

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

東邦大学医学部第2外科教室 (指導: 粟津三郎教授)

竹 内 節 夫

[原稿受付 昭和38年9月16日]

EXPERIMENTAL STUDY OF PLASMIN AND ACTIVATOR SYSTEM IN BLOOD AND TISSUES IN SHOCK

by

SETSUO TAKEUCHI

From the 2nd Surgery, Medical School Toho University
(Director: Prof. Dr. SABURO AWAZU)

Plasmin and its inhibitor in blood, plasminogen and trypsin inhibitor in tissues of dogs in shock were estimated.

Plasmin and inhibitor in blood were purified by Christensen's method, and plasminogen and trypsin inhibitor were extracted by Astrup and Stage's method.

They were estimated by heated fibrin plate method.

Plasmin in blood apparently increased during shock, but increase of inhibitor in blood was not so remarkable.

Plasminogen activators in tissues were also much more produced in shock than in normal dogs, but trypsin inhibitors in tissues was not so changed.

目	次
第1章 緒 言	(2) Inhibitor
第2章 実験方法	II 臓器組織
I 実験材料	(1) 生理的食塩水抽出液
II 実験方法	(2) ロダンカリ抽出法による Activator
(1) 血液中の Plasmin 及び Inhibitor.	(3) ロダンカリ抽出法による Inhibitor.
(2) 組織中の Activator 及び Inhibitor.	第4章 考 案
(i) 生理的食塩水による抽出法	I 血液中の被検体抽出法
(ii) ロダンカリによる抽出法	II 血液成績に対する考案
III 判 定	III 組織の Activator と Inhibitor 抽出法 に関する考案
(1) 血液の場合	IV 成績に対する考案
(2) 組織の場合	(1) KSCN 法による Activator.
第3章 実験成績	(2) KSCN 法による Inhibitor.
I 血 液	第5章 結 論
(1) Plasmin	

第1章 緒 言

外傷, 手術, ショックに際して, 血液中の Plasmin

即ち線維素溶解酵素が増加する事は, Tagnon¹⁾²⁾, Macfahren³⁾, 高木⁴⁾等の報告によつて明らかである. この血液中の Plasmin の増加する大きな理由の一つと

して、侵襲により組織中の Plasminogen activator が増加し、これが血液中に流入し、それにより Plasminogen が Plasmin に活性化する事が Astrup⁵⁾、粟津⁶⁾ によつて云われている。従つて、外傷、手術、ショックに際して、組織中の Activator にも変化が起る事は当然考えられる。しかしこの事に関する研究は殆どない。

著者は成犬に脱血性のショックを起させ、その臓器の Plasminogen activator 及び Inhibitor を検査したので報告する。

組織中の Activator 及び Inhibitor の検査法は種々の変化を見、Permin⁷⁾、Lewis & Ferguson⁸⁾ 等が行つたがその方法は不正確であつた。Astrup & Stage⁹⁾ がロダンカリを使用して組織中の Activator を水溶性にし、更に Astrup & Sterndorf¹⁰⁾ が血液中の Activator との分離に成功し、Astrup & Albretschén¹¹⁾ がこの方法で正常の人及び動物の組織の検査を行つている。著者はこの方法を用いた。

第2章 実験方法

I 実験材料

動物10kg内外の成犬を使用し、ラボナール静脈麻酔の下に就眠せしめ、気管内チューブを挿入し、補助呼吸の下に股動脈圧250~30mmHgを目標にして脱血し、約30分間ショック状態に維持し、その後死亡せしめ各臓器を摘出し、又ショック前及びショック中に採血し、その Plasmin 及び Inhibitor をも検査した。対照としてはラボナール静脈注射により死亡せしめた犬の臓器を検査した。

トロンビン、トリプシン：持田製薬会社のものを使用した。

ブラスミノゲン：持田製薬会社に依頼して製作した牛血のものを使用した。

フィブリノーゲン：牛血より塩析法により製作し、加熱平板として使用した。(高木¹²⁾、Astrup T. & Müllertz S.¹²⁾)

II 実験方法

(1) 血液中の Plasmin 及び Inhibitor

ショック前及びショック中の静脈より採血し、直ちに2500回転、10分間遠沈し、血清を分離し、分離血清1ccを蒸留水で20倍に稀釈し、0.5%醋酸でpH5.2となし、3000回転10分間遠沈し、沈渣と上清に分離する。沈渣をpH7.2 磷酸緩衝液で、原血清量の1/3に溶解する。これが Plasmin の被検液である。上清中には Inhibitor が含まれているので、上清に1cc 5単位の

Plasmin を含む生理的食塩水を等量加え、Inhibitor の被検液とした。対照としては Plasmin 加生理的食塩水を使用した。(高木⁴⁾、Astrup T. & Müllertz S.¹²⁾)

(2) 組織中の Activator 及び Inhibitor

(i) 生理的食塩水による抽出法

各臓器組織を1g、生理的食塩水2gを加え、ホモジナイザーで10分間均質化し、3000回転、10分間遠沈し、上清を被検液とした。

(ii) ロダンカリによる抽出法

各臓器組織1gに2M. KSCN 10ccを加え、ポッターのホモジナイザーで10分間均質化し、3000回転、10分間遠沈する。上清を分離し、沈渣に2M. KSCN 10ccを加え、10分間均質化する。これを遠沈し、上清を分離する。その沈渣に同様の操作を繰返し得た3回の上清を加え、合計30ccの上清を1N. HCl でpH1.0にし、これを遠沈し、沈渣に2M. KSCN 10ccを加えよく溶解し、NaHCO₃ でpH7.0にする。これが Activator の被検液である。その上清に0.1M. Sod. tangstate 1/10量を加え、30分間放置し、遠沈して得た沈渣にpH7.8 Veronal buffer 10ccを加える。これが Inhibitor の被検液である。(Astrup T. & Albretschén O. K.¹¹⁾)

III 判定

(1) 血液の場合

被検液0.03ccをフィブリン加熱平板上に滴下し、37°C. 18時間放置し、溶解面の縦経と横経の積を溶解面積とした。

Inhibitor

被検液と Plasmin の混合液および生理的食塩水と Plasmin の混合液をそれぞれ、同一の加熱フィブリン平板の上に滴下し、それぞれの溶解面積の差により Inhibitor による Plasmin の溶解作用抑制程度を調べた。

(2) 組織の場合

生理的食塩水抽出液及び KSCN によつて抽出した Activator

被検液に1cc中12.5mgの Plasminogen を含む溶液を等量加えたもの。対照としては被検液のみのもの、又生理的食塩水に Plasminogen を加えたものを、それぞれ同一平板に滴下し、37°C. 10時間放置し溶解面積を調べた。

Inhibitor

被検液に1cc、64単位の Trypsin を含む溶液を等量加え、対照として Trypsin と生理的食塩水を混じたものを滴下した。いづれの場合でも1cc、64単位の Try-

psin 溶液 0.03cc を滴下し、この溶解面積を基準として、Trypsin % として表した。

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。

第3章 実験成績

I 血液

(1) Plasmin

表1のように14例中13例が血液中の Plasmin が増加している。増加率は平均 1.49倍で、Trypsin % に換算してショック前が 31.8%、ショック中が 41.25% である。

表1 Plasmin (溶解面積 Trypsin %)

Trypsin 1 万単位32倍稀釈液の溶解面積を100として各々の溶解度を%で表わしたもの

No.	Shock 前	Shock 中	中/前
1	64.3	42.37	0.66
2	70.5	93.06	1.32
3	72.8	77.06	1.06
4	35.0	43.20	1.23
5	29.8	45.89	1.54
6	30.5	55.51	1.82
7	32.3	52.33	1.62
8	12.0	18.12	1.51
9	11.4	24.40	2.14
10	15.2	20.22	1.33
11	25.2	27.70	1.10
12	23.3	27.06	1.16
13	12.5	15.75	1.26
14	11.0	34.87	3.17
平均	31.8	41.25	1.49

(2) Inhibitor

表2のように溶解面積の減少は Inhibitor の増加を

示すが13例中10例が増加し、3例は減少している。Trypsin % でショック前32.1%、ショック中は24.06% で増加率平均1.12倍で僅少である。

表2 Inhibitor (溶解面積 Trypsin %)

No.	Shock 前	Shock 中	中/前
1	35.1	23.0	0.65
2	32.0	31.9	0.99
3	52.0	17.2	0.33
4	53.8	24.2	0.45
5	20.4	19.4	0.95
6	38.5	30.4	0.79
7	42.8	21.4	0.50
8	20.4	25.6	1.26
9	21.0	25.6	1.22
10	13.5	26.7	1.98
11	17.2	12.7	0.74
12	58.3	44.9	0.77
13	12.2	9.8	0.80
平均	32.1	24.06	0.88

II 臓器組織

(1) 生理的食塩水抽出液

抽出液だけをフィブリン平板の上に滴下したのでは、正常組織でもショック組織でも全然溶解しない。即ちこの抽出液中には Plasmin 又は Plasminogen はこの方法では証明出来ない。又生理的食塩水に Plasminogen を加えたものは、10時間以内ではフィブリン平板を溶解しないが、10時間以上を経過すると Plasminogen の自然活性によつて平板が溶解する場合がある。従つてこの実験の判定には10時間以内がよい。

ショック組織と正常組織の比較。

表3は正常組織、表4はショック組織で、表5は両者の平均値である。この成績からみて、生理的食塩水による抽出液でも Activator としての Activity は肺を

表3 生理食塩水加組織抽出液

正常群 (Trypsin %)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
脳	107.1	66.7	10.8	0	0	18.6	7.73	28.6	0	0
肺	0	0	0	62.7	0	30.9	20.6	0	31.0	0
心	0	0	0	49.3	17.9	40.2	107.2	0	0	0
腎	54.0	75.8	59.5	0	0	83.5	129.9	67.3	13.4	87.0
脾	0	0	0	232.8	83.6	34.5	20.6	0	31.0	0
肝	0	0	0	61.1	0	13.7	2.3	0	0	71.8

表4 生理食塩水加組織抽出液

脱血ショック群 (Trypsin %)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
脳	28.0	99.5	83.3	143.1	0	30.6	3	25.0	0	22.5
肺	20.2	28.6	0	0	0	0	0	31.3	0	10.4
心	100.8	0	42.4	0	32.5	33.9	47.0	17.0	47.9	23.3
腎	28.0	101.0	145.5	162.6	0	58.1	0	16.7	41.4	26.7
脾	23.5	0	108.3	0	161.0	79.8	82.1	26.7	29.0	23.3
肝	17.9	10.2	68.2	0	0	0	82.1	52.8	24.9	29.2

表5 Plasminogen activator組織別平均値
生理食塩水加組織抽出液 (Trypsin %)

	正常群	脱血ショック群	差
脳	23.9	43.5	+ 19.6
肺	14.5	9.0	- 5.5
心	21.5	31.5	+ 13.0
腎	54.1	58.0	+ 3.9
脾	30.2	51.4	+ 24.2
肝	15.1	28.5	+ 13.4

除き、脳、心臓、腎、脾、肝に於いて増加している。生理的食塩水による抽出液は Activator のみならず、Inhibitor をも含んでいるのであるが、この方法によつても、多くの臓器組織中の Activator activity は正常の場合よりショックの場合の方が増加している事が解る。

(2) ロダンカリ抽出法による Activator

正常組織でもショック組織でも、抽出液だけを加熱フィブリン平板上に滴下しても全然溶解しない。従つてこの場合も、抽出液中には Plasmin も Plasminogen も証明されない。又判定上 Plasminogen の自然活性化による混乱をさけるために10時間以内に判定を行った。

表6 2M-KSCN 加組織抽出液 (Plasminogen activator)

正常群 (Trypsin %)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
脳	45.9	20.0	40.8	11.1	22.7	28.4	13.6	35.3	45.2	11.3	27.0	32.6	42.2
肺	84.1	33.9	40.8	33.1	33.3	32.3	15.6	35.3	32.6	25.4	18.0	31.9	26.6
心	16.4	20.0	10.0	18.6	18.1	20.8	20.0	21.6	26.5	28.6	16.3	25.9	24.7
腎	18.7	26.4	21.8	14.2	24.1	16.8	17.8	24.0	34.7	27.2	24.0	21.1	20.9
脾	41.3	32.7	11.5	21.3	37.0	27.5	27.4	39.2	21.4	19.4	27.0	31.9	34.3
膵	21.8	32.1	19.4	22.3	14.4	16.8	20.0	18.4	30.2	23.1	17.4	19.4	23.3
肝	18.7	26.4	11.7	18.6	26.8	21.8	18.9	20.3	27.8	21.4	13.0	31.5	27.6

正常組織とショック組織の比較

表6は正常組織、表7はショック組織、表8は両者の平均値である。

この成績からみて、多少の差はあるが、検査した臓器組織のすべてに於いて、Activator がショックの状態では、正常の状態より相当著明に増加している。この KSCN 法は生理的食塩水による抽出法よりも、Inhibitor を除去し、安定性を持たせている点で、遙かに優つている。従つてショックの状態では正常の状態より組織中に於いて、Proactivator から Activator への変化が大きく起つている事が想像される。

(3) ロダンカリ抽出法による Inhibitor

表9は正常組織、表10はショック組織、表11は両者の平均値である。

この成績からみて、脳、脾では減少し、他組織は増加している。然しながらこの Inhibitor の変化は Activator の変化に比べて、遙かに少く、1/5から1/10程度にすぎない。

第4章 考 案

ショックに際して、血液中の Plasmin が増加するのいくつかの過程が考えられる。そのうちに血液自体に原因を求められるものと、組織に原因を求められる

表 7 2M-KSCN 加組織抽出液 (Plasminogen Activator)

脱血ショック群 (Trypsin %)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	
脳	33.3	78.1	100	58.8	100	84.4	51.8	100	0	55.3	52.4	37.8	50	87	36.7	37.9	45.8	48.7	48.3	52.4	22.7	25.2	33.3	90.7	41.5	
肺	51.5	66.0	61.3	85.8	92.5	94.7	22.6	69.3	56.3	43.7	25.2	19.5	31.3	59.1	19.6	0	71.3	48.7	71	61.8	56.0	63.0	51.4	83.2	42.2	
心	44.7	68.1	37.5	33.6	53.4	53.3	62.8	84.8	93.6	78.4	58.2	14.6	22.1	69.3	28.7	0	29.6	0	53.0	52.4	61.1	55.1	90	61.4	45.2	
腎	63.4	63.3	68.2	43.2	82.9	64.0	100	91.6	40	7.1	39.3	12.7	22.1	40.1	30.6	0	0	0	57.0	52.5	55.6	43.2	38.9	54.6	90.7	
脾	29.1	22.8	37.2	22.7	37.1	84.0	10	42.4	63.8	7.8	39.3	21.1	16.7	25.6	32.6	37.9	0	0	0	0	0	0	0	36.3	58.2	78.5
膵	33.6	41.7	100	55.5	62.3	100	0	91.6	100	0	63.4	29.1	30.5	87.5	49.0	37.9	29.0	0	48.3	52.4	55.6	46.1	47.9	54.6	90.8	
肝	28.8	31.3	37.2	37.1	82.7	72.6	0	41.4	25.2	0	32.5	13.0	14.6	40.1	18.4	42.6	0	48.7	48.3	52.4	56.5	57.1	60.7	60.7	77.9	

表 8 Plasminogen activator 組織別平均値
2M-KSCN 加組織抽出液 (Trypsin %)

	正常群	脱血ショック群	差
脳	29.2	54.9	+ 25.7
肺	34.0	53.9	+ 19.9
心	20.6	50.0	+ 29.4
腎	22.7	49.1	+ 26.4
脾	28.6	37.0	+ 8.4
膵	21.4	50.3	+ 28.9
肝	21.9	39.2	+ 17.3

ものがある。後者は更に2つの過程が考えられる。(Astrup,¹³⁾ 即ちショックに際し組織中の Tissue-Kinase が血液中に遊離し、これにより血液中の Proactivator が Activator に変化し、更にこれによつて血液中の Plasminogen が Plasmin に活性化する場合と、組織中の Activator が増加して、これにより血液中の Plasminogen が Plasmin に活性化される場合とがある。

その他の理由で血液中の Plasminogen が容易に Plasmin に活性化されるであろうという事は、著者の実験中の Plasminogen が容易に自然に活性化される事実から想像される。

これらのものをすべて明らかにする事は、現在の段階では不可能である、それ故に著者はその中の一部分をとりあげ組織中の Activator 及び Inhibitor の変化と、血液中の Plasmin 及び Inhibitor の変化をとりあげて研究を行った。

線維素溶解現象の検査には、三つの段階がある。1は被検体の抽出法、2は被検体によつて、溶解される基質、3は判定法である。

1は被検体が血液、組織、尿、乳、脳脊髄液によつてすべて異ってくるが、2、3は被検体の如何によらず共通である。2は Fibrin 又は Fibrinogen を使用するのが最も自然に近く、望ましいが、その他 Casein、合成アミノ酸エステル等を使用する。又 Fibrin 又は Fibrinogen を牛血のものを使用し、客観性をもたせる場合と、被検体中の Fibrinogen 又は Fibrin そのものを使用する場合とがある。3の判定は、基質の溶解の程度によつて、Plasmic activity の力価を決定するのであるが、倍数稀釈による方法、溶解による基質の粘稠度の変化、溶解する迄の時間の相違、透光性の変化、基質の重量の変化、面積の変化等がある。基質、判定等以上のように種々の方法があるが、まだ標準となる方法は定まっておらず、研究者がそれぞれ自分の考え

表9 2M-KSCN 加組織抽出液 (Trypsin Inhibitor)

正常群 (Trypsin %)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
脳	72	39	51	62	10	40	69	10	56	30	35
肺	45	10	49	53	39	100	87	14	49	30	25
心	47	20	79	80	30	27	23	69	49	20	15
腎	31	47	49	50	47	37	59	49	35	56	30
脾	52	49	52	45	31	43	41	13	35	42	16
膵	80	80	47	58	80	70	12	39	42	42	30
肝	79	31	52	50	49	31	33	100	42	49	30

で施行しているのが現在の状況である。

著者が加熱フィブリン平板法を採用したのは次のような理由による。

基質として Fibrin は Casein 又は合成アミノ酸よりは比較的体内の条件に近い、且つ Plasmin の作用に対して鋭敏である。又 Fibrinogen 又は Fibrin 中にはどうしても、Plasminogen 又は Plasmin が含まれるが、これが Astrop が考案した heated Fibrin Plate にする事により完全に除去される。

従つてこの影響を度外視する事が出来る。判定には、数量的の意味では重量法、又は Spectric photometer によるのが良いが、操作が困難で、且つ時間を要するので多くの検体を対照とする場合は不便である。加熱平板法は溶解面積をもつて表すので、前の方法に比べれば比較的粗雑ではあるが、多くの検体を同時に検査出来る便あり、非常に鋭敏である。ただ Fibrin Plate の力価がそのつど異なるので検査の度に Trypsin の一定単位を同時に滴下して標準としなければならない。又加熱標準平板を使用すれば、Plasminogen を混合しなくても良いが、Fibrin Plate 中に含まれる Plasminogen の量が不定なので、むしろ一度加熱して、Plate に含まれる Plasminogen を除去して、予め力価の一定している Plasminogen を混じた方が力価が正確になる。

以上のような理由で、著者は加熱フィブリン平板法を選んだ。

I 血液中の被検体抽出法

血液又は血漿そのものを被検体とし、その中の Fibrinogen を基質とする方法は、Macfahren 及びその変法等で初期に行はれたが、この方法は被検体中に Plasmin のみならず、Inhibitor も含まれ、又基質となる Fibrinogen の量も未知なので正確さに欠けている。血液中の Plasmin そのものを取り出す事は不可能な

で、近來は Plasmin は Globulin Fraction III 分画中に含まれるので、硫酸或は醋酸で沈澱させた沈渣を使用する。

著者は醋酸による Christensen L. R. and Smith D. H.¹⁴⁾の方法により、Plasmin を出来るだけ純粋に取り出すように努力した。

Inhibitor の研究は Plasmin よりも更におくれているが、かなり複雑なものと考えられる。Guest¹⁵⁾, Ungar¹⁶⁾, Schuleman¹⁷⁾ 以後いくつかの報告があるが、結局 Ratnoff Lepow and Pillmer¹⁸⁾ 更に Norman P. S.¹⁹⁾ 等によれば、少くとも血清中には三種の Inhibitor がある。即ち易熱性のもの、Ammonia 又は Primary amin によつて非活性されるもの、いづれにも耐えるものがある。そしてこれらの多くは Albumin 中に含まれる、従つて著者は醋酸により沈澱した血清の上清を使用し、且つ Inhibitor をそれぞれ分離する事は不可能なので、総合したものを検査した。又この Inhibitor としての作用は Plasmin に対しても、又 Trypsin に対しても殆んど同じなので、Plasmin は入手困難な為、Trypsin の Inhibitor として検査を行つたのである。

II 血液成績に対する考案

出血性ショックに際し、線維素溶解現象が起る事は、Tagnon²⁾ (1942) 等がすでに報告している。それ以後いくらかの報告はあるが、著者のように血清を Plasmin 及び Inhibitor に分けて検査したものはなく、いづれも血清全体としての変化を見ているものである。

著者の成績によれば、Plasmin も Inhibitor も大部分の検査例に於いて増加しているが、Plasmin の増加の程度の方が、Inhibitor の増加より遙かに大きく、結果的には従来の報告のように、血液全体の Plasmic activity は増加しているという事になる。

III 組織の Activator と Inhibitor 抽出法に

表10 2M-KSCN 加組織抽出液 (Trypsin Inhibitor)

	脱血ショック群 (Trypsin %)																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
脳	0	0	0	0	0	0	48	51	62	38	29	0	33	39	58	89	39	100	62	58	48	64	72	42	64
肺	60	40	30	34	43	43	60	42	23	17	42	21	59	69	69	30	10	40	49	58	40	58	52	59	52
心	40	22	50	21	8	21	73	20	20	30	53	10	41	49	70	80	30	27	82	48	10	0	48	70	37
腎	23	100	50	18	15	25	51	42	27	30	42	9	23	100	48	3	17	37	63	71	5	0	22	64	48
脾	14	20	37	70	42	37	38	42	34	30	0	4	12	13	93	70	49	31	45	72	42	30	53	81	56
膵	7	71	49	52	39	64	45	83	21	19	0	25	69	30	48	80	80	70	21	50	70	19	81	50	72
肝	8	11	50	64	54	28	45	20	24	18	53	35	89	42	98	57	31	43	38	60	24	0	80	15	61

表11 Trypsin Inhibitor 組織別平均値
2M-KSCN 加組織抽出液 (Trypsin %)

	正常群	脱血ショック群	差	
脳	43.1	52.4	+	9.3
肺	45.5	44.0	-	1.5
心	41.7	38.4	-	3.3
腎	44.5	38.6	-	5.9
脾	38.1	42.3	+	4.2
膵	52.7	50.6	-	2.1
肝	49.6	42.0	-	7.6

関する考案

組織中に線維溶解系に關与するものがあるのは既に Fleischer M. S. & Loeb L.²⁰⁾ (1915) が報告している。然しながら本格的に研究されたのはこれより大分経てからで Permin⁷⁾ (1947), Tagnon & Petermann²¹⁾ (1949) Lewis & Ferguson⁸⁾ (1950), Tagnon & Palade²²⁾ (1950), Astrup & Stage⁹⁾ (1952) によつて、組織中に含まれるのは Plasmin ではなく、その Activator である事が明らかにされた。その頃に Fibrinkinase と呼ばれ、細菌性産物の Streptokinase に対比されたが、後に Streptokinase が Plasminogen → Plasmin の Activator ではなく、Proactivator → Activator の Activator である事が判明したので、Fibrinkinase という名称は自然に廃止され、Tissue activator 又は Lysokinase と呼ばれるようになった。然しこの頃ではまだ Activator が不溶性であるので定量的に測る事は困難であつたが、1952年に Astrup T. & Stage A.⁹⁾ が KSCN によつて、水溶性にして抽出する方法を発見し、これにより定量する事が可能になつた。更に Astrup & Sterndorff¹⁰⁾ (1956) が酸性にしてこの Tissue activator を安定させ、不安定で且つ微量の血液中の Activator と分離する事に成功した。これによつて、組織中の Activator の抽出法が完成された。この方法で Astrup & Albretschén¹¹⁾ (1957) が人及び動物組織の Tissue activator に関する精細な基礎的研究を行つている。然しながら病的組織の Tissue activator に関する研究は殆どなく、殊にショック組織の Tissue activator に関する研究は著者以外には全然ない。又 Inhibitor は Astrup & Stage⁹⁾ が KSCN を用いて抽出する方法を考案してから、はじめ Astrup²³⁾ (1952), Astrup & Stage²⁴⁾ (1956) が牛肺中の Inhibitor を調べている。更に Astrup & Albretschén¹¹⁾ (1957) も Tissue inhibitor の検査を行つている。しかしこれも Activator と同様にショック組織に關す

る研究は全くない、よつて著者はAstrup & Sterudorffの方法で、組織中の Activator 及び Inhibitor を検査した。

IV 成績に対する考察

食塩水抽出法は前に述べたように KSCN による方法が発見される以前のもので、比較定量という点ではあまり重要な意味を持たないが、Activator と Inhibitor との作用が混じている点では、むしろ生体内の状態に近い。

この方法でもショックの場合、肺を除いた他の臓器組織では Activator activity が高まっている事が解る。

(1) KSCN 法による Activator

この方法によれば、実験成績に見られるようにショック組織の Activator は正常組織の Activator より遙かに増加し、脾に於ける増加の程度が少いが、他の組織は殆ど2倍前後に増加している。これはショックによる各組織内に於ける種々の変化に伴つて、組織中に於いて Proactivator が Activator に変化されているものと考えられる。当然組織中に生じた Activator は血流中に移行し、血液中に於ける Plasminogen の活性化に大きな役割を演じている事が想像される。

(2) KSCN 法による Inhibitor

Inhibitor の変化は臓器によつて、減少したり増加したりしているが、大多数は増加の傾向が見られる。しかしその変化は少く、正常組織の1/10程度である。即ち Activator の増加が著しいのにひきかえ Inhibitor の変化は遙かに少い事がわかる。

ショックの状態に於いて、血液中に於いて活性化された Plasmin は極めて増加し、正常時に於ける1.5倍程度であるが同時に Inhibitor も増加している。然し Inhibitor の増加は Plasmin の増加に比べれば極めて少く、血液全体としては著明に Plasminic になつてゐる事は明らかである。

その時に於ける臓器中の Activator 及び Inhibitor の変化は、やはり各臓器ともに Activator は著明に増加し、血液中の Plasmin の増加に平行し、Inhibitor も変化しているが、その程度は低く、血液中に於ける変化と平行している。

第5章 結 論

1) ショック状態に陥つた犬の血液中の Plasmin 及びその Inhibitor、臓器組織中の Plasminogen Activator 及び Trypsin Inhibitor を検査した。

2) ショック状態に於いて、血液中の Plasmin は著

明に増加するが、Plasmin Inhibitor の増加は甚だ少い。

3) 種々の臓器組織中の Plasminogen Activator はいづれも増加し、血液中の Plasmin の増加に比例する。

4) 臓器組織中の Trypsin Inhibitor の変化は僅かである。

本論文の要旨は、第22回日本血液学会総会に於て発表した。稿を終るに臨み、御指導、御校閲を賜つた恩師粟津教授、長山講師に感謝を捧げると共に教室員各位の御援助に深く感謝致します。

文 献

- 1) Tagnon, H. J. : The significance of fibrinolysis in mechanism of coagulation of blood. *J. Lab. & Clin. Med.*, **27**, 1119, 1942.
- 2) Tagnon, H. J., Levenson, S. M., Davson, C. S. & Taylor, F. H. L. : The occurrence of fibrinolysis in shock, with observation on the prothrombin time and the plasma fibrinogen during haemorrhagic shock. *Am. J. m. Sci.*, **211**, 88, 1946.
- 3) Macfahren, R. G. and Biggs, R. : Observation on fibrinolysis. Spontaneous activity associated with surgical operation, trauma etc. *Lancet.*, **2**, 862, 1946.
- 4) 高木 寛 : 外科的侵襲によるプラスミン及び抑制因子の変動についての臨床的研究。日外宝, **28**, 487, 昭34.
- 5) Astrup, T. : Fibrinolysis in the organism. *Blood*, **11**, 780, 1956.
- 6) 栗津三郎他 : 手術侵襲と Plasmin, Plasminogen, Antiplasmin, Fibrinogenolysis の変動。外科, **21**, 203, 昭34.
- 7) Permim P. M. : Properties of the fibrinokinase fibrinolysis system. *Nature.*, **160**, 571, 1947.
- 8) Lewis J. H. & Ferguson J. H. : Fibrinolyso-kinase activators for profibrinolysis. *J. Clin. Invest.*, **27**, 1059, 1950.
- 9) Astrup T. & Stage A. : Isolation of soluble fibrinolytic activator from animal tissue. *Nature*, **170**, 929, 1952.
- 10) Astrup T. & Sterndorff I. : The plasminogen activator in animal tissue. *Acta physiol, Scand.*, **36**, 250, 1956.
- 11) Astrup T. & Albretschén O. K. : Estimation of the plasminogen activator and the trypsin inhibitor in animal and human tissues. *Scand. J. clin. & Lab. Invest* **233**, 9, 1957.
- 12) Astrup T. & Müllertz S. : The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. *Arch*

- Biochem & Biophys., **40**, 436, 1952.
- 13) Astrup T. : Fibrinolysis in the organism. *Blood*, **II**, 787, 1956.
- 14) L. R. Christensen & D. H. Smith : Plasminogen purification by acid extraction. *Proc. Soc. Exp. Biol & Med.*, **74**, 840, 1950.
- 15) Guest M. M. Daley B. M, Ware A. G. and Seegers W. H. : A Study of the antifibrinolysin activity in the plasma of various animal species. *J. Clin. Invest* **27**, 785, 1948.
- 16) Ungar G.. and Damgard F. : Studies on the fibrinolysis-antifibrinolysis system in serum. *J. exp. med.*, **93**, 89, 1951.
- 17) Schuleman N. R. : Studies on the inhibition of proteolytic enzymes by serum. *J. exp. med.*, **95**, 571, 1951.
- 18) Ratnoff O. D. Lepow I. H. and Pillmer L. : The multiplicity of plasmin inhibitors in human serum, demonstrated by the effect of primary amino-compounds. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, **94**, 167, 1954.
- 19) Norman P. S. : Studies on plasmin system II, Inhibition of plasmin by serum or plasma. *J. exp. med.*, **106**. 53, 1952.
- 20) Fleischer M. S. & Loeb L. : On tissue Fibrinolysins. *J. Biol. Chemistry.*, **21**, 477, 1915.
- 21) Tagnon H. J. & Petermann M. L. : Activation of proplasmin by a tissue fraction. *Proc. Soc. Exp. Biol, Med.*, **70**, 359, 1949.
- 22) Tagnon H. J. & Palade G. E. : Activation of proplasmin by a factor from mammalian tissue. *J. clin Invest.*, **29**, 317, 1950.
- 23) Astrup T. : Ox lung tissue as a proteolytic Inhibitor. *Acta, Physiol, Scand*, **26**, 243, 1952.
- 24) Astrup T. & Stage A. : A protease inhibitor in ox lung. *Acta, chem, Scand.*, **10**, 617, 1956.