

## 変性纖維素原の研究

昭和32年4月20日受付

信州大学医学部法医学教室(指導教授:佐藤武雄)

助手 仲 俣 英 夫

## 序 纖維素溶解現象に関する文献

(及び変性纖維素原の定義)

血液凝固現象に於て Thrombin の作用により, Fibrinogen より転化形成された所の Fibrin は或る条件の下に於て再びその流動性を獲得する事実が知られている。

Dastre (1893)<sup>①</sup>は此の現象に Fibrinolysis と命名し, 又 Rosenmann (1920)<sup>②</sup>は組織滲出液よりする proteolytic enzym の研究に於て此の場合の纖維素溶解能を有する物質に Fibrinolysin と名付けた。

此の纖維素溶解性物質に就ては現在迄多くの研究がなされて居り, Tillet & Garner (1933, 1934)<sup>③④</sup>はβ-溶血性連鎖球菌培養液より後に Streptokynase と呼ばれるに至つた所の lytic-factor を分離精製したが, Kaplan (1944)<sup>⑤</sup>, Tagnon (1942)<sup>⑥</sup>, Christensen & MacLeod (1945)<sup>⑦</sup>は, この lytic-factor が血漿 Groburin 中に不活性の酵素として存在する Plasminogen を賦活し纖維素溶解作用を有する Plasmin に活性化する Kinase であるとした。此の Plasminogen は前述の Streptokinase 又は Chloroform で賦活される事が知られて居り Cohn 等の低温エタノール分別法により, その血漿蛋白分画 III-2, 3, 及び硫酸アンモニウム 33%飽和沈澱, 稀釈による沈澱, 又は pH 5.5 で酸性液より沈澱分離される水難溶の Euglobulin である事が明らかにされている。

以上, 略述した経過を以つてその存在を証明された Plasmin (Fibrinolysin) は Macfarlan & Pilling (1946)<sup>⑧</sup>に依れば正常血漿アルブミン分層中にある Antiplasmin との結合により生体内に於けるその平衡を保持しているものであると云われ, その平衡状態は比較的弱いもので, Antiplasmin に対する Plasmin 量が増加しても, 又血漿稀釈, クロロホルム添加等の処置に依つても容易に破れ纖維素溶解能を得るに至るものであつて, その他所謂 Schock 現象に附随して見られる纖維素溶解もこれを以つて説明している (Tagnon (1950)<sup>⑨</sup>は組織細胞中の Cytolysokinase がショックにより血中に放出され, これにより活性化された Fibrinolysin が多量に出来る為, Antiplasmin との平衡が破れ, 溶解が起るとしている)。

此の Schock の際に見られる纖維素溶解現象は急激死人に於て見られる流動性屍血と共に古くから知られているが, 特に後者に就いては, 急激死とりわけ窒息死の際の特有な徴候として知られて居り裁判医学上の重要な問題としても取り扱われて来ている。

此の流動性屍血の原因は生体に与えられた stress に対する physiological reaction として Salve が定義した警告反応の一つであろうが, その成因に関しては縊死人血に就いて Fidelis (1664), Zacchallas (1726) が, 又, 急激屍人血に就いて Morgagni (1769), Hunter (1794) が, 及び, 始めて此の流動血が縊死に特有なものであると発表した所の Plenk, Müller (1802) が着目して以来, これに関する諸家の報告がなされて居り, Bonn et Brouardel<sup>⑩</sup>の炭酸過剰説, 同様な意味に於て Lenggenhager 及び Strasser<sup>⑪</sup>等の過酸化説, Corin<sup>⑫</sup>の凝固阻止物質発生説, Brouardel<sup>⑬</sup>の Dekoagulation 説, Morawitz<sup>⑭</sup>, 石川<sup>⑮</sup>, 沖<sup>⑯</sup>等の纖維素原消失説, Vogel<sup>⑰</sup>の纖維素原変性説, Macfarlan<sup>⑱</sup>の Adrenalin 過剰分泌説, 等々その何れを執るか迷わざるを得ない状態であつた。

1936年, 佐藤教授<sup>⑲</sup>, 及びその門下島崎は抗豚纖維素原免疫家兎血清を以て行つたその血清学的証明法により, 人流動性屍血漿中には生前と略々同量の纖維素原が変性しながらも尚存在している事実を証明, 続いて同教授及び佐中・松本<sup>⑳</sup>(1942)は多くの貴重な人体材料に就いて, これを死後より経刻的に観察し此の場合の血液は死后1時間前後には肉眼的には完全な凝塊と見られる或る段階 (Prefibrin) の凝固状態を得, その後死后  $2\frac{1}{2}$ ~ $3\frac{1}{2}$  時間に至る間に, 完全な流動性を得る迄に溶解するものであり, この現象は一般に云われている纖維素溶解と同様のものであろうと言及し, 溶解に際して作用する能働性物質, 即 Plasmin なりと論じ, これ迄の諸説の中にあつて明確なる一指針を示したのである<sup>㉑</sup>。此の事は Schmitz<sup>㉒</sup>(1936)が前述の Plasmin-Antiplasmin の平衡はトリクロール醋酸によつても破れ, それにより Plasmin は沈澱するが Antiplasmin は尚上清中にある事を明らかにし, それに続いて Mole<sup>㉓</sup>(1948)が急死人血が速やかな纖維素溶解を示すのは, トリクロール醋酸により沈澱する或

る酵素の作用に依るものであると述べている事と考へ合はせる時、その暗合の妙、誠に興味深いものがある(然しながら Mole は流動性屍血はトロンピン、トロンボキナーゼ添加に依つても変らない。この際の纖維素原は塩析、加温によつても沈澱しない、McFarlan 法により、この場合の屍血には纖維素溶解能を持つている等の事は認めているが、経刻的な観察は行つて居らず又、その纖維素溶解性物質は Plasmin とは異なる脾臓性の蛋白酵素であると云つて居る)。此の流動性屍血と Plasmin とを結びつける考へより出た近年に於ける研究は我々の教室に於ける武内<sup>23)</sup>を始め、名古屋大学<sup>24)</sup>、千葉大学<sup>25)</sup>各法医学教室、及び Bidwell<sup>26)</sup>(1953)、Müllertz<sup>27)</sup>(1952)等の報告がある。

次に欧米に於ける流動性屍血の成因に関する諸説中、最も支持者の多いものを挙げてみるならば(主として Obersteg<sup>28)</sup>(1954): Tod und Blutgerinnung. 及び Astrup<sup>29)</sup>(1956): Fibrinolysis in the Organism. と題する綜説より引用している。)その実験方法、その解釈に於ける夫々の立場は異つてはいるが、結論的に云つて、纖維素原消失説がそれである様に思われる。此処に、その代表的なものゝ2~3を挙げてみるならば、Lenggenhager<sup>30)</sup>は血中に CO<sub>2</sub> が蓄積される事により過酸化による凝固時間が延長し、自己融解促進により纖維素原が消失する。

Halse<sup>31)</sup>は動物実験により、急死後の血液は、その死后30分以内は凝固性があり、その Mikrokjeldahl 法を用いた観察によれば、流動血中には纖維素原は無く、その成因は呼吸停止を目標とする死後の心活動持続に関係があると云つて居る。

Schleyer<sup>32)</sup>(1950)は窒息死の場合、その血中の凝固反応因子の不活性化により流動血が表れるとしている。即ち、トロンボキナーゼの活性の減弱、プロトロンピンの欠除により凝固は障碍されるが、此の場合の血液が死后3時間迄は血管外で凝固すると云つて居る。又、彼は9例の急激死屍体より特殊の吸引装置を用い死後出来る限り急速に採血した血液による凝塊を、同一条件下の正常凝塊とその重さを測定する事により比較検討し、此の場合の纖維素原は持続的に減少するものであつて、死后2時間では0.15%、5時間では0.12~0.13%となるが、それ以前に測定出来なくなるものもあると、その結果を発表している。

Obersteg<sup>28)</sup>(1954)は急激死屍、及び種々の方法で急死させた動物の血液を Mikroeletrophorese 法(微量の試料及び短時間で得る電気泳動法)を用いて行つた観察の結果「一般に急死後の流動性屍血は、死后3~5時間迄は血管外で凝固する」と述べ、又同様

の実験に Anticoagulant として Heparin, Dicmarol を用いた実験により、急死後の血中にも纖維素原がそのまゝ残つている事を見出し、此の一見矛盾した二つの所見より「流動性屍血に於ける纖維素原消失は、むしろ凝固過程に引き続いて来るものに違いない。凝固が抑制されている時、纖維素原消失も表れない」とその見解を述べ、続いてその凝固過程に於ける Fibrinolyse の始まる時期に、Apitz<sup>33)</sup>の Profibrin を假定して更にその実験を進めているが、以上の Obersteg の解釈は佐藤教授のそれに略々一致しているばかりでなく、彼の報告、第二部の末尾に於て佐藤教授の業績を紹介し、「……一方、我々は中間段階を辿つて完全な Fibrinolyse に至ると云ふ意見を持つている。」と結んで佐藤教授の説を肯定している事等、実に興味深いものがある。

依つて、此処に佐藤教授が流動性屍血に関して提唱された趣旨を要約して見るならば、「流動性屍血に於ける血液の凝固は、その体内に於て Schock 又は窒息等の原因によつて生じた Plasmin の作用を受けながら進行し、Prefibrin と名付ける完成された Fibrin に至る前段階で、その進行を停止した後、此処より溶解への逆行を開始し、こゝに謂所眞の流動性を獲得するものであつて、完全に流動性を得た屍血液中には正常のそれと比較して種々の性状を異にしている所の、全教授の所謂変性纖維素原の状態で、尚纖維素原が残存している事を証明出来る」と約す事が出来よう。次に上述の変性纖維素原に就いて述べて見るならば、従来良く使用されて来た「変性纖維素原」と云ふ言葉の指示するその内容は、決して明確なものではなく、一般に概念的に使用されていると解せられて良い。従つてこれに就いての定義を述べるに當つては、佐藤教授並にその門下の多年に亘る流動性屍血の成因及びそれに関連しての多数の研究の結果に依らなければならぬ。

即ち、同教授等の謂ふ変性纖維素原は次の如き性状を具存しているものであると解せられる。「変性纖維素原は免疫学的に、抗纖維素原血清を作製し、その臓器特異性の部分を利用して沈降反応を検査すると正常纖維素原と同様の反応を呈するが、室温に於ける中性塩による塩析性は減弱し、自然凝固能も無く、又強力なトロンピンを添加しても凝固を起さない。唯 56°C 加温により程度は弱いが濁濁を起す。又斯る変性纖維素原含有の血漿は、その量の10~20倍量の蒸留水を加へる時に濁濁沈澱を生ずる(正常纖維素原の場合は起らない)」。斯る変性纖維素原は、勿論正常纖維素原の腐敗その他の変化に依つても招来されるものであろう

が、比較的長時間の間に変性繊維素原となるには上述の Prefibrin が Plasmin の作用により溶解した結果、生じたその生産物として発現して来る場合であると解して良いであろう。著者は本研究に於て、変性繊維素原とは斯るものであるとして、そのものを使用している。

著者は以上の事柄に就いて尙一層の解明を試んとして先に繊維素溶解過程及び正常血液凝固過程を電子顕微鏡を用いて比較観察し、両過程間に一致する或る段階、即ち Prefibrin を認めこれを報告したが<sup>(46)</sup>、今回、血液凝固及び繊維素溶解過程に於ける Prefibrin の位置に就いての電子顕微鏡に依る研究<sup>(48)</sup>、及び変性繊維素原に関する若干の研究(本論文及び<sup>(47)</sup>)の結果を報告するに当り、その各々の場合の文献照介を兼ねて此処に繊維素溶解現象に関する研究経過の一部を抄述した。

## 第一章 緒言

窒息死を始め急激死の屍血液は流動性であり、これが凝固能を消失している事に就いては、現在では既知の事実であり殊更に取り上げる迄もないが、これが成因に関しては前述の如き諸説があり、中にも Trypsin 様の物質により Fibrinogen, Thrombin が消化消失してしまふ事に由来するとした Morawitz, 石川, 沖等の説は当時支配的な学説として注目されていた。然るに佐藤教授及び門下島崎は抗豚繊維素原免疫家兎血清を用いて行つた繊維素原測定法により、流動性屍血中にも尙繊維素原の存在しある事を実証し、同繊維素原に変性繊維素原と命名した。

佐藤教授はその後の多くの実験的研究に基づき、変性繊維素原の性状を前述の定義の如く規定している。これを再び列記して見るならば次の通りである。

即ち、

- 1) 変性繊維素原は佐藤-島崎の繊維素原測定法により沈降反応を起す。
- 2) 変性繊維素原は凝固能を消失して居り、Thrombin を加えても凝固しない。
- 3) 変性繊維素原は室温に於ける塩析能が減弱している。
- 4) 変性繊維素原は蒸留水に難溶である。
- 5) 変性繊維素原は 56°C 加温により沈澱する。
- 6) 変性繊維素原は Plasmin と良く結合している。
- 7) 変性繊維素原は Prefibrin からの Fibrinolyse の結果産出されてくる。

著者は上記諸種の定性試験を利用し、此等諸網目中、その二・三に就いて詳細なる追試的研究、特に塩析、及び有機溶媒による変性繊維素原の分離について

種々の条件を加味しつつ検討して見た。尙、此の変性繊維素原の塩析に就いては、従来迄は、室温及び、比較的短時間の条件下に於て、その塩析性が減弱していると観察されていたものであるが、著者が低温度の条件の下で行つた予備試験に於て、沈澱してくる事を知つたので、これを系統的に追究してみたものである。

## 第二章 実験材料

(I) 人繊維素原;— 正常人尿酸血漿。

(II) 凝固素;— 1) 2.5% CaCl<sub>2</sub> 溶液。2) 10倍稀釈犬血清 (Wolgemuth 法に依る凝固試験に使用)。

(III) 繊維素溶解酵素;— ストレプトキナーゼ (S. K);—  $\beta$  溶血性連鎖球菌を武内<sup>(2)</sup>の組成による Bouillon に24時間培養後、Seiz filter にて濾過、その濾液を Tillet, Garner<sup>(3)(4)</sup>の精製法に依り、pH 4.2 に修正、2~4 倍量の Ethanol 添加氷室に一時間放置后遠心分離した沈澱物を凍結乾燥して保存、使用に当つては生理的食塩水により適量に溶解、pH 7.4 に修正し使用した。2) 急激屍人血漿;— 溢死、青酸等の中毒死、又は電撃、その他のショック死による流動血より得られる血漿を、そのまま、或いは乾燥保存せるものを原血漿量に溶解し使用した。

(IV) 抗豚繊維素原免疫家兎血清;— Nolf 改良の Hammarsten 法に Fuchs 提唱の水酸マグネシウム添加法を併用し得られた豚繊維素原、及びその後に至つて使用した所の Cohn 等による低温エタノール分別法 Fraction I により得た豚繊維素原 (低温下、豚尿酸血漿に 8% に純エタノールを添加、得られた沈澱物を凍結乾燥后保存) を注射免疫抗原として家兎を免疫し、抗豚繊維素原免疫家兎血清を得、沈降反応による Titel 512 倍以上のものを使用した。尙免疫手技の詳細、及び Hammarsten 法、並びに低温エタノール分別法による夫々の Fibrinogen を用いた場合の差異に就いては、著者及び上条の行つた "変性繊維素原の生体内抗原性に就いて" の報告<sup>(47)</sup>中に詳述してある。

(V) 塩析剤;— 1) 硫酸アンモニウム;— 1N, 2N, 3N, 4N, 5N, 6N, 飽和の各溶液を作り使用した。

2) 塩化ナトリウム;— 3N, 3.5N, 4N, 4.5N, 5N, 飽和の各溶液を作り使用した。

(VI) 沈降剤;— 沈降剤としての有機溶媒には 99% 純エタノールを使用した。

尙、本論文の実験中、塩析及び有機溶媒に依る正常並びに変性繊維素原分離に当つての低温下の諸操作は、これを全て 0~5°C の恒温低温室内に於て行つた。

此の恒温低温室の使用は第二解剖学教室鈴木教授の御好意に依るものである。

以下、氷室又は低温条件下とあるのは、上記恒温低

温室内操作を指すものである。

第三章 実験方法及び実験成績

第一節 硫酸アンモニウム塩析による  
分離法

第一項 ストレプトキナーゼを用いた場合

実験 (I) 変性繊維素原析出に要する至適  
(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 濃度検定

その実験方法;- (イ) 此の実験には人血漿約 50cc を使用し、本試験に先立ち、予備試験として使用人血漿の凝固能、及び沈降反応 (佐藤・島崎法) による繊維素原価を測定し、又塩析に使用する各濃度の硫酸規定溶液により正常繊維素原を塩析、その析出されたものに就て繊維素原価、凝固能を測定した。(ロ) 予備試験に引き続いて行つた本試験に於ては、変性繊維素原を (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> で塩析する場合の至適濃度、及び S.K 力価の多寡が変性繊維素原産出に及ぼす影響をも併せて見た。即ち10本の試験管に人蔘酸血漿0.5cc宛を取り、これに倍数稀釈した S.K を夫々、順次に 1.0 cc 宛 9 本追加え10本目は対照として 0.85% 食塩水 1.0 cc を入れ、その後 2.5% CaCl<sub>2</sub> 0.1cc を各々添加、混合の上、フラン器内に於ける凝固、及び24時間後のその溶解状態を見、その溶解しているものゝみにつき不溶解物を除いた後、その各々に硫酸規定液を等量宛追加え、氷室に30分~1 間放置后析出物を凍結乾燥せしめ、これを原血漿 2 倍量 (1.0cc) の生理的食塩水に溶解し、之を 2 倍稀釈変性繊維素原液とし、これより 0.5cc 宛の倍数稀釈列を作りこれに依り佐藤、島崎法による繊維素原価を測定、続いて同稀釈列に Thrombin を加える事により凝固能 (Wohlgemuth) を調べた。此の際の硫酸添加法等の詳細は次の通りである。

i) 塩析試験は上述の10本の試験管を以つて 1 列と

し、1/2N より半飽和迄の 7 列を行つた。

ii) 使用 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 規定液は夫々要求する濃度の倍濃度のものを用い、之を等量加える事により求める規定濃度に依る塩析を行つた。

iii) Wohlgemuth 法による凝固試験に際しては、Thrombin としての犬10倍稀釈血清を 0.5cc 宛追加え、氷室24時間後に之を調べた。

iv) 繊維素原価は佐藤、島崎法により、抗豚繊維素原免疫家兔血清を用いた沈降反応により、これを測定した。

その実験成績;- 予備試験として行つた使用人血漿の繊維素原価測定及び凝固試験の結果は第 1 表に示す。続いて行つた同じく予備試験としての塩析、及びこれに依つて得られる正常繊維素原の繊維素原価測定及び凝固試験の成績が第 2 表 A、B である。

これより正常繊維素原は硫酸を用いた場合、その 2.5N, 3N, 半飽和の塩析で最つとも良く析出される事がわかる (第 2 表 B)。

しかし、この凝固試験中、試験管 No. 5, 6, 7 のものに於て、その稀釈倍率の低い部分に凝固反応の陰性又は極度に弱くなつている状態を見る事が出来るが、これは (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> により凝固が抑制されているものと解し、その解明の為次の実験を行つた。

即ち Salz を除去した場合の析出正常繊維素原による凝固試験である。第 2 表 A の場合と同様の操作を以つて得た各繊維素原を一昼夜溜水中で透析 (透析膜としてはコロヂオン膜を作り使用した) する事により (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> を除き、沈澱物を再び生理的食塩水に溶かし、これにより第 2 表 B と同様の試験を行つた。その結果、予知したものと一致する結果を得た。即ち、第 2 表 B 凝固試験の低稀釈部に於ける凝固の陰性及び

第 1 表 予 備 試 験  
(実験使用人蔘酸血漿繊維素原価測定及凝固試験)

繊維素原価 (佐藤、島崎法)	卍	卍	卍	卍	卍	卍	卍	+	±	-	-
人血漿 (稀釈)	P	2×	4×	8×	16×	32×	64×	128×	256×	512×	K
凝固試験 (各 Thrombin 0.5cc)	卍	卍	卍	卍	卍	+	+	±	-	-	-

第 2 表 A 予 備 試 験  
(各濃度 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> に依る正常繊維素原塩析)

試 験 管 No.	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7
繊維素原	0.5cc	//	//	//	//	//	//
0.85% NaCl	0.5cc	//	//	//	//	//	//
塩析規定濃度 (各 1cc)	2/1N	1N	1.5N	2N	2.5N	3N	半飽和

弱化は凝固成立が Salz により抑制されている為であり、従つて純粋な纖維素原を得る為には Salz 除去が必要である事を知つた。然し透析操作によりその量はやゝ減量する。

以上の実験は対照の意味で行つた予備試験であるがこれに対する本試験の結果は第3表に示すものが之である。

この実験の結果より、室温では著しく塩析性を減弱

している所の変性纖維素原は低温条件下、2.5N (或いは3N) の硫酸濃度に於て最つとも良く析出され、正常のそれに比較した場合、低温条件下でも幾分塩析能の減弱している事を知る事が出来た。(他の例に於ても同様の結果を得ている。)

尙凝固試験は何れも陰性だったので表示はしていない。

第2表 B 予 備 試 験  
(Aに依る各纖維素原の纖維素原価測定及凝固試験)

稀 積	纖 維 素 原 価								凝 固 試 験 (各 Thrombin 0.5cc.)											
	P	2X	4X	8X	16X	32X	64X	128X	256X	K	P	2X	4X	8X	16X	32X	64X	128X	256X	K
第2表のA No. 1	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	-
" No. 2	卅	卅	卅	-	-	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-
" No. 3	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-
" No. 4	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	卅	卅	卅	卅	卅	+	±	-	-	-	-
" No. 5	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	±	+	卅	卅	卅	+	+	-	-	-	-
" No. 6	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	±	-	±	卅	卅	+	±	-	-	-	-
" No. 7	卅	卅	卅	卅	卅	+	±	-	-	-	-	-	-	-	±	±	-	-	-	-

註 (1) 凝固試験判定規準

- 卅 完全凝固を示し倒立しても流出しない
- 卅 45°C 以上傾斜振動で波動を呈するもの
- +
- 

(2) 沈降反応(佐藤・島崎法)判定規準

- 卅 15' 陽性
- 卅 30' "
- +
- 

第3表 変性纖維素原析出の際の至適 (NH<sub>4</sub>)SO<sub>4</sub> 濃度検定

試験管 No.	凝 固 及 び 溶 解 試 験										塩濃 析度	変 性 纖 維 素 原 価									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		稀 積	2	4	8	16	32	64	128	256	K
Fng	0.5cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	1/2N	No. 1	卅	卅	-	-	-	-	-	-	-
S.K (1.0cc)	P	2	4	8	16	32	64	128	256	No. 2		卅	+	-	-	-	-	-	-	-	
2.5% CaCl <sub>2</sub>	0.1cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	No. 3		卅	卅	卅	-	-	-	-	-	-	
凝 固	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	No. 4		-	-	-	-	-	-	-	-	-	
溶 解	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	以下省略											
Fng	0.5cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	1N	No. 1	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	
S.K (1.0cc)	P	2	4	8	16	32	64	128	256		No. 2	卅	卅	-	-	-	-	-	-	-	
2.5% CaCl <sub>2</sub>	0.1cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃		No. 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
凝 固	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		No. 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
溶 解	卅	卅	-	-	-	-	-	-	-	以下省略											

Fng	5.5cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	1.5N	No. 1	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-	-
S.K (1.0cc)	P	2	4	8	16	32	64	128	256	0.85% NaCl		No. 2	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-	-
2.5% CaCl <sub>2</sub>	0.1cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃		No. 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
凝 固	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		No. 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
溶 解	卅	+	-	-	-	-	-	-	-	-		以下省略										
Fng	0.5cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	2N	No. 1	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	
S.K (1.0cc)	P	2	4	8	16	32	64	128	256	0.85% NaCl		No. 2	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	
2.5% CaCl <sub>2</sub>	0.1cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃		No. 3	-	-	-	-	-	-	-	-		
凝 固	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		No. 4	-	-	-	-	-	-	-	-		
溶 解	卅	+	-	-	-	-	-	-	-	-		以下省略										
Fng	0.5cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	2.5N	No. 1	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	
S.K (1.0cc)	P	2	4	8	16	32	64	128	256	0.85% NaCl		No. 2	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-	
2.5% CaCl <sub>2</sub>	0.1cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃		No. 3	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-		
凝 固	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		No. 4	-	-	-	-	-	-	-			
溶 解	卅	卅	+	-	-	-	-	-	-	-		以下省略										
Fng	0.5cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	3N	No. 1	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	
S.K (1.0cc)	P	2	4	8	16	32	64	128	256	0.58% NaCl		No. 2	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	
2.5% CaCl <sub>2</sub>	0.1cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃		No. 3	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	
凝 固	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		No. 4	-	-	-	-	-	-	-			
溶 解	卅	卅	卅	-	-	-	-	-	-	-		以下省略										
Fng	0.5cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	半飽和	No. 1	卅	卅	卅	卅	卅	卅	±	-	-	
S.K (1.0cc)	P	2	4	8	16	32	64	128	256	0.85% NaCl		No. 2	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	
2.5% CaCl <sub>2</sub>	0.1cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃		No. 3	-	-	-	-	-	-	-			
凝 固	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅		No. 4	-	-	-	-	-	-	-			
溶 解	卅	卅	±	-	-	-	-	-	-	-		以下省略										

註 (1) 表中省略記号説明

Fng ..... Fibrinogen

S.K ..... Streptokinase

(2) 纖維素溶解判定規準 (37°C 一昼夜后判定)

卅 完全溶解, 流動性のも

卅 原形の 1/3 以下に溶解せるもの

± 原形の 1/2 程度に溶解せるもの

± 多少なりとも溶解したと思われるもの

- 原形のまゝ残存せるもの

実験(II) 上述の実験により求められた至適 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 濃度を以て塩析する場合に於ける至適 pH の検定

その実験方法; - 実験(I)の場合と同様, 10本の試験管に人蔘酸血漿, S.K (10本目は対照として食塩水), 2.5% CaCl<sub>2</sub> を加え, 前実験と同様, 凝固及び溶

解を見, その溶解しているものだけを同一の pH に修正した後, 実験(I)で求められた至適硫酸濃度で塩析, その析出物を, これも前実験と同様の操作によりその凝固能, 纖維素原価を測定した。

尚 i) 此の実験に於ける硫酸の塩析濃度は 2.5N 及び 3N である。







量している事を認めた。

第一項のまとめ;-以上の実験により、既述した如く、これ迄硫酸による室温短時間に於ける塩析性が減弱しているとされていた変性繊維素原が、その硫酸濃度濃度及び時間的条件を変へる事により析出される事を知り、これに関する次の結論を得た。即ち、変性繊維素原は pH 6.4~7.4 に於て 3N に硫酸アンモニウムを加え、氷室 (0°C) 放置15分以上にて最も良く析出される。(尚、従来迄は、室温に於て硫酸 1/3 飽和 (2.5N 以下) 短時間の条件下で観察している。又これにより得られる変性繊維素原は正常のそれと比較した場合、やはり多少塩析性は減弱しているが、繊維素原価は同等若しくはやゝ減少、沈降量も減量してい

第6表 変性繊維素原析出の際の至適温度条件検定 (沈降量)

A 正常繊維素原 (対照)

抗原稀釈	抗血清稀釈									
	2X	4X	8X	16X	32X	64X	128X	256X	512X	K
P	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---
2x	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---
4x	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---
8x	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---
16x	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---
32x	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---
64x	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

B 変性繊維素原

抗原稀釈	氷室 (15分)										室温 (30分)									
	2X	4X	8X	16X	32X	64X	128X	256X	512X	K	2x	4x	8x	16x	32X	64x	128x	256x	512x	K
P	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---
2x	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+	+	---	---	---	---
4x	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	+++	+++	+++	+	+	---	---	---	---	---
8x	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---
16x	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
32x	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
64x	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

る。又、沈降量に就いては、実験 (I) 及び (II) の場合に於ても観察しているが、その結果は上述の結論に含めて考へても良いと思われる成績を得ているので表示及びその説明は之を省いた。

第二項 急激屍人血漿を用いた場合

前項と同様の実験をストレプトキナーゼに代つて急激屍人血漿を用いて行つた。使用した急激屍人血漿は実験に先立ち植田<sup>20</sup>の法に倣つて、人 Fibrinogen に対するその Fibrinolysin 力価を測定し、完全な溶解能を有するものを使用した。

実験 (I) 変性繊維素原析出に要する至適 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 度検定

その実験方法;-7本の試験管に夫々人繊維素原 0.5 cc., 急激屍人血漿16倍稀釈液 1.0cc., 0.85%食塩水 0.5cc., 2.5% CaCl<sub>2</sub> 0.1cc., をとり、凝固、溶解を見た後、これに一本目より順次に 1/2N, 1N, 1.5N, 2N, 2.5N, 3N, 半飽和に硫酸規定液を加え、氷室に1時間放置后、析出物を遠心分離、乾燥、1.0ccの生理的食塩水に再溶解し、2倍稀釈変性繊維素原液とし、これより夫々、倍数稀釈列を作り佐藤・島崎法による変

性繊維素原価を測定する事により至適 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 濃度を求め、続いて凝固試験を行ふ事により凝固能の存否をも調べた。

その実験成績;-第7表A・Bに示される様に(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 濃度 3Nに於ける塩析で最高の Tital を得ている。尚凝固能は認められない。

実験 (II) 至適 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 濃度を以つて塩析する場合に於ける至適 pH の検定

その実験方法;-上述の実験と同様8本の試験管に同様の凝固混合液を作り凝固、溶解の後、1本目より順次 pH を 3.8, 4.5, 5.5, 6.4, 7.4, 8.2, 9.2, 10 に修正し、これに 6N (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 液を等量宛加え (3Nの硫酸濃度にて塩析) 析出物について前実験と同様の観察を行つた。

その実験方法;-第8表 A・Bに表示の如く中性の部分に於て最高の価が見られた。

実験 (III) 至適 pH 及び (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 濃度を以つて塩析する場合に於ける至適時間及び温度条件

前項の実験 (III) と同様の実験を S.K に代つて16

第7表 変性繊維素原析出の際の至適 (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 濃度検定

A							
試験管 No.	1	2	3	4	5	6	7
Fng	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
急死人血漿	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
0.85% NaCl	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
2.5% CaCl <sub>2</sub>	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
凝 固	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
溶 解	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
塩析濃度	1/3N	1N	1.5N	2N	2.5N	3N	半飽和

B

稀 積	2	4	8	16	32	64	128	256	K
第7表Aの No. 1	卅	卅	-	-	-	-	-	-	-
〃 No. 2	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-
〃 No. 3	卅	卅	卅	卅	-	-	-	-	-
〃 No. 4	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-
〃 No. 5	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-
〃 No. 6	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
〃 No. 7	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-

註 (1) 此の場合溶解薬として使用した急激屍人血漿が予備試験により128倍迄の繊維素原価を有する事がわかっているのて該溶解薬を使用したものゝ成績中8倍迄のものは不確実なものとして一応区別した。

(2) 尚、繊維素原として使用した人蔞酸血漿の繊維素原価は128倍卅、256倍±である。

倍稀釈急激屍人血漿を用いて行つた。その結果、第一項、実験(Ⅲ)の場合と同様の成績を得る事が出来た。故にその実験方法、成績の記載は之を省く。

第二項のまとめ;—以上の実験により繊維素原として急激屍人血漿を用いた場合に於ても第一項の場合と全つたく同様の結果を得る事が出来た。

第二節 塩化ナトリウム塩析による分離法

第一項 ストレプトキナーゼを用いた場合

第一節、第一項と全つたく同様の実験を、塩析剤として塩化ナトリウムを用いる事により行つた。緒言に於て述べた如く、これ迄は、半飽和にNaCl添加、室温、短時間の条件下の観察により変性繊維素原は塩析性が減弱していると、云われていたのであるが、著者

第8表 変性繊維素原析出の際の至適 pH 検定

A								
試験管 No.	1	2	3	4	5	6	7	8
Fng	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
急死人血漿	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
0.85% NaCl	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
2.5% CaCl <sub>2</sub>	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃
凝 固	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
溶 解	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅
pH	3.8	4.5	5.5	6.4	7.4	8.2	9.2	10

B

稀 積	2	4	8	16	32	64	128	256	K
第8表のA No. 1	卅	+	-	-	-	-	-	-	-
〃 No. 2	卅	卅	卅	+	-	-	-	-	-
〃 No. 3	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-
〃 No. 4	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-	-
〃 No. 5	卅	卅	卅	卅	卅	卅	卅	-	-
〃 No. 6	卅	卅	卅	卅	卅	卅	+	-	-
〃 No. 7	卅	卅	卅	卅	+	-	-	-	-
〃 No. 8	卅	+	±	-	-	-	-	-	-

はその条件を變へる事により、次の事を知り得た。

その実験方法及び結果に就いて述べるならば、

即ち、前節第一項の場合と同様の手技を以つて、その至適 NaCl 濃度を検定するには、倍濃度 NaCl 規定液を用いて夫々 1.5N, 1.75N, 2N, 2.25N, 2.5N, 半飽和で塩析し、求められた至適 NaCl 濃度の塩析による至適 pH を求めるには、前節、第一項実験(Ⅱ)と同様の操作を以つて行い、至適時間及び温度条件の検定には同様、前実験(Ⅲ)に倣つて実施した。これにより次の結論を得た。即ち、此の場合の変性繊維素原は pH 6.7~7.4 に於て 2.5N, 又は半飽和に塩化ナトリウムを加え、氷室30分置分以上に於て最も良く析出される。尚、此の方法により得られる変性繊維素原の塩析能、繊維素原価、並びに沈降素量に就いては前節、第一項の場合と同様である。

第二項 急激屍人血漿を用いた場合

Fibrinolysin として急激屍人血漿を用いた場合も、16倍稀釈該血漿を用い、前項の手技に倣つて行い、その得た成績も前項のそれに一致していた。

### 第三節 低温エタノール分別法による分離法

#### 第一項 ストレプトキナーゼを用いた場合

古くから行はれていた有機溶媒による蛋白質の析出晶化法を応用して、Cohn等は低温、低濃度塩、pH調節、エタノール添加により血漿より数種の蛋白区分を組織的に分別し得る事を発表した。その中 Fibrinogen はその Fraction I (-2.5°C, pH 7, 8%にエタノール添加)に60%含有している事を指示し、Morrison<sup>20</sup>等は此の詳細を "Fraction I よりの Fibrinogen 分離精製法"として発表している。験者は此の方法に倣い変性繊維素原を分離せんものと試み、次の実験を行った。

#### 実験(I) 低温エタノール分別法(低・エ法)

に低り変性繊維素原を分離する際に於ける至適 pH の検定

その実験方法;- (イ) 予備試験として使用した人蔘酸血漿、及びこれより低・エ法により分離した人 Fibrinogen の繊維素原価及び凝固能を測定した、尙繊維素原価測定及び凝固試験は第二節の場合と同様である。又、低・エ法は Fraction I を得る場合の方法に倣った。即ち、凍結乾燥装置、遠心分離器等を備えた。0°C~-5°C の恒温冷室内に於て、同温に冷却した被検液に 8%~10%に冷エタノールを加え、沈澱物を遠心分離により分離し、直ちに凍結乾燥する事により変性させる事なくエタノールを除去し繊維素原を得た。使用に当つてはこれを生理的食塩水にて原血漿量に溶解する事により繊維素原液とした。尙同法は変性繊維素原分離の場合にも用いている。(ロ) 続いて行つた至適 pH 検定試験は前節の場合と同様に実施した。即ち、10本の試験管を以つて1列とし、これを8列を以つて1例の実験とした、各列共に入血漿、倍濃稀釈したストレプトキナーゼ、2.5% CaCl<sub>2</sub>を夫々混合し、凝固及びその溶解を見た后、その溶解したものとみにつて1列目のものより順次 pH を 3.8, 4.5, 5.5, 6.4, 7.4, 8.2, 9.2, 10, に修正、上述の氷室内操作により得られた変性繊維素原に就き繊維素原価測定、凝固試験を行い至適 pH を認めた。

その実験成績;-は第9表に表示する。

これにより、求むる至適 pH は 6.7~7.4 である事が認められる。又、S.K により Priefibrin が溶解され変性繊維素原が産出する場合、S.K が溶解を起し得る力価であれば、それ以上の力価があつても変性繊維素原生産の多寡には影響しない事を認めた。

実験(II) 至適 pH にて低・エ法を実施する際に於ける至適エタノール%検定

その実験方法;- 前実験と同様の操作により7本の

試験管に変性繊維素原液を作り、低・エ法により1本目より夫々1%, 5%, 10%, 30%, 50%, 80%, 90%にエタノールを加え、得られた変性繊維素原に就いて、前実験と同様の繊維素原価測定、及び凝固試験を行った。尙対照として S.K を作用させない。そのまゝの人蔘酸血漿に就いても同様の実験を行った。

その実験成績;-第10表に示した成績中、変性繊維素原はエタノール添加濃度30%以上に於けるものに於て最高の Titel を示して居り、凝固試験に於ては、何れも陰性の結果を得ている(第10表 B)。然しながら、対照として実施した正常繊維素原の凝固試験(第10表 A)に於て30%以上のエタノール濃度により得られる Fibrinogen の凝固が不明瞭、不完全な態度を示している事がわかる。

以上の事実より著者は次の如く考へたい。30%以上の添加エタノール濃度では Fibrinogen 以外の蛋白成分が析出沈澱するか、又はエタノール濃度の高い事により Fibrinogen そのものが多少変性されるのではあるまいか。

実験(III) 至適 pH 及びエタノール濃度を以つて低・エ法を実施する際に於ける至適時間及び温度条件の検定

pH 6.4~7.4, エタノール10%の濃度条件による低・エ法で変性繊維素原を分離する際、第一及び二節、各項の実験(III)の場合と同様の手段で上記の条件を検定した。これにより低温下(0°C~-5°C)、短時間(5分以上)で変性繊維素原を得る事が出来ると知り得た。尙此の場合温度条件が変性繊維素原産出に及ぼす影響に就いては、上記条件下室温で得られた変性繊維素原は氷室下のものに比較して繊維素原価は著しく低下しているが沈澱量に於てはあまり変化がないと云う知見を得た(第11表)。

第一項のまとめ;-以上の諸実験より変性繊維素原は低温下(0°C~-5°C)、10%にエタノールを加える事により短時間で得られる事を知つた。

#### 第二項 急激屍人血漿を用いた場合

第一、二節、第二項と同様の操作により、16倍稀釈急激屍人血漿を用い、低・エ法による実験を行った結果、本節、前項の諸実験の場合と一致した所見を得る事が出来た。

### 第四章 総括

以上私はその塩析及び分離に就いて研究を実施した変性繊維素原に就いては、Mole<sup>21</sup>の如く、"塩析能、及び加熱による沈澱は見られない"と云う程度の観察が主であつて、中には"塩析能は無いが56°C加温により沈澱する(Vogel)<sup>22</sup>ものとして漠然とながら認め

第9表 変性纖維素原分離の際の至適 pH 検定

凝固及び溶解試験										pH	変性纖維素原価											
試験管 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9		10	稀釈	2	4	8	16	32	64	128	256	K	
Fng	0.5cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	3.8	No. 1	〃	+	-	-	-	-	-	-	-	
S.K(1.0cc)	P	2	4	8	16	32	64	128	256	K		No. 2	〃	〃	-	-	-	-	-	-	-	
2.5% CaCl <sub>2</sub>	0.1cc	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃		No. 3	〃	〃	+	-	-	-	-	-	-	
凝 固	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃		No. 4	〃	〃	-	-	-	-	-	-	-	
溶 解	〃	〃	〃	〃	〃	±	-	-	-	-		No. 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
											以下省略											
pH	稀釈	2	4	8	16	32	64	128	256	K	pH	稀釈	2	4	8	16	32	64	128	256	K	
4.5	No. 1	〃	〃	-	-	-	-	-	-	-	5.5	No. 1	〃	〃	〃	〃	-	-	-	-	-	-
	No. 2	〃	〃	〃	-	-	-	-	-	-		No. 2	〃	〃	〃	〃	〃	+	-	-	-	-
	No. 3	〃	〃	〃	-	-	-	-	-	-		No. 3	〃	〃	〃	〃	〃	-	-	-	-	-
	No. 4	〃	〃	-	-	-	-	-	-	-		No. 4	〃	〃	〃	〃	-	-	-	-	-	-
	No. 5	〃	〃	〃	-	-	-	-	-	-		No. 5	〃	〃	〃	〃	-	-	-	-	-	-
											以下省略											
6.4	No. 1	〃	〃	〃	〃	〃	+	-	-	-	7.4	No. 1	〃	〃	〃	〃	〃	+	+	-	-	-
	No. 2	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	-	-		No. 2	〃	〃	〃	〃	〃	+	-	-	-	
	No. 3	〃	〃	〃	〃	〃	〃	〃	-	-		No. 3	〃	〃	〃	〃	〃	〃	+	-	-	
	No. 4	〃	〃	〃	〃	〃	+	-	-	-		No. 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	No. 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-		No. 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
											以下省略											
8.2	No. 1	〃	〃	〃	-	-	-	-	-	-	9.2	No. 1	〃	〃	〃	-	-	-	-	-	-	
	No. 2	〃	〃	〃	〃	〃	-	-	-	-		No. 2	〃	〃	-	-	-	-	-	-		
	No. 3	〃	〃	〃	〃	〃	-	-	-	-		No. 3	〃	〃	〃	〃	-	-	-	-		
	No. 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-		No. 4	-	-	-	-	-	-	-	-		
	No. 5	-	-	-	-	-	-	-	-	-		No. 5	-	-	-	-	-	-	-	-		
											以下省略											
10	No. 1	〃	〃	-	-	-	-	-	-	-	註 (1) 纖維素原として使用した人蔘酸血漿の纖維素原価は128倍〃(低・エ法に依る纖維素原に於ても同価, 又凝固能はそのまゝで32倍〃, (低・エ法纖維素原は32倍+)であつた。 (2) 本表中, 凝固及び溶解試験の成績は第1列のみの表示にとどめ, それ以後のものは省略してある。											
	No. 2	〃	〃	-	-	-	-	-	-													
	No. 3	-	-	-	-	-	-	-	-													
	No. 4	-	-	-	-	-	-	-	-													
	No. 5	-	-	-	-	-	-	-	-													
											以下省略											

ているものもあつた。然しながら、そのものが纖維素原であるとの証明をしているもの、まして、これを定量的、経刻的に追究したものは、佐藤教授及びその共同研究者の業績を除いては見られなかつた現状である。

私が此処に行つた諸種の實驗も、緒言に挙げた佐藤教授の結論に拠り、これを詳細に追究したに過ぎないものであるが、聊かその意義を有する点があるとすれば、変性纖維素原分離の際の至適条件を追究した点に

あると云へよう。即ち、変性纖維素原は或る条件(室温等)の下では塩析能が減弱している。(佐藤)と云ふ結論に基づいて、どの程度に減弱しているのであろうか、又塩析されるとしたならばその至適条件は如何なるものなのであるかと云ふ疑問に答へんとして行つた。その結果が私の研究の主点なのであつて、この証明手段として変性纖維素原は佐藤・島崎の纖維素原価測定法により沈降反応を起す(佐藤)と云ふ事を利用し、又、その補佐として変性纖維素原は凝固能を失つ

第10表 変性繊維素原分離の際の至適エタノール濃度検定

A 正常繊維素原 (対照)

エタノール 添加濃度	繊維素原価										凝固試験										
	稀積	2	4	8	16	32	64	128	256	512	K	稀積	2	4	8	16	32	64	128	256	K
1%		≡	≡	≡	≡	≡	-	-	-	-	-	≡	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5%		≡	≡	≡	≡	≡	+	-	-	-	-	≡	+	≡	-	-	-	-	-	-	-
10%		≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	-	-	-	≡	≡	≡	+	+	≡	-	-	-	-
30%		≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	-	+	+	≡	-	-	-	-	-	-	-
50%		≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	-	≡	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80%		≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	-	≡	≡	-	-	-	-	-	-	-	-
90%		≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	-	≡	≡	-	-	-	-	-	-	-	-

B 変性繊維素原

エタノール 添加濃度	繊維素原価										凝固試験										
	稀積	2	4	8	16	32	64	128	256	512	K	稀積	2	4	8	16	32	64	128	256	K
1%		≡	≡	≡	≡	≡	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5%		≡	≡	≡	≡	≡	≡	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10%		≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
30%		≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50%		≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
80%		≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
90%		≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

第11表

変性繊維素原分離の際の至適温度条件検定 (沈降素量)

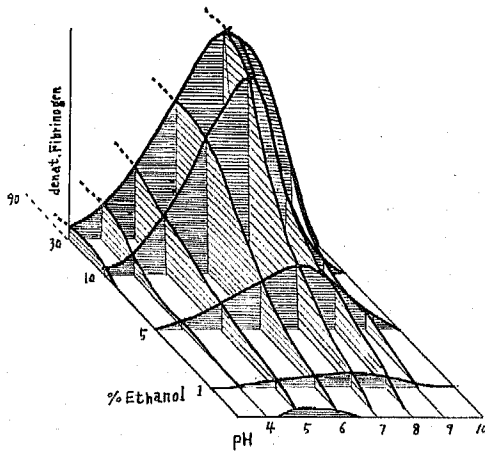
水		室 (0°C~5°C)										室 温											
		抗原稀積										抗原稀積											
		2	4	8	16	32	64	128	256	512	K			2	4	8	16	32	64	128	256	512	K
抗 血 清 稀 積	P	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	-	-	抗 血 清 稀 積	P	≡	≡	≡	≡	-	-	-	-	-	-
	2x	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	-	-		2x	≡	≡	≡	≡	-	-	-	-	-	-
	4x	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	-	-		4x	≡	≡	≡	≡	-	-	-	-	-	-
	8x	≡	≡	≡	≡	≡	-	-	-	-	-		8x	≡	≡	≡	-	-	-	-	-	-	-
	16x	≡	≡	-	-	-	-	-	-	-	-		16x	≡	≡	-	-	-	-	-	-	-	-
	32x	≡	≡	-	-	-	-	-	-	-	-		32x	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
	64x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		64x	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

ている。及び沈降素量測定(佐藤)。その他を利用したのである。これにより、私は結論に述べる様な諸条件を認める事が出来た。しかしながら此の際塩析剤として使用した Salz を除去する必要がある事を知り、又此の除去操作を加える事により求める変性繊維素原量が減量する事も知り得た。

此等得た諸事実より、私は更により純粋なる変性繊維素原分離法を求めて、次に低温エタノール分別法に

着目した。その実験の結果を模型図を以て現すならば、此処に掲載した立体的グラフを以て示す事が出来る。

此の図によつても明らかな様に低温エタノール分別法により変性繊維素原を得る際には中性のpHで、30%以上にエタノールを添加する事が至適条件となる。然し対照として行つた正常繊維素原の場合に於て、30%以上のエタノール添加濃度により得られるものには、



繊維素原以外の蛋白区分に属する物質の共に存在する事により、その純度の低劣なる事を知り、此等を除外した簡便且つ完全と思われる変性繊維素原分離法を見出す事が出来た。私は此の実験の結果に満足すると共に、此の方法が次に志していた変性繊維素原の免疫特異性に関する研究の際の抗原作製法として充分利用し得るものであると信ずるに至つたのである。

#### 第五章 結 論

Fibrinolysin (ストレプトキナーゼ及び急激屍人血漿) により得られる変性繊維素原(佐藤)は次の条件により分離される。

1. 変性繊維素原は pH 6.4~7.4 に於て 3N に硫酸アンモニウムを加え、氷室(0°C) 放置15分以上で良く析出される。
2. 変性繊維素原は pH 6.4~7.4 に於て 2.5N 又は半飽和に塩化ナトリウムを加え氷室放置30分以上で良く析出される。
3. 変性繊維素原は pH 6.4~7.4 に於て低温下(0°C ~ -5°C), 10%以上にエタノールを加える事により分離し得る。然し10%以上のエタノール濃度で得られるものには変性繊維素原以外のものも含まれていると考へられる。
4. 以上の3法中、その最後のものが変性繊維素原分離法として最も簡便である。
5. 以上の方法により分離された変性繊維素原に就いての種々の定性試験の結果は、同繊維素原に関する佐藤教授の定義に一致している。

稿を終るに臨み、終始御指導と御校閲を賜つた佐藤教授に対し謹んで感謝の意を表します。

(本論文の要旨は第39次法医学会総会に於て発表したものである。

#### 文 献

- ①Dastre A: Arch. d. physiol. norm et path. 6:464. (1894).
- ②Rosenmann: Biochem. Z. Bd. 112, 128, 129. (1920, 1922).
- ③Tillet W. S. & Gaener R. L.: J. Exp. Med. 58: 485. (1933).
- ④Garner R. L.: J. Exp. Med. 60: 239, 255. (1944).
- ⑤Kaplan M. H.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 57: 40 (1944).
- ⑥Tagnon H. J. Lab. Med.: 27: 1119
- ⑦Christensen L. R. & MacLeod C. M.: J. Gen. Physiol. 28: 559 (1945).
- ⑧Macfarlane R. G. & Pilling J.: J. Lancet 2: 562 (1946)
- ⑨Tagnon H. J. & Palade G. E.: J. Clin. Invest. 29: 317 (1950).
- ⑩Bonne et Brouardel: La Pendaion, Submerion etc. Paris (1897).
- ⑪Lenggenhager K.: Weitere Fortschritte in der Blutgerinnungslehre: Georg Thieme, Stuttgart (1949).
- ⑫Corin: Vierteljahr. f. d. ger. Med. 3F. Bd. 5 (1883).
- ⑬Brouardel: zit nach Roll.
- ⑭Morawitz: Hofmeisters Beitrag chem. Bd. 6 (1893).
- ⑮石川: 東北医学雑誌, 第3巻, (大正8年).
- ⑯沖: 福岡医学雑誌, 第27巻, (昭和9年).
- ⑰Vogel: Deutshezeitschr. f. d. ger. Med. Bd. 8 (1926).
- ⑱Macfarlane R. G.: Blood 3: 1167; (1948).
- ⑲島崎: 朝鮮医学雑誌, 25巻9号, 12号 (昭10年). 26巻9号 (昭11年).
- ⑳佐藤・佐中・松本: 信州大学紀要, 第3号 (昭和28年).
- ㉑佐藤: 信州大学紀要, 第4号 (昭和29年).
- ㉒Schmitz A.: Ztschr. physiol. Chem. 224: 89 (1936).
- ㉓Mole R. H.: J. Path. & Bact 60: 413~427 July (1948).
- ㉔武内: 信州医学雑誌, 4巻4号 (昭和30年). 5巻4号 (昭和31年).
- ㉕榎田・真野・稻垣: 名古屋医学, 68巻1号, 5号, 9号 (昭和29年).
- ㉖加賀谷・高沢: 日本法医学雑誌, 9巻5号 (昭和30年).
- ㉗Bidwell E.: Biochem. J. 55: 497 (1953).
- ㉘Müllertz S.: A. Physiol. Scandinav. 26: 174 (1952).
- ㉙Obersteg J. I.: Dtsch. Z. gerichtl. Med. Bd. 43: 177~216. u. 2. Teil (1954).
- ㉚Astrup T.: Bloob VOL. 11, No. 9: 781~806 (1956).
- ㉛Lenggenhager K.: Schweiz. med. Wschr. 19: 719 (1938).
- ㉜Halse Th.: Schweiz. med. Wschr. 14: 411 (1947).
- ㉝Schleyer F. L.: Gerinnungsfaktoren im Leichenblut, Habil. Schrift. Schorl und von Seefeld nachf. Hannover (1950).
- ㉞Apitz: Zeitschr. f. d. gesam. Exper. Med. Bd. 101, 102, 103. (1937~1938).
- ㉟Nakamata H.: Med. J. Shinshu Univ. Vol. 1, No. 2: 153~165 (1956).
- ㊱仲俣: 日本法医学雑誌, 11巻3号 (昭和32年).
- ㊲仲俣・上条: 信州医学雑誌.

## Study of the Denatured Fibrinogen

Hideo Nakamata

Department of Legal Medicine, Faculty of  
Medicine, Shinshu University  
(Director: Prof. T. Satoh)

The denatured fibrinogen, that is produced by the action of fibrinolysin (streptokinase and blood plasma of cadavers after sudden death), is isolated under the following conditions.

1. The denatured fibrinogen is precipitated by 3N salting-out with ammonium sulphate (pH 6.4~7.4) in test tube and placing it in ice box at 0°C temperature for 15 minutes.
2. The denatured fibrinogen is precipitated by

2.5N salting-out or  $1/2$  saturation with sodium chloride (pH 6.4~7.4) in test tube and placing it in ice box 0°C temperature for 30 minutes.

3. The denatured fibrinogen is precipitated by adding ethanol in its at concentration over 10%, at temperature between 0°C and -5°C (pH 6.4~7.4). But there will be something else more than fibrinogen in the precipitate by this method.

4. Among those three methods, the last one is the simplest for the isolation of denatured fibrinogen.

5. The various results of qualitative tests of the denatured fibrinogen isolated by those methods, conform to prof. Satoh's theory.

## 人変性纖維素原の生体内抗原性について

昭和32年4月20日 受付

信州大学医学部法医学教室 (指導教授: 佐藤武雄)

助手 仲 俣 英 夫  
研究生 上 条 正 子

## 第一章 緒 言

“変性纖維素原”とは佐藤教授が Plasmin の作用により生産された所の沈降反応による試験管内の抗原性は失われぬが、凝固能消失及びその他の化学的特性を得た或る状態の纖維素原に命名した呼称として以下使用されるものである。斯る変性纖維素原は前掲の如く試験管内抗原性はあるが果して生体に対して抗原性があるのであろうか、又はその特異性は如何なるものなのであろうか、と云ふ問題に就ては当然研究されなければならないものであるが未だ之等に関する研究報告あるを知らない。著者等はこゝに一連の実験を行ったので報告する。

此処にその成績を述ぶるに当り現在迄の研究過程を、特に正常纖維素原の特異性に関するそれと共に略述して見たいと思う。

1902年, Gengou<sup>①</sup>は Hammersten 法で馬血漿より得た纖維素原による家兔免疫血清が主抗原だけでなく牛、犬の纖維素原にも反応する所より臓器特異性を有するものであると発表し, Bauer & Enger<sup>②</sup>(1912)は同様の実験方法により更に種特異性の存在を明らかにした。加藤<sup>③</sup>(1922)も同様の方法で人を含めた各種の哺乳動物及び鳥類として鶏等の血漿より得た纖維素原

を家兎に注射, これによる実験の結果を「哺乳動物の纖維素原は一般に臓器特異性を有すると同時に或る程度の種特異性を有するものである」と結論した。これと全く同様の研究を加藤とは無関係に Hekton & Welker<sup>④</sup>(1925)等も行つてゐる様であるが, 大沢<sup>⑤</sup>(1926)は以上の説を認めると共に更に哺乳動物間でも異種の纖維素原との反応は主抗原とのそれに比較した場合, 全く無いか或いは弱いと報告している。

以上の多くの研究は何れも纖維素原を抗原とする免疫血清による沈降反応又は補体結合反応に基くものであるが, 山崎<sup>⑥</sup>(1928)は此の沈降反応の際の沈降粒子の形態を観察する事により「主反応では粒子は粗大, 副反応では繊細である」と云う事より纖維素原の臓器及び種特異性の存在を裏付けた。

一方, 此等の研究の場合の様に実験動物として家兎を使用せず鶏, 山羊, 馬を用い, 纖維素原の特異性に就いて同様の結果を認めた Keys & Porter<sup>⑦</sup>(1931)の研究もある。

以上, 略述した纖維素原の特異性に関する諸研究は何れも主として, 沈降反応による所謂沈降素価のみを規準として臓器或いは種特異性を論じているものであつて, 抗血清稀釈による主副抗原の基礎的観察に基か