

侵襲による尿中の Plasminogen activator 及び Trypsin inhibitor に関する研究

1. 手術の影響
2. 脱血ショックの影響
3. Reilly 現象の影響

東邦大学医学部第2外科教室（指導：粟津三郎教授）

小 野 久 弥

〔原稿受付 昭和39年5月14日〕

Studies on the Influence of Surgical Procedure upon the Plasminogen Activator and Trypsin Inhibitor in Urine

- (1) Influence of Operative Procedure
- (2) Influence of Bleeding Shock
- (3) Influence of REILLY'S Phenomen

By

HISAYA ONO

From 2nd Clinic of Surgery, School of Medicine, Toho University
(Director : Prof. Dr. SABURO AWAZU)

The changes of plasminogen activator and trypsin inhibitor in urine were estimated by the heated fibrin plate method in human individuals given a surgical procedure, in dogs procedured by the experimental bleeding shock and in rabbits stimulated by REILLY's phenomen. The following results were obtained;

(1) In human individuals, urine plasmin was proved in neither normal condition nor in postsurgical procedure.

(2) Plasminogen activator in human urine showed the tendency to increase more stronger in postoperative procedures than preoperative ones.

(3) In the urine of the dogs, produced by the experimental bleeding shock, plasminogen activator seemed to be more stronger in the condition of post bleeding shock than that of prebleeding shock.

(4) In the urine of the rabbits, stimulated by REILLY's phenomen than in that of pre REILLY's phenomen.

(5) Trypsin inhibitor had no tendency in the urine of normal human individuals, dogs and rabbits.

(6) There were no differences between the experimental stimuli and the operative procedures on the increase of plasminogen activator.

目 次

第1章 緒 言

第2章 実験方法

I 実験材料

- a) 手術侵襲前後尿
- b) 脱血ショック前後の犬尿
- c) Reilly 現象前後の家兔尿

II 実験方法

- a) 尿中より Plasminogen activator と Trypsin inhibitor 抽出法
- b) Fibrinogen 作製法
- c) Heated fibrin plate 作製法

III 測定方法

第3章 実験成績

I 手術侵襲前後の尿中 Plasminogen activator 及び Trypsin inhibitor

II 犬の脱血ショック前後の尿中 Plasminogen activator 及び Trypsin inhibitor

III 家兔の Reilly 現象前後の尿中 Plasminogen activator 及び Trypsin inhibitor

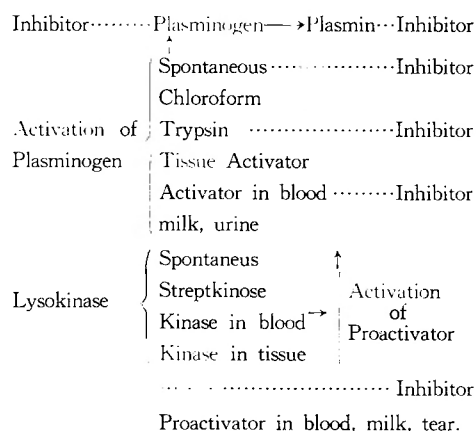
第4章 総括並びに考按

第5章 結 論

第1章 緒 言

最近に至る麻酔学の急速な進歩はこれまで不可能と思われた分野にまで外科的処置が拡大され、それに伴って体外循環、人工臓器の使用が発達し、長時間に亘る手術が可能となり、この手術侵襲の増大は二次的に出血の増大を惹起し、更に出血ショックに対する大量輸血、輸液の問題を提示し副作用としての出血傾向の増大をまねいた。この出血傾向に対する処置には多くの臨床家は非常な困難を来たしている。この際の出血傾向は Fibrinolysis による場合が多いと認められている。Fibrinolysis が起こる事は1887年 Green が発見し、1893年 Dastre¹⁾ が実験的に犬に大出血を起こさせ、Green が発見した現象を認め、Fibrinolysis の存在をのべ、初めてその名称を得た。その後幾多の研究を経て、1936年 Macfarlane により外科手術後、また外傷後に一過性に Fibrinolysis を来す事を臨床上認めている。出血ショックの際に Fibrinolysis を来す事は Tagnon³⁾ が証明している。1906年 Moravitz⁴⁾ は

交通事故で突然死亡した場合 Fibrinolysis が増大するという報告をして以来、この様に身体の病的状態の場合にのみ発現するばかりではなく、種々の激しい肉体的運動⁵⁾⁶⁾、ヒスタミン⁵⁾、アドレナリン⁵⁾の注射時、その他種々の疾患に際して Plasmin の増加する事が解明されて来た。これらの原因はアドレナリンの分泌によるものであらうと考えられており²⁾、アドレナリンを生体に注射した時には正常においても Fibrinolysis を起こす事が認められている。この様に多種多様の Stress により Fibrinolysis が起こる事が分り、その原因についての究明がいろいろなされて来た。しかし、Plasmin を純粋な形で測定する事が困難なために充分に究明されていない点が多い。Astrup 等¹¹⁾¹²⁾¹³⁾ は Plasmin 系の構成について次の様な模型図を記載している。



この Plasminogen は血漿中に常に存在し、直接 Fibrinolytic Activity を示さないが、Proactivator が Lysokinase により activate されて、Activator となり、Activator により Plasminogen が Plasmin に活性化されて Fibrinolysis を示す様になると考えられている。生体に Alarm reaction を起こし、副腎よりのアドレナリンの生成、排出、及びその他の自律神経系、内分泌系の変調により臓器中の Tissue-lysokinase が遊離して血液の中に入り、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 Generalprocess と称すべきものと、臓器の Activator が直接血液中の Plasminogen に作用して、Plasmin に変化する Localprocess

と、更に spontane に Plasminogen が Plasmin に変化する過程が加わつて Fibrinolysis という現象を示すものと考えられる。この様に血液中の Plasmin 系に関しては殆ど解明されるに至つた。また一方組織中にも Plasmin, Plasminogen Activator および抑制的に作用する Inhibitor 等の存在が報告されている。

更に尿中では1947年 Macfarlane, Pilling¹⁷⁾ によつて正常人尿の Fibrinolytic Activity についての報告がある。その後多くの研究がなされ、1955年 Astrup, Sterndorff⁽⁸⁾²⁰⁾ は正常人の尿中には Plasmin は存在しないが、Plasminogen Activator と共にこれに相反する Inhibitor を発見し、正常人の尿中には大量の Plasminogen Activator と、少量の Trypsin Inhibitor を含んでいると報告している。更に癌、Virus 性疾患、肺結核の時には増加は見られないが、ブドウ球菌による感染症、レンサ球菌による感染症及びリウマチ熱の時にはショック時と同様 Plasminogen Activator, Trypsin Inhibitor の増加を認めたとの Macfarlane, Astrup 等々幾多¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾ の研究報告がある。しかし外科的侵襲の際の尿中の Plasminogen Activator 及び Trypsin Inhibitor の変動に関する研究は未だ認められない。よつて著者は臨床的に比較的侵襲の大きな手術前後における、尿中のこれ等の変動を検査した。また人間における手術は実際の器質的損傷、及び精神的刺激及び麻酔による影響をふくんでいるので単なる刺激による尿中のこれ等の変化を見るために、家兎によつて、Reilly 現象を惹起し、その際の尿中の変化をしらべ、また器質的損傷を伴う重症ショックの際のこれ等を検査する目的で犬における出血性ショックの際の尿中の変化を検べた。

その検査方法においても Fibrinolysis に対する考え方の変遷と共に多くの方法がある。即ち希釈法として Macfarlane の法、およびその変法³¹⁾、Unger の法、Loomis の法²⁹⁾、Lewis³²⁾の法、Euglobinlisis³³⁾³⁴⁾による法、Viscosimetry²⁵⁾²⁶⁾³⁵⁾による法等々があつたが、Astrup は Fibrinogen を使用し、Fibrin plate を作り、それに検体をのせ、溶解面積を測定し、Fibrinolytic activity を測定する Heated fibrin plate method²²⁾²³⁾ を考案した。著者もこの方法を使用した。

第2章 実験方法

Ⅰ 実験材料

a) 手術侵襲の比較的 多く加わる胃癌、胃潰瘍、肺結核、イレウス等の手術直前尿、及び術後第1回排

尿の尿について表1に示す様な疾患の尿を対照とした。

表 1

No.	病 名	性	腎機能	蛋白	ウロビリノーゲン	沈 渣
1	胃潰瘍	♂	正常	(-)	(+)	R(-) W(-)
2	"	"	"	"	"	R(-) W3/全
3	"	"	"	"	"	R(-) W 1/1
4	"	"	"	"	"	R(-) W 1/1
5	"	"	"	"	(+)	R(-) W8/全
6	12指腸潰瘍	"	"	"	(+)	R(-) W5/全
7	"	"	"	"	"	R(-) W1/全
8	胃 炎	"	"	(+)	"	R/1数 W1/数
9	胃 癌	"	"	Spur	(+)	R(-) W1-2/1
10	"	"	"	(+)	(+)	R(-) W1/数
11	"	"	"	(+)	"	R2/全 W10/全
12	"	"	"	Spur	"	"
13	肺結核	"	"	(-)	"	R(-) W1-2/1
14	"	♀	"	"	"	R3-4全 W3-4全
15	"	♂	"	"	"	R(-) W 2/1
16	"	"	"	"	"	"
17	"	♀	"	"	"	R3-4全 W1/全
18	イレウス	"	"	Spur	(+)	R1/全 W3-4/1
19	"	"	"	"	(+)	"
20	"	♂	"	(+)	(+)	R1/全 W10/全
21	腸結核	♀	"	Spur	"	R10/全 W10/全
22	肝出血	"	"	(+)	(+)	R10/全 W10/全
23	胃 炎	♂	"	"	(+)	R(-) W1/1

b) 犬の脱血ショック惹起法、及び採尿方法、体重 8 kg 前後の成犬を使用し、ラボナール麻酔のもとに気管内チューブを挿入し、補助呼吸をしつつ充分な酸素を与え、両側股動脈を露出し、一側に水銀血圧計を接続せしめ、他側股動脈より脱血し、股動脈圧 25~30 mmHg を目標にして脱血し、約 30 分間ショック状態を維持し、ショック前尿、及びショック後尿として導尿により採尿した。この際導尿による尿道、及び膀胱の損傷をさけるべく出来るだけ細く、軟いネラトンカテーテルを使用した。

c) Reilly 現象惹起法、及び採尿方法、非麻酔下に行なう。家兎の指爪に電気焼灼器で溝を作り、絹糸にて四肢を固定した。(図1)これは駆血帯ショックを避ける意味である。この様に固定した後、導尿により採取した尿を前尿とする。頸静脈囊作製法は一側の外頸静脈を露出して、約 3 cm 位の袋になる様に中樞側及び末梢側を結紮する。同時にすべての副血行枝をも

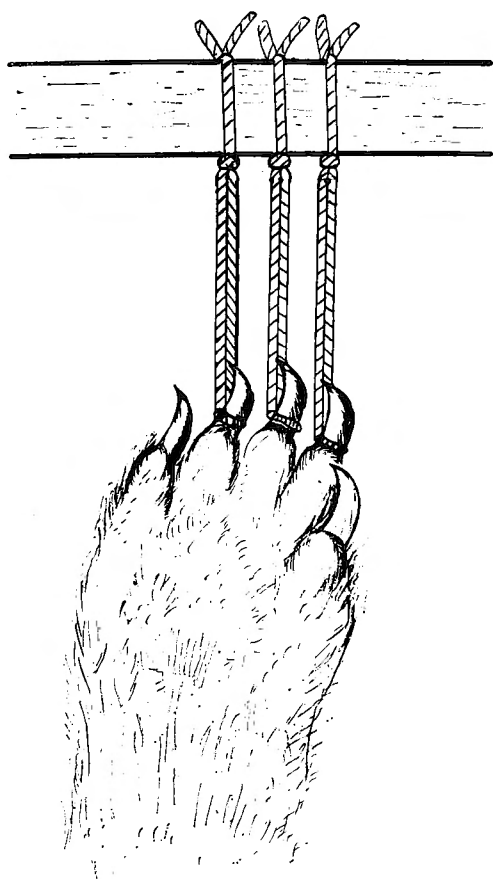


図1 家兎の四肢固定法

結紮して、囊内の血液を充分吸引後、100倍クロトン油を約1~1.5cc 囊内に注入し、充分なる血管壁緊張を得たならば第3の結紮をし、囊を作製する。(図2) 尚原法では囊内に注入するクロトン油は500倍であるが、著者は刺激を強めるべく100倍のものを使用した。注入後1時間、2時間、24時間後の尿を夫々導尿により採取した。

d) Thrombin, Trypsin: 持田製薬会社のものを使用した。

e) Plasminogen: 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。

f) Fibrinogen: 後述する様に牛血より塩析法により作り、Heated fibrim plate method として使用した。

II 実験方法

a) 尿中の Plasminogen Activator および Trypsin Inhibitor 抽出法。(被検液)

Astrup, Sterndorff⁸⁾の方法で Activator および Inhibitor を分離した。即ち前述した様にして採取した新鮮尿10ccに苛性ソーダ液を加えて中性にする。これに3倍量の0℃エタノールを加え、15分間室温で遠心沈澱し、沈澱に0.9%食塩水を1cc加えて溶解し、この溶液を0.9%食塩水にて0℃一昼夜透析する。透析後小さな沈澱物は濾過し、完全に除去する。この溶液をpH 7.6に補正し、0.2MのPhosphate Buffer (pH 7.6)を加え0.01M溶液にし、更にこの溶液に60mg/cc

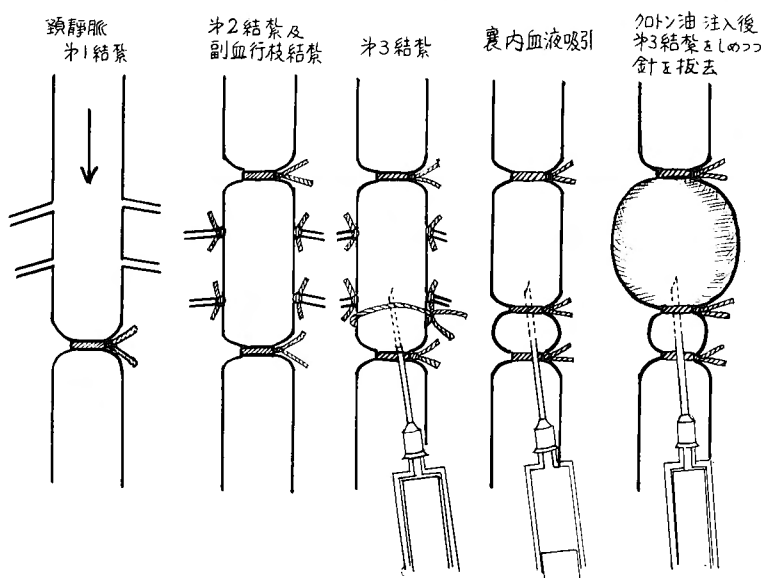


図2 頸静脈囊作成法

の第三磷酸カルシウムを加え、45分間攪拌し、充分に Activator を吸着させた後、遠心沈澱し、この沈澱を 0.01 M の Phosphate Buffer で洗滌した後、0.2 M の Phosphate Buffer を加え、30分間攪拌した後遠沈し、上清を Activator の被検液とした。また前述の第三磷酸カルシウムを加え、遠沈した時の上清を更に 100 °C 30 分間加熱し、充分に Activator を破壊させて、pH 3.0 に調整したものが Inhibitor の被検液である。

b) Fibrinogen 抽出法¹⁴⁾

屠殺場より採取して来た 1/10 量の 1/10 M オキサレート加牛血液を 3000 回転 15 分間 0 °C で遠心沈澱して血漿を分離する。この採取した血漿をあらかじめ硫酸バリウム 50 g を入れた容器内にピペットで静かに注入し、15分間気泡を立てない様に静かに攪拌して、Prothrombin 及び凝固促進因子等を吸着除去した後、0 °C 3000 回転 15 分間遠沈する。次いでこの血漿に同量の 0 °C 蒸留水を加え、更に 2/3 血漿量の 0 °C 飽和硫酸アンモニウムを加える。この際ガラス棒で泡が立たないように攪拌する。これを更に室温で 3000 回転約 7 分間遠沈し、この沈澱に原血漿量の 1/2 の生食水を加え、ガラス棒で良く溶解した後、更に原血漿量の 0 °C 蒸留水を加え、これに更に全体の 1/3 量の 0 °C 飽和硫酸アンモニウムを加え、室温で 3000 回転 7 分間前と同様に遠沈する。この沈澱を pH 7.6 の Veronal Buffer に溶解し、凍結して保存する。

この Fibrinogen は使用に際して室温で融解し、その 1 cc をとり、ガラス棒で攪拌しながら Thrombin 液を滴下し、完全に Fibrin を析出させ、37 °C 30 分間放置し、更に Fibrin が析出しないことを確かめた後、洗滌、脱水、乾燥して Torsion balance でその濃度をしらべ、0.15% の濃度にして使用した。

c) Heated fibrin plate 作製法

0.15% Fibrinogen 液 9 cc を直径 9 cm のベトリシャーレに入れ、Thrombin 83 u/cc を 0.2 cc 宛加え、攪拌しながら水平に凝固させ、これを 1 時間放置したのち、85 °C 30 分間加熱し、充分に Plasminogen および Plasmin を除去した。これが heated fibrin plate である。

III 測定方法

Activator

Plasminogen Activator は直接判定不可能なため、被検液に Plasminogen を加え Plasminogen を活性化して、Plasmin とし、その力価を測定した。即ち被検液に 1 cc 中 12.5 mg の Plasminogen を含む溶液を等

量加えたもの、生理的食塩水に Plasminogen を加えたものを、夫々同じ Plate に滴下し、37 °C 10 時間放置し、溶解面の長径、短径の積をもつてその面積を表わした。

Inhibitor

被検液に 128 u/cc の Trypsin を含む溶液を等量加えたもの、生理的食塩水に Trypsin を加えたものを、夫々同じ Plate に滴下し、37 °C 10 時間放置した時の溶解面積を調べた。

いずれの場合でも各 Plate ごとに 128 u/cc の Trypsin 溶液を 0.03 cc 滴下し、その溶解面積を 100 とし、標準として、これに対する溶解面積を百分率で表わした。尚原法では 37 °C 18 時間後に測定しているが、著者の行なつた結果では Plasminogen を使用し、これが大体 10 時間後に自然活性化するために、この影響をさけるべく 10 時間後に測定した。一応測定に際しその都度 Plasminogen の対照を滴下して、その自然活性化の起こっていないことを確かめた後測定した。この理由は Fibrin plate の力価が製造の都度異なるためで、絶対値では比較が困難なためである。

第3章 実験成績

I 正常人尿及び手術侵襲前後尿

(1) Plasminogen Activator

正常人尿においても手術後尿においても Plasmin はみとめられない。これは Astrup その他数多くの研究者⁸⁾¹⁷⁾¹⁸⁾¹⁹⁾²⁰⁾によりすでに報告されていることである。著者も尿そのまま、また前述した様な方法で得られた Activator そのままを滴下した場合には heated fibrin plate の溶解が起こらない。従つてこの方法では Plasmin はみとめられない。次に正常人の尿中 Plasminogen Activator を表わしたものが表 2 であり、20 例中 16 例 (80%) に Plasminogen Activator がみとめられ、4 例にはみとめられなかつた。また表 1 に示す様な疾患の手術前後尿について調べた結果を表わしたものが表 3 であり、23 例中術後に増加しているものが 19 例、逆に減少しているものは 4 例にすぎない。平均増加率は 1.40 倍で、Trypsin % に換算して手術前が 73.53%、手術後が 97.33% であり、明らかに手術後に増加しているものが多いことが分る。

(2) Trypsin Inhibitor

先に述べた様に Astrup は正常人尿には少量の Trypsin Inhibitor が存在するという事を述べているが、著者は正常人尿および手術前後尿の Trypsin Inhibitor

表2 Plasminogen Activator : (溶解面積Trypsin%)

No.	正	常	No.	正	常
1	33.0		11	66.0	
2	12.4		12	19.6	
3	26.6		13	71.6	
4	12.4		14	0	
5	16.6		15	33.6	
6	16.8		16	21.6	
7	9.6		17	9.2	
8	0		18	16.6	
9	51.4		19	0	
10	0		20	20.6	

表3 Plasminogen Activator : 人
(溶解面積 Trypsin %)

No.	術 前	術 後	後/前
1	81.0	95.0	1.17
2	143.0	162.5	1.13
3	45.0	100.0	2.19
4	81.0	132.0	1.63
5	72.3	103.5	1.43
6	72.3	110.3	1.53
7	81.0	110.0	1.36
8	88.0	80.0	0.91
9	72.0	120.0	1.63
10	130.0	169.0	1.30
11	59.5	66.5	1.12
12	30.3	52.0	1.72
13	72.0	85.5	1.19
14	42.0	45.5	1.09
15	115.0	105.0	0.92
16	56.3	89.3	1.57
17	80.8	132.3	2.79
18	39.0	42.0	1.06
19	16.0	28.8	1.70
20	99.0	90.3	0.91
21	81.0	95.0	1.17
22	72.0	68.0	0.94
23	81.0	156.3	1.93
平 均	75.5	97.3	1.40
± 標準偏差			± 0.50

表4 Trypsin Inhibitor : 人(溶解面積 Trypsin%)

No.	正	常	No.	正	常
1	0		11	82.2	
2	22.2		12	20.2	
3	14.2		13	61.6	
4	22.2		14	79.0	
5	43.0		15	70.2	
6	41.2		16	61.6	
7	43.0		17	0	
8	0		18	0	
9	83.4		19	7.4	
10	64.0		20	0	

表5 TrypsinInhibitor : 人(溶解面積 Trypsin%)

No.	術 前	術 後	後/前
1	213.5	100.0	0.46
2	70.0	108.0	1.06
3	168.0	110.0	0.65
4	40.0	49.0	1.25
5	63.0	48.0	0.76
6	196.0	112.0	0.57
7	182.0	115.5	0.64
8	49.0	52.5	1.71
9	12.0	15.0	1.25
10	76.5	154.0	2.01
11	165.0	195.0	1.12
12	45.5	36.0	0.70
13	91.5	81.0	0.86
14	342.0	126.0	0.37
15	42.0	52.0	1.23
16	63.0	49.0	0.78
17	196.0	552.0	2.82
18	114.0	126.5	1.11
19	112.5	100.0	0.88
平 均	112.0	121.4	1.03
± 標準偏差			± 0.58

の存在は明らかであると思われる。次に手術前後の増減傾向を表わしたものが表5であり、19例中10例においてその増加が見られ9例が減少している様にはほぼ半数において増加しているのみで平均増率も1.03倍で僅少である。この結果では手術前後の間に一定の傾向が見られるとはいえない。

II 犬の実験的脱血ショック前後尿

について検べた結果、表4に示す様になり正常人尿においては20例中15例、即ち70%にその存在をみとめ、5例にはみとめられなかつたが、Activatorと同様そ

(1) Plasminogen Activator

人尿の場合と全く同じ方法で測定した結果、犬尿においても Plasmin の存在はみられない。脱血ショック前後尿についての増減を比較したものが表6であり、ショック後に増加しているものは10例中7例、減少しているものは2例にすぎない、残りの1例は全くショック前後に差はなかつたが、70%は増加しており、平均増加率は1.21倍で、Trypsin % で換算するとショック前は103.08%、ショック後は118.78%である。これは脱血ショックにより Plasminogen Activator が増加したものと考えられる。

(2) Trypsin Inhibitor

表7に示す様に10例中6例は脱血ショック後にその

表6 Plasminogen Activator : 犬
(溶解面積 Trypsin%)

No.	ショック前	ショック後	後/前
1	138.8	195.0	1.36
2	185.0	201.0	1.07
3	168.0	106.3	0.63
4	110.0	190.0	1.73
5	27.5	45.5	1.65
6	67.5	90.0	1.33
7	63.0	76.0	1.21
8	85.5	105.0	1.23
9	81.0	81.0	1.00
10	104.5	95.0	0.91
平均	103.0	118.7	1.21
標準偏差			0.28

表7 Trypsin Inhibitor : 犬(溶解面積 Trypsin%)

No.	ショック前	ショック後	後/前
1	140.0	81.0	0.58
2	168.0	182.0	1.08
3	221.0	156.0	0.76
4	140.0	210.0	1.50
5	67.5	90.0	1.33
6	110.0	95.0	0.89
7	201.5	330.0	1.64
8	240.0	210.0	0.86
9	200.0	174.0	0.87
10	99.0	85.0	0.95
平均	157.8	161.3	1.04
標準偏差			0.34

増加が見られ、4例においては減少が見られる。平均増加率も1.04倍であり、非常に僅かである。Trypsin % に換算するとショック前は157.8%で、ショック後は161.3%であり、明らかにショック前後の増減傾向は人間における手術侵襲前後尿が示した結果と同様に有意の差は見られない。

III Reilly 現象前後における家兎尿

(1) Plasminogen Activator

人尿と同様に正常家兎尿においても Reilly 現象の対照として家兎の頸部のみを切開した時の尿中には Plasmin は存在しない。次に Reilly 現象後の Plasminogen Activator の時間的増加率を Trypsin indicator を基準とした百分率で表わしたものが表8、図3である。Reilly 現象前に比較し、1時間後に増加しているものが15例中13例(83%)、減少しているものが2例であり、2時間後には同じく15例中13例(88%)増加し、減少しているもの2例である。更に24時間後のものは13例中7例に増加が見られ、6例は減少していて増加しているものと減少しているものは半数をしめしている。残りの2例は原因不明であるが死亡したものである。

図3の実線は増加率の平均値を表わしたもので平均増加率は Reilly 現象前に比較して1時間後のものは1.41倍、2時間後のものは1.76倍、24時間後のものは1.11倍で、2時間後に最高値を示している。これは Reilly 現象が1~2時間後に最も強く現われることを考え併せれば充分考えられる結果である。24時間後のものは現象が回復して来ると同時に尿中の Plasminogen Activator も現象前の値に近づきつつある傾向を示している。

(3) Trypsin Inhibitor

表9、図4は Reilly 現象前後の時間的増加率を百分率で表わしたものであるが、1時間後のもの、2時間後のもの、24時間後のものはそれぞれほぼ半数において増加および減少が見られ、それらの間には全く一定の傾向を見出し得ない。

第4章 総括並びに考按

蛋白溶解酵素系の反応は非常に複雑な過程をたどると同時に、またその測定方法も数多くあり、Macfalanの方法およびその変法、Loomisの方法、Lewisの方法、Viscosimetryによる方法、Heated fibrin plate method 等あるが、最近特に Astrup、Müllertz により認められた Heated fibrin plate method が他の方法に比較

表 8 Plasminogen Activator 家兎 (溶解面積 Trypsin%)

No.	前	1時間後	後/前	2時間後	後/前	24時間後	後/前
1	72.0	118.8	1.16	133.9	1.85	25.2	0.35
2	42.0	50.8	1.20	111.7	2.65	79.8	1.90
3	65.0	71.1	1.14	112.4	1.72	111.4	1.76
4	80.8	118.2	1.45	203.6	2.51		
5	98.0	188.1	1.92	240.1	2.45	122.5	1.25
6	81.0	155.5	1.91	188.7	2.32	16.5	0.20
7	130.0	145.6	1.12	65.0	0.50	72.8	0.56
8	72.3	41.8	0.62	102.6	1.41	117.1	1.61
9	88.0	99.4	1.12	167.2	1.90	167.2	1.90
10	88.0	109.1	1.23	167.2	1.90		
11	50.3	28.1	0.55	12.0	0.23	23.1	0.45
12	81.0	143.1	1.76	147.4	1.81	155.5	1.91
13	85.5	111.4	1.30	150.4	1.75	20.5	0.24
14	95.0	155.8	1.64	171.8	1.84	196.5	2.06
15	65.0	97.5	1.50	100.1	1.54	18.2	0.28
平均 ± 標準偏差	79.5	109.3	1.31 ± 0.36	138.5	1.75 ± 0.51	86.8	1.11 ± 0.70

表 9 Trypsin Inhibitor : 家兎 (溶解面積 Trypsin%)

No.	前	1時間後	後/前	2時間後	後/前	24時間後	後/前
1	76.5	29.0	0.37	61.2	0.80	38.2	0.49
2	196.5	212.2	1.07	169.0	0.86	373.3	1.89
3	63.0	128.5	2.03	157.5	2.50		
4	49.0	73.5	1.50	108.7	2.21		
5	81.0	32.4	0.40	127.4	1.57	166.0	2.04
6	36.0	35.2	0.97	68.4	1.90	98.0	2.72
7	154.0	184.8	1.20	46.2	0.30	40.0	0.25
8	165.0	288.7	1.74	173.2	1.05	69.3	0.42
9	108.0	21.6	0.20	127.4	1.17	127.4	1.17
10	182.0	298.4	1.63	422.2	2.31		
11	126.0	63.0	0.50	108.3	0.85	79.1	0.63
12	63.0	50.4	0.80	110.2	1.74	113.4	1.80
13	94.5	183.3	1.93	81.2	0.85	169.9	1.79
14	110.0	305.8	2.77	180.0	1.63	146.0	1.32
15	112.0	151.2	1.35	100.8	0.89	135.5	1.19
平均 ± 標準偏差	107.7	137.2	1.23 ± 0.63	137.8	1.37 ± 0.64	129.6	1.30 ± 0.78

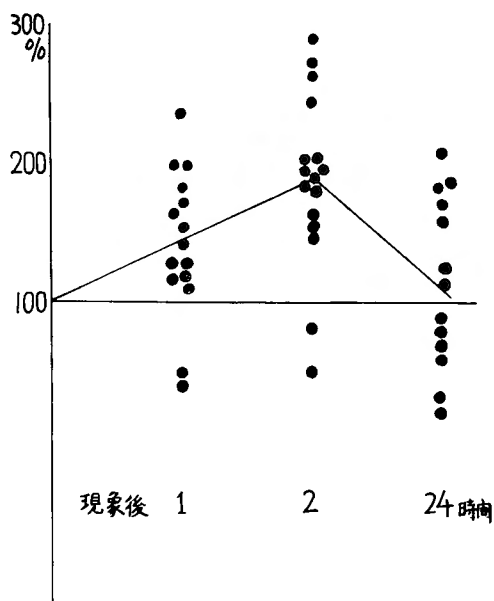


図3 Plasminogen Activator〔家兎〕平均増加率

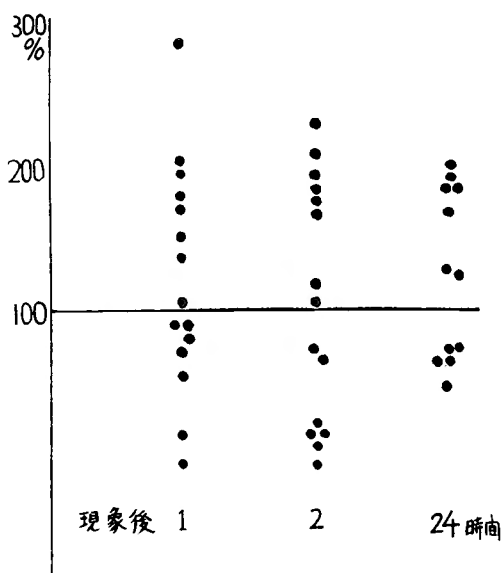


図4 Trypsin Inhibitor〔家兎〕平均増加率

して測定が容易であり、且つ正確である。本法の基質として用いる Fibrin は Casein または合成アミノ酸より比較的体内の条件に近く、Plasmin の作用に対して鋭敏である。また Fibrinogen, Fibrin 中にもどうしても含まれる Plasminogen, Plasmin を 85°C 30 分間加熱することにより、不活性化するために Plasminogen, Plasmin の影響を度外視する事が出来るので甚だ良い方法と思い、著者は特に Heated fibrin plate method を選んだ。

しかし Fibrinolytic Activity の測定の際にその溶解面が正円形にならない場合もままあるために、その長径、短径の積をもつて面積を表わすのに多少の難点がある事は覆いきれないが、現在ではこの方法が最も良い方法であると考え、今回手術侵襲前後の尿、犬の実験的脱血ショック前後の尿、家兎の Reilly 現象前と後の時間的推移についてそれぞれ Plasminogen Activator, Trypsin Inhibitor の変動について調べたが、侵襲は軽度で植物神経刺激の強い Reilly 現象でも、麻酔によつて刺激をさけた侵襲の大きな出血性ショックにおいても手術侵襲においても、同じ様に Activator の増加をみとめた。Inhibitor は変化がなかったがこの事に関しては今後の研究を行なはなければならない。

I 近來麻酔学の急速なる進歩と共に手術時間の延

長が容易となり、その結果手術侵襲の増大する事は明らかであり、またその手術に必然的に含まれる基礎麻酔、即ちアトロピン、モルヒネ、その他薬剤の投与による血中 Activity の増加は他家により報告されているが、尿中におけるものは少なく、本邦においては未だその報告を見ていない。手術中の輸血、輸液の問題も手術に対しては必要かくべからざるものであり、その他各種の Stress が加味されるが、これらを含めての手術侵襲において手術前後の Plasmin 系を調べると、手術前後の Plasminogen Activator 値は術後に増加しているものが 23 例中 19 例 (82%) 平均増加率は 1.40 倍であり、減少しているものは 4 例にすぎない。血中ではあるが、高木¹⁴⁾は手術侵襲に伴う輸液、輸血の線維素溶解酵素に対する影響は輸液、新鮮血輸血にくらべて保存血輸血は線維素溶解現象を著しく惹起し、手術侵襲に対する線維素溶解現象の発現は著しいと述べており、また Macfarlane は手術侵襲の大小と溶解現象の間には量的関係はないと報告しているが、尿中においても血液中と同じ様な結果を得た。1955 年 Astrup⁸⁾ は正常人の尿中には多量の Plasminogen Activator を含んでいるが、Plasmin は含まれていないと報告している。著者の行なつた実験でも正常人尿そのまま、或は Activator を分離し、これのみを滴下しても Heated fibrin plate の溶解が起こらなかった。ま

た Plasminogen Activator については正常人の尿中では20例中16例(80%)にみとめられ、4例にはみとめられなかつたが、先に Astrup が報告している結果と同じ結果が得られた。一方 Trypsin Inhibitor については Astrup は正常人の尿中には少量含んでいると報告し、George H. L. Dillard¹⁸⁾ によれば健康人において早朝は増加しているが、午後になるにしたがつて次第に減少して来る。これは排尿によるためと、食事の摂取のために起こると考えられるとの報告をしている。同時に癌、Virus 性疾患、肺結核の際には増加が見られないが、ブドウ球菌による感染症、レンサ球菌による感染症、リウマチ熱および外科的侵襲を加えた2〜3日間は非常に増加するといっている。Pineus¹⁶⁾ は肺炎、リウマチ熱、脳膜炎、各種手術後に増加するという全く同様の報告をしているが、著者の検べた結果、正常人尿では20例中15例(70%)に Trypsin Inhibitor をみとめた。また疾患別に見てもその間に一定の傾向はなく、手術侵襲前後の間においても19例中10例にその増加がみられたが、9例は減少しており、尿中にはその存在はあきらかであるが、手術後に増加するという Pineus の報告とは異なつた結果を得た。これは先にも述べた様に Trypsin Inhibitor はごく微量といわれているため、著者の行なつた実験結果では有意の差が出なかつたものと思われると同時に、その測定方法に今後研究の余地が残されていると考える。

II 犬における実験的脱血ショック前後尿については脱血そのものを非麻酔下で行なえばよいが、非麻酔下では不可能であり、そのため麻酔による低酸素状態を来さない様、充分酸素を投与しつつ行なつた。その結果、10例中7例に Plasminogen Activator の増加が見られ、減少したものは僅か2例にすぎなかつた。これはラボナール麻酔をも含めた脱血ショックにより、惹起された Fibrinolytic Activity の出現すること、その際に血液中の Prothrombin および Fibrinogen の減少することは Tagnon は述べている。また高木、竹内¹⁴⁾²⁷⁾ は実験的脱血ショックの際の血中および各臓器組織の Plasmin 系、Activator 系、Inhibitor 系についての研究を行ない、ショック組織の Activator は正常組織の Activator より遙かに多く2倍位に増加しており、Inhibitor の変化は大多数は増加の傾向が見られるが、その変化は少なく、正常組織の1/10程度であり、Activator の増加が著しいのにひきかえ Inhibitor の変化は少なく、ショック状態では、血液中で

活性化された Plasmin は極めて増加し、正常時における1.5倍程度であるが、同時に Inhibitor も増加している。しかし Inhibitor の増加は Plasmin の増加に比べれば極めて少なく血液全体として著明に plasmic になつていて、この時における臓器中の Activator, Inhibitor の変化は各臓器ともに 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、血液中における変化と平行していると述べているが、著者の実験した尿中の Plasminogen Activator についても血液、組織のものとほぼ比例して増加している傾向があるが、尿中のもの前者に比べて著明な増加はみられなかつた。一方 Trypsin Inhibitor については人の手術侵襲前後尿の場合と同様で10例中6例に増加しているが、4例は減少しており、血液、組織の場合と異なり、明確にショック前後に差は見られなかつた。

III 家兎における Reilly 現象であるが、すでに Reilly はモルモットおよびウサギを使用し、頸部植物神経系に直接的に細菌、細菌毒素、化学物質、物理的操作を加えると、これが刺激となつて諸臓器に主として血管系を介した病変を実験的に作ることが出来る。即ち植物神経系の非特異的症候群であり、これを発見者の名をとり、Reilly 現象と呼んでいるが、Reilly 現象は個体により、また動物の種類により起こり方が異なつて来る。モルモット、ウサギは起こり易く、イヌには起こり難いとされている。頸部において交感神経、または副交感神経に各種の化学物質で刺激を与えるが、著者は特に Reilly 現象を起こし易いとされている家兎を使用し、頸静脈瘻法を採用した。嚢内に注入する物質はクロトン油の外、20〜30%アルコール、ペプトン水でも良いが、著者は100倍クロトン油を注入し、充分な刺激を与えた。操作後1時間、2時間、24時間に採尿するが、1〜2時間後に最も強く現象は現われ、血尿は全例において見られたが、蛋白尿を来したものはほぼ半数であつた。24時間後には血尿、蛋白尿は殆ど恢復していたが、15例中2例は原因不明で死亡している。Plasminogen Activator は1時間後のものは15例中13例(88%)増加し、平均増加率は1.41倍、2時間後のものは15例中13例増加し、平均増加率1.76倍となり、著明に増加しており、24時間後のものは平均増加率1.11倍と減少している。これに反し、対照として頸部を切開したのみのものには Plasminogen Activator は正常家兎尿のものと変化はみられなかつた。これは明らかに Reilly 現象という Stress

に対し、腎がその影響を受け尿中の Activator が増加を来したものと想像される。Sterndorff は尿路系における出血の際には多量の Plasminogen Activator が尿中より排泄されると報告している。これはあくまで人尿についての事ではあるが、著者の行なつた家兎尿についての実験でも同様の結果が得られた。一方 Trypsin Inhibitor について見ると、1時間後、2時間後、24時間後のいずれのものもその増減の数はほぼ半数を示しており、増加率平均値を見てもその差は僅かであり、一定の傾向は見出し得なかつた。総じて手術侵襲においても、侵襲の大きく加わる脱血ショックにおいても、侵襲は軽度で植物神経刺激の強い Reilly 現象においても同じ様に Plasminogen Activator は Stress こそ異なるが、Stress 前に比べて、後に増加している事が明らかである。これは数多くの研究者によつて報告されたものと同様の結果を得たが、Trypsin Inhibitor においては Activator 同様各種 Stress により増加すると、各研究者は述べているが、著者の行なつた実験の範囲ではその変化は見られなかつた。この原因にはその量的問題が関係し、その測定方法に今後の研究を待たなければならないと考えられる。

第5章 結 語

人、犬および家兎を使用し、それぞれ異なつた侵襲を加え、その前後の尿中における Plasminogen Activator, Trypsin Inhibitor を Heated fibrin plate method で実験した結果、次の様な結果を得た。

- (1) 正常人尿および侵襲後の尿中には Plasmin は証明されない。
- (2) 手術侵襲前後における人尿中には術前より術後に Plasminogen Activator の増加が見られた。
- (3) 実験的犬の脱血ショック前後における尿中にはショック前に比べて、ショック後に Plasminogen Activator の増加が見られた。
- (4) 家兎の Reilly 現象前後における尿中には Reilly 現象前に比し、Reilly 現象後に Plasminogen Activator の増加が見られた。
- (5) 手術侵襲前後の人尿、実験的脱血ショック前後における犬尿、Reilly 現象前後の家兎尿、それぞれにおける尿中 Trypsin Inhibitor はその前後に一定の傾向は見られなかつた。
- (6) 刺激による Plasminogen Activator の増加と、侵襲による増加は同じ様に起こつて区別できない。

本論文の要旨は第22, 23回日本血液学会において発表した。稿を終るに臨み、終始御指導、御校閲を賜つた恩師栗津教授、長山講師に衷心より謝意を表す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) Dastre, A. : Fibrinolyse dans le sang. Arch. de physiol. norm. et path., Par., 5. 661~663, 1893.
- 2) Mac Farlane, R. G., and Biggs, R. : Observation on fibrinolysis ; Spontane activity associated with surgical operation, trauma. etc Lancet, Lond., 2 : 862~864, 1946.
- 3) Tagnon H. J., Levenson, S. M. Davson C. S & Taylor F. H. L. : The occurrence of fibrinolysis in Shock, with observations on the prothrombin time and the plasma fibrinogen during hemorrhagic shock A m. J. M. Sc., 211, 88~96, 1946.
- 4) Morawitz, P. : Beitr. chem. Physiol. u. Path., 8 : 1, 1906.
- 5) Mac Farlane, R. G. & Biggs, R. : Observation fibrinolysis ; Experimental activity Produced by exercise or adrenalin. Lancet, 1, 402, 1947.
- 6) 豊田健一, 塩川優一 : 線維細溶解に及ぼす疲労の影響, 日新医学, 37 : 263, 昭25.
- 7) 金山良仁 : 婦人科疾患に於ける線維素溶解酵素に関する研究, 東北医学, 56 (4) : 462, 昭32.
- 8) Astrup, T. & Sterndorff : The plasminogen activator in urine & the urinary inhibitors. Cl. Laborat. Invest, 7 : 3, 1955.
- 9) Celander, D. R., Langlinais, R. P. & Guest, M. M. : The application of from technique to the partial purification of a urine activator of plasma profibrinolysin Arch. Biochem. Biophys. 55, 286, 1955.
- 10) Astrup, T., and Permin, P. M., Fibrinolysis in the animal organism. Nature, 159, 681, 1947.
- 11) Mullertz, S. & Lasser, M. : An activator sytem in blood in dispensable for formation of plasmin by streptokinase. Proc. Soc. Exper. Biol & Med., 82 : 264, 1953.
- 12) Astrup, T. : Fibrinolysis in the Organism. Blood. 11 : 781~806, 1956.
- 13) Müllertz, S. Components interacting in the formation of plasminogen activator in human blood Thrombosis and embolism. Basel, 1955 P. 75.
- 14) 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 : 487~498, 昭34.
- 15) 栗津三郎 : 手術侵襲と Plasmin, Plasminogen, Antiplasmin, Fibrinogenolysis の変動, 外科, 21 : 203~208, 昭34.

- 16) Pincus, G. : Studies of the Role of the Adrenal Cortex in the Stress of Human subjects, Recent Progr. Hormone Research, **1** : 124, 1947.
- 17) Macfarlane, R. & Pilling, J. : Fibrinolytic activity of normal urine. Nature, **159** : 779, 1947.
- 18) Dillard, G. H. L. : The trypsin inhibitor of the urine in health and disease. J. Lab. & Clin. Med., **36**, 266, 1950.
- 19) Williams, J. R. B. : The fibrinolytic activity of urine. Brit. J. Exper. Path., **32** : 530, 1951.
- 20) Astrup, T. & Sterndorff, I. : An activator of plasminogen in normal urine. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., **81** : 675, 1952 a.
- 21) Damgaard, E. & Ungar, G. : Proteolytic activity of urine in shock and tissue injury. Am. J. Physiol., **171** : 717, 1952.
- 22) Lassen, M. : Heat denaturation of plasminogen in the fibrin plate method. Acta physiol Scand., **27** : 371, 1952.
- 23) Astrup, T. & Müllertz, S. : The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. Arch. Biochem. & Biophys., **49**, 346, 1952.
- 24) Permin, P. M. : Properties of the fibrinokinase-fibrinolysin system. Nature, **160** : 571, 1947.
- 25) Christensen, L. R. & MacLeod 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) 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** : 6, 825~833, 昭38.
- 28) 野田暉夫 : 大量輸血に伴ふ出血傾向について, 血液と輸血, **4** : 261, 1958.
- 29) Loomis E. C., George C. and Ryder A. "Fibrinolysin : Nomenclature, Unit, Assay, Preparation and Properties", Arch. Biochem. **20** : 444, 1948.
- 30) Jessica H. Lewis and John H. Ferguson : Studies on a Proteolytic Enzyme System of the Blood. Am. Phys. Soc., **170** : 7. 636~641, 1952.
- 31) 畔柳武雄, 林 圭雄, 柴田整一 : 線維素溶解酵素に関する研究. 日新医学 **38** : 684~690, 昭26.
- 32) 畔柳武雄 : 線維素溶解酵素, 医学書院 1954.
- 33) Buckell M. : The effect of citrate on euglobulin methods of estimative fibrinolytic activity. J. clin. path., **11** : 403, 1958.
- 34) 黒田恭一他 : 前立腺疾患に対する経尿導的切除術と Fibrinolysis について. 手術, **14** : 921~927, 1960.
- 35) Christensen, L. R. : Streptococcal Fibrinolysis : A proteolytic reaction due to a serum enzyme activated by streptococcal fibrinolysin J. Gen. Physiol., **28** : 363~382, 1945.