

血管壁 tissue activator の線溶系に及ぼす影響

京都大学医学部脳神経外科学教室（主任：半田 肇教授）

蝦 名 一 夫

〔原稿受付：昭和44年2月26日〕

Effect of the Tissue Activator of Vascular Walls on Fibrinolytic System in Dogs

by

KAZUO EBINA

The Department of Neurosurgery, Kyoto University Medical School

(Director : Prof. Dr. HAJIME HANDA)

A number of reports have been published on the fibrinolytic therapy for thromboembolic diseases. These studies demonstrate that administration of the excessive doses of fibrinolytic agents sometimes leads to hyperplasminemia resulting in fibrinolytic bleeding, hypo- or afibrinogenemia and other fatal complications. A great attention should, therefore, be paid throughout the course of the enzymatically induced thrombolysis.

On the other hand, it has well been known that the fibrinolytic activity develops under circumstances such as stress, trauma, anaphylaxis and emotional disturbances.

Should these non-enzymatically induced fibrinolysis be more pronounced and prolonged enough to resolve the intravascular clots, the endogenous fibrinolysis would be available for resolving the intravascular clots without accompanying any hazards.

The purpose of the present study is to clarify the mechanism of the endogenous fibrinolysis.

In the first series of the present experiments, tissue activators of vascular walls were extracted by low concentrated KCl and high concentrated KSCN and KCl solutions. Fibrinolytic activities of the extracts were estimated on the standard fibrin plates. The two types of tissue activator, free and bound form activator, were found to distribute in the veins and cerebral artery, whereas only the bound form activator was found in other arteries elsewhere in the body distributed mainly in the adventitial layer. It was also shown that free form activator is rapidly released on acute bleeding, mechanical stimulation and ischemia of the vascular walls.

In the second series of the experiments, fibrinolytic activity and vascular responses were investigated when autonomic vasomotor nerves stimulated. Electrical stimulation of the cranial cervical ganglion and the proximal stump of vagal nerve produced a moderate increase of fibrinolytic activity in the blood sample drawn from the sagittal sinus.

Stimulation of the vagal nerve was accompanied by a pronounced pressor effect which was considered as a result of firing up the pressor area in the medulla oblongata. Intravenous administration of vasodilator such as acetylcholine and histamine enhanced fibrinolytic activity much more than vasoconstrictor as norepinephrine did.

In the final series of the experiments, it was found that occlusion of the common carotid and vertebral arteries produced a dual phase of increased fibrinolytic activity in the sinus blood, the first phase being due to the cerebral collateral circulation and the second due to cerebral ischemia. Inhalation of a variety of mixed gases also induced a moderate degree of fibrinolysis especially when pure oxygen and 9% carbon-dioxide were given.

Results obtained from the present investigation demonstrate that vascular responses, either vasoconstriction or vasodilatation, may enhance endogenous fibrinolytic activity, however, its clinical application may be difficult because of its transient and poor activity.

結 言

近年、脳血管写の普及につれ、閉塞性脳血管障害の実態が次第に明らかになりつつある。従来我国の脳血管障害の大部分は脳出血であり、脳塞栓・脳血栓など閉塞性脳病変は比較的低率であるとされてきたが、ここ数年の統計では両者の比率がほぼ同率を示すようになった。これは最近の我国の生活環境・食生活の変遷により脳血管閉塞症の発生率が上昇しつつある事を示唆すると共に、脳血管写によつてその診断、特に脳出血性病変と脳閉塞性病変の鑑別が容易になった事実も見逃すわけにいかない。

最近の血管外科技術の進歩は大血管の閉塞性病変に対し、各種の血流再建術を可能にした。しかし大脳のようにそこに分布する血管口径が比較的小いという、酸素需要率が極めて高いため血流途絶が直ちに不可逆性変化に結びつくような臓器においては、血管閉塞部を手術的に開放して脳機能の回復を図ることは極めて困難である。

従つて現在の脳血管閉塞症に対する治療は側副血行路の形成を待つ保存療法、抗血液凝固療法、及び線維素溶解(線溶)療法に限られている。このうち抗凝固療方は血液凝固能を低下させることにより既存血栓の進展を防止することを主眼としたもので積極的に閉塞を開放する役割を果たす事は期待出来ない。

一方、線溶療方は血栓の主要構成成分であるフィブリンをその特異的蛋白分解酵素である plasmin で分解・崩壊させることにより血栓溶解(thrombolysis)を図ろうとするものであり、閉塞の開放という観点からはかなり積極的な方法であると評価してよい。

生体の線維素溶解系は恒常的に dynamic な動きをしているが、正常状態では強力な抑制系にマスクされ、その動きを正確に捕捉することは出来ない。従つて血栓溶解のように極めて高い線溶活性を必要とする時は、外部からこの系を賦活する酵素を投与しなければならない(exogenous activation)。

現在この目的で一般的に用いられているのが streptokinase (SK), urokinase (UK) である。SK, UK は夫々直接的・間接的に plasminogen を賦活して plasmin を形成し、非常に高い線溶活性を得ることが出来る。しかし生体の異常な線溶活性の亢進は、fibrinogenolysis に基く fibrinogen deficiency、凝固異常による oozing、血管透過性の変化、Kinin 形成系に対する影響等を伴い、さらに異種蛋白である SK を使用する場合は、antistreptokinase titer の個人差による投与量の調整、抗原抗体反応による anaphylaxis、精製技術の不備による不快な副作用などの危険があり、臨床上細心の注意が要求される。

一方、生体ではストレス、運動、外傷、ショック、情緒変化等に際しかなり線溶活性が上昇することが知られている。その活性化機構は現在未だ解明されていないが、血栓溶解に応用可能な程度の強さと持続時間をもつものであれば、前述の exogenous activation に伴うような副作用もなく、比較的生理的な状態で thrombolysis を図ることが可能であろう。以上の観点から本実験では血管壁を中心として線溶系の endogenous activation の解明を試みた。

第1章 血管壁の tissue activator

I 実験方法

1) 実験動物

8~12kgの雑種成犬に過量の nembutal (50 mg/kg) を静脈投与し急性屠殺した。直ちに胸部大動脈, 下行大静脈, 股動静脈, 総頸動脈, 外頸静脈, 脳動脈, 硬膜及び大脳を摘出し, 附着した血液は生理食塩水で十分洗滌した。胸部大動脈は内・中・外膜の3層に分離して測定した。

2) 2M KSCN による tissue activator の抽出

Astrup³⁾ の方法に従った。湿重量 100mg の血管組織片を細切し, 2M KSCN 3 ml を加え Potter型 homogenizer で10分間 homogenate した。これを室温に2時間放置した後, 2,500 r.p.m., 20分遠心分離, その上清 1 ml を試験管に移し 7 ml の蒸留水を加えて希釈, NHCl を滴下して pH=1 に調整した。そのまま15分放置してから再び 2,500 r.p.m., 20分遠心して得た白色微量の沈渣を 1 ml の 2M KSCN に再溶解し NaHCO₃ で中和して tissue activator の検体とした。

3) 0.15M KCl 及び 2M KCl による tissue activator の抽出

杉山・岡本の方法⁴⁸⁾⁴⁹⁾の変法を用いた。各組織 200 mg を細切し 0.15M KCl 4 ml を加え, ポリエチレン管内で Ultra-Trax を用い数分 homogenate した。これを氷水中に1時間放置した後, 5,000 r.p.m., 20分遠心分離しその上清を free form activator の検体とした。又残りの沈渣に 2M KCl 4 ml を加えて軽く攪拌し再度1時間氷水中に放置した後, 同じ条件で遠心して得た上清を bound form activator の検体とした。

4) tissue activator の測定

tissue activator の測定には, Astrup, Müllertz⁴⁾ の fibrin plate method を用いた。

即ち 2M KSCN による tissue activator 抽出群では, bovine Fibrinogen (Armour) の凝固性を Gram の変法で測定のうへ, veronal buffer (pH 7.4) で溶解し, 0.12~0.15% の bovine Fibrinogen 溶液を作製した。底面の平滑な直径 9 cm のペトリシャーレに 10ml の Fibrinogen 溶液を入れ, すばやく bovine Thrombin (60u/ml) を 3 滴加えて均等に混和攪拌し水平位に調整したガラス板上に静置した fibrin plate を使用した。

一方 0.15~2M KCl 抽出群では, bovine Fibrinogen 50mg を borate saline buffer (pH 7.4) 10ml に溶解し bovine Thrombin (25 u/ml) 0.5ml をすばやく加えて作製した fibrin plate を使用した。

抽出検体の tissue activator の同定には, 組織中の plasmin 活性の除外及び特異的 inhibitor による抑制効

果を検討する必要がある。

plasmin 活性の測定は Lassen³⁵⁾ の加熱平板法に従った。

tissue activator の抑制効果はその inhibitor である ϵ -aminocaproic acid (EACA) 及び t-aminomethylcyclohexane carboxylic acid (t-AMCHA) を用い, その最終濃度が 10^{-2} ~ 10^{-3} M 程度になるように調製した fibrin plate で検討した。

以上の各種 fibrin plate 上に正確に抽出液 0.03ml を置き, 37°C, 18時間 incubate して得た溶解窓の大きさ(長径×短径)で tissue activator の測定値とした。測定は全て duplicate で行いその平均値をとった。

II 実験成績

Table 1 にその成績を示す。2M KSCN 抽出群の測定値が 2M KCl 抽出群の測定値より大きいのは fibrin plate の基質濃度が異なるためである。

Table 1 Tissue activator of canine vascular wall was extracted by low and high concentrated KCl and KSCN solution. The fibrinolytic activity was estimated on the standard fibrin plate. Figures shown in the table indicate the lysis area on the plate. " : incomplete lysis.

Artery		2M KSCN	0.15M KCl	2M KCl
aorta	intima	0	0	0
	media	0	0	0
	adventitia	55	43	89
carotid artery		114	0	49
femoral artery		85"	0	30"
cerebral artery		324	53	125
Vein		2M KSCN	0.15M KCl	2M KCl
caval vein		93	56	100
jugular vein		114	42"	72
femoral vein		—	16"	61
		2M KSCN	0.15M KCl	2M KCl
dura		118	36	81
brain		121	0	90

胸部大動脈のような大血管を3層に分離して測定すると, tissue activator はいずれの抽出でも外膜のみに存在し, 内・中膜には認められない。胸部大動脈の組織片を外膜を下にして fibrin plate 上に置くと大きな溶解窓が得られるのに, 内膜を下にして置くとフィブ

リン溶解が認められない事からもこの事実を確認出来る。総頸動脈、股動脈は3層に分離することが技術的に困難なため全層のまま抽出測定したか、総頸動脈では2M KSCN 抽出群、2M KCl 抽出群共にかなりの高値を示すが股動脈の tissue activator は比較的少ない。

脳動脈は湿重量80mg前後の検体しか得られないが、非常に多くの tissue activator を含んでいる。脳動脈を更に細区分して 2M KSCN で抽出すると、前大脳動脈 (20mg) 206, 中大脳動脈 (65mg) 289, 椎骨脳底動脈 (27mg) 195 となり試料重量で校正すると脳動脈の部位による tissue activator の 分布差は認められない。

下行大静脈, 外頸静脈, 股静脈など静脈の tissue activator は同じ size の動脈より必ず多い。

硬膜及び大脳にも tissue activator は含まれているが、大脳皮質と髄質の測定値に大きな差異は認められない。

最近、イオン強度の異なる KCl 溶液で tissue activator を抽出すると、等張抽出液で遊離する tissue activator と高張抽出液ではじめて抽出されてくる tissue activator があり、夫々 molecular size が異なる事が知られている⁽⁴⁸⁾⁽⁴⁹⁾。前者は free form activator, 後者は bound form activator と呼ぶ。この抽出法に従うと、胸部大動脈の内・中膜はやはりいずれの tissue activator も欠如しているが、外膜は両型の tissue activator を含むことが判る。総頸動脈、股動脈は bound form activator のみ認められ free form activator は証明出来ない。しかし大動脈の tissue activator は外膜のみに存在する事、しかも総頸動脈・股動脈の検体はいずれも血管全

層を対象としているため、外膜の占める割合が少ないことを考慮すると、これら血管外膜に free form activator が存在している可能性は否定出来ない。

脳動脈は非常に高い両型の tissue activator を含む。脳組織から脳動脈のみを完全に分離することは困難で、脳実質或いは軟膜が混入したまま抽出測定している可能性がある。この contamination の影響を検討するため、dissection-microscope で微量の脳動脈と軟膜・脳実質を完全に分離して測定すると Table 2 に示す如く軟膜の活性値が脳動脈より高いため、この混入は両型共にその値を若干高めるが、混入の割合が少ない限りその影響は殆ど無視してよいものと考えられる。

Table 2 It is almost impossible to dissect cerebral arteries free from the surrounding tissues. Each tissue activator activity was estimated on the fibrin plate after cerebral arteries were separated completely from the pia mater with the use of a microscope.

	×100	0.15M KCl	2M KCl	tissue piece
cerebral artery		36''	56	312
cerebral artery and pia		49''	72	360
pia		—	—	357

静脈系の特徴は、いずれも多量の tissue activator を含みしかも必ず free form activator が存在することである。同じく硬膜にも free form activator が存在するか、脳実質は正常状態では決して free form activator を証明出来ない。

これらの検体はいずれも加熱平板を溶解しないこと

Table 3 Inhibitory effect of EACA and t-AMCHA was investigated in-vitro. All of the tissue activators were inhibited completely either by 10⁻³M EACA or 10⁻³M t-AMCHA

	0.15M KCl	10 ⁻³ M EACA	10 ⁻² M EACA	10 ⁻³ M t-AMCHA	2M KCl	10 ⁻³ M EACA	10 ⁻² M EACA	10 ⁻³ M t-AMCHA
aorta { intima	0	0	0	0	0	0	0	0
media	0	0	0	0	0	0	0	0
adventitia	13	0	0	0	89	0	0	0
carotid artery	0	0	0	0	49	0	0	0
femoral artery	0	0	0	0	30''	0	0	0
cerebral artery	53	0	0	0	125	66	0	0
caval vein	56	0	0	0	100	0	0	0
jugular vein	42''	0	0	0	72	0	0	0
femoral vein	16''	0	0	0	64	0	0	0
dura	36	0	0	0	81	0	0	0
brain	0	0	0	0	90	0	0	0

から血管組織中に plasmin 活性はないことを示す。又、EACA, t-AMCHA の in vitro での抑制効果をみると (Table 3), 10^{-3} M EACA で脳動脈 bound form activator が一部抑制されない以外、他の tissue activator はこれらの inhibitor で完全に抑制される。この2点から Table 1 に掲げた値は夫々各血管組織の tissue activator の値と見做すことが出来る。

III 考 察

Astrup 一派が確立した tissue activator の抽出ならびに測定法を用い、ヒト・動物の組織・体液の tissue activator の分布が報告されている¹⁾²⁾⁴⁾⁵⁾。血管壁の tissue activator については動脈硬化症の発生病理学的立場から主として動脈硬化度と tissue activator との相関について検討されている⁵⁾⁸⁾⁹⁾¹⁹⁾³⁷⁾。これ等の報告によるとヒト・動物の動脈内・中膜の tissue activator は僅少か欠如しているのに対し、外膜には多量の tissue activator が含まれているという点で意見の一致をみている。一方静脈の tissue activator は内・中・外膜の3層に均等に分布している⁵⁾¹⁸⁾。犬を用いた本実験でも3層に分離測定可能な胸部大動脈ではこれと全く一致する成績を得た。しかし下行大静脈は非常に菲薄で分離測定は不可能なため内・中・外膜に於る tissue activator の局在は確認出来なかつた。

一般に size の等しい動脈と静脈を比較すると静脈の tissue activator が高い傾向を示した。

Todd⁵⁾¹⁾⁵²⁾⁵³⁾、Kwaan³²⁾、Warren⁵⁾¹⁾⁵⁷⁾等の fibrinolysis autograph による組織化学的研究では、血管壁の tissue activator は動脈外膜の vasa vasorum や静脈内皮細胞に認められ、動脈内皮細胞には全く認められていない。従つて動脈から抽出された tissue activator は外膜の vasa vasorum 由来のものと考えられる。

最近、組織の activator を KSCN, KCl, KI, NaCl, Sucrose 等で抽出すると夫々耐熱性、耐酸性が異なることから tissue activator の多様性が指摘されている⁴¹⁾⁴²⁾。組織を subcellular unit に分離し、各分画を 0.15 M KCl 及び 2M KCl で抽出すると、0.15M 抽出 tissue activator は lysosome から 2M KCl 抽出 tissue activator は lysosome 及び microsome から遊離し、sephadex ゲル濾過法で夫々 molecular size の異なることが知られている⁴⁸⁾⁴⁹⁾。前者は細胞顆粒から容易に放出され (free form activator)、後者は正常の状態では顆粒膜と強固に結合している (bound form activator)。血管壁は細胞成分が少なく subcellular level での検討が出来ないため、本実験ではそのまま 0.15M KCl 及び 2M KCl で

抽出した。bound form activator は 2M KSCN 抽出 activator とほぼ一致した分布を示した。free form activator は大動脈外膜、脳動脈、硬膜にも存在するが、静脈系に必ず認められるのが大きな特徴である。この事実は endogenous fibrinolysis の活性化機構は静脈内皮細胞からの tissue activator の放出によるという従来の仮説¹¹⁾²⁴⁾³⁴⁾に根拠を与えるものである。

組織には activator と共にその inhibitor も含まれているが、血管壁を 2M KSCN で抽出しただけの検体と pH=1 に調整して inhibitor を除去する操作を行った検体とでその活性値に相異が認められないことから、大血管壁には inhibitor は殆ど存在しないものと考えられる。

第2章 血管壁 tissue activator の放出

I 実験方法

1) 脱血による血管壁 tissue activator の放出

犬腹腔内に nembutal (25 mg/kg) を投与して麻酔し股動脈からポリエチレン管を腹部大動脈まで挿入した。これに三方活栓をつけ、日本光電製 transducer 及び 2 channel polygraph に連結し全身血圧を測定した。三方活性から脱血速度 1 ml/kg/min で急性脱血を行い、各 100 ml ごとに 9 ml の血液を線溶活性測定のため採取した。収縮期血圧が 30 mmHg 以下になると脱血速度は急速に低下し、多くの場合全量 500 ml で犬は死亡した。採取した血液 9 ml に直ちに 3.8% citrate 1 ml を加え、2,000 r.p.m., 10分遠心して血漿を分離した。この血漿から更に euglobulin fraction を分離し、fibrin plate を用いて線溶活性の測定を行った。死亡した犬は直ちに剖検し、前章に述べた方法に従い血管組織の tissue activator を測定した。

a) euglobulin fraction の作製。

血漿 0.5 ml に冷却した蒸留水 9.5 ml を加え 1% acetic acid を滴下。よく攪拌混和しながら pH=5.2 に調整した。これを氷水中に 30~60分放置し、3,000 r.p.m., 10分遠心分離、上清を捨て沈渣を borate saline buffer (pH 7.4) 0.5 ml で再溶解し euglobulin fraction 溶液として使用した。

b) 血液線溶活性の測定

standard fibrin plate 及び heated fibrin plate に夫々 0.03 ml の euglobulin 溶液を置き 18時間 incubate 後、その溶解窓の大きさで活性度を表現した。測定値は全て duplicate で行いその平均値をとつた。

2) repeated pumping による tissue activator の放出

麻酔犬に約10cmの頸部正中切開を加え、一側総頸動脈及び外頸静脈を周囲組織から完全に剝離、露出した。血管の近位端を結紮し、血液を手動的に末梢側に送り込み、遠位端を結紮すると、約10cmの isolated segment が作製出来る。総頸動脈では上甲状腺動脈から、外頸静脈では流入する小枝を介して細いポリエチレン管を血管腔内に挿入固定し、この管を通して Hank's dextran solution (pH7.4) で pumping を行つた。即ち Hank's dextran solution 2 ml を静かに全量注入し、次いで吸出する。この操作を2度繰返した solution を小試験管に移し直ちに氷水中に保存する。tube number 20まで同様の操作を行つた。isolated segment の中に殆ど血液の残存はなかつたが、少しでも血液が混入したものは実験から除外した。この solution 0.03 ml を standard fibrin plate 及び heated fibrin plate におき、18時間 incubate して solution の線溶活性を測定した。

3) 血管壁の ischemia による tissue activator の放出
前項と同様の方法で isolated segment をつくり、同一犬から前もつて分離した血漿 2 ml を注入、留置した。isolated segment の乾燥を防ぐためその周囲は湿つた綿花で保護した。30分後この血漿を取出し、次いで新しい血漿を注入、この操作を30分間隔で繰返し、3時間にわたつて行つた。採取した血液から直ちに eu-globulin fraction を分離し、線溶活性の測定を行つた。一方反対側の総頸動脈、外頸静脈にも同様の操作を施した後摘出し、その tissue activator を測定した。

II 実験成績

1) 脱血による tissue activator の放出

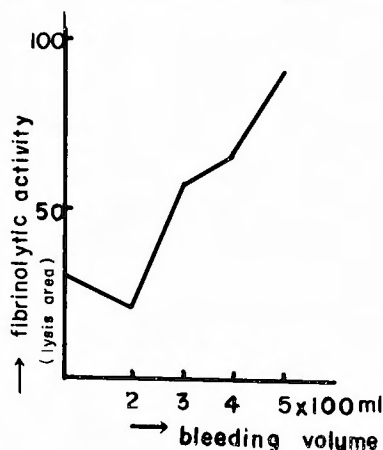


Fig. 1 Fibrinolytic activity of blood increases gradually as the volume of bleeding increases.

1 ml/kg/min の速度で脱血し、100ml 毎にその血液線溶活性を測定したものが Fig. 1 である。脱血量が 200ml を越すと次第に血液線溶活性が上昇する。この活性値の上昇は standard fibrin plate でのみ認められる事から血液 activator activity が増加したことを示している。

一方、この際の tissue activator (Table 4) を Table 1 と比較すると、元来 free form activator をもつ血管

Table 4 Figures shown in this table present the tissue activator activity of vascular walls in animals died of acute bleeding. Note that 0.15M KCl-extracted tissue activator activity is lower than that shown in Table 1.

	0.15M KCl	2M KCl
aorta	intima	0
	media	0
	adventitia	68
carotid artery	60	25
cerebral artery	0	120
caval vein	53	121
jugular vein	0	121
dura	90	64
brain	0	81

(脳動脈、外頸静脈、下大静脈)ではこれが消失・減少し、free form activator を欠くか、僅少な血管(胸部大動脈、総頸動脈)では逆に増加の傾向を示めている。bound form activator には一定の変化は認められない。脱血速度を 5 ml/kg/min にすると血管壁及び硬膜の free form activator は完全に消失する。即ち血管壁の free form activator は急性脱血という emergency に際し速かに流血中に放出されることを物語る。

2) repeated pumping による tissue activator の放出
isolated segment に電解質・膠質浸透圧の点で生理的な Hank's dextran solution を入れ、極く弱い機械的刺激を加えて溶液中に現われる線溶活性を測定したのが Fig. 2 である。総頸動脈を pumping しても solution には殆ど線溶活性の獲得は認められない。一方外頸静脈では pumping 開始と同時に線溶活性が出現する。

solution の線溶活性は standard fibrin plate でしか認められない事からこの曲線は activator が放出された事を示している。静脈では極く軽度の機械的刺激により静脈壁面或いは壁内の activator が容易に血管腔に放出されるが、動脈ではこの現象が認められないこ

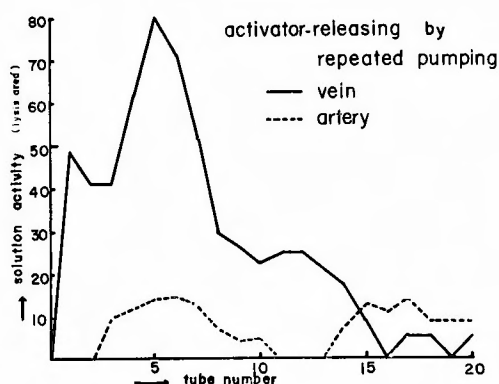


Fig. 2 Isolated segments of the artery or vein were mechanically pumped with Hank's dextran solution. Fibrinolytic activity was found to be more marked in the solution obtained from the vein than that from the artery.

とから、既に前章で述べた如く外頸静脈の activator は free, bound 両型をもつのに対し総頸動脈は bound form のみである事を考慮すると、本実験に於る線溶活性獲得の本態は free form activator の放出に基くものと考えられる。

3) 血管壁の ischemia による tissue activator の放出

総頸動脈、外頸静脈を周囲組織から完全に剝離し、血管を結紮して血流を遮断すれば血管壁自体が乏血状態に陥る。この中に血漿を入れ経時的にその線溶活性を測定したのが Fig. 3, 4 である。総頸動脈では50%前後の線溶活性増加をみるに過ぎない。一方外頸静脈では注入時30分以内に最高値に達し、100%前後の増加率を示す。総頸動脈では時間の経過と関係なく plateau な曲線を描くのに対し、外頸静脈では90~120分後にほぼ control のレベルまで下降する。従つて外頸静脈壁が乏血状態に陥ると、最初の30分以内に tissue activator が速かに放出されるものと考えられる。これに反し総頸動脈では活性値の上昇は軽度である。この事実は既述の如く、外頸静脈には両型の activator が存在し、しかもその活性が高いのに反し、総頸動脈は free form activator を欠き、bound form activator も少ない事に基因している。

一方、activator 放出後の血管壁の tissue activator を測定すると Fig. 5 の如く、総頸動脈では殆ど変化がないのに、外頸静脈では乏血後60~120分で free form, bound form activator が共に減少しており、これは乏血状態に陥った血管壁の tissue activator が内腔に放出された事を示している。



Fig. 3 Homogenous plasma was injected in the ischemic arterial segment and the fibrinolytic activity of the plasma estimated at intervals of thirty minutes. Percentage increase of the activity may be considered to be negligible when compared with that of ischemic venous segment.

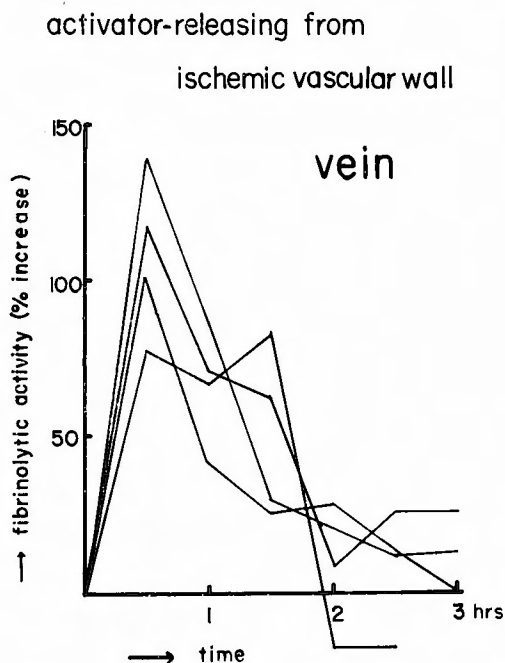


Fig. 4 Fibrinolytic activity of plasma was increased immediately after homogenous plasma was injected in the ischemic venous segment.

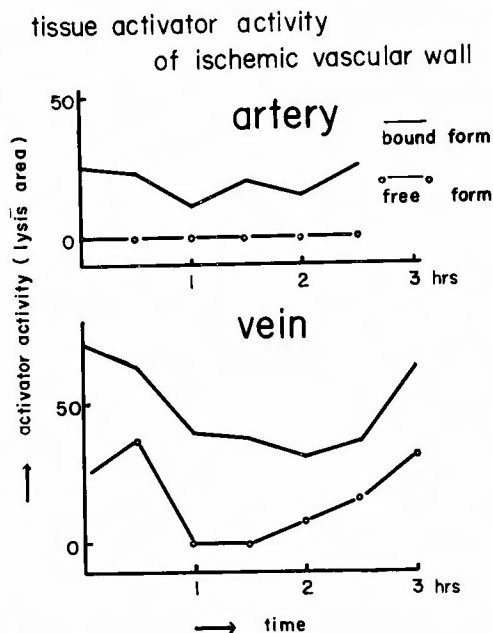


Fig. 5 Tissue activator activity of the vein was reduced under the ischemic condition of the vascular wall, whereas no alteration was observed in the artery.

III 考察

生体の線溶活性が種々の条件下で賦活されるという観察は既に一般的に容認された事実である。しかしその活性化機構の詳細は現在未だ解明されていない。

急性屍体の血液は凝固性を失い流動性を保っているという現象は以前から知られていた。Mole¹⁰⁾はこの際の血液の流動性は末梢にいく程著明であり、その血液には fibrinolysin (plasmin) が必ず認められること、血管口径と血液 fibrinolysin 活性は逆相関々係にある事を確めた。この観察は血液線溶活性が脈管系と密接な相関々係にあることを示唆している。

犬の血液を急速に脱血していくと、多くの場合 200 ml を越す頃から血液線溶活性は徐々に上昇する。一方血管壁の tissue activator をみると脳動脈、下行大静脈、外頸静脈の free form activator は一様に消失・減少する。bound form activator には著明な変化は認められない。この事から急性脱血による血液線溶活性の上昇は血管壁 free form activator が何らかの機序で放出されたことを示唆している。その要因をモデル化して検討したのが実験 2) 3) である。Hank's dextran solution 自体には勿論線溶因子のいずれも含まれてい

ない。しかしこれを静脈の isolated segment の中に入れ軽い機械的刺激を加えると直ちに activator 活性を示すようになる。standard fibrin plate の最低測定限界は 16~25 であるため、これ以下の値は定量性に若干の疑義があるが、36 以上のものは complete lysis を示すことから、相当多量の tissue activator が solution 中に放出されるものと考えられる。

又、外頸静脈を乏血状態に陥し入れるとその中の血漿は 30 分以内に control に比し 100% の線溶活性を獲得する。血漿は線溶因子の全てを含んでいるが、正常状態では抑制系にマスクされその活性値は極めて低い。しかし乏血状態の isolated segment の中に入れると短時間で線溶活性は速かに上昇する。一方血管壁の tissue activator は次第に減少する。この事は血管壁から tissue activator が組織の乏血に伴い内腔に移行していることを物語る。しかし総頸動脈では、機械的刺激、乏血状態でも tissue activator の異動は認められない。これは総頸動脈のような大血管では、内・中膜に tissue activator を欠き外膜にしか含まれていないこと、しかも free form activator がいないことと関連している。

これまでも血液線溶活性の上昇に静脈特にその内皮細胞が関与していると推測されていた¹⁰⁾¹¹⁾¹³⁾¹⁵⁾²⁵⁾³⁴⁾³⁹⁾⁵⁰⁾。例えば、静脈を露出し pinch を加えると 15 秒後にはその部位を還流した血液の活性が亢進したり、非観血的に上肢に静脈閉塞をつくると静脈血の線溶活性が著しく上昇することが知られており、 O_2 飽和度の変化¹⁵⁾、組織分解産物¹⁵⁾、組織 anoxia、静脈拡張に伴う血管内皮細胞の脱落²⁵⁾等がその要因と考えられている。本実験では静脈壁に加えられた機械的刺激、静脈壁の ischemia が著明な線溶性の上昇をもたらすこと、それは静脈壁の tissue activator 特に free form activator の放出に基くものである事を確めた。しかし tissue activator の分布は毛細血管、小静脈より著明であり³²⁾⁵¹⁾⁵²⁾⁵³⁾⁵⁶⁾⁵⁷⁾、犬では脳動脈で特にその活性が強い。これら小血管の tissue activator が血液線溶活性に如何なる影響を与えるか検討することが更に他の要因を求める手懸りになる。

第3章 自律神経系と線溶活性

A 自律神経刺激と線溶活性

I 実験方法

約 10 kg の雑種成犬の腹腔内に nembutal (25 mg/kg) を投与し、必要に応じて適宜追加した。これに気管内挿管し、京大式人工呼吸器に連結、換気条件を一定に維持

した。股動脈から腹部大動脈にポリエチレン管を挿入し全身血圧を連続記録した。まず頭皮に矢状切開を加え、骨窓をうがち上矢状静脈洞を露出した。続いて頸部正中切開で一側迷走神経を周囲から剝離しつつ上方に辿ると、総頸動脈分岐部のやや上方後部に小豆大、扁平状の上頸部交感神経節が存在する。又、迷走神経を更に後上方にむけ剝離を進めると、頸静脈孔の直前に紡錘状の節状神経節がある。この2つの神経節を十分剝離の後、次の操作を行った。

1) 上頸部交感神経節刺激

頸部で一側迷走神経と交感神経索を切断し刺激が心臓側に伝達しないようにした後、節状神経節の近位をも切断した。上頸部交感神経節から内頸動脈に分岐している神経線維は可及的温存した。

2) 節状神経節刺激

上頸部交感神経節を周囲から完全に剝離、摘出した。又、頸部で迷走神経、交感神経索を共に切断した。

3) 刺激装置及び刺激条件

電気刺激装置として日本光電製 electrical stimulator を用いた。電極は縫針をカシューで絶縁して使用した。刺激部位の乾燥を防ぐため周囲を湿った綿花で覆

い、隣接組織の保護及び絶縁の目的から薄いゴム膜で被覆した。上頸部交感神経節に刺激が加わると同側瞳孔は最大限に散大するのでこれを指標とした。節状神経節は大きくて電極の刺入、固定は容易である。刺激条件は主として vascular response を観察する目的から frequency 20/sec. duration 2 msec, delay 0.05 msec の方形波を用い²²⁾, potential は Fig. 6, 7 に示す予備実験から 5 V が線溶動態の観察に最適と判明したので全て 5 V で行つた。

4) 線溶活性測定

上矢状静脈洞から外径 1 mm のポリエチレン管を confluence sinuum まで挿入固定してそこから採血し、次の項目を測定した。

a) fibrin plate method : standard fibrin plate, heated fibrin plate を用い、euglobulin をその検体とした。値は夫々 activator activity, plasmin activity として取扱つた。

b) euglobulin lysis time : von Kaulla⁵⁵⁾ の方法に従つた。即ち euglobulin 0.5 ml を小試験管にとり Thrombin 0.1 ml (20u/ml) を加えてすばやく攪拌し、37°C の恒温槽で incubate, 気泡が clot の半分まで上昇

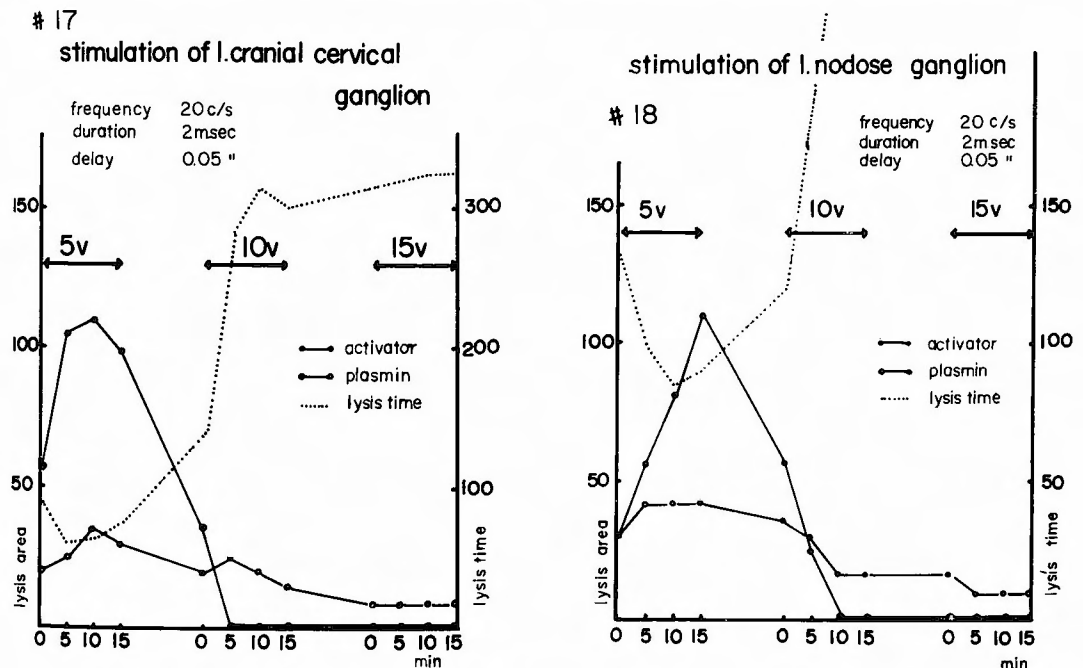


Fig. 6, 7 Fibrinolytic activity of the blood obtained from the superior sagittal sinus was estimated when the cranial or nodose ganglion was stimulated with electric current of 20c/s in frequency, 2 msec in duration and 0.05 msec in delay. The current of 5V in out-put was found to be most effective to enhance fibrinolytic activity on stimulating either ganglions.

Table 5 After the electrical stimulation of the cranial cervical and nodose ganglion, fibrinolytic activity was estimated by the fibrin plate and euglobulin lysis time methods.

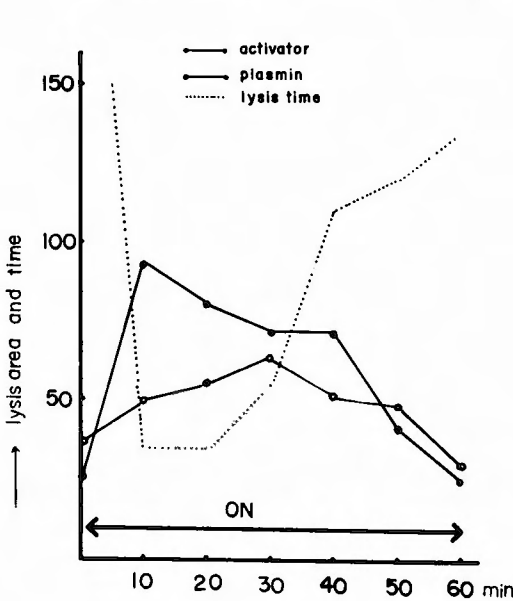
Stimulation of cranial cervical ganglion

No.	standard plate							heated plate						
	control	10	20	30	40	50	min 60	control	10	20	30	40	50	min 60
4	64	80	100	125	132	170	140	30	25	30	49	49	49	64
11	108	135	117	84	77	56	—	36	42	36	25	30	36	—
13	90	130	115	85	95	55	45	49	56	46	36	36	36	33
15	25	81	42	9	16	—	—	36	36	36	36	36	—	—
22	16	31	30	25	25	25	0	30	36	30	30	30	30	30

Stimulation of nodose ganglion

No.	standard plate							heated plate						
	control	10	20	30	40	50	min 60	control	10	20	30	40	50	min 60
5	56	96	90	99	108	115	100	36	39	36	39	42	42	42
8	25	70	63	117	72	48	42	25	42	33	42	64	49	49
12	25	95	90	72	72	42	25	36	49	56	64	52	49	30
19	42	56	49	36	36	—	—	36	36	36	36	36	—	—
20	64	80	100	67	56	68	72	36	36	30	25	30	42	49

#12 stimulation of I.nodose ganglion



#13 stimulation of I.cranial cervical ganglion

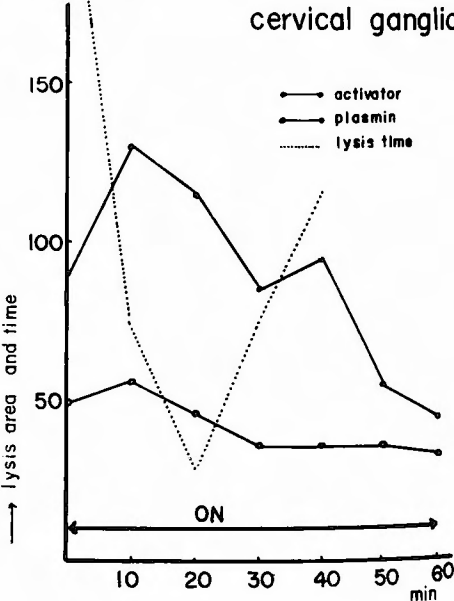


Fig. 8, 9 After the electrical stimulation of the cranial cervical and nodose ganglion, fibrinolytic activity was estimated by the fibrin plate and euglobulin lysis time methods.

した時間をもつて euglobulin lysis time とした。

c) plasminogen : euglobulin 0.2 ml に urokinase 0.2 ml (500u/ml) を加え, 37°C, 10分 incubate したものを heated plate で測定した。

d) whole plasmin : plasma 0.2 ml に streptokinase 0.2 ml (1,000u/ml) を加え, 37°C, 10分 incubate したものを heated plate で測定した。

e) antiplasmin : plasma 0.5 ml に standard plasmin として Lysofibrin Novo 0.1 ml (10 u/ml) を加え, 37°C, 10分 incubate したものを heated plate で測定した (B). control は borate saline buffer 0.5ml を用いた (A), antiplasmin 値は $A-B/A \times 100$ で表現した。

II 実験成績

上頸部交感神経節, 節状神経節の片側刺激の成績を Table 5, Fig. 8, 9 に示す。上頸部交感神経節を刺激すると最低25%から最高225%, 平均110%の線溶活性の増加を来す。刺激開始から最高値に達するまでの時間 (appearance time) は5例中4例まで10分前後で, それ以後は下降をたどり, あるものでは刺激中にもかかわらず control より低値を示す。heated plate ではこの上昇率は極く僅かである。従つて standard plate と heated plate の基質感受性を考慮に入れても, この線溶活性の上昇は activator の上昇に基くものである。

節状神経節を刺激すると, その刺激は当然 antidromic に上行し迷走神経核を介し各部に放散する。この際線溶活性は最低38%から最高308%, 平均増加率146%で上頸部交感神経節刺激の増加率を上回る。しかも刺激中その活性値が control より低下することはない。節状神経節刺激においても heated plate の変化は少なくこの線溶活性の増加も主として activator の増加に基く。この刺激を反覆すると Fig. 10 のごとく再度の刺激に対する反応を失う。

以上の成績から節状神経節刺激の方が上頸部交感神経節刺激より高い線溶活性化を来すと考えられるが, Table 5 より明らかな如く症例により個体差が大きく一概にその平均増加率のみからその反応強度を比較出来ない。そこで同一犬の上頸部交感神経節を刺激し, 次いで節状神経節を刺激してその異動を求めたのが Fig. 11 である。第1の peak は上頸部交感神経節刺激, 第2の peak は節状神経節刺激のものである。明らかに節状神経節刺激状態の方が強い線溶活性を引起している。第3の peak は総頸動脈に histamine を投与したものであるがこれについては次節で検討する。

この一連の実験において whole plasmin, plasmino-

8 repeated stimulation of l. nodose ganglion

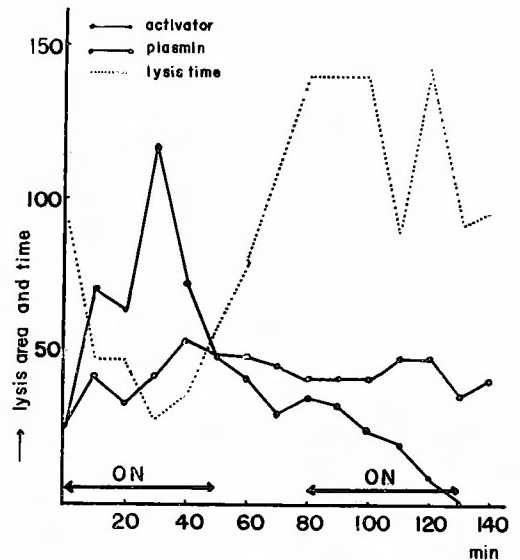


Fig. 10 The second stimulation did not show any response when the nodose ganglion was stimulated twice.

stimulation of l. cranial cervical ganglion and l. nodose ganglion and intracarotid inj. of histamine

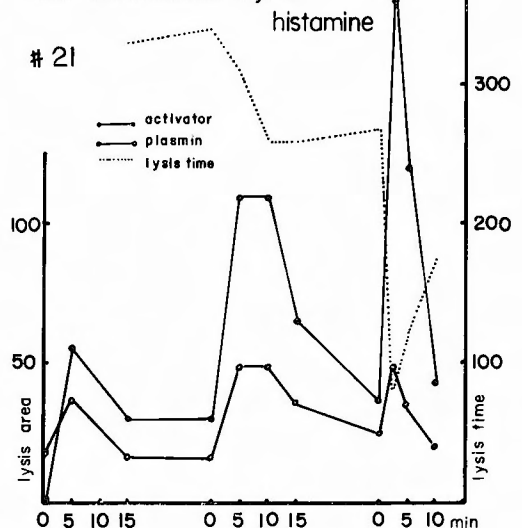


Fig. 11 Stimulation of the cranial cervical ganglion was followed by that of nodose ganglion. The latter procedure enhanced fibrinolytic activity much more than the former.

gen, antiplasmin も測定したが, whole plasmin が activator の動きと平行した他, plasminogen, antiplasmin に変化は認められなかった。従つて本実験の線溶活性の上昇には antiplasmin の減少は関与していないものとする。

この刺激実験では全症例に全身血圧の連続記録を行った。上頸部交感神経節刺激では, 刺激直後に血圧が軽度下降し数秒のうちに旧に復す (Fig. 12 A)。節状神経節を刺激すると収縮期血圧は直ちに 50~100mm Hg 上昇し脈圧も増加する。血圧上昇は数分続くとときには刺激中持続することもある。Fig. 12 C の如く軽度の徐脈を伴うこともあるが心搏数に変化を認めないことが多い。上頸部交感神経節刺激による刺激効果は主として頭部末梢血管に対する影響であるのに対し, 本実験での節状神経節への刺激は著明な血圧上昇を伴うことから考え広範な全身性の脈管性変化を引起

しているものと考えられる。両者を刺激すると線溶性の強さ, appearance time に差がみられたか, この差は刺激効果の及ぶ部位と範囲の違いに基因していると思われる。

III 考察

脳血管の tone は血液の PO_2 , PCO_2 , pH などの化学的因子や, 脳血管に分布する自律神経及び脳組織の代謝の影響をこうむり, 主として脳血管床の増減を左右する。脳血管の自律神経支配に関する報告は多数あるが⁽¹²⁾⁽¹⁷⁾⁽²⁰⁾⁽³³⁾⁽³⁸⁾, 脳血管に対して vasoconstrictor の作用をはたすのは上頸部交感神経系であることに異論はない。上頸部交感神経節を介した神経線維は internal carotid nerve となつて内頸動脈の背側を上行し頸動脈管に入り, ここで枝分れて内頸動脈周囲を取巻く神経叢を形成する。この神経叢はさらに上行し, 前大脳動脈, 中大脳動脈を取巻きながら末梢に及ぶ。又, 椎

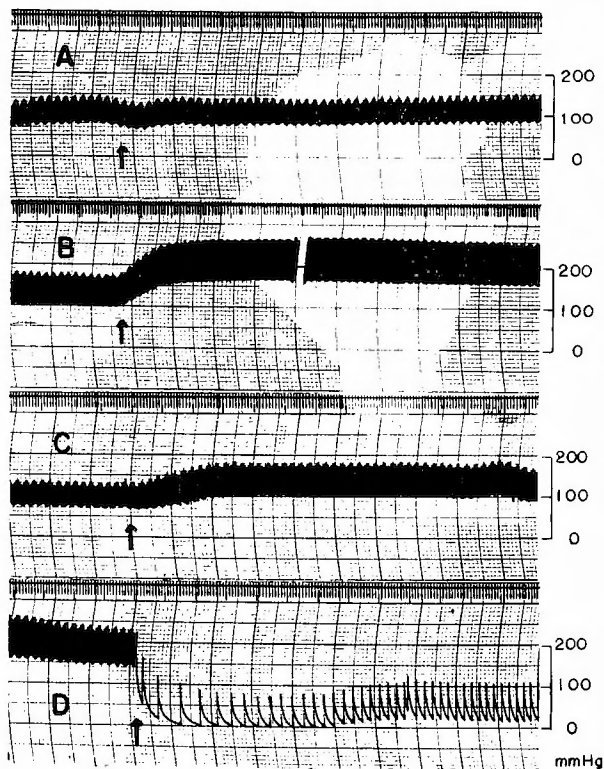


Fig. 12 On stimulation of the cranial cervical ganglion systemic blood pressure falls slightly and then returns to normal level in a few seconds. B shows a pronounced rise of systemic blood pressure immediately after the stimulation of the central stump of nodose ganglion. The increase of the blood pressure was sometimes accompanied by bradycardia as shown in C. Stimulation of the distal end of the vagal nerve resulted in a marked fall of blood pressure.

骨動脈系は星芒神経節及び中部交感神経節から出た vertebral nerve によつて支配される。これまでの報告¹⁹⁾では、脳底動脈の起始部から上 1/3 まで vertebral nerve の分布があるとされていたが、螢光法による組織化学的追跡では³¹⁾、脳血管の noradrenergic fiber の分布は全て上頸部交感神経節起源であり、vertebral nerve は頸部椎骨動脈を支配するだけである。

従つて上頸部交感神経節刺激による脳血管の tone の変動は頭蓋内血管の全域にわたるものと考えられる。上頸部交感神経節刺激で pial artery の口径は 8～10% 収縮し²¹⁾、血流量は 29.9% 減少する³⁸⁾。本実験で認められた線溶活性の上昇はこの脳血管の tone の変動と密接に関係している可能性がある。即ち上頸部交感神経節が刺激されると神経終末部から noradrenaline が放出されて vasoconstriction を起こす。大脳血管壁には多量の tissue activator が含まれており、血管収縮に伴う局所の anoxia, vasa vasorum の血行不全による血管壁自体の ischemia などの機転が作用し、この activator が一過性に放出されるものと考えられる。本実験の刺激点は efferent fiber の末梢側であり、中枢側は全て切断しているため、心臓血管系への反応や副腎への刺激伝達などの可能性は全く考えられない。従つて上頸部交感神経節刺激による線溶活性の上昇は脳血管収縮に附随して起つた現象であると理解すべきである。norepinephrine 投与、100%O₂ 吸入でも血管収縮と共に線溶活性が上昇する点を考慮すると、血管収縮による血管壁の ischemia → tissue activator の放出 → 線溶活性の上昇という機序をたどると考えられる。

迷走神経を頸部で切断し、節状神経節を刺激しても上矢状洞静脈血に線溶活性の上昇がみられた。脳血管に副交感神経系の vasodilator が存在するか否かという問題は未だ解明されていない。迷走神経と greater superficial petrosal nerve を中心とする脳血管拡張性の反射弓が提起されているが¹²⁾¹⁷⁾、迷走神経と carotid sinus, depressor nerve との関係や、迷走神経刺激に伴う呼吸循環動態の変化等複雑な因子からみ合いその立体的解明がなされていない。本実験では迷走神経を頸部で切断、上頸部交感神経節摘出後、節状神経節を刺激したが全身血圧は著明に上昇した。節状神経節に加えられた電気刺激は antidromic に上行し延髄に達する。延髄の第 4 脳室底には vasomotor tone の調節中枢があり、pressor area と depressor area の存在が確認されている⁵⁴⁾。pressor area は lateral reticular formation の中で延髄上部 2/3 の部分にあり、depressor area は

medial reticular formation の中にあつて延髄下部 2/3 の部分にある。pressor area, depressor area は夫々 spinal vasoconstrictor neuron に対し興奮、抑制の刺激を送つており正常状態では両者は平衡を保つているものと考えられる。従つて本実験の如く著明な pressor effect がみられたという事は、節状神経節刺激による antidromic impulse が延髄の pressor area を賦活し、脊髓の前側索を下降する spinal vasomotor neuron を経て sympathetic vasoconstrictor として末梢血管の収縮を来したものと思われる。迷走神経は baroreceptor の afferent fiber を含むためその刺激はむしろ depressor area を賦活するように思われるが、刺激条件、麻酔の種類により depressor effect が現われたり pressor effect が現われたりするという⁵⁴⁾。

以上の諸点を考慮に入れると節状神経節刺激による線溶活性の上昇は、全身の末梢血管収縮に伴う tissue activator の放出に基いており、その機序は前述の上頸部交感神経節刺激時の場合と同じく血管収縮による血管壁の ischemia に基因している。vasoconstrictor による全身末梢血管の収縮度は脳血管の数倍であり、当然血管壁の ischemia の程度、範囲が広範に及ぶものと考えられ、その結果より多くの tissue activator 放出されて上頸部交感神経節刺激の時より高い活性値が得られたものと考えられる。このことは appearance time が遅延し、持続時間が長びくことから窺い知ることが出来る。

B Neuroactive, vasoactive drugs と線溶活性

I 実験方法

麻酔犬の 1 側股動脈を介して全身血圧を連続記録し、他側股静脈から薬剤の投与、採血を行つた。使用薬剤の種類、用量は、

- a) norepinephrine : 50～60 μ g/kg
- b) tolazoline : 1 mg/kg
- c) acetylcholine : 2.5～5 mg/kg
- d) pilocarpine : 1 mg/kg
- e) atropine : 0.025～0.05mg/kg
- f) histamine : 50 μ g/kg
- g) papaverine : 4 mg/kg

これらの薬剤投与にあたり、投与前及び投与後 5 分、10 分、15 分、20 分、30 分に股静脈から各 5ml ずつ採血し直ちに線溶活性の測定を行つた。測定項目は activator, plasmin, plasminogen, whole plasmin, 及び antiplasmin でその測定法は前項で述べた通りである。

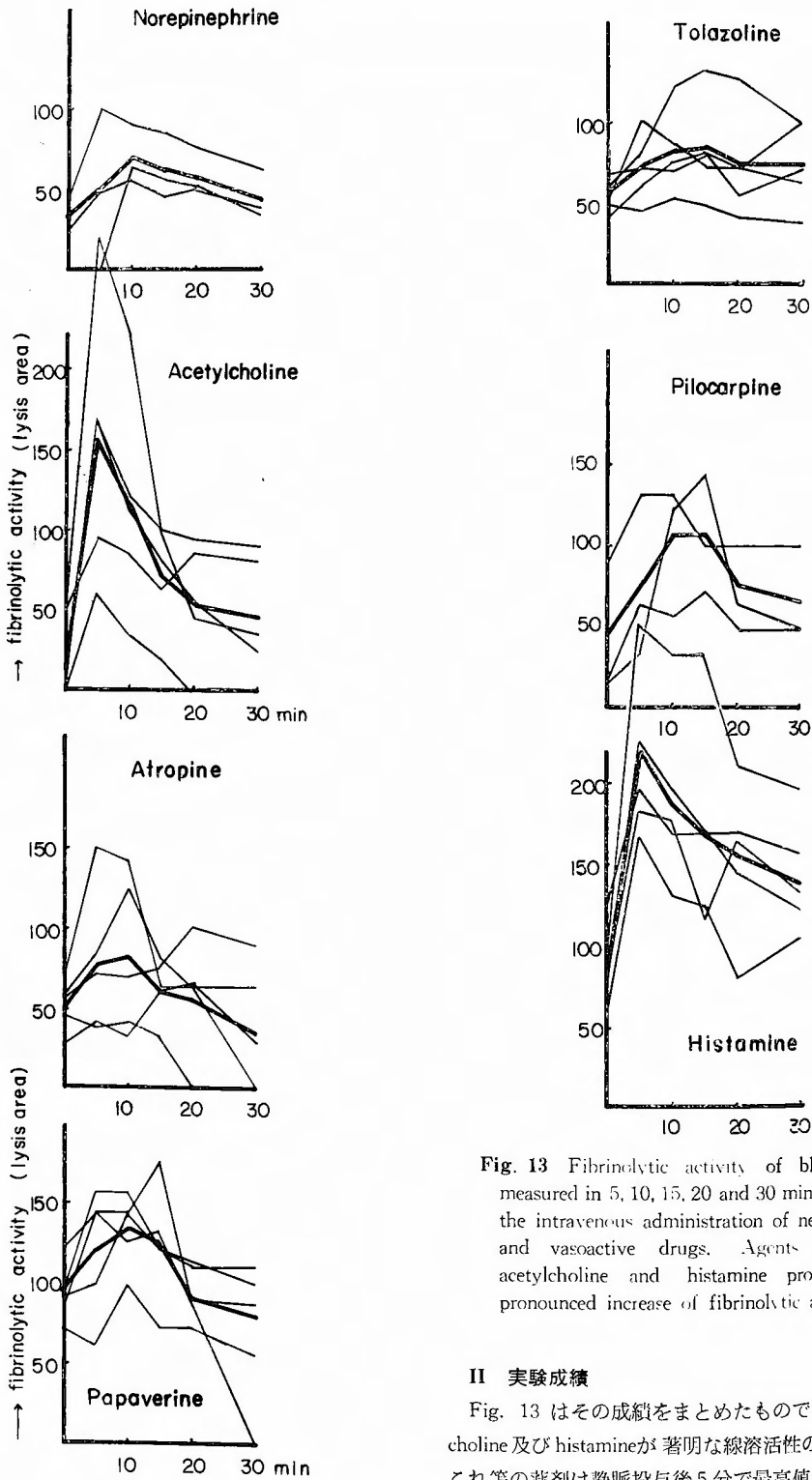


Fig. 13 Fibrinolytic activity of blood was measured in 5, 10, 15, 20 and 30 minutes after the intravenous administration of neuroactive and vasoactive drugs. Agents such as acetylcholine and histamine provoked a pronounced increase of fibrinolytic activity.

II 実験成績

Fig. 13 はその成績をまとめたものである。acetylcholine 及び histamine が 著明な線溶活性の上昇を来す。これ等の薬剤は静脈投与後 5 分で最高値に達し、以後

次第に下降するが30分後もお control より高値を示す。次いで pilocarpine が強い活性化能をもつ。norepinephrine は中等度の上昇を示すが tolazoline, atropine, papaverine の作用は少ない。以上の成績より一般的に acetylcholine, pilocarpine 等の副交感神経作動性の薬剤が交感神経作動性のものより強い線溶活性化能をもつといえる。しかし histamine のように脈管系に強い影響を与える薬剤も著明に線溶活性の上昇を来すことから、活性化機構を直接自律神経系と結びつけるわけにいかない。Fig. 13 には activator の変動のみ記したが plasmin, whole plasmin も同様の変化を示す。plasminogen, antiplasmin には殆ど変化は認められない。

III 考察

acetylcholine が著明に線溶活性を上昇させるという事実³⁴⁾⁴⁴⁾ に基いて生体の endogenous fibrinolysis を cholinergic effector mechanism で説明しようという試

み³⁴⁾⁴⁶⁾ がある。静脈壁の周囲には無数の afferent, efferent の自律神経線維があり、視床下部、間脳を介した大きな反射路を形成しているため、静脈壁に加えられた刺激はこの反射路を通つて最終的に cholinergic fiber である efferent fiber に伝達され、その終末部から acetylcholine が放出されて tissue activator を放出するという。しかし ①静脈周囲の自律神経線維の中に afferent fiber の存在を示す確証がないこと。②中枢神経系を介して vasomotor tone を司るのは sympathetic vasoconstrictor 及び sympathetic vasodilator nerve であるが⁵⁴⁾、cholinergic である sympathetic vasodilator nerve の神経支配は骨格筋、心筋で確認されているだけで末梢血管への分布は確認されていないことから以上の機構は論拠に乏しい。Fig. 14 に示すごとく、acetylcholine は細小血管を拡張させて著明な血圧低下を来す。細小血管には多量の tissue activator が含まれ

neuroactive drugs and fibrinolysis

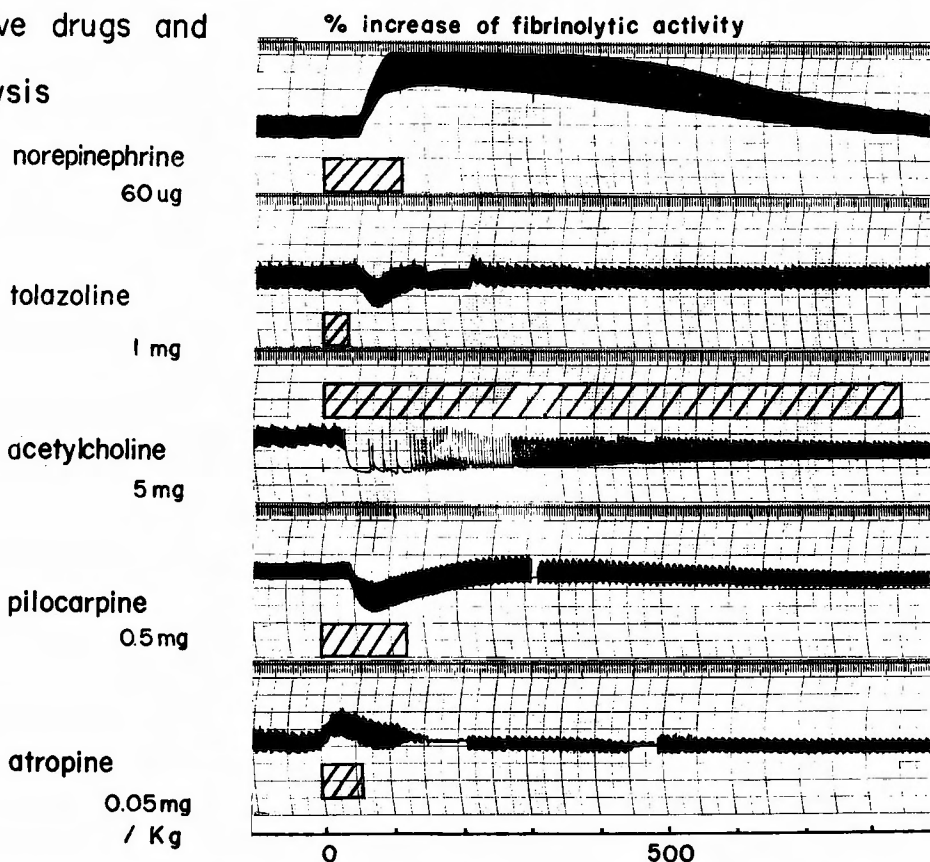


Fig. 14 Intravenous injection of 5 mg/kg of acetylcholine was followed by a significant rise in fibrinolytic activity. Pilocarpine and norepinephrine also increased the fibrinolytic activity of the blood. Tolazoline and atropine had no significant effect.

vasoactive drugs and fibrinolysis

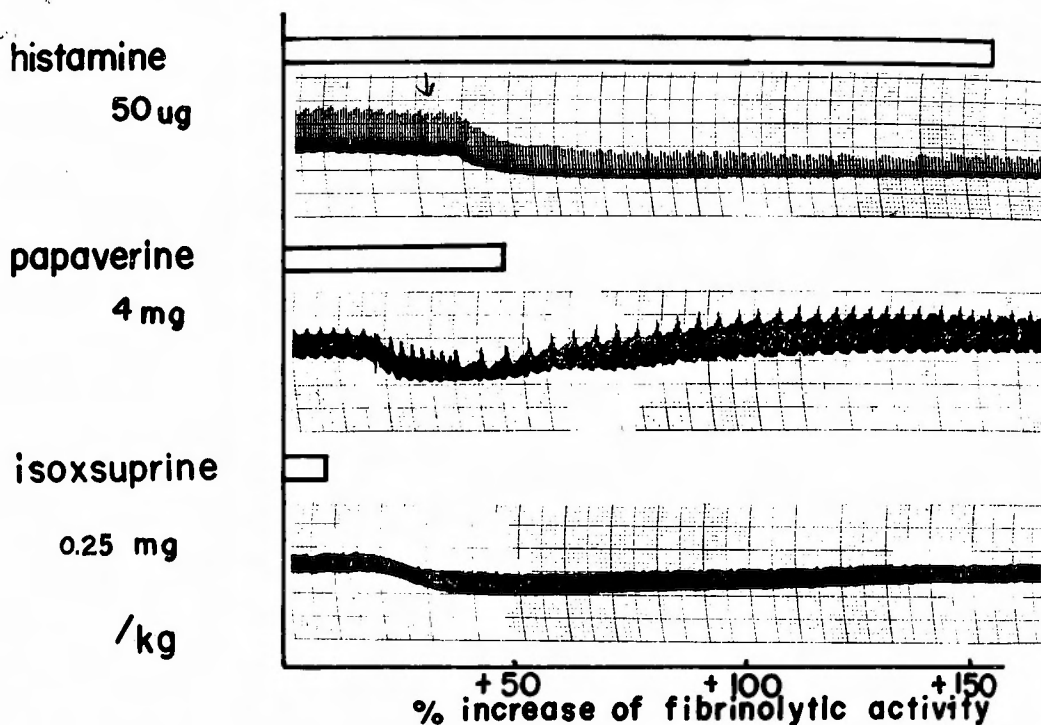


Fig. 15 Intravenous administration of histamine enhanced the fibrinolytic activity to an extent of approximately 150% of the original value. With papaverine and isoxsuprine, the increase of activity was slight.

ており³²⁾⁵¹⁾⁵²⁾⁵³⁾⁵⁶⁾⁵⁷⁾, acetylcholine の血管拡張作用により細小血管が一挙に開放されて循環系に参画するとその tissue activator が内腔に放出されて血液線溶活性の上昇を来すものと考えられる。histamine は強力な capillary dilator で全身の毛細血管を開放し、又高等動物の小動脈、硬膜脳血管をも拡張する。従つて histamine による線溶活性の上昇も tissue activator を多量に含む細小血管の開放に基ずくものである。histamine の反復投与で線溶活性上昇の割合が落ちてくる事実²⁷⁾からもこの事は裏付けられる。papaverine も同様に脈管作動性であるが、その作用部位は冠状動脈、肺動脈、四肢の血管のうち比較的太い血管の拡張である。papaverine による線溶活性の上昇が軽度なのは acetylcholine, histamine のように細小血管の拡張作用がないためである。

一方 norepinephrine は強力な vasoconstrictor でありその線溶活性化機構は既述した血管壁の ischemia が原因となる。Fig. 14, 15 に示す如く、脈管系の変化

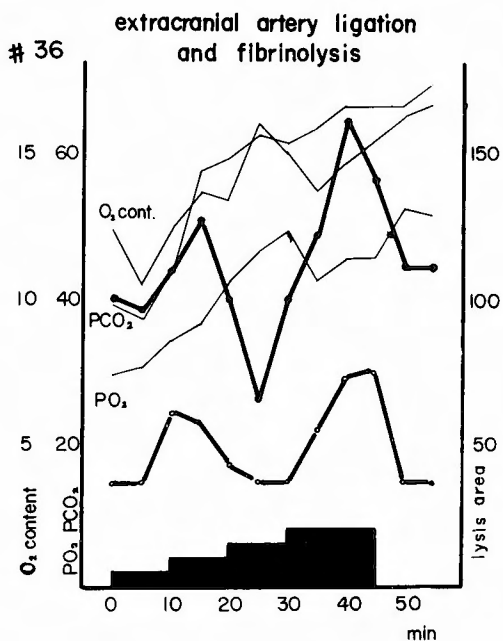
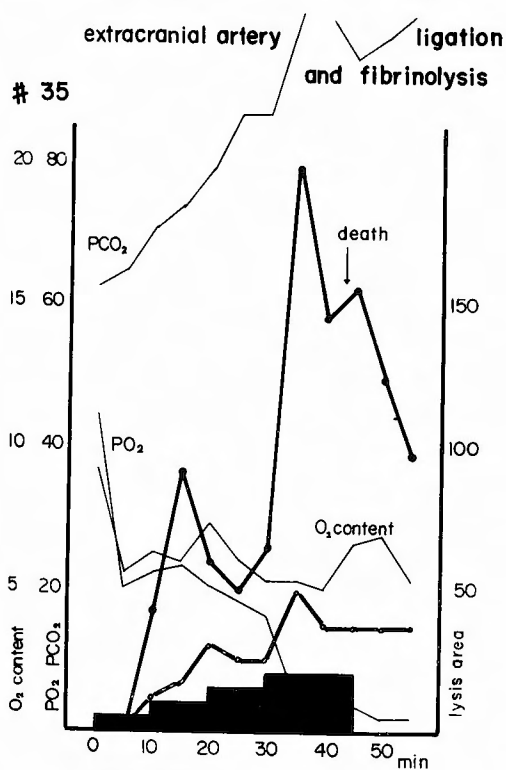
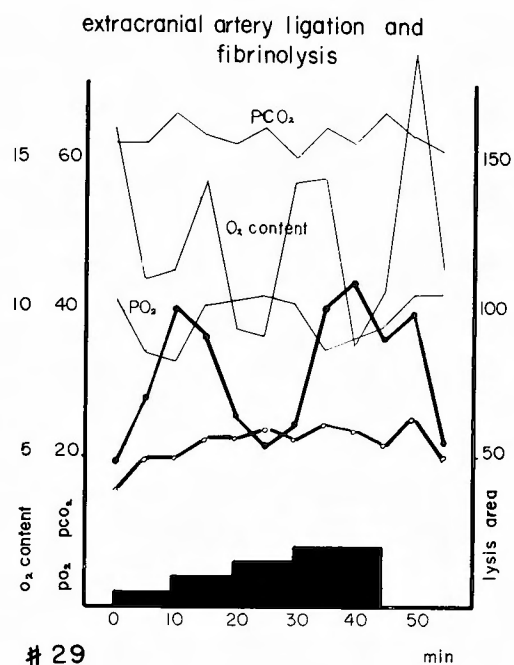
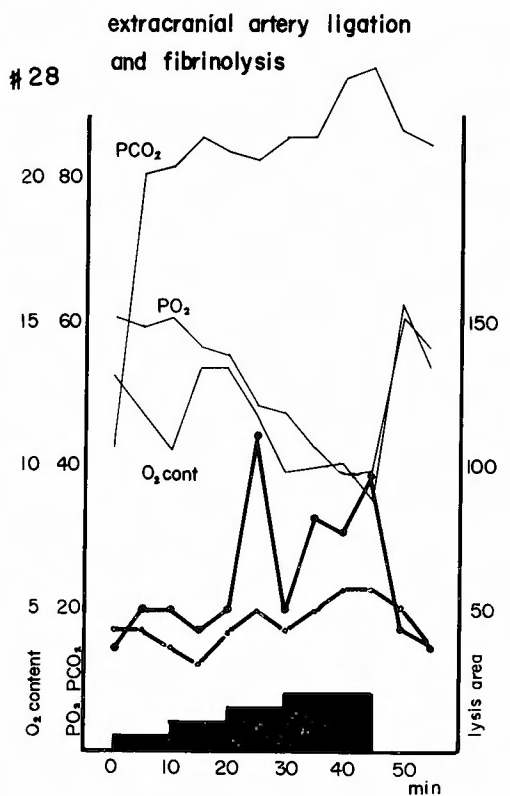
が強い程、線溶系の変化が大きいため、neuroactive, vasoactive drugs による線溶活性化現象は脈管系の反応に応じて tissue activator が放出されることを示唆している。しかも vasodilator の方が vasoconstrictor より活性化能力が強いのは、前者が主として細小血管を開放して蓄積されていた tissue activator を wash out する形をとるのに、後者は血管収縮による ischemia のための tissue activator の放出で両者の放出機構が異なるためである。

第4章 脳循環—特に血中ガス濃度—と線溶活性

I 実験方法

1) 総頸動脈・椎骨動脈結紮

Nembutal(25mg/kg)を投与して麻酔し気管内挿管、京大式人工呼吸器に連結した。呼吸数は18~20回/分、換気量 500~700ml/回に調整維持した。頭部に骨窓をうがち上矢状静脈洞を露出してから頸部正中切開を加



え両側総頸動脈，両側椎骨動脈を剥離露出した。まず血液ガス分析用に 3 ml，線溶活性用に 5 ml の血液を

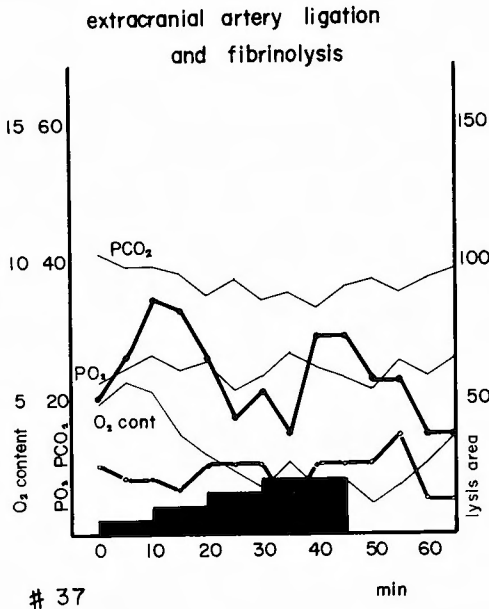


Fig. 16 Common carotid and vertebral arteries were occluded at intervals of ten minutes. Fibrinolytic activity of the blood obtained from the superior sagittal sinus showed a dual phase of increase in all cases. No correlation was found between fibrinolytic activity and O_2 content, PO_2 , PCO_2 and pH of the blood.

分で線溶活性が peak に達し、これが次第に下降して総頸動脈、椎骨動脈の全てを結紮して10分すると再び peak を描く。最初の peak 出現の時期は #35, #36 では両側総頸動脈結紮後5分、#28では両側総頸動脈、1側椎骨動脈結紮後5分と症例により多少のずれがあるが、いずれにも共通している所見は線溶活性化曲線が2峰性を示す点である。仮りに血流遮断により支配領域の脳に乏血性変化が起りそのために線溶活性が上昇するのであれば、総頸動脈、椎骨動脈を順次結紮していくにつれ徐々に上昇する単一上昇曲線が得られるはずである。しかし Fig. 16 に示す如く線溶活性は常に2峰性の曲線を描く。この事から最初の線溶活性の上昇は総頸動脈結紮による脳内の血流分布、血流速度の変化と関係していると考えられる。第2の peak は脳内に流入する血流が遮断された結果、脳実質に乏血性変化が起つたための変化である。この線溶活性は血流遮断を一挙に開放すれば速かに下降するが、これは高い活性を得た血液がそのまま wash out されたためである。

血液ガスの変動には一定の pattern が認められない。#28, #35の如く血流遮断に伴い PO_2 , O_2 content の減少、 PCO_2 の増加を示すもの、#29, #37の如く PO_2 , PCO_2 に著変なく O_2 content のみ動揺、減少するもの、#36の如く全て漸増するもの等、多様多岐である。これは犬の側副血行が著しく発達しているうえ、その個体差が大きく代謝が異なることに基因している。いずれにせよ Fig. 17 に示す如く線溶活性値と O_2 content, PO_2 , PCO_2 , pH 等の血液ガス分析値は直接的な相関々係をもっていない。

2) gas inhalation

陽圧で100% O_2 , 9% CO_2 + air を吸入させ股動脈から得た動脈血の結果を Fig. 18 に示す。線溶活性は9% CO_2 + air を吸入させると急速に上昇し、これを止めると直ちに下降する。次に100% O_2 を吸入させると再度活性値は上昇しこれを止めても暫く持続する。この間 O_2 content に著変なく PO_2 , PCO_2 は夫々100%

上矢状静脈洞から採血した後、10分間隔で1側総頸動脈、他側総頸動脈、1側椎骨動脈、他側椎骨動脈の順に血管鉗子で血流を遮断していき、全てを閉塞して15分経過後同時に血流を開放した。この間、5分間隔で上矢状静脈洞から採血し次の項目を測定した。

a) 血液 O_2 content, PO_2 , PCO_2 , pH

I. L. Meter で測定した。

b) 線溶活性

既述の方法に従い euglobulin fraction を分離し、activator, plasmin を fibrin plate method で測定した。

2) gas inhalation

前項と同様、上矢状静脈洞を露出した犬を用いた。実験の性質上特に喚気条件を一定に維持する必要があるため、ガス回路は半閉鎖循環式とし陽圧13mmHg、陰圧3mmHgの人工陽陰圧調節呼吸とし、呼吸数は常に18~20回/分を保持した。100% O_2 , 5% CO_2 + 95% O_2 , 9% CO_2 + air, 5% CO_2 + air の各種混合ガスを吸入させ所定の時間に上矢状静脈洞から採血し血液 O_2 content, PO_2 , PCO_2 , pH 及び血液線溶活性を測定した。

II 実験成績

1) 総頸動脈、椎骨動脈結紮

総頸動脈、椎骨動脈を順次結紮していき、上矢状静脈洞から得た血液の血液ガス及び線溶活性の動態を Fig. 16 に示す。#29, #37では1側総頸動脈結紮後10

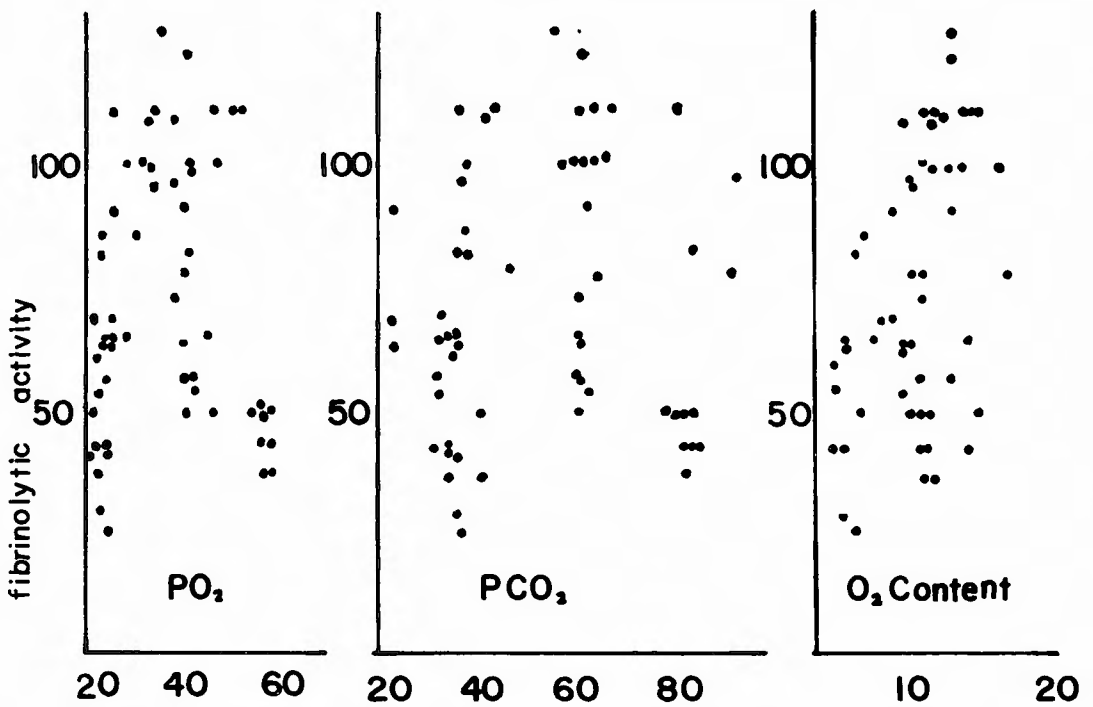


Fig. 17 No correlation was found between fibrinolytic activity and blood gas concentration.

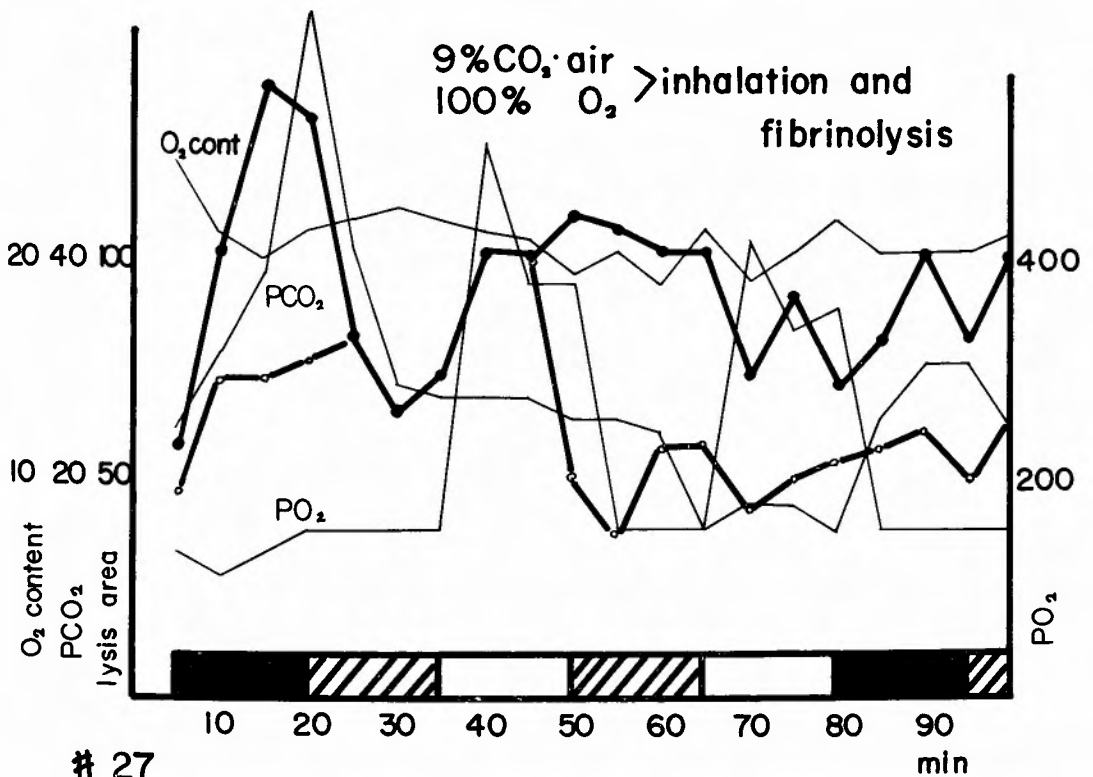


Fig. 18 Fibrinolytic activity of arterial blood was estimated during the inhalation of 9 % carbon-dioxide and pure oxygen. Inhalation of 9 % carbon-dioxide produced a rapid increase of fibrinolytic activity followed by its sudden fall. When the pure oxygen was inhaled, the increase of the activity was moderate and prolonged.

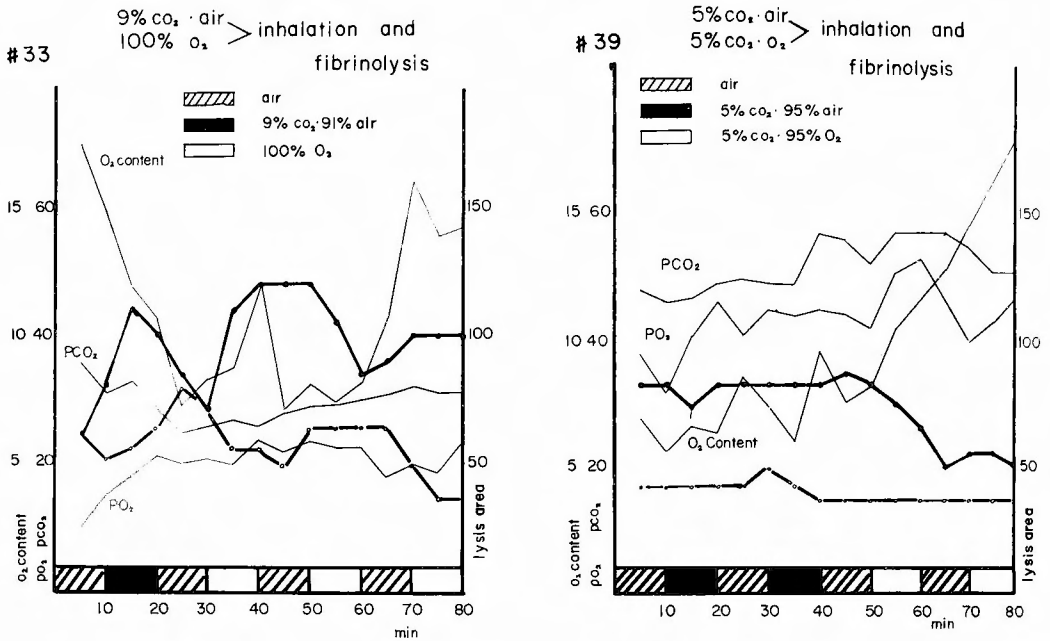


Fig. 19, 20 Fibrinolytic activity of the blood obtained from the superior sagittal sinus was estimated while 9 % carbon-dioxide and pure oxygen was given. Inhalation of 9 % carbon-dioxide resulted in a transient and moderate increase of the activity, whereas that of pure oxygen produced somewhat more prolonged fibrinolytic state. Inhalation of 5 % carbon-dioxide appears to have no influence on the fibrinolytic activity of the blood.

O₂, 9 % CO₂ + air 吸入のときだけ上昇する。

次に各種混合ガスを吸入させ上矢状静脈洞から採血して線溶活性、血液ガスの変動を追跡したのが Fig. 19, 20 である。Fig. 18 と同じく 9 % CO₂ + air 吸入と同期して線溶活性は上昇・下降し、100% O₂ 吸入でやはり上昇の持続時間が延長している。一方血液ガスでは O₂ content が 9 % CO₂ + air 吸入時急速に下降し、100% O₂ 吸入時上昇するか、PO₂, PCO₂ に著変は認められない。以上の結果から血液線溶活性は 9 % CO₂ + air, 100% O₂ 吸入で共に上昇すること。前者が一過性なのにに対し後者の持続時間は長いこと、血液 O₂ content, PO₂, PCO₂, pH と相関関係がないことが判明した。

次に 5 % CO₂ + air, 5 % CO₂ + 95% O₂ を吸入させた結果が Fig. 20 である。これでは線溶活性に殆ど変化が認められない。O₂ content, PO₂ は 5 % CO₂ + 95% O₂ 吸入で上昇するか、PCO₂ に著変は認められない。

即ち生体の線溶系は 9 % CO₂ + air, 100% O₂ 吸入で影響を受け 5 % CO₂ + air, 5 % CO₂ + 95% O₂ では殆ど影響を蒙らない反応系と関係しているものと考えら

れる。

III 考察

1) 総頸動脈、椎骨動脈結紮

脳血流を頸部で順次遮断していくと draining venous blood の線溶活性は 2 峰性の曲線を描く。組織が乏血状態に陥るとそこを灌流した血液の線溶活性は上昇する³⁹⁾ことから、総頸動脈、椎骨動脈の全部を結紮した後に観察された第 2 の peak は乏血によつて脳血管の透過性が亢まり、血管壁及び脳組織の tissue activator が放出されて活性値の上昇を来したものと考えられる。一方第 1 の peak 出現の時期は、1 側総頸動脈結紮後 10 分から両側総頸動脈・1 側椎骨動脈結紮後 5 分までで症例により異つている。これは犬の側副血行路の発達が著しく⁷⁾³⁰⁾、しかもその程度に個体差がある事と関連している。犬では後頭椎骨動脈、頸動脈吻合動脈、中脳膜吻合動脈、内外眼動脈間吻合、内外篩骨動脈間吻合及び脳底動脈と脊髄動脈との間の吻合が知られており³⁰⁾、又、頸筋に分布する諸動脈と椎骨管内を走る椎骨動脈の筋肉枝との交通路、及び後頭動脈の筋肉枝との間の交通路もあるため²⁹⁾、頸部で総頸動脈・

椎骨動脈を遮断していつでも側副血行路の開放によって脳組織への血流供給が代償され致命的な障害を来さない。事実、本実験でも例外的に PvO_2 が lethal threshold の 12mmHg 以下になった場合 (#35) は死亡したが、他の症例では総頸動脈・椎骨動脈を全て遮断しても PvO_2 が critical threshold (17~19mmHg) まで下降することはない。従つてこのように rete mirabile の豊富な動物の頸部主幹動脈を1~2本遮断した時にみられる第1次の線溶活性の上昇は、頸部動脈間及び脳内側副血行路の機能と密接に関連している可能性がある。頸部で主幹動脈を急速に閉塞すると末梢側の血圧が低下して圧勾配を生じ、正常状態では循環系に参加していなかった側副血行路が開放される。一般に正常状態の active circulation は capillary bed の 2~5% を灌流する²⁵⁾だけであるが、急性閉塞による脳循環動態の変化に伴い上記の側副血行路及び capillary bed が急速に active circulation に参加するようになる。これら細小血管は元来多量の tissue activator を含んでいるため、大量かつ一時的に血流中に放出され第1次の線溶活性の上昇を来すものと考えられる。ただその出現時期が症例により異なるのは側副血行路の形成及び機能に大きな個体差があるためであろう。

本実験では上矢状静脈洞から得た静脈血ガス分析値は一定の pattern を示さなかつた。閉塞に伴い PCO_2 の上昇と PO_2 , pH, O_2 content の減少を来したのは2例 (#28, #35) でうち1例は PvO_2 が lethal threshold 以下となつて死亡した。他の2例 (#29, #37) では PO_2 , PCO_2 , pH に著変なく、 O_2 content のみ変動した。しかしいずれも閉塞を開放すると一過性に PO_2 , O_2 content の上昇と PCO_2 の低下を来している点から、閉塞時の血中ガス分析値の多様性は側副血行の代償機転の差に基因するものと考えざるを得ない。Clarke¹⁴⁾ ¹⁶⁾等は血中 O_2 content, O_2 saturation の低下が線溶活性の上昇と関連していると報告しているが本実験ではその事実は認められなかつた。又血中ガスの絶対値と線溶活性の間にも明確な相関々係は見出し得なかつた (Fig. 17)。

2) gas inhalation

O_2 , CO_2 は脳循環に強力に作用する chemical agent である。これらの混合ガス吸入が線溶系に如何なる影響を与えるか検討した結果 9% CO_2 + air, 100% O_2 が線溶活性を亢進するが、5% CO_2 + air, 5% CO_2 + 95% O_2 では線溶系賦活に 関与しないことが判明した。人及び動物で行なつた従来の報告に³⁶⁾⁴⁷⁾よると、 CO_2

は脳血管を著明に拡張させ $PaCO_2$ の増加、 $PapH$ の低下、平均動脈圧の上昇を来し、脳血流量は 5% CO_2 で 50~70%, 7% CO_2 で 100% 増加する。一方 100% O_2 は軽度の脳血管収縮を来し脳血流量は 12~15% 減少する。

以上の諸点を考慮に入れて、9% CO_2 で線溶活性は上昇するが 5% CO_2 では線溶系は賦活されないという結果を検討すると、血管拡張に基く線溶系の賦活にはある種の閾値が存在するものと考えられる。9% CO_2 の脳血流量の増加は 5% CO_2 の脳血流量の増加を上回り、その作用は脳血管抵抗の減少と pressor effect の総合効果であるのに対し、5% CO_2 の pressor effect は小さく脳血流量の増加は主として脳血管抵抗の減少に基くものである²³⁾。従つて 9% CO_2 による血管床の増大は当然 5% CO_2 よりも大きい。繰返し述べたように血管壁の tissue activator は細小血管を中心に分布していることから、9% CO_2 吸入によりこれらが広範に active circulation に参加するようになると、その tissue activator が一時的に血流に放出され血液線溶活性を上昇させるものと考えられる。#27, #33 でみられるように 9% CO_2 による線溶活性の上昇が一過性であるのは以上の推論を裏付ける。

5% CO_2 で線溶活性に変化がみられないのは、50% 前後の脳血流量の増加を来す血管床の変化では tissue activator の放出が少なく、本実験で用いた線溶測定法では十分捕捉出来ないためであろう。

一方 100% O_2 吸入でも線溶活性の上昇が認められ、しかもその持続時間は CO_2 吸入より長びく傾向がある。これは Clifton¹⁶⁾ の成績と一致する。100% 吸入による脳血流量の減少は比較的少なく、血管床の減少も少ないことから 9% CO_2 吸入の場合と異つた機序が考えられる。即ち 100% O_2 吸入により PvO_2 が上昇し血管収縮を起すため vasa vasorum を中心として血管壁が乏血状態に陥り、血管壁の tissue activator が流血中に放出されるものである。 CO_2 による線溶活性上昇は一過性であるのに対し、 O_2 によるその持続時間が長いのは tissue activator の放出機転の相違に基いている。

5% CO_2 + 95% O_2 吸入では線溶系に殆ど変化を来さないが、これは O_2 による血管収縮が CO_2 による血管拡張に相殺され著しい脈管変化を引き起こさないためである。

生体の線維素溶解現象は血液線溶系と血管外(組織)線溶系に大別される。

血液線溶系では proactivator から plasmin 形成に到る反応系が恒常的に作動し常に凝固系と動的平衡を保っている⁶⁾。血液中で何がこの系の trigger となるかに就いては未だ明らかでないが active Hageman factor がその役割をはたしているも云われる²⁸⁾。組織線溶系は炎症や腫瘍等の病像の進展・修復と密接に関連し、局所に於るフィブリン凝塊の除去に関与している。tissue activator は組織線溶系に属し、生体の臓器、体液に広く分布していることから、tissue activator が組織線溶系に於て主役を演じているものと考えられる。しかし血管内外の両系の相互関係は現在未だ解明されていない。前立腺、肺、子宮などに手術侵襲を加えると術後高度の線溶活性の上昇を来すことが知られている。これ等の臓器は多量の tissue activator を含むため、手術操作に伴う組織損傷によりこの tissue activator が流血中に放出されて血液線溶系を賦活するものと推論されているが、未だ実験的確認は得られていない。

血液線溶系に対する組織線溶系の関与は、凝固系に対する組織因子(tissue thromboplastin)の関与と同様、主として血管血液境界面で行われる。例えば腎臓を Lock's solution で灌流し、灌流液に histamine を加えると perfusate に著明な線溶活性の上昇を認めると共に vasa recta の tissue activator が減少するという報告²⁶⁾は vasa recta から tissue activator が放出されたことを強く示唆している。又、静脈を操返し閉塞したり¹³⁾¹⁵⁾²⁵⁾⁵⁰⁾、静脈損傷¹¹⁾を加えると静脈血にやはり線溶活性の上昇を来すことが知られている。これらの点から静脈壁、特にその内皮細胞が tissue activator の主要な放出部位であると言われている¹¹⁾¹³⁾¹⁵⁾³⁴⁾。しかし、fibrinolysis autograph による組織化学的研究で tissue activator の分布は細小血管にも広く認められることから、tissue activator の放出部位は単に静脈内皮細胞のみならず、これら細小血管全域に亘っている可能性が強い。本実験では血管壁の tissue activator に free form activator と bound form activator の2型があること、free form activator は全ての静脈と脳動脈に含れていること、この型の activator は出血、機械的刺激、血管壁の ischemia 等の条件下で速に流血中に放出されることを確認した。しかし細小血管の tissue activator の定量やその動態の解明は、本実験で用いた方法では不可能であり、細小血管 tissue activator の血液線溶系

に及ぼす影響を直接的に証明することは出来なかつた。この問題は今後方法を変えて試みる必要があろう。

本実験では vasoconstrictor nerve の刺激、norepinephrine の静脈投与、100% O₂ 吸入などの血管収縮性因子や、各種の vasodilator drugs の投与、9% CO₂ 吸入などの血管拡張性因子と共に線溶系を賦活したがその反応態度が互いに異なることからその機転に相異があるものと考えられる。血管が収縮すると vasa vasorum の血流が障害されて血管壁自体が乏血状態に陥り、この状態が持続すれば血管壁の free form activator が次第に血管腔に放出されてくる。血管が拡張すると、特にそれが細小血管を拡張すると、血管血液接触面が増大し正常状態では active circulation に参加していない細小血管も開放され、いわば wash out される形で tissue activator の放出がおこる。又、血管拡張に伴う機械的要因も何らかの役割をはたす。一般に血管収縮に伴う線溶活性上昇の持続時間は血管拡張のそれより長い傾向があるが、これは両者の tissue activator 放出機構が以上のように異なることに基因している。

以上述べた如く生体の endogenous fibrinolysis は何ら特異的現象でなく脈管系の変化を引起すような誘因で容易に賦活される現象と理解すべきである。

結 語

1) 各種血管組織を 0.15M KCl, 2M KCl, 2M KSCN で抽出し standard fibrin plate でその活性を測定した。胸部大動脈のような大血管では外膜のみに tissue activator が存在し、内・中膜には存在しなかつた。総頸動脈、股動脈は3層に分離測定出来なかつたが、やはり外膜のみに tissue activator が存在する可能性が強い。脳動脈は非常に高い活性を示した。一般に動脈には tissue activator の分布差が認められ、股動脈を除くと概して筋性動脈の活性値が高い。静脈は tissue activator の含有量が多く、必ず free form activator を含むのが大きな特徴である。

2) 血管壁 tissue activator は機械的刺激、血管壁の乏血状態に際し速に流血中に放出される。この現象は静脈で顕著である。それは動脈の tissue activator は外膜のみに限られているのに対し、静脈では全層に均等に分布していること、free form activator が多いことに基因している。free form activator は血管の distension, stretching など機械的要因が加つたり、血管収縮により血管壁自体が ischemia に陥ると容易に細胞

顆粒から遊離してくる。

3) cranial cervical ganglion, nodose ganglion を刺激すると上矢状静脈洞血の線溶活性は上昇する。前者は刺激側の大脳半球に分布する血管収縮と関連し、後者は著明な pressor effect を伴うことから全身性の血管収縮と関連する。即ち血管収縮により vasa vasorum の血流障害が起り血管壁が乏血状態に陥り、その tissue activator が流血中に放出されて血液線溶活性を賦活する。

4) 各種神経作動性、脈管作動性薬剤の投与で全身の血液線溶活性は上昇し、特に acetylcholine, histamine の細小血管拡張剤で著明である。これらの薬剤は in vitro では線溶系を賦活しない。acetylcholine, histamine は細小血管に作用して血管床を著明に増大し、豊富な tissue activator をいわば wash out し、血液線溶活性を上昇させる。

5) 総頸動脈、椎骨動脈を10分間隔で順次結紮していくと、上矢状静脈洞血の線溶活性は常に2峰性の曲線を描く。第1の peak は急激な血流途絶に対応して脳内血流分布や圧勾配に変動が起り、側副血行路の機能が作動することと関係している。第2の peak は完全な血流遮断により脳乏血が起つたための線溶活性上昇である。静脈血の O_2 content, PO_2 , PCO_2 , pH は多彩な変化を示すがいずれも線溶活性値と有意の相関を示さない。

6) O_2 , CO_2 を吸入させ上矢状静脈洞血の線溶活性を測定すると、9% CO_2 , 100% O_2 は線溶系を賦活するが、5% CO_2 にはその能力がない。 CO_2 吸入による脳血管床の増大には9% CO_2 と5% CO_2 で格差があり、この差が線溶系を賦活するか否かを左右していると考えられる。

稿を終るにあたり終始懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師半田肇教授に深甚の謝意を表します。又、暖い御指導をいただいた神戸大学第1生理学教室、岡本彰祐教授、美原 恒講師並びに教室員諸兄と、適切な御助言をいただいた京都大学脳神経外科、吉田耕造講師に深く感謝致します。

REFERENCES

- 1) Albrechtsen, O. K. . The fibrinolytic activity of human tissues. Brit. J. Haemat., **3** : 283, 1957.
- 2) Albrechtsen, O. K. . The fibrinolytic activity of animal tissues. Acta physiol. Scandinav.,

- 39 : 284, 1957.
- 3) Astrup, T., Albrechtsen, O.K., Classen, M. and Rasmussen, J. : Thromboplastic and fibrinolytic activity of the human aorta. Circ. Res., **7** : 969, 1959.
- 4) Astrup, T. and Müllertz, S. The fibrin plate method for estimating fibrinolytic activity. Arch. Biochem. Biophys., **40** : 346, 1952.
- 5) Astrup, T. and Karol, B., . Thromboplastic and fibrinolytic activities in vessels of animals. Circ. Res., **13** : 253, 1963.
- 6) Astrup, T. : The haemostatic balance. Thromb. Diath. Haemorrh., **2** : 347, 1958.
- 7) Batson, O. V. . Anatomical problems concerned in the study of cerebral blood flow. Fed. Proc., **3** : 139, 1944.
- 8) Blatny, J., Fischer, J. and Fischerova, E. Tissue plasminogen activator in the arterial wall. Cor Vasa, **8** : 49, 1966.
- 9) Blatny, J., Fischer, J. and Fischerova, E. : Tissue plasminogen activator in the venous wall. Cor Vasa, **8** : 57, 1966.
- 10) Buluk, K., Malofiejew, M. and Czokalo, M. . Activation of fibrinolysis and of plasma-kinin system during venostasis. Thromb. Diath. Haemorrh., **14** : 500, 1965.
- 11) Chakrabati, R., Kirks, P. M. and Fearnley, G. R. : Origin of blood fibrinolytic activity from veins and its bearing on the fate of venous thrombi. Lancet, **I** : 1288, 1963.
- 12) Chorobski, J. and Penfield, W. Cerebral vasodilator nerves and their pathway from the medulla oblongata. Arch. Neurol. Psychiat., **28** : 1257, 1932.
- 13) Clarke, R. L. Orandi, A. and Clifton, E. E. : Induction of fibrinolysis by venous obstruction. Angiology, **11** : 367, 1960.
- 14) Clarke, R. L. Oxygen saturation and spontaneous fibrinolytic activity. Am. J. Med. Sci., **224** : 466, 1962.
- 15) Clifton, E. E., Clarke, R. L. and Murphy, J. : Studies on fibrinolytic activity with venous occlusion : treatment of thrombophlebitis. Surgery, **50** : 644, 1961.
- 16) Clifton, E. E. and Clarke, R. L. : Induction of fibrinolysis by hyperventilation with oxygen and carbon dioxide. Angiology, **13** : 285, 1962.
- 17) Cobb, S. and Finesinger, J. E. . Cerebral circulation XIX. The vagal pathway of the vasodilator impulses. Arch. Neurol. Psychiat., **28** : 1243, 1932.
- 18) Coccheri, S. and Astrup, T. : Thromboplastic and fibrinolytic activities of large human vessels. Pro. Soc. Exptl. Biol. Med., **108** : 369, 1961.

- 19) Fang, H. C. H. : Cerebral arterial innervations in man. *Arch. Neurol.*, **4** : 651, 1961.
- 20) Forbes, H. S., Nason, G. I. and Wortman, R. C. Cerebral circulation. XLIV. vasodilation in the pia following stimulation of the vagus, aortic and carotid sinus nerves. *Arch. Neurol. Psychiat.*, **37** : 334, 1937.
- 21) Forbes, H. S. and Cobb, S. S. : Vasomotor control of cerebral vessels. *Brain*, **61** : 221, 1938.
- 22) Girling, F. vasomotor effects of electrical stimulation. *Am. J. Physiol.*, **170** : 131, 1952.
- 23) Handa, J., Meyer, J. S. and Yoshida, K. : Regional pharmacologic responses of the vertebral and internal carotid arteries. *J. Pharmacol.*, **152** : 251, 1965.
- 24) Holemans, R. Origin of blood fibrinolytic activity. *Lancet*, **2** : 364, 1963.
- 25) Holemans, R. : Increase in fibrinolytic activity by venous occlusion. *J. Appl. Physiol.*, **18** : 1123, 1963.
- 26) Holemans, R., Johnston, J. G. and Reddick, R. L. : Release of plasminogen activator by the isolated perfused dog kidney. *Nature*, **208** : 291, 1965.
- 27) Holemans, R. Enhancement of fibrinolysis in the dog by injection of vasoactive drugs. *Am. J. Physiol.*, **208** : 511, 1965.
- 28) Iatridis, S. G. and Ferguson, J. H. : Active Hageman Factor a plasma lysokinase of the human fibrinolytic system. *J. Clin. Invest.*, **41** : 1277, 1962.
- 29) Ishikawa, S. Polarographic studies on cerebral collateral circulation, with special reference to their clinical applications. *Arch. Jap. Chir.*, **30** : 303, 1961.
- 30) Jewell, P. A. The anastomoses between internal and external carotid circulations in the dog. *J. Anat.*, **86** : 83, 1952.
- 31) Kajikawa, H. : Mode of the sympathetic innervation of the cerebral vessels demonstrated by the fluorescent histochemical technique in rats and cats. *Arch. Jap. Chir.*, **38** : 227, 1969.
- 32) Kwaan, H. C. and Astrup, T. Fibrinolytic activity of reparative connective tissue. *J. Path. Bact.*, **87** : 409, 1964.
- 33) Kwaan, H. C. and McFadzean, A. J. S. : On plasma fibrinolytic activity induced by ischemia. *Cli. Sci.*, **15** : 245, 1956.
- 34) Kwaan, H. C., Lo, R. and McFadzean, A. J. S. : On the production of plasma fibrinolytic activity within veins. *Clin. Sci.*, **16** : 241, 1957.
- 35) Lassen, M. : Heat denaturation of plasminogen in the fibrin plate method. *Acta Physiol. Scandinav.*, **27** : 371, 1956.
- 36) Lassen, N. : Cerebral blood flow and oxygen consumption in man. *Physiol. Rev.*, **39** : 183, 1959.
- 37) Lieberman, J. and Kellogg, F. Fibrinolytic activity of arterial tissues. *Circ. Res.*, **9** : 515, 1961.
- 38) Meyer, J. S., Yoshida, K. and Sakamoto, K. : Autonomic control of cerebral blood flow measured by electromagnetic flowmeters. *Neurology*, **17** : 638, 1967.
- 39) Messer, D. L., Celander, D. R. and Guest, M. M. : Stability of fibrin contiguous to intima of veins. *Circ. Res.*, **11** : 832, 1962.
- 40) Mole, R. H. : Fibrinolysin and the fluidity of the blood post mortem. *J. Path. Bact.*, **60** : 413, 1948.
- 41) Okamoto, U. and Takada, Y. : KCl-extracted plasminogen activator in kidney of rabbits. *Keio J. Med.*, **13** : 107, 1964.
- 42) Okamoto, U. and Takada, Y. : On the disappearance of the tissue plasminogen activator activity in kidney produced by mitomycin C administration to rabbits. *J. Physiol. Soc. Japan*, **26** : 297, 1964.
- 43) Penfield, W. Intracerebral vascular nerves. *Arch. Neurol. Psychiat.*, **23** : 30, 1932.
- 44) Pohala, M. J., Yen, C. Y. and Singher, H. O. : Effect of neuroactive drugs on production of fibrinolytic activity. *Am. J. Physiol.*, **202** : 983, 1962.
- 45) Sandberg, H., Rezai M., Bangayan, T. T., Bellet, S., Feinberg, L. J. and Hunter, S. Organ distribution of fibrinolytic activity in man. *J. Lab. Clin. Med.*, **61** : 592, 1963.
- 46) Schnech, S. A. and von Kaulla, K. N. : Fibrinolysis and the nervous system. *Neurology*, **11** : 959, 1961.
- 47) Socoloff, L. The action of drugs on the cerebral circulation. *Pharmacol. Rev.*, **11** : 1, 1959.
- 48) Sugiyama, Y. and Okamoto, S. Plasminogen activator in the cytoplasmic granules of rat kidney : studies on extraction by isotonic and hypertonic salt solutions. *Kobe J. Med. Sci.*, **10** : 257, 1964.
- 49) Sugiyama, Y. Plasminogen activator in the cytoplasmic granules from different organs of mammals : studies on intracellular location, releasing, and molecular size of two kinds of the activators. *Kobe J. Med. Sci.*, **11** : 151, 1965.
- 50) Tighe, J. R. and Swan, H. T. : Fibrinolysis and venous obstruction. *Cli. Sci.*, **25** : 219, 1963.

- 51) Todd, A. S. The histological localisation of fibrinolysin activator. J. Path. Bact., **78** : 281, 1959.
- 52) Todd, A. S. : Some topographical obserbations on fibrinolysis. J. Clin. Path., **17** : 324, 1964.
- 53) Todd, A. S. : Localization of fibrinolytic activity in tissues. Brit. Med. Bull., **20** : 210, 1964.
- 54) Uvnas, B. : Central cardiovascular control. Neurophysiology, vol. 2, Washington, American Physiological Society, 1960.
- 55) Von Kaulla, K.N. : Chemistry of thrombolysis : human fibrinolytic enzymes. Springfield, Charles C Thomas, 1963.
- 56) Warren, B. A. Fibrinolytic properties of vascular endothelium. Brit. J. Exptl. Pathol., **44** : 365, 1963.
- 57) Warren, B. A. Fibrinolytic activity of vascular endothelium. Brit. Med. Bull. **20** : 213, 1964.
- 58) White, J. C. : Nervous control of the cerebral vascular system. Clinical Neurosugery, New York, Williams and Wilkins, 1961.