

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

東邦大学医学部外科学教室 (指導: 粟津三郎教授)

高 木 寛

(原稿受付 昭和33年12月2日)

STUDIES ON THE INFLUENCE OF OPERATIVE PROCEDURE UPON THE PLASMIN AND PLASMIN INHIBITOR ACTIVITY

by

HIROSHI TAKAGI

Department of Surgery, Tohō University, School of medicine
(Director: Prof. SABURO AWAZU)

The operation in a large scale and the great amount of blood transfusion or of infusion which have been undergoing recently, brought up, on the other hand, the danger of increased tendency of bleeding and of thrombus formation.

We studied the change of plasmin content, fibrinolytic enzym, in patients pre-and post-operatively by the modified MacFARLANE's method, viscosimetry and the heated plate method.

Inactive plasminogen was activated by streptkinase and plasmin inhibitor was measured indirectly by adding a certain amount of plasmin.

The result obtained are as follows:

1) As the result of observation by modified MacFARLANE's method, the transfusion of restored blood produces fibrinolytic phenomenon remarkably, as compared with fresh blood transfusion.

2) Fibrinolytic phenomenon are also produced by the operative procedure remarkably. This increased fibrinolysis was inhibited moderately by the pre-operative usage of wintamin (chlorpromazin).

3) Plasmin value measured by viscosimetry in normal individuals are less than 1.0 sec. The plasmin value by this method showed high level in patients during operation or post-operative period. This increased tendency was observed by the heated plate method as well.

4) The value of total plasminogen including active plasmin does not show remarkable changes in most cases pre-and post-operatively but it showed slight increased level after operation.

5) Inhibitory factors including antiplasmin depressed plasmin activity post-operatively. This inhibitory action was observed in 46% of all post-operative patients by viscosimetry but in 69% by heated plate method.

目 次

第1章 緒 言

第2章 実験方法

1. MacFarlane の変法
2. Viscosimetry に依る方法
3. heated plate method

第3章 実験成績

1. MacFarlane の変法
 - a) 輸液, 輸血
 - b) 手術侵襲
2. Viscosimetry に依る方法

- a) プラスミン
- b) プラスミノノーゲン
- c) 抑制因子

3. heated plate method

- a) プラスミン
- b) プラスミノノーゲン
- c) 抑制因子

第4章 考 按

第5章 結 論

第1章 緒 言

近来, 外科手術の発展は麻酔学の進歩と共に輸液, 輸血の分野にも大きな変革をもたらすとともに, 手術侵襲の拡大, 大量輸血にともなうショック, 出血傾向の発現, 血栓形成等幾多の障害を惹起した。或は, ショックといい, 出血傾向の増大といい, また血栓症の問題といい, 身体内の諸々の要素の変動と共に線維素溶解現象の問題がその役割の一つの要素を成すものとして注目を集めて来た。

元来, 或る条件のもとで, 一旦凝固した血液が再び溶解して流動性を回復するということに着眼して研究の糸口を見出した線維素溶解現象は Dastre¹⁾ (1893~1895) によつて始めてその名称を得, その後多くの研究を経て1936年 MacFarlane に依つて始めて臨床上の問題となつた。彼²⁾³⁾ は色々の状態に於て稀釈された血漿中の線維素溶解現象について報告し, 手術後にも一過性に強い線維素溶解現象を認めている。Tagnon⁴⁾⁵⁾ は1946年, 出血ショックに際して, 線維素溶解現象の発現と共に血漿中のプロトロンビン及びフィブリノーゲンの減少に着眼して活性化された線維素溶解酵素がプロトロンビン及びフィブリノーゲンを消化して低プロトロンビン血症及び低フィブリノーゲン血症を起し, 血液の凝固要素に変動を与え, ショックの発現にあづかっていると結論して, 線維素溶解現象の認められる場合の共通の臨床症状は末梢循環障害であると述べている。線維素溶解現象がこのような身体の病的状態の場合に発現するばかりでなく, 種々の激しい肉体的過度の運動, 並びに精神的感動等の生理的状态の際にも発現するという事を考慮してこの機序の解明にいろいろの研究が行なわれて来たが線維素溶解酵素 (Plasmin) を純粋な形で測定すること及びその Precursor, Activator, Inhibitor の状態を検査する

ことが困難なため充分究明されていない点が多かつた。近年, Astrup 及びその協同研究者⁶⁾⁷⁾⁸⁾ によつて一応集大成された線維素溶解現象は次の形式に示されている。

Inhibitor.....Plasminogen → Plasmin...Inhibitor



Plasminogen Trypsin.....Inhibitor
Activator Chloroform
Tissue Activator.....Inhibitor
Activator in blood, milk, tear...Inhibitor
Activator in Urine.....Inhibitor

↑ Spontane Activator
Lysokinase SK.....Inhibitor
Staphylokinase.....Inhibitor
Kinase in blood.....Inhibitor
Tissue Kinase

Proactivator in blood, milk, Tear

手術の際に血中の Plasmin が増加するのは

1. (general process) 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。

2. (local process) 臓器の Activator が直接, 血液中の Plasminogen に作用して, Plasmin が増加する。この2つの過程が存在するものと思われる。私は手術侵襲を中心として, これにともなう輸液, 輸血に関する線維素溶解現象の発現について検討して来たので報告する。

第2章 実験方法

Plasmin の検査方法は Fibrinolysis に対する考え方の変遷と共に色々の方法が考案され, 用いられてきたが, 私は昭和29年以来, 次の3つの方法を用いて検査してきた。

- 1) MacFarlane の変法⁹⁾
- 2) Viscosimetry に依る方法¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾

3) heated plate method^{13) 14) 15) 16)}

MacFarlaneの変法は静脈血に3.8%のクエン酸ソーダを加え、2500 r.p.m. 10分間遠心沈澱して血漿を分離し、これをpH 7.4のM/15磷酸緩衝液でpH 7.4に調製した生理的食塩水で16倍、32倍、64倍に稀釈し、各稀釈液のそれぞれ3ccにThrombin又は0.03 CaCl₂液2~3滴を加え、これを静かに放置し、明かにFibrin形成後38°C孵卵器中に24時間放置して、何倍稀釈までFibrinが融解するかをしらべ、各稀釈とも融解しないものを(一)、64倍稀釈のみ融解を(十)64倍、32倍共融解のものを(十十)、各稀釈とも融解のものを(十十十)と判定したが、私は稀釈倍数を10倍より70倍まで細分して用いた。

Viscosimetry に依る方法

上述のMacFarlaneの変法は被検液を稀釈する方法であるが、被検液中にはPlasminだけでなく抑制物質が含まれているので出来るだけこれを除去する方法が望まれる。本法はChristensenに依るNorthropの変法を基として比粘度の低下をもつてfibrinolytic Activityを表わそうとした。被検液として血清2.5cc採取し、基質として2.5~5.0%のCasein (Hammerstein製)を用い、CaseinはあらかじめこれをpH 11.35の磷酸緩衝液加生理食塩水で溶解し、完全溶解をまつてジムロートにより還流冷却したものを使用した。被検液は血清2.5ccに対し、倍量の半飽和硫酸アンモニウムを徐々に加え、生じた沈澱は遠心し、その沈澱及び上清を使用した。沈澱はこれをpH 7.4磷酸緩衝液加生理食塩水1.0ccに溶解し、その1.0ccとCasein溶液5.0ccを各々別々に38°Cの恒温槽に10分間保温し、10分後混和し、その1.5ccをあらかじめ保温しておいたOstwaldのViscosimeterに送入し、初めのViscosimeterの値より10分後の値まで時間を追って追求してその差を求めた。検査にあつては生理的食塩水の粘度及び被検液の代りに生食水を用いたものをそのたびごとに対照として測定した。Viscosimeterは使用毎に流水で10分間洗滌して乾燥するのをまつて使用し、基質として使用したCaseinは3日毎に新たに調製して使用した。1945年Christensen, MacLeodに依つて記載されたように1分間の比粘度の低下が1%となつたものをもつて1単位のPlasminと規定しようとしたが、手術侵襲に伴う輸液、輸血の影響による蛋白分層の変動のため10分間の粘度の差をもつてPlasmin Activityをあらわした。

heated plate method

Fibrinogen 抽出法

屠殺場より採取して来た1/10量のM/10オキサレート加牛血液(2000)ccを3000回転15分間0°Cで遠心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50gを入れた容器内にビベットで静かに注入し、15分間気泡を立てないように静かに攪拌してProthrombin及び凝固促進因子等を吸着除去した後0°C 3000回転15分間遠心する。次いでこの血漿に同量の冷蒸溜水を加え、更にこれに2/3血漿量の冷飽和硫酸アンモニウムを加え、この際、ガラス棒で攪拌しながら泡が立つたらこれを除く。これを更に室温で3000回転約7分間遠心し、この沈澱に1/2原血漿量の生食水を加えてガラス棒で良く溶解した後、更に原血漿量の冷蒸溜水を加え、これに更に全量の1/3量の冷飽和硫酸を加え室温で3000回転7分間前と同様に遠心する。この沈澱をpH 7.6のVeronal Bufferに溶解する。Fibrinogenは一定量を取りガラス棒で攪拌しながらThrombinを滴下し、析出したFibrinは37°Cに30分間放置し、更に析出しないことを確め洗滌、脱水、乾燥して化学天秤で計測して0.15%の濃度で使用した。

被検液

先づ分離血清を蒸溜水で20倍に稀釈し、これに0.5%の醋酸を滴下し硝子電極を用い正確にpHを5.2とし、次いで3000回転10分間遠心して沈澱及び上清を使用した。沈澱はpH 7.4磷酸緩衝液加生食水で原血清量の1/3に濃縮して使用した。

Fibrin Plate 作製

0.15% Fibrinogen液9ccを直径9cmのペトリシャーレに入れ、Thrombin(持田)83U/ml 0.2ml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分間加熱したものにて被検液0.03cc宛滴下し37°C 18時間放置したものについて溶解面の長径、短径の積をもつてその面積を表わした。なおFibrinogen抽出にあつては一部冷却処置を行わず、硫酸塩析後血漿はこれを24時間氷室に保存して使用した。

第3章 実験成績

1 MacFarlane 変法による輸液、輸血、手術侵襲のfibrinolysisに及ぼす影響

患者は胃癌、胃潰瘍、肺結核等手術の対称となるものを無選択的に用いた。

a) 輸液、輸血の影響

輸液は5%ブドウ糖、又はリンゲル氏液を使用し500~1000ccを一時に注射した。表1に見るように8例中2例に50倍稀釈からの溶解を示し、1例に60倍稀

釈からの溶解を示した外はいづれも70倍稀釈だけの溶解に止まり、輸液前後では大きな変化を示さなかつた。即ち50倍稀釈から溶解したものは輸液前でも同程度の溶解が認められた。

勿論、輸液速度、患者の一般状態にもよるがこの実験では手術の前処置としてよりは精神状態の比較的安定な時期を選んで行つた。生血輸血は第2表にみるように200~400cc同型輸血、本例では7例中2例に輸血後に30倍稀釈からの溶解をみたが、内1例は輸血前に既に40倍より溶解し、また50倍より溶解していた1例は輸血後60倍より溶解と反つて溶解度の減少を示していた。勿論これはMacFarlaneの変法によれば同程度の溶解に含められ、輸血前後で(+)の溶解度を示したものは7例中2例であつた。

保存血輸血は200~2000cc。大量輸血の1例は分割注射施行、第3表に示すように7例中2例に完全溶解をみ、2例に20倍稀釈よりの溶解をみた。しかも完全溶解の1例は反覆注射施行のものであつたことは注目に値する。この例は胃癌で手術前に貧血高度で出血傾向の増加していたものである。いづれにしても7例中4例にMacFarlane変法による(+)の溶解を見、輸液及び新鮮血輸血にくらべて溶解現象が促進するようと思われる。

b) 手術侵襲の影響

上述の輸液、輸血が加わる手術中のfibrinolysisについてはMacFarlaneをはじめ多くの研究が成されてきたが最近の麻酔学の進歩と共に手術侵襲の形態も複雑になつて来た。麻酔の線維素溶解現象に及ぼす影響に関しては前にMacFarlane & Biggs 及び Kaulla の研究があり、また赤沢の報告がみられるが私も同

第1表 輸液

輸液前							輸液後							年令	性	處置	BSP	疾患名		
70	60	50	40	30	20	10	稀好前長												10	20
No. 1														42	♂	5%稀1000	5%	内痔核		
No. 2														45	♀	〃	〃	胃癌		
No. 3														20	♀	〃	〃	虫垂炎		
No. 4														30	♂	5%稀500	〃	脱肛		
No. 5														25	♂	5%稀500	〃	舌癌		
No. 6														54	♀	5%稀1000	〃	胆嚢炎		
No. 7														47	♀	5%稀500	〃	乳腺癌		
No. 8														28	♂	5%稀1000	〃	胆石症		

第2表 生血輸血

輸血前										輸血後										年令	性	處置	BSP	疾患名
70	60	50	40	30	20	10	稀釈度			10	20	30	40	50	60	70								
No. 1																				54	♂	200 ^{cc}	5%	胃癌
No. 2																				42	♂	100 ^{cc}	"	痔核
No. 3																				67	♂	"	"	胃癌
No. 4																				31	♂	"	"	T. b
No. 5																				51	♂	"	"	胃癌
No. 6																				17	♂	200 ^{cc}	"	十二指腸潰瘍
No. 7																				46	♀	300 ^{cc}	"	T. b

第3表 保存血輸血

輸血前										輸血後										年令	性	處置	BSP	疾患名
70	60	50	40	30	20	10	稀釈度			10	20	30	40	50	60	70								
No. 1																				46	♂	2000 ^{cc}	5%	胃癌
No. 2																				46	♂	400 ^{cc}	〃	胃癌
No. 3																				44	♂	〃	〃	胃癌
No. 4																				26	♂	〃	〃	腹膜炎
No. 5																				37	♂	200 ^{cc}	6%	胃潰瘍
No. 6																				51	♂	600 ^{cc}	5%	肝臓腫瘍
No. 7																				51	♂	〃	〃	胃潰瘍

第4表 手術

手術前								手術中												
70	60	50	40	30	20	10	稀釈度%	10	20	30	40	50	60	70	年令	性	麻酔	疾患名	BSP	
No. 1															20	♀	局麻	甲状腺腫		
No. 2															26	♂	全麻	T.b	5%	
No. 3															34	♂	〃	〃	〃	
No. 4															46	♂	腰麻	胃癌	〃	
No. 5															50	♀	全麻	肝臓腫瘍	5%	
No. 6															60	♂	腰麻	胃がん	5%	
No. 7															34	♂	〃	胃潰瘍	〃	
No. 8															31	♂	全麻	T. b	〃	
No. 9															54	♂	腰麻	胃潰瘍	5%	
No. 10															20	♀	全麻	胆嚢炎	10%	
No. 11															32	♀	〃	T. b	5%	

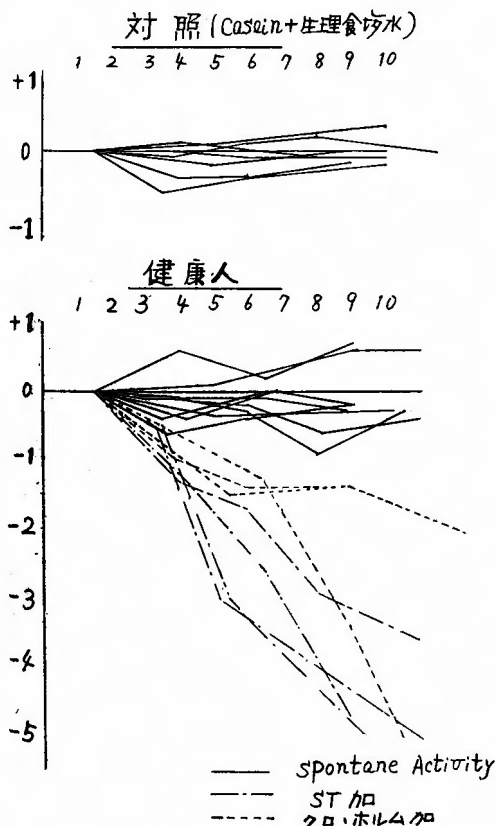
様に手術侵襲について研究を試みた。患者は胃癌、胃潰瘍、肺結核等手術侵襲の大きなものを選び、麻酔は全麻、腰麻を使用し、溶解現象は術中侵襲の大きな時を選んで試みた。本例では11例中4例に20~30倍稀釈よりの溶解を認めた外は7例に完全溶解を示し、手術前にくらべて大きな変化を認めた。これに反して、手術前基礎麻酔にウインタミン25mg注射例では9例中4例に完全溶解を認めた外は、いづれもウインタミン使用のない場合にくらべて溶解現象の減少を認めた。(第4,5表)

2) Viscosimetryによる手術のPlasmin, Plasminogen, Inhibitor に及ぼす影響

a) Plasmin

対照としての Casein の粘度及び健康人の粘度は第6表及び第1図に示すように、対称にあつては10分間の粘度差は ± 0.3 秒の誤差範囲にあり、健康人の場合

第1図



第5表 ウインタミン注射 (25mg) 後手術

手術前							手術中										年齢	性別	疾患名	麻酔	BSP
70	60	50	40	30	20	10	稀釈回数	10	20	30	40	50	60	70							
							No.1								44	♂	胃癌	腰麻	5%		
							No.2								65	♂	〃	全麻	〃		
							No.3								45	♀	腸管癌	腰麻	〃		
							No.4								66	♂	胃潰瘍	〃	10%		
							No.5								51	♂	〃	〃	5%		
							No.6								36	♂	下痢	全麻	+		
							No.7								46	♀	〃	〃	〃		
							No.8								25	♀	胆嚢炎	腰麻	5%		
							No.9								51	♂	十二指腸癌	〃	5%		

第6表

健康人			
No.	Casein	Spontan Activity	Total Activity
1	+0.2	-0.2	
2	-0.2	-0.3	-3.8
3	-0.1	-0.2	-4.7
4	+0.2	+0.8	
5	-0.1	-0.2	
6	0	-0.4	
7	+0.2	-0.6	-5.0
8	-0.3	+0.6	-2.1
9	+0.5	+0.4	-7.8
10	+0.4	-0.2	-3.9*
11	-0.1	-0.4	-1.4*
12	-0.1	+0.2	
12	-0.1	+0.7	-3.4*

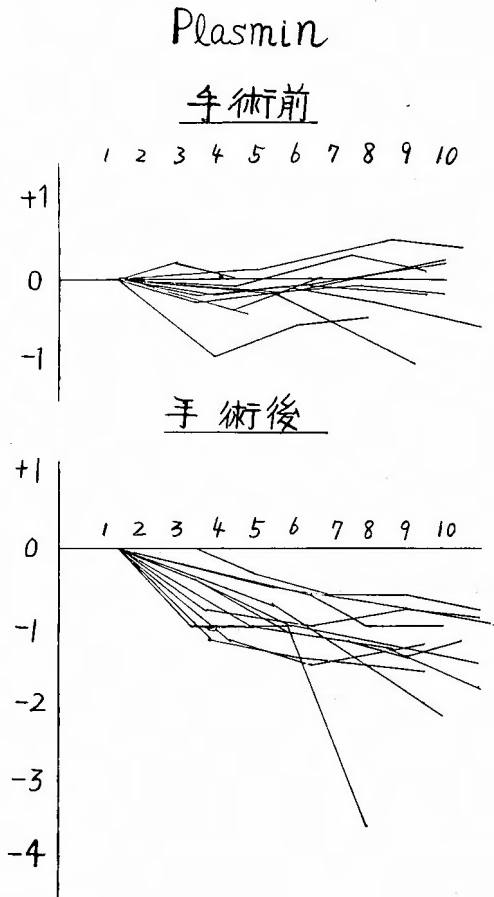
*..... クロ、ホルム加

にあつても13例中6例は $+0.2$ 秒より -0.3 秒の範囲にあり、最大の粘度低下をしめたものも0.6秒で対照と比較して全体として大きな変化は認められなかつた。手術患者としては脳腫瘍、胃癌、胃潰瘍、十二指腸潰瘍、胆石症、直腸癌等比較的侵襲の大きな疾患で根治手術を行つたものを無選択的に使用した。第7表に示すように例数35例中、術前に於ては10分間の粘度の差は余り変化がなく1.0秒以上の差を示したものは35例中7例にすぎないのに、術後に於ては大部分が(35例中30例)1.0秒以上の変化を示しており、手術に依りPlasminが増加したことを示している、個々の例について術前と術後と比較して見ると、術後にPlasmin Activityが減少したものが2例で他は増加しており、その増加の程度は1.0秒以内が18例、1.0~2.0秒のもの11例で35例中29例が2.0秒以内にあつて、3例が3.0秒

第 7 表

Plasmin (Spontane Activity)				
No.	病 名	術 前	術 後	差
1	胆 石 症	-0.25	1.3	1.05
2	胃 潰 瘍	-0.7	-4.4	3.7
3	胆 石 症	-0.6	-1.0	0.4
4	直 腸 癌	-0.25	-2.25	2.0
5	胃 癌	-0.2	-0.8	0.6
6	前立腺癌	0	-1.0	1.0
7	胃 癌	0	-0.8	0.8
8	肺 癌	0	-1.0	1.0
9	脳腫瘍	-0.5	-0.8	0.3
10	胃 癌	0	-1.4	1.4
11	胃 癌	-0.5	-1.6	1.1
12	脾 腫	0	-1.5	1.5
13	胃 癌	0	-1.4	1.4
14	胃 潰 瘍	-1.25	-5.5	4.25
15	胃 癌	0	-2.4	2.4
16	肝 癌	0	-7.0	7.0
17	甲状腺腫	0	-1.7	1.7
18	胃 癌	-0.7	-1.4	0.7
19	脳腫瘍	-1.5	-1.4	0.1
20	胃 癌	-0.7	-1.3	0.6
21	胆 石 症	-0.8	-2.5	1.7
22	脳腫瘍	-2.8	-0.2	2.6
23	胃 癌	-1.0	-2.4	1.4
24	十二指腸潰瘍	-1.5	-3.3	1.8
25	胃 癌	-1.3	-2.3	1.0
26	脾臓壊死	-0.9	-1.4	0.5
27	肺 結 核	-0.8	-1.2	0.4
28	胃 癌	-0.5	-1.9	1.4
29	〃 〃	-0.5	-1.4	0.9
30	胃 潰 瘍	0	-1.6	1.6
31	胃 癌	-2.6	-3.5	0.9
32	胃 潰 瘍	-0.6	-1.2	0.6
33	胆 石 症	-0.3	-1.1	0.8
34	胃 潰 瘍	+0.1	-0.5	0.6
35	胃 癌	-0.9	-2.1	1.2

第 2 図



て困難なことで Plasminogen を活性化して Plasmin に変換することが必要である。Plasminogen を活性化するにはいろいろの方法が考えられるが Streptokinase を加えて血液中の Proactivator Activator に変換させ、それによつて Plasminogen を Plasmin に換えるのが適当である。Streptokinase によつて活性化された Activator が Plasminogen に対し量的に作用することも考えられるが Streptokinase としては過量の Varidase (Lederle 製) を加え、この方法では健康人では前の第 6 表及び第 1 図に見るように最大 7.8 秒と明かに Proplasmin の活性化が認められ、クロロホルムによる活性化でも明かに Spontane Activity にくらべて大きな変化を示した。手術患者にあつて第 8 表に見るように、術前に於ても 10 分後に見る速度の変化は著明であり、これらは Spontane の状態では、いづれも 1.0 秒以内の速度の変化に止まつており明か

以上となつてゐる。内 1 例は肝臓癌でこの症例中最大の値、7.0 秒を示した。術後に反つて Plasmic activity の減少を見た 2 例は脳腫瘍であり、又同一人の術前、術後の変化を図示すれば第 2 図の如くである。

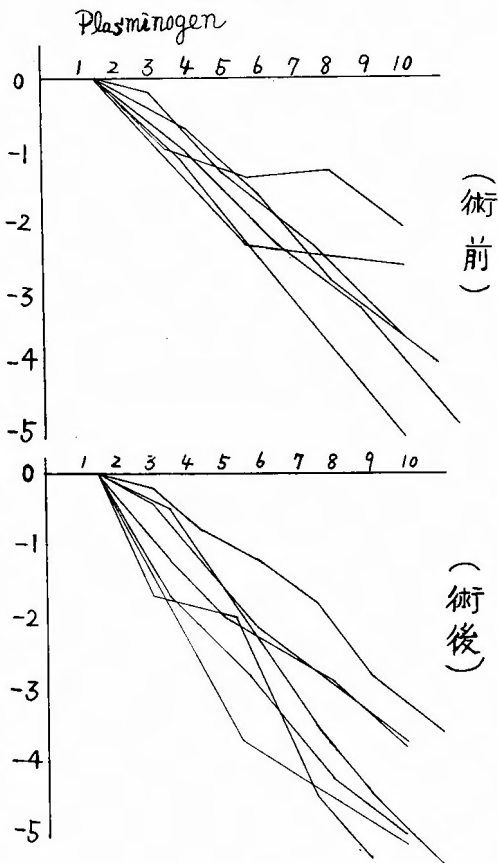
b) Plasminogen

血液中の Plasminogen を直接定量することは極めて

第 8 表

Plasminogen				
No.	病 名	術 前	術 後	差
1	胆 石	-3.6	-5.8	2.2
2	胃 癌	-4.6	-5.6	1.0
3	前立腺癌	-4.0	-2.0	+2.0
4	肺 結 核	-5.0	-4.0	+1.0
5	〃 〃 〃	-2.2	-5.0	2.8
6	胃 癌	-2.8	-3.6	0.8
7	〃 〃	-3.7	-3.0	+0.7
8	肝 癌	-5.0	-9.0	4.0
9	肺 結 核	-6.1	-7.1	1.0
10	胃 癌	-3.5	-3.8	0.3
11	〃 〃	-3.6	-3.0	+0.6
12	胃 潰 瘍	-4.5	-4.8	0.3
13	〃 〃 〃	-3.2	-3.8	0.6
14	胃 癌	-4.0	-4.5	0.5

第 3 図



に Plasminogen の著明な活性化を示し、その内大部分 (14例中11例) は3.0秒より5.0秒迄 の変化を示しており、術後に於ては14例中、2.0~3.0 秒の変化を示したものは3例、3.0~4.0秒のもの4例、4.0~5.0秒のもの3例、5.0秒以上のも4例となつており、術前、術後の差を見ると術前にくらべて反つて変化の速度が減少したものが4例あり、増加したものにあつてもその差は1.0秒以内のものが大部分を占めている。また個々の症例で術前、術後の差を見ると第3図に示されるように total Activityとしての Plasminogen のActivity の差は明かではないが、術後に於て多少の増加が認められる。

c) Inhibitor

この蛋白分解抑制作用も恐らく溶解現象と同程度の複雑な過程をもつものと考えられる。

Plasmin の Inhibitor も Trypsin の Inhibitor と同様に熱に弱く、又 Chloroform, Aceton によつて破壊されるものがあり、これは Albumin 中に含まれている。また等電点で沈降させた Globulin 中にも熱に Stable な Inhibitor が含まれている。この Inhibitor を検査する方法はいろいろあるが私は Plasmin 測定時と同様、基質に一定量の Plasmin と被検体を加えて Plasmin の溶解作用をどの程度抑制したかを観察

第 9 表

Inhibitor (Antiplasmin を含む)				
No.	病 名	術 前	術 後	差
1	胆 石 症	-1.3	-0.4	+0.9
2	脳 腫 瘍	-3.5	-2.3	+1.2
3	胃 潰 瘍	-0.4	-0.8	-0.4
4	脳 腫 瘍	-1.9	-1.0	+0.9
5	胃 癌	+0.3	-1.6	-1.9
6	〃 〃	-2.6	-3.5	-0.9
7	胃 癌	-1.1	-1.9	-0.8
8	胃 潰 瘍	-0.5	-1.4	-0.9
9	脳 腫 瘍	-2.0	-2.7	-0.7
10	胃 癌	-3.7	-1.7	+2.0
11	胃 潰 瘍	-1.4	-1.7	-0.3
12	胃 癌	-2.0	-1.4	+0.6
13	〃 〃	-4.8	-3.7	+1.1
14	肺 結 核	-2.3	-0.4	+1.9
15	胃 癌	+0.4	-0.9	-1.3

した。実験にあたっては毎回対照として一定量の Plasmin (0.5cc) に生理的食塩水0.5cc を加えたものを用いた。被検液としては前述の硫酸処置血清の上清0.5cc が同量の Plasmin を加えて用いた。第9表に示すように、術前に1.0秒以上の溶解度を示したものは15例中11例、術後では15例中10例で大部分は2.0秒前後の減少を示し、Plasmin 単独の値と同様の減少を示した。術前、術後の差を見ると、明かに溶解度が術後に増加したものが8例、逆に術前にくらべて減少したものが、即ち抑制作用が術後に増加したものが、15例中7例あり、その中、術前に減少度の著しく増加したものは、反つて術後に溶解速度の減少を示した。

3) heated Plate method に依る手術の Plasmin Plasminogen, Inhibitorに及ぼす影響

a) Plasmin

本法に於ては対照として一定単位(62U/cc)のTryp-sin 溶液を滴下し、その面積を標準とした。第10表に

第 10 表

Plasmin				
No.	病 名	術 前	術 後	差
1	脳腫瘍	168	261	2.2(倍)
2	胆石症	76	232.5	3.0
3	肺結核	123.5	255	2.0
4	胃癌	168	228	1.2
5	〃	35	288	8.0
6	胃潰瘍	416	506	1.2
7	胆石症	110	147	1.2
8	胃癌肺	30	80	2.8
9	結核	42	80	2.0
10	バンチ氏病	73.25	150	2.0
11	胃潰瘍	16	210	13.0
12	〃 〃 〃	25	540	20.0
13	直腸癌	140	300	2.0
14	肺癌	35	255	7.0
15	前立腺癌	48	210	4.0
16	直腸癌	156	168	1.1
17	胃癌	30	72	2.2
18	胃潰瘍	136	156.3	1.2
19	胃癌	162	203	1.3
20	直腸癌	68.3	137.5	2.0
21	〃 〃 〃	120	159	1.2
22	胃癌	156	188	1.2
23	胃潰瘍	625	912	1.4
24	結腸症	198	240	1.2

見るように本法では24例中全例に術後に溶解面積の増加がみられ、その増加の程度は3倍迄が大部分を占めており、24例中15例は2倍迄の増加を示している。即ち本法に於ても Viscosimetry による方法と同様、術後に Spontane Activity の増加が認められる。

b) Plasminogen

前述の Viscosimetry による方法と同様に濃縮した被検体に一定量の Varidase を加え、その溶解面積を測定した。この方法によると、Plasminogen がすべて Plasmin に変化するために術前に於てもその溶解面積は非常に増大し、術前、術後の差は第11表に見る如く17例中12例に術後に溶解面積の増加を示し、5例に逆に溶解面積の減少を示している。しかし増加したものにあつても大部分はその増加の程度は2倍迄に止まつており、12例中7例は1.5倍迄の増加となつてゐる。以上のことは Viscosimetry による Plasminogen の活性化にもとづく total Activityの変動とよく一致しており、Plasminogen は Streptokinase による活性化によりよく活性化されるものであるが、なお術前術後に多少の変動があるように思われる。即ち Streptokinase による Plasminogen の活性化以外に Stress としての手術侵襲がこの酵素系の活性化に及ぼす影響も無視しえない点があるように思われる。

c) Inhibitor

第 11 表

Plasminogen				
No.	病 名	術 前	術 後	差
1	胃癌	273	567	2.0(倍)
2	胆石症	240	552	2.0
3	脳腫瘍	462	648	1.5
4	胃癌	396	482	1.3
5	肺癌	914	1020	1.1
6	胆石症	870	552	0.6
7	バンチ氏病	85	240	4.0
8	直腸癌	506	380	0.7
9	胃癌	324	320	0.9
10	胃潰瘍	780	594	0.8
11	胃癌	1260	1470	1.2
12	肺結核	182	304	1.7
13	胃癌	841	870	1.1
14	結腸癌	1200	1840	1.3
15	胃潰瘍	241.5	247.5	1.1
16	〃 〃 〃	315	202.5	0.6
17	肺結核	400	960	2.0

前述の硫酸処置血清の上清及び等電沈澱上清 0.3cc に同量の一定単位 Plasmin を加え、その0.03ccを同様に加熱フィブリン平板に落し検査した。第12表に見る

第 12 表

Inhibitor				
No.	病 名	術 前	術 後	差
1	胃 癌	181.3	217	1.2 (倍)
2	胃 潰瘍	280	121	0.4
3	直腸癌	132	181	
4	胃 癌	320	201.5	0.66
5	肺結核	280	176	0.8
6	脳腫瘍	204	280	1.3
7	肺 癌	380	418	1.1
8	胃 癌	304	280	0.9
9	直腸癌	306	256	0.8
10	胃潰瘍	416	378	0.9
11	胆石症	225	202.5	0.9
12	脳腫瘍	150	165	1.1
13	バン干氏病	156	144	0.9
14	胃潰瘍	290	165	0.5
15	胃 癌	352	440	1.2
16	" "	306	272	0.8
17	" "	360	228	0.6
18	胃潰瘍	143	90	0.6
19	" " "	712	280	0.3

如く19例中13例に術後に溶解面積の減少を見、6例に増加をみているが、増加したものも、減少したものもその程度は僅かで2倍以下となつている。前の Viscosimetry による方法では術後に約半数に溶解現象の抑制をみたが、この方法では約2/3に溶解現象の抑制をみている。いづれにしても抑制物質の動態を純粋形で直接に測ることが困難なため、この点に関しては更に検討を要するが一応手術時に於ける抑制物質の動向を示すものといえよう。

第4章 総説及び考按

手術侵襲に関連する輸液、輸血の問題に関して、輸液にあつては大きな変化なく40倍稀釈以上の溶解を示したものは8例中2例、しかもその中には輸液前に既に溶解現象の発現をみたものもあり、また輸液後にかえて溶解現象の減少が現われたものもある。新鮮血輸血にあつても7例中2例に30倍稀釈よりの溶解を示したにすぎない。これに反して、保存血輸血にあつては全例に40倍稀釈よりの溶解を示している。以上の事

実は MacFarlane 変法の欠点とも見なされる稀釈による附加的な要素の働きは避けられないが、保存血輸血に伴う線維素溶解現象の増加は否定できない。一方この点に関して輸血時の患者の一般状態、輸血速度の問題と共に輸血に伴う出血傾向の増加、血小板の減少等の問題が関与していることは見逃せない。この点に関して野田等¹⁷⁾は最近保存血輸血に出血時間の延長、血小板減少の増強を認め、出血傾向増強例に毛細血管抵抗減弱と線維素溶解現象の増強を認めている。高橋¹⁸⁾は線維素溶解現象と凝固因子及び栓球との関係について研究し、保存血53例に33%の溶解現象の発現を認めている。また門田¹⁹⁾は更に血小板減少が抗線維素溶解酵素の減少を誘発するとの仮説のもとに抗線維素溶解酵素作用は血漿中では血小板数の増加に比例して増強することを認めている。手術時の麻酔の線維素溶解現象に及ぼす影響に関してはMacFarlane & Bigg²⁰⁾のモルヒネ、アトロピン注射時及び豊田²¹⁾²²⁾の局麻、全麻時の影響及び赤沢²³⁾の各麻酔時の溶解現象についての比較研究がある。この点に関して赤沢は全麻及び局麻にくらべて、腰麻時にあつては溶解現象が高度に発現し、腰麻手術例に90.4%、全麻手術例に40%、局麻例に9.6%の発現率を認め、ラボナル導入エーテル全麻は溶解現象に対して抑制的に働くと述べている。私の実験で手術時の線維素溶解現象はMacFarlane 変法では11例、全例に著明な変化を認め、内3例に10倍稀釈より、1例に20倍稀釈よりの溶解をみた外は全例に完全溶解を認め、その麻酔別は全麻6例、腰麻4例局麻1例となつている。完全溶解をみたものは7例中全麻4例、腰麻2例、局麻1例であり、Viscosimetry 35例中、腰麻27例、全麻7例、局麻1例で術前、術後の差が1.0秒以上のもの腰麻60%、全麻43%となり、加熱平板法では24例中、腰麻17例、全麻7例で術前、術後の差2倍以上のもの腰麻59%、全麻53%となつている。MacFarlane は外科手術を受けた患者で術前何等線維素溶解現象を示さなかつたのに術後に溶解現象を示したものが約70%あることを認め、Imperati²⁴⁾は約50%に発現率を認めている。Truelove²⁵⁾は同様に手術患者の70%に活性フィブリノリジンを証明し、フィブリン溶解の程度は手術の大きさには関係せず、術後のeosinopenie と溶解現象とは無関係のものであるとのべている。Coon & Hodgson²⁶⁾は出血性素因と手術との関係に言及して、手術後大出血をおこし低フィブリノーゲン血症とフィブリン溶解現象を証明し又Hodgkinson²⁷⁾らは出血はなかつたが大手術後に血中フ

フィブリノーゲン値が平均12%減少している例を認めている。これに反して Milwidsky²⁸⁾ らは胸部手術を施行した患者について線維素溶解現象の有無をしらべ11例中9例に Profibrinolysin の存在にもかかわらず溶解現象の活性化はみとめられず、lysokinasase も欠乏しており、Antiplasmin 値も術前、術後を通じて変化がみとめられなかつたことを報告している。自律神経遮断剤ウィンタミン 25mg 注射後手術例では9例中5例に40倍稀釈よりの溶解を示し、MacFarlane 変法による(+)以上の溶解を示したものは9例中8例であるが明かにウィンタミン未処置群にくらべて溶解度の減少が認められる。その麻酔別は全麻3例、腰麻6例で腰麻3例、全麻1例に完全溶解を見、ラボナル導入エーテル全麻の1例に70倍稀釈まで溶解をみない。手術前にみる線維素溶解現象の発現に関しては MacFarlane は手術に対する精神的不安、動揺以外の原因を求め得なかつたことをのべており、手術の大小と溶解現象の間には何等量的な関係が認められなかつたことを指摘しているが、比較的精神的影響の少ない時期を選んで多少ともこの発現を抑制することができなかつた。またウィンタミン注射例で術前60倍稀釈からの溶解をみた5例中3例に完全溶解をみたことは True-love 等の云うように、術前溶解現象を示すものは術後の溶解現象が更に著しいということを示すようにも思われる。Viscosimeter による方法は Ungar²⁹⁾ の方法があり、0.5%の醋酸による等電沈澱法をもととしているが、私は Northrop が1933年に報告したゲラチン比粘度法の Christensen 変法をもととした。健康人では対照と同様13例全例が10分間の差1.0秒以内に止まり、そのうち対照の誤差範囲に止まるもの6例をみた。これに反して同一検体を Streptokinase 又はクロロホルムで活性化した total Activity は最低1.0秒以上の粘度低下を示した。患者では術前では35例中7例(20%)が1.0秒以上の差を示したにすぎず80%は1.0秒以内に止まり、MacFarlane変法にくらべて術前にあつても動揺の割合が少ない。このことは稀釈による影響がのぞかれたものと思われる。術後では35例中30例(85%)が1.0秒以上の変動を示しており、この方法でも MacFarlane 変法と同様術前1.0秒以上の変動を示したものは術後でも大きな変動を示している。Astrup & Müllerty により認められた heated plate method に依れば24例、全例に術後に溶解面積の増大を示しており、24例中18例(75%)が3倍迄の増加に止まつている。本法では基質として Fibrin を用い、

Fiarinogen 中に含まれる Plasminogen 及び Activator の影響を85°C, 30分間加熱することによつてのぞくことができたが、被検体採取で前述の Viscosimetry による方法と同様、抑制物質除去に多少難点がみられた。阿部³⁰⁾は最近イオン交換樹脂を被検体に働かせて選択的に抑制物質を除去している。Lysokinasase としての Varidase 附加による線維素溶解現象の変動は Viscosimetry による方法では Spontane Activity にくらべて大きな変動を示し、術前でも、術後でも、すべてが2.0秒以上の変動を示している。しかも術前、術後の差は14例中10例(70%)が1.0秒以内に止まり、4例は術後では、かえつて溶解速度の減少をみている。よつて Viscosimetry による方法では Varidase によつて活性化された溶解酵素を含めての total Activity の差は術前、術後ではむしろ減少の傾向にあり、潜在している Plasminogen の量には大差がないように思われる。heated plate method では術前、術後の差は Spontane Activity では24例中14例が1.5倍以上を示し、total Activity では17例中6例が1.5倍以上の増加を示しているが5例は逆に術後に減少を示している。元来 Christensen に依つて始めて確認されたこの lysokinasase が加わつた場合の溶解作用に変動がみられるのは、それによつて活性化された Activator が Plasminogen に対して量的に働き Streptokinase の量がまずにつれて溶解作用が増強することが考えられるが以上の実験からみて手術侵襲時の Streptokinase の Activator に対する Affinity に多少の差が認められるように思われる。

前述のように、蛋白溶解酵素系の反応が複雑な過程をたどるように抑制物質も同様に複雑な反応系をなしており、その測定方法も研究者によつて Loomis³¹⁾, Lewis & Fergusson³²⁾, Guest, Daly & ware³³⁾ 等種々の方法があるが、Plasmin 測定の方法と同様、基質に一定量の Plasmin と被検液を加え、Plasmin の溶解作用をどの程度抑制するかを観察した私の実験では Viscosimetry による方法では、術前、術後の差で大部分が1.0秒内外の差に止まり、15例中7例(46%)は術後に溶解度の減少を見、heated Plate method では19例中13例(69%)に減少をみている。このことは手術侵襲という Stress を通して蛋白溶解酵素の活性化が促進されると共にそれと不可欠な関係にある抑制物質の動向を示すものとして興味ある問題である。勿論この場合も被検体に幾多の欠点が含まれていることを考えれば、これをもつて完全な抑制物質の動きを示

すものとはいえないがその一端を示すものといえよう。

第5章 結 論

1. 手術侵襲に伴う輸液、輸血の線維素溶解酵素 (Plasmin) に対する影響は MacFarlane 変法では輸液、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する。

2. 手術侵襲に対する線維素溶解現象の発現は MacFarlane 変法では著しく、自律神経遮断剤ウィンタミン術前投与はある程度抑制的に働く。

3. 粘度法による Plasmin 値は健康人では対照値にくらべて大きな変動なく1.0秒以内に止まるに反して手術施行例にあつては明かに増加がみられるがその粘度低下は大部分が2.0秒以内に止まっている。加熱フィブリン平板法でも術後に明かに増加がみられるが、その大部分は3倍迄の面積増加となつている。

4. 活性 Plasmin を含む Plasminogen 値は粘度法では術前、術後の差は大部分が1.0秒以内に止まり、加熱フィブリン平板法にあつては大部分が2倍以内に止まり、総 Plasminogen 量は術前、術後で大差ないように思われるが、なお手術侵襲の影響を除外し得ない。

5. Antiplasmin を含む抑制因子の動態は、粘度法では症例の約46%に、加熱フィブリン平板法では約69%に、術後に Plasmin の抑制を認め、手術侵襲に伴う Plasmin の増加と関連する抑制因子の変動が認められる。即ちこの抑制因子の働きが全体としての手術侵襲時の線維素溶解現象の発現を抑制しているように思われる。

以上稿を終るにあたり終始御指導、御鞭達を賜つた恩師粟津教授に衷心より謝意を表する。本研究に懇篤な御教示を賜つた小平教授、浅田教授、持田製薬研究所小川氏に深く感謝する。

文

献

- 1) Dastre, A.: Fibrinolyse dans le sang. Arch. de physiol. norm. et path., Par., 5, 661-663 1833.
- 2) Biggs, R., MacFarlane, R. G., and Pilling, J.: Observation on fibrinolysis; experimental activity produced by exercise or adrenaline 1, 402-405 1947
- 3) MacFarlane, R. G., and Biggs, R.: Observation on fibrinolysis; Spontane activity associated with surgical operation, trauma. etc Lancet, Lond., 2, 862-864 1946
- 4) H. J. Tagnon: The significance of fibrinolysis in mechanism of coagulation of blood. J. Lab. & clin. Med. 27, 1119, 1942
- 5) Tagnon H. J., Levenson, S. M. Davson C. S & Taylor F. H. L.: The occurrence of fibrinolysis in Schock, with observations on the prothrombin time and the Plasma fibrinogen during hemorrhagic shock Am. T. M. Sc., 211, 88-96 1946
- 6) Müllerty, S. & Lasser, M.: An activator system inblood in dispensable for formation of plasmin by streptokinase. Proc. Soc. Exper. Biol & Med. 82, 264, 1953
- 7) Astrup, T.: Fibrinolysis in the organism. Blood. 11, 781-806 1956.
- 8) Müllerty, S.: Components interacting in the formation of plasminogen activator in human blood Thrombosis and embolism Basel, 1955, P 75
- 9) 畔柳武雄, 林主雄: 線維素溶解酵素. 日新医学, 38, 684. 昭26
- 10) Christensen. L. R.: Streptococcal Fibrinolysis: A proteolytic reaction due to a serum enzyme activated by streptococcal fibrinolysin J. Gen. physiol 23, 363-382 1945
- 11) Christensen, L. R & MacLeod B. M.: A proteolytic enzyme of serum: Characterization, activation and reaction with inhibitors. J. Gen. Physiol, 28, 559, 1945
- 12) Christensen. L. R.: The activation of plasminogen by chloroform. J. Gen. Physiol, 30, 149, 1946
- 13) Lassen. M.: Heat denaturation of plasminogen in the fibrin plate method. Acta Physiol Scandinav. 27, 371, 1952
- 14) Permin. P. M.: Properties of the fibrinokinase-fibrinolysin system. Nature, 160, 571, 1947.
- 15) Astrup. T. & Müllertz. S.: The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity, Arch. Biochem. & Biophys. 40, 346, 1952
- 16) 森田昌隆: Plasmin の意義に関する基礎的研究, アレルギー, 5, 341, 昭32.
- 17) 野田暉夫: 大量輸血に伴う出血傾向について, 血液と輸血, 4, 261, 1958.
- 18) 高橋宏: 輸血後出血傾向に対する Fibrinolysis の意義, 血液と輸血, 4, 259, 1958.
- 19) 門田昌和: 大量輸血時の出血傾向血液と輸血: 4, 5, 263, 1958.
- 20) MacFarlane & Bigg: Blood, 3, 1167, 1948.
- 21) 豊田健一: 手術に伴う線維素溶解について, 臨

- 床外科, 4, 6, 昭24.
- 22) 豊田健一: 日新医学, 37, 7, 昭24.
- 23) 赤沢喜三郎: 麻醉と線維素溶解について手術, 9, 62, 1955.
- 24) Imperati, L.: Riforma med.: 53, 1694, 1937.
- 25) Truelove, S. C.: Fibrinolysis and eosinopenia after surgical operations Cl. Sc.: 11, 107, 1952.
- 26) Coon, W. W. & Hodgson, P. E: Fibrinolysis in surgery patients. Surg. Gyn. Obst. 95, 717, 1952
- 27) Hodgkinson, C. P., Luzadre, L. H., Pifer, P. W., Swinehart, L. A. & Remp, D. G.: Hypofibrinogenemia and defects of coagulation. Obst. Gyn. 5, 465, 1955
- 28) Milwidsky, H. et al: Studies on fibrinolytic enzymes in patients undergoing thoracic surgery. J. Thoracic Surg.: 29, 6, 604, 1955.
- 29) Ungar, G. & Mists, H.: J. Exp. Med.: 90, 39, 1946.
- 30) 安部英: イオン交換樹脂を用いるフィブリノリジス測定法, 日本臨床: 15, 99, 1957.
- 31) Loomis, E. C., Ryder, A. & George, C. J.: Fibrinolysin: Nomenclature, unit, assay, preparation and properties. Arch. Biochem. 20, 444, 1948.
- 32) Lewis, J. H. & Fergusson, J. H.: Studies on a proteolytic enzyme system of the blood. J. Clin. Invest. 29, 486, 1950.