%)} =$$

$$\left(1 - \frac{\text{稀釈血漿加 Plasmin 溶液の溶解面積}}{\text{Tris buffer 加 Plasmin 溶液の溶解面積}}\right) \times 100$$

### v Antitrypsin

上述の Antiplasmin 測定法に準じた。すなわち同じく Tris buffer を用いて Trypsin を 200u./ml にとかし、また血漿を 15倍に稀釈した。以下 Antiplasmin の場合と同様に操作して加熱平板の溶解面積を求め、次式によつて Antitrypsin 活性度を表わした。

$$\text{Antitrypsin (\%)} =$$

$$\left(1 - \frac{\text{稀釈血漿加 Trypsin 溶液の溶解面積}}{\text{Tris buffer 加 Trypsin 溶液の溶解面積}}\right) \times 100$$

### vi Anti-urokinase

生食水を用いて Urokinase を 20u./ml にとかし、また血漿を 2倍に稀釈した。両者の等量混液および対照として血漿の代りに生食水を用いたものを室温に 15分放置し、それぞれ 0.03ml を標準平板上においた。これを 37°C, 18時間水平に静置したのち溶解面積を求め、次式によつて Anti-urokinase の活性度を表わした。

$$\text{Anti-urokinase (\%)} =$$

$$\left(1 - \frac{\text{稀釈血漿加 Urokinase 溶液の溶解面積}}{\text{生食水加 Urokinase 溶液の溶解面積}}\right) \times 100$$

なおこのさい用いた標準平板は持田製薬の Bovine Thrombin を用いて作製した。また使用した Urokinase は 1000u./ml の高濃度まで加熱平板と溶解しなかつた。

### vii 血漿 Fibrinogen 量

Tyrosine 法<sup>④</sup>によつた。ただし原法は二重蓚酸血漿を用いているが、本実験では 1/10M 蓚酸ナトリウム溶液を抗凝固剤として用いているので、得られた値に 10% を乗じて真の値とした。

(6) 血清 Amylase 測定法

Somogyi 法<sup>⑤</sup>によつた。ただし検体は 9 : 1 蓚酸血漿を、さらに生食水で 5 倍に稀釈して用いたので、得られた値に 50% を乗じて血清 Amylase 値とした。

2. 実験成績

(1) 血清 Amylase 値

術前値は平均1100単位前後であつたが、表 1, 図 4 に示した如く、1日目には Olive 油群 2417, 生食水群 1700, 3日目にはそれぞれ 3237, 2928 単位と増加し、個々にも増加しないものはなかつたが、7日目には両群ともほぼ術前値に復した。しかし開腹群では全く活性値の上昇はみとめられなかつた。

(2) 血漿 Fibrinogen 量

表 2, 図 5 に示す如く、3群とも1日目に増加し、3日目に最高値を示した。7日目にもなお増加がみとめられたが、15日目にいずれも術前値に復した。

(3) Euglobulin 溶解時間

術前値は 290 分前後であつた。Olive 油群は表 3, 図 6 に示す如く全例に活性低下がみとめられた。すなわち 1 日目すでに 435 分と著しく延長して線溶活性の低下を示したが、3日目、7日目にもなお延長がみとめられた。しかし 15 日目は前値に復した。生食水群は 1 日目 325 分と軽度に延長したが、3日目以後は前値に復した。開腹群ではほとんど変化がみられなかつた。

Fibrinogen 濃度と Euglobulin 溶解時間との関係を、正常および脾障害 1 日目および 3 日目についてみると図 7 の如くで、両者の間には明らかな相関々係をみとめることはできなかつた。

(4) Euglobulin の標準平板溶解活性

表 4, 図 8 に示す如く、Olive 油群は 1 日目に前値よりも 51mm<sup>2</sup> 低い値を示し、線溶活性の減少は明らかであつた。その後の回復も他の群に比べておくれた。生食水群もほぼ同様の経過をとつたが、1日目の減少は Olive 油群より軽度であり、3日目には術前値に復した。しかしその後再び徐々に減少の傾向を示した。開腹群も 1 日目にごく軽度の低下を示した。

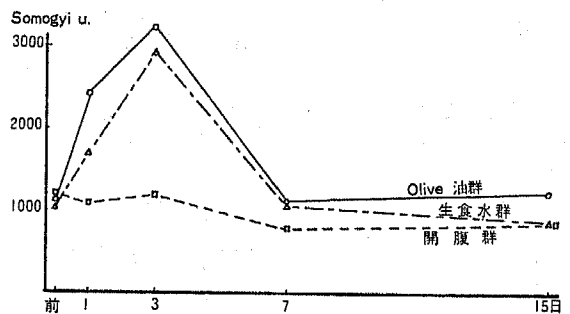
(5) Euglobulin の加熱平板溶解活性

表 4, 図 9 に示す如く、Olive 油群は 1 日目にかんがりの明瞭な活性の低下を示したが、7日目以後前値に復した。生食水群および開腹群は 1 日目に変化なく、

表 1 血清アミラーゼ値 (Somogyi 単位)

種別	番号	前	1 日	3 日	7 日	15 日
オリブ油群	1	600	—	1020	595	—
	9	931	—	2170	857	1467
	11	1204	2303	2068	802	—
	12	778	2562	2642	1373	900
	14	1594	2627	4854	1805	1589
	16	1850	2355	2875	1229	1004
	19	436	3551	6248	—	—
	20	564	1119	2750	—	—
生食水群	21	938	926	4222	—	—
	22	2315	3889	3488	—	—
	平均	1121	2417	3237	1110	1240
	3	400	—	3463	620	874
開腹群	6	959	—	1694	1437	1028
	7	1608	1908	2588	1500	1026
	13	821	1028	3972	845	242
	15	1290	2475	5055	1025	1131
	18	1131	1387	797	—	—
	平均	1035	1700	2928	1085	860
開腹群	12	1080	943	1193	530	818
	17	1285	1180	1205	860	674
	25	1263	1163	1190	980	1100
	平均	1209	1095	1196	790	864

図 4 血清アミラーゼの経日的変動



3 日目にごく軽度の低下を示したにすぎなかつた。

(6) 血漿の標準および加熱平板溶解活性

血漿は各群ともに、いずれの時期においても、標準および加熱平板に対する溶解をおこななかつた。

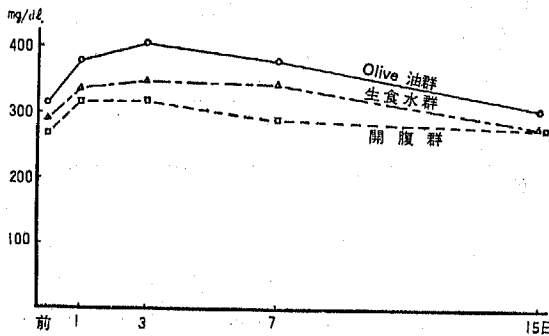
(7) SK-Euglobulin の標準平板溶解活性

表 5, 図 10 に示す如く、Olive 油群は前値が 132mm<sup>2</sup> であるのに対して 1 日目 87mm<sup>2</sup> と明らかな活性の低下を示したが、7日目以後ほぼ前値に復した。生食水群

表 2 血漿フィブリノーゲン量 (mg/dℓ)

種別	番号	前	1日	3日	7日	15日
オリブ油群	1	389	—	681	505	—
	9	268	—	336	380	357
	10	294	324	425	449	—
	11	271	458	366	392	285
	14	378	407	422	211	244
	16	175	321	434	401	345
	19	490	482	440	357	—
	20	327	345	404	354	—
	24	363	312	324	—	—
	56	253	357	363	—	—
57	244	399	279	—	—	
	平均	313.8	379.2	406.7	381.1	307.8
生食水群	3	363	—	410	485	291
	6	202	—	268	306	291
	7	375	—	357	369	274
	13	327	333	336	306	312
	15	232	238	398	282	245
	18	190	380	443	324	—
	21	315	363	303	—	—
	22	291	336	297	—	—
	23	321	369	318	—	—
		平均	290.7	336.5	348.9	345.3
開腹群	12	237	327	303	265	312
	17	288	327	362	357	259
	25	279	297	294	253	266
		平均	268.0	317.0	319.7	291.9

図 5 血漿フィブリノーゲン濃度の経日的変動



は1日目はほとんど変化なく、以後徐々に低下してゆく傾向を示した。開腹群は1日目に軽度の低下を示し、3日目前値に復したが、以後再び軽度減少の傾向を示した。

表 3 Euglobulin 溶解時間の経日的変動 (min.)

種別	番号	前	1日	3日	7日	15日
オリブ油群	1	210	195	240	450	—
	9	285	550	585	300	270
	14	380	435	375	315	300
	16	255	495	495	360	300
	19	330	375	510	535	—
	20	345	470	430	390	290
	24	360	390	390	—	—
	53	240	510	—	—	—
	54	270	540	—	—	—
	55	360	510	—	—	—
56	225	525	330	—	—	
57	195	360	255	—	—	
	平均	293	435	401	392	293
生食水群	3	180	250	100	270	285
	6	200	350	310	255	240
	7	230	300	185	270	330
	13	375	315	285	350	335
	15	240	300	300	290	180
	60	435	350	—	—	—
	18	240	240	490	390	—
	21	330	420	315	—	—
	22	360	390	360	—	—
	23	365	390	330	—	—
58	300	210	—	—	—	
	平均	288	325	297	304	272
開腹群	12	345	255	255	345	375
	17	350	380	345	290	210
	59	335	325	—	—	—
	25	315	340	270	215	285
	47	180	240	190	—	—
	48	410	300	330	—	—
	49	210	210	240	—	—
	平均	306	293	272	283	290

図 6 Euglobulin 溶解時間の経日的変動

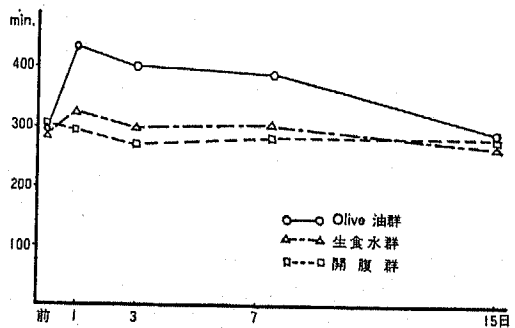


図7 Euglobulin 溶解時間と Fibrinogen 量の相関

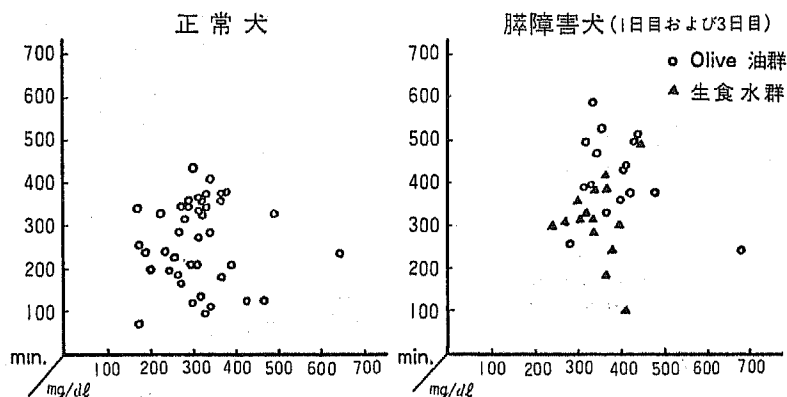


表4 Euglobulin のフィブリ平板溶解活性の経日的変動 (mm)

別種	番号	標準平板					加熱平板				
		前	1日	3日	7日	15日	前	1日	3日	7日	15日
オリブ油群	9	95	—	151	89	14	49	—	78	55	65
	14	142	99	43	104	5	79	46	44	90	68
	16	78	60	30	35	4	83	35	39	54	79
	19	45	45	116	72	10	42	42	62	58	41
	20	153	47	39	99	6	47	39	39	68	41
	24	104	80	62	64	7	59	41	44	51	60
	56	110	35	105	—	—	60	21	53	—	—
	57	116	25	134	—	—	75	23	58	—	—
	平均	106.9	55.9	75.6	74.8	69.0	63.6	35.3	48.4	64.2	57.8
生食水群	3	131	—	55	155	155	58	—	21	58	64
	6	106	—	96	64	150	70	—	58	64	58
	13	119	99	80	85	44	68	53	49	76	60
	15	76	53	127	80	63	75	47	46	72	53
	18	82	44	84	109	121	50	51	47	64	49
	21	115	111	120	136	—	60	72	60	54	—
	22	100	92	103	49	—	67	75	54	29	—
	23	99	94	88	66	—	70	73	50	36	—
	平均	103.5	80.7	100.3	87.5	76.0	62.5	58.5	51.0	55.2	54.0
開腹群	12	80	63	76	71	52	62	59	44	59	46
	17	79	77	72	87	81	55	57	49	56	64
	59	102	58	—	—	—	68	64	—	—	—
	25	81	88	106	87	77	62	58	53	47	—
		平均	85.5	71.5	84.7	81.7	70.0	61.8	59.5	48.7	54.0

(8) SK-Euglobulin の加熱平板

溶解活性

表5, 図10の如く3群ともに3日目にやや減少の傾向を示したが, 明らかな変化はみとめられなかつた。

(9) SK 加血漿溶解時間

表6, 図11に示す如く, Olive 油群は1日目にもつとも溶解時間の延長, すなわち活性の低下が著しく, その後も軽度の延長が続いた。生食水群も1日目以後

図8 Euglobulin のフィブリン平板溶解活性の経日的変動

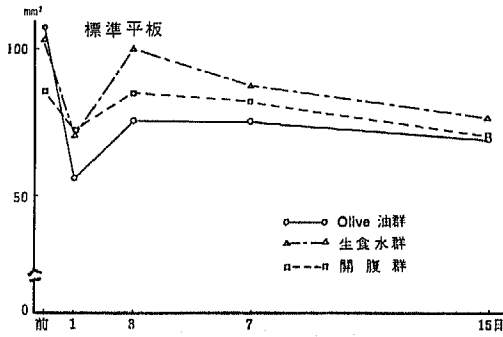
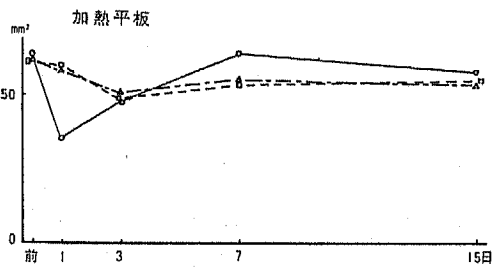


図9 Euglobulin のフィブリン平板溶解活性の経日的変動



において軽度の延長を示したが、2例は全く活性の変化を示さなかつた。開腹群はほとんど変化なく、3日目までは全例に活性の低下はみとめられなかつた。

(10) Antitrypsin 活性

表7, 図12に示す如く平均値としては3群ともに3日目において活性の増加がみとめられたが、各群の間には差異をみとめがたかつた。個々の例でみると各

図10 SK-Euglobulin のフィブリン平板溶解活性の経日的変動

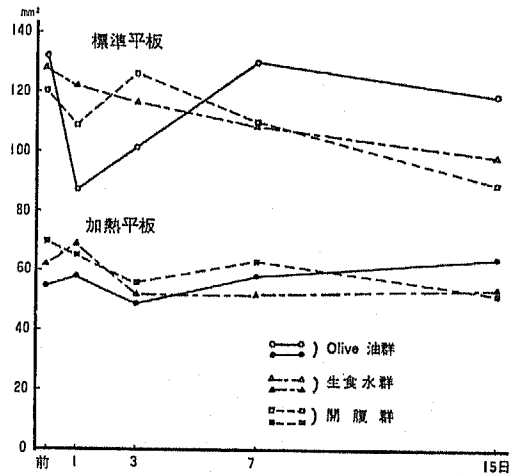


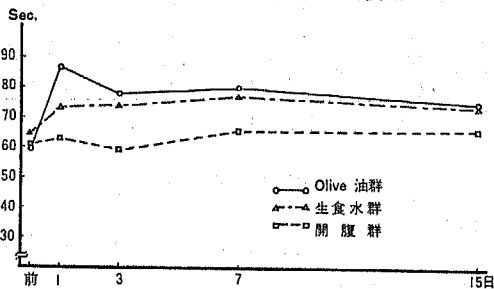
表5 SK-Euglobulin のフィブリン平板溶解活性の経日的変動 (mm)

種別	番号	標準平板					加熱平板				
		前	1日	3日	7日	15日	前	1日	3日	7日	15日
オリブ油群	14	153	75	98	120	119	81	70	73	62	60
	16	162	112	130	108	77	70	83	54	56	74
	19	132	80	107	141	144	39	44	39	63	64
	20	116	76	83	131	136	51	53	33	57	58
	24	97	93	90	150	—	34	41	45	53	—
	平均		132.0	87.2	101.6	130.0	119.0	55.0	58.2	48.8	58.2
生食水群	13	133	111	120	85	83	79	88	66	56	44
	15	150	100	177	100	66	60	67	51	63	60
	18	110	88	69	110	146	57	52	39	58	58
	21	121	144	105	128	—	60	63	53	49	—
	22	132	152	121	132	—	58	81	56	39	—
	23	123	138	109	97	—	60	63	48	48	—
平均		128.8	122.2	116.7	108.7	98.3	62.3	69.0	52.2	52.2	54.0
開腹群	12	107	84	97	80	83	71	64	53	78	48
	17	127	107	156	69	95	81	60	51	57	56
	25	127	136	126	154	—	58	72	64	55	—
	平均		120.3	109.0	126.3	110	89	70.0	65.3	56.0	63.3

表6 SK 加血漿溶解時間の経日的変動 (Sec)

種別	番号	前	1日	3日	7日	15日
オリブ油群	1	58	—	99	99	—
	9	79	—	118	122	90
	50	76	126	—	—	83
	14	60	58	76	65	67
	15	59	69	75	69	73
	16	54	94	95	70	73
	19	57	100	78	72	63
	20	46	84	79	66	—
	24	82	81	62	—	—
	56	49	87	53	—	—
	57	44	84	45	—	—
	平均	59.6	87.0	78.0	80.4	74.8
生食水群	3	67	—	69	65	66
	6	57	—	69	121	—
	7	76	—	92	115	—
	13	50	54	69	65	83
	15	59	69	75	69	73
	18	59	93	71	65	74
	21	70	84	74	68	—
	22	69	69	64	69	—
	23	75	70	72	60	—
	平均	64.7	73.2	73.9	77.4	74.0
開腹群	12	53	54	55	64	69
	17	62	68	63	73	63
	25	66	67	60	61	—
	平均	60.3	63.0	59.3	66.0	66.0

図11 SK 加血漿溶解時間の経日的変動



群とも1日目には前値よりも低下するものが少なくなかつたが、3日目にはほとんどの例が前値よりも高い活性を示した。

(11) Antiplasmin 活性

表7, 図13に示す如く, Olive 油群は1日目に軽度に活性が低下し, 3日目やや恢復したが, 7日目に再び低下した。生食水群は活性上昇および低下例がほぼ

半数ずつで, 平均値にも変化はみられなかつた。開腹群は1日目にほとんど変化なく, 3日目もごく軽度の増加傾向を示したのみであつたが, 個々には増加例, 低下例が同数であつた。

(12) Anti-urokinase 活性

Urokiase に対する阻止活性度は表8, 図14に示す如く, Olive 油群は全例が著しい活性の上昇を示したが, 開腹群は明らかな増加を示す例がなかつた。

3. 小 括

急性脾障害犬の末梢血の線溶系および Amylase の変動は, 1日目ないし3日目において著明であつた。すなわち,

(1) 血清 Amylase は開腹群を除いて全例に活性の上昇をみとめた。

(2) Fibrinogen 量は3群ともに増加したが, Olive 油群でもつとも著しかつた。

(3) Euglobulin 溶解時間は Olive 油群で著しい活性の低下を示した。

(4) Euglobulin の標準平板溶解活性は Olive 油群でもつとも低下が著しく, 他の2群は軽度であつた。加熱平板溶解活性は Olive 油群のみに活性の低下をみとめた。

(5) SK-Euglobulin の標準平板溶解活性は Olive 油群で著しく低下したが, 他の2群は軽度の変化であつた。加熱平板溶解活性は各群とも著変を示さなかつた。

(6) SK 加血漿溶解時間は Olive 油群で活性の低下を示し, 開腹群はほとんど変化がなかつた。

(7) Anti-urokinase 活性は Olive 油群で著しく増加したが, 開腹群は変化しなかつた。Antitrypsin 活性は3群ともに増加した。Antiplasmin 活性には一定の傾向をみとめにくかつた。

II. 実験的脾障害犬血漿の線溶系の

初期における変動

脾障害犬血漿の線溶系は予期に反し24時間以後において活性の低下を示したので, さらに初期における線溶活性の変動について検討した。

1. 実験材料および方法

(1) 実験動物

第I章におけると同様にして実験的脾障害を作製し, また対照として開腹群を作製し, 両者の比較検討をおこなつた。

(2) 採血方法

術前に採血し, ついで腹部に切開を加えた時から計



表 7 Antitrypsin, Antiplasmin (%)

種別	番号	Antitrypsin					Antiplasmin				
		前	1日	3日	7日	15日	前	1日	3日	7日	15日
オリーブ油群	14	10.1	7.1	27.1	9.8	20.2	18.0	15.4	13.6	8.2	5.1
	16	13.1	33.0	26.5	36.6	8.1	10.8	17.5	18.4	9.2	16.8
	19	14.0	15.3	16.0	13.8	—	22.6	4.6	26.2	9.0	12.2
	20	18.9	9.1	13.4	16.6	—	24.2	9.8	24.6	8.3	21.8
	24	12.3	8.4	27.1	—	16.2	22.2	17.4	7.4	16.7	—
	平均	13.7	14.6	24.1	19.2	14.8	19.6	12.9	18.0	10.3	14.0
生食水群	13	7.9	25.1	28.7	0.4	4.9	9.7	27.7	10.2	2.6	6.9
	15	14.4	29.0	17.6	13.5	8.7	10.8	13.1	14.8	14.3	16.8
	18	15.3	19.8	0	22.1	15.0	14.5	9.8	21.3	18.0	8.1
	21	20.6	1.9	35.6	—	—	22.3	10.8	10.6	19.0	—
	22	29.0	17.1	31.8	—	—	22.2	13.2	12.8	13.6	—
	23	18.2	21.8	25.4	—	—	19.2	12.0	17.9	20.3	—
平均	17.5	19.0	23.2	12.0	9.5	15.4	13.8	14.5	16.3	10.6	
開腹群	12	10.1	1.7	39.4	4.5	0	6.4	33.6	2.4	5.6	8.6
	17	4.2	30.1	11.6	21.5	5.3	17.9	4.4	11.2	14.9	13.3
	25	12.3	9.9	33.5	—	—	30.5	14.4	19.0	12.7	—
	47	4.3	4.3	14.6	—	—	26.8	33.3	34.7	—	—
	48	5.0	19.3	11.1	—	—	31.4	19.0	41.9	—	—
	49	0	7.6	2.2	—	—	10.8	23.3	30.0	—	—
平均	6.1	12.2	18.7	13.0	2.7	17.4	20.8	23.2	11.1	7.3	

図12 Antitrypsin の経日的変動

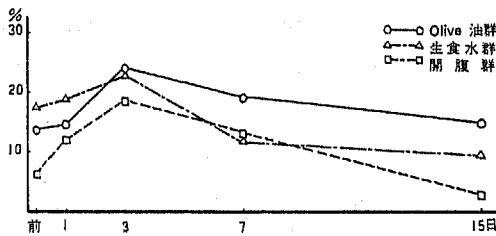
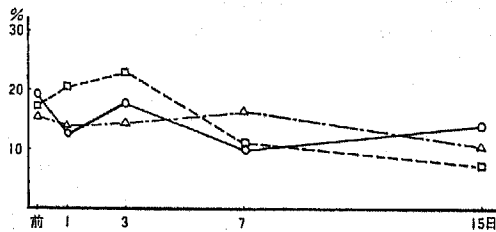


図13 Antiplasmin の経日的変動



時して、15分、30分、60分、3時間、6時間、10時間、24時間目にシリコン器具を用いて採血した。

(3) 線溶系および Amylase の測定法  
第I章に記した方法によつた。

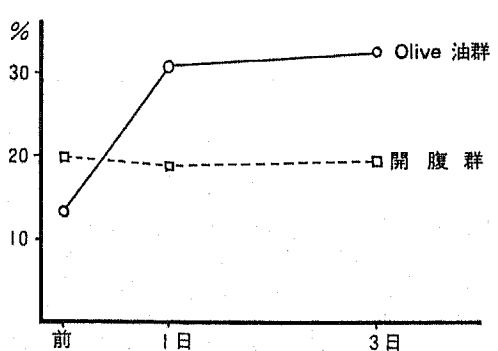
2. 実験成績

実験結果は表9, 10, 図15に一括して示した。

表 8 Anti-urokinase (%)

種別	番号	前	1日	3日
オリーブ油群	34	7.1	23.5	6.1
	35	22.1	26.7	41.7
	40	0	21.9	35.9
	42	0	43.5	38.3
	43	29.1	32.7	58.2
	44	26.1	36.0	34.7
平均		13.3	30.7	32.5
開腹群	47	3.0	9.1	0
	48	27.9	32.5	31.3
	49	28.2	14.5	27.1
平均		19.7	18.7	19.5

図14 Anti-urokinase



(1) 血清 Amylase 値

Olive 油群では60分後から活性の上昇が現われ、以後徐々に増加の一途をたどった。

(2) 血漿 Fibrinogen 量

Olive 油群は30ないし60分後から徐々に増加したが、開腹群は24時間目に軽度増加したのみであった。

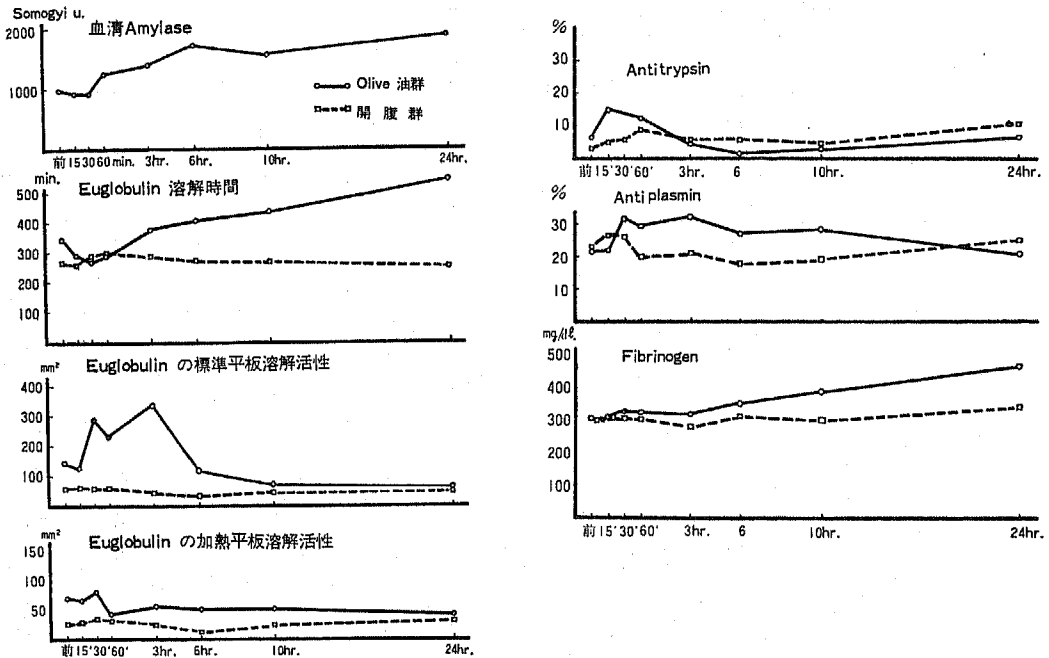
表 9 Olive 油 群 初 期 変 動

検 査 項 目	番 号	前	15 分	30 分	60 分	3 時間	6 時間	12 時間	24 時間
血 清 ア ミ ラ ー ゼ (Somogyi, u.)	9	1109	1054	1200	1320	1310	2092	1804	1814
	50	1301	1097	—	1843	1870	2029	1981	2486
	51	1544	612	624	760	1060	1000	1101	1324
	52	931	978	960	1000	—	—	—	—
	平 均	971	935	928	1256	1413	1728	1563	1875
Euglobulin 溶解時間 (min.)	9	285	155	140	180	350	—	—	—
	50	360	390	375	315	405	440	440	450
	51	340	210	270	295	335	350	405	630
	52	390	390	300	360	420	435	465	540
	平 均	344	286	271	288	378	408	435	540
Euglobulin 標準平板 溶解面積 (mm <sup>2</sup> )	9	95	94	116	115	—	—	—	—
	50	216	172	672	655	846	147	114	83
	51	38	121	110	110	108	83	0	0
	52	30	133	253	143	153	121	89	85
	平 均	145	130	288	231	336	117	68	56
Euglobulin 加熱平板 溶解面積 (mm <sup>2</sup> )	9	49	58	58	58	—	—	—	—
	50	86	68	77	54	67	47	35	11
	51	51	45	50	46	44	29	46	24
	52	56	88	133	81	53	74	68	75
	平 均	68	65	80	41	55	50	50	37
SK 加血漿溶解時間 (秒)	9	79	86	89	84	—	—	—	—
	50	76	83	96	91	95	95	103	136
	51	53	51	51	51	59	59	62	83
	52	79	91	97	94	78	81	71	78
	平 均	72	78	83	80	77	78	89	99
Fibrinogen (mg/dl)	50	312	303	351	327	336	333	422	505
	51	172	166	164	169	176	249	265	380
	52	425	452	416	470	440	424	464	505
	平 均	303	307	324	322	317	349	384	463
Antitrypsin (%)	51	12.1	20.0	—	15.5	6.0	3.2	5.2	3.6
	52	0.6	9.6	0	9.0	3.0	0	0.8	8.7
	平 均	6.4	14.8	—	12.3	4.5	1.6	3.0	6.4
Antiplasmin (%)	50	31.3	25.0	34.8	42.9	37.5	29.5	14.3	22.6
	51	21.4	18.2	—	24.7	28.6	21.4	42.6	13.2
	52	12.6	22.2	28.4	20.2	30.4	30.4	27.9	26.7
	平 均	21.8	21.8	31.6	29.3	32.2	27.1	28.3	20.8

表 10 閉腹群初期變動

検査項目	番号	前	15分	30分	60分	3時間	6時間	12時間	24時間
Euglobulin 溶解時間 (min.)	47	180	180	240	240	240	290	270	240
	48	410	380	410	380	380	320	320	300
	49	210	210	210	240	240	210	210	210
	平均	267	257	287	300	287	273	267	250
Euglobulin 標準平板 溶解面積 (mm <sup>2</sup> )	47	72	72	65	75	56	0	42	33
	48	33	15	27	44	33	38	42	44
	49	59	97	81	61	43	59	41	48
	平均	54.7	61.3	57.7	60.0	44.0	32.3	41.5	41.7
Euglobulin 加熱平板 溶解面積 (mm <sup>2</sup> )	47	32	29	33	31	30	0	33	25
	48	23	23	29	14	9	0	12	30
	49	22	36	39	49	32	39	23	33
	平均	25.7	29.3	33.7	31.3	23.7	13	23	29.3
Fibrinogen (mg/dL)	47	268	268	238	220	208	338	-	340
	48	339	357	345	375	357	297	262	380
	49	297	303	333	309	273	303	339	290
	平均	301	309	305	301	279	313	300	337
Antitrypsin (%)	47	4.3	7.8	4.0	6.3	6.9	1.6	-	4.3
	48	5.4	6.0	7.2	4.3	0	6.1	11.6	19.3
	49	0	1.6	6.0	16.1	9.4	9.0	1.7	7.6
	平均	3.2	5.1	5.7	8.9	5.4	5.6	4.4	10.4
Antiplasmin (%)	47	26.8	34.8	27.7	21.4	24.5	29.5	-	33.3
	48	31.4	21.0	23.0	15.1	17.5	12.7	16.7	19.0
	49	10.8	23.3	27.5	23.3	20.8	10.8	21.7	23.3
	平均	23.0	26.4	26.1	19.9	20.9	17.7	19.2	25.2

図 15 肺障害群および閉腹群の初期の経時的変動



(3) Euglobulin 溶解時間

Olive 油群は15分ないし60分目において軽度に短縮し、線溶活性の亢進を示したが、その後は次第に活性の低下が著明となった。開腹群には変化をみとめられなかつた。

(4) Euglobulin の標準平板溶解活性

Olive 油群は30分後から3時間目まで明らかな活性上昇を示し、6時間後から漸次低下した。しかし4例中1例は初期の活性亢進を示さず徐々に低下した。開腹群は変化を示さなかつた。

(5) Euglobulin の加熱平板溶解活性

Olive 油群は1例のみ30分目に活性が上昇したが、他の例は変化なく、以後は全例徐々に低下した。開腹群は著変を示さなかつた。

(6) SK 加血漿溶解時間

Olive 油群は15分後から軽度の活性低下を示し、1日目には3例中2例に明らかな低下がみとめられた。

(7) Antitrypsin 活性および

Antiplasmin 活性

Olive 油群の Antitrypsin 活性は15分目から60分後まで軽度に増加したが、6時間目には減少した。開腹群は明らかな変化を示さなかつた。

Antiplasmin 活性は、Olive 油群で30分目から10時間後まで増加傾向がみられたが、開腹群は15分目から30分目までごく軽度に増加したのみであつた。

3. 小 括

Olive 油群の変動は次の如くであつた。

- (1) 血清 Amylase 値は60分目から上昇した。
- (2) Fibrinogen 量は30分目から増加した。

(3) Euglobulin 溶解時間は30分から60分目で軽度に短縮し、以後延長した。Euglobulin の標準平板溶解活性は30分目から3時間後まで著しく亢進し、以後低下したが、加熱平板では著変がみとめられなかつた。SK加血漿溶解時間は直後から活性が軽度に低下した。

(4) Antitrypsin 活性は15分目から60分目で軽度に亢進し、Antiplasmin は30分目から10時間後まで増加傾向がみとめられた。

III. 脾障害犬の脾静脈血における線溶活性

脾障害をおこした脾組織からは、既述の如く血中へ各種の酵素が逸脱すると考えられている。この場合、もしも組織 Activator, Trypsin あるいは Tissue kinase といった線溶を亢進させる物質が血中に流入すれば、脾静脈の線溶活性が亢進すると考えられる。そこで脾障害犬と正常犬について比較検討した。

1. 実験材料および方法

第I章に記した方法で Olive 油脾障害犬を作製し、その1日目と3日目のものにミンタール麻酔を施して開腹し、Vena pancreatico-duodenalis posterior superior からシリコン器具を用いて採血した。同時に A. femoralis から動脈血を採血した。正常犬についても同様にして採血した。

検査法は第I章に記した方法によつた。

2. 実験成績

実験結果は表11に示した。

(1) Euglobulin 溶解時間

表 11 動脈血と脾静脈血の比較

種別	番 号	Euglobulin 溶解時間		Eugl. 標準平板溶解面積		SK加血漿溶解時間		Antiplasmin	
		A	V	A	V	A	V	A	V
正常犬	79	300	330	5	16	56	59	6.7	13.4
	80	180	180	43	56	59	57	23.6	28.1
	81	330	330	44	44	60	63	0	0.7
	平均	270	280	30.7	38.7	58.3	59.7	10.1	14.1
オリブ油脾障害犬	79 1日	450	375	25	56	56	50	39.1	33.1
	80 "	540	570	16	36	88	94	52.0	32.4
	83 3日	615	525	28	28	122	107	26.0	32.0
	85 "	345	330	110	97	68	84	24.0	33.0
	平均	488	450	44.3	54.5	111.3	111.7	35.3	32.6

A: 動脈血 V: 脾静脈血

正常群では動静脈血の差はほとんどみとめられなかつた。Olive 油群では4例中2例が静脈血の方で明らかに活性が高かつたが、他の2例は差異がほとんどなかつた。

(2) Euglobulin の標準平板溶解活性

平均値では両群ともに脾静脈血の活性が動脈血よりわずかに高かつたが、その程度は両群とも同程度であつた。個々にみると動脈と静脈の間で差のないものや、動脈の方が活性が高いものもあつた。Euglobulin 溶解時間との間に平行関係は必ずしも見出せなかつた。

(3) SK 加血漿溶解時間

正常群は動静脈の間に差がなかつた。Olive 油群は静脈血の活性が動脈血より高いものがあつて、そのような例は Englobulin 溶解時間も脾静脈側で活性が高かつた。

(4) Antiplasmin 活性

両群ともに動脈血と脾静脈血とで明らかな差がなかつた。

3. 小 括

正常群は動脈血と脾静脈血の線溶活性に差異はなかつたが、Olive 油群は4例中2例で静脈側の活性が高かつた。

IV. 脾組織片の線溶活性

障害脾組織の遊離型の線溶活性ないしは蛋白分解活性が、正常と比べてどのように変つているかを検討するため、脾組織片を用いて以下の実験をおこなつた。

1. 実験材料および方法

第I章に記した方法によつて、Olive 油および生食水注入による脾障害犬を作製した。この1日目および3日目のイヌと、正常犬にミントール麻酔を施して開腹した。ついで脾組織にうつ血をおこさせぬよう注意しながら、その一部を切除し、生食水で表面の血液を洗い落したあと、氷室でいつたん凍結させた。この凍結した脾組織をとり出し、溶けないうちに鋭利なカミソリ刃で、できる限り血管の見えない部分を1mm<sup>2</sup>の大きさに切り出した。これを Fibrin 平板上に2カ所ずつ置いて、37°C、18時間静置した後、溶解窓の面積を測定した。

用いた Fibrin 平板は、標準および加熱平板のほか、合成線溶阻止剤である AMCHA, ε-ACA (第一製薬) をそれぞれ 10<sup>-3</sup>, 10<sup>-2</sup> モル濃度に加えた標準平板である。

2. 実験成績

表12に示した如く、正常脾組織は標準平板を全く溶解しないものから、かなり顕著にとかすものまであつ

表 12 脾組織片の Fibrin 平板溶解活性

種別	番 号	標準平板	加熱平板	AMCHA 10 <sup>-3</sup> + 標準平板	ε-ACA 10 <sup>-2</sup> + 標準平板	
オリブ油・生食水群	79 1日目	36	110	72	—	
	81 //	256	370	236	—	
	83 3日目	169	72	30	80	
	85 //	64	72	15	56	
	平 均	131.3	155.0	88.3	68.0	
	生食水群	80 1日目	176	180	136	—
		84 3日目	56	168	115	33
		平 均	116.0	174.0	125.5	33
	脾障害群平均		126.2	162.0	100.7	56.3
	正 常 群	82	0	0	0	—
87		0	0	12	0	
91		40	104	22	6	
92		14	3	6	0	
93		26	64	31	40	
平 均		16.0	34.2	14.2	11.5	

た。後者の場合は加熱平板をも溶解し、AMCHA,  $\epsilon$ -ACA による抑制効果も明瞭でなかつたが、No.91 の如く効果のみとめられたものもあつた。

Olive 油群、生食水群はいずれも全例が、各平板を著明に溶解し、AMCHA,  $\epsilon$ -ACA による抑制効果はみとめられなかつた。

3. 小 括

脾障害犬の脾組織片は、Fibrin 平板溶解活性が著しく増加しており、AMCHA,  $\epsilon$ -ACA によつて抑制されなかつた。

考 按

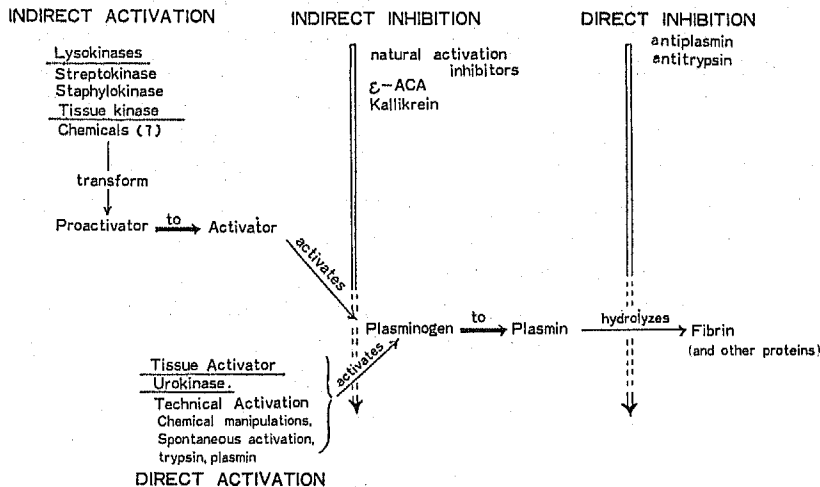
近年、線維素溶解現象(線溶現象)に関する知見がますますつれて、脾疾患のさいの線溶酵素系(Plasmin 系, Fibrinolysin 系)の変動に関してもいくつかの報告がなされてきた<sup>(1)(5)(11)(20)(27)(28)</sup>。しかし測定の対象および測定法がまちまちで、成績も一定していない。

現在知られている線溶系(Plasmin 系)の活性化および抑制の機序を von Kaulla の模式<sup>(9)</sup>によつて示すと図16の如くである。Plasmin(Fibrinolysin)はほとんどあらゆる蛋白を分解しうるが、生体内ではとくに Fibrin に選択的に作用する。しかし血中では通常大部分が非活性の Plasminogen (Profibrinolysin) として存在しており、Activator によつて活性化されてはじめて Plasmin となる。Activator には図に示す如く、間接的にいわゆる Lysokinases, あるいは Tissue kinases によつて Proactivator から転化して生ずるものと、直接それ自身が Activator 作用を有しているものがある。なお他にも真の Acti-

vator ではないが、活性化の trigger となる方法ないし物質がある。ヒトの生理的 Activator は、充分に解明されてはいないが、一般に次の3つに区別されている<sup>(30)</sup>。すなわち(1) Urokinase (UK), (2) 組織 Activator, (3) 血液 Activator である。Urokinase は尿中に排泄される Activator で、その由来は組織 Activator の排泄物なのか、あるいは腎でつくられたものか不明である<sup>(37)(38)</sup>。血液 Activator は各種の体組織、とくに毛細血管内皮細胞に由来するらしく、かつ実際には組織 Activator と同一物であるといわれている<sup>(39)</sup>。組織 Activator は組織細胞中に存在し、組織蛋白と強く結びついた結合型と、細胞外へ遊出しやすい遊離型とがある<sup>(39)(40)</sup>。

線溶活性の測定法としては多数発表されているが、基質の選択が重要であつて、異なつた基質による成績をそのまま比較することはできないといわれている。即ち、Plasmin および Activator は、TAME<sup>(41)</sup>, LME<sup>(42)</sup>, BAME<sup>(43)</sup>などに対する Esterase 作用を有し、かつ血漿、血清に Streptokinase (以下 SK) を加えると TAME<sup>(42)(41)</sup>, BAME<sup>(44)</sup>, BAEE<sup>(45)</sup>に対する Esterase 活性がたかまる。しかし著しい線溶を示す血液が Esterase 活性を示さなかつたり<sup>(46)</sup>, Urokinase で活性化した血漿が Esterase 活性を示さない<sup>(46)</sup>という事実がある。また Plasmin は Casein を分解するが、この Casein 分解酵素と Plasmin が同一物質か否か疑問がもたれている<sup>(47)</sup>。このような混乱をさけるために von Kaulla は Casein や合成基質に対する血液の蛋白分解活性は「線溶活性」とよぶべきでないとしている。しかるに現在まで脾疾患のさいに用いられてきた線溶活性測定法には、Fibrin を基質

図 16



としたものがきわめて少ない。この理由から著者はもつぱら Fibrin を基質として用いた。

従来臨床における脾障害時の線溶活性に関する報告をみると、まず Ratnoff<sup>⑤</sup>は脾頭部癌の手術中に出血死した症例において明らかな線溶亢進をみとめ、Mckay<sup>⑥</sup>は脾癌手術後に出血傾向と低線維素原血症をおこした例をみた。Frick<sup>④</sup>は出血傾向の著明な転移性脾癌を経験したが、その全血溶解時間は正常であったと報告している。以上の症例は確かに線溶亢進があつたものと推定されるが、しかし一般に進行癌では臓器と関係なく線溶亢進があるもので<sup>④</sup>、脾癌に特異的とはいえない。Bridgwater<sup>⑧</sup>は血清 Amylase の高い4例について、血漿 Euglobulin の Hemoglobin 分解活性を調べたが、Plasminogen の増加はみとめられなかつた。Murray<sup>⑦</sup>は、TAME 分解活性を各種疾患についてしらべ、脾疾患などで Plasminogen の増加はないが、Trypsin+Plasmin の活性がたかまるとしている。Powers<sup>⑨</sup>は急性脾炎血清の Casein 分解活性をしらべ、Plasminogen, Plasmin が Trypsinogen とともに増加すると報告した。飯田<sup>⑩</sup>は Euglobulin 溶解時間法で、急性脾炎の線溶活性が著明に低下したのをみている。このようにヒトの脾障害の場合、結果が不統一なのは、測定法の相違と、疾病の重症度、病期などが異なるためと思われる。

動物実験(イヌ)による従来成績をみると、Bridgwater<sup>⑧</sup>は胆汁脾炎犬の24時間以内の変動を、Euglobulin の Hemoglobin 分解活性で測定し、Plasminogen および Plasmin が増加すると報告している。Rush<sup>⑪</sup>は、24時間以内に6匹中5匹が死亡するという重症の胆汁脾炎犬をつくり、その血清 Euglobulin の Casein 分解能を測定した。その結果2~8時間で活性が上昇し、その後低下したが、24時間以上生存した1例では初期の活性上昇は軽度であつたとしている。そして脾管になにも注入しなかつた対照群には変化をみとめなかつた。

著者の作製した Olive 油脾障害犬は3ないし15日以上生存した中等度の脾障害である。このような脾障害では従来 BAA 分解活性(Trypsin 活性?)が1日目ないし3日目に最高になるといわれているので<sup>⑩</sup>、著者はこれと比較する意味で線溶活性を術後1日、3日、7日、15日にまず測定してみた。その結果、線溶活性は1日目ないし3日目に著しく低下することを知つた。

すなわち Euglobulin 溶解時間は Amylase, Fibrinogen が最高値にたつするよりも早く1日目でもつとも活性が低下し、Amylase が正常化した後も低

下の傾向を示した。この Euglobulin 溶解時間は、その溶解時間の大部分が Activator 活性を反映しており<sup>⑩</sup>、本法は Plasmin 自然活性化の程度を知るのにもつとも良い方法であるといわれている。Fibrinogen の濃度はあるていど影響するといわれているが著者の成績では相関々係はみとめられず、Fibrinogen の増加による活性の低下は否定された。すなわち脾障害犬血漿中の Activator は1~3日目に減少したと推定される。この点について、さらに Euglobulin の標準および加熱平板溶解活性の成績によつて検討してみると、まず Olive 油群は両平板の活性がともに低下しているの、Plasmin のみの低下によるものか、Activator と Plasmin の2つが低下しているのか区別できない。しかし生食水群は1日目には加熱平板溶解活性、すなわち Plasmin 活性がほとんど減少していないのに、標準平板溶解活性の低下はかなり明瞭で Activator の減少があることを示している。従つて Olive 油群は Plasmin の低下とともに、Activator 活性も低下していると考えられ、Euglobulin 溶解時間の成績と一致する。

ところで一般に組織の障害がおこると、組織 Activator および SK 様作用を有する Tissue kinase が血中に多量に流入して高 Plasmin 血症をおこすが、Activator の半減期は短く、その血中出現は一過性であると考えられている。従つて Euglobulin 溶解時間の短縮があれば、それは Activator の増加を示しているが、もし著しく延長していれば以前に高 Plasmin 血症が存在していたことを示すものであるといわれている<sup>⑩</sup>。著者の実験でも1~3日目は上述の如く脾障害犬血漿中の Activator が減少し、同時に Plasmin も減少していたが、術後24時間までの変動をみるとごく初期に明らかに Euglobulin の標準平板溶解活性の亢進と、Euglobulin 溶解時間の短縮がみとめられた。このさい加熱平板には著変をみとめなかつた。すなわち初期に Activator の増加がおこつたのである。この場合、手術侵襲がどの程度関与しているかが問題となる。ヒトの手術では一般に術中に線溶が亢進し、術直後から正常化するといわれているが<sup>⑩</sup>、著者の実験では開腹群にほとんど変化はみとめられなかつた。従つて脾障害初期における血漿中 Activator の増加は、脾組織の障害が原因であつて手術侵襲とは無関係であると考えたい。

この脾由来の Activator 活性の亢進が、脾組織の Tissue kinase ないしは組織 Activator が血液中に流入したためおこつたのか、あるいは Trypsin の Activator 作用であるのだろうか。脾組織は Tryp-

sin とは別個に組織 Activator を有しているが<sup>66</sup>、従来は脾に手術侵襲を加えたときは Trypsin の逸脱を考慮すべきであるといわれてきた<sup>7</sup>。著者の実験では Activator 活性の亢進した時期に同じ検体である Euglobulin の加熱平板溶解活性は増加しなかつたので、遊離 Trypsin の有する Activator 作用に起因した Activator 活性の増加とは考えられない。従つて脾の組織 Activator ないし Tissue kinase が血中に流入したことによると考えられる。

以上の如き脾障害初期における線溶活性の増加がみとめられたことは、Rush<sup>11</sup>、Bridgewater<sup>20</sup>らの成績とよく似ているが、彼らの脾障害犬は重症であり、また測定に用いた基質も異なるので全く同一のものを測定しているのかどうかは不明で、同等の比較はできない。

SK-Euglobulin の標準平板溶解活性は、1~3日目において対照群よりもはるかにつよい活性の低下をおこした。すなわち Proactivator の減少がおこつたと推定されるが、これが Proactivator が消費されてしまつた結果であるのかどうかはわからない。SK-Euglobulin の加熱平板溶解活性は1~3日目にほとんど減少しなかつたので、Plasminogen は減少しなかつたのかあるいは減少した後に恢復したものであろう。なお従来、SK は動物血液中の Plasminogen を活性化作用が非常に弱いので<sup>67</sup>、測定時に予め Proactivator の多いヒト血清を微量加える方法がとられてきた。しかし Kumano<sup>68</sup>、Mohri<sup>69</sup>は SK をやや多量に加えた場合は、イヌはサルについて高い線溶活性を示すと報告し、また梶江<sup>66</sup>はイヌ血漿の Sephadex による分画をおこない、それにヒトの場合の4倍量の SK を添加することによつて Proactivator と Plasminogen の両方の存在を確認している。著者の場合も十分大量の SK を加えているので問題はなかと考える。

蛋白分解酵素に対する阻止物質には血中に多くの種類があつて、このうち Antiplasmin, Antitrypsin はいずれも Plasmin 作用を直接的に阻止する。Norman<sup>11,20</sup>は Antitrypsin, Antiplasmin の両作用は同一物質によつて現われることを示唆したが、しかしこれは別々の物質によるとしているものが多い<sup>66-67</sup>。

脾障害における Antitrypsin の変動に関してはいくつかの報告がある。松田<sup>68</sup>は悪性腫瘍、とくに肺癌で著しい増加をみとめた。Goldstem<sup>69</sup>は急性脾炎血漿で活性の上昇をみとめたが、これは二次的変化で脾炎の恢復と関係があるとしている。Zipf<sup>70</sup>も

各種脾疾患で増加をみとめた。以上の報告をみると Antitrypsin にはあまり脾特異性はないようである。実験的には、Rush<sup>11</sup>が前述の重症脾炎で死亡例には急速な活性の低下をみたが、生存例は軽度の低下を示したのみで、対照は無変化であつたと報告している。しかし著者の実験では、Olive 油群は手術直後にいつたん増加したが、その後低下し、3日目再び著増していたが、対照群も同様の変動を示した。従つてこれは侵襲に対する生体の一般的な反応であると考えたい。

Antiplasmin は血栓症、心筋硬塞、手術後などで増加するが<sup>66,68,71,72</sup>、脾疾患における報告は乏しく、また Antiplasmin の生理的役割もよくわかつていない。著者の実験では術後10時間までは軽度の増加傾向がみとめられたが、以後一定の傾向をみとめがたかつた。

流血中には以上の Plasmin 阻止物質のほか Plasminogen の活性化を抑制する Antiaactivator も存在する。Antiaactivator は種々の Activator に対してそれぞれ特異的なものがあるらしく、そのうちとくに、SK, Urokinase, および生理的 Activator に対する阻止物質に興味もたれているが十分解明されていない<sup>73</sup>。Anti-urokinase (Anti-UK) に関する報告としては、Nilsson<sup>74</sup>は血栓症患者において Antiplasmin とともに Anti-UK, Anti-SK が著しく増加したのをみとめており、Olow<sup>63,74</sup>は胆のう摘出術のさいは Anti-UK が術中に低下し、術後3~6日目に中等度に増加するが、ヘルニア根治手術の後では増加傾向をみとめなかつたと述べている。著者の実験では、Olive 油群は1日目および3日目で著しい Anti-UK の増加を示したが、開腹群には変化がなかつた。この Anti-UK の増加がどの程度脾障害に特異的であるかは不明であるが、少なくとも Antitrypsin, Antiplasmin に優るものであることを知つた。

なお、Antiaactivator は Antiplasmin, Antitrypsin とは異なり、Euglobulin 分画中に沈降して Euglobulin 溶解時間を延長させるともいわれているので<sup>69</sup>、前述した Olive 油群の1~3日目における Activator の減少はこの点も一応考慮して評価する必要もあろう。

全身の循環血液の線溶には異常をみとめないのに局所的に線溶の亢進していることがある。その場合は局所の出血、滲出傾向の増大あるいは局所静脈血の線溶亢進などがみとめられる<sup>66,75</sup>。すなわち真木は組織 Activator 活性の高い子宮からの輸出血管血液中につよい線溶活性をみとめた<sup>66</sup>。著者も脾障害犬の脾静



脈血の線溶活性が4例中2例で亢進しているのをみとめた。しかし脾は各種蛋白分解酵素を含んでいるので、他の組織ほど単純には解釈できない。

また従来、正常脾組織の有する組織 Activator 作用は Trypsin によるものであらうと考えられてきたが<sup>(6)(7)(7)</sup>、脾はまた明らかに組織 Activator を有している<sup>(6)</sup>。著者も正常脾組織片に弱い線溶活性のあることをみとめたが、これは加熱平板をも溶解し、AMCHA、ε-ACA によつて阻止されないで、Plasmin 系以外の蛋白分解酵素によるものと考えた。しかしこれはまた、脾組織内酵素が凍結などによつて遊離したための人工的な所見である可能性も充分考えねばならない。

障害をおこした脾組織の蛋白分解酵素活性性に関しては、Beck<sup>(7)(7)</sup>は脾障害犬の場合 Trypsin, Trypsinogen, Antitrypsin のいずれも正常と変りないとしている。しかし Troll<sup>(6)</sup>, Haverback ら<sup>(7)</sup>, Eisenhart ら<sup>(8)</sup>は障害脾組織中では活性 Trypsin が増加し、Antitrypsin が低下することを示唆する成績を発表している。教室の越知<sup>(9)</sup>は障害された脾組織の30%蔗糖抽出液は線溶阻止物質を除かなくても、標準および加熱平板に対する溶解活性が増強することをみとめている。著者は、Olive 油および生水による脾障害犬の1日および3日目の脾組織片が、正常と比べ著しく強い線溶活性を有していることをみとめたが、これは加熱平板をもとかし、AMCHA、ε-ACA によつては全く抑制されなかつた。従つてこれは線溶系以外の蛋白分解酵素が活性化されていることを示しているといえよう。

以上の結果から脾障害犬の一部にみられた脾静脈血の線溶亢進は、脾組織から線溶系以外の蛋白分解酵素が血中に入ったためかもしれない。

実験的脾障害犬においては、以上の如く、初期に一過性に線溶活性の亢進がおこるが、以後は線溶活性、とくに Activator の低下がおこり、同時に Anti-UK, Antitrypsin の増加がみとめられた。このことは、第2編にのべる凝固亢進状態とともに、脾障害時における血栓形成傾向に関連する病態ではないかと考えられる。

## 結 語

主脾管内へ Olive 油を注入する方法で実験的脾障害犬を作製し、その線溶活性および抗線溶活性を経時的に測定して次の結果をえた。

1. 血清 Amylase は60分後から上昇しはじめ、3日目に最高となり、7日目に前値に復した。

2. 血漿 Fibrinogen 量は、30分ないし60分後から増加して3日目に最高となり、15日目に前値に復した。

3. Euglobulin 溶解時間は、15分後から60分目まで軽度に短縮したが、以後徐々に延長して1日目にもつとも著しく延び、15日目に前値に復した。

4. Euglobulin 溶解時間と血漿 Fibrinogen 量との間には何らの相関々係もみとめられなかつた。

5. Euglobulin の標準平板溶解活性は、30分後から3時間目まで明らかな増加を示したが、6時間後から漸次低下して1日目にもつとも減少し、以後恢復傾向を示したが前値には戻らなかつた。対照も1日目に軽度の減少を示した。

6. Euglobulin の加熱平板溶解活性は、初期には明らかな変化は示さなかつたが、1日目には減少し、7日目に前値に復した。対照は1日目の減少をおこさなかつた。

7. 血漿の標準および加熱平板に対する溶解活性はいかなる時期にも全くみとめられなかつた。

8. SK 加血漿溶解時間は、15分後から軽度に延長し、1日目にもつとも延長したが、15日後にもなお軽度の延長がみとめられた。

9. SK-Euglobulin の標準平板溶解活性は1日目に減少し、7日目に前値に復した。対照も1日目軽度に減少した。加熱平板溶解活性は明らかな変化を示さなかつた。

10. Antitrypsin は15分後から60分目まで軽度に増加した後、1日目はほぼ前値に復し、3日目に再び増加した。対照も同様の変化を示した。

11. Antiplasmin は30分後から10時間目まで軽度に増加したが、以後は明瞭な変化を示さなかつた。

12. Anti-urokinase は1日目および3日目に著しく増加した。対照には変化をみとめなかつた。

13. 脾静脈血の Euglobulin 溶解時間および SK 加血漿溶解時間は、動脈血よりも短縮している例があつた。正常犬ではこのような差はみとめられなかつた。Euglobulin の標準平板溶解活性および Antiplasmin は正常と対比して差異がなかつた。

14. 脾組織片の標準および加熱平板溶解活性は、正常と比べて著しく増加しており、かつこれは AMC-HA、ε-ACA によつて抑制されなかつた。

以上より実験的脾障害の初期30分ないし3時間目までは、血中の Activator の増加することが明らかであつて、脾組織から血中へ組織 Activator ないし Tissue kinase が流入することによつてこれが起つたと考えられる。また1日目ないし3日目には、逆に

血中の Activator, Proactivator および Plasmin の減少がおこり、同時に Anti urokinase の増加がみとめられた。また脾静脈血に線溶活性の亢進のみとめられた例があり、これは障害脾組織から血中へ線溶系以外の蛋白分解酵素が流入していることを示唆していると考えられる。

本論文の要旨は第28回日本血液学会総会、第63回日本内科学会総会において発表した。

稿を終るにあたり、御指導、御校閲を賜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、有益な助言と協力を惜しまれなかつた荻原洋三助教授、松岡恒美博士、越知富夫学士をはじめ教職員各位、ならびに神戸大学生理学教室の美原恒講師に深謝いたします。

本研究の一部は厚生省癌研究助成費によつた。

#### 文 献

- ①Trousseau, A.: Clinique de médecine de l'Hotel-Dieu de Paris, 3rd. ed., pp 80 and 739, 1877, Barrière, Paris ②Sproul, E. E.: Amer. J. Cancr, 34:566, 1938 ③Dreiling, D. A., Blum, L. & Sanders, M.: Arch. Int. Med., 96:490, 1955 ④Frick, P. G.: Acta Haemat., 16:11, 1956 ⑤Ratnoff, O. D.: J. Clin. Invest., 31:521, 1952 ⑥Lombardo, L. J.: J. Urol., 77:289, 1957 ⑦村上文夫・門田尚武: 代謝, 2:211, 1965 ⑧Blumenthal, H. T. & Probststein, J. G.: Pancreatitis: A clinicalpathologic correlation, pp 143, 1959, Thomas, Springfield ⑨Beisel, W. R., Herndon, E. G., Myers, J. E. & Stones, L.: Arch. Int. Med., 104:539, 1959 ⑩Storer, J. & Kazdan, P.: Surg., 33:683, 1953 ⑪Rush, B. & Clifton, E. E.: Surg., 31:349, 1952 ⑫Innerfield, I., Angrist, A. & Benjamin, J. W.: Gastroent., 19:843, 1951 ⑬Grossman, M. I.: Arch. Int. Med., 96:298, 1955 ⑭Innerfield, I., Angrist, A. & Benjamin, J. W.: Amer. J. Med., 12:24, 1952 ⑮Dreiling, D. A., Janowitz, H. D. & Perrier, C. V.: Pancreatic Inflammatory Disease, pp 125-127, 1964, Hoeber, New York ⑯Lassen, M.: Acta. Physiol. Scand., 27:371, 1953 ⑰Müllertz, S.: Biochem. J., 61:424, 1955 ⑱Powers, S. R., Brown, H. H. & Stein, A.: Ann. Surg., 142:690, 1955 ⑲Nardi, G. L.: J. Lab. & Clin. Med., 52:66, 1958 ⑳Nardi, G. L.: New Engl. J. Med., 258:797, 1958 ㉑Nardi, G. L.: Surg., 46:30, 1959 ㉒荒木 登: 日消誌, 57:435, 1960 ㉓Gullick, H. D.: New Engl. J. Med., 278:851, 1963 ㉔Vartio, T. & Merouen, R.: Ann. Med. Exp. et Biol. Fenniae, 38:413, 1960 ㉕Butin, J. W. & Graham, W. D.: Gastroent., 40:669, 1961 ㉖Bridgwater, A. B. & Necheles, H.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 95:84, 1957 ㉗Murray, M.: Amer. J. Clin. Path., 31:107, 1959 ㉘飯田忠重: 信州医誌, 13:55, 1964 ㉙大柴 進: 線維素溶解現象測定法, pp17-23, 1962, プラスミン測定法研究会, 関西地区 ㉚von Kaula, K. N. & Schultz, R. L.: Amer. J. Clin. Path., 29:104, 1958 ㉛Astrup, K. T. & Müllertz, S.: Arch. Biochem. Biophysic, 40:346, 1952 ㉜Bergström, K., Blombäck, B. & Kleen, G.: Acta Med. Scand., 168:291, 1960 ㉝西山恵夫: 阪市大医誌, 12:97, 昭38 ㉞松岡松三・佐竹清人・深沢 英: 臨床検査, 2:61, 1958 ㉟Somogyi, M.: J. Biol. Chem., 125:399, 1938 ㊱von Kaula, K. N.: Chemistry of Thrombosis: Human Fibrinolytic Enzymes, pp 7-95, 1963, Thomas, Springfield ㊲Ambrus, J. L.: Fed. Proc., 25:28, 1966 ㊳Pechet, L.: New Engl. J. Med., 273:966, 1965 ㊴岡本彰祐: 日血会誌, 28:332, 昭40 ㊵Sugiyama, Y. & Okamoto, S.: Kobe J. Med. Sci., 10:257, 1964 ㊶Troll, W., Sherry, S. & Wachman, J.: J. Biol. Chem., 208:85, 1954 ㊷Dabaly, A. & Mertz, E. T.: Amer. J. Physiol., 191:505, 1957 ㊸Hestrin, S.: J. Biol. Chem., 180:249, 1949 ㊹Sherry, S. & Alkjaersig, N.: Ann. N. Y. Acad. Sci., 68:52, 1957 ㊺Schultz, R. L., Moorman, J. A., Matoush, L. O. & Lincoln, A. F.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 94:198, 1957 ㊻Schultz, R. L. von Kaula, K. N.: Biochem. J., 68:218, 1958 ㊼Todd, E. W.: J. Exp. Med., 89:295, 1949 ㊽Mckay, D. G., Mansell, H. & Hertig, A. T.: Cancer, 6:862, 1953 ㊾Clifton, E. E. & Grossi, C. E.: Cancer, 8:1146, 1962 ㊿松岡松三: Medical Digest, No. 82, 1965 (第一製薬) ㊱Olow, B.: Scand. J. Clin. Lab. Invest., 116 (Suppl. 78) 30, 1963 ㊲Anderson, L., Nilsson, I. M. & Olow, B.: Thromb. Diath. Haemorrh., 7:391, 1962 ㊳田中健一・他: 臨床血液, 7:117, 1936 ㊴神前五郎・他: 臨床科学, 2:1345, 1966 ㊵Tsitouris,

- G., Bellet, S., Eilberg, P., Feinberg, L. & Sandberg, H.: Arch. Int. Med., 108: 208, 1961
- ⑤Lieberman, J.: Gastroent., 50: 183, 1966
- ⑥Cliffton, E. E. & Downie, G. R.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 73: 559, 1950
- ⑦Kumano, O.: Acta med. Okayama, 16: 351, 1962
- ⑧Mohri, M.: Acta med. Okayama, 17: 183, 1963
- ⑨榎江勇・他: 臨床血液, 7: 110, 1966
- ⑩Norman, P. S.: J. Exp. Med., 108: 53, 1958
- ⑪Norman, P. S. & Hill, B. M.: J. Exp. Med., 108: 639, 1958
- ⑫Grob, D.: J. Gen. Physiol., 33: 103, 1949
- ⑬Schulman, N. R.: J. Exp. Med., 95: 593, 1952
- ⑭Jacobson, K.: Scand. J. Clin. Lab. Invest., 7 (Suppl. 14): 55, 1954
- ⑮Maki, M. & Nagasawa, K.: Tohoku J. Exp. Med., 80: 315, 1963
- ⑯Maki, M. & Kikuchi, T.: Tohoku J. Exp. Med., 81: 188, 1963
- ⑰松田 保: 日血会誌, 26: 581, 昭38
- ⑱Goldstem, M., Butter, M., Patterson, M. & Gregory, R.: Amer. J. Med., 25: 121, 1958
- ⑲Zipf, R. E., Katchman, B. J. & Homer, G. M.: Measurements of Exocrine and Endocrine Functions of the Pancreas, pp 45-53, 1961, Lippincott, Philadelphia
- ⑳Norman, P. S.: Fed. Proc. 25: 63, 1966
- ㉑長山ら: 日外宝, 28: 487, 昭34
- ㉒Nilsson, I. M., Krook, H., Sternby, N. H., Sodeberg, E. & Sodestrom, N.: Acta Med. Scand., 169: 323, 1961
- ㉓Olow, B.: Acta Chir. Scand., 125: 440, 1963
- ㉔真木正博: 日血会誌, 28: 354, 昭40
- ㉕杉野律朗・榎江勇・他: 日生誌, 28: 403, 1966
- ㉖Albrechtsen, O. K.: Brit. J. Haemat., 3: 284, 1957
- ㉗Beck, I. T., Pinter, E. J., Solymar, J., McKenna, R. D. & Ritchie, A. C.: Gastroent., 43: 60, 1962
- ㉘Beck, I. T., Pinter, E. J., McKenna, R. D., Ritchie, A. C. & Solymar, J.: 2nd World Congress of Gastroenterology, München 1962, vol. IV, pp 113, 1963, S. Carger Basel, New York
- ㉙Troll, W. & Doublet, H.: Gastroent., 19: 326, 1951
- ㉚Haverback, B. J., Dyce, B., Bundy, H. & Edmondson, H. A.: Amer. J. Med., 29: 424, 1960
- ㉛Eisenhart, R. H., Hartzell, G. W. et al: Fed. Proc., 20: 252, 1961
- ㉜越知富夫, 他: 日血会誌, 29: 409, 1966