

# 血栓治療の実験的研究

東那大学医学部栗津外科学教室 (指導: 栗津三郎教授)

今 村 芳 秀

〔原稿受付 昭和35年7月2日〕

## EXPERIMENTAL STUDY OF THE TREATMENT FOR THROMBUS

by

YOSHIHIDE IMAMURA

Toho Univ. School of Med. II Depart. of Surgery  
(Director. Prof. Dr. SABURO AWAZU)

Thrombus in the lung in dogs and rabbits were experimentally produced with coagulated blood labelled with  $P^{32}$ . After completion of the lung thrombus formation, Trypsin, Plasmin and Varidase were administered intravenously or subcutaneously for the treatment. The effects of these drugs upon thrombus were studied.

The result obtained were as follows :

1) Judging from the concentration of the  $P^{32}$ , dissolving activity was strongest with Plasmin, next with Trypsin and the last with Varidase. Plasmin treatment showed gradual increase of the radioactivity of circulating blood up to 4 days following injection. Trypsin and Varidase revealed gradual decrease of the radioactivity in the following 5 days but still the radioactivity was higher than the control group.

2) From the accumulating ratio of the radioactivity in tissue of various organs, dissolving activity of thrombus was best with plasmin, next with Trypsin and the last with Varidase. Forth day of the plasmin treatment showed highest value of the total assumption of the differential absorption ratio among all experimental groups.

3) Dissolving activity of the Trypsin was rapid but showed short duration. The highest activity were seen between 30 to 45 minutes following injection.

4) Accumulation ratio of the radioactivity in the various tissue were the following order : liver, small intestine, spleen, bone marrow, kidney, adrenals, muscles and brain cortex.

### 目 次

第1章 緒言	II 家兔の全血中の $^{32}P$ の濃度に及ぼす影響
第2章 実験材料並びに実験方法	III $^{32}P$ 臓器蓄積率
第3章 実験成績	第4章 総括並びに考按
I 犬の血球, 血漿中の $^{32}P$ の濃度に及ぼす影響	第5章 結語

## 第1章 緒言

生体に於ける血栓症並びに栓塞症は、種々の形で現われるが、近時、診断の進歩及び血液凝固理論の飛躍的發展の爲、その研究が、多大の注目を浴びるに至つた。

血栓症の治療に関しては、現在迄、種々の薬物が用いられた。

その第一は血液抗凝固剤、ヘパリン及びクマリン製剤であり。

その第二は、種々の繊維素溶解系酵素である。

先づ、血栓溶解に対するヘパリン<sup>1)2)3)</sup>及びクマリン<sup>4)</sup>製剤の効果は、多くの人々に依つて研究されたが、前者は、血液を短時間、凝固し難い状態に保つて置く為には便利であるが、血栓を溶解するには適しない。後者は、出血傾向の増大、プロトロンビン時間の延長、其の他副作用があり、且血栓溶解作用も充分とは云えない。

著者が、本論文の血栓溶解に用いた薬物は、繊維素溶解系酵素、トリプシン、ヴァリダーゼ、プラスミンである。

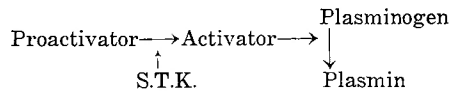
これら繊維素溶解系酵素なるものは、種々発表せられ、且その臨牀的、実験的效果についても多く研究せられているが、Green (1877)は、細菌の作用もなく、食塩水中の繊維素が消失し、一旦溶けてしまうと、トロンビンを加えても、二度と繊維素は出て来ない事を観察、Dastre<sup>5)</sup>(1893)は、一旦凝固した血液が、再び流動性を回復する現象に着目、これを、繊維素溶解現象と呼んだ。そして、近年に至り、Astrup<sup>6)7)</sup>等は、此等の現象を、詳しく究明した。

先づ、トリプシンに関しては、血栓性静脈炎に対する筋注時の効果<sup>8)~13)</sup>、血栓溶解に対する静脈内投与時の効果<sup>14)~16)</sup>、或は毛細管の滲透圧の増加による浮腫に対する効果<sup>17)</sup>等、その臨牀的生物学的研究発表は枚挙に遑がない。

而して、その作用機序については、Lewis<sup>18)</sup>等は、試験管内では、トリプシンは直接に、繊維素を溶解し、且、Plasminogen (Profibrinolysin)を活性化すると述べ、一方、Ungar<sup>19)</sup>、Stefanni<sup>20)</sup>、Jackson<sup>21)</sup>等は、血栓溶解に対する作用は、直接に蛋白を溶解して起すのではなくて、トリプシンが、PlasminogenをPlasmin(Fibrinolysin)に転換し、このPlasminが、血栓を溶解するものであると述べて居る。何れにしても、その血栓溶解作用を認めている人は多い。

次に、ヴァリターゼ (Lederle, Streptokinase 100,000単位+Streptodornase 25,000単位)は、多くの研究者達に依れば、臨牀的には極めて有効な薬剤であり、Johnson<sup>22)</sup>、Sherry<sup>23)</sup>等は、静脈内投与に依る実験的血栓の溶解を、Johnson<sup>24)</sup>、Tillett<sup>25)</sup>等は、臨牀的に静脈内に投与して血栓溶解を、Miller<sup>26)</sup>等は、筋注に依つて、炎症及浮腫を消滅せしめた事を報告している。

此のStreptokinase(S.T.K.)の作用機転は、下に示す如きシェーマから明らかな如く<sup>27)28)29)</sup>、直接に繊維素を溶解するものではなくて、S.T.K.がProactivatorをActivatorとし、このActivatorがPlasminogenをPlasminに転換し、而うして、その結果産生されたPlasminが、繊維素溶解作用を示す訳である。



元来、プラスミンは常時血中に認められるものである。本実験に於いては、人精製プラスミンを用いたが初めこのプラスミンは凝固した繊維素を溶解する酵素と考えられていたが、現在では、血漿中に存在する蛋白溶解酵素と考えられている。

プラスミンの前段階は、プラスミノゲンとして知られているが、これを人血から精製発展せしめたのはCohn<sup>30)</sup> Remmerts<sup>31)</sup>等であつたが、プラスミノゲンは酸性液の中では溶解し、且安定である<sup>32)</sup>事が発見され、ヴァリダーゼに依つてプラスミンが作られ、或は正常血漿にクロロホルムを加えて振盪すると、プラスミノゲンが活性化されて、プラスミンが出来る<sup>33)</sup>事等が、次第に明となり、プラスミンの作用<sup>34)</sup>は、一層明瞭となつた。

プラスミンは、各種疾患時<sup>34)35)</sup>、肉体の労働時<sup>36)37)</sup>手術中及び手術後<sup>34)38)</sup>、精神的不安<sup>34)</sup>等に際して、増加するものと云われている。又、プラスミン活性は、交感神経緊張亢進時に誘発<sup>35)</sup>されると云い、Rocha e Silva、塚田、畔柳等は、アナフィラキシーの際のプラスミンについて、研究している。

著者は、以上述べた。三つの酵素を血栓溶解に応用したが、一般に、繊維素溶解は、プラスミンとアンチプラスミンの動的平衡が破れると、繊維素溶解現象乃至血漿蛋白の溶解が起ると云える。即ち、Plasmin-antiplasmin complexの結合が破れるか、PlasminogenよりPlasminへの活性化が強いか、或は、活性化が継続的に起り、Plasminの量が、Antiplasminの量

を超過すれば、起る訳である。

以上述べた如く、纖維素溶解系酵素の血栓症に対する効果、並びに作用機序については、数多く述べられているが、此等の消失過程を述べたものはないので、著者は、放射性同位元素 $^{32}\text{P}$ で標識した赤血球を用い、家兎及び犬に、実験的肺血栓を作り、トリプシン、ヴァリダーゼ、プラスミンを注射して、その血栓の消失過程を、動的に微細に観察し、結果を得たので、爰に報告する次第である。

## 第2章 実験材料並びに実験方法

実験には、出来得る限り、成熟家兎及び成犬を使用した<sup>39)</sup>。

標識用放射性同位元素は $^{32}\text{P}$ 、 $^{51}\text{Cr}$ 、 $^{131}\text{I}$ を使用した。本実験には、都合に依り、 $^{32}\text{P}$ の結果のみを發表した。

先づ、10%拘攣酸曹達液0.5ccを注射器に吸引し、次いで、家兎の耳静脈より、3.0ccの血液を採血混和、これをスピッツグラスに移し、2000回転、15分遠心沈澱し、血漿を分離、これを別の試験管に採取、血球側に $^{32}\text{P}$ 、50 $\mu\text{c}$ を注入、これをよく混和して、孵卵器内に37°C、2時間放置、その間、時折試験管を攪拌し標識した。

$^{32}\text{P}$ は、半減期が14.3日であるから、可及的速に使用した。

孵卵器内で、2時間 incubate した血球は、約5.0ccの生理的食塩水と混和、再び2,000回転、15分宛、3回遠心沈澱器にかけて洗滌し、この洗滌液を除去、この $^{32}\text{P}$ で標識せる血球を、曩に分離した血漿と混和した。

然して、3回洗滌後の血球の放射能活性が、第3回目の洗滌液の放射能活性の10倍以上に達したものを、実験に供した。

そこで、家兎は、直に、100~150mg程度のラボナールに依り麻酔し、頸静脈を露出、曩に作成した $\text{P}^{32}$ で標識せる血球を含む血液を、トロンビン(持田)50単位と混和、空虛となせる2結紮糸間頸静脈内に、可及的速に注入、30分経過せる後、頸静脈管内に血栓の生じた事を確かめてから、結紮糸を解いて血流を再開し、肺臓内に血栓を作成した。その後切開創を閉鎖、24時間放置し<sup>40)</sup>、実験に供した。

実験家兎は、手術の翌日から、トリプシン、プラスミン、ヴァリダーゼを注射し。手術の翌々日から、2.0cc 宛採血、次いで脱血、屠殺し、その後臓器を摘出、各臓器の放射能を測定した。又注射は何れも毎日

1回行つた。

犬の場合も、5.0cc採血、血栓作成は家兎の場合と同様に行つた。そして血栓作成の翌日から毎日注射し、8日間に亘り、血球中の放射能を測定した。血漿中の放射能は、4日目迄測定した。

トリプシン(持田)は1,000 H.U.M./kg 静注を、ヴァリダーゼは、S.T.K.10,000U/kg (Christensen単位)筋注を、プラスミンは30U/kg (Loomis単位)を静注した。

尚本実験に使用したプラスミンは次の様にして、作成したものである。

即ち、Loomis 法の変法で、保存血液より、プラスミンを分離、25,30%の硫酸で飽和分画し、この分画を透析後、pH 5.5で等電沈澱し、沈澱物を生理食塩水で懸濁し、pH7に調節する。pH7にて可溶の部分を、プラスミノゲンとし、活性化はヴァリダーゼにて行つたものを、所謂、人プラスミンとして用いた。

プラスミンのone Loomis 単位は、pH7.2のイミダゾール緩衝液の中に、45°C 2分間で、0.3%の牛のフィブリン1mlを溶かす事が出来る量である。

## 第3章 実験成績

### (I) 犬の血球、血漿中の $^{32}\text{P}$ の濃度に及ぼす影響

前述の如くして、犬に肺血栓を作成せる翌日に、トリプシン注射、注射後15分、30分、45分、60分における、血球及び血漿中の比放射能を示したものが、表1及び表2である。注射後は、表に示した如く、血球及び血漿中共に、放射能は明に増加、極めて短時間内に衰効し、且、持続時間も短い。効果は30分~45分において、最も顕著である事が判る。日数を経るに従い、血球、血漿中のカウント数は次第に減少したが、表

表1 Trypsin注射前後における犬の血球中 $^{32}\text{P}$ の比放射能

日数	注射前	注 射 後			
		15m	30	45	60
1	100%	105%	110%	116%	108%
2	100	109	116	115	108
3	100	112	119	117	110
4	100	118	125	119	114
5	100	118	128	123	117
6	100	121	129	124	113
7	100	125	133	127	114
8	100	121	128	123	104

表2 Trypsin注射前後における犬の血漿中<sup>32</sup>Pの比放射能

日数	注射前	注射後			
		15m	30	45	60
1	100%	115%	117%	120%	108%
2	100	123	145	137	119
3	100	121	122	128	120
4	100	125	135	118	114

中、日数と共に、比放射能が増加する傾向が認められるのは、単位時間のカウント数は、減少する為である。血漿中のカウントは、5日目から著明に減少するので、省略した。又この表から見られる如く、赤血球は<sup>32</sup>Pで、良く標識された。

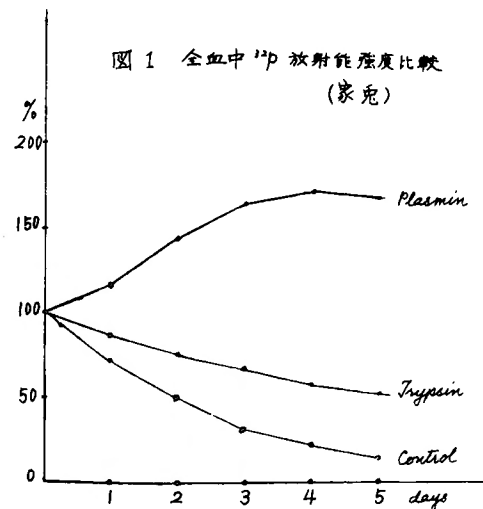
〔II〕家兎の全血中の<sup>32</sup>Pの濃度に及ぼす影響

血栓作成の翌日から、トリプシン、プラスミンを毎日静注比放射能を、対称と比較したものが、表3、図

表3 全血中<sup>32</sup>P放射能強度比較

	P.	T.	C.
注射前	100%	100%	100%
1 d.	117	88	73
2	144	76	51
3	164	68	33
4	172	59	22
5	167	52	14

P : Plasmin  
T : Trypsin  
C : Control



1である。この図表に示す如く、プラスミンを注射せる家兎の全血中の比放射能は、注射の翌日から急激に上昇し、4日目を頂点とする上昇曲線を示した。

一方、トリプシン注射群のそれは、対称群に比すれば、下降は緩やかであるが、次第に減少してゆき、プラスミンと比べれば、格段の差異を示した。

即ち、トリプシン注射群は、対称群に比すれば、流血中の放射能は増加するが、プラスミン注射群の方は極めて顕著なる増加を示し、然も持続的で、4日目を頂点とする曲線を示した。

〔III〕<sup>32</sup>P臓器蓄積率

対称群の各臓器の放射能の吸収率較差は、肝臓、小腸、脾臓の順であった。そして、大脳は極めて少なかった。

表4は、トリプシン注射群と、対称群との吸収率較差を比較したものである。

同じく、表5は、プラスミン、表6は、ヴァリダーゼ群のそれを示すものである。

表4に依れば、注射後、2日から3日目に吸収率較差は比較的増加し、血栓溶解は、2及び3日に、最も顕著であったと思われる。

表5に依れば、肝、腎、副腎、骨髄、小腸は、3日乃至4日目に著明に増加、対称に比すれば、各日共、吸収率較差は、極めて高かった。

表6に依れば、ヴァリダーゼは、トリプシンに、極めて近似の吸収率較差を示したが、トリプシンには、僅に及ばなかった。

図2~9は、表4及び5を、各臓器別に、対称群と、トリプシン及びプラスミン注射群とを比較したものであるが、プラスミン使用例では、肝、腎、副腎、骨髄、小腸で、3~4日目を頂点とする上昇曲線を示し、図1に示した如きプラスミン曲線に近かった。

図10は、表4、5、6の各臓器の吸収率較差の和を、5日間に亘り図示したものである。

トリプシン、ヴァリダーゼの各臓器の、吸収率較差は、対称群と比較すれば、比較的僅差であるが、プラスミンは著明に増加、注射後、4日目を頂点とする上昇曲線を示した。

これは、4日目迄に、著明に血栓を溶解せるものと推定出来る。

第4章 総括並びに考按

著者は、トリプシン、プラスミン、ヴァリダーゼの実験的血栓に対する影響を、時間的、量的に調べる

表4 C : Control  
T : Trypsin

臓器	注射名	注射前	1 d.	2	3	4	5
大 腦	C.	0.16%	0.10%	0.08%	0.05%	0.03%	0.01%
	T.		0.11	0.10	0.09	0.05	0.03
肝 臓	C.	1.54	0.89	0.62	0.53	0.47	0.41
	T.		0.94	0.90	0.85	0.64	0.54
脾 臓	C.	1.28	0.74	0.61	0.52	0.44	0.38
	T.		0.80	0.71	0.65	0.55	0.49
腎 臓	C.	0.64	0.38	0.29	0.23	0.17	0.16
	T.		0.41	0.38	0.34	0.27	0.24
副 腎	C.	0.54	0.37	0.29	0.21	0.15	0.14
	T.		0.40	0.35	0.28	0.21	0.17
骨 髄	C.	1.03	0.68	0.60	0.52	0.41	0.36
	T.		0.75	0.72	0.65	0.62	0.56
筋 肉	C.	0.41	0.28	0.24	0.19	0.15	0.12
	T.		0.28	0.25	0.21	0.17	0.15
小 腸	C.	1.34	0.80	0.75	0.64	0.53	0.49
	T.		0.84	0.80	0.77	0.70	0.64
Total	C.	6.94%	4.24%	3.48%	2.89%	2.35%	2.07%
	T.		4.53%	4.21%	3.84%	3.21%	2.82%

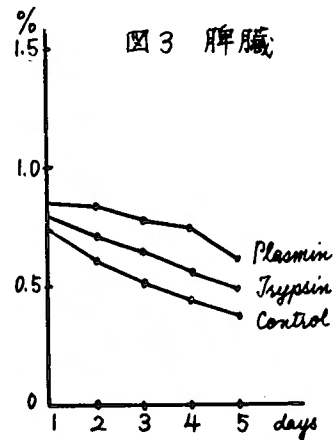
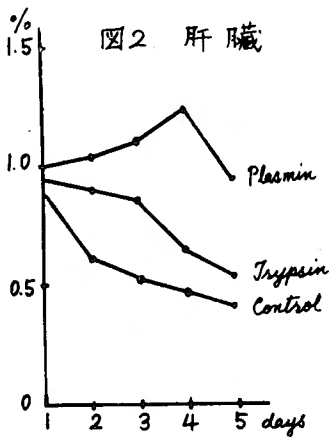
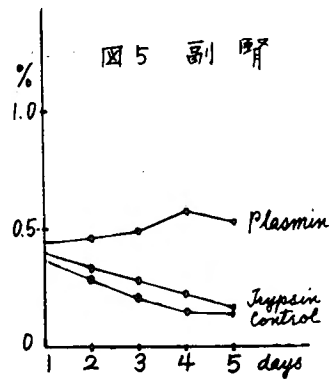
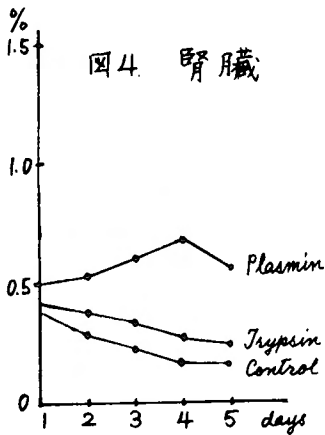


表5 C : Control  
P : Plasmin

臓器	注射名	注射前	1 d.	2	3	4	5
大 腦	C.	0.16%	0.10%	0.08%	0.05%	0.03%	0.01%
	P.		0.13	0.14	0.13	0.10	0.08
肝 臓	C.	1.54	0.89	0.62	0.53	0.47	0.41
	P.		1.00	1.04	1.11	1.24	0.94
脾 臓	C.	1.28	0.74	0.61	0.52	0.44	0.38
	P.		0.85	0.84	0.78	0.74	0.71
腎 臓	C.	0.64	0.38	0.29	0.23	0.17	0.16
	P.		0.50	0.53	0.60	0.69	0.56
副 腎	C.	0.54	0.37	0.29	0.21	0.15	0.14
	P.		0.44	0.45	0.49	0.58	0.52
骨 髄	C.	1.03	0.68	0.60	0.52	0.41	0.36
	P.		0.85	0.90	1.02	1.06	0.91
筋 肉	C.	0.41	0.28	0.24	0.19	0.15	0.12
	P.		0.30	0.29	0.27	0.24	0.18
小 腸	C.	1.34	0.80	0.75	0.64	0.53	0.49
	P.		0.94	1.02	1.14	1.20	1.15
Total	C.	6.94%	4.24%	3.48%	2.89%	2.35%	2.07%
	P.		5.01%	5.21%	5.54%	5.85%	5.05%



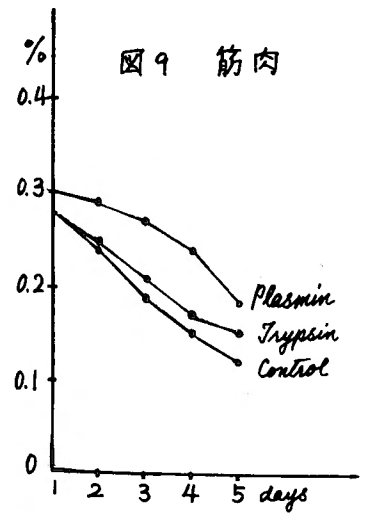
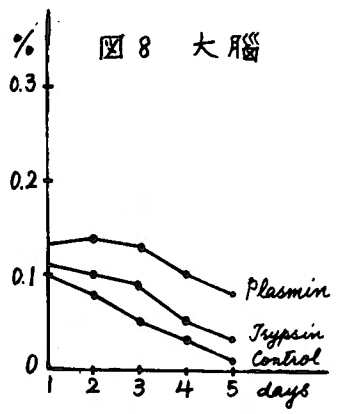
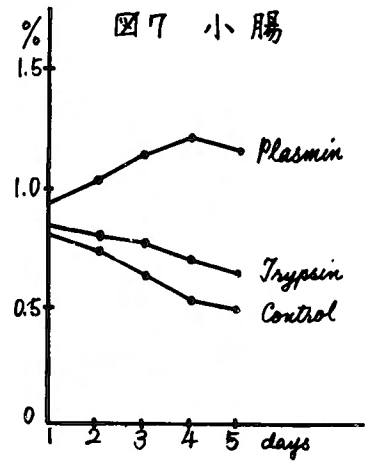
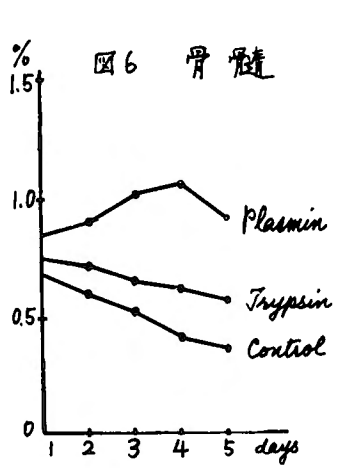


表6 C : Control  
V : Varidase

臓器	注射名	注射前	1 d.	2	3	4	5
大 脳	C.	0.16%	0.10%	0.08%	0.05%	0.03%	0.01%
	V.		0.11	0.10	0.08	0.04	0.02
肝 臓	C.	1.54	0.89	0.62	0.53	0.47	0.41
	V		0.93	0.87	0.82	0.59	0.50
脾 臓	C.	1.28	0.74	0.61	0.52	0.44	0.38
	V.		0.79	0.70	0.62	0.51	0.44

腎 臓	C.	0.64	0.38	0.29	0.23	0.17	0.16
	V.		0.40	0.36	0.32	0.25	0.21
副 腎	C.	0.54	0.37	0.29	0.21	0.15	0.14
	V.		0.39	0.35	0.25	0.20	0.15
骨 髄	C.	1.03	0.68	0.60	0.52	0.41	0.36
	V.		0.73	0.71	0.61	0.58	0.51
筋 肉	C.	0.41	0.28	0.24	0.19	0.15	0.12
	V.		0.27	0.25	0.21	0.17	0.14
小 腸	C.	1.34	0.80	0.75	0.64	0.53	0.49
	V.		0.85	0.80	0.75	0.67	0.59
Total	C.	6.94%	4.24%	3.48%	2.89%	2.35%	2.07%
	V.		4.47%	4.14%	3.66%	3.01%	2.56%

為、放射性同位元素  $^{32}\text{P}$  を追跡子として、その消失過程を、動的に観察した。

近年放射性同位元素の、医学並びに、生物学領域における応用は、誠に目覚ましいものがある。これは、放射性同位元素が、追跡子として、好個のものであるからに他ならない。

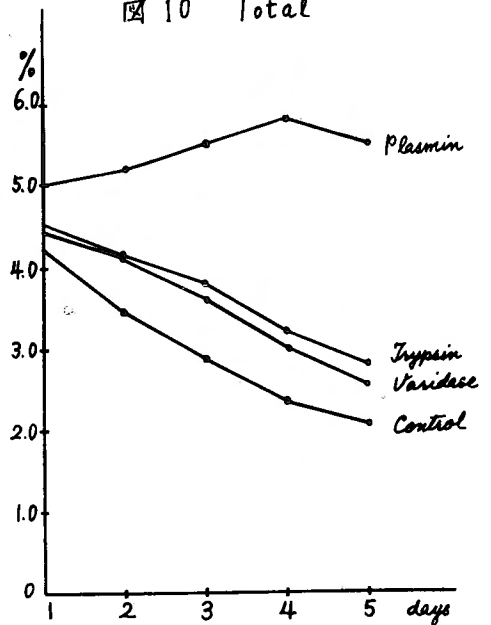
著者も、放射性同位元素  $^{32}\text{P}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{131}\text{I}$  を用いたが、 $^{32}\text{P}$  に依つて、極めて満足すべき結果を得る事が出来た。

天然の安定なる磷は、 $^{31}\text{P}$  のみで、この他、放射性同位元素として、 $^{29}\text{P}$ ,  $^{30}\text{P}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{34}\text{P}$  等が知られているが、 $^{32}\text{P}$  は物理的半減期が14.3日で、生物学的半減期は、大略9日であり、本実験の追跡子として、極めて適当であつた。

Chiewitz(1935)等は、 $^{32}\text{P}$  の生体内の分布と、排泄を調べ、Cohn<sup>(41)</sup>, Manly<sup>(42)</sup>等は、色々の動物について<sup>(32)</sup>、Pの臓器、組織への蓄積率と、時間的關係、交換率の速度、排泄率等調べて居り、倉光<sup>(43)</sup>, 加藤<sup>(44)</sup>, 山下<sup>(45)</sup>等に依れば、マウスにおける  $^{32}\text{P}$  の注射による各臓器の蓄積率は、骨、肝、脾、腎、小腸、心筋、肺筋肉、皮膚の順であり、最も少いのは大脳であつたと述べて居るが、表 4, 5, 6 に示す如く、著者の実験でも、略々同様の傾向を示している。即ち、何れの場合でも、肝臓が最大で、大脳が最少であつた。

$^{32}\text{P}$  は、骨では、無機磷の化合物として存在し、肝、脾、腎、骨髄では、蛋白磷や、リポイド磷として、存在して居ると云われて居り、倉光<sup>(43)</sup>, 岡本(1955)等

図 10 Total



は、人間の場合でも、動物の場合でも、 $^{32}\text{P}$  投与後は、肝臓が一過性に増加、最高であるが、日数を経るに従い、骨が断然最高となると述べて居るが、著者の実験では、骨髄のみの放射能を測定したので、肝、脾に比すれば、少なかつた。

本実験における投与方法は、静注の一種と見做されるが、Erf, Lawrence<sup>(46)</sup>, Tuttle<sup>(47)</sup>は、 $^{32}\text{P}$  の静注では、第1日目に、すでに尿中に、37.66%排泄され、第5日



迄に、その49.578%が尿及び糞便中に排泄されると云い、一方Low-Beer<sup>48)</sup>は、静注せる<sup>32</sup>Pの体内蓄積率は、第5日で、すでに、67.76%であると云う。

何れにしても、第5日迄に、投与した<sup>32</sup>Pの半分乃至それ以上が体内に残る事になる。然も、静注の場合、殆ど大部分が腎性に排泄せられるものであるが、著者の実験における、各臓器及びその合計の放射能蓄積率は、これより遙に少いものであつた。

倉光<sup>49)</sup>によれば、P<sup>32</sup>投与では、経口、注射の別なく、24時間後では、骨以外の軟部組織は、プラトーになると報じて居り、山下<sup>50)</sup>、Erf<sup>46)47)</sup>等は、<sup>32</sup>P静注後、その血中濃度の曲線は、略々6時間より、減衰は緩徐となると述べて居るので、著者は、実験の際に、此等を参考として実験を行つた。

又、Hevesyは赤血球を分離し、P<sup>32</sup>を含む生理的食塩水と共に、試験管内に入れ、37°C. 1~2時間保つだけで、赤血球をP<sup>32</sup>で札付けする事が出来たとのべ、笹本<sup>51)</sup>等も述べて居る如く、札付けされた<sup>32</sup>Pは、極めて少量宛減少はするが、一旦札付けすると、容易に<sup>32</sup>Pは離れない為、Nylin<sup>52)</sup>、Hevesy等は、これを初めて、人体に応用した。

著者は、以上の事を考慮しつつ、血漿と分離した赤血球に、前述の方法で<sup>32</sup>Pを標識したが、極めて良く標識されたので、対称群の臓器の吸収率較差と、注射群のそれと比較して、薬物の効果の判定を行つた。

次に、トリブシン投与に依つて、凝塊を溶かす事が出来る事を、初めて発表したのは、緒言にのべた如く、Innerfield等であつたが、多くの人々が、次々と、静脈血栓や、血栓性静脈炎に、多大の効力を認めた。

我々の教室においても、すでに、末梢循環障害時における、トリブシンの非経口投与の有効なる事を報告した<sup>53)</sup>。

表1及2は、<sup>32</sup>Pで標識した肺血栓を作成した犬に、トリブシンを静注した場合の、15分から、60分の血球中及び血漿中の放射能を測定したものであるが、この表から明かな如く、トリブシンは血栓溶解作用を現し、しかもその効力は、短時間であり、30分から45分で最も強力であつた。各臓器の放射能蓄積も、トリブシン注射群は、対称群より大であり、明にトリブシンの効果を認めた。

表3及び図1は、血栓作成の翌日の放射能を100%とし、更にその翌日から、トリブシン、プラスミン注射群の全血中の比放射能を、その対称群と比較したものである。この表によれば、プラスミンは極めて、強

力に且持続的に、4日目を頂点とする。放射能強度を示した。これを、トリブシン注射群及び対称群と比較すれば、一層明瞭である。

Sherry<sup>54)</sup>等は、犬の実験的股動脈血栓に、トリブシン、S.T.K.を静脈投与して、その対称と比較した。その結果に依ると、何れも2日間投与して、

対称 29例中 3例(10%)に、

トリブシン(16~33mg/kg) 22例中 2例(9%)に  
S.T.K.(250.000単位) 13例(50%)に、

血栓の溶解を認め、トリブシン投与例では、血中fibrinogenの消失を認めたが、血栓の溶解は、略々、対称と等しいに対して、S.T.K.投与例では、半数において、血栓の溶解を認め、而も、血栓を溶解しなかつた半数例の犬の血栓も、非常に軟らかく、且小さくなつていたと述べている。

近年、細菌濾液の中には、Bakteriokinaseと呼ばれるいくつかの酵素が存在する事が判り、Streptokinase(S.T.K.)とStaphylokinase(S.P.K.)が造られた。

S.T.K.はGarner(1934)、Christensen(1945)、Ratnoff(1948)Remmert(1949)、Wasserman(1952)、Clifton(1953)、林(1954)等の報告があり、S.P.K.については、Look(1948)、Gerheim(1948)等の研究があり、彼等の研究結果を総括してみると、S.T.K.は、人間のPlasminogenのみを活性化するが、S.P.K.は、人間のみならず、犬、馬、牛、家兎、海狸のPlasminogenを活性化すると云う。

Sherry<sup>54)</sup>、Clifton<sup>55)</sup>、Grossi等は、犬及家兎の実験動物において、S.T.K.の血栓溶解現象を認めては居るが、これはMüllertz<sup>29)</sup>に依ればS.T.K.自身は、牛のPlasminogenをPlasminにするには、S.T.K.は、精製の途中で、その作用が一部失われるので、動物の場合には、human globulin中にある、大量のPlasminogen activatorを加えねばならない。即ち、S.T.K.単独では、犬及び家兎においては、蛋白溶解作用は、極めて弱い、と云つている。

著者の、ヴァリダーゼ注射の際の実験結果は、表6、図10に示す如く、対称より明に、各臓器の吸収率較差は、大であつたが、トリブシン注射群には、少しく劣つて居る。これは筋性の故もあるが、上記の理由からも、首肯せられる。

Cohn等のアルコール分割法により得たる纖維素原は、常に少量のプラスミンで汚損せられ、極めて、極端な場合は、Seagers(1948)等によれば、数分間で分解されてしまうと云う。

このプラスミンについては、Fishman<sup>56)</sup>、Cliffon<sup>57)</sup>、Ambrus<sup>58)</sup>、Back<sup>59)</sup>等は、生体内、生体外、或は、実験動物の動脈血栓に、極めて良好に作用する事を報告しているが、著者の実験も、表3、図1、表5、図2～10に示す通り、極めて満足すべき結果を得た。

著者は、30u/kgのプラスミン用いたが、Kline<sup>60)</sup>が、種々の単位で実験した結果に依ると、5u/kgですでに、fibrinolysisの起る事を確かめている。

Ambrus<sup>58)</sup>は、fibrinogenに放射性同位元素<sup>131</sup>Iを標識とした血栓に対して、15～30u/kg投与、3日以内の血栓に対しては、強力にその作用を認め、3日以上たつたものには効果を認めなかつた。又、その際S.T.K.を添加すると、更に血栓を強力に溶解した。

而うして、3日以上たつた血栓に極めて、効力の薄かつた理由を、次の如く述べている。即ち、血栓は、3日目から次第に上皮細胞で覆われ、10日目には組織化され、上皮細胞で被覆される。この上皮化は、繊維素と、循環して居るプラスミンとの間の接触を妨げ、血栓は次第に均等な塊となり、10日目には、血栓の中には、膠質繊維が現われ、終には、プラスミンに依つて、攻撃されない様な状態に成るからであると、説明している。

Moser<sup>61)</sup>に依れば、プラスミン30,000(F.U.)を投与した一群は、繊維素溶解作用は、3時間辺りで最高となり、24時間経過すると、約1/10となり、一方90,000(F.U.)投与した一群では、24時間経過しても、尚作用は、上昇したと述べている。従つて、これよりプラスミンは、極めて早期に、且充分な量を使用すれば、繊維素溶解作用は、強いと云える。

著者の<sup>32</sup>Pを使つた血栓に対するプラスミンの作用も、4日目を頂点とし、各臓器の吸収率較差も、4日目が最高であつた事は、略々、諸家の成績と一致し、此等酵素の作用を、比較検討するに、放射性同位元素、就中、<sup>32</sup>Pを使用した事は、極めて適切であつたと思われる。

尚、プラスミンの力価測定法は、従来、Macfarlane<sup>33)</sup>、Loomis<sup>62)</sup>、Ratnoff<sup>63)</sup>、Ungar、Jodd、畔柳、木村、中村等、種々あるが、本実験では、Loomisに依りきめられた単位を採用した事は、前述の如くである。

## 第5章 結 語

犬及び家兎に、<sup>32</sup>Pを標識せる肺血栓を作成し、トリプシン、プラスミン、ヴァリダーゼを注射、血栓の消失過程を動的に追求し、その効果を比較検討し、次の

結論を得た。

1) 血中の<sup>32</sup>Pの濃度から判断すれば、血栓溶解作用は、プラスミン、トリプシン、ヴァリダーゼの順でプラスミンは、血中放射能は、経過と共に増大、4日目を頂点とする。トリプシン、ヴァリダーゼは、放射能は、日を経るに従い、減少するが、対称と比すれば、減少の度は少い。

2) 各臓器の放射能蓄積率から判断すれば、プラスミンが最も強力で、次いで、トリプシン、ヴァリダーゼの順であつた。各臓器の吸収率較差の和から判断しても、プラスミンは、4日目が最高であつた。

3) トリプシンの短時間追求では、30～45分が最高である。即ち、トリプシンは、急速且短時間であるが、プラスミンは、強力且持続的である。

4) 本実験の、各臓器の放射能蓄積率を、比較すると、<sup>32</sup>Pは、肝、小腸、脾、骨髓、腎、副腎、筋肉、大脳の順であつた。

以上の如く、プラスミン、トリプシン、ヴァリダーゼの、犬及び家兎の血栓に対する効力を、文献的考察を加えて、種々検討した。

尚本研究は、第21回日本血液学会総会並びに、昭和35年第22回日本血液学会総会に於いて、夫々発表したものである。

稿を終るに臨み、終始御懇篤なる御指導御鞭撻を賜つた恩師粟津教授、鶴見助教授、長山講師第2外科教室員各位に、深甚なる謝意を表すると共に、恩師小平教授並びに第1外科教室員各位の御支援御助言に深く感謝の意を表します。

## 参 考 文 献

- 1) Rivanowith, J., & Pines, B.: The effect of heparin in experimentally produced venous thrombus. *Surgery.*, 14, 669, 1953.
- 2) Wright, H. D., Kubik, M. M., and Hayden, M.: Recanalization of thrombosed arteries under anticoagulant therapy. *Brit. M. J.* 1, 1021, 1953.
- 3) Wright, H. D., Kubik, M. M., and Hayden, M.: Influence of anticoagulant administration on rate of recanalization of experimentally thrombosed veins. *Brit. J. Surg.*, 40, 163, 1952.
- 4) 村上元孝・生方茂雄: 血液抗凝固剤の臨床. *内科*, 110, 2, 2, 昭33.
- 5) Dastre, A.: Fibrinolyse dans le Sang. *Arch Physiol.* 5, 661, 1893.
- 6) Astrup, T.: Fibrinolysis in the organism. *Blood*, 11, 781-806, 1956.
- 7) Müllertz, S. & Lassen, M.: An activator

- system in blood indispensable for formation of plasmin by streptokinase. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.*, 82, 264, 1953.
- 8) L. Kryle, C. Arnoldi, & H.S. Kupperman.: The therapeutic effectiveness of trypsin in the treatment of thrombophlebitis.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 68 (1), 178, 1957.
  - 9) Innerfield, I., A. Angrist, & A. Schwarz.: Parenteral administration of trypsin.: Clinical effect in 538 patients. *J. Am. Med. Assoc.*, 152, 597, 1953.
  - 10) Innerfield, I.: Intramuscular trypsin in thromboembolism. *Clin. Research Proc.* 2, 35, 1954.
  - 11) Taylor, A. Overman, R. S. & Wright, I. S.: Studies with crystalline trypsin: Results and hazards of intravenous administration and its postulated role in blood coagulation. *J. A. M. A.* 155, 347, 1954.
  - 12) Innerfield, I., Schwarz, A. and Angrist, A.: Intravenous trypsin: its anticoagulant fibrinolytic and thrombolytic effects.: *J. Clin. Invest.* 31, 1049, 1952. |
  - 13) Sherry, S., Troll, W. and Gottesman, L.: Studies on the action of intravenously administered trypsin.: *J. Lab. & Clin. Med.*, 40, 942, 1952.
  - 14) Innerfield, I., A. Angrist. & J. W. Benjamin.: Plasma antithrombin patterns in disturbance of the pancreas.: *Gastroenterology.* 19, 843, 1951.
  - 15) Kryle, L. S., E. Calvelli, D. Bonham & H. S. Kupperman.: Clinical studies of the use of parenteral trypsin and chymotrypsin in peripheral vascular disease.: *Angiology.* 7, 287, 1956.
  - 16) Villamil, M. F. & P. Becherman.: Treatment of phlebothrombosis and its sequelae with intraarterial trypsin. *Angiology.* 7, 179, 1956.
  - 17) Hechter, O.: Mechanisms of spreading factor action.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 52(7) 1028, 1950.
  - 18) Lewis, J. H., and Ferguson, J. H.: Studies on a proteolytic enzyme system of the blood: V. activation of profibrinolytin by trypsin.: *Am. J. Physiol.* 170, 636, 1952.
  - 19) Unger, G. & E. Damgaard.: Studies on the fibrinolysin-antifibrinolysin system in serum. (Activation of the anterior pituitary adrenal cortex and spleen).: *J. Exptl. Med.*, 98, 89, 1951.
  - 20) Stefanni, M.: Mechanism of blood coagulation in normal and pathologic conditions.: *Am. J. Med.* 14, 64, 1953.
  - 21) Jackson, H.D.&E.T. Murtz.: Activation of bovine plasminogen by trypsin.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 86, 821, 1954.
  - 22) Johnson, A. J. & W. S. Tillett.: The lysis in rabbits of intravascular blood clots by the streptococcal fibrinolytic system (streptokinase).: *J. Exptl. Med.* 95, 449, 1952.
  - 23) Sherry, S., A. Titchener, L. Gottesman, P. Wasserman & W. Troll.: The enzymatic dissolution of experimental arterial thrombi in dog by trypsin, Chymotrypsin and plasminogen activators.: *J. Clin. Invest.* 33, 1303, 1954.
  - 24) Johnson, A. J., A. P. Fletcher, W. R. McCarty & W. S. Tillett.: The intravascular use of streptokinase.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 68(1), 201, 1957.
  - 25) Tillett, W. S., A. J. Johnson & W. R. McCarty.: The intravenous infusion of the streptococcal fibrinolytic principle (Streptokinase) into patients.: *J. Clin. Invest.* 34, 169, 1955.
  - 26) Miller, J. M., J. A. Surmonte, M. Ginsberg & F. B. Ablondi.: Clinical experience with the injection of streptokinase intramuscularly in the treatment of infection and edema.: *Maryland State Med. J.*, 4, 188-193, 1955.
  - 27) Clifton, E. E. & C. E. Grossi.: In vivo studies of human plasmin. Intravenous injection in dogs and rabbits.: *J. Appl. Physiol.* 9, 143, 1953.
  - 28) Grossi, C. E., E. E. Clifton & D. A. Cannamela.: The lysis of intravascular thrombi in rabbits with human plasmin (fibrinolysin).: *Blood*, 9, 310, 1954.
  - 29) Müllertz, S.: Activation of plasminogen., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 68 (1), 38, 1957.
  - 30) Cohn, E. I., L. E. Strong, W. L. Hughes, Jr., D. J. Mulford, J. N. Ashworth, M. Melin & H. L. Taylor.: Preparation and properties of serum and plasma proteins. (A System for the separation into fractions of the proteins and lipoproteins components of biological tissues and fluids).: *J. Am. Chem. Soc.*, 68, 459, 1946.
  - 31) Remmerts, L. F. & P. P. Cohen.: Partial purification and properties of a proteolytic enzyme of human serum.: *J. Biol. Chem.* 181, 431, 1949.
  - 32) Christensen, L. R. & D. H. Smith.: Plasminogen purification by the acid extraction.: *Proc. Soc. exptl. Biol. Med.* 74, 840, 1950.

- 33) Macfarlane, R. G. & Pilling : Observations on fibrinolysis, plasminogen, plasmin and antiplasmin contents of human blood : *Lancet*. 2, 562~565, oct. 1946.
- 34) Macfarlane, R. G. & Biggs, R. : Observation fibrinolysis : Spontane activity associated with surgical operation, trauma etc. : *Lancet* 2, 862, 1946.
- 35) 金山良仁 : 婦人科疾患に於ける纖維素溶解酵素に関する研究 : 東北医学, 56 (4), 462, 昭32.
- 36) 豊田健一 : 蛋白質溶解酵素の活性に関する研究 : 日新医学, 37, 7, 昭25.
- 37) Biggs, R., Macfarlane R. G. & Pilling : Observation on fibrinolysis. Experimental activity produced by exercise or adrenalin: *Lancet* 1, 402, 1947.
- 38) 高木寛 : 外科的侵襲によるプラスミン及抑制因子の変動についての臨床的研究 : 日外宝, 28, 2, 昭34.
- 39) 日下部英之 : 各組織内に於ける  $^{32}\text{P}$  の分布特に幼若の差に就いて : 医学放射線会誌, 13, 8, 522, 昭28.
- 40) 秋山吉照 :  $^{32}\text{P}$  組織内分布に依る動脈注射の実験的研究 : 久留米大学誌, 16, 9, 1130, 昭29.
- 41) Cohn, W. E. and Greenberg, D. M. : Studies in mineral metabolism with the aid of artificial radioactive isotopes : *J. Biol. Chem.* 123, 185, 1938.
- 42) Manly, M. L. and Bale, W. F. : The metabolism of inorganic phosphorus of rat bones and teeth as indicated by the radioactive isotope : *J. Biol. Chem.*, 129, 125, 1939.
- 43) 倉光・秋山 : 放射性燐  $^{32}\text{P}$  の体内分布に関する実験的研究 : 医療, 8, 9, 527, 1954,
- 44) 加藤暎一 : 放射性燐  $^{32}\text{P}$  に依る燐代謝の実験的研究, 燐の吸収, 組織内分布及び排泄 : 慶応医学, 32, 1, 21, 1955.
- 45) 大森・加藤・山下 : 放射性燐  $^{32}\text{P}$  を用いて, 燐の吸収分布排泄に関する実験的研究 : 日本消化機病学会誌, 51, 91, 昭29.
- 46) Erf, L. A., J. H. Lawrence : Clinical studies with acid of radioactive phosphorus. 1. The absorption and distribution of radiophosphorus in the blood and its excretion by normal individuals and patients with Leukemia : *J. Clin. Invest.* 20, 567, 1941.
- 47) Erf, L. A., L. W. Tuttle and J. H. Lawrence : Clinical studies with the acid of radiophosphorus. IV. The retention in blood, the excretion and the therapeutic effect of radiophosphorus on Patient with Leukemia : *Ann. Inn. Med.*, 15, No. 3, 1941.
- 48) Low-Beer, B. V. A. : 放射性アイソトープ, 診断と治療社, 418p. より引用.
- 49) 倉光・木下・中島 : 放射性燐の体内分布に関する実験的研究. 日本放射線学会誌, 13, 5, 522, 昭28.
- 50) 山下・倉光・木下 : 医学的アイソトープの研究の実際 : 治療, 34, 574, 658, 1952.
- 51) 笹本・細野 : 放射性アイソトープ, 循環血液量の測定 : 診断と治療社.
- 52) Nylin, G. and Hedlund, S. : Further studies of the circulation with radioactive erythrocytes. *Am Heart J.*, 37, 543, 1949.
- 53) 粟津三郎他 : 末梢循環障害に対するトリプシンの非経口的投与について : 新薬と臨床, 8, 4, 昭34.
- 54) Sherry, S., N. Alkjaersig. : Biological, experimental and clinical studies of proteolytic enzymes : with particular reference to the fibrinolytic enzyme of human plasma : *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 68 (1), 1957.
- 55) Clifton, E. E. & D. A. Canamela : Proteolytic and fibrinolytic activity of serum : *Blood.*, 8, 554, 1953.
- 56) Fishman, J. B. & Kline, D. D. : Isolation of partially purified human plasmin (fibrinolysin.) : *Proc. Soc. Exp. Biol. & Med.*, 19, 323, 1956.
- 57) Clifton, E. E., Grossi, C. E. & Canamela, D.A. : Lysis of thrombi produced by sodium morrhuate in the femoral vein of dogs by human plasmin (fibrinolysin). : *Ann. Sug.*, 139, 52, 1954.
- 58) Ambrus, J. L., C. M. Ambrus, N. Back, J. E. Sokal & G. L. Collins. : Clinical and experimental studies on fibrinolytic enzymes. : *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 68(1), 97, 1957.
- 59) Back, N., Ambrus, J. L., Goldstein, S., and Harrison, J. W. E. : In vivo fibrinolytic activity and pharmacology of various plasmin preparations. : *Circulation Research*, 4, 440, 1956.
- 60) Kline, D. L. : Studies on the purification and aktivation of plasminogen (profibrinolysin.) : *Yale J. Biol. and Med.* 26, 365, 1954.
- 61) Moser, K. M. : Effect of intravenous administration of fibrinolysin(plasmin)in man. : *Circulation.* 20(1), 55, 1959.
- 62) Loomis, F. C., George, C. J. & Ryder, A. : Fibrinolysin : Nomenclature, Unit, assay, preparation and properties. : *Arch. Biochem* 12, 1, 1947.
- 63) Ratnoff, O. D. : Studies on a proteolytic enzyme in human plasma : *J. exp. med.*, 87, 199, 1948.