

外傷及びショックの際の脳組織 Plasminogen activator 系 及びそれらの inhibitor 系に関する実験的研究

東邦大学医学部第2外科教室（指導：栗津三郎教授）

岡 田 价 弘

（原稿受付：昭和43年3月11日）

Experimental Studies on Plasminogen Activator and Trypsin Inhibitor System in Brain Tissue in Trauma and Shock

by

YOSHIHIRO OKADA

From the Department of 2nd Surgery, Toho University Medical School

(Director : Prof. Dr. SABURO AWAZU)

Plasminogen activator and Trypsin inhibitor were studied in healthy dogs and in dogs with experimental brain edema, or hemorrhagic shock.

Tissue activators also increased in experimental brain edema and hemorrhagic shock in dogs under hypothermia and normothermia. Activator activity in subcellular units of brain tissues were estimated in dogs in hemorrhagic shock.

Activator activity in microsome fraction was always most increased in every condition, but change in activity was most apparent in mitochondria fraction, and it was followed by activity in nuclear fraction. Increase in activity in microsome fraction was inhibited by E-amino capronic acid (Epsilon) and Aminomethyl-cyclohexane carboxylic acid (AMCHA) both in hypothermia and normothermia, and activity in mitochondria fraction was inhibited by Epsilon and AMCHA only in hypothermia.

Activator activity was also estimated following transfusion after 1 and 2 hours of hemorrhagic shock. Activators in each fraction of blood transfusion were decreased after 1 hour, 2 hours of hemorrhagic shock. Also, Alginon infusion after 1 hour of hemorrhage was most increased in microsome fraction. Supermin-plus infusion after 1 hour of hemorrhage was increased mostly in nuclear fraction. So it was thought that tissue activators also consisted of several factors.

牛；フィブリノーゲン（東邦大学生化学教室製）製法；第24回日本血液学会発表

牛；プラスミノーゲン（Euglobulin fraction of Cohn's Plasm, Fraction III₂）（持田製薬会社）

トロンビン，トリプシン（持田製薬会社）

アルギノン，スーパミンプラス（住友製薬会社）

マニットール 2g/kg（日研化学会社）

デカドロン0.2mg/kg（日本メルノ万有会社）

EACA (Epsilon) 300mg/kg Fibrinolysis, Fibrinogenolysis の抑制剤

AMCHA. 30mg/kg Trans Amino Methylcyclohexane Carboxylic acid（第一製薬会社）

目 次

第一章 緒 言

第二章 実験方法

I 実験材料

II 実験方法及び測定方法

第三章 実験成績

脳浮腫群

- 1) 健康犬及び脳浮腫犬の脳実質
- 2) 健康犬及び脳振盪犬の大脳皮質
- 3) 健康犬及びバルーン使用犬の Mannitol, AMCHA, Trypsin, Decadron 等を投与した大脳皮質全身侵襲群

a) 出血ショック

- 4) 脱血及び還血を行なつたもの、更に

AMCHA, Epsilon 投与を行なつた大脳皮質

- 5) 脱血し更に還血, アルギノン, スーパミンプラス補液を行ない1時間, 2時間放置した大脳皮質

b) 低体温麻酔

- 6) 低体温及び復温を行ない更に脱血還血を行なつたもの及び AMCHA, Epsilon 投与した大脳皮質

第四章 考按及び総括

I Tissue activator 及び Inhibitor 抽出法に関する考按

II 脳組織 activator 及び inhibitor に関する考按

第五章 結 語

第1章 緒 言

外傷, ショック, 手術に際して血液中の Plasmin 即ち線維素溶解酵素の変動が認められている¹⁾²⁾³⁾. Astrup⁴⁾⁵⁾らによると Plasminogen は血漿中に常に存在し直接 Fibrinolytic activity を示さないが activator が存在しこれにより Plasminogen が Plasmin に活性化されて Fibrinolysis を示すと云われている。組織中の lysokinase は外科的侵襲に際し遊離して血液中に入りそれによつて血液中の Proactivator が activator に変化しその activator によつて Plasminogen が plasmin に変化するものと臓器の activator が直接血液中の Plasminogen に作用して Plasmin に変化するものと更に spontaneously に Plasminogen が Plasmin に変化する過程が加つて fibrinolysis という現象が起るとされている。一方組織中にも Plasmin, Plasminogen activator 及びそれらに抑制的に作用する Inhibitor の存在が報告され⁶⁾⁷⁾⁸⁾⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾¹³⁾ Tagnon & Palade¹⁴⁾はラッテ肺では主としてマイクロゾーム分画に activator が存在することを報告し, Lewis & Furguson¹¹⁾も又種々の動物の肺及び犬の種々の臓器のマイクロゾーム分画及びやや大きい顆粒に activator を発見している。しかし Sasaki¹⁵⁾らは activator がマイクロゾーム分画でなくミトコンドリア分画中に存在することを報告している。

著者は外傷, ショック, 各種薬剤投与時について検討を加えたが activator の抽出の条件は各分画に於いて異なり塩濃度, 温度条件, 侵襲条件により大きく左右されることを知り更に脳疾患に於いて脳浮腫著明なも

の線溶性について検討すると脳組織の activator が著明に増加して来ることから脳振盪器及びバルーン使用により脳浮腫を作成した大脳皮質群及び全身侵襲群即ち出血ショック, 低体温時の大脳皮質群について検討を行なつた。

一方田中¹⁶⁾らによると人及び犬を用い脳外傷時脳脊髄液中の Plasminogen activator が増加し更に犬の脳実質中に Plasminogen activator 及び Trypsin inhibitor の存在を認め脳浮腫例に於いて Plasminogen activator の著明な増加の報告がなされている。更に報告例は少ないが脊髄液中の Plasmin 系に関し Casein 分解法により正常時には Plasmin は存在しないが¹⁷⁾¹⁸⁾, 日本脳炎, 結核性髄膜炎, 化膿性髄膜炎等の脳及び髄膜の炎症時にはその出現を認め¹⁹⁾²⁰⁾, 又 Plasminogen activator, Trypsin inhibitor の存在も報告されている。

Fibrinolysis に対する考え方の変遷と共にその検査方法も種々で即ち稀釈法としての Macfarlane 法及びその変法²¹⁾, Looms の法²²⁾, Lewis の法²³⁾, Euglobulin-lysis time法²⁴⁾, Viscosimetry による法²⁵⁾²⁶⁾²⁷⁾等があるが著者は Astrup²⁸⁾²⁹⁾らの考按した Fibrin Plate Method により測定した。

第2章 実験方法

a) 実験材料

10kg内外の成犬を用い実験的脳浮腫を作成しその際各種薬剤を投与した場合, 外科的侵襲として出血ショックを惹起し, その際各種薬剤を投与した場合, 各々の大脳皮質2gを使用した。

b) 抽出方法及び測定方法

1) 0.25 M sucrose 液による抽出法³⁰⁾

Activator : 大脳皮質 2g について Littlefield 法³¹⁾ (図 1) により Subcellular Units に分け核分画, ミトコンドリア分画, マイクロゾーム分画の各々を standard fibrin plate 上に滴下し 37°C 18 時間放置し溶解面の縦径と横径との積を溶解面積とした。

Inhibitor : Astrup & Permin³²⁾ Tagnon³³⁾ らにより上記方法で分画した上清には inhibitor が集積されることが証明されている。

上清分画 1 cc を取り 64 単位の trypsin を含む溶解液を等量加え対照して trypsin と生理的食塩水を混じたものを滴下した。

いずれの場合でも 1 cc 64 単位の trypsin 溶液 0.03 cc を滴下してこの溶解面積を基準として trypsin % とした。この理由は fibrin plate の力価が製造の都度異なるので絶対値では比較が困難な為である。

2) KSCN 液による抽出法³⁴⁾

Tissue activator は加熱平板上では溶解を示さないことから被検液に Plasminogen を加え Plasminogen を活性化して Plasmin としてその力価を測定。即ち被検液 1 cc 中に 12.5 mg の Plasminogen を含む溶液を等量加えたもの生理的食塩水を Plasminogen に加えたものを夫々同じ plate 上に滴下し 37°C 10 時間放置した時の溶解

面積を検した。

Plasminogen が自然活性化するのが大体 10 時間前後の為此の影響をされる為 10 時間後に測定した。その都度 Plasminogen の対照を滴下しその自然活性化の起っていないことを確かめた後測定した。

3) 実験的脳浮腫作成法

a) 頭部振盪法

10 kg 内外の成犬を使用しラボナル (25 mg/kg) 静脈麻酔の下に就眠せしめ気管内チューブを挿入し (図 2) に示す様な頭部振盪装置を用い実験犬の頭部を固定板上に固定し左右振幅 1.2 cm 毎分 1500 回の振動をこれに与へることにより脳浮腫を惹起させたものである。

髄圧が脳振盪後大体 2 時間位迄は漸次増加して行くが其後は増加は少ないことより振盪終了後 4 時間で屠

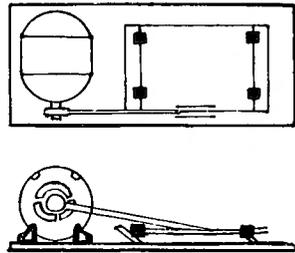
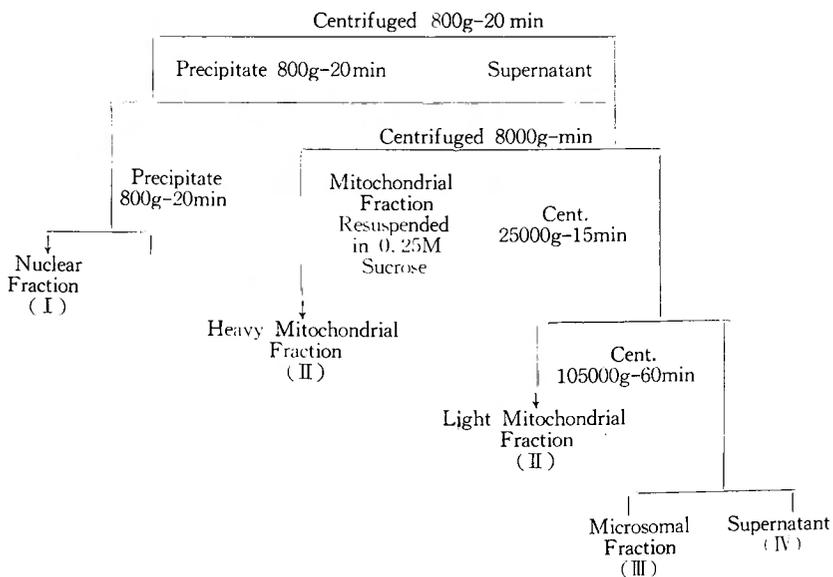


Fig. 1 Vibration Apparatus
図 2

図 1 Separation of Subcellular Units of Dogs Brain Corex

Tissue was homogenized with 10 vol. of 0.25 M Sucrose (pH 7.0)



殺し大脳皮質 2g を血管をさけ摘出した。ラボナールによる麻酔の影響を考慮する為振盪せず麻酔のみ施行したものを対照とした。

b) 硬膜外バルーン圧迫法³⁵⁾

上記同様ラボナール麻酔下にて左側頭頂部に直径 1.5cm の骨窓を作り更に硬膜外よりバルーン挿入し球内に水 1cc 注入により一定の圧迫を加え脳浮腫を作成した。圧迫後脳圧は 4 時間迄は漸次上昇するがその後は増加をみないことよりバルーン挿入後 4 時間にて屠殺して圧迫部大脳皮質 2g を血管をさけて摘出した。

4) 全身性侵襲

a) 出血ショック (脱血量 25cc/kg 及び 30cc/kg)

ラボナール静脈麻酔の下に就眠せしめ気管内にチューブを挿入し補助呼吸の下に股動脈圧 50~30 mmHg を目標に脱血し約 30 分間ショック状態に維持し屠殺し大脳皮質 2g を摘出した。対照としてラボナール麻酔のみ施行した大脳皮質を対照とした。又脱血後 30 分間ショック状態を維持せしめ還血する。還血は脱血血液を使用し 10% クエン酸ソーダ 1/10 量を抗凝固剤として行なった。還血したものについての大脳皮質 2g を摘出した。又この際プラスミン抑制剤としての AMCHA, EACA を静注したものについての大脳皮質, 又輸液としてアルギノン (30cc/kg), スーパミンプラス (30cc/kg) を使用したものについても大脳皮質 2g を摘出比較検討した。

b) 低体温ブランケット法³⁶⁾³⁷⁾³⁸⁾⁴⁰⁾

成犬を使用しラボナール静脈麻酔の下に就眠せしめカフ付 Tube を挿入し循環麻酔器にてエーテル O₂ 半閉鎖にて麻酔を維持した。

血圧は股動脈圧にて測定した。低体温麻酔はブランケット法 (大きさ 1.5 x 0.8m のゴム製袋を作り) に氷枕及び氷嚢を追加して直腸温 30°C を標準に行ない冷却時間 60~90 分を要し加温は 45~47°C の温水で 36°C 迄完

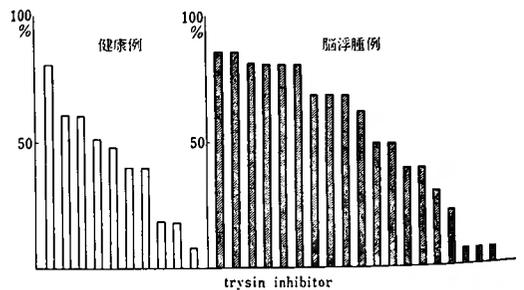
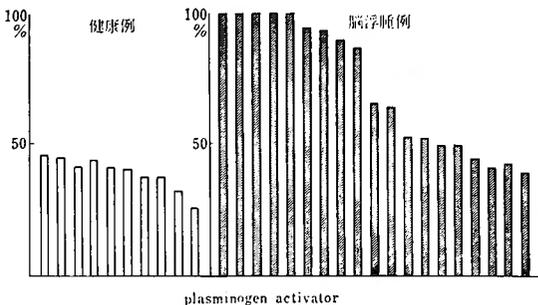
全に加温を行ない所要時間 2 時間を要した。この際低体温時大脳皮質 2g 及び加温後大脳皮質 2g を摘出した。脱血は (25cc/kg~30cc/kg) を約 30~40 分間にて行ない股動脈圧 30~40 mmHg を維持し脱血状態を 30 分間維持したものについて大脳皮質 2g を, 還血は脱血血液を使用し 10% クエン酸ソーダ 1/10 量を抗凝固剤として使用し静脈輸血 50cc/10 min を基準として行なったものについて大脳皮質 2g を摘出した。この際プラスミン抑制剤として AMCHA, EACA を使用したものについて大脳皮質 2g を摘出した。

第 3 章 実験成績

1) 健康犬及び脳振盪犬の脳実質中の Plasminogen activator 及び Trypsin inhibitor について

健康犬及び脳振盪犬の一定部位の脳実質をとりロゲンカリ処理により activator と inhibitor とに分離検討した。側頭部新鮮脳実質 1g をとり, これに 2M KSCN 10cc を加えて, 氷冷しつつ Potter' Homogeneizer にて均質化し約 1 時間振盪した後遠心する。沈渣は更に 2M KSCN 10cc を加え上記と同様操作 15 分間 3000 回転遠心しもう一度これを操作 15 分間 3000 回転遠心しもう一度これを繰返し都合 3 回にわたつて得られた抽出液を合せて 1N-HCL にて pH = 1.0 にする。この際に液は混濁を生じこれを遠心して沈渣と上清とに分ける。沈渣 (activator) 沈渣は 2M KSCN 30cc を加えこれに飽和重炭酸ソーダを加えて pH = 7.0 にする。上清はその量の 1/10 量の 0.1 M タングステン酸ソーダを加え生じた沈渣を取り pH = 7.8 のバルピタルバッファーを加えて原量にもどし (inhibitor) とした。

a) Activator : 上記の被検液 0.5cc に Plasminogen 液 0.5cc を加え良く混和しその 0.03cc を加熱平板上に滴下し Plasminogen activator を検索した。図 3 に示す通り全例にその出現を認め脳浮腫犬に於いてはその約



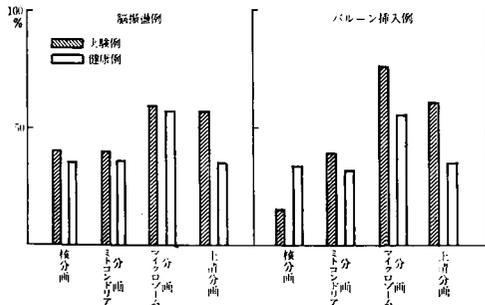
図

半数は健康犬と変わらないが残りの約半数に於いて著明な増加を示した。

b) Trypsin inhibitor : 前述により得た inhibitor 液 0.5cc に一定単位の Trypsin 液 (62u/cc) 0.5cc を加え良く混和しその 0.03cc を加熱平板上に滴下し Trypsin inhibitor として検索した (図 3) に示す通り健康犬及び脳浮腫犬の全例に出現を認めたがその差は一定の傾向を示さなかつた。

2) 健康犬及び脳振盪犬の 大脳皮質 2g について細胞分画を行ない Plasmingen activator 及び Trypsin inhibitor について Littlefield 法にて分画しロダンカリ処理で核分画, ミトコンドリア分画, マイクロゾーム分画の Activator 及び上清分画の inhibitor を検索した。

a) Plasminogen activator (図 4) に示す如く各分画の全例に activator の出現を認めたがマイクロゾーム分画に於いて著明な増加を示し続いてミトコンドリア分画, 核分画の順に増加して来る。健康例との差を見るとその増加の度合は各分画に於いてほぼ一定である。



	健康例	脳振盪例	バルーン挿入例
核分画	30.5	36.1	18
ミトコンドリア分画	32.5	34.6	12
マイクロゾーム分画	56.1	65.1	7.8
上清分画	32.8	55.1	63

図 4

b) Trypsin inhibitor : 上清分画での inhibitor は脳振盪例に於いて健康例に比し増加の傾向を示した。

3) 健康犬及びバルーン使用犬の AMCHA, Man-

nitol, Decadron, Trypsin 等を投与した大脳皮質 2g につき細胞分画を行ない各々につき標準平板にて検索した。

a) (図 4) バルーン使用による 脳浮腫例の activator について振盪例と同様に マイクロゾーム分画に於いて著明に増加しその増加程度は脳振盪例より強く健康例との差をみるとマイクロゾーム分画, シトコンドリア分画の順に差を認め核分画では振盪例と異なり健康例よりもむしろ減少を示した。この二つの実験より多少の差はあれ脳浮腫例に於いてはマイクロゾーム分画に activator の増加がみられることがわかる。

b) Trypsin inhibitor について, 脳振盪例では約 56.4%バルーン使用例で約92%といずれも健康例に比し増加し activator に於けるマイクロゾーム分画の増加と同様バルーン例に於いて増加の程度は強い。次にバルーン挿入による脳浮腫例に対して脳浮腫作成前に各種薬剤を投与しその変動を検討した。

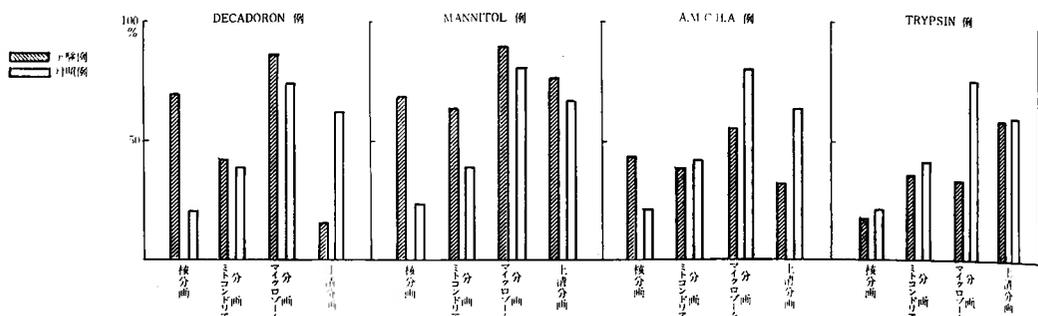
a) (図 5) Activator について, シトコンドリア分画では Mannitol 例に約 21% の増加をみ, 次いで Decadron 例では約 6.5% の増加をみたが AMCHA Trypsin 例ではいずれもバルーン脳浮腫例に比べて減少している。マイクロゾーム分画では同様に Mannitol Decadron 例で約 10% の増加をみたが Trypsin AMC HA例では減少しとくに Trypsin 例では著しい減少をみた。核分画では Decadron AMCA 例では著しく増加し Mannitol 例で僅かの増加をみたが Trypsin 例では逆に減少を示した。

以上の結果を健康例との比較で検討すると Decadron 例ではいずれの分画にも増加がみられるが核分画に於ける増加が著しく Mannitol 例ではミトコンドリア分画, マイクロゾーム分画では増加しているが核分画では逆に減少を示し, AMCHA 例ではマイクロゾーム分画に減少をみた。Trypsin 例ではすべての分画に於いて減少し核分画に於いて著しい減少がみられた。

b) Trypsin inhibitor について, バルーン脳浮腫例に比べて Decadron, AMCHA 例では著しい減少を示し Mannitol 例では増加するも Trypsin 例では殆んど変化なく健康例との比較に於いてもほぼ同様な傾向がみられた。

小 括

以上のことから脳振盪, バルーン挿入により惹起された脳浮腫時に共通してみられる activator の変化はマイクロゾームの変化でありシトコンドリア分画ではバ



	バルーン挿入例	DECADORON	MANNITOL	A.M.C.H.A	TRYPSIN
核分画	1.8	69.5	2.2	40.4	1.5
ミトコンドリア分画	4.2	46.5	6.3	40.4	3.8
マイクロソーム分画	7.8	8.6	8.8	52.2	3.1
上清分画	6.3	1.6	7.4	26.9	6.4

図 5

ルーン例で増加するも核分画では全く反対の結果を示し薬剤投与では Decadoron, Mannitol 投与ではマイクロソーム分画で軽度ながら増加しAMCHA Trypsin 例では減少を示した。Trypsin inhibitor は Mannitol 例を除いてすべて減少を示したが activator, inhibitor の間には一定の関係が認められず尚反対の作用を示す。Trypsin AMCHAはマイクロソーム分画中の activator 抑制の傾向をみたことは更に検討を要する。

4) 全身の侵襲として脱血 (25cc/kg) (図6) し還血を行ないこれに各種薬剤投与を行なったものについて、脱血によりミトコンドリア分画の activity の減少は著明で核分画がこれに次ぎマイクロソーム分画は有意の差を認めない。

還血することにより各分画での activator は増加して来るがミトコンドリア分画、核分画の増加は著明で還血に伴う全身循環、ひいては組織の局所循環動態上大きな変化がうかがわれるこの際線溶抑制剤である AMCHA, EACA を投与すると還血という stress が加つても activator の増加は抑制され EACA 投与例ではミトコンドリア分画、マイクロソーム分画の順に抑制がみられ AMCHA 投与例ではミトコンドリア分画、核分画の順に抑制し全体として AMCHA 投与例では対照健康例に近づく、これに反して上清 Trypsin inhibitor は還血、EACA, AMCHA と増加し薬剤投

与により activator と反対の結果を示した。

5) 脱血 (30cc/kg) し更に還血、アルギノン、スーパーミンプラス補液を経時的に追求した大脳皮質について (図7, 8, 9)

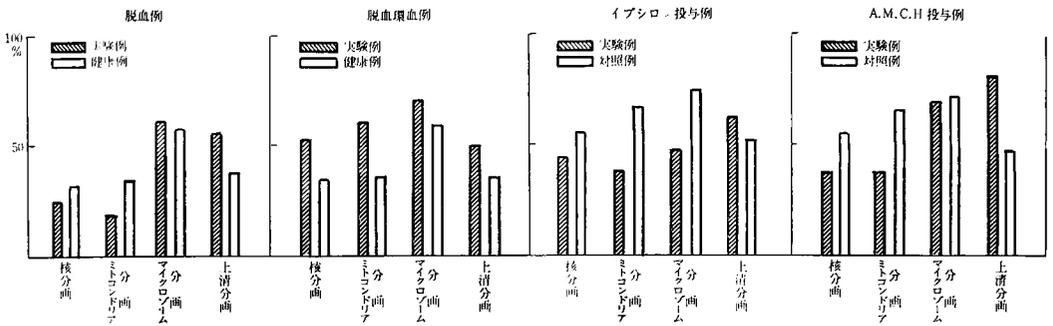
脱血量を30cc/kgと増加し脱血後の経過時間が延長したより高度の侵襲下では前項と比較して脱血1時間後ではミトコンドリア分画の activator は対照に比し僅かの増加がみられるがマイクロソーム分画、核分画の activator は著しく減少し、2時間後ではミトコンドリア分画も含め更に減少する脱血還血後1時間経過したものにあつては各分画とも著しく減少し還血後2時間経過したものでもほぼ同様の傾向を示した。

Trypsin inhibitor はこの強度侵襲下ではすべて著しく減少した。脱血1時間後アルギノン投与例ではすべて著しく増加し核分画に於ける activator の減少は軽度なるも脱血アルギノン投与2時間値ではいずれも減少を示したがその程度は還血2時間値に比し軽くスーパーミンプラス投与1時間では核分画に増加がみられ他は同様著しく減少した。

2時間値ではすべての分画の減少は軽度に止まった。Trypsin inhibitor は還血例と同様すべての分画で著明は減少をみた。

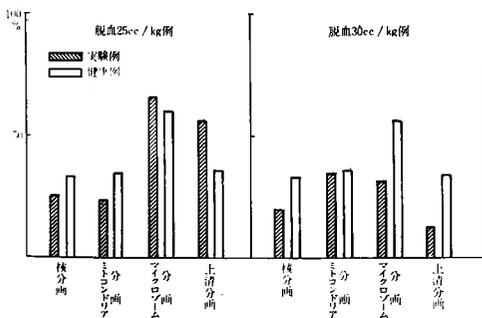
小 括

以上の結果からみると25cc/kgの脱血ではマイクロ



	健康例	脱血例	脱血還血例	イブシロン投与例	A.M.C.H 投与例
核分画	30.5	2.2	5.2	4.4	34.3
ミトコンドリア分画	32.5	1.6	5.7	3.1	3.2
マイクロゾーム分画	56.1	5.7	6.2	4.6	6.0
上清分画	32.8	5.2	5.0	5.7	8.3

図 6



	健康例	脱血25cc/kg例	脱血30cc/kg例
核分画	30.2	2.2	14.4
ミトコンドリア分画	32.5	1.6	31.4
マイクロゾーム分画	56.1	5.7	20.9
上清分画	32.8	5.2	8.9

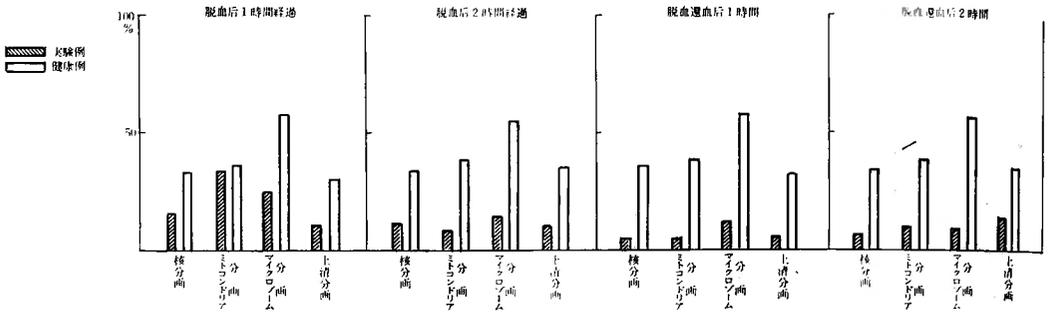
図 7

ゾーム分画の変動は軽微なるもミトコンドリア分画、核分画の activity は著しく減少し還血により各分画は

著しく増加するこの時期では組織循環の障害は軽度で還血に伴う血球成分の流入と共に組織からの activator の動員が行なわれ小血栓形成等の不利な障害に対しても防禦機転が営まれていると思われる。この時期での抗プラスミン剤の投与は見事で特に AMCHA は activator 活性を抑制している。

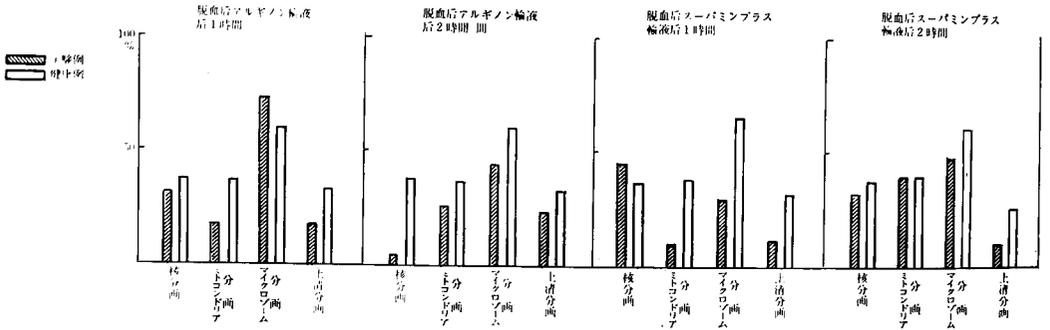
更に 30cc/kg と脱血量が増加した状態では脱血後の経過時間の増加に伴ない activator は更に著しい減少を示し activator の血中への流出が強くおこり特にマイクロゾーム分画の減少は著明でこの時期では組織循環も不可逆性の状態となり還血による血液量の増加も及ばず activator は各分画とも著しく減少する。又この際血液の代りに代用血漿を使用すると activator の減少は還血時に比べて軽度で止まる。このことは組織循環の障害と共に還血に伴う血球成分の破壊による抑制因子の加入があるものと思われ、更に検討を要したいと思う。

6) 低体温麻酔を行ない更に復温及び低体温の状態では脱血還血を行なつたもの、更にこの状態で EACA, AMCHA 投与を行なつた大脳皮質 (410), 先ず 30°C 内外の低体温に約 1 時間動物を維持するとマイクロゾーム分画での activator activity はやや増加して来るが



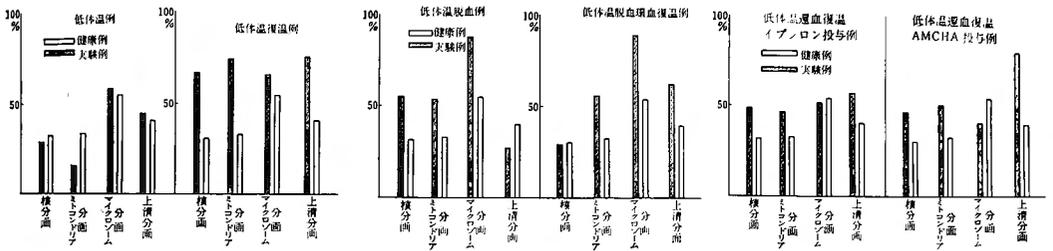
	脱血后1時間	脱血后2時間	脱血還血后1時間	脱血還血后2時間
核分画	14.4	13.9	2.5	2.3
ミトコンドリア分画	31.1	8.6	2.3	9.2
マイクロゾーム分画	20.9	16.4	9.3	7.3
上清分画	8.9	10.3	13.0	11.4

図 8



	脱血アルギニン1時間	脱血アルギニン2時間	脱血スーハンプラス1時間	脱血スーハンプラス2時間
核分画	28.3	2	4.0	2.2
ミトコンドリア分画	12	2.3	1.2	3.1
マイクロゾーム分画	7.3	4.2	2.9	4.7
上清分画	1.4	1.7	10.9	5.3

図 9



	低 体 温	低体温復温	低体温脱血	低体温脱血復血	低体温脱血復温 イブロン投与	低体温脱血復温 AMCHA投与
核 分 画	23.8	60.8	5.4	2.8	4.5	42.3
ミトコンドリア 分 画	1.6	71.6	3.9	4.6	4.1	5.3
マイクロソーム 分 画	5.9	62.8	8.0	79.5	4.5	4.4
上 清 分 画	4.9	77.6	3.6	5.2	5.8	8.0

図 10

核分画，ミトコンドリア分画のものは増加しないしかし復温してみると核分画，ミトコンドリア分画の activator は著明に増加する。同様に上清分画での Trypsin inhibitor も著明に増加する低体温で出血させ血圧30mm Hgに維持すると核分画，マイクロソーム分画，ミトコンドリア分画の activator が増加し復温しながら還血すると核分画では変化を示さないがミトコンドリア分画，マイクロソーム分画のものは増加して来る。次いで抑制剤である EACA AMCHA の影響をみると常温での EACA はミトコンドリア分画，マイクロソーム分画のものを抑制するが核分画に対する作用は弱い。AMCHA はマイクロソーム分画のものを抑制するがミトコンドリア分画，核分画に対しては抑制力は弱い。低体温下では EACA はマイクロソーム分画に対しては抑制を示しミトコンドリア分画には弱く核分画のものは無効である。AMCHA はマイクロソーム分画の activity 抑制を示すがミトコンドリア分画，核分画のものには抑制効果は弱い。

小 括

以上のことから軽度の侵襲ではマイクロソーム分画の activity が増加しこれが更に侵襲が加ると核分画のものが更に侵襲が加るとミトコンドリア分画のものが増加すると思われ，復温という Stress により小山田⁴¹⁾らの病理組織学的研究に於いて肝，腎，副腎の変化を重要視し，代謝内分泌等の混乱によつて2次的に生じ

た所謂復温後クライシスと云われる現象が臓器の変化となつて現われたものと推察され又 Selye の所謂抵抗期を示すものとしている。Plasmin 系に於いても adrenalin が生体内に於いて Tissue activator の活性化物質となることが知られ杉山⁴²⁾らの実験に於いても加温の段階に入り Plasmin 系の増加に内分泌系が関与していることを明らかにしている。低体温より復温しながら還血すると低体温脱血時に比しいずれも著明な変化を示さないのは組織循環の障害が軽度である為 Tissue activator の血中への流出が少ない為と推察出来る。この時期での AMCHA EACA の影響も同様にマイクロソーム分画での抑制効果は認めるが核分画，ミトコンドリア分画に対しては抑制を示さない。

第 4 章 考按及び総括

1) Tissue activator 及び inhibitor 抽出法に関する考按

侵襲による生体内の Tissue activator の変化について追求検討を加えたが，外傷，ショック，手術侵襲に対して線維素溶解が起ることはすでに種々報告されショック組織に関する activator 系及び inhibitor の研究は竹内⁴³⁾により明らかにされた。Macfarlane⁴⁴⁾ らはその説明に Selye の適応症候群という概念を導入し即ち警告反応の時期に一致して生体内の線維素溶解現象が起り易いことから脳下垂体副腎が線維素系の発現に大きな

役割を果たしているであろうと推察したがいささか抽象的に思われる。Tissue activator で損傷を受けた組織細胞ないしは組織損傷により新しい環境にさらされて膜の透過性が異常に亢進した組織細胞から血中に逸出するということが当然予想される。しかしながら線溶現象が必ずしも手術侵襲の程度に平行しないという事実から線溶現象がこの様な単一の原因のみによつて起ると考へるのは早計でありその背後には手術侵襲という操作に共通し、しかも個体差にかなり左右される何らかの要因が推定される。Astrup & Permin⁴⁵⁾ は組織の水抽出液中に Proactivator を活性化する物質があることを報告ししかも Tissue activator は顆粒中にあること、一方 Tagnon らは肺組織から Tissue activator を調製しマイクロゾーム分画中に多いことを報告している。この様に Tissue activator は顆粒である為になかなか思う様に可溶化が出来ず Abe らは KCNS を用いて可溶性にして抽出する方法を発見し、これにより定量することが可能になり、更に Astrup & Steradorff が酸性にしてこの Tissue activator を安定させて血中の activator との分離に成功し、これによつて組織中の抽出法が定成された。最近では Lack らはウサギ、マウスの腎又は肺組織より細胞顆粒を分離し主として Tissue activator がリボゾーム中存在し、又マイクロゾーム中にも存在することを証明している。然しながら病的脳組織の Tissue activator に関する研究は著者以外に全然ない。又 inhibitor については Astrup & Stage⁴⁶⁾ が牛肺中の inhibitor を調べ更に Astrup & Albretschén⁴⁷⁾ も同様の検索を行ない、更にショックに関する Tissue activator は竹内により明らかになった。しかも上記同様の病的脳組織に関する研究は著者以外にない。又安部⁴⁸⁾ らによると犬腎組織の activator 抽出する溶剤の抽出率について研究し KSCN, KCl, Sucrose, Urea で検討し 1M 尿素液による効率が最も高く、次いで Sucrose, KSCN, KCl の順になることを報告している。Brain に関する抽出剤の研究はなく著者は KSCN Sucrose を用いかなり効率のよい結果を得た。

2) 脳組織 Activator 及び Inhibitor に関する考按

Tagnon らはラットの肺組織特にマイクロゾーム中に activator の存在を認め Lewis & Fergusson 等も肺、子宮、睪丸等に activator の存在を報告し、しかもマイクロゾーム分画に多いことを認め比較的熱に弱く、その作用は温度の影響を受け易く種属特異性はないことを報告している。著者らは成犬を用い各種臓器の activator の検索を行なつたが肺、脳、脾、腎、肝、

心の臓器に activator の存在を認め比較的脳特に大脳皮質に多いことを発見した。しかも脳浮腫時にその activator が著明に増加して来ることよりその特異性を追求したが脳組織 activator は複数であり、種々の侵襲により先ずマイクロゾーム分画のものが増加し、ついで侵襲が加わるにつれてミトコンドリア分画のものが次々に増加する。又抑制剤の影響をうけ易いものはマイクロゾーム分画のものとミトコンドリア分画、核分画の順に抑制され難くなることがわかつた。この増加した Tissue activator が血液中に流入し血中の Plasmic activity の増強に重要な役割を果たすと推測される。又如何にして細胞のマイクロゾーム中の activator が血液に出ていくかについては現在なお不明な点であるが Cryostat を用いて腎の薄層組織片を作り、これをファイブリンの薄膜上に置いて温度 37°C の中で作用さし 2 時間後 PAS 染色を施してファイブリン膜の溶解している状態の観察では系球体を包む皮質部のものでは全く溶解が起らないのに、髄質薄層のものでは脈管附近では溶解の起つている模様が解明されている⁴⁹⁾。従つて脳組織 activator も恐らくは脳毛細血管を中心としてその線溶の発現を来し、種々侵襲の程度により複数の activator が別々の変動を来すと考えられる。

第 5 章 結 語

1) Plasmiaogen activator 及び Trypsin inhibitor を成犬を用い実験的脳浮腫作成及び全身的侵襲時に於いて、又抑制剤投与時に於いて大脳皮質 2g につき検討した。脳浮腫著明なものの大脳皮質では plasminogen activator の著明な増加を認め、Trypsin inhibitor には一定の傾向を認めなかつた。

更に脳浮腫著明な大脳皮質につき細胞分画を行ない各分画に於いて activator の存在を認めマイクロゾーム分画に著明な増加を示した。Trypsin inhibitor は有意の差を認めなかつた。硬膜外バルーン挿入により脳浮腫作成したものにつき各種薬剤投与してその変動を検索したが脳振盪時に比しマイクロゾーム分画での activator activity の増加は強かつた。

AMCHA Trypsin 投与では各分画でその抑制を認めマイクロゾーム分画で特に著明であつた。Trypsin inhibitor では AMCHA Decadorn 投与にて著しい減少を示し Mannitol, Trypsin 投与では逆に増加を示した。

2) 全身的侵襲として脱血ショック及び低体温麻酔時の activator 及び inhibitor の変動を検しその際各種

薬剤を投与して検索した。脱血ショックの大脳皮質ではマイクロゾーム分画での activator の増加は強く更に還血することにより各分画での activator は著明に増加して来る。脱血ショックを経時的に観察すると各分画での activity は脱血後 1 時間及び 2 時間後に於いて著明な減少を示す。脱血還血後 経時的観察に於いても activator の大きな変動は認めず代用血漿として脱血後アルギノン投与 1 時間値はマイクロゾーム分画に著明な増加を示すが 2 時間値では反対に減少を示したが、ミトコンドリア分画に於いて増加して来る。Trypsin inhibitor では有意の差を認めなかつた。低体温の状態では各分画での activator は健康例に比しそれ程著明な変動を認めないが復温するとにより各分画での activator は著明に増加して来る。更に低体温の状態で脱血するといずれの分画の activator は増加するがマイクロゾーム分画のものが著明に増加して来る。還血しながら復温することによりマイクロゾーム分画、ミトコンドリア分画の activator は変動を示さないが、核分画では反対に減少を示した。trypsin inhibitor は還血復温により著明に増加して来る。この時期での抑制剤の効果をみると AMCHA, EACA とも同様の抑制をみるが、マイクロゾーム分画に於いて AMCHA の方がより強い抑制を示したが常温時の投与に比しその抑制効果は弱い。

trypsin inhibitor をみると常温、低体温時、共に AMCHA 投与で著明な増加を示し EACA 投与時よりも増加は強かつた。

本論文の要旨は第 25 回血液学会総会及び第 65 回日本外科学会、第 8 回日本脳神経外科学会に於いて発表した。

稿を終るに臨み終始御指導、御校閲を賜つた恩師栗津三郎教授、長山博士、竹内講師、に心より感謝を捧げるとともに教室員各位の御援助に厚く感謝いたします。

文 献

- 1) Tagnon, H. J. : The significance of fibrinolysis in mechanism of coagulation of blood. *J. Lab & Clin. Med.*, **27** : 1119, 1942.
- 2) Macfarlane, R. G. & Riggs, R. : Observation on fibrinolysis. Spontaneous activity associated with surgical operation trauma. *Lancet.*, **2**, 862, 1946.
- 3) 長山 寛 : 外科的侵襲によるプラスミン及び抑手因子の変動についての臨床的研究。日外宝, **28**, 487, 昭34.
- 4) Astrup, T. : Fibrinolysis in the organism. *Blood*, **11**, 78, 1956.
- 5) 栗津三郎 : 手術侵襲と Plasmin, Plasminogen, Antiplasmin, Fibrinogenolysis の変動。外科, **21**, 203, 昭34.
- 6) Macfarlane, R. & Pilling, T. : Fibrinolytic activity of normal urine. *Nature*, **159**, 779, 1947.
- 7) Dillard, G.H.L. : The trypsin inhibitor of the urine in health and disease. *J. Lab. & Clin. Med.*, **36**, 266, 1950.
- 8) Williams, J.R.B. : The fibrinolytic activity of urine. *Brit. J. exper. Path.*, **32**, 530, 1951.
- 9) Bjerrehnus, I. : Fibrinolytic activity of urine. *Scand. J. Clin & Lab. Invest.*, **4**, 179, 1952.
- 10) Damgarrd, E. & Ungar, G. : Proteolytic activity of urine in shock and tissue injury. *Am. J. Physiol.* : **171**, 717, 1952.
- 11) Lewis, J. H. & Fergusson, J. H. : *J. Clin. Invest.* **29**, 486, 1950.
- 12) Macfarlane, R. G. & Pilling, J. : *Lancet*, **1**, 888, 1946.
- 13) Macfarlane, R. G. : *J. Physiol*, **106**, 104, 1947.
- 14) Tagnon H. T. and Palade G. E. : *J. Clin. Invest.* : **29**, 1059, 1950.
- 15) Sasaki, Y., Okamoto, S., and Nishihata, T. : *Keio J. Med.* **8** : 235, 1959.
- 16) 田中正忠 : 脳脊髄液及び脳実質中の Plasmin 系に關しての研究。日外宝, **29**, 447, 昭34.
- 17) 栗田 進 : 脳脊髄液学, 最新医学, 154, 昭19.
- 18) 田辺稜一 : 髄液中蛋白分解酵素。通信医学, **9**, 236, 昭36.
- 19) Kaplan, I., Levinson, A & Stern. : *J. Lab. Clin. Med.* **24**, 1150, 1939.
- 20) A. P. Fletchen : *J. Clin. Invest* : **33**, 9, 1942.
- 21) 畔柳武雄 : 線維素溶解酵素。医学書院, 1954.
- 22) Looms, E. C., Gerge, C. and Ryder, A. : Fibrinolysin. : Nomenclature, unit, assay, preparation and properties. : *Arch. Biochem*, **20**, 114, 1948.
- 23) Buckell, M. : The effect of citrate on euglobulin methods of estimative fibrinolytic acti-

- vity. *J. Clin. Path* : **11**, 403, 1958.
- 24) 黒田恭一, 他: 前立腺疾患に対する経尿道的切除術と Fibrinolysis について, 手術, **14**, 921, 1960.
- 25) Christensen, L. R. & Mac. Leod. B. M. : A Proteolytic enzyme of serum. : Characterization activation and reaction with inhibitors. *J. Gen. Physiol.* **28**, 559, 1945.
- 26) Christensen, L. R. : The activation of plasminogen by chloroform. *J. Gen. Physiol.* **30**, 149, 1946.
- 27) Christensen, L. R. : Streptococcal fibrinolysis. A proteolytic reaction due to a serum enzyme activated by streptococcal fibrinolysin. *J. Gen. Physiol.* **28**, 363, 1945.
- 28) Lassen, M. : Heat denaturation of plasminogen in the fibrin plate method. *Acta Physiol. Scandinav.* **27**, 371, 1952.
- 29) Astrup, T. & Millertz, S. : The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch. Biochem. Biophys.* **40**, 346, 1952.
- 30) Claude, A. : *J. Exp. Med.* **84**, 61, 1946.
- 31) 赤堀四郎: 酵素研究法. No. 4, 朝倉書店, 昭34.
- 32) Astrup, T. and Permin, P. M. : Fibrinolysis in the animal organism. *Nature*, **159**, 681, 1947.
- 33) H. T. Tagnon and M. L. Petermann : Activation of proplasmin by a Tissue Fraction. *C. P. Rhoads*, 359, 1942.
- 34) Astrup, T. & Sterndorff, I. : The plasminogen activation in animal tissue. *Acta Physiol. Scandinav.*, **36**, 250, 1956.
- 35) 早石 修: 脳外傷及び脳浮腫の生化学. *日新医学*, **48**, 519, 昭36.
- 36) 山本英一: 脳神経外科領域に於ける低体温法. *日外会誌*, **66**, 277, 昭40.
- 37) Inglis, J. M., Biffen. W. H. and d'Abrew, A. L. : Convenient apparatus for providing controlled hypothermia. *Lancet*, **1**, 549, 1954.
- 38) Knomles, G. S. A. : Control of temperature in rewarming blanket during hypothermia. *Lancet*, **1**, 1231, 1959.
- 39) Lazorthes, G. and Campan, L. : Hypothermia in treatment of craniocerebral tsumatism. *J. Neurosurg*, **15**, 162, 1958.
- 40) Lewis, F. J., Ring, D. M. and Alden, J. F. : A technique for total body cooling of febrile gravely ill patient. *Surg.* **40**, 465, 1956.
- 41) 小山田 恵: 超低体温下心血流遮断犬に於ける主要臓器の病理組織学的研究. *日外会誌*, **64**, 698, 1963.
- 42) 杉山卓哉: 低体温麻酔及び普通全麻手術時の Plasmin 系に関する臨床的, 実験的研究, *日外宝*, **35**, 89, 昭41.
- 43) 竹内節夫: ショックの際の血液及び臓器組織の Plasmin 系及び Activator 系, それらの Inhibitor に関する実験的研究. *日外宝*, **32**, 825, 昭38.
- 44) Macfarlane, R. G. *Lancet*, II (6433), 862, 1946.
- 45) Astrup, T. and Permin, P. M. : Fibrinolysis in the animal organism. *Nature*, **159**, 681, 1947.
- 46) Astrup, T. and Stage, A. : A. protease inhibitor in ox lung. *Acta, Chem. Scand.*, **10**, 617, 1956.
- 47) Astrup, and Albrechtsen. : Estimation of the plasminogen activator and trypsin inhibitor in animal and human tissue., *Scand. J. Clin. Invest.* **9**, 233, 1957.
- 48) 安部 英: 内科疾患に於ける線維素溶解現象の消長, 特に腎疾患を中心として. *日本血液学会雑誌*, **28**, 345, 1965.
- 49) 風間陸美, 安部 英, 吉利 和: 遊離細胞の示す線溶現象に関する顕微鏡的観察. *日本血液学会雑誌*, **27**, 395, 1914.